

사료 과다공급으로 유도된 비만 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)의 생리·조직학적 변화

박지연 · 노형진 · 박준우 · 정다혜 · 이무근¹ · 김도형*

부경대학교 수산생명의학과, ¹사단법인 대한수산질병관리사회

Physiological and Histological Changes of Overfeeding-induced Obese Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss*

Jiyeon Park, Heyong Jin Roh, Junewoo Park, Dahye Jeong, Mu Kun Lee¹ and Do-Hyung Kim*

Department of aquatic life medicine, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

¹Korean Aquatic Organism Disease Inspector Association, Busan 46008, Republic of Korea

Obesity could cause immune-physiological disorders in fish. Yet, little is known about the impact of obesity on stress and histological responses. This study aimed to determine histological and physiological changes in and vulnerability of overfeeding-induced obese rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* exposed to stress condition. Control, intermediate and overfed groups were fed at 1.5, 2.5 and 3.09% of their body weight per day, respectively, for eight weeks. Weight gain, body mass index, hepatosomatic index and serological parameters, and histology of liver were measured in five fish from each group at week 0, 2, 4, and 8. At week 8, 20 fish from each group were exposed to heat stress by increasing water temperature at a rate of 3°C per day from 15 to 25°C and maintaining the final temperature for 10 days. Overall, overfed fish showed significantly higher weight gain, body mass index, and serological parameters than those of fish in the other groups. Fish in the overfed and intermediate groups displayed multifocal infiltration of inflammatory cells in hepatic parenchyma. Mortality rate and serological parameters of fish in the overfed group exposed to heat stress were significantly higher than those of fish in the other groups, indicating increased vulnerability to environmental stress.

Keyword: Rainbow trout, Overfeeding, Obesity, Heat stress, Serological parameter

서론

수산양식 산업계에서 생물의 생산기간을 단축시키기 위해 사료를 과다하게 사용하는 것은 매우 빈번하다(Hasan and New, 2013; White, 2013). 사료의 과다 공급에 따른 결과로 사료 찌꺼기와 배설물이 증가하며 이에 따라 수질이 악화되고 수산생물의 건강도가 떨어져 질병에 대한 감수성이 증가하게 된다(Kim et al., 2010; Craig et al., 2017). 동물에게 과다한 영양분이 지속적으로 공급될 경우 필요 이상의 에너지가 축적이 되고 이는 비정상적으로 과도한 지방이 축적되는 비만을 유도할 수 있다(West-Eberhard, 2019). 이처럼 비만은 에너지 섭취량이 소비량보다 많기 때문에 일어난다(Ogden et al., 2007; Ammar

et al., 2017; Liu et al., 2021). 인간의 경우 비만은 심혈관 질환, 간경변/비알코올성 지방간(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD), 제2형 당뇨병, 암 등 다양한 질병과 밀접히 연관된 것으로 알려져 있다(Adams et al., 2006; Bai et al., 2018). 특히, 과도한 칼로리의 섭취로 인한 내장 지방 축적은 간에서 더 많은 triglyceride (TG)를 합성하고 합성된 TG가 간에서 배출되지 못하고 쌓여 간 기능 장애를 유발할 수 있다(Sun and Karin, 2012). 궁극적으로 다량의 축적된 TG는 간세포 손상을 동반한 간 지방증을 유발하기 때문에 비만으로 인한 간 손상은 흔히 알려진 증상 중의 하나이다(Ahmed et al., 2015). 포유류뿐만 아니라 어류에서도 비만은 간세포의 비대를 보이며 이는 간 염증과 alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransfer-

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5945 Fax: +82. 51. 629. 5938

E-mail address: dhkim@pknu.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.2022.0688>

Korean J Fish Aquat Sci 55(5), 688-696, October 2022

Received 18 April 2022; Revised 31 May 2022; Accepted 1 September 2022

저자 직위: 박지연(대학원생), 노형진(대학원생), 박준우(대학원생), 정다혜(대학원생), 이무근(연구원), 김도형(교수)

ase (AST)의 증가를 동반한 손상으로 이어진다(Taddese et al., 2014; Pan et al., 2017; Roh et al., 2020).

양식생산량이 꾸준히 증가하고 있는 무지개송어(Korea Maritime Institute, 2020)의 폐사 피해 모니터링 결과(20개소의 양식장 대상)에 따르면 연간 폐사량 중의 약 52%가 감염성 질병에 속한다고 하였다(Kim et al., 2012). 일반적으로 수산 양식장에서는 개체 크기와 영양 요구 사항을 면밀히 고려한 사료 공급 시스템을 갖추고 있지 않은 편이며 반복 급이 하는 경우가 흔하다(Hasan and New, 2013; White, 2013). 이처럼 우리나라 무지개송어 양식장에서도 사료의 과다 섭취를 포함한 다양한 요인이 스트레스로 작용하여 감염의 감수성이 증가했을 것으로 추정된다. 사실 비만은 cortisol과 같은 스트레스 호르몬의 방출을 증가시켜 체내 생리활성의 항상성을 무너뜨리고(Foss and Dyrstad, 2011) 스트레스 환경에 노출 시 적응 능력을 떨어뜨리는 원인이 된다(Sinha and Jastreboff, 2013). 사료를 과다 섭취한 틸라피아(*Oreochromis niloticus*)와 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)의 생리학적 반응의 변화를 조사한 연구(Taddese et al., 2014; Roh et al., 2020) 외에는 비만이 유도된 양식 수산생물의 생리학적 반응과 조직학적 변화를 함께 연구한 사례는 거의 없다. 그러므로 본 연구에서는 사료의 과다 섭취를 통해 유도된 비만 무지개송어의 간 조직과 혈청 수치를 통해 생리학적 반응을 분석하고 환경 스트레스 하에서 감염에 대한 감수성을 확인하여 수산생물의 건강과 사료 과다 공급 간의 상관성을 이해하고자 하였다.

