

급격한 저염분 노출에 따른 참돔 *Pagrus major* 치어의 단기 행동반응 및 내성 한계에 관한 연구

윤성진*

한국해양과학기술원 울릉도·독도해양연구기지

Short-term behavioral responses and tolerance limits of red seabream *Pagrus major* fingerlings following sudden low salinity exposure

Sung JinYoon*

Ulleungdo-Docdo Ocean Science Station, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Ulleung 40205, Republic of Korea

***Corresponding author**

Sung JinYoon
Tel. 054-791-8404
E-mail. sjyon@kiost.ac.kr

Received: 2 November 2021

Revised: 1 December 2021

Revision accepted: 7 December 2021

Abstract: In this study, using a continuous behavior measurement technique, the short-term behavioral responses and tolerance limits of red seabream *Pagrus major* fingerlings to sudden exposure to low salinity in a controlled environment were observed. The activity of the fingerlings suddenly exposed to 21.4, 17.3, and 9.8 psu increased temporarily at the initial exposure to show irregular swimming behavior, but then recovered a stable activity pattern through rapid salinity adaptation. However, the organisms suddenly exposed to 7.3 and 4.3 psu could not withstand the salinity stress, and their swimming behavior was severely disturbed and all individuals died within 48 hours. The findings suggest that red seabream underwent a temporary salinity stress process at the beginning of the exposure to concentrations of 10.0 psu or higher. At these concentrations, osmotic control was possible within at least 11 hours, so stable metabolic activity was also possible. However, organisms suddenly exposed to concentrations below 5.0 psu exceeded the tolerance to low salinity and the sub-lethal limit. In red seabream exposed to this concentration range, severe behavioral and metabolic disturbances were observed, and death was observed due to osmotic control failure. In conclusion, a salinity range of 5.0 to 10.0 psu can be predicted to correspond to a concentration range in which the osmotic control ability of the red seabream fingerlings is lost, and sub-lethal reactions occur.

Keywords: sudden low salinity exposure, *Pagrus major*, behavioral response, tolerance limit, sub-lethal reaction

서 론

염분은 담수뿐만 아니라 해양에 서식하는 다양한 생물

의 생식, 먹이생물 분포, 체내 대사물질 변화 및 성장에 영향을 미치는 생리 반응을 규명하기 위한 주요 연구항목에 해당한다(Janech *et al.* 2006; Nahar *et al.* 2016; Creencia and

Noro 2018; Paiva *et al.* 2020). 이에 일부 연구자들은 내성 한계에 도달한 어류에서 염분 노출 후 체내 삼투조절에 따른 행동 및 생리 스트레스 반응을 확인했는데, 대부분 체액의 교란, 혈액의 생화학적 성분 및 행동 반응과 같은 다양한 생리학적 반응이었다(Amin *et al.* 2016; Lehtonen *et al.* 2016; Kim *et al.* 2016; Harris *et al.* 2020; Kim *et al.* 2021). 아열대화는 수온상승뿐만 아니라 빈번한 집중호우를 유발하여 연안지역으로 단기간 동안 급작스럽게 담수가 유입될 수 있다. 이로 인해 연안역에 서식하는 생물은 염분 스트레스에 의한 생태-생리적 교란이 발생하여 타 지역으로의 회피하거나 이동 능력이 약한 생물은 폐사함으로써 어업 생산에 큰 피해를 초래할 수 있다(Komoroske *et al.* 2016; Velasco *et al.* 2018; Paiva *et al.* 2020; Sundell *et al.* 2021). 특히 가두리와 같이 통제된 환경에서 사육된 어류는 급격한 염분변화로 인해 성장, 사료 섭취율, 체성분 변화 및 소화효소의 활성도에 영향을 받는 것으로 보고되었다(De Azevedo *et al.* 2015; Hamed *et al.* 2016). 염분과 관련된 대부분의 연구는 육상 및 연안 양식장에서 사육되는 생물을 대상으로 영향을 파악하기 위한 목적으로 수행되었는데, 본 연구와 같이 연속적인 행동관찰을 통한 염분 내성 한계를 규명한 사례는 거의 찾아볼 수 없다.

해양에서 염분과 관련된 영향 평가는 주로 대상생물의 초기생활사 단계에서 생물의 적응력을 평가하기 위해 수행되었는데, 대부분 실험 개체가 풍부한 알이나 치어(또는 치패)를 대상으로 염분 노출에 따른 부화율, 성장률 및 사망률을 측정기준(endpoint)으로 설정하여 실험되었다(NIWA 1998; USEPA 2002; Yoon 2016; Cong *et al.* 2021). 이와 같은 평가 방법은 실험물질에 대한 생물의 반수치사농도(LC₅₀ 또는 EC₅₀), 무영향농도(NOEC) 및 최소영향농도(MOEC)를 산출하여 노출물질에 대한 민감도를 비교할 수 있는 장점이 있다(Lee and Choi 2016; Choi *et al.* 2020). 그러나 실험은 정해진 시간에 연구자의 육안으로 관찰된 결과를 영향의 판단 근거로 하기 때문에 생물의 스트레스 반응 과정을 연속적으로 명확하게 관찰할 수 없는 단점이 있다. 최근에는 장기간 연속적으로 관찰이 가능한 측정 기법이 개발됨으로써 생물의 연속적인 생태-생리적 반응을 모니터링 할 수 있는 단계에 접어들었다(Fukuda *et al.* 2015; Xia *et al.* 2018; Yuan *et al.* 2018). 이러한 방법은 기존의 전통적인 평가방법보다 원인물질에 대한 생물의 내성 및 아치사 반응을 세밀하게 관찰할 수 있는 장점이 있

어 새로운 생물영향평가 tool로 적용되고 있다(Kim *et al.* 2006; Steele *et al.* 2018; Li *et al.* 2019; Yoon 2021).

