

사료 내 γ -aminobutyric acid 첨가가 치어기 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 염분 내성에 미치는 영향

Deni Aulia¹ · 김하람¹ · 전현철¹ · 허준혁¹ · Abayomi O. Ogun¹ · 이승형^{1,2*}

¹국립부경대학교 수산생물학과 양식응용생명과학전공, ²국립부경대학교 사료영양연구소

Effects of Dietary Supplementation of γ -Aminobutyric Acid on Salinity Tolerance in Juvenile Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*

Deni Aulia¹, Haham Kim¹, Hyuncheol Jeon¹, Junhyeok Hur¹, Abayomi O. Ogun¹ and Seunghyung Lee^{1,2*}

¹Major of Aquaculture and Applied Life Sciences, Division of Fisheries Life Sciences, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

²Feeds and Foods Nutrition Research Center, Pukyong National University, Busan 48547, Republic of Korea

γ -aminobutyric acid (GABA) is a feed additive recognized for its role in stress regulation in fish. This study investigated the effects of dietary GABA supplementation on the salinity tolerance of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. Three diets were prepared: a control diet (CON), and two diets supplemented with 210 mg kg⁻¹ (GABA210) and 630 mg kg⁻¹ (GABA630) of GABA, with actual contents measured as 72.5, 303, and 781 mg kg⁻¹, respectively. Olive flounders (initial weight 23.5±0.1 g) were distributed among 9 tanks. After the 8-weeks of feeding trial, growth performance was evaluated, followed by a salinity exposure trial at levels of 5, 15, and 35 ppt for 120 h. No significant differences in growth performance were observed between the groups (P>0.05). Notably, plasma metabolites, such as glutamic oxaloacetic transaminase, glucose, and potassium were significantly higher in GABA630 fish (P<0.05). Despite the lack of mortality during the exposure trial, GABA supplementation did not significantly affect the osmoregulatory measurements. Ultimately, juvenile olive flounder maintained osmoregulatory homeostasis in low-salinity conditions but showed no significant improvement with GABA supplementation.

Keywords: Climate change, Gamma-aminobutyric acid, Osmoregulation, Salinity stress

서 론

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 국내에서 가장 인기 있는 수산물 중 하나이자 상업적으로 중요한 양식 어종이다. 2023년 넙치 양식 생산량은 39,931톤으로, 646,429백만원의 가치를 지니고 있으며 2018년 대비 7.22% 증가하였다. 아울러, 이는 2023년 국내 총 어류 양식 생산량 79,662톤의 50.13%를 차지한다 (KOSIS, 2024). 그러나 최근 기후 변화로 인해 양식생물이 서식하는 수계환경이 변화하고 있으며, 때로는 극단적인 기후 이벤트로 인해 지속 가능한 양식산업에 어려움을 초래하고 있다 (Galappaththi et al., 2020; Maulu et al., 2021; Engelhard et al., 2022; Bernzen et al., 2023). 수계환경 변화는 어류의 성장, 번

식, 신진대사, 생리, 행동, 면역 및 생존에 부정적인 영향을 미쳐 궁극적으로 양식 생산성을 감소시키게 된다(Collins et al., 2020; Abisha et al., 2022). 이러한 문제점을 극복하는 방법 중 하나가 어류의 면역력과 스트레스 내성을 향상시킬 수 있는 기능성 사료 첨가제 개발이 효과적일 수 있음이 알려지고 있다 (Islam et al., 2022). 최근 수산 양식 분야에서 연구되는 사료 첨가제 중 하나인 감마-아미노뷰티르산(γ -aminobutyric acid, GABA)은 탄소 4개로 이루어진 비필수 아미노산으로 식물, 동물, 미생물에 풍부하게 존재한다. 동물에게 GABA는 중추신경계(central nervous system)의 주요 억제성 신경전달물질로 작용하여 스트레스 조절에 중요한 역할을 하며, 행동 특성에도 영향을 미친다(Dhakal et al., 2012; Bae et al., 2024). 뉴런 내에

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5916 Fax: +82. 51. 629. 5908

E-mail address: shlee@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.2025.0033>

Korean J Fish Aquat Sci 58(1), 33-45, February 2025

Received 30 December 2024; Revised 4 February 2025; Accepted 11 February 2025

저자 직위: Deni Aulia(대학원생), 김하람(대학원생), 전현철(대학원생), 허준혁(대학원생), Abayomi O. Ogun(대학원생), 이승형(교수)

서 GABA는 글루탐산(glutamic acid)으로부터 글루탐산 탈카복실화효소(glutamic acid decarboxylase)에 의해 탈카복실화 과정을 통해 합성되며, 이 과정에서 비타민 B6의 활성형인 피리독살 5'-인산(pyridoxal 5'-phosphate)이 보조인자로 작용한다(Storici et al., 2004; Li et al., 2020). 젖산균(lactic acid bacteria)은 GABA의 높은 생산성과 식품 안전성 및 GABA 강화 기능성 식품을 제조할 수 있어 중요한 GABA 생산균 중 하나로 인정받고 있다(Cui et al., 2020; Pannerchelvan et al., 2023). 수산 양식분야에서는 기능성 첨가제인 GABA를 지안 잉어(*Cyprinus carpio* var. *Jian*), 로후(*Labeo rohita*; Hamilton, 1822), 나일 틸라피아(*Oreochromis niloticus*), 참게(*Eriocheir sinensis*), 터붓(*Scophthalmus maximus*), 붕어(*Carassius carassius*) 등 여러 양식 어종을 대상으로 활용한 연구가 진행되었다(Temu et al., 2019; Chen et al., 2021; Li et al., 2022a; Zhang et al., 2022; Kumar et al., 2023; Yan et al., 2024).

GABA 신호 전달 체계는 동물과 식물 모두에서 환경적 스트레스에 대한 반응을 촉진하며, 생존에 있어 다양한 역할을 한다(Kinnersley and Turano, 2000; Khan et al., 2021). GABA는 주요 억제성 신경전달물질로서, 다양한 어류에서 HPI축(hypothalamus-pituitary-interrenal axis, HPI axis)의 활성을 조절하고 코르티솔(cortisol) 분비를 감소시킴으로써 스트레스 반응을 조절하는 것으로 알려져 있다. Yan et al. (2024)은 GABA가 혈청 내 보체 C3, C4 및 IgM의 농도를 증가시키고, 알칼리성 인산가수분해효소(alkaline phosphatase)와 산성 인산가수분해효소(acid phosphatase)의 활성을 높임으로써 붕어(*C. carassius*)의 암모니아 스트레스에 대한 면역 탄력성과 저항성을 효과적으로 향상시킨다고 보고하였다. 이러한 이유로 GABA는 어류의 스트레스 반응 완화에 활용되고 있다. 사료 내 GABA를 첨가 시 나일 틸라피아(*O. niloticus*), 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*) 및 큰입 농어(*Micropterus salmoides*)의 암모니아 스트레스 내성 강화와 조직 손상 및 염증 반응을 감소시키고 항산화 능력을 높이며 장 건강과 면역 기능을 개선하는 것으로 나타났다(Xie et al., 2017; Ruenkoed et al., 2023; Wang et al., 2023). 이와 유사하게, Temu et al. (2019)는 치어기 나일 틸라피아의 사료에 GABA를 첨가했을 때 중요한 항산화 효소이자 어류 건강을 나타내는 비특이적 면역 지표인 초과산화물 불균등화효소(superoxide dismutase) 활성이 증가했다고 보고하였다. 또한, Lee et al. (2023)에 따르면 치어기 넙치 사료 내 GABA 첨가는 신경 반응에 영향을 미치고 고수온 조건에서 GABA 관련 유전자 발현을 강화하여 수온 스트레스에 대처하는데 도움을 주었다고 보고했다. Bae et al. (2024)의 최근 연구에서는 GABA가 높은 사육 밀도에서 스트레스 조건하의 과활성화된 뉴런을 억제하여 안정적인 대사 과정을 촉진하고, 면역 및 항산화 반응을 지원함으로써 넙치의 면역 반응과 질병 저항성을 강화한다고 밝혔다. 이와 더불어, Yu et al. (2024)은 운송 스트레스를 받는 황복(*Takifugu flavidus*)의 사육수에 GABA를 첨가하였을

때, 수질 악화를 방지하고 스트레스 관련 생화학적 지표 상승을 억제하여 에너지 대사를 조절하고 산화 손상을 줄이는 효과를 보였다고 보고하였다. 이와 같이 GABA가 어류의 여러 환경 스트레스를 완화하는 효능이 입증됐음에도 불구하고, 어류에서 GABA를 활용한 염분 스트레스 완화에 관한 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구는 치어기 넙치(*P. olivaceus*) 사료 내 GABA 첨가가 염분 스트레스 내성에 미치는 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

본 연구는 대한민국 부산에 위치한 부경대학교 동물실험윤리위원회(IACUC) 규정(PKNU IACUC-2022-29)에 따라 수행되었다.

실험사료

치어기 넙치의 사료 내 GABA첨가 효과를 평가하기 위해 유사한 조단백질 함량과 조지질 함량을 가지는 세 가지 실험 사료를 제조하였다. GABA는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)사의 순도 $\geq 99.9\%$ 인 제품을 사용하였다. 사료 배합에 앞서, 7.56 g의 GABA를 112.44 g의 알파-셀룰로오스와 혼합하여 최종 농도 630 ppm의 GABA 프리믹스를 제조하였다. 이후, 프리믹스는 볼 밀(Model PL-BM5L; Poong Lim Trading Co., Seoul, Korea)을 사용하여 72시간 동안 균일하게 혼합하였다. GABA가 첨가되지 않은 대조구 사료(control, CON)와 GABA가 각각 210 mg/kg 사료(GABA210) 및 630 mg/kg 사료(GABA630)로 첨가된 두 가지 실험 사료를 사용하였다. 실험 사료에 사용한 GABA 농도는 Farris et al. (2022)이 보고한 어류 성장에 대한 최적 GABA첨가 수준을 기반으로 선정되었다. 해당 연구에서는 GABA첨가가 성장에 유의미한 향상을 가져왔으며, 최적 성장 수준은 237 mg/kg으로 나타났다. 본 연구에서는 어류의 스트레스 반응에 대한 GABA의 잠재적 영향을 종합적으로 평가하기 위해, 실험용 사료의 GABA농도를 해당 임계 값 이하, 범위 내, 그리고 초과하는 수준으로 설정하였다. 실험 사료의 실제 GABA 함량은 각각 72.5 (CON), 303 (GABA 210), 781 (GABA 630) mg/kg으로 확인되었다. CON 사료의 GABA함량은 특정 원료의 기본적으로 포함된 GABA 함량에서 기인되었다. 실험 사료 간 총량을 동일하게 유지하기 위해 셀룰로오스를 추가하였다. 주요 단백질 원료로는 멸치 어분, 가금 부산물 및 수지박을 사용하였으며, 주요 지질 원료로는 어유를 사용하였다.

