

## 수산양식에서 친환경성 약제개발을 위한 항병성 생약소재의 검토

전은지 · 이남실 · 서정수\* · 정승희\*\* · 김명석\*\* · 강소영\*\*\* · 김나영†  
국립수산과학원(연구원) · \*†국립수산과학원(연구사) · \*\*국립수산과학원(연구관) ·  
\*\*\*전남대학교(교수)

### Study of Anti-pathogenic Herbal materials for the Eco-friendly drugs in Aquaculture

Eun-Ji JEON · Nam-Sil LEE · Jung-Soo SEO\* · Sung-Hee JUNG\*\* · Myung-Sug KIM\*\* ·  
So-Young KANG\*\*\* · Na-Young KIM†

National Institute of Fisheries Science(researcher) · \*†National Institute of Fisheries Science(senior researcher) ·  
\*\*National Institute of Fisheries Science(director) · \*\*\*Cheon-nam National University(professor)

#### Abstract

This study is examination about herb medicines that counters the effects of a fish pathogens, and is for eco-pharmaceutical development in aquaculture industry. 13 kinds of herb medicines were selected, and the hot water extracts and ethanol extracts were tested for antibacterial, antiparasitic, antifungal and antiviral effects. Minimal inhibitory concentration (MIC) of 13 kinds of candidate herb medicines were measured, above all, hot water and ethanol extracts of In-jin (1/10 and 1/10<sup>2</sup> dilution) showed antibacterial activities against 14 kinds of fish pathogenic bacteria. Hot water extract and ethanol extract of Dang-gwi showed antiparasitic and antifungal activities, and the extract had strong antifungal activity especially (~1/10<sup>3</sup> dilution). In antiviral activity against VHSV (Viral hemorrhagic septicemia virus), hot-water and ethanol extract of In-jin and Dang-gwi were effective down to 1/10<sup>3</sup> dilution. From these results, In-jin and Dang-gwi were selected as effective herbs among 13 kinds of herb medicines and further study on the synergy effect using combination with in-jin and dang-gwi against fish pathogens will be applied to fish immune response.

**Key words :** Aquaculture, Anti-pathogen, Fish pathogen, Herb medicine, MIC(minimum inhibition concentration)

#### I. 서론

생활에서 식품소재로 사용되는 마늘, 파, 정유 성분, 솔잎, 녹차, 우롱차 및 홍차와 같은 다양한 식물추출물에 대한 항균활성이 다수의 연구를 통하여 밝혀져 있다(Yeo et al., 1995; Choi et al.,

1997; Park et al., 1999). 한의학에서 주로 사용하는 생약의 경우도 사람의 기운을 북돋워주고 면역기능을 향상시켜 병에 대한 저항성을 강화시켜 주기 위해 주로 사용되며, 경우에 따라서는 치료에도 활용하는데 이는 이들이 여러 다양한 약효 성분을 함유하고 있기 때문이다(Kim, 2011;

† Corresponding author : 051-720-2491, pharm001@korea.kr

\* 이 논문은 국립수산과학원 수산시험연구사업(R2020059)에 의해 수행되었음.

NIFDS, 2019).

1990년대부터 고밀도 수산양식에서 발생하는 다양한 질병을 예방하고 치료하기 위해 사용되던 약품의 사용이 내성균 발생과 인체에 유해한 성분의 검출 등으로 그 심각성이 드러나면서 이를 대체할 친환경적인 소독제 및 치료약제의 개발이 절실히 요구되어 천연물로부터 이러한 물질을 찾아내어 활용하고자 하는 움직임이 높아졌다. 더불어 인체에 사용되는 생약이나 한약재와 같은 천연약용식물 자원으로부터 어류질병의 예방을 위한 기능성 사료첨가제 또는 항생제를 대체할 수 있는 수산용 의약품을 개발·활용하고자 하는 연구도 활발히 진행되기 시작하였다(Sohn, 1999; Kim et al., 1999; Kwon et al., 1999; Hwang et al., 1999). Jung et al.(2001)은 한방에서 쓰이는 생약 가운데 항균성, 살균능력 및 면역증진의 기능이 있다고 알려져 있는 14종을 선정하여 어병균주 10균주에 대한 항균력과 넓치 식세포의 활성을 조사하였다. 이후 약쑥, 연교, 삼지구엽초(Jung et al., 2002), 오배자(Choi et al., 2004; 2005), 오매(Kim et al., 2009), 황금(Lee et al., 2010), 황금뿌리(Seo et al., 2012), 고삼뿌리(Seo et al., 2015) 등 생약의 효능을 양식 수산생물에 활용하고자 하는 연구가 지속적으로 이루어지고 있다.