재료 및 방법

사료 공급 실험 및 측정 인자

본 연구에 사용한 어류는 경북 상주시 양식장에서 질병에 노출이 없는 무지개송어(17.88 ± 1.29 cm, 51.2 ± 12.12 g)를 구입하여 연구실 수조에 순치하였다. 15°C로 유지되는 세 개의 500 L 수조에 각각 40마리씩 옮긴 후 대조 그룹(control, C), 중간 공급 그룹(intermediate, IM), 과다 공급 그룹(overfed, OF)으로 나누어 NIFS (2017) 및 FAO (2021)의 가이드라인에 따라 각각 일일 사료 공급율(feeding rate)을 체중의 1.5%, 2.5%, 3.5%로 설정하였다. 2주와 4주차에 각 그룹으로부터 5마리를 취하여 무게를 측정 후 목표로 하는 사료 공급률이 되도록 공급량을 조정하였다. 정확한 사료 공급율을 확인하기 위해 투여 30분 후 먹지 않은 사료 수거하여 공급량에서 제외하였다. 본 연구에서 사용한 먹이는 조단백질(52%), 조지방(15%), 조지방(10%), 인(2.7%), 조섬유(2%), 칼슘으로 구성된 배합사료(extruded pellet; Sajo Donga, Seoul, Korea)이다. 혈청학적 및 조직학적 분석을 위해 하루 전 절식 후 2, 4 및 8주 차에 각 그룹별로 5마리를 MS-222 (Sigma, St. Louis, MO, USA)로 마취 후 체장, 체중, 체중증가[weight gain (WG (g))=final fish weight - initial weight], 간 중량지수[hemosomatic index (HSI) = (간 무

게/체중) × 100] 및 체질량지수[body mass index (BMI) = 체중 (g)/체장(cm)²]를 측정하였다

사료 공급량에 따른 고수온 스트레스에 대한 저항성 분석

8주 차 샘플링 후 각 구간 당 20마리씩 무작위로 분류하여 고수온 스트레스 자극을 인위적으로 주었다. 수온은 초기 15°C에서 시작하여 3일 간 하루에 3°C씩 올려 최종적으로 25°C가 되게 하였다. 25°C가 되는 시점을 기준으로 1일, 5일, 10일 후(days post heat-stress exposure, dph) 각각의 수조에서 5마리씩 무작위로 선택하여 마취시킨 후 미부정맥으로부터 채혈하였다.

혈청학적 분석

혈액은 원심분리(6500 rpm, 15분, 4°C)하여 혈청을 분리하였으며 분석 전까지 -80°C에 보관하였다. AST, ALT, total protein (TP), lactate dehydrogenase (LDH) 및 TG를 혈청 분석기(FUJI DRI-CHEM 3000; Fuji film Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 측정하였다.

조직학적 분석

조직학적 분석을 위해 실험에 사용된 모든 무지개송어의 아가미, 간장, 비장, 체신, 두신, 심장, 전장을 절취하여 10% 중성 포르말린에 고정하였다. 이후 통상적인 전처리 과정을 거쳐 파라핀 포매를 완료하고 4-5 μm 두께의 박편을 얻어 Harris hematoxylin-eosin (H&E) 염색을 실시하여 광학현미경(Olympus BX50; Olympus, Tokyo, Japan)으로 검경하였다. 디지털카메라(Olympus DP72; Olympus)를 이용하여 광학현미경 사진을 획득하였다.

통계분석

도출된 결과는 SPSS v20.0 (IBM, Armonk, NY, USA)의 one-way analysis of variance (ANOVA) test로 확인하였고 사후검정은 Duncan's multiple range test 방법을 이용하였다(P<0.05).

결 과

그룹별 성장 및 측정 인자 분석

본 연구에서 실험 기간 동안 OF, IM, C 그룹의 평균 일일 사료 공급률은 각각 3.1%, 2.5%, 1.5%로 나타났다(Fig. 1A). OF 그룹은 권장 사료 공급률 보다 약 2배 이상 높았으며 결과적으로 대조군에 비해 2.06배의 양을 섭취하였다(Fig. 1A). C 그룹 대비 2, 4, 8주(week post feeding, wpf)의 OF 그룹의 체중 증가 비율은 각각 2.2, 2.2, 3.1배로 나타나 C 그룹에 비해 유의적으로 높았다(Fig. 1B). 그러나 IM 그룹의 체중 증가는 8 wpf 샘플만 C 그룹에 비해 유의적으로 높았다. HSI의 경우 2 wpf의 OF 그룹의 개체의 값만 C와 IM 그룹에 비해 유의적으로 높게 나타나 실험 기간 동안 체중 증가와 직접적이고 일관적인 상관성을