사료 준비 및 보관 절차는 Bai and Kim (1997)의 방법을 따라 진행하였다. 모든 원료를 전자 저울을 이용해 정확히 계량한 후, 산업용 믹서기(Vertical Blender 12 Inch 20 QT VM-20; Hun Woo, Wuhan, China)를 사용하여 혼합하였다. 혼합 물에 어유를 추가한 뒤, 약 45%의 물을 첨가하여 사료 반죽을 만들었다. 만들어진 사료 반죽은 민찌기(SFD-GT; Shinsung Co., Gwa-

cheon, Korea)를 사용하여 2 mm 직경의 펠릿 형태로 성형하였다. 펠릿은 손으로 작은 크기로 부수어 농산물 건조기(KE-010 Oven; Dongwon Industries, Seoul, Korea)에서 45°C로 16시간 동안 건조하여 수분 함량이 10% 미만이 되도록 건조하였다. 실험 사료는 사육 실험 기간 동안 지퍼백에 담아 -20°C에서 보관하였다. 모든 사료의 일반성분 조성은 AOAC (2005)의 방법에 따라 분석하였다. 수분 함량은 가열 건조법을 통해 분석하였으며, 일정량의 시료를 dry oven (OF02G-4C; WiseVen®, Wertheim, Germany)에서 135°C로 3시간 동안 가열하여 측정하였다. 조단백질 함량은 산 분해 후 Kjeldahl방법(N×6.25)을 사용하여, 2300 Autoanalyzer (Foss Tecator AB, Hoganas, Sweden)를 사용해 분석하였다. 조지방 함량은 시료를 20시간 동안 동결 건조한 후 Soxhlet추출법(Soxtec system 1046; Tecator AB, Hoganas, Sweden)을 통해 분석하였다. 조회분 함량은 시료를 550°C에서 3시간 동안 회화로(WiseTherm®; Daihan Scientific Co. Ltd., Wonju, Korea)를 태워 분석하였다.

실험 사료 내 GABA함량은 고성능 액체 크로마토그래피 (high performance liquid chromatography, HPLC)를 사용하여 분석하였다. 0.3 g의 시료를 균질기(Model D-130; Wiggins Co Ltd, Beijing, China)를 사용하여 균질화한 후, HPLC 전용 증류수 10 mL를 첨가한 뒤, 볼텍스(Maxshake™; Daihan Scientific Co. Ltd.)를 사용하여 5,000 rpm에서 1분간 골고루 섞은 후, 20분 동안 초음파 처리를 하였다. 이후 시료를 40°C에서 4,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액 0.7 mL를 1.5 mL 마이크로튜브에 옮긴 후, 7% sulfosalicylic acid를 0.7 mL (1:1 비율)를 첨가하였다. 해당 혼합물은 40°C 암실에서 하룻밤 동안 방치한 뒤, 4°C에서 4,500 rpm으로 10분간 원심분리하여 상층액 1 mL를 0.2 micron filter로 여과해 HPLC 분석용 용기에 옮겨 분석하였다.

사료의 일반 성분 조성과 GABA 함량은 대한민국 부산에 위치한 부경대학교 사료영양연구소(Feeds and Foods Nutrition Research Center, FFNRC)에서 분석하였다. 사료의 배합비, 일반성분 조성, 그리고 GABA 함량은 Table 1에 나타내었다.

실험어 및 사육관리

실험에 사용된 넙치는 대한민국 충청남도에 위치한 양식장에서 구입하여 본 연구가 수행된 부경대학교 사료영양연구소(FFNRC)로 운송하였다. 실험시작 전 넙치는 여과된 해수를 이용한 실내 반순환 여과시스템에서 4주간(28일) 상업사료(수협사료)를 동일하게 공급하여 실험 조건에 적응시켰다. 예비사육 후, 초기 체중이 23.5±0.1 g (AVG±SEM)인 넙치 198마리를 각 사각형 수조(총 용량 45 L, 물 용량 30 L)에 22마리씩 임의로 분배하였고, 각 수조는 실험구당 3반복으로 무작위 입식하였다. 사육실험 기간동안 적절한 사육환경을 유지하기 위하여 수질은 하루 두 번 모니터링하였으며, 광주기는 12L:12D로 유지하였다. 사육수온은 히트펌프(DOV-887; Daeil Co., Busan,

Korea)를 사용하여 19.1±0.1°C (AVG±SEM)로 유지하였고, pH는 7.50±0.00 (AVG±SEM), 염분은 34.6±0.1 ppt

Table 1. Formulation and proximate composition of three different diets for juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*

Ingredients	Diet		
	CON	GABA ₂₁₀	GABA ₆₃₀
Anchovy fish meal	20.0	20.0	20.0
Tankage meal	14.0	14.0	14.0
Poultry by-product meal	9.50	9.50	9.50
Squid liver powder	5.00	5.00	5.00
Soybean meal	9.00	9.00	9.00
Isolated soybean protein	9.50	9.50	9.50
Wheat flour	13.7	13.7	13.7
Starch	5.00	5.00	5.00
Fish oil	5.50	5.50	5.50
Lecithin	0.90	0.90	0.90
Betaine	0.90	0.90	0.90
Taurine	0.90	0.90	0.90
Mono calcium phosphate	0.90	0.90	0.90
Methionine	0.40	0.40	0.40
Lysine	0.40	0.40	0.40
Mineral mix ¹	1.20	1.20	1.20
Vitamin mix ²	1.20	1.20	1.20
Vitamin C	0.20	0.20	0.20
Choline	0.80	0.80	0.80
Cellulose	1.00	0.67	-
GABA premix ³	-	0.33	1.00
Total	100	100	100
Actual GABA concentration in the diet (mg/kg diet) ⁴	72.5	303	781
Proximate composition (% of dry matter basis) of experimental diet ⁴			
Moisture	2.43±0.03	2.22±0.04	2.36±0.03
Crude protein	50.17±0.25	51.21±0.04	50.64±0.10
Crude lipid	12.61±0.06	12.32±0.04	12.28±0.10
Crude ash	10.22±0.03	10.57±0.04	10.58±0.08

¹Contains (as g/kg in premix): Ferrous fumarate, 12.50; Manganese sulfate, 11.25; Dried ferrous sulfate, 20.0; Dried cupric sulfate, 1.25; Cobaltous sulfate, 0.75; Zinc sulfate KVP, 13.75; Calcium iodate, 0.75; Magnesium sulfate, 80.20; Aluminum hydroxide, 0.75. ²Contains (as mg/kg premix): A, 1,000,000 IU; D, 200,000 IU; E, 10,000; B1, 2,000; B6, 1,500; B12, 10; C, 10,000; Calcium pantothenic acid, 5,000; Nicotinic acid, 4,500; B-Biotin, 10; Choline chloride, 30,000; Inositol, 5,000. ³Contains as 63 g/kg in premix (≥ 99% pure GABA). ⁴Values are mean of duplicate samples (Mean±SEM). CON, Control; GABA, γ-aminobutyric acid.

(AVG±SEM), 용존산소(dissolved oxygen, DO)는 10.5±0.3 mg/L (AVG±SEM)로 유지하였다.

8주(56일)간의 사육실험 기간 동안 실험 사료는 오전 9시와 오후 4시에 하루 두 번 손으로 공급하였으며, 어체중의 2.0–2.7%로 공급하였다. 사료 공급률은 어류의 섭취량에 따라 점진적으로 조정하였으며, 2주마다 각 실험 수조의 총 어류 무게와 개체수를 기록하고, 이를 기반으로 공급률을 조정하였다. 공급 후 남은 사료와 분변을 제거하기 위해 1일 2회 사이펀을 수행하였으며, 매일 전체 사육수의 50%를 환수하였다. 실험어의 생존 여부를 매일 모니터링하였고, 폐사한 개체는 즉시 제거하였다.

샘플 수집 및 분석

어체 측정

실험 시작과 종료 시, 각 수조의 총 어류 개체 수와 무게를 24시간 금식 후 측정하여 초기 체중(initial body weight, IBW), 최종 체중(FBW), 증체율(weight gain, WG), 일간성장률(specific growth rate, SGR), 사료 효율(feed efficiency, FE), 사료 계수(feed conversion ratio, FCR), 생존율(survival rate, SR)을 포함한 성장 지표를 계산하였다. 최종 체중 측정 후 모든 어류는 염분 스트레스 노출 실험을 위해 사육수조에 보관하였다. 성장 지표는 다음과 같은 식을 통해 계산하였다.

$$\text{증체율(weight gain, WG; \%)} = (\text{FBW} - \text{IBW}) / \text{IBW} \times 100$$

$$\text{일간성장률(specific growth rate, SGR; \% / \text{day})} = [\ln(\text{FBW}) - \ln(\text{IBW})] / \text{Days of feeding} \times 100$$

$$\text{사료 효율(feed efficiency, FE; \%)} = \text{WG} / \text{Total feed fed} \times 100$$

$$\text{사료 계수(feed conversion ratio, FCR)} = \text{Total feed fed} / \text{WG}$$

$$\text{생존율(survival rate, SR; \%)} = (\text{Total fish} - \text{Dead fish}) / \text{Total}$$

염분 스트레스 노출 실험

8주간의 사육실험 종료 후, 급성 염분 노출 실험을 실시하였다. 실험에 설정한 가장 낮은 염분 농도(5 ppt)는 Kim et al. (2021)의 연구와 실험실 조건에서 최소 허용 염분 농도를 평가한 예비 실험 결과를 기반으로 선정하였다. 예비 실험 결과, 5일간(120시간) 5 ppt에 노출된 어류에서 폐사나 건강 이상 징후(예: 불규칙한 호흡 또는 비정상적인 유행)가 관찰되지 않았다.