본 연구에서는 항균효과가 높다고 알려졌으나 어류에 대해서 연구가 미비한 생약 중 품목허가 취득 후 수산용 의약품으로 개발이 가능한 후보 물질을 대상으로 연구를 하였다. 특히 의약품으로 개발되어 어류에 투여시 사람이 섭취하더라도 문제가 되지 않는 13종의 생약을 선정하여 열수 추출 혹은 에탄올 추출하였다. 추출물의 어병세균에 대한 항균력을 조사하기 위해 대표적인 14종의 어병세균을 선정하여 항균활성을 측정하였고, 추가적으로 항기생충 활성, 항진균 활성, 항바이러스 활성을 측정하여, 수산생물병원체에 대한 항병원성을 조사하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 생약소재 선정

효능과 안전성이 확보된 생약 중 시중에서 많이 이용하고 판매중이며, 기존에 Choi et al.(2004)에서 연구된 생약소재를 제외하고 항생제 대체제로 개발 가능성이 높은 생약소재 13종을 후보물질로 선정하여 실험에 사용하였다. 선정된 13종(길경, 당귀, 마치현, 맥문동, 산미나리, 산약, 인진, 야관문, 작약, 천궁, 치자, 하수오, 헛개나무)의 학명과 사용부위를 <Table 1>에 정리하였고, 이 생약들은 대한민국 생약으로 가능한 물질 중에서 대한민국약전의 한약규격집에 등재된 성분을 대상으로 선정하였다.

### 1. 생약 추출물(Herbal extract) 분리 방법

생약소재는 사용 전에 증류수로 깨끗하게 씻어 수분을 날린 후 사용하였다. 열수 추출물은 생약 중량 10 g에 증류수(DW) 100 ml로 6시간 동안 끓여 농축된 원액을 사용하였고, 에탄올 추출물은 생약 10 g을 99.9 % 에탄올로 각각 초음파 추출(3회 반복) 한 후, 농축 잔류물을 증류수 10 ml에 녹여 추출물 원액으로 사용하였다.

### 2. 항균활성 측정

14종의 어병세균(<Table 2>)에 대한 항균활성은 MIC(Minimal inhibitory concentration)법을 사용하였다. 각 어병세균에 대하여 0.5 McFland standard와 동일하도록 농도를 조절하였으며(Koneman et al., 1997), 농도로 맞춰진 균액과 단계별 희석농도(1/10, 1/10<sup>2</sup>, 1/10<sup>3</sup>, 1/10<sup>4</sup>)로 조절된 생약 추출물 첨가액을 동량(1:1)으로 배합하여 25 °C에서 overnight 배양한 후 0.2 mg의 p-iodonitrotetrazolium violet을 첨가하여 2시간 동안 배양하였다. 그 후 붉은색으로 발색되지 않는 최소억제농도(MIC)를 조사하였다(Langfield et al., 2004).