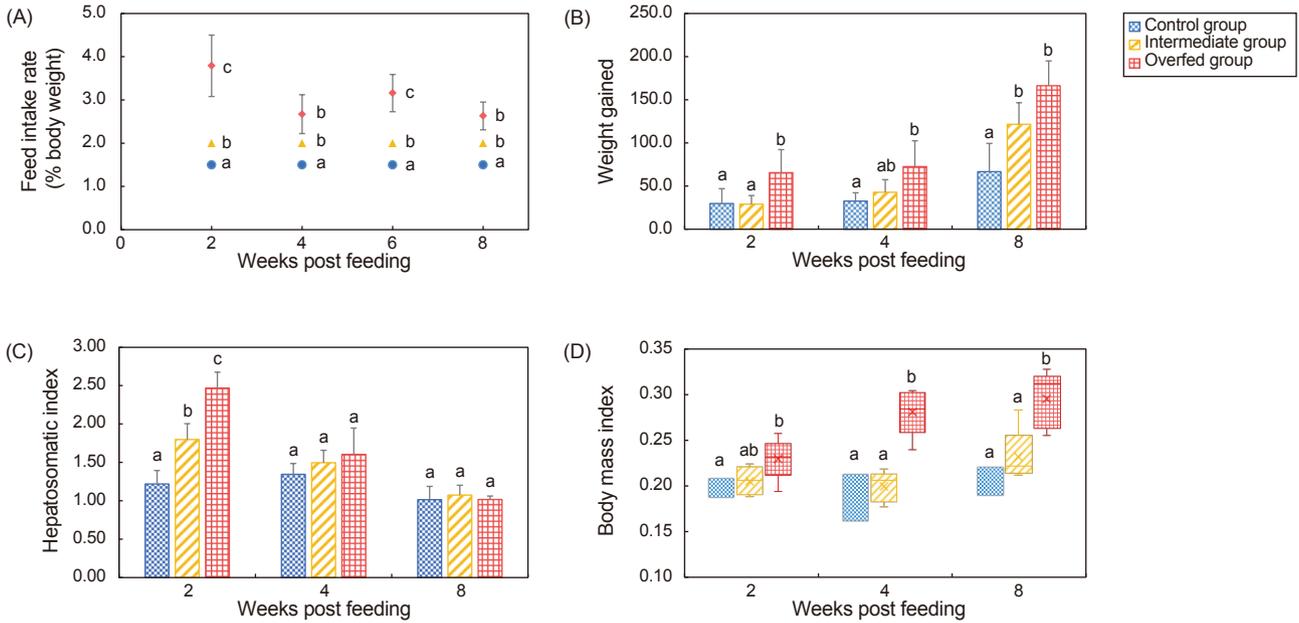


Fig. 1. Daily feed intake rate (% of body weight) for 8 weeks in the control (C), intermediate (IM) and overfed (OF) group (A). Hepatosomatic index (HSI) and body mass index (BMI) of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in the C, IM, OF groups sampled at week 2, 4 and 8 (C), (D). Different letters indicate statistically significant differences determined by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

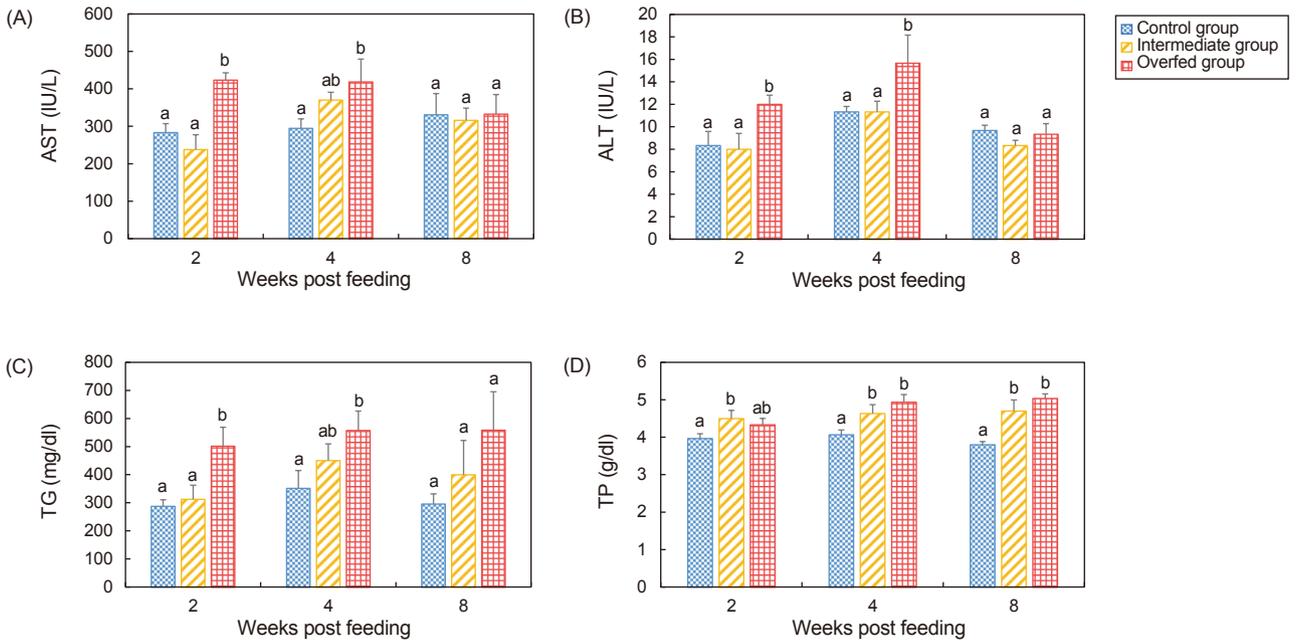


Fig. 2. Serological changes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* after overfeed. AST, Aspartate aminotransferase; ALT, Alanine aminotransferase; TG, Triglyceride; TP, Total protein. Different letters indicate statistically significant difference determined by Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

확인할 수는 없었다(Fig. 1C). BMI의 경우 4와 8 wpf의 OF 그룹이 C와 IM 그룹에 비해 유의적으로 높게 나타났으나 IM과 C 그룹 간의 차이가 없었다(Fig. 1D). 사료효율 측면에서 보았을

때, IM그룹이 4, 8 wpf에서 유의적으로 높게 나타났으며, 일간 성장률에서는 2, 8wpf에서 OF그룹이 유의적으로 높은 것으로 나타났다(Supplementary Table 1).

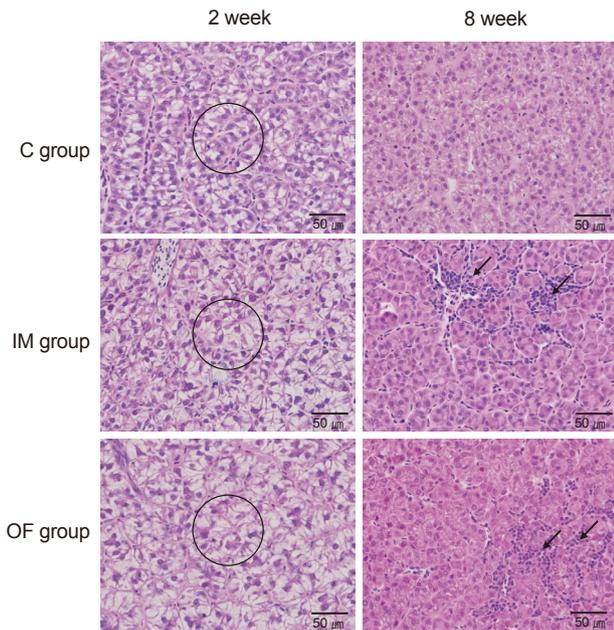


Fig. 3. Histological changes in the liver of fish in the C, IM and OF groups sampled at week 2 and 8. HE stain. Scale bars indicate 50 μ m. The volume of hepatocytes was remarkably increased in the IM and OF group sampled week 2 (circles, decreased cell number in IM and OF groups compared to C group). The infiltration of inflammatory cells around cloudy hepatocytes was recognized in the IM and OF groups sampled week 8. Arrows indicate the inflammatory cells. C, Control; IM, Intermediate; OF, Overfed.