염분 스트레스 노출 실험은 3개의 사각형 수조에서 진행되었으며, 각 수조는 염분 농도 5, 15, 35 (parts per thousand, ppt)로 설정하였다. 각 수조는 세 구역으로 나누어, 세 가지 실험 사료(CON, GABA 210, GABA 630)에 구분되도록 구성하였다. 각 수조의 염분을 지정된 수준으로 조정된 후, 각 실험구에서 54마리씩(총 162마리)을 무작위로 각 염분 농도에 균등하게 분배하여, 수조당 18마리가 배치하였다. 실험 기간동안(5

일간)에는 사료를 공급하지 않았다. 염분 스트레스 노출 실험 동안의 수질은 수온 16.1–18.3°C, 용존산소 7.3–8.3 mg/L, pH 7.5–7.8 범위로 유지하였다. 염분 스트레스 노출 후 각 수조에서 3마리씩(실험구당 9마리) 무작위로 선택하여, 2-페녹시에탄올(2-phenoxy ethanol) 농도 200 mg/L (200 ppm)에서 3–5분간 마취시킨 뒤, 최종 샘플링을 진행하였다. 각 어류의 체중과 전장을 개별적으로 측정하여 비만도(condition factor, CF)를 계산하였으며, 간과 내장을 채취하여 무게를 측정된 후 간 중량 지수(hepatosomatic index, HSI)와 내장 중량 지수(viscerosomatic index, VSI)를 각각 계산하였다. 이러한 지수는 실험 사료에 따른 형태학적 변화를 분석하는데 사용되었다. 각 실험어의 등 근육과 혈액을 채취하여 등 근육 내 수분 함량과 혈액 분석을 수행하였다. 염분 스트레스 노출 실험의 기준 데이터는 염분 노출 0시간으로 설정하였다. 형태학적 변화는 다음과 같은 식을 통해 계산하였다.

$$\text{비만도(condition factor, CF)} = (\text{FBW} / \text{Total length}^3) \times 100$$

$$\begin{aligned} \text{간 중량 지수(hepatosomatic index, HSI, \%)} \\ = \text{Liver weight} / \text{FBW} \times 100 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{내장 중량 지수(viscerosomatic index, VSI, \%)} \\ = \text{Viscera weight} / \text{FBW} \times 100 \end{aligned}$$

염분 노출에 따른 삼투질 농도 변화 측정

염분 스트레스 노출 실험 동안 근육 내 수분, 적혈구용적율, 혈장 내 대사물질(triglyceride, TG; total protein, TP; total cholesterol, TCHO; glutamic oxaloacetic transaminase, GOT; glutamic pyruvic transaminase, GPT; glucose, GLU, 혈장 내 이온(Na⁺, K⁺, Cl⁻), 및 혈장의 삼투질 농도 측정을 위해 시료를 2, 6, 12, 24, 72, 120시간 간격으로 샘플링하였다. 샘플링 시점마다 염분 스트레스에 노출된 실험어 3마리를 무작위로 선택해 200 mg/L 농도의 2-phenoxy ethanol을 사용하여 3–5분간 마취하였다. 마취된 실험어에서 약 3g의 등 근육을 채취하여 사전에 60°C에서 24시간 동안 건조 후 무게가 측정된 알루미늄 접시에 담은 뒤, 60°C에서 24시간 동안 건조하여 건조 중량을 측정하였다. 근육 수분은 다음 식을 사용하여 계산하였다.

$$\text{A-B근육 수분(\%)} = [1 - (\text{DMw} / \text{WMw})] \times 100$$

$$\text{DMw는 근육 건조 중량(g), WMw는 근육 습중량(g)}$$

혈액 샘플은 항응고제(EDTA) 처리된 1 mL 주사기를 사용하여 미부정맥에서 채혈하였다. 혈액은 1.5 mL 모세관으로 옮겨 적혈구용적률(실온에서 5,000 rpm으로 3분간 원심분리)을 측정된 뒤, 마이크로 헤마토크리트 모세관 판독기(CRITOCAPS™; Leica Biosystems, Deer Park, IL, USA)를 이용하여 판독하였다. 혈액은 13,000 rpm에서 5분간 원심분리(CF-10; Daihan

Scientific Co. Ltd.)하여 분리한 혈장을 액체질소로 급속 냉동하고, 분석 전까지 -80°C 에 보관하였다. 혈장 내 대사물질 및 이온은 건식 생화학 분석기(Fuji DRI-CHEM NX 500i; Fuji Photo Film Ltd., Tokyo, Japan)를 사용해 분석하였고, 혈장 내 삼투질 농도는 Vapor pressure osmometer (Wescor Inc., Logan, UT, USA)를 사용하여 측정하였다.

통계 분석

결과는 평균±표준오차(SEM)로 나타내었다. 정규성과 분산의 동질성 가정은 각각 Shapiro-Wilk검정과 Levene's 검정을 통해 평가하였다. 8주간의 사료 공급 실험 결과는 사료 내 GABA 농도가 미치는 영향을 평가하기 위해 일원분산분석(one-way ANOVA)을 사용하여 분석하였으며, 사후검정은 Tukey HSD를 사용하여 평균간의 유의차를 확인하였다. 통계적 유의성은 $P<0.05$ 로 설정하였으며, 염분 스트레스 노출 실험 결과는 사료 내 GABA농도와 염분 간의 상호작용, 그리고 각 샘플링 시점(2, 6, 12, 24, 72, 120시간)에서 사료 내 GABA농도 또는 염분 스트레스 노출에 따른 주요 변화를 평가하기 위해 이원분산분석(ANOVA)을 사용하여 분석하였다. 모든 통계 분석은 SAS analytical software, version 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하여 수행하였다.

결 과

성장도

8주간의 사육실험 종료 후, 실험구에 따른 치어기 넙치의 성

Table 2. Growth performances of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed with different experimental diets for eight weeks¹

Parameters ²	Diets			ANOVA (Pr>F)
	CON	GABA ₂₁₀	GABA ₆₃₀	
WG	153±4 ^{ns}	164±12	154±3	0.5363
SGR	1.66±0.03 ^{ns}	1.73±0.08	1.66±0.02	0.5666
FE	95.4±2.2 ^{ns}	95.8±2.1	96.7±2.2	0.9159
SR	87.5±3.6 ^{ns}	83.9±4.0	87.6±4.2	0.7619
FCR	0.62±0.01 ^{ns}	0.57±0.05	0.59±0.03	0.6297
CF	0.95±0.01 ^{ns}	0.96±0.01	0.94±0.01	0.4679
HSI	1.18±0.03 ^{ns}	1.16±0.03	1.13±0.04	0.5771
VSI	3.75±0.07 ^{ns}	3.79±0.07	3.72±0.13	0.8760

¹Values are means from triplicate groups of juvenile olive flounder where the values in each row with different superscripts are significantly different (Mean±SEM; $P<0.05$). ²WG, Weight gain (%); SGR, Specific growth rate (%/day); FE, Feed efficiency (%); SR, Survival rate (%); FCR, Feed conversion ratio; CF, Condition factor (%); HSI, Hepatosomatic index (%); VSI, Viscerosomatic index (%). CON, Control; GABA, γ -aminobutyric acid.

장 결과는 Table 2에 나타내었다. WG, SGR, FE, SR, FCR, CF, HSI, VSI에서 실험구 간에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다 ($P>0.05$).

혈장 내 대사물질, 이온 및 삼투질 농도

실험구에 따른 치어기 넙치의 혈장 내 대사물질, 이온 및 삼투질 농도 결과는 Table 3에 나타냈다. TG, TP, TCHO, GPT, 혈장 내 이온 Na^+ , Cl^- 및 혈장 삼투질 농도는 실험구 간 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P>0.05$). 그러나 GABA 630의 GOT와 GLU는 GABA 210 및 대조구에 비해 유의적으로 높은 결과가 나타났다($P<0.05$). 또한, GABA 630의 혈장 내 이온 K^+ 가 대조구에 비해 유의적으로 높았으나($P<0.05$), GABA 630과 GABA 210 그리고 GABA 210과 대조구간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P>0.05$).

GABA첨가에 따른 염분 스트레스 노출에서의 효과

8주간 사육 실험과 5일간의 염분 스트레스 노출 후, 치어기 넙치의 삼투조절 분석 결과(등 근육 내 수분, 적혈구용적률, 혈장 내 삼투질 농도, 혈장 이온 및 혈장 내 대사물질)에 대한 GABA 농도 및 염분 스트레스 노출에 대한 이원분산분석 결과는 Table 4에 나타내었다. 120시간의 염분 스트레스 노출 실험 동안 폐사

Table 3. Plasma metabolites, ions, and osmolality of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* fed with different experimental diets for eight weeks (48 h post prandial)¹

Parameters ²	Diets			ANOVA (Pr > F)
	CON	GABA ₂₁₀	GABA ₆₃₀	
TG	249±86 ^{ns}	299±25	336±47	0.6588
TP	4.20±0.56 ^{ns}	3.43±0.18	4.53±0.58	0.6607
TCHO	192±35 ^{ns}	168±8	211±38	0.6155
GPT	23.3±6.5 ^{ns}	30.3±3.0	33.7±0.7	0.2728
GOT	27.7±2.0 ^b	35.3±4.7 ^b	103±11 ^a	0.0005
GLU	23.0±6.1 ^b	28.7±2.7 ^b	53.3±6.1 ^a	0.0135
Na^+	204±12.2 ^{ns}	206±3	196±3	0.5901
K^+	4.17±0.38 ^b	4.10±0.10 ^{ab}	5.43±0.49 ^a	0.0315
Cl^-	145±1 ^{ns}	143±2	150±4	0.3580
Osmolality	661±16 ^{ns}	658±15	611±4	0.0579

¹Values are means from triplicate groups of juvenile olive flounder where the values in each row with different superscripts are significantly different (Mean±SEM; $P<0.05$); TG, Plasma total triglyceride (mg L^{-1}); TP, Plasma total protein (g dL^{-1}); TCHO, Plasma total cholesterol (mg dL^{-1}); GPT, Plasma glutamic pyruvic transaminase (U L^{-1}); GOT, Plasma glutamic oxaloacetic transaminase (U L^{-1}); GLU, Plasma glucose (mg dL^{-1}); Na^+ , Plasma Na^+ (mEq L^{-1}); K^+ , Plasma K^+ (mEq L^{-1}); Cl^- , Plasma Cl^- (mEq L^{-1}); Osmolality, Plasma osmolality (mmol kg^{-1}). CON, Control; GABA, γ -aminobutyric acid.

