

저염분 바이오플락에서 사육한 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)의 해수 순치방법에 따른 혈장성분 및 혈장삼투압 비교

전유현 · 이종민 · 김수경¹ · 김수경*

국립수산과학원 서해수산연구소 양식산업과, '아쿠아시스

Effect of Acclimation Methods on Physiological Status of Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* Bred in Low Salinity Biofloc

Yu-Hyeon Jeon, Jong-Min Lee, Su Kyung Kim¹ and Su-Kyoung Kim*

West Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Taean 32132, Korea

¹Aquasis, Gosung 24731, Korea

This study was carried out to identify an effective method to acclimate low-salinity (4 psu) bred *Litopenaeus vannamei* (mean body weight 16±3.3 g) to sea water. The fast acclimation group (FA) was directly exposed to filtered sea water (32 psu) while the slow acclimation group (SA) was exposed to a slow increase in salinity. Shrimps were sampled at 0, 1, 3, 6, 12, 24 and 48 h for plasma analyses. The plasma components between experimental groups did not show significant differences. The hemolymph osmolality (HO) in FA increased significantly after 1 h ($P<0.05$), while in SA it started to increase slowly only at 24 h and reached a similar level to that of FA at 48 h. The levels of Na^+ and Mg^{2+} ions were significantly different between the two treatments ($P<0.05$), but there was no significant difference in Ca^{2+} ion levels. We found that the different methods of acclimation of *L. vannamei* to sea water do not affect the plasma components significantly, but lead to changes in the HO and ion levels, it is considerable to acclimate gradually for at least two days.

Keywords: Acclimation, Pacific white shrimp, Plasma components, Hemolymph osmolality

서론

일반적으로 갑각류는 광염성으로 다양한 염분에서 생존할 수 있는 능력을 가지고 있으나(Freire et al., 2008) 환경변화 의해 발생하는 급격한 염분 변화는 새우 생리적 변화에 영향을 줄 수 있다(Hu et al., 2015). 이러한 급격한 염분 변화는 갑각류의 성장 저하, 탈피주기의 변화 등 생리적 요인들에 부정적인 영향을 미칠 뿐 아니라(Anger, 2003) 면역력을 감소시키며, 각종 질병에 취약하게 하는 요인이 된다(Vaseeharan et al., 2013). 혈액학적 성상은 수생동물의 건강상태와 밀접한 관련이 있으며 외부 환경 변화에 민감하게 반응한다(Chen et al., 2018). 이러한 이유로 환경 스트레스에 따른 생물의 혈장성분 및 이온농도 등 생리적 변화에 대한 지표로 사용되고 있다(Perazzolo et al., 2002; Yu et al., 2016; Chen et al., 2019). 급격한 염분 변화는

total protein, cholesterol 등 새우의 혈장 성분에 변화를 초래하는 것으로 알려져 있다(Vaseeharan et al., 2013). 또한 염분 변화는 혈장 성분뿐 아니라 혈액 내 삼투압에도 영향을 미친다(Joseph and Philip, 2007; Saeed et al., 2015). 염분 변화에 노출된 수생동물은 외부환경과 체내의 이온 불균형을 해소하고, 유지하기 위하여 삼투압 조절을 한다(Diaz et al., 2001). 저삼투압(hyposmotic) 환경에서는 Na^+ , Cl^- 을 흡수하여 이온의 체외 확산을 막고, 고삼투압(hyperosmotic) 환경에서는 Na^+ , Cl^- 을 배출을 통해 체내 삼투압을 유지한다(Soegianto et al., 2017). 이러한 체내 삼투압 조절 과정은 능동적으로 이루어지고, 그 과정에서 많은 에너지 소비가 발생하게 된다(Tseng and Hwang, 2008). 염분이 변화하는 환경에서 에너지 소비의 증가는 면역력 저하로 이어질 수 있다(Kim et al., 2021). 또한, 삼투압 조절능력(osmoregulatory capacity)을 확인하여 삼투압 차이에

*Corresponding author: Tel: +82. 41. 675. 3773 Fax: +82. 41. 675. 7077

E-mail address: agemang@korea.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.2021.0761>

Korean J Fish Aquat Sci 54(5), 761-768, October 2021

Received 18 August 2021; Revised 6 September 2021; Accepted 15 September 2021

저자 직위: 전유현(연구원), 이종민(연구원), 김수경(책임연구원), 김수경(연구원)

의한 갑각류의 스트레스 및 생리적 상태를 모니터링 할 수 있다(Lignot et al., 2000; Sang and Fotedar, 2004). O.C는 혈장과 사육수 간의 삼투압 기울기로 평가할 수 있으며, 등삼투압 선(isosmotic line, 기울기=1)을 기준으로 등삼투압 선에 가까울수록 삼투압 조절능력이 떨어진다고 평가한다(Chen et al., 1995; Gong et al., 2004). 흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)는 아열대지방에 서식하는 품종으로 넓은 범위의 염분에 잘 적응하고, 고밀도 사육이 가능하여 전 세계에서 가장 많이 양식되고 있다(Valencia-Castañeda et al., 2018). 이러한 특성으로 저염분 농도별 사육에 따른 흰다리새우의 생존 및 생리적 특성 연구는 다양하게 수행되었다(McGraw et al., 2002; Cheng et al., 2005; Jasmani et al., 2010; Liu et al., 2014; Jaffer et al., 2020). 저염분 순치 방법과 관련하여 순치 속도에 따른 혈장 성분 비교 결과 염분을 일일 50% 낮추는 것이 성장과 생존율 향상에 도움이 된다는 연구결과가 있다(Kim et al., 2017). 해양수산부 자료에 따르면 최근 우리나라에서 지하수를 이용한 저염분 흰다리새우 양식장이 늘어나고 있다(MOF, 2021). 그러나 우리나라 새우 유통과정을 살펴보면 대부분 해수를 이용하여 활새우를 운송하고 소비되기 전까지 새우를 해수에 축양하였다가 판매하는 형태로 저염분으로 양식한 경우 급격한 염분 변화에 노출 될 수 있다. 하지만 저염분에서 해수로 역순치한 연구는 거의 없으며, 이러한 조건에서 새우의 생리학적인 영향에 대한 연구 또한 이루어진 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 저염분에서 해수로 순치방법에 따른 흰다리새우 혈액 내 성분 및 삼투압 변화를 비교하여 보다 효율적인 염분 순치 방법을 알아보고자 한다.