혈청학적 변화 분석

2, 4 wpf에서 AST, ALT, TG 값은 C 그룹의 어류에 비해 OF 그룹에서 유의적으로 높게 나타났다. TP의 경우 4와 8 wpf에서 OF 그룹의 어류가 C 그룹에 비해 유의적으로 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 실험 초기인 2 wpf에 샘플링된 OF 그룹은 IM 그룹에 비해 AST, ALT 값이 유의적으로 높게 나타났으나 4 wpf 이후에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2).

무지개송어의 조직학적 변화

무지개송어 외부 및 내부 장기에 대한 광학 현미경적 관찰 결과, 간장과 아가미에서 유의한 변화가 관찰되었다. 과도한 사료 공급에 의한 간장의 조직학적 변화는 크게 간세포 실질의 변화와 간염이었다. C 그룹의 어류는 먹이 공급 기간과 상관없이 정상적인 간장 구조를 유지하고 있었으나, IM 및 OF 그룹에서는 2주에 전반적인 간세포의 크기가 커지고 4주와 8주째에는 간세포의 세포질이 혼탁해지고 호산성의 과립이 충전해지는 경향을 보였다. 특히, IM 및 OF 그룹에서는 4주 이후 간 실질 및 소담관 주위에 염증성 세포가 침윤하는 다발성 간염 및 담관 주위염이 발생하였다(Fig. 3). 과도한 먹이 공급에 의한 조직학적 변화는 간장 이외의 장기에서는 관찰할 수 없었다.

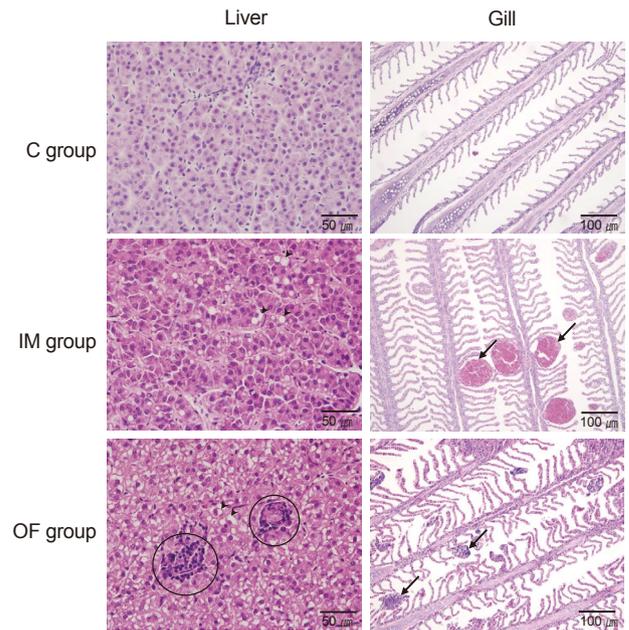


Fig. 4. Histological changes in the liver (Scale bars, 50 μ m) and gill(Scale bars, 100 μ m) of fish exposed to dph 5 heat stress. The fatty change of liver was recognized in the IM and OF groups (arrowheads, lipid vacuoles, circles, the infiltration of inflammatory cells). The aneurysm of gill lamellae (arrows) was showed in the IM and OF groups. IM, Intermediate; OF, Overfed.

8주간의 사료 공급 후 고수온 스트레스에 노출시킨 결과, IM 및 OF 그룹의 간장에서 간세포 세포질의 혼탁, 다발성 간염 및 담관 주위염의 경향은 이어지고 있었다. 다만, 이들 그룹에서 대조군과는 달리 120시간 이후 간세포 내 경계가 명확한 지방 방울이 형성되는 지방변성(fatty change)이 발생하여 240시간까지 확인되었다. 또한, 고수온 스트레스에 노출시킨 IM 및 OF 그룹의 아가미에서는 24시간부터 다발성 동맥류(aneurysm)가 다수의 개체에서 확인되었다. 아가미 동맥류는 OF 그룹에서 그 정도가 가장 심했으며 240시간까지 확인되었다(Fig. 4). 이외의 장기에서는 특기할 만한 조직학적 변화는 없었다.

고수온에 노출된 무지개송어의 혈청학 지표 변화

고수온 스트레스에 노출된 기간 동안 C와 IM 그룹의 누적 폐사율은 각각 5%와 0%를 나타내었으나 OF 그룹은 15%로 가장 높았다. 전반적으로 OF 그룹의 간 건강의 지표인 AST와 ALT 수치는 C와 IM 그룹의 어류에 비해 유의적으로 높아(Fig. 5) 수온 상승 스트레스에 좀 더 취약하다는 것을 보여주고 있다. 또한 OF 그룹의 LDH값(dph 10)도 타 그룹에 비해 유의적으로 높아 간 수치의 증가와 일맥상통한 결과를 보여주고 있다.