는 관찰되지 않았다.

등 근육 내 수분

염분 스트레스 노출 2시간 후, 등 근육 내 수분 분석 결과에서 염분 스트레스 노출에 따른 차이가 유의적으로 나타났으며 ($P<0.05$) (Table 4), 염분이 증가함에 따라 등 근육 내 수분이 감소하는 경향이 관찰되었다. 그러나 등 근육 내 수분이 GABA농도에 따른 변화나 GABA농도와 염분 간의 상호작용은 나타나지 않았다($P>0.05$). 또한, 염분 노출 6시간 후에도 유의적인 상호작용 또는 주요 효과는 관찰되지 않았다($P>0.05$). 5 ppt의 염분 스트레스에 노출된 실험구의 등 근육 내 수분은 15 ppt 및 35 ppt에 노출된 실험구보다 유의적으로 높았으나($P<0.05$), 5 ppt와 15 ppt에 2시간 염분 노출된 실험구와 15 ppt와 35 ppt에 24, 72, 120시간 노출된 실험구간 등 근육 내 수분은 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P>0.05$) (Table 5).

적혈구용적률

염분 스트레스 노출에 따른 적혈구용적률 분석 결과, 염분 스

트레스 노출과 GABA 첨가에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P>0.05$). 또한, 염분 스트레스 노출 GABA첨가 간의 상호작용도 나타나지 않았다($P>0.05$) (Table 4).

혈장 내 삼투질 농도

염분 스트레스 노출 후, 24시간과 및 72시간 시점에서 혈장 내 삼투질 농도에 대한 염분의 주요 효과가 유의적으로 나타났으며, 염분이 증가함에 따라 혈장 내 삼투질 농도도 증가하는 경향이 관찰되었다($P<0.05$) (Table 4). 그러나 혈장 내 삼투질 농도에 대한 GABA첨가의 주요 효과는 관찰되지 않았으며, 염분 스트레스와 GABA첨가 간의 상호작용도 관찰되지 않았다($P>0.05$). 또한, 2, 6, 12, 120시간 시점에서도 유의적인 상호작용이나 주요 효과는 나타나지 않았다($P>0.05$). 24시간 및 72시간 시점에서 35 ppt에 노출된 실험구의 혈장 내 삼투질 농도는 5 ppt에 노출된 실험구보다 유의적으로 높았다($P<0.05$). 그러나 72시간 시점에서 15 ppt와 35 ppt에 노출된 실험구간, 그리고 24시간 시점에서 5 ppt와 15 ppt에 노출된 실험구간에 혈장 내 삼투질 농도에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다

Table 4. Result of two-way analysis of variance tests on osmoregulatory measurements of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* after the eight-week feeding trial and five-day salinity exposure

Exposure time (h)	Sources	Measurements ¹											
		MM	Hct	Osm	Na ⁺	Cl ⁻	K ⁺	GLU	TP	TG	TCHO	GPT	GOT
2	GABA ²	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Salinity ³	***	NS	NS	**	***	NS	**	NS	*	*	NS	NS
	GABA×salinity	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
6	GABA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Salinity	NS	NS	NS	NS	***	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS
	GABA×salinity	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
12	GABA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Salinity	***	NS	NS	**	***	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS
	GABA×salinity	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
24	GABA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Salinity	*	NS	*	*	***	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS
	GABA×salinity	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
72	GABA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Salinity	*	NS	***	***	***	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS
	GABA×salinity	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
120	GABA	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	Salinity	**	NS	NS	*	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	GABA×salinity	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

¹MM, Muscle moisture (%); Hct, Blood hematocrit (%); Osm, Plasma osmolality (mmol kg⁻¹); Na⁺, Plasma Na⁺ (mEq L⁻¹); Cl⁻, Plasma Cl⁻ (mEq L⁻¹); K⁺, Plasma K⁺ (mEq L⁻¹); GLU, Plasma glucose (mg dL⁻¹); TP, Plasma total protein (g dL⁻¹); TG, Plasma triglyceride (mg L⁻¹); TCHO, Plasma total cholesterol (mg dL⁻¹); GPT, Plasma glutamic pyruvic transaminase (U L⁻¹); GOT, Plasma glutamic oxaloacetic transaminase (U L⁻¹). ²GABA supplementation at 0, 210, 630 mg/kg diet. ³Levels of 5, 15 and 35 ppt. NS, No significant difference ($P>0.05$). * $P<0.05$. ** $P<0.001$. *** $P<0.0001$.

($P>0.05$) (Table 5).

혈장 내 이온(Na^+ , K^+ , Cl^-)

염분 스트레스 노출 2시간 후 혈장 내 이온 Na^+ 와 Cl^- 에서 유의적인 차이가 나타났으나($P<0.05$), K^+ 에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P>0.05$). 또한, 사료 내 GABA첨가가 혈장 내 이온 Na^+ , Cl^- , K^+ 에 영향을 미치지 않았으며, 염분 스트레스 노출과 GABA첨가 간의 상호작용도 관찰되지 않았다($P>0.05$) (Table 4). 혈장 내 이온 Na^+ 농도는 염분이 증가함에 따라 상승하였으며, 35 ppt에 노출된 실험구는 5 ppt에 노출된 실험구에 비해 유의적으로 높은 Na^+ 농도가 나타났다($P<0.05$). 그러나 12, 24, 72, 120시간 시점에서 15 ppt와 35 ppt에 노출된 실험구간, 또는 염분 노출 2시간 후 5 ppt와 15 ppt에 노출된 실험구간 Na^+ 농도는 유의적인 차이가 관찰되지 않았다($P>0.05$) (Table 5). 혈장 내 이온 Cl^- 에서도 염분에 따른 차이가 유의적으로 나타났으며($P<0.05$) (Table 4), 염분이 증가함에 따라 Cl^- 농도도 증가하는 경향을 보였다. 2, 6, 12시간 시점에서 35 ppt에 노출된 실험구는 5 ppt와 15 ppt에 노출된 실험구보다 유의적으로 높은 Cl^- 농도를 나타냈으며, 같은 시간대에 15 ppt에 노출된 실험구는 5 ppt에 노출된 실험구보다 유의적으로 높은 Cl^- 농도가 나타났다($P<0.05$). 그러나 24, 72, 120시간 시점에서는 35

ppt에 노출된 실험구의 Cl^- 농도가 5 ppt에 노출된 실험구보다 유의적으로 높았으나($P<0.05$), 15 ppt와 35 ppt에 노출된 실험구간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P>0.05$) (Table 5). 혈장 내 이온 K^+ 에 대해서는 모든 시점에서 염분이나 GABA첨가에 따른 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 염분 스트레스 노출과 GABA첨가 간에 상호작용도 관찰되지 않았다($P>0.05$) (Table 4).

혈장 내 포도당과 총 단백질

염분 스트레스 노출 2시간 후, 염분에 따른 혈장 내 포도당 농도에서 유의적인 차이가 나타났으며($P<0.05$), 염분이 증가함에 따라 혈장 내 포도당 농도가 증가하는 경향이 나타났다(Table 4). 그러나 GABA첨가에 따른 혈장 내 포도당 농도의 변화는 관찰되지 않았으며, 염분 농도와 GABA첨가 간의 상호작용도 관찰되지 않았다($P>0.05$). 염분 노출 120시간 후에는 유의적인 차이와 상호작용이 관찰되지 않았다($P>0.05$). 염분 스트레스 노출 후, 2시간과 24시간 시점에서 35 ppt에 노출된 실험구의 혈장 내 포도당 농도는 5 ppt와 15 ppt에 노출된 실험구보다 유의적으로 높았으나($P<0.05$), 15 ppt와 35 ppt에 노출된 실험구간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P>0.05$). 또한, 6시간과 72시간 시점에서 5 ppt와 15 ppt에 노출된 실험구간

Table 5. Osmoregulatory measurements of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* following an eight-week feeding trial and five-day salinity exposure¹