재료 및 방법

실험대상 및 실험환경

본 실험에 사용된 흰다리새우 후기유생(PL 12)은 민간종묘 생산장에서 구입하여, 저염분 바이오플락 사육수(4 psu)에 160일간 양성 후 평균 체중 16.0 ± 3.3 g의 성체를 실험에 이용하였다. 실험은 벤츄리 시스템이 설치된 18 m^2 레이스웨이 콘크리트 사각수조를 이용하였다. 실험구는 여과해수(32 psu)에 흰다리새우를 바로 입식한 급격한 순치(fast acclimation, F.A.) 실험구와 저염분 바이오플락 사육수(4 psu)를 채운 수조에 실험 시작과 함께 36시간동안 해수를 넣어 염분을 4.31 psu에서 30.21 psu까지 증가시킨 실험구(slow acclimation, S.A.)로 설정하였다. 수조 당 흰다리새우를 100마리씩 수용하고 48시간 동안 실험을 실시하였다. 일간 수온, 용존산소, 염분, pH 측정은 YSI-Professional plus (YSI Inc., Yellow Springs, OH, USA)를 이용하여 측정하였으며, 총 생물량의 3% 전용 배합사료(단백질 함량 50%, 사조 동아원)를 1일 3회(9시, 15시, 21시) 공급하였다. 체액분석을 위한 샘플은 0, 1, 3, 6, 12, 24, 48시간 마다 수조당 5마리씩 채혈하고, 원심분리(4°C, 10,000 rpm, 15 min; Hanil Scientific Inc., Gimpo, Korea)하여 분리한 혈장은 분석

전까지 초저온냉동고(-80°C; Panasonic Healthcare Co., Ltd., Tokyo, Japan)에 보관하였다.

체액분석

체액분석은 혈장 내 유기 성분(total protein, cholesterol), 효소활성[AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransaminase), ALP (alkaline phosphatase)]을 임상용 진단 키트(Asan Pharm. Co., Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 분석하였다. 모든 분석은 제조사 매뉴얼에 따라 실시하였다. Total protein은 정색시액 1 mL에 혈장 10 μL 를 첨가하고 37°C에서 30분방치 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Cholesterol은 효소시액 0.75 mL에 혈장 5 μL 를 첨가하고 37°C에서 5분 방치 후, 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. ALP는 기질완충액 400 μL 를 첨가하고 37°C에서 5분 방치 후, 혈장 10 μL 를 첨가하고 37°C에서 15분 방치 후, 정색시액 400 μL 를 첨가하고 실온에서 10분 방치 후, 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. AST와 ALT는 기질액 100 μL 에 혈장 20 μL 를 첨가하고 37°C에서 60분/30분 방치 후, 정색시액 100 μL 를 첨가하고 실온에서 20분 방치 후, 0.4 N NaOH용액 1 mL를 첨가 후 실온에서 10분 방치 후, 505 nm에서 흡광도를 측정하였다.

혈장 삼투압분석

혈장 삼투압은 삼투압분석기 Micro-Osmometer (Advanced instruments Inc., MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 사육수 표준용액은 농도별로 해수를 희석하여(0, 4, 10, 15, 20, 25, 30, 32 psu) 제작하였고 삼투압을 측정하여 아래와 같은 방정식을 만들었다.

$$Y=29.439X \quad R^2=0.9983$$

위 방정식에 샘플링 시간에 해당하는 사육수 염분 값을 대입하여 삼투압 결과값을 도출해냈다. 혈장 삼투압과 사육수 삼투압 상관관계를 통해 기울기를 측정하였으며 삼투압능력을 확인하였다.

이온분석

혈장 및 사육수 이온분석은 이온분석기 Dionex Aquion Ion Chromatography (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA)를 이용하여 Na, Mg, Ca을 측정하였다. 각 시간별 혈장 샘플은 100 μL 에 증류수 4900 μL 를 넣어 희석하여 분석하였다. 사육수 샘플은 농도별로 해수를 희석하여(0, 4, 10, 15, 20, 25, 30, 32 psu) 표준 용액을 제작하였고, 이온분석 결과 값으로 아래 방정식을 만들었다.

Na ion	Y=334.41X	R ² =0.9983
Mg ion	Y=41.033X	R ² =0.9983
Ca ion	Y=13.301X	R ² =0.9979

위 방정식에 샘플링 시간에 해당하는 사육수 염분 값을 대입하여 이온 분석 결과값을 도출하였다.

통계분석 방법

실험구별 통계학적 유의성은 t-검정을 통해 분석하였고, 시간별 통계학적 유의성은 one way ANOVA 분석을 실시하여 Tukey's multiple range test를 통해 P<0.05일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

실험 기간 동안 실험구별 수질은 Table 1과 같이 염분 외 다른 항목들은 실험구별 유의적 차이는 없었다.