고찰

FAO (2021)는 14°C에서 사육되는 무지개송어의 사료 공급

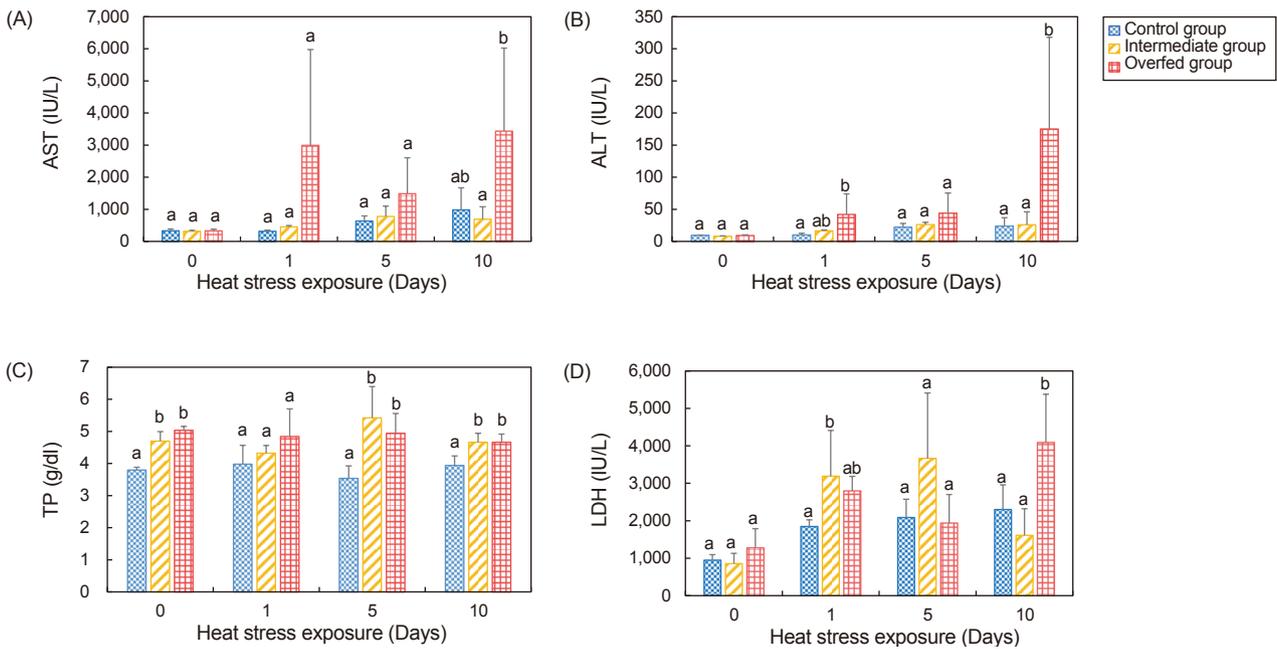


fig. 5. Serological changes of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in a high temperature stimulation after 8 weeks of overfeed. AST, Aspartate aminotransferase; ALT, Alanine aminotransferase; TP, Total protein; LDH, Lactate dehydrogenase. Different letters indicate statistically significant difference determined by Duncan's multiple range test (P<0.05).

량을 체중 50–60g 기준으로 체중 kg 당 1.43%로 권장하고 있다. 이는 우리나라의 무지개송어 권고 공급량(NIFS, 2017)인 1.7–1.85%보다는 다소 낮음을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 대조군(C그룹)의 공급량을 실험 기간 내내 약 1.5%로 유지하였으며 정확한 사료 공급량의 측정을 위해 투여 후 30분 이내에 먹지 않은 사료를 수거하는 방법으로 수행하였다. 다만 C 그룹과 IM 그룹은 사료 공급량이 실험 기간 내내 일정하게 유지된 반면 OF 그룹은 첫 2주 동안 사료 공급율이 약 4%로 유지되다가 그 이후로 줄어드는 경향이 뚜렷했으며 특히 6–8주 구간에는 평균 사료 공급율이 2.4%로 첫 2주와 비교해 많이 낮았다. 결론적으로 본 연구의 IM과 OF 그룹은 C 그룹에 비해 각각 약 1.7배와 2배의 먹이를 섭취하였고 OF 와 IM 그룹의 체중은 C 그룹에 비해 각각 2주와 8주째 부터 유의적으로 증가하였다.

세계보건기구(World Health Organization, WHO)는 BMI를 이용하여 사람의 과체중(25 kg/m²)과 비만(30 kg/m²)을 구분하고 있다(WHO, 2000). 최근에 BMI를 어류에 적용하였으며 고지방식이나 과다 공급한 어류의 BMI가 대조군에 비해 유의적으로 높았다고(1.1–1.3배 증가) 보고하였다(Oka et al., 2010; Landgraf et al., 2017; Roh et al., 2020). 본 연구에서도 BMI를 측정된 결과 IM과 C 그룹 간에는 유의적인 차이를 나타내지 않았으나 OF 그룹의 BMI는 사료 공급 2주 후부터 다른 두 그룹에 비해 유의적으로 높음을 알 수 있었다. 이전 연구(Labruna et al., 2011; Landgraf et al., 2017)에 따르면 혈청 TG 값은 사람 뿐만 아니라 zebrafish에서도 비만의 마커로써 사용될 수 있음

을 보여주고 있다. TG는 지질의 한 종류로 세포 및 혈액에서 지방산의 주요 저장 및 수송형태이다(Alves-Bezerra et al., 2017). 복강 내 지방 조직에서 방출된 유리지방산은 문맥계를 통해 간으로 직접 배출되어 혈청의 TG를 증가시킨다(Wajchenberg et al., 2000). 본 연구에서 OF그룹 어류의 TG값의 유의적인 상승은 과다한 먹이 공급에 의한 지질의 축적에 기인한 것으로 보이며, 따라서 본 연구의 그룹에서 비만이 유도된 것을 확인할 수 있었다.

간의 손상은 혈청 내 AST와 ALT의 수치를 증가시키는 특성이 있다(Scheig, 1996; Lee et al., 2007). 간이 손상되면 아미노기 전이효소인 AST와 ALT가 혈액으로 분비되며 이 효소의 증가는 지방간, 간염 등 간의 이상을 잘 반영하므로 간 손상의 지표로 사용된다(Daniel et al., 1999; Huang et al., 2006). 본 연구에서도 OF그룹의 어류에서 AST와 ALT가 C와 IM 그룹의 어류에 비해 2주와 4주째에 유의적으로 높은 경향을 보였다. 이는 이전 연구에서 고지방 사료나 과다한 사료 공급을 한 쥐, 제브라피시 등에서 나타난 결과(Diniz et al., 2008; Landgraf et al., 2017)와 유사한 것을 확인할 수 있다. 반면 스트레스 인자이자 비만의 지표 중 하나인 혈중 내 glucose와 조직 손상의 지표로 LDH의 양을 측정하였을 때, OF 그룹에서 다른 구간에 비해 값이 증가하는 경향을 보였으나 유의적인 차이는 확인할 수 없었다(data not shown). 또한, 8주 차에서는 AST, ALT, TG의 유의적인 차이를 확인할 수 없었는데, 이는 실험이 진행되며 8주 차로 갈수록 OF 그룹 어류의 사료 공급율이 상당히 줄어드는 점과

연관이 있는 것으로 보인다.