Exposure time (h)	Salinity (ppt)	Measurements ²					
		MM	Hct	Osm	Na^+	Cl^-	K^+
2	5	78.7±0.2 ^a	19.7±0.8 ^{ns}	636±33 ^{ns}	162±21 ^b	121±1.6 ^c	3.82±0.21 ^{ns}
	15	78.5±0.2 ^a	21.2±1.3	614±6	188±3 ^b	127±0.9 ^b	4.10±0.10
	35	77.4±0.2 ^b	20.0±0.6	643±9	202±3 ^a	140±1.0 ^a	4.17±0.07
6	5	79.3±0.4 ^{ns}	19.9±0.6 ^{ns}	596±15 ^{ns}	187±7 ^{ns}	115±1.2 ^c	4.08±0.09 ^{ns}
	15	78.4±0.2	19.0±0.6	623±9	170±22	127±0.9 ^b	3.88±0.10
	35	78.1±0.4	19.0±0.6	619±6	204±3	137±0.6 ^a	4.04±0.08
12	5	80.5±0.4 ^a	18.2±1.5 ^{ns}	597±12 ^{ns}	157±21 ^b	108±2.7 ^c	3.73±0.17 ^{ns}
	15	78.5±0.3 ^b	17.9±1.1	627±4	201±3 ^a	137±1.8 ^b	3.91±0.09
	35	77.6±0.1 ^b	18.9±0.6	622±6	203±2 ^a	143±1.6 ^a	4.11±0.08
24	5	80.4±0.2 ^a	17.9±0.9 ^{ns}	593±10 ^b	176±3 ^b	109±1.4 ^b	3.74±0.09 ^{ns}
	15	77.2±0.9 ^b	17.4±1.2	623±14 ^{ab}	198±5 ^a	137±1.5 ^a	3.98±0.11
	35	77.3±0.3 ^b	17.3±0.5	644±11 ^a	202±4 ^a	139±1.0 ^a	3.70±0.09
72	5	79.4±0.3 ^a	20.1±1.4 ^{ns}	588±7 ^b	174±3 ^b	112±2.5 ^b	3.64±0.11 ^{ns}
	15	78.3±0.2 ^b	20.3±0.3	626±8 ^a	194±2 ^a	139±1.2 ^a	3.80±0.11
	35	77.8±0.2 ^b	20.3±0.6	660±10 ^a	204±4 ^a	141±1.7 ^a	4.08±0.12
120	5	79.0±0.3 ^a	15.2±0.8 ^{ns}	615±11 ^{ns}	184±4 ^b	114±2.1 ^b	3.66±0.09 ^{ns}
	15	77.7±0.2 ^b	17.7±0.9	642±7	199±4 ^a	136±0.9 ^a	4.04±0.11
	35	77.5±0.2 ^b	17.2±0.6	657±8	199±4 ^a	139±1.1 ^a	3.87±0.11

¹Values are means from triplicate groups of juvenile olive flounder. Within each exposure time point, values in the same row with different superscripts are significantly different (Mean±SEM; $P<0.05$). NS indicates no significant difference ($P>0.05$). ²MM, Muscle moisture (%); Hct, Blood hematocrit (%); Osm, Plasma osmolality (mmol kg^{-1}); Na^+ , Plasma Na^+ (mEq L^{-1}); Cl^- , Plasma Cl^- (mEq L^{-1}); K^+ , Plasma K^+ (mEq L^{-1}).

혈장 내 포도당 농도는 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$). 12시간 시점에서는 15 ppt에 노출된 실험구의 혈장 내 포도당 농도가 5 ppt에 노출된 실험구에 비해 유의적으로 높았다($P<0.05$) (Table 6). 염분 스트레스 노출 기간 동안 혈장 내 총 단백질 농도는 염분 스트레스 노출과 사료 내 GABA첨가에 따른 유의적인 차이와 상호작용은 나타나지 않았다($P>0.05$).

혈장 내 중성지방과 총 콜레스테롤

염분 스트레스 노출 2시간 후, 염분에 따른 혈장 내 중성지방과 총 콜레스테롤 농도에서 유의적인 차이가 나타났다($P<0.05$). 혈장 내 중성지방 농도는 염분이 증가함에 따라 상승하였으며, 염분 노출 후 2시간 시점에서 35 ppt에 노출된 실험구의 중성지방 농도는 5 ppt에 노출된 실험구에 비해 유의적으로 높았다($P<0.05$). 그러나 5 ppt와 15 ppt, 그리고 15 ppt와 35 ppt에 노출된 실험구간에는 유의적인 차이가 나타나지 않았다($P>0.05$). 또한, 혈장 내 총 콜레스테롤 농도도 염분이 증가함에 따라 상승하였으며, 2시간 시점에서 35 ppt에 노출된 어류의 콜레스테롤 농도는 5 ppt와 15 ppt에 노출된 실험구에 비해 유의적으로 높았다($P<0.05$). 그러나 5 ppt와 15 ppt에 노출된 실험

구간 혈장 내 총 콜레스테롤 농도는 유의적인 차이가 관찰되지 않았다($P>0.05$) (Table 6). 사료 내 GABA첨가에 따른 혈장 내 중성지방 및 총 콜레스테롤 농도는 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 염분과 사료 내 GABA첨가 간의 상호작용에서도 유의적인 차이는 나타나지 않았다($P>0.05$) (Table 4).

혈장 내 GOT 및 GPT

염분 스트레스 노출 실험결과, 혈장 내 GOT와 GPT 농도는 염분 스트레스 노출과 사료 내 GABA첨가에 따른 차이와 상호작용은 관찰되지 않았다($P>0.05$) (Table 4).

고 찰

본 연구는 치어기 넙치(*P. olivaceus*) 사료 내 GABA첨가에 따른 염분 스트레스 완화 효과를 평가하였다. 본 연구는 수산양식용 사료 내 GABA첨가를 통한 염분 내성 향상을 평가한 최초의 연구이다. 연구 결과, GABA첨가 사료는 성장에 영향을 미치지 않았다. 이와 마찬가지로, Bae et al. (2024)은 넙치 사료 내 GABA첨가가 성장에 유의미한 영향을 미치지 않았지

Table 6. Plasma metabolites of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* after the eight-week feeding trial and five-day salinity exposure¹

Exposure time (h)	Salinity (ppt)	Measurements ²					
		GLU	TP	TG	TCHO	GPT	GOT
2	5	16.1±2.2 ^b	3.27±0.10 ^{ns}	251±28 ^b	137±8 ^b	14.1±2.3 ^{ns}	25.3±4.6 ^{ns}
	15	31.1±3.0 ^a	3.65±0.24	390±69 ^{ab}	138±4 ^b	17.1±1.3	27.9±3.4
	35	34.3±3.3 ^a	3.36±0.18	490±78 ^a	175±11 ^a	18.6±1.8	28.6±4.2
6	5	11.9±2.1 ^b	3.52±0.12 ^{ns}	214±21 ^{ns}	162±11 ^{ns}	16.6±1.3 ^{ns}	19.8±2.6 ^{ns}
	15	13.5±0.9 ^b	3.43±0.28	322±27	159±14	15.0±1.0	21.3±2.9
	35	25.6±2.4 ^a	3.18±0.21	300±36	146±8	18.6±1.4	21.3±1.4
12	5	8.10±0.3 ^c	3.47±0.23 ^{ns}	414±73 ^{ns}	175±13 ^{ns}	15.1±1.4 ^{ns}	17.5±2.2 ^{ns}
	15	11.7±0.6 ^b	3.03±0.17	482±66	158±7	14.2±1.9	25.9±6.0
	35	16.0±1.2 ^a	3.24±0.09	541±66	161±10	12.3±0.9	22.9±3.2
24	5	10.4±0.4 ^b	3.13±0.16 ^{ns}	450±80 ^{ns}	153±13 ^{ns}	16.8±3.0 ^{ns}	25.1±4.7 ^{ns}
	15	11.6±0.3 ^{ab}	3.12±0.11	445±68	157±7	13.9±0.8	21.8±2.6
	35	12.7±0.4 ^a	3.32±0.07	548±79	176±7	12.7±0.9	20.3±3.8
72	5	14.4±0.9 ^b	3.22±0.20 ^{ns}	367±47 ^{ns}	184±17 ^{ns}	14.3±0.9 ^{ns}	25.6±5.5 ^{ns}
	15	17.8±1.7 ^b	3.12±0.12	354±61	166±9	14.0±1.1	24.2±4.0
	35	33.4±3.6 ^a	3.23±0.13	417±83	178±8	17.0±1.7	25.4±3.7
120	5	15.1±0.7 ^{ns}	3.09±0.15 ^{ns}	467±86 ^{ns}	182±13 ^{ns}	14.2±0.8 ^{ns}	20.3±2.4 ^{ns}
	15	12.9±0.3	3.03±0.09	451±98	154±11	12.7±1.6	20.7±2.9
	35	13.6±1.3	3.27±0.13	307±62	165±13	13.1±1.1	20.6±2.8

¹Values are means from triplicate groups of juvenile olive flounder. Within each exposure time point, values in the same row with different superscripts are significantly different (Mean±SEM; $P<0.05$). NS indicates no significant difference ($P>0.05$). ²GLU, Plasma glucose (mg dL⁻¹); TP, Plasma total protein (g dL⁻¹); TG, Plasma triglyceride (mg L⁻¹); TCHO, Plasma total cholesterol (mg dL⁻¹); GPT, Plasma glutamic pyruvic transaminase (U L⁻¹); GOT, Plasma glutamic oxaloacetic transaminase (U L⁻¹).

만, 다양한 사육 밀도 조건에서 면역 반응과 질병 저항성에 긍정적인 효과를 나타냈다고 보고하였다. 그러나 정상 밀도 실험구는 높은 밀도 실험구에 비해 유의적으로 높은 WG와 SGR이 나타났다. 다른 동물에 대한 연구에서도 유사한 결과가 나타났다. Jeong et al. (2020)에 따르면, 육계에서 GABA첨가 사료가 성장에 영향을 미치지 않았으며, Li et al. (2015)은 GABA첨가 사료를 공급한 돼지와 기본 사료를 공급한 돼지 간에 일일 평균 사료 섭취량, 평균 SGR 및 FCR에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다고 밝혔다. 반면, Xie et al. (2017)과 Bae et al. (2022)은 GABA첨가가 흰다리새우(*L. vannamei*)의 성장을 개선하였으며, 각각 100 mg 및 150 mg/kg의 첨가 수준을 보고하였다. 또한, GABA첨가 사료는 나일 틸라피아(*O. niloticus*)의 성장을 향상시키고(Temu et al., 2019; Ruenkoed et al., 2023), 중국 참게(*E. sinensis*)의 탈피를 촉진하고, 사료 섭취를 증가시키며, 소화 및 흡수 기능을 개선함으로써 성장을 향상시킨 것으로 나타났다(Zhang et al., 2022). 추가적으로, Wu et al. (2016)은 치어기 초어(*Ctenopharyngodon idellus*) 사료 내 50 및 100 mg/kg GABA가 첨가된 사료를 공급했을 때 성장이 유의적으로 향상되었지만, 200 mg/kg GABA 첨가는 유의적인 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 또 다른 연구에서는 200 mg/kg GABA가 첨가된 사료를 공급한 치어기 넙치(40.1 ± 0.4 g, $AVG \pm SD$)가 대조 사료를 공급한 실험구에 비해 높은 성장도와 사료계수를 나타냈다고 보고하였다(Lee et al., 2023). 본 연구 결과, 해당 연구와는 상반되게 사료 내 GABA첨가가 치어기 넙치 성장에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 이러한 차이는 실험어의 크기와 사육 밀도에 의한 차이로 사료된다. 본 연구에서는 평균 크기가 23.5 ± 0.1 g ($AVG \pm SEM$)인 치어기 넙치를 사용하였다. 본 연구 결과와 이전 연구를 종합하면, 사료 내 GABA첨가가 성장에 미치는 영향은 생물 종, 어종, 사육 밀도, 사료 내 GABA 농도 등 여러 요인에 따라 달라질 수 있음을 의미한다.