혈장성분

혈장 내 유기성분 및 효소성분의 변화는 Fig. 1과 같다. 혈장 total protein과 cholesterol은 순치방법에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. 혈장 효소성분인 ALT, AST, ALP는 순치방법에 따른 유의적인 변화는 없었다.

혈장 및 사육수 삼투압

혈장 및 사육수 삼투압 변화는 Fig. 2에 나타내었다. F.A. 실험구에서 혈장 삼투압 수치가 1시간 후 522.4 mOsm/kg으로 유의적으로 증가하였다가 48시간 후 유의적인 감소를 보였다(P<0.05). 반면 S.A. 실험구의 혈장 삼투압은 48시간 후부터 유의적인 증가를 보였다(P<0.05). 실험구 간 혈장 삼투압을 비교한 결과 1-24시간까지 유의적인 차이를 보였으며(P<0.05), 48시간 이후에는 유의적인 차이가 없었다. S.A. 실험구 혈장과 사육수 삼투압 간 상관관계는 Fig. 3과 같으며 기울기는 0.098으로 나타났다. F.A. 실험구의 사육수 삼투압은 실험 기간 일정한 값(977.37 mOsm/kg)을 유지하였고, S.A. 실험구의 사육수 삼투압은 실험 시작 후 36시간까지 서서히 증가한 후 일정한 값을 유지하였다.

혈장 및 사육수 이온성분

혈장 및 사육수 이온성분 변화는 Fig. 4에 나타내었다. 혈장 내 Na 이온은 F.A. 실험구에서 1시간 후에 유의적인 증가를 보였으며, 48시간 후에 유의적인 감소를 보였다(P<0.05). S.A. 실험구 혈장 Na 이온은 48시간 후에 유의적인 증가를 보였다(P<0.05). 실험구 간 혈장 내 Na 이온은 1시간 후부터 24시간까지 유의적인 차이를 보였고(P<0.05), 48시간 후에는 유의적인 차이가 없었다. F.A. 실험구 혈장 Mg 이온은 24시간에 유의적인 증가를 보였다(P<0.05). S.A. 실험구의 혈장 Mg 이온은 48시간 후에 유의적인 증가를 보였다(P<0.05). 혈장 Mg 이온은 1시간 후부터 24시간까지 실험구 간의 유의적인 차이를 보였다(P<0.05). 혈장 Ca 이온은 3시간 쯤 실험구 간의 유의적인 차이를 제외한 모든 구간에서 순치방법에 따른 유의적인 변화는 보이지 않

았다(P<0.05). F.A.의 사육수 Na, Mg, Ca 이온은 실험기간동안 일정한 값을 유지하였고, S.A.의 Na, Mg, Ca 이온은 실험 시작 후 36시간까지 서서히 증가하였고 그 이후로 일정한 값을 유지하였다.

고 찰

염분의 변화가 갑각류에게 미치는 영향은 생물의 특성, 개체 크기, 온도, 염분변화속도 등 여러가지 요소에 따라 다양하게 나타난다(Anger, 2003; Re et al., 2005; Baylon, 2010; Jasmani et al., 2010; Castaño-Sánchez et al., 2020; Jaffer et al., 2020; Saraswathy et al., 2021). 본 연구에서는 저염분 바이오플라에서 사육한 흰다리새우를 해수로 역순치할 때 방법에 따른 혈액 내 혈장성분, 삼투압 및 이온변화를 비교하고 효과적인 역순치 방법을 확인하였다.

혈장 내 total protein은 은 탈피, 영양상태와 같은 생리적 요인과 다양한 외부환경요인에 의해 영향을 받을 수 있다(Lorenzon et al., 2011). Kiruthika et al. (2013)은 낮은 염분이 tiger shrimp *Penaeus monodon*의 total protein 수치를 증가시킨다고 보고했다. Kim et al. (2018) 또한 염분이 낮을수록 흰다리새우 유생, *L. vannamei*의 혈장 total protein수치가 높은 경향을 보인다고 보고했다. 하지만, 본 연구에서 염분 변화에 따른 *L. vannamei* 혈장 total protein의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. Enayat et al. (2011)와 Mubarik et al. (2019) 또한 염분 증가에 따른 유의적인 변화가 없다고 보고했다. 혈장 cholesterol은 스테로이드 호르몬의 전구체이자 주요한 세포막 구성성분이며, 건강상태를 평가할 수 있다(Gong et al., 2000; Zhang et al., 2019). Kim et al. (2018)은 저염분 순치과정에서 흰다리새우 유생, *L. vannamei*의 혈장 cholesterol수치에 대해 염분농도마다 유의적인 차이가 관찰되었다고 보고하였으나, 본 연구에서는 염분 변화에 따른 *L. vannamei* 혈장 cholesterol의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다.

혈장 효소성분인 AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransaminase) 및 ALP (alkaline phosphatase)는 수생동물의 간 손상 지표로 많이 사용되며 간 손상 시 혈장 내 농

Table 1. Water parameter of *Litopenaeus vannamei* according to the method of acclimation

Group	Time (h)	Temperature (°C)	Dissolved Oxygen (mg/L)	Salinity (psu)	pH
S.A.	0	26.4	7.17	4.31	7.91
	24	24.5	6.66	15.21	8.04
	48	22.9	6.02	30.21	8.11
F.A.	0	27	5.9	33.41	8.26
	24	24.3	5.92	33.2	8.12
	48	21	6.73	32.75	8.13

S.A., slow acclimation; F.A., fast acclimation. Value are means±SD.