<Table 1> 13 kinds of tested herb medicines in the study

	Korean name	Scientific name	used part
1	Gil-gyeong(길경)	<i>Platycodon grandiflorum</i> A.DC	root
2	Dang-gwi(당귀)	<i>Angelicae gigantis</i> Radix	root
3	Ma-chi-hyeon(마치현)	<i>Portulaca oleracea</i> L.	leaf, stem
4	Mac-moon-dong(맥문동)	<i>Liriope platyphylla</i>	root
5	San-minari(산미나리)	<i>Aegopodium podagraria</i>	leaf, stem
6	San-yac(산약)	<i>Dioscorea batatas</i> D.	root
7	In-jin(인진)	<i>Artemisia iwayomogi</i> Kitamura	leaf, stem
8	Ya-gwan-moon(야관문)	<i>Lespedeza cuneata</i>	leaf, stem
9	Jag-yak(작약)	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	root
10	Chun-goong(천궁)	<i>Cnidium officinale</i> Makino	root
11	Chi-ja(치자)	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	fruit
12	Ha-soo-o(하수오)	<i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg	root
13	Heo-ke-namu(헛개나무)	<i>Hovenia dulcis</i>	branch

<Table 2> Antimicrobial activity of In-jin(*Artemisia iwayomogi* Kitamura) extracts against 14 fish pathogenic bacterias

strain	Hot-water extract dilution				Ethanol extract dilution			
	1/10	1/10 <sup>2</sup>	1/10 <sup>3</sup>	1/10 <sup>4</sup>	1/10	1/10 <sup>2</sup>	1/10 <sup>3</sup>	1/10 <sup>4</sup>
1 <i>Edwardsiella tarda</i> (GY-01)	+	+	-	-	+	+	-	-
2 <i>E. tarda</i> (FP5060)	+	-	-	-	+	-	-	-
3 <i>Vibrio ichthyenteri</i> (FP4004)	+	+	-	-	+	+	-	-
4 <i>V. harveyi</i> (KCCM40866)	+	+	-	-	+	+	-	-
5 <i>V. harveyi</i> (FP4208)	+	+	-	-	+	+	-	-
6 <i>Photobacterium damsela</i> (ATCC33539)	+	+	-	-	+	+	-	-
7 <i>P. damsela</i> (FP3325)	+	+	-	-	+	+	-	-
8 <i>Streptococcus iniae</i> (FP5228)	+	+	-	-	+	+	-	-
9 <i>S. iniae</i> (KCTC3652)	+	+	-	-	+	+	-	-
10 <i>S. parauberis</i> (FP4123)	+	+	-	-	+	+	-	-
11 <i>S. parauberis</i> (KCTC3651)	+	+	-	-	+	+	-	-
12 <i>Latococcus garvieae</i> (FP4066)	+	+	-	-	+	+	-	-
13 <i>L. garvieae</i> (ATCC49156)	+	+	-	-	+	+	-	-
14 <i>L. raffinose</i> (KCTC3509)	+	+	-	-	+	+	-	-

3. 향기생충 활성 측정

생약의 향기생충 활성을 조사하기 위해 해산 양식어에서 대표적으로 나타나는 기생충인 스쿠

티카충(*Miamiensis avidus*)을 실험에 사용하였다. 넙치에서 분리 후 본 연구실에서 배양 중인 스쿠티카충을 어류세포주(CHSE-214)에 접종하여 20

℃에서 3~5일정도 배양하였다. 배양된 스키티카충을 동량의 농도별 생약 추출물(1/10, 1/10<sup>2</sup>, 1/10<sup>3</sup>, 1/10<sup>4</sup>)에 첨가하여 20 ℃배양기에서 10분, 20분, 30분, 1시간, 2시간 3시간 간격으로 살충여부(충체의 사멸정도, 움직임, 세포질 파괴정도)를 관찰하였다.

#### 4. 항진균 활성 측정

항진균 활성을 조사하기 위하여 뱀장어에서 분리된 수생균(*Saproleginia* spp.)을 사용하였다. SDB(Sabouraud dextrose broth)에 생약 추출물을 농도별(1/10, 1/10<sup>2</sup>, 1/10<sup>3</sup>, 1/10<sup>4</sup>)로 첨가한 배지와 첨가하지 않은 일반 SDB를 제조한 후, 전배양한 수생균 한천조각을 동일한 크기로 준비하여 접종하고 15 ℃에서 일주일 동안 배양하면서 수생균의 발육을 관찰하였다. 추출물 첨가 없이 배양한 대조구의 수생균의 발육상태와 생약 추출물이 함유된 배지에서의 발육정도를 군사가 자라는 길이(cm)로 비교하였다.