혈장 생화학적 지표는 어류의 건강 상태와 생리적 조건을 평가하는 데 중요한 지표이다. 마찬가지로, 혈액학적 지표는 양식 시스템에서 어류의 건강과 복지를 모니터링하는 신뢰할 수 있는 지표로 널리 사용되고 있다. 이러한 지표는 사료, 수질, 스트레스, 병원체를 포함한 다양한 환경 요인에 매우 민감하게 반응하며, 이는 에너지 대사와 궁극적으로 어류의 전반적인 건강에 영향을 미칠 수 있다(Arthanari and Dhanapalan, 2016; Witek et al., 2022).

본 실험에서 GABA첨가 사료는 TG, TP, TCHO, GPT와 같은 혈장 내 대사산물에 영향을 미치지 않았다. 그러나 630 mg/kg의 GABA가 포함된 사료를 공급한 실험구는 210 mg/kg 또는 대조구 사료를 공급한 실험구에 비해 GOT와 GLU 수준이 유의적으로 높았다. 반면, 210 mg/kg GABA 사료를 공급한 실험구의 GOT와 GLU 농도는 대조구 사료를 공급한 실험구와 유의적인 차이가 나타나지 않았다. 선행 연구에 따르면, 250 mg/kg 및 352 mg/kg의 GABA가 포함된 사료를 공급한 치어

기 넙치의 GOT, GPT, GLU, TP 농도에 유의적인 차이가 나타나지 않았다(Farris et al., 2022; Bae et al., 2024). 또한, Bae et al. (2022)에 따르면, GABA첨가 사료를 공급한 흰다리새우(*L. vannamei*)의 GOT, GPT, GLU 농도가 대조구 사료를 공급한 새우와 차이가 없음을 확인하였다. 돼지를 대상으로 한 연구에서도 GABA첨가가 GOT, GPT, GLU, TG, TCHO 농도에 영향을 미치지 않았음을 확인하였다(Zhao et al., 2020). 이와같이, Jeong et al. (2020)은 GABA첨가 사료를 공급한 닭과 대조구 사료를 공급한 닭 간에 GPT, GLU, TG, TP 수준에서 유의적인 차이가 없었지만, GABA첨가 사료를 공급한 닭의 혈청에서 GOT와 TCHO 수준이 높게 나타났다. 또 다른 연구에서는 144 mg/kg 및 189 mg/kg GABA가 포함된 사료를 공급한 나일 틸라피아에서 GOT 수준이 197 mg/kg 및 507 mg/kg GABA가 포함된 사료를 공급한 실험구에 비해 유의적으로 낮았다고 보고하였다. 그러나 대조구 사료와 144, 189, 242 mg/kg GABA가 포함된 사료를 공급한 실험구 간에는 GOT 농도의 유의적인 차이가 관찰되지 않았다(Temu et al., 2019). 또한, 지안 잉어(*C. carpio* var. *Jian*)에서 사료 내 GABA가 120 mg/kg에 도달했을 때 GLU 농도가 유의하게 증가했지만, GABA 수준이 120 mg/kg 이하일 때는 대조구와 유의적인 차이가 없었다(Chen et al., 2021).

본 연구 결과는 실험 조건이 최적화되어 GABA 농도별 첨가에 따른 혈장 생화학적 지표에 미치는 영향이 최소화되었음을 나타낸다. 그러나 높은 수준의 GABA첨가(630 mg/kg)가 GOT 및 GLU 농도 증가에 기여했을 가능성이 있다. GOT와 GPT는 아미노산 대사에서 중요한 역할을 하며, 동물에서 간 기능의 중요한 지표로 사용된다. 이러한 효소는 간세포에서 발견되며, 주로 간세포가 손상될 때 혈류로 방출된다. 또한, GLU는 항상성을 유지하는 것과 독성 물질의 생성과 축적을 줄이는 데 필수적이며, 이는 어류 건강에 매우 중요하다. GLU는 스트레스 요인에 대한 생리적 및 대사적 반응의 주요 지표이며, 혈장 내 GLU 농도의 변화는 일반적으로 환경적 또는 대사적 스트레스를 받는 동안 관찰된다(Aulia et al., 2024; Yu et al., 2024). 이러한 결과는 혈액 생화학적 지표 농도가 사료 내 GABA첨가 수준에 따라 달라질 수 있음을 나타내며, GABA의 효과가 어류 종에 따라 다를 수 있음을 나타낸다. 또한, GABA가 혈액 생화학적 지표에 미치는 영향에는 종 특이성에 기인할 수 있다. 이러한 결과를 통해 생물 종에 따라 GABA첨가 수준을 고려하는 것이 필요하다.

혈액 생화학적 지표는 생물체의 선천적 면역과 산화 스트레스를 진단하는 데 중요한 지표이다(Magnadóttir, 2006; Lee et al., 2023). 혈액 또는 혈림프 내 이온 수준(Na^+ , K^+ , Cl^- , Ca^{2+} , Mg^{2+})은 삼투질 농도나 특정 이온 농도를 통해 측정되며, 화학적 노출 및 그 영향에 대한 민감한 바이오마커로 간주된다(Mathan et al., 2010). 혈장 내 삼투질 농도는 어류의 삼투조절 기능을 평가하는 핵심 지표로, Cl^- 및 Na^+ 농도와 상관관계가 있다. 혈장 내

삼투질 농도의 변화는 Na^+ 및 Cl^- 이온의 수동적 내부 확산에 의해 발생한다(Varsamos et al., 2005; Evans and Kültz, 2020). 본 연구에서는 사료 내 GABA 첨가가 어류의 삼투조절 기능에 미치는 영향을 평가하기 위해 혈장 내 이온(Na^+ , K^+ , Cl^-)을 측정하였다. 분석 결과, GABA 첨가가 혈장 내 삼투질 농도 및 Na^+ , Cl^- 수준에 유의한 영향을 미치지 않았으며, 이러한 결과는 GABA 첨가 사료가 어류의 삼투조절 기능에 영향을 미치지 않았음을 나타낸다. 이는 사육 실험 동안 안정적인 염분이 유지된 것에 기인할 수 있다. 대부분의 어류는 안정적인 염분에 의존하여 효과적으로 삼투조절을 수행하고 체액의 삼투압을 일정하게 유지한다. 그러나 어류가 담수에서 해수로 이동하면 혈장 내 삼투질 농도가 급격히 증가할 수 있다(Fiol and Kültz, 2007; Evans and Kültz, 2020). McDonald and Milligan (1997)은 어류에서 스트레스로 인한 혈장 내 Na^+ , Cl^- 농도 변화가 종종 내부 환경의 삼투압 감소를 동반한다고 보고하였다. GABA를 630 mg/kg 농도로 첨가한 사료를 공급한 어류의 혈장 내 K^+ 농도가 유의적으로 증가하였는데, 이러한 증가는 여러 생리 및 환경적 요인에 기인할 수 있다. Mathan et al. (2010)은 *C. carpio*가 낮은 pH에 노출되었을 때 혈장 K^+ 농도 증가는 H^+ 와 K^+ 간의 세포 내외 공간에서의 양이온 교환에 의해 발생할 수 있는 산증(acidosis)의 가능성을 제안하였다. 반면, Kammerer et al. (2010)은 *O. mossambicus*가 급성 고삼투압 스트레스 노출에 따른 혈장 내 K^+ 농도의 유의적인 변화가 관찰되지 않았다고 보고하였다. 따라서 GABA 첨가가 혈장 내 K^+ 수준에 미치는 영향을 평가하고 메커니즘을 밝히기 위한 추가적인 연구가 필요하다.

기후 변화는 반복되는 극단적인 기후 현상과 염분 변동 등으로 특징지어지며, 이는 수생 생물의 스트레스를 유발하여 생리적 기작을 방해하고 서식 환경의 변화로 에너지 분배의 불균형과 삼투압 조절에 관여하는 주요 효소의 활성을 감소시킨다(Saraswathy et al., 2021; Li et al., 2022b). 120시간의 염분 스트레스 노출 실험 동안 어류의 폐사는 관찰되지 않았다. 본 연구에서 사료 내 GABA 첨가는 저염분 조건에 노출된 치어기 넙치의 등근육 내 수분, 삼투질 농도, 혈장 내 이온 Na^+ 및 Cl^- 를 포함한 삼투조절 측정치에 유의적인 영향을 미치지 않았다. 적혈구 용적률과 혈장 내 이온 K^+ 의 수치 또한 GABA 첨가와 염분에 의한 영향을 받지 않았다. 그러나 염분이 등 근육 내 수분, 삼투질 농도, 혈장 내 이온 Na^+ 및 Cl^- 에 미치는 효과는 뚜렷하게 나타났으며, 이는 어류가 저염분 노출에 적응하기 위해 생리적 반응을 보인 것으로 사료된다. Zhang et al. (2011)은 수생 생물이 급성 염분 스트레스에 노출되었을 때, 호르몬, 효소, 이온 수송체 조절을 포함한 삼투조절 메커니즘을 통해 적응한다고 언급하였다. 본 연구에서 저염분 노출 2시간 후 염분이 증가함에 따라 등 근육 내 수분 함량이 감소하였다. 이와 유사한 경향은 Lee et al. (2015)의 연구에서도 관찰되었으며, 해당 연구에서는 염분이 증가함에 따라 백철갑상어(*Acipenser transmontanus*)의 근육 내 수분이 감소하였다. 그리고, 삼투질 농도와 혈장 내 Na^+