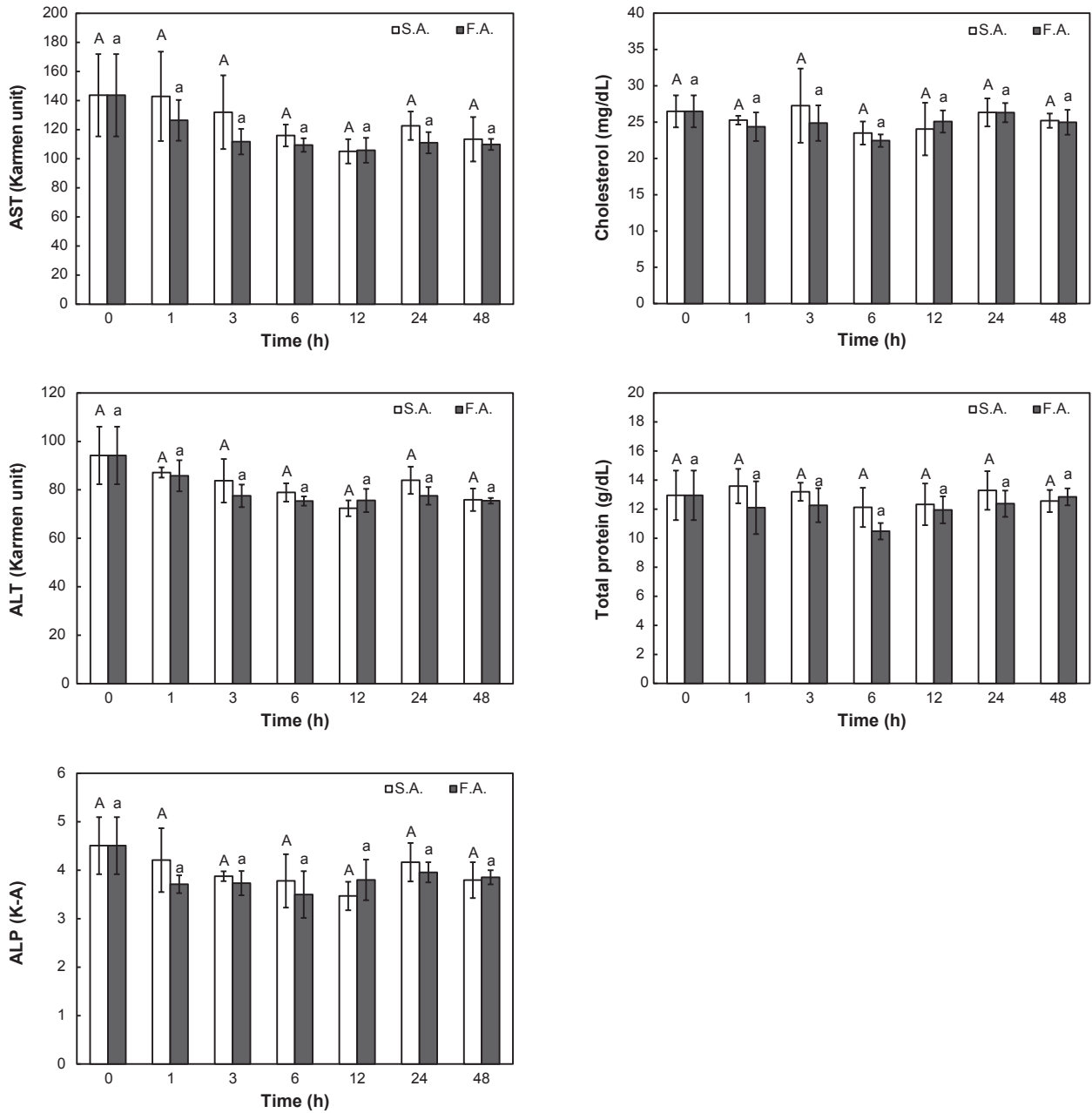


Fig. 1. Plasma components of *Litopenaeus vannamei* according to the method of acclimation. Value are means±SD. Asterisks indicate significant differences (P<0.05) between groups as determined by t- test. Different letters indicate significant differences (P<0.05) over time as determined by Tukey's multiple range test. S.A., slow acclimation group; F.A., fast acclimation group.

도가 증가하는 것으로 알려져 있다(Jahromi et al., 2020). 염분이 증가함에 따라 어류의 혈장 내 AST, ALT은 유의적으로 증가한다고 알려져 있다(Fazio et al., 2013, Al-Khshali and Al-Hilali, 2019; Abdel-Rahim et al., 2020). 반면 본 연구에서는 염분 증가에 따른 *L. vannamei*의 혈장 AST, ALT 및 ALP의 유의적인 변화는 관찰되지 않았다.

혈장 삼투압은 염분의 변화에 민감하게 반응하고 Na⁺/K⁺-ATPase를 통해 이온을 교환하며 삼투압을 조절하는 역할을 한다(Boonsanit et al., 2021). 삼투압 조절능력은 품종마다 차이가 있으며, 삼투압 조절 능력은 사육수 삼투압 농도와 혈장 삼투압 간의 선형 회귀를 통한 기울기로 비교할 수 있다(Tantulo and Fotedar, 2006). 기울기 값이 낮을수록 삼투압 조절 능력이

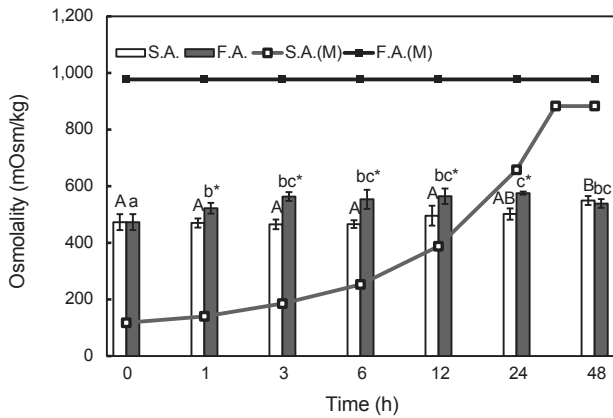


Fig. 2. Changes in medium osmolality and hemolymph osmolality during the experiment. Value are means±SD. Asterisks indicate significant differences (P<0.05) between groups as determined by t-test. Different letters indicate significant differences (P<0.05) over time as determined by Tukey's multiple range test. S.A., slow acclimation group; F.A., fast acclimation group; S.A.(M), slow acclimation group media; F.A.(M), fast acclimation group media.