#### 5. 항바이러스 활성 측정

항바이러스 활성에 대한 조사에는 어류주화세포(CHSE-214)에 농도별로 희석한 생약 추출물(1/10, 1/10<sup>2</sup>, 1/10<sup>3</sup>, 1/10<sup>4</sup>)을 함유한 배지를 첨가하고 넙치에서 분리한 VHSV(Viral hemorrhagic septicemia virus)를 TCID<sub>50</sub>농도로 접종하여 15 ℃ 배양기에서 1주일간 배양하면서 CPE(cytopathic effect, 세포변성효과) 생성 여부를 관찰하였다.

### III. 결과 및 고찰

#### 1. 항균활성 측정 결과

13종의 생약 추출물에 대한 항균활성은 인진을 제외하고 나머지 생약에서 항균활성이 미비하게 나타났다. 인진의 경우 어병세균 14종에 대한 항

균활성 조사 결과, 열수 추출물과 에탄올 추출물이 동일하게 *E. tarda*를 제외한 13균주에서 1/10 및 1/10<sup>2</sup> 희석에서 유효한 항균효과(MIC)를 나타내어 높은 항균활성을 보였으나, *E. tarda*균에서만 1/10 희석에서 항균활성을 나타냈다 (<Table 2>). 13종의 후보물질 중에서 인진이 항균활성이 가장 높게 나타나 항균물질로 선정하였다.

#### 2. 항기생충 활성 측정 결과

13종의 생약 추출물에 대한 항기생충 활성에 대해서는 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두 길경, 인진, 당귀의 추출물에 대해서만 그 효과를 확인할 수 있었고, 나머지 10종에 대해서는 효과가 없는 것으로 나타났다(<Table 3>). 길경, 인진, 당귀의 1/10 희석농도에서는 10분 처리에도 기생충이 세포질이 터지고 모두 사멸하는 효과를 보였고, 그 중 당귀 추출물을 1/10<sup>3</sup> 희석농도에서 3시간 동안 반응시켰을 때 기생충의 활성이 20% 저하되었으며, 1/10<sup>2</sup> 희석농도에서는 기생충 활성이 40%까지 저하되어 당귀가 후보물질 중에서 항기생충 효능이 가장 높게 나타났다.

#### 3. 항진균 활성 측정결과

13종의 생약 열수 추출물에 대한 항진균 활성에 대해서는 일반 SDB배지에 수생균만 접종한 대조구와 비교하여 군사의 성장이 절반 이하로 억제되는 것을 항진균 활성의 기준으로 판단하였다. 그 중 인진, 치자, 작약 그리고 마치현의 경우 1/10 희석농도에서, 그리고 당귀 열수 추출물은 1/10<sup>2</sup> 희석농도에서 항진균 활성이 나타났다.

에탄올 추출물의 경우는 인진, 당귀 및 작약에서 1/10<sup>2</sup>, 1/10<sup>3</sup> 희석농도에서 항진균 활성을 나타냈으며, 효능성을 나타낸 후보물질 중에서 당귀가 항진균 활성이 가장 높게 나타났다(<Table 4>).

<Table 3> Mortality assay of *Miamiensis avidus* containing different concentrations of 3 effective natural herbs extracts

Herb	HW or Et-OH extracts dilution	Treated time					
		10min.	20min.	30min.	1h.	2h.	3h.
Gil-gyeong	1/10	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>
	1/10 <sup>2</sup>	70% a	60% a	60% a	60% a	60% a	60% a
	1/10 <sup>3</sup>	a	a	a	a	a	a
	1/10 <sup>4</sup>	a	a	a	a	a	a
In-jin	1/10	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>
	1/10 <sup>2</sup>	a	a	a	a	a	a
	1/10 <sup>3</sup>	a	a	a	a	a	a
	1/10 <sup>4</sup>	a	a	a	a	a	a
Dang-gwi	1/10	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>	<b>D</b>
	1/10 <sup>2</sup>	a	90% a	80% a	70% a	60% a	40% a
	1/10 <sup>3</sup>	a	a	90% a	80% a	80% a	80% a
	1/10 <sup>4</sup>	a	a	a	a	a	a