및 Cl^- 농도는 염분이 증가함에 따라 상승하였다. 염분 노출 24시간 후 5 ppt에 노출된 실험어의 혈장 내 삼투질 농도는 15 ppt 및 35 ppt에 노출된 실험어에 비해 유의적으로 낮았다. 해당 결과는 Saraswathy et al. (2021)의 연구와 일치하며, 흰다리새우의 혈청 내 삼투질 농도가 저염분에 노출되었을 때 유의적으로 감소하여 과삼투압 상태를 나타냈다. 또한, 염분 노출 2시간 후 5 ppt에 노출된 실험어의 혈장 내 Na^+ 및 Cl^- 농도는 15 ppt 및 35 ppt에 노출된 실험어에 비해 유의적으로 낮았다. 이와 유사하게, Li et al. (2022b)은 저염분 노출 후 12시간 이내에 Na^+ 와 Cl^- 이온 농도가 감소하여 흑돔(*Acanthopagrus schlegelii*)의 삼투조절을 개선하기 위한 이온 수송이 증가했음을 확인하였다. Kammerer et al. (2010)에 따르면, 담수 틸라피아가 25 ppt의 해수에 노출되었을 때 혈장 내 삼투질 농도, Na^+ , Cl^- 농도가 유의적으로 증가하여 노출 후, 24시간 시점에 최고치를 기록하였지만, 혈장 내 K^+ 농도는 실험 기간 내내 변하지 않았다. 본 연구 결과와 기존 연구를 종합해보면, 염분이 감소할수록 저염분에 노출된 해양 어류의 근육 내 수분이 감소하고 삼투질 농도와 혈장 내 Na^+ 및 Cl^- 수준이 증가함을 확인하였다. 반대로, 고염분에 노출된 담수 어류는 삼투질 농도와 혈장 내 Na^+ 및 Cl^- 농도가 감소하는 경향을 보였다. Sampaio and Bianchini (2002)는 브라질 가자미(*Paralichthys orbignyanus*)는 염분이 증가함에 따라 혈장 내 삼투질 농도와 이온 농도(Na^+ , Cl^- , K^+ , Ca^{2+})가 증가한다고 언급하였다.

본 연구에서 염분 노출 실험 동안 실험어의 혈장 내 TP, GPT, GOT 농도는 사료 내 GABA 첨가와 염분의 영향을 받지 않았다. 이는 스트레스 조건에서 GABA 첨가가 해당 지표에 영향을 미치지 않는다는 것을 나타낸다. 마찬가지로, Bae et al. (2024)의 연구에서도 넙치의 GOT와 GPT 수준이 GABA 첨가와 높은 사육 밀도에 의해 유의미한 영향을 받지 않았다고 보고했다. 또한, GABA 첨가 사료는 혈장 내 TG, TCHO, GLU 농도에도 영향을 미치지 않았다. 그러나 염분 스트레스 노출 2시간 시점에서 해당 지표에 유의적인 차이가 나타났다. Evans and Kültz (2020)는 급성 및 만성 염분 스트레스가 어류의 혈장 내 대사물질(예: 포도당, 젖산, 중성지방)과 삼투조절 과정에서의 활용에 서로 다른 영향을 미친다고 보고하였다. 본 연구에서는 높은 염분에 노출된 어류의 TG, TCHO, GLU 수준이 저염분에 노출된 어류보다 높았으며, 이는 염분 증가가 이러한 지표를 상승시킨다는 것을 나타낸다. 이와 마찬가지로, Lee et al. (2015)은 높은 염분(24 ppt)에 노출된 백철갑상어에서 혈장 내 포도당 농도가 0, 8, 16 ppt에 비해 노출 12시간 후 유의적으로 증가했다고 보고했다. 본 연구에서도 어류의 혈장 내 포도당 농도는 모든 염분 농도에서 노출 6시간 후 감소했으며, 노출 120시간 후에는 염분 농도 간 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. 이러한 패턴은 포도당 농도가 초기에는 스트레스 조건에서 상승하지만 항상성 유지를 위해 점차 정상화된다는 것을 나타낸다. 이와 유사한 경향은 Yu et al. (2024)의 연구에서도 보고되었으며, 해당

연구에서는 운송 스트레스 조건에서 황복의 GLU 수준이 6시간 시점에서 유의하게 증가하였으나, 12시간에 정상 수준으로 돌아왔다. 해당 연구에서는 운송 중 GABA 처리가 에피네프린(epinephrine)과 코르티솔(cortisol)의 증가를 억제하고 포도당 항상성을 유지함으로써 황복의 운송 스트레스를 완화한 것으로 보고했다. 그러나 본 연구에서는 사료 내 GABA 첨가가 염분 스트레스 저감에 나타내는 효과는 관찰되지 않았다. GABA가 스트레스 조건에서 포도당 항상성을 유지하는 메커니즘을 밝히기 위한 추가 연구가 필요하다.

종합적으로, 본 연구에서 관찰된 사료 내 GABA 첨가가 염분 스트레스 반응에 미치는 영향의 부재는 연구에서 사용된 염분 농도, 종 특이성 그리고 사료 내 GABA 첨가량과 같은 여러 요인에 의해 영향을 받았을 가능성이 있다. 하지만, 본 연구 결과는 사료 내 GABA 첨가가 염분 스트레스 반응을 완화할 가능성을 평가하는 기초 연구로 활용될 수 있다. 향후 연구에서는 다양한 GABA 첨가량 및 염분 농도를 고려하고, 추가적인 생리적 지표를 포함하여, GABA가 어류의 염분 스트레스 반응 저감에 미치는 영향을 추가적으로 평가할 필요가 있다.

사 사

이 논문은 국립부경대학교 자율창의학술연구비(2023년)에 의하여 연구되었음.

References

- Abisha R, Krishnani KK, Sukhdhane K, Verma AK, Brahmane M and Chadha NK. 2022. Sustainable development of climate-resilient aquaculture and culture-based fisheries through adaptation of abiotic stresses: A review. *J Water Clim Change* 13, 2671-2689. <https://doi.org/10.2166/wcc.2022.045>.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). 2005. Official methods of analysis. 18th edition. AOAC, Gaithersburg, MD, U.S.A.
- Arthanari M and Dhanapalan S. 2016. Assessment of the haematological and serum biochemical parameters of three commercially important freshwater fishes in river Cauvery Velur, Namakkal district, Tamil Nadu, India. *Int J Fish Aquacult Stud* 4, 155-159.
- Aulia D, Lim MW, Jang IK, Seo JM, Jeon H, Kim H, Kang KM, Ogun AO, Yoon S, Lee S, Hur J, Choi TJ, Kim JO and Lee S. 2024. Safety assessment of camelid-derived single-domain antibody as feed additive for juvenile whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against white spot syndrome virus. *Animals* 14, 2965. <https://doi.org/10.3390/ani14202965>.
- Bae J, Hamidoghli A, Farris NW, Olowe OS, Choi W, Lee S, Won S, Ohh M, Lee S and Bai SC. 2022. Dietary γ -aminobutyric acid (GABA) promotes growth and resistance to *Vibrio alginolyticus* in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquac Nutr* 2022, 9105068. <https://doi.org/10.1155/2022/9105068>.
- Bae J, Moniruzzaman M, Je HW, Lee S, Choi W, Min T, Kim KW and Bai SC. 2024. Evaluation of gamma-aminobutyric acid (GABA) as a functional feed ingredient on growth performance, immune enhancement, and disease resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) under high stocking density. *Antioxidants* 13, 647. <https://doi.org/10.3390/antiox13060647>.
- Bai SC and Kim KW. 1997. Effects of dietary animal protein sources on growth and body composition in Korean rockfish, *Sebastes schlegelii*. *J Aquacult* 10, 77-85.
- Berzseny A, Sohns F, Jia Y and Braun B. 2023. Crop diversification as a household livelihood strategy under environmental stress. Factors contributing to the adoption of crop diversification in shrimp cultivation and agricultural crop farming zones of coastal Bangladesh. *Land Use Policy* 132, 106796. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2023.106796>.
- Chen X, Gao C, Du X, Xu H, Wang G and Zhang D. 2021. Effects of dietary γ -aminobutyric acid levels on the growth, serum biochemical indexes, immune-related signalling molecules of Jian carp. *Aquac Res* 52, 1096-1105. <https://doi.org/10.1111/are.14965>.
- Collins C, Bresnan E, Brown L, Falconer L, Guilder J, Jones L, Kennerley A, Malham S, Murray A and Stanley M. 2020. Impacts of climate change on aquaculture. *MCCIP Science Review* 2020, 482-520. <https://doi.org/10.14465/2020.arc21.aqu>.
- Cui Y, Miao K, Niyaphorn S and Qu X. 2020. Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: A systematic review. *Int J Mol Sci* 21, 995. <http://doi.org/10.3390/ijms21030995>.
- Dhakal R, Bajpai VK and Baek KH. 2012. Production of GABA (γ -aminobutyric acid) by microorganisms: A review. *Braz J Microbiol* 43, 1230-1241. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400001>.
- Engelhard GH, Howes EL, Pinnegar JK and Le Quesne WJ. 2022. Assessing the risk of climate change to aquaculture: a national-scale case study for the Sultanate of Oman. *Clim Risk Manag* 35, 100416. <https://doi.org/10.1016/j.crm.2022.100416>.
- Evans TG and Kültz D. 2020. The cellular stress response in fish exposed to salinity fluctuations. *J Exp Zool A Ecol Integr Physiol* 333, 421-435. <http://doi.org/10.1002/jez.2350>.
- Fiol DF and Kültz D. 2007. Osmotic stress sensing and signaling in fishes. *FEBS J* 274, 5790-5798. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2007.06099.x>.
- Farris NW, Hamidoghli A, Bae J, Won S, Choi W, Biró J, Lee S and Bai SC. 2022. Dietary supplementation with γ -aminobutyric acid improves growth, digestive enzyme activity, non-specific immunity and disease resistance against *Streptococcus iniae* in juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Animals* 12, 248. <https://doi.org/10.3390/>