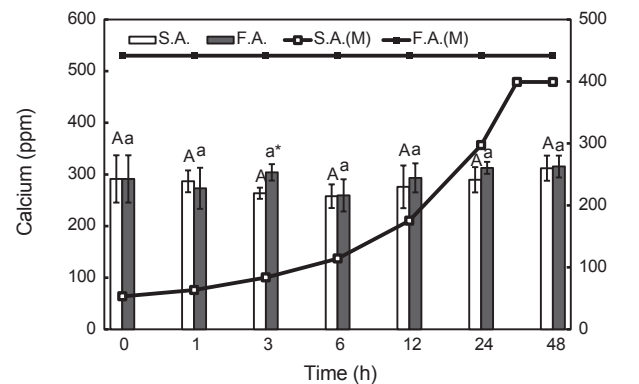
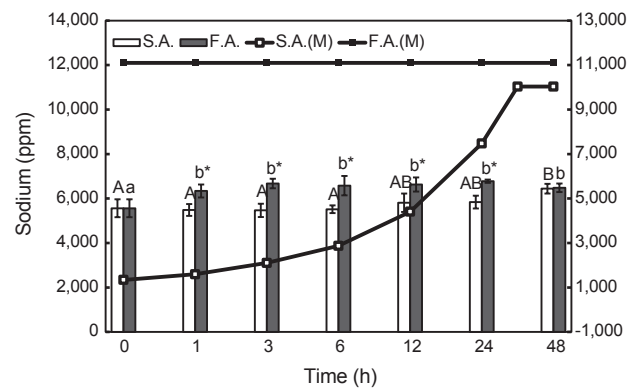
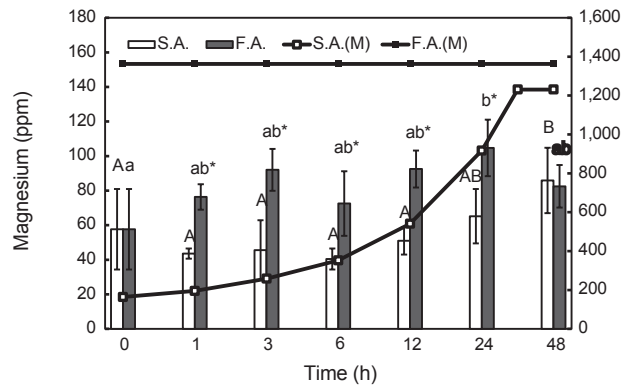


Fig. 4. Ion (Na, Mg, Ca) concentration of hemolymph and medium during the experiment. Value are means±SD. Asterisks indicate significant differences (P<0.05) between groups as determined by t-test. Different letters indicate significant differences (P<0.05) over time as determined by Tukey's multiple range test. S.A., slow acclimation group; F.A., fast acclimation group; S.A.(M), slow acclimation group media; F.A.(M), fast acclimation group media.

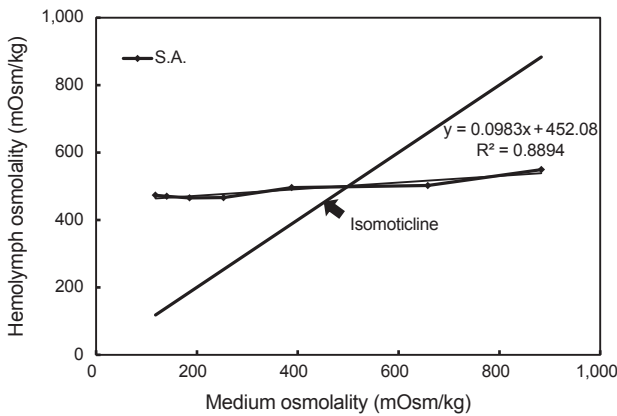


Fig. 3. Relationship between medium osmolality (x) and hemolymph osmolality (y) in S.A. at different salinities. S.A., slow acclimation group.

높다고 평가할 수 있다. Castille and Lawrence (1981)가 보고 한 *L. vannamei*의 혈장 삼투압 기울기는 0.20이었다. 본 연구에서 S.A. 실험구의 혈장 삼투압 기울기가 0.098로 낮은 값을 보임에 따라 삼투압 조절능력이 높은 것으로 나타났다. 이는 western king prawn *Penaeus latisulcatus* (Huynh et al., 2003) 및 대부분의 *Farfantepenaeus*속의 개체들보다도 높은 삼투압 조절능력을 보여준다(Brito et al., 2000). 혈장 삼투압은 1시간 후에 실험구 간의 유의적인 차이를 나타내다가 48시간 후에 유의적 차이가 사라지며 두 실험구 모두 효과적으로 삼투압을 조절하였다. 48시간 후 두 실험구 모두 혈장 삼투압 수치는 약 549, 539

mOsm/kg으로 유의적인 차이가 없었다(P>0.05). Cheng et al. (2005)은 25 psu 해수에서 *L. vannamei*의 평균 혈장 삼투압이 798.00±6.32 mOsm/kg 라고 보고했으며, 본 연구에서는 이보다 낮은 수치로 유지되었다. 본 연구에서 혈장 삼투압 수치(549, 539 mOsm/kg)는 인공해수로 조성한 20 psu 저염분 환경에서