\* HW; hot water, Et-OH; ethanol, D: death, a: activity

<Table 4> Antifungal activity of *Saprolegnia* spp. in test tubes containing different concentrations of 5 effective natural herbs extracts

Herb	dilution	length of hypha(cm)							
		1d.		2d.		3d.		4d.	
Control		1.3		2.6		3.9		5.4	
		HW	Et-OH	HW	Et-OH	HW	Et-OH	HW	Et-OH
In-jin	1/10	0	0	0.3	0	0.6	0	1.0	0
	1/10 <sup>2</sup>	1.0	0.3	2.0	0.7	3.2	1.1	1.5	1.7
	1/10 <sup>3</sup>	1.3	1.3	2.6	2.6	3.9	3.9	5.4	5.4
	1/10 <sup>4</sup>	1.3	1.3	2.6	2.6	3.9	3.9	5.4	5.4
Chi-ja	1/10	0	0	1.1	0	1.6	0	2.0	0
	1/10 <sup>2</sup>	1.1	0.6	2.5	1.6	3.8	2.7	5.1	3.4
	1/10 <sup>3</sup>	1.3	1.3	2.6	2.6	3.9	3.9	5.4	5.4
	1/10 <sup>4</sup>	1.3	1.3	2.6	2.6	3.9	3.9	5.4	5.4
Dang-gwi	1/10	0	0	0.7	0	0.8	0	1.2	0
	1/10 <sup>2</sup>	0	0	0.8	0.5	1.2	0.7	2.5	1.0
	1/10 <sup>3</sup>	1	0.9	2.2	0.8	3.3	1.3	4.7	1.7
	1/10 <sup>4</sup>	1.3	1.3	2.6	2.6	3.9	3.9	5.4	5.4
Ja-gyak	1/10	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10 <sup>2</sup>	1.3	0	2.6	0	3.9	0	5.4	0
	1/10 <sup>3</sup>	1.3	0.9	2.6	2.0	3.9	3.2	5.4	5.4
	1/10 <sup>4</sup>	1.3	1.3	2.6	2.6	3.9	3.9	5.4	5.4
Ma-chi-hyeon	1/10	0	0	0	0	0	0	0	0
	1/10 <sup>2</sup>	1.3	1.0	2.6	2.0	3.9	2.9	5.4	3.9
	1/10 <sup>3</sup>	1.3	1.0	2.6	2.6	3.9	3.9	5.4	5.4
	1/10 <sup>4</sup>	1.3	1.3	2.6	2.6	3.9	3.9	5.4	5.4

\* HW; hot water, Et-OH; ethanol

#### 4. 항바이러스 활성 측정결과

CHSE-214 어류 주화세포주에 VHS 바이러스를 접종하여 1주일 동안 세포변성(CPE)을 관찰한 결과, 13종의 생약 추출물 가운데 인진 열수 추출물과 에탄올 추출물에서  $1/10^3$  희석농도까지 CPE가 관찰되지 않았고([Fig. 1]), 당귀 열수 추출물 및 에탄올 추출물에서도  $1/10^3$  희석농도까지 CPE가 관찰되지 않았다. 나머지 11종의 생약 추출물에서는 항바이러스 효과가 없는 것으로 확인되어 인진과 당귀가 항바이러스 효능이 있는 것으로 나타났다.