- ani12030248.
- Galappaththi EK, Ichien ST, Hyman AA, Aubrac CJ and Ford JD. 2020. Climate change adaptation in aquaculture. *Rev Aquac* 12, 2160-2176. <https://doi.org/10.1111/raq.12427>.
- Hamilton F. 1822. *An Account of the Fishes Found in the River Ganges and Its Branches* (Vol. 1). Archibald Constable and Comany, London, U.K. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.6897>.
- Islam MJ, Kunzmann A and Slater MJ. 2022. Responses of aquaculture fish to climate change-induced extreme temperatures: A review. *J World Aquac Soc* 53, 314-366. <http://doi.org/10.1111/jwas.12853>.
- Jeong SB, Kim YB, Lee JW, Kim DH, Moon BH, Chang HH, Choi YH and Lee KW. 2020. Role of dietary gamma-aminobutyric acid in broiler chickens raised under high stocking density. *Anim Nutr*, 293-304. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2020.03.008>.
- Kammerer BD, Cech Jr JJ and Kültz D. 2010. Rapid changes in plasma cortisol, osmolality, and respiration in response to salinity stress in tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 157, 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.07.009>.
- Khan MIR, Jalil SU, Chopra P, Chhillar H, Ferrante A, Khan NA and Ansari MI. 2021. Role of GABA in plant growth, development and senescence. *Plang Gene* 26, 100283. <https://doi.org/10.1016/j.plgene.2021.100283>.
- Kim JH, Jeong EH, Jeon YH, Kim SK and Hur YB. 2021. Salinity-mediated changes in hematological parameters, stress, antioxidant responses, and acetylcholinesterase of juvenile olive flounders (*Paralichthys olivaceus*). *Environ Toxicol Pharmacol* 83, 103597. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2021.103597>.
- Kinnersley AM and Turano FJ. 2000. Gamma aminobutyric acid (GABA) and plant responses to stress. *Crit Rev Plant Sci* 19, 479-509. <https://doi.org/10.1080/07352680091139277>.
- KOSIS (Korean Statistical Information Service). General table of fishery production trends. Retrieved from https://kosis.kr/statHtml/statHtml.do?conn_path=K2&tblId=DT_1EW0001&orgId=101 on Dec 13, 2024.
- Kumar M, Gupta G and Varghese T. 2023. Effect of dietary gamma-aminobutyric acid on growth performance, haemato-immunological responses, antioxidant enzymes activity, ghrelin and IGF-I expression of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings. *Comp Clin Pathol* 32, 53-65. <https://doi.org/10.1007/s00580-022-03412-7>.
- Lee S, Fadel JG, Haller LY, Verhille CE, Fangue NA and Hung SS. 2015. Effects of feed restriction on salinity tolerance in white sturgeon (*Acipenser transmontanus*). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 188, 156-167. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.06.027>.
- Lee S, Moniruzzaman M, Farris N, Min T and Bai S. 2023. Interactive effect of dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) and water temperature on growth performance, blood plasma indices, heat shock proteins and GABAergic gene expression in juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Metabolites* 13, 619. <https://doi.org/10.3390/metabo13050619>.
- Li C, Tian Y, Ma Q and Zhang B. 2022. Dietary gamma-aminobutyric acid ameliorates growth impairment and intestinal dysfunction in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) fed a high soybean meal diet. *Food Funct* 13, 290-303. <http://doi.org/10.1039/d1fo03034e>.
- Li J, Jiang M, Han Q, Peng R and Jiang X. 2020. Effects of γ -aminobutyric acid supplementation on the growth performance, serum biochemical indices and antioxidant status of pharaoh cuttlefish, *Sepia pharaonis*. *Aquac Nutr* 26, 1026-1034. <http://doi.org/10.1111/anu.13060>.
- Li X, Shen Y, Bao Y, Wu Z, Yang B, Jiao L, Zhang C, Tocher DR, Zhou Q and Jin M. 2022. Physiological responses and adaptive strategies to acute low-salinity environmental stress of the euryhaline marine fish black seabream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Aquaculture* 554, 738117. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738117>.
- Li YH, Li F, Liu M, Yin JJ, Cheng BJ, Shi BM and Shan AS. 2015. Effect of γ -aminobutyric acid on growth performance, behavior and plasma hormones in weaned pigs. *Can J Anim Sci* 95, 165-171. <http://doi.org/10.4141/CJAS2013-148>.
- Magnadóttir B. 2006. Innate immunity of fish (overview). *Fish Shellfish Immunol* 20, 137-151. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2004.09.006>.
- Mathan R, Kurunthachalam SK and Priya M. 2010. Alterations in plasma electrolyte levels of a freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to acidic pH. *Toxicol Environ Chem* 92, 149-157. <https://doi.org/10.1080/02772240902810419>.
- Maulu S, Hasimuna OJ, Haambiya LH, Monde C, Musuka CG, Makorwa TH, Munganga BP, Phiri KJ and Nsekanabo JD. 2021. Climate change effects on aquaculture production: sustainability implications, mitigation, and adaptations. *Front Sustain Food Syst* 5, 609097. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.609097>.
- McDonald G and Milligan L. 1997. Ionic, osmotic and acidbase regulation in stress. In: *Fish Stress and Health in Aquaculture*. Iwama GK, Pickering AD, Sumpter JP and Schreck C, eds. Cambridge University Press, Cambridge, U.K., 119-144.
- Pannerchelvan S, Rios-Solis L, Wong FWF, Zaidan UH, Wasoh H, Mohamed MS, Tan JS, Mohamad R and Halim M. 2023. Strategies for improvement of gamma-aminobutyric acid (GABA) biosynthesis via lactic acid bacteria (LAB) fermentation. *Food Funct* 14, 3929-3948. <http://doi.org/10.1039/d2fo03936b>.
- Ruenkoed S, Nontasan S, Phudkliang J, Phudinsai P, Pongtanalert P, Panprommin D, Mongkolwit K and Wangkahart E. 2023. Effect of dietary gamma aminobutyric acid (GABA)

- modulated the growth performance, immune and antioxidant capacity, digestive enzymes, intestinal histology and gene expression of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunol* 141, 109056. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.109056>.
- Sampaio LA and Bianchini A. 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *J Exp Mar Biol Ecol* 269, 187-196. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(01\)00395-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(01)00395-1).
- Saraswathy R, Muralidhar M, Balasubramanian CP, Rajesh R, Sukumaran S, Kumararaja P, Dayal JS, Avunje S, Nagavel A and Vijayan KK. 2021. Osmo-ionic regulation in whiteleg shrimp, *Penaeus vannamei*, exposed to climate change-induced low salinities. *Aquac Res* 52, 771-782. <http://doi.org/10.1111/are.14933>.
- Storici P, Biase DD, Bossa F, Bruno S, Mozzarelli A, Peneff C, Silverman RB and Schirmer T. 2004. Structures of γ -aminobutyric acid (GABA) aminotransferase, a pyridoxal 5'-phosphate, and [2Fe-2S] cluster-containing enzyme, complexed with γ -ethynyl-GABA and with the antiepilepsy drug vigabatrin. *J Biol Chem* 279, 363-373. <https://doi.org/10.1074/jbc.M305884200>.
- Temu V, Kim H, Hamidoghli A, Park M, Won S, Oh M, Han JK and Bai SC. 2019. Effects of dietary gamma-aminobutyric acid in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture* 507, 475-480. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.04.063>.
- Varsamos S, Nebel C and Charmantier G. 2005. Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish: A review. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 141, 401-429. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2005.01.013>.
- Wang Z, Zhou Q, Tu J, Wang Y, Song R, Chu Z, Li S, Li J, Zhang H, Zhang M and Shao J. 2023. Ameliorative effect of gamma-aminobutyric acid on the antioxidant status and ammonia stress resistance of *Micropterus salmoides*. *Aquac Rep* 32, 101734. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101734>.
- Witeska M, Kondera E, Ługowska K and Bojarski B. 2022. Hematological methods in fish-Not only for beginners. *Aquaculture* 547, 737498. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737498>.
- Wu F, Liu M, Chen C, Chen J and Tan Q. 2016. Effects of dietary gamma aminobutyric acid on growth performance, antioxidant status, and feeding-related gene expression of juvenile grass carp, *Ctenopharyngodon idellus*. *J World Aquac Soc* 47, 820-829. <http://doi.org/10.1111/jwas.12327>.
- Xie SW, Li YT, Zhou WW, Tian LX, Li YM, Zeng SL and Liu YJ. 2017. Effect of γ -aminobutyric acid supplementation on growth performance, endocrine hormone and stress tolerance of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, fed low fishmeal diet. *Aquac Nutr* 23, 54-62. <https://doi.org/10.1111/anu.12358>.
- Yan Z, Liu B, Liu J, Guo Z, Kou Y, Lu W, Sun J and Li Y. 2024. Enhancing resilience to chronic ammonia stress in crucian carp (*Carassius carassius*) through dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) supplementation: Effects on growth performance, immune function, hepatotoxicity, and apoptosis. *Aquac Rep* 37, 102259. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2024.102259>.
- Yu X, Hou W and Xiao L. 2024. Gamma-aminobutyric acid (GABA) avoids deterioration of transport water quality, regulates plasma biochemical indices, energy metabolism, and antioxidant capacity of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) under transport stress. *Biology* 13, 474. <https://doi.org/10.3390/biology13070474>.
- Zhang C, Wang X, Su R, He J, Liu S, Huang Q, Qin C, Zhang M, Qin J and Chen L. 2022. Dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) supplementation increases food intake, influences the expression of feeding-related genes and improves digestion and growth of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*). *Aquaculture* 546, 737332. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737332>.
- Zhang CX, Zhou L, Ye JD, Wang L, Huang KK and Zhai Q. 2011. Effects of acute salinity stress on the serum osmolality, serum ion concentrations, and ATPase activity in gill filaments of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) fed with diets containing different magnesium levels. *J Fish China* 36, 1425.
- Zhao Y, Wang J, Wang H, Huang Y, Qi M, Liao S, Bin P and Yin Y. 2020. Effects of GABA supplementation on intestinal SIgA secretion and gut microbiota in the healthy and ETEC-infected weanling piglets. *Mediators Inflamm* 2020, 7368483. <https://doi.org/10.1155/2020/7368483>.