양식한 *L. vannamei*의 혈장 삼투압 평균값(573 mOsm/kg)값과 유사한 수치다(Sower et al., 2006). 실험 시작 48시간 후 두 실험구 간 혈장 삼투압 수치가 유사해지는 것으로 보아 *L. vannamei*가 저염분에서 고염분으로 순치되고 혈장 삼투압 수치가 안정화되기까지 48시간 소요되는 것으로 판단된다. Jasmani et al. (2010)와 Saraswathy et al. (2021) 연구에 따르면, *L. vannamei*를 고염분에서 저염분으로 노출시켰을 때, 혈장삼투압이 급격히 변화했으며 회복되는데 1-3일이 소요되었다고 보고했다.

혈장 Na 이온과 Mg 이온은 염분이 상승할수록 이온농도가 증가했으며, 혈장삼투압과 유사한 경향을 보였다. 이와 유사하게 Jaffer et al. (2020)는 *L. vannamei*를 저염분으로 옮겼을 때 혈장 Na, Mg 이온농도가 감소했다고 보고했다. 반면 Jasmani et al. (2010)은 *L. vannamei*를 저염분으로 옮겼을 때 혈장 Na 이온은 농도가 감소했지만, 혈장 Mg 이온은 균일한 패턴을 보이지 않았다고 보고했다. 본 실험에서 혈장 Ca 이온 농도는 전반적으로 특별한 차이 없이 일정하게 유지되었으며, 이는 *L. vannamei*의 염분 감소 실험결과와 유사하다(Jaffer et al., 2020; Saraswathy et al., 2021). 이러한 결과는 Ca 이온이 *L. vannamei*의 삼투압 조절에 관여하지 않으며, 삼투압 조절 보다는 탈피 직후 갑각을 경화시키기 위해 혈장에 일시적으로 칼슘을 저장하고 사용하기 때문에 탈피 주기와 더 관련이 있기 때문이다(Jaffer et al., 2020).

본 연구에서는 역순치 방법에 따른 혈액 내 삼투압, 이온변화를 비교하고 효과적인 역순치 방법을 확인하였다. 혈장 성분에서 순치 방법에 따른 유의적인 변화는 나타나지 않았다. 혈장 내 삼투압은 순치 방법에 따라 유의적인 차이를 나타냈으며, 속도가 빠를수록 삼투압수치가 급격히 상승하였다. 혈장 이온성분에서는 Na, Mg 이온이 순치 방법에 따른 유의적인 차이를 나타냈으며, 혈장 삼투압과 유사한 결과를 보였다. 혈장 Ca 이온은 순치 방법에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 본 실험의 결과를 통해 순치 방법은 *L. vannamei*의 혈장 성분 상에서는 큰 영향을 미치지 않지만 삼투압 조절 능력과 이온 농도 변화를 보았을 때 최소 48시간 이상의 기간을 두고 서서히 고염분으로 순치하는 것이 적절한 것으로 판단된다.

사 사

이 논문은 2021년 국립수산물연구원 ‘바이오플라크를 이용한 해수양식 기술개발(대하, 넙치) (R2021014)’의 지원으로 수행된 연구입니다.

References

- Abdel-Rahim MM, Lotfy AM, Toutou MM, Aly HA, Sallam GR, Abdelaty BS and Helal AM. 2020. Effects of salinity level on the survival, growth, feed utilization, carcass composition, haematological and serum biochemical changes of juvenile meagre *Argyrosomus regius* (Asso, 1801) grown in ground saltwater. *Aquaculture* 51, 1038-1050. <https://doi.org/10.1111/are.14449>.
- Al-Khshali MS and Al-Hilali HA. 2019. Some physiological changes (ALP, AST AND ALT) of common carp *Cyprinus carpio* caused by high salinity. *Biochem Cell Arch* 19, 4605-4610. <https://doi.org/10.35124/bca.2019.19.2.4605>.
- Anger K. 2003. Salinity as a key parameter in the larval biology of decapod crustaceans. *Invertebr Reprod Dev* 43, 29-45. <https://doi.org/10.1080/07924259.2003.9652520>.
- Baylon JC. 2010. Effects of salinity and temperature on survival and development of larvae and juveniles of the mud crab *Scylla serrata* (Crustacea: Decapoda: Portunidae). *J World Aquac Soc* 41, 858-873. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2010.00429.x>.
- Boonsanit P and Pairohakul S. 2021. Effects of salinity on haemolymph osmolality, gill Na⁺/K⁺ ATPase and antioxidant enzyme activities in the male mud crab *Scylla olivacea* (Herbst, 1796). *Mar Biol Res* 17, 86-97. <https://doi.org/10.1080/17451000.2021.1900496>.
- Brito R, Chimal ME and Rosas C. 2000. Effect of salinity in survival, growth, and osmotic capacity of early juveniles of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Decapoda: Penaeidae). *J Exp Mar Biol Ecol* 244, 253-263. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(99\)00142-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(99)00142-2).
- Castaña-Sánchez A, Hose GC and Reboleira ASP. 2020. Salinity and temperature increase impact groundwater crustaceans. *Sci Rep* 10, 12328. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69050-7>.
- Castille Jr FL and Lawrence AL. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comp Biochem Physiol A Physiol* 68, 75-80. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(81\)90320-0](https://doi.org/10.1016/0300-9629(81)90320-0).
- Chen JC, Lin MN, Ting YY and Lin JN. 1995. Survival, haemolymph osmolality and tissue water of *Penaeus chinensis* juveniles acclimated to different salinity and temperature levels. *Comp Biochem Physiol Part A Physiol* 110, 253-258. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(94\)00164-O](https://doi.org/10.1016/0300-9629(94)00164-O).
- Chen S, Zhuang Z, Yin P, Chen X, Zhang Y, Tian L, Niu J and Liu Y. 2019. Changes in growth performance, haematological parameters, hepatopancreas histopathology and antioxidant status of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed oxidized fish oil: Regulation by dietary myo-inositol. *Fish Shellfish Immunol* 88, 53-64. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.02.023>.
- Chen SJ, Guo YC, Espe M, Yang F, Fang WP, Wan MG, Niu J, Liu YJ and Tian LX. 2018. Growth performance, haematological parameters, antioxidant status and salinity stress tolerance of juvenile pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* fed different levels of dietary myo-inositol. *Aquac Nutr* 24, 1527-1539. <https://doi.org/10.1111/anu.12690>.