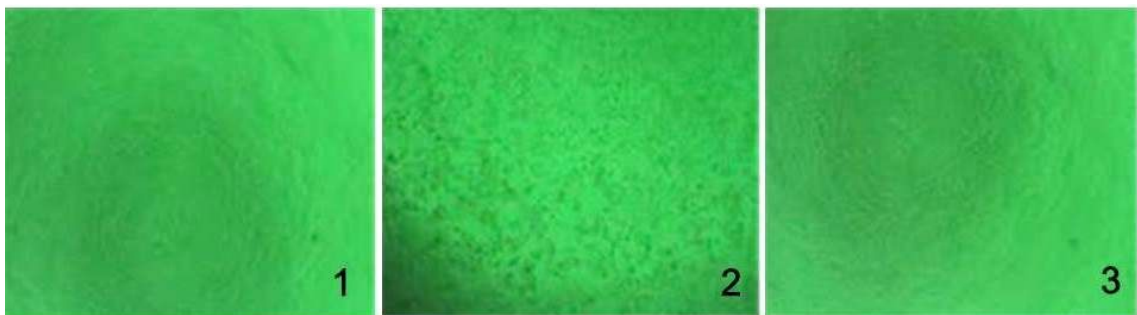
항균 활성은 인진에서만 확인되었고, 항기생충 활성은 길경, 인진, 당귀에서 효능이 확인되었으며 이 중에서 당귀의 효능이 가장 좋았다. 항진균 활성은 인진, 치자, 당귀, 작약, 마치현에서 효능을 나타내었지만, 당귀가 가장 높은 효능을 나타내었고, 항바이러스 활성은 인진과 당귀에서만 확인되었다. 이상의 결과에서 본 연구에서 검토한 13종의 생약 가운데 수산생물병원체들을 구제하는데 높은 효능을 나타낸 것은 인진과 당귀였다. 열수 추출물과 에탄올 추출물이 병원체에 대한 효능에서는 차이를 보이지 않았지만 진균에 대해서는 열수 추출물보다 에탄올 추출물이 조금 더 높은 효능을 나타내었다.

생약 추출물의 경우 추출방법이나 추출부위에 따라 주요성분에 차이를 보이는 것이 일반적이다

(Gergerson et al., 2005; Hu et al., 2009; Heo et al., 2010). 본 연구에 사용된 인진(*Artemisia iwayomogi* Kitamura; 한인진=더위지기)의 경우 항산화 기능을 나타내는 polysaccharide 성분이 열수 추출물에서 보고되었으며(Ahn and Jung, 2011), 에탄올 추출물에서는 inflammatory cytokines의 발현을 억제하거나 adipogenesis에 관여하는 성분이 많음이 보고되었다(Choi et al., 2013). 본 연구에서 사용된 당귀는 참당귀(*Angelica gigas* Nakai; 토당귀)로 중국당귀(*Angelica acutiloba* Kitagawa) 또는 일본당귀(*Angelica sinensis* Diels)와는 구분된다. 우리나라에서 생산되는 참당귀는 산형과(미나리과) 식물로 꽃피기 전에 뿌리를 건조하여 약용으로 쓰고, 함유성분으로는 coumarin계의 decursin, decursinol angelate와 nodakentin, umbelliferon,  $\beta$ -sitosterol 등이 알려져 있다(Ahn et al., 1996). 항산화, 항암효과 및 면역활성과 같은 기능성을 조사한 연구에서 참당귀의 메탄올 추출물이 항산화 활성은 가지지만 면역활성에 대한 관련성은 없으며 암세포를 사멸시키는 것으로 보고하였다(Park et al., 2007).

Heo et al.(2010)은 항염증효과가 있는 것으로 알려져 있는 decursin은 참당귀 뿌리의 에탄올 추출물에서 높게 검출된다고 보고되었다.

2000년도 이후 양식생물의 질병 추세는 수산생물병원체(세균, 기생충, 바이러스 등)의 단독 발생보다는 세균과 기생충 또는 세균과 바이러스의



[Fig. 1] A week cultured CHSE-214 cell line. 1; Normal cell, 2; VHS injected normal cell, 3; VHS injected cell containing  $1/10^3$  In-jin extract.