간에서 다양한 원인으로 지방의 과다한 축적이 발생하면 간세포의 거대 공포성 지방증(macrovesicular steatosis)을 특징으로 하는 NAFLD가 발생한다(Kim et al., 2005; Weiß et al., 2014). 일반적으로 NAFLD 환자는 BMI와 전신 지방의 비율이 정상인에 비해 유의적으로 높다고 알려져 있다(Angulo et al., 1999). 이는 비만이 간 내에 지방을 침착하게 하고 결국 간 질환을 유도하기 때문이다. 비만이 유도된 설치류 간의 간 조직병리학적 변화를 보면, 염증세포의 침윤을 특징으로 하는 섬유성 및 염증성 변화를 관찰할 수 있었다(Küçük Kurt et al., 2010; Gedikli et al., 2017). 본 연구에서는 사료의 섭취량이 많을수록 간세포의 비대가 발생하여 간의 염증 정도가 심해지는 것을 확인할 수 있었으며, 특히 8주간의 먹이 공급 후 고수온 스트레스에 노출된 어류는 좀 더 심한 조직병리학적 변화가 관찰되었다. 이 결과는 비만이 유도된 어류가 정상 어류에 비해 환경 스트레스에 좀 더 취약하다는 것을 명확히 보여주고 있다. 이미 여러 연구를 통해 비만은 낮은 수준의 염증반응을 만성적으로 일으키며 생리·면역학적 불균형을 유발하여 스트레스 혹은 감염성 질병(H1N1, covid-19 등)에 더욱 취약하게 만드는 것으로 알려져 있다(Huttunen and Syrjänen, 2013; Jung et al., 2017; Kim and Nam, 2020).

어류는 수중 환경과 직접 접촉하기 때문에 수온에 민감하며 면역기능을 포함한 생리적 반응에 많은 영향을 받는다(Mikkelsen et al., 2006; Chen et al., 2021). 특히 무지개송어는 대표적인 냉수성 어종으로 서식이 가능한 수온 범위는 5–23°C이며 23°C 이상이 되면 산소 소비율, 호흡수, 헤모글로빈 함량에 변화를 일으켜 체내 항상성이 무너질 수 있다(So et al., 2008). Van et al. (2018)에 따르면 낮은 헤모글로빈 수치와 함께 비만이 산소 흡수 장애 및 이에 따른 산화 대사 능력 장애에 강력한 기여자라고 보고 하고 있으며, 어류에서도 호흡 장애를 유발할 수 있다(So et al., 2008). 본 연구에서 고수온 스트레스 노출 초기에 OF 그룹의 어류에서 특이하게 아가미 동맥류가 관찰되었는데 이는 본 연구에서 사용한 급격한 수온의 상승에 기인한 것으로 보인다. 이는 Roberts (2012)의 연구 결과에서 물리적, 화학적 요인에 의한 아가미의 병리조직학적 손상 결과와 일치한다. 고수온에 노출된 OF 그룹에서 가장 높은 폐사율을 기록했는데 이는 헤모글로빈 수치가 낮아져 있는 개체에 아가미의 손상도 함께 발생하여 심한 호흡곤란을 야기시켰을 것으로 추정되며 이는 높은 사망률과도 연관성이 있을 것으로 판단된다. 또한 이전 연구(Lu et al., 2016; Chai et al., 2017; Qiang et al., 2017)에서 밝혀졌듯이 heat stress로 인해 활성산소(reactive oxygen species)가 과잉 생성되어 체내의 지질, 단백질 및 DNA의 산화뿐만 아니라 항산화 효소의 파괴와 고갈을 초래하여 간에 손상을 일으키고 대사를 방해하였을 것으로 판단된다.

결론적으로 먹이의 과다한 공급이 지속되면 비만을 유도하고 이는 어류의 생리·면역학적으로 불균형을 초래하여 건강에 악

영향을 미치게 된다. 이로 인해 과체중이나 비만이 유도된 무지개송어의 간은 손상되며 현장에서 발생할 수 있는 각종 환경 스트레스에 좀 더 민감하고 취약한 상태가 되어 경제적인 손실을 초래할 가능성이 높다는 것을 보여주고 있다. 그러므로 본 연구는 체중을 고려한 적절한 사료 공급량은 어류의 건강 유지에 필수불가결한 요소 중의 하나라는 것을 보여주고 있으며 향후 무지개송어 양식장의 체계적인 사료 공급시스템 개발에 기여할 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 2022년도 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(2021R1F1A1062251).

References

- Adams KF, Schatzkin A, Harris TB, Kipnis V, Mouw T, Ballard-Barbash R, Hollenbeck A and Leitzmann MF. 2006. Overweight, obesity, and mortality in a large prospective cohort of persons 50 to 71 years old. *N Engl J Med* 355, 763-778. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa055643>.
- Ahmed A, Wong RJ and Harrison SA. 2015. Nonalcoholic fatty liver disease review: diagnosis, treatment, and outcomes. *Clin Gastroenterol Hepatol* 13, 2062-2070. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2015.07.029>.
- Alves-Bezerra M and Cohen DE. 2017. Triglyceride metabolism in the liver. In: *Comprehensive Physiology*. Pollock DM, ed. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170012>.
- Ammar NM, Farag MA, Kholeif TE, Metwally NS, El-Sheikh Nora, El Gendy AN and Abdel-Hamid AHZ. 2017. Serum metabolomics reveals the mechanistic role of functional foods and exercise for obesity management in rats. *J Pharm Biomed Anal* 142, 91-101. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.05.001>.
- Angulo P, Keach JC, Batts KP and Lindor KD. 1999. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 30, 1356-1362. <https://doi.org/10.1002/hep.510300604>.
- Bai M, Wang R, Zhu L, Li G, Yuan D, Wang L and Jin T. 2018. Age-related differences in limb fat-free mass and fat mass in healthy Chinese Adults. *Sci Rep* 8, 8013. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-25447-z>.
- Chai L, Chen A, Luo P, Zhao H and Wang H. 2017. Histopathological changes and lipid metabolism in the liver of *Bufo gargarizans* tadpoles exposed to Triclosan. *Chemosphere* 182, 255-266. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.040>.
- Chen Y, Liu E, Li C, Pan C, Zhao X, Wang Y and Ling Q. 2021. Effects of heat stress on histopathology, antioxidant enzymes, and transcriptomic profiles in gills of pikeperch *Sander lucioperca*. *Aquaculture* 534, 736277. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736277>.