- Cheng KM, Hu CQ, Liu YN, Zheng SX and Qi XJ. 2005. Dietary magnesium requirement and physiological responses of marine shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in low salinity water. *Aquac Nutr* 11, 385-393. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2005.00364.x>.
- Diaz F, Farfan C, Sierra E and Re AD. 2001. Effects of temperature and salinity fluctuation on the ammonium excretion and osmoregulation of juveniles of *Penaeus vannamei*, Boone. *Mar Freshw Behav Physiol* 34, 93-104. <https://doi.org/10.1080/10236240109379062>.
- Enayat GT, Imanpoor MR, Shabanpoor B and Hosseini SA. 2011. The study of growth performance, body composition and some blood parameters of *Rutilus frisii* kutum (Kamenskii, 1901) fingerlings at different salinities. *J Agric Sci Technol* 13, 869-876.
- Fazio F, Marafioti S, Arfuso F, Piccione G and Faggio C. 2013. Influence of different salinity on haematological and biochemical parameters of the widely cultured mullet *Mugil cephalus*. *Mar Freshw Behav Physiol* 46, 211-218. <https://doi.org/10.1080/10236244.2013.817728>.
- Freire CA, Amado EM, Souza LR, Veiga MP, Vitule JR, Souza MM and Prodocimo V. 2008. Muscle water control in crustaceans and fishes as a function of habitat, osmoregulatory capacity, and degree of euryhalinity. *Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol* 149, 435-446. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.02.003>.
- Gong H, Jiang DH, Lightner DV, Collins C and Brock D. 2004. A dietary modification approach to improve the osmoregulatory capacity of *Litopenaeus vannamei* cultured in the Arizona desert. *Aquac Nutr* 10, 227-236. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00294.x>.
- Gong H, Lawrence AL, Jiang DH, Castille FL and Gatlin III DM. 2000. Lipid nutrition of juvenile *Litopenaeus vannamei*: I. Dietary cholesterol and de-oiled soy lecithin requirements and their interaction. *Aquaculture* 190, 305-324. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00414-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00414-2).
- Hu D, Pan L, Zhao Q and Ren Q. 2015. Transcriptomic response to low salinity stress in gills of the pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Mar Genomics* 24, 297-304. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2015.07.003>.
- Huynh MS. 2003. Growth, survival, haemolymph osmolality and organosomatic indices of the western king prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896) reared at different salinities. Ph.D. Dissertation, Curtin University, Perth, Western Australia.
- Jaffer YD, Saraswathy R, Ishfaq M, Antony J, Bundela DS and Sharma PC. 2020. Effect of low salinity on the growth and survival of juvenile pacific white shrimp *Penaeus vannamei*: A revival. *Aquaculture* 515, 734561. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734561>.
- Jahromi ST, Pourmozaffar S, Jahanbakhshi A, Rameshi H, Gozari M, Khodadadi M, Sohrabipour J, Behzadi S, Barzkar N, Nahavandi R, Zahedi MR and Moezzi M. 2020. Effect of different levels of dietary *Sargassum cristaefolium* on growth performance, hematological parameters, histological structure of hepatopancreas and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 533, 736130. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736130>
- Jasmani S, Jayasankar V and Wilder M. 2010. Na/K-ATPase activity and osmo-ionic regulation in adult whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to low salinities. *Aquaculture* 304, 88-94. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.03.025>.
- Joseph A and Philip R. 2007. Acute salinity stress alters the haemolymph metabolic profile of *Penaeus monodon* and reduces immunocompetence to white spot syndrome virus infection. *Aquaculture* 272, 87-97. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.08.047>.
- Kiruthika J, Rajesh S, Kumar KV, Gopikrishna G, Khan HI, Madhubabu EP, Natarajan M, Dayal S, Ponniah AG and Shekhar MS. 2013. Effect of salinity stress on the biochemical and nutritional parameters of tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Fish Technol* 50, 294-300.
- 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>.
- Kim SK, Shim NY, Cho JH, Kim JH and Kim SK. 2018. Effect of feeding on postlarvae of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* during the acclimation process to low salinities in seawater. *Korean J Environ Biol* 36, 377-384. <https://doi.org/10.11626/KJEB.2018.36.3.377>.
- Kim SK, Shim NY, Jang JW, Jun JC, Kim SK and Shin YK. 2017. Effect of acclimation methods on physiological status of white shrimp *Litopenaeus vannamei* larvae to low salinities. *Korean J Environ Biol* 35, 6-12. <https://doi.org/10.11626/KJEB.2017.35.1.006>.
- Lignot JH, Spanings-Pierrot C and Charmantier G. 2000. Osmoregulatory capacity as a tool in monitoring the physiological condition and the effect of stress in crustaceans. *Aquaculture* 191, 209-245. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(00\)00429-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(00)00429-4).
- Liu H, Tan B, Yang J, Lin Y, Chi S, Dong X and Yang Q. 2014. Effect of various Na/K ratios in low-salinity well water on growth performance and physiological response of pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Chin J Oceanol Limnol* 32, 991-999. <https://doi.org/10.1007/s00343-014-3345-6>.
- Lorenzon S, Martinis M and Ferrero EA. 2011. Ecological relevance of hemolymph total protein concentration in seven unrelated crustacean species from different habitats measured predictively by a density-salinity refractometer. *J Mar*