혼합감염의 추세가 많이 나타나며(Kim et al, 2010), 이런 질병감염은 단독감염에 비해 치료가 어렵다. 특히 초기에 신속하고 빠른 치료가 이루어지지 않으면 대량폐사로 이어질 가능성이 높다. 그러므로 질병치료 혹은 면역기능 향상을 위해서 항균활성이 가장 높게 나타난 인진과 항기생충 활성이 가장 높은 당귀, 그리고 항바이러스 활성에서도 인진과 당귀가 높게 나타나, 이상의 결과를 토대로 인진과 당귀를 합치면 수산생물병원체에 대한 항병성을 높이는 생약소재로 활용이 가능할 것이라 사료된다. 추가적으로 실효성 있는 활용을 위해 대상개체에 대한 후속연구가 수행된다면 향후 수산용 의약품으로 개발에 대한 가능성을 높일 수 있을 것이라 생각된다.

## References

- Ahn BY and Jung MY(2011). Antioxidative and protective activity of polysaccharide extract from *Artemisia iwayomogi* Kitamura stems on UVB-damaged mouse epidermis. *J Appl Biol Chem* 54, 184~189.  
<http://doi.org/10.3839/jabc.2011.031>
- Ahn EY, Shin DH, Baek NI and Oh JA(1998). Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Sophora flavescens* Ait. *Korean J Food Sci Technology* 30, 672~679.
- Ahn KS, Sim WS and Kim IH(1996). Decursin a cytotoxic agent and protein kinase c activator from the root of *Angelica gigas*. *Planta Med.* 62, 7~9.  
<http://doi.org/10.1055/s-2006-957785>
- Brown G(1992). Two new compounds from *Artemisia annua*. *J Nature Products* 55, 1756~1760.  
<http://doi.org/10.1021/np50090a006>
- Cho MY, Choi EJ, Lee E, Rhim TJ, Cha BC and Park HJ(1997). Antimicrobial activities of pine needle(*Pinus densiflora* Seib et Zuss.) extract. *Kor J App Microbiol Biotechnol* 25, 183~188.  
<http://doi.org/10.1016/j.fm.2004.05.002>
- Choi HS, Kim YC, Lee JS, Jo MR, Seo CH and Park SI(2004). Antibacterial activities of hot-water and ethyl alcohol extracts of medicinal herbs on fish pathogenic bacteria. *J Fish Pathology* 17, 39~55.
- Choi MS, Park KH, Choi SH, Kim JY, Kim JM, Cho JG and Jang SI(1995). Effect of *Enteromorpha compressa* on the physiological activities in carp, *Cyprinus carpio*. *J Fish Pathology* 8, 149~156.
- Choi Y, Yanagawa Y, Kim S, Whang WK and Park T(2013). *Artemisia iwayomogi* extract attenuates high-fat diet - induced obesity by decreasing the expression of genes associated with adipogenesis in mice. *Hindawi publishin corporation Evidence based Complementary and Aternative medicine* 2013, 1~13. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/915953>
- Heo JS, Cha JY, Kim HW, Ahn HY, Eom KE, Heo SJ and Cho YS(2010). Bioactive materials and biological activity in the extracts of leaf, stem mixture and root from *Angelica gigas* Nakai. *J Life Sci* 20, 750~759.  
<http://doi.org/10.5352/JLS.2010.20.5.750>
- Hu H, Zang Z, Lei Z, Yang Y and Sugiura N(2009). Comparative study of antioxidant activity and antiproliferative effect of hot water and ethanol extracts from the mushroom *Ononotus obliquus*. *J Bioscience and Bioengineering* 107, 42~48.  
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2008.09.004>
- Hwang MH, Park SI and Kim YC(1999). Effect of dietary herb medical stuff on the non-specific immune response of nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *J Fish Pathol* 12, 7~14.
- Jung SH, Sohn Y-C and Kim YC(2001). In vitro effect of water extract of medicinal herbs on antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria and superoxide production of kidney phagocytes in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J Fish Pathol* 14, 3~10.
- Kim JD, Kim YC, Woo SH and Park S-W(2009). The effect of omae *Prunus mume* extract on the immune response and growth rate of Japanese eel *Anguilla japonica*. *J Fish Pathol* 22, 367~374.
- Kim KH, Hwang YJ and Bai SH(1999). Invitro effect of aloe on the respiratory burst activity of olive flounder(*Paralichthys olivaceus*) leucocyte. *J Fish Pathol* 12, 1~6.
- Kim JW, Cho MY, Park GH, Won KM, Cho HS, Kim MS and Park MY(2010). Statistical data on infections diseases of cultured olive flounder