- org/10.1016/j.aquaculture.2020.736277.
- Craig S, Helfrich LA, Kuhn D and Schwarz MH. 2017. Understanding Fish nutrition, Feeds, and Feeding. Virginia Cooperative Extension, Virginia Tech and Virginia State University, Blacksburg and Petersburg, VA, U.S.A., 1-5.
- Daniel S, Ben-Menachem T, Vasudevan G, Ma CK and Blumenkehl M. 1999. Prospective evaluation of unexplained chronic liver transaminase abnormalities in asymptomatic and symptomatic patients. *Am J Gastroenterol* 94, 3010-3014. [https://doi.org/10.1016/S0002-9270\(99\)00507-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9270(99)00507-9).
- Diniz YS, Burneiko RM, Seiva FR, Almeida FQ, Galhardi CM, Novelli Filho JLV and Novelli EL. 2008. Diet compounds, glycemic index and obesity-related cardiac effects. *Int J Cardiol* 124, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2006.12.025>.
- FAO (Food and Agriculture Organization). 2021. Guidelines for feed use in carp and trout production systems in Central Asia and Eastern Europe. In: FAO Fisheires and Aquaculture Circular. No. 1224. Shipton TA, ed. FAO, Rome, Italy.
- Foss B and Dyrstad SM. 2011. Stress in obesity: cause or consequence?. *Med Hypotheses* 77, 7-10. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2011.03.011>.
- Gedikli S, Ozkanla S, Gur C, Sengul E and Gelen V. 2017. Preventive effects of quercetin on liver damages in highfat diet-induced obesity. *J Histol Histopathol* 4, 7. <https://doi.org/10.7243/2055-091X-4-7>.
- Hasan MR and New MB. 2013. On-farm feeding and feed management in aquaculture. In: FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 583. FAO, Rome, Italy, 1-585.
- Huang XJ, Choi YK, Im HS, Yarimag O, Yoon E and Kim HS. 2006. Aspartate aminotransferase (AST/AST) and alanine aminotransferase (ALT/GPT) detection techniques. *Sensors* 6, 756-782. <https://doi.org/10.3390/s6070756>.
- Huttunen R and Syrjänen J. 2013. Obesity and the risk and outcome of infection. *Int J Obes* 37, 333-340. <https://doi.org/10.1038/ijo.2012.62>.
- Jung UJ, Lee JA and Bak KJ. 2017. Differences in stress resistance level felt by obese and normal child, and their level of obesity. *J Korea Aca Ind Coop Soc* 18, 346-351. <https://doi.org/10.5762/KAIS.2017.18.12.346>.
- Kim J and Nam JH. 2020. Insight into the relationship between obesity-induced low-level chronic inflammation and COVID-19 infection. *Int J Obes* 44, 1541-1542. <https://doi.org/10.1038/s41366-020-0602-y>.
- Kim JW, Lee HN, Jee BY, Woo SH, Kim YJ and Lee MK. 2012. Monitoring of the mortalities in the aquaculture farms of South Korea. *J Fish Pathol* 25, 271-277. <https://doi.org/10.7847/jfp.2012.25.3.271>.
- Kim KO, Park SH, Park CH, Han TH, Yoo KS, Kim JH, Lee MS, Park CK and Cho HD. 2005. Relationship between the severity of liver damage and the serum leptin level for non-alcoholic fatty liver disease. *Korean J Hepatol* 11, 51-58.
- Kim SS, Song JW, Lim SJ, Jeon, JB, Jeon YJ, Yeo IK and Lee KJ. 2010. Effects of dietary supplementation of fermented garlic powder on immune responses, blood components, and disease resistance against principal fish disease of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in low temperature season. *J Anim Sci Technol* 52, 337-346. <https://doi.org/10.5187/JAST.2010.52.4.337>.
- Korea Maritime Institute. 2020. Ocean and Fisheries Prospect Conference. Retrieved from <https://www.kmi.re.kr/> on Dec 27, 2021.
- Küçük Kurt I, Ince S, Keleş H, Akkol EK, Avcı G, Yeşilada E and Bacak E. 2010. Beneficial effects of *Aesculus hippocastanum* L. seed extract on the body's own antioxidant defense system on subacute administration. *J Ethnopharmacol* 129, 18-22. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.02.017>.
- Labruna G, Pasanisi F, Nardelli C, Caso R, Vitale DF, Contaldo F and Sacchetti L. 2011. High leptin/adiponectin ratio and serum triglycerides are associated with an "at-risk" phenotype in young severely obese patients. *Obesity* 19, 1492-1496. <https://doi.org/10.1038/oby.2010.309>.
- Landgraf K, Schuster S, Meusel A, Garten A, Riemer T, Schleinitz D, Wieland K and Körner A. 2017. Short-term overfeeding of zebrafish with normal or high-fat diet as a model for the development of metabolically healthy versus unhealthy obesity. *BMC Physiol* 17, 1-10. <https://doi.org/10.1186/s12899-017-0031-x>.
- Lee SH, Kim MH, Park MN and Lee YS. 2007. Effects of genistein supplementation on fatty liver and lipid metabolism in rats fed high fat diet. *J Nutr Health* 40, 693-700.
- Liu W, Xu J, Dai T, Shen G and Feng J. 2021. An integrating strategy for serum metabolomics and microarray analysis to expand the understanding of diet-induced obesity. *Anal Methods* 13, 3127-3135. <https://doi.org/10.1039/D1AY00821H>.
- Lu Y, Wu Z, Song Z, Xiao P, Liu Y, Zhang P and You F. 2016. Insight into the heat resistance of fish via blood: Effects of heat stress on metabolism, oxidative stress and antioxidant response of olive flounder *Paralichthys olivaceus* and turbot *Scophthalmus maximus*. *Fish Shellfish Immunol* 58, 125-135. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2016.09.008>.
- Mikkelsen H, Lindenstrøm T and Nielsen ME. 2006. Effects of temperature on production and specificity of antibodies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J World Aquac Soc* 37, 518-522. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2006.00065.x>.
- NIFS (National Institute of Fisheries Science). 2017. Standard Aquaculture Manual of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). Retrieved from https://www.nifs.go.kr/page?id=aq_aqu_farm on Mar 21, 2021.
- Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD and Flegal KM. 2007. The epidemiology of obesity. *Gastroenterology* 132, 2087-2102. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.052>.