- Biol 2011, 153654. <https://doi.org/10.1155/2011/153654>.
- McGraw WJ, Davis DA, Teichert-Coddington D and Rouse DB. 2002. Acclimation of *Litopenaeus vannamei* postlarvae to low salinity: influence of age, salinity endpoint, and rate of salinity reduction. J World Aquac Soc 33, 78-84. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2002.tb00481.x>.
- MOF (Ministry of Ocean and Fisheries). 2021. A project to foster strategic items for aquaculture and fisheries products. A Study on the Stabilization of Biofloc Technology, MOF, Sejong, Korea, 3.
- Mubarik MS, Asad F, Zahoor MK, Abid A, Ali T, Yaqub S, Ahmad S and Qamer S. 2019. Study on survival, growth, haematology and body composition of *Cyprinus carpio* under different acute and chronic salinity regimes. Saudi J Biol Sci 26, 999-1002. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.12.013>.
- Perazzolo LM, Gargioni R, Ogliari P and Barracco MA. 2002. Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress. Aquaculture 214, 19-33. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00137-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00137-0).
- Re AD, Diaz F, Sierra E, Rodríguez J and Perez E. 2005. Effect of salinity and temperature on thermal tolerance of brown shrimp *Farfantepenaeus aztecus* (Ives) (Crustacea, Penaeidae). J Therm Biol 30, 618-622. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2005.09.004>.
- Saeed K, Sima AS and Babak G. 2015. The survey effect of salinity stress on blood parameters of young *Litopenaeus vannamei*. J Entomol Zool Stud 358, 358-363.
- Sang HM and Fotedar R. 2004. Growth, survival, haemolymph osmolality and organosomatic indices of the western king prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896) reared at different salinities. Aquaculture 234, 601-614. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.01.008>.
- Saraswathy R, Muralidhar M, Balasubramanian CP, Rajesh R, Sukumaran S, Kumararaja P, Dayal SJ, Avunje S, Nagavel A and Vijayan KK. 2021. Osmo-ionic regulation in white-leg shrimp, *Penaeus vannamei*, exposed to climate change-induced low salinities. Aquac Res 52, 771-782. <https://doi.org/10.1111/are.14933>.
- Soegianto A, Adhim MDH, Zainuddin A, Putranto TWC and Irawan B. 2017. Effect of different salinity on serum osmolality, ion levels and hematological parameters of east java strain tilapia *Oreochromis niloticus*. Mar Freshw Behav Physiol 50, 105-113. <https://doi.org/10.1080/10236244.2017.1333391>.
- Sowers AD, Young SP, Grosell M, Browdy CL and Tomasso JR. 2006. Hemolymph osmolality and cation concentrations in *Litopenaeus vannamei* during exposure to artificial sea salt or a mixed-ion solution: relationship to potassium flux. Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol 145, 176-180. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2006.06.008>.
- Tantulo U and Fotedar R. 2006. Comparison of growth, osmoregulatory capacity, ionic regulation and organosomatic indices of black tiger prawn (*Penaeus monodon* Fabricius, 1798) juveniles reared in potassium fortified inland saline water and ocean water at different salinities. Aquaculture 258, 594-605. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.04.038>.
- Tseng YC and Hwang PP. 2008. Some insights into energy metabolism for osmoregulation in fish. Comp Biochem Physiol Part C Toxicol Pharmacol 148, 419-429. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2008.04.009>.
- Valencia-Castañeda G, Frías-Espericueta MG, Vanegas-Pérez RC, Pérez-Ramírez JA, Chávez-Sánchez MC and Páez-Osuna F. 2018. Acute toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae in low-salinity water. Bull Environ Contam Toxicol 101, 229-234. <https://doi.org/10.1007/s00128-018-2355-z>.
- Vaseeharan B, Ramasamy P, Wesley SG and Chen JC. 2013. Influence of acute salinity changes on biochemical, hematological and immune characteristics of *Fenneropenaeus indicus* during white spot syndrome virus challenge. Microbiol Immunol 57, 463-469. <https://doi.org/10.1111/1348-0421.12057>.
- Yu YY, Chen WD, Liu YJ, Niu J, Chen M and Tian LX. 2016. Effect of different dietary levels of *Gracilaria lemaneiformis* dry power on growth performance, hematological parameters and intestinal structure of juvenile pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. Aquaculture 450, 356-362. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.07.037>.
- Zhang W, Yang Q, Tan B, Wang F, Dong X, Chi S, Liu H, Zhang S and Wang H. 2019. Study of the requirements of dietary cholesterol at two different growth stages of pacific white shrimps *Litopenaeus vannamei*. Aquac Int 27, 1583-1597. <https://doi.org/10.1007/s10499-019-00411-4>.