- Paralichthys olivaceus from 2005 to 2007. J Fish Pathol 23, 369~377.
- Kim YS(2011). Study on the isolation and efficacy of bioactive components from oriental herbal medicines. Research Project Report
- Koneman E w, Allen SD, Janda WM, Scheckenber PC, Winn WC(1997). Color Atlas of Diagnostic Microbiology, fifth ed. Lippincott.
- Kwon MG, Kim YC, Sohn YC and Park SI(1999). The dietary supplementing effects of Kugija, Lycium chinense, on immune responses of nile tilapia, Oreochromis niloticus, to Edwardsiella tarda, J Fish Pathol 12, 73~81.
- Langfield RD, Scarano FJ, Heitzmna ME, Kondo M, Hammond GB and Eto CC(2004). Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant Peperomia galloides. J Ethnopharmacology 94, 279~281. <http://doi.org/10.1016/j.jep.2004.06.013>
- Lee KY, Hong SY, Jeong HJ, Lee JH, Lim SH, Heo NK and Kim HY(2015). Biological activities of extract from aerial parts of Angelica gigas Nakai. J Agricultural Life and Environmental Sciences 27, 15~22.
- Lee N-S, Jeong SH and Jee BY(2010). 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, 137~143.
- Lee S, Shin DS, Kim JS, Oh KB and Kang SS(2003). Antibacterial coumarins from Angelica gigas roots. Arch Pharm Res 26, 449~452. <http://doi.org/10.1007/BF02976860>
- NIFDS(National Institute of Food and Drug Safety Evaluation) (2019). Herbmecine database. [http://www.nifds.go.kr/herb/m\\_442/ list.do](http://www.nifds.go.kr/herb/m_442/ list.do)
- Park K-W, Choi S-R, Hong H-R, Kim J-Y, Shon M-Y and Seo K-I(2007). Biological activities of methanol extract of Angelica gigas Nakai. Korean J Food Preserv 14, 655~661.
- Park SM, Park SI, Hun MD and Hong YG(1999) Inhibitory effect of green tea extract on collagenase activity and growth of fish pathogenic bacteria J Fish Pathol 12, 83~88.
- Seo J-S, Jeon E-J, Kwon M-G, Hwang J-Y, Jung S-H, Kim N-Y. Jee B-Y and Park M-A(2016). Disease resistance against bacterial infection on treatment of hot-water extract with 6 herbal mixtures in olive flounder Paralichthys olivaceus. J Fish Mar Sci Edu 28, 1715~1723 <http://dx.doi.org/10.13000./JFMSE.2016.28.6.1715>
- Seo J-S, Jeon E-J, Kwon M-G, Hwang J-Y, Kim J-D, Jung S-H, Kim N-Y. Jee B-Y and Park M-A(2015). Effect of disease resistance on oral administration of Lightyellow Sophora extract in olive flounder. J Fish Mar Sci Edu 27, 1656~1664. <http://dx.doi.org/10.13000./JFMSE.2015.27.6.1656>
- Sohn YC(1999) Effects of medical herb stuff extracts and mitogens on the activation of kidney macrophage in nile tilapia, Oreochromis niloticus. Master thesis, Pukyong National University, Korea pp.63.
- Yeo SG, Ahn CW, Kim IS, Park YB, Park YH and Kim SB(1995). Antimicrobial effect of tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. J Korean Soc Food Nutr 24, 293~298.

- 
- Received : 05 June, 2019
  - Revised : 06 April, 2020
  - Accepted : 06 August, 2020