- Oka T, Nishimura Y, Zang L, Hirano M, Shimada Y, Wang Z, Umemoto N, Kuroyanagi J, Nishimura N and Tanaka T. 2010. Diet-induced obesity in zebrafish shares common pathophysiological pathways with mammalian obesity. *BMC Physiol* 10, 1-13. <https://doi.org/10.1186/1472-6793-10-21>.
- Pan MH, Yang G, Li S, Li MY, Tsai ML, Wu JC, Badmaev V, Ho CT and Lai CS. 2017. Combination of citrus polymethoxyflavones, green tea polyphenols, and Lychee extracts suppresses obesity and hepatic steatosis in high-fat diet induced obese mice. *Mol Nutr Food Res* 61, 1601104. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201601104>.
- Qiang J, Bao WJ, Tao FY, He J, Li XH, Xu P and Sun LY. 2017. The expression profiles of miRNA-mRNA of early response in genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver by acute heat stress *Sci Rep* 7, 8705. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09264-4>.
- Roberts RJ. 2012. *Fish Pathology*. John Wiley and Sons, Hoboken, NJ, U.S.A.
- Roh HJ, Park JY, Kim AR, Kim NE, Lee YH, Kim BS, Vijayan J, Lee MK, Park CI and Kim DH. 2020. Overfeeding-induced obesity could cause potential immuno-physiological disorders in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animals* 10, 1499. <https://doi.org/10.3390/ani10091499>.
- Scheig R. 1996. Evaluation of tests used to screen patients with liver disorders. *Prim Care Clin Off Pract* 23, 551-560. [https://doi.org/10.1016/S0095-4543\(05\)70347-X](https://doi.org/10.1016/S0095-4543(05)70347-X).
- Sinha R and Jastreboff AM. 2013. Stress as a common risk factor for obesity and addiction. *Biol Psychiatry* 73, 827-835. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.01.032>.
- So SY, Hur JW and Lee JY. 2008. Variation of oxygen consumption, operculum movement number and hemoglobin by water temperature change in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Korean J Ichthyol* 20, 239-247.
- Sun B and Karin M. 2012. Obesity, inflammation, and liver cancer. *J Hepatol* 56, 704-713. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2011.09.020>.
- Taddese F, Huh MD, Bai SC and Vijverberg J. 2014. Histological changes of liver in overfed young Nile tilapia. *J Fish Aquatic Sci* 9, 63-74. <https://doi.org/10.3923/jfas.2014.63.74>.
- Van Iterson EH, Kim CH, Uithoven K and Olson TP. 2018. Obesity and hemoglobin content impact peak oxygen uptake in human heart failure. *Eur J Prev Cardiol* 25, 1937-1946. <https://doi.org/10.1177/2047487318802695>.
- Wajchenberg BL. 2000. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev* 21, 697-738. <https://doi.org/10.1210/edrv.21.6.0415>.
- Weiß J, Rau M and Geier A. 2014. Non-alcoholic fatty liver disease: epidemiology, clinical course, investigation, and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 111, 447-452. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2014.0447>.
- West-Eberhard MJ. 2019. Nutrition, the visceral immune system, and the evolutionary origins of pathogenic obesity. *Proc Natl Acad Sci* 116, 723-731. <https://doi.org/10.1073/pnas.1809046116>.
- White P. 2013. Environmental consequences of poor feed quality and feed management. In: *FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 2013*. Hasan M and New MB, eds. Manila, Philippines, 553-564.
- WHO (World Health Organization). 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. In: *WHO technical report series*. No. 894. WHO, Geneva, Switzerland, 1-252.

부 록

Supplementary Table 1. Rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* growth performance (mean±S.D.) according to feed rate for 8 weeks

Week	Groups	FCR ¹	FE (%) ²	DGR ³	SGR (%) ⁴
2	Control group	0.79±0.87	228.1±128.4	2.23±1.09 ^a	2.74±1.44 ^a
	Intermediate group	0.56±0.30	210.2±83.8	2.70±0.77 ^{ab}	3.39±1.15 ^{ab}
	Overfed group	0.56±0.34	216.3±82.3	3.85±0.94 ^b	5.48±1.70 ^b
4	Control group	0.96±0.28	112.4±36.9	1.47±0.28 ^a	1.87±0.47 ^a
	Intermediate group	1.10±0.79	115.2±43.8	1.69±0.47 ^{ab}	2.28±0.75 ^{ab}
	Overfed group	1.51±1.22	90.9±41.8	2.13±0.58 ^b	3.27±1.17 ^b
8	Control group	0.85±0.25 ^{ab}	126.6±42.8 ^{ab}	0.99±0.33 ^a	1.49±0.64 ^a
	Intermediate group	0.73±0.21 ^a	145.3±33.3 ^b	1.31±0.11 ^{ab}	2.27±0.33 ^{ab}
	Overfed group	1.08±0.23 ^b	95.9±18.6 ^a	1.43±0.07 ^b	2.71±0.29 ^b

¹Feed coefficient ratio (FCR)=dry feed intake/(Final weight-Initial weight). ²Feed efficiency ratio (FE, %)=[(Final weight-Initial weight)/dry feed intake]×100. ³Daily growth rate (DGR)=(total weight gain×100)/[(initial total weight+final total weight+dead fish wt.)/2]×days fed]. ⁴Specific growth rate (SGR, %)=(log_e final wt.-log_e initial wt.)×100/days. FCR, Feed coefficient ratio; FE, Feed efficiency ratio; DGR, Daily growth rate; SGR, Specific growth rate. Different letters indicate statistically significant difference determined by Duncan's multiple range test (P<0.05).