이에 본 연구에서는 해상가두리와 같이 유영범위가 제한된 조건에서 급격한 저염분 노출에 따른 실험생물의 생태-생리적 변화를 평가하기 위한 방법으로써, 참돔 *Pagrus major* 치어를 대상으로 연속적인 행동 측정기법을 이용한 생물의 행동 및 아치사 반응과 내성한계를 관찰하여 통제된 환경에서 사육되는 어류에 미치는 저염분의 영향을 파악하기 위한 기초자료를 마련하였다.

재료 및 방법

1. 실험생물 유지 및 관리

본 연구에 사용된 참돔 치어는 2021년 5월 울릉군 종묘 배양장에서 부화된 생물이며, 부화 후 50일이 지난 200개체를 분양 받아 실험실로 옮겨 2톤 수조에서 수온 20.0±1.0°C, 염분 31.0±1.0 psu, pH 8.0±0.1 및 90.0% 이상 산소포화농도 환경에서 실험 전까지 유지하였다. 실험생물의 평균 전장은 13.5±0.8 cm, 체중은 54.2±9.3 gWWt로 분석되었다. 먹이는 1일 2회 상업용 EP 사료(Otohime S1 Herame, Japan)를 공급하였으며, 조도는 실험실 환경(≒ 5000 Lux), 광주기는 12시간 조명과 12시간 무 조명(12 h Lightness : 12 h Darkness)을 유지하였다. 사육용수는 1.0 μm 필터를 사용하여 지수식(200 L min⁻¹)으로 공급하였으며, 수온, 염분, pH, 산소포화농도는 수질측정기(556MPS; YSI, USA)로 매일 오전 10시부터 11시 사이에 1회 측정하였다.

2. 실험생물의 행동반응 모니터링

본 연구에서는 기 개발된 생물의 연속행동모니터링시스템(continuous behavior monitoring system)을 사용하여 참돔 치어의 행동패턴을 관찰하였다(Yoon 2021). 어류의 행동을 관찰하기 위한 변수는 생물의 유영거리(swimming distance), 유영속도(swimming velocity), 프랙탈 차원(fractal dimension) 값으로 구분되며, 각각의 변수는 0.05초마다 측정되고, 10초 동안 모은 자료를 평균하여 제시해 준다. 생물의 유영거리와 속도는 pixel 단위를 사용하였으며, 프랙탈 차원 분석은 box counting method를 사용하여

Table 1. Score distribution for each of the three behavioral variables applied to the behavior index calculation

Factor score	Distance (pixel)	Speed (pixel/sec)	Fractal dimension
0.00	0.00	0.00	0.00
0.10	0.40	4.00	0.20
0.20	0.80	8.00	0.40
0.40	1.60	16.00	0.80
0.50	2.00	20.00	1.00
0.60	2.40	24.00	1.20
0.70	2.80	28.00	1.40
0.80	4.00	35.00	1.60
1.20	5.00	40.00	1.70
2.00	6.00	45.00	1.80
4.00	7.00	50.00	1.90
6.00	8.00	55.00	2.00

아래 식을 이용하였다.

$$N = \left(\frac{1}{r}\right)^D, D = \frac{\log N}{\log(1/r)}$$

여기서, N 은 궤적을 포함하고 있는 상자의 개수이고, r 은 축소율이다.

두 변수의 관계는 이중로그 그래프 ($\log(1/r)$, $\log N$)로 나타낼 때 선형관계가 된다. 궤적을 포함하고 있는 상자의 개수와 축적 사이의 관계는 멱법칙 (power law)이 적용되며, 멱함수 (power function)의 지수가 프랙탈 차원이 된다. 궤적이 직선을 이루면 프랙탈 차원은 1이나 1에 가까운 값이 계산된다. 궤적이 면을 이룰 때는 2가 되고, 측정되는 궤적에 대해서는 1과 2 사이 중간 차원의 값이 계산된다. 본 연구에 적용된 행동변수 값은 생물의 수영거리 (pixel), 속도 (pixel/sec), 프랙탈 차원 값 등 총 3가지 행동변수를 이용하여 계산하였다. 행동지수 (behavior index, BI)는 각각의 변수마다 측정구간을 나누어 점수를 매긴 후 Table 1과 같이 최종적으로 3개의 변수가 조합된 하나의 지수를 산출하였다.

참돔 치어의 행동패턴 변화는 Fig. 1과 같이 실험수조를 4개의 영역으로 분할하여 각각의 영역에서 개체의 3가지 행동변수 자료를 수집한 후 이를 조합하여 하나의 BI를 산출하였다. 실험생물의 행동관찰은 투명한 아크릴 수조 하부에 백색 LED (light emitting diode, 3,000 Lux)를 설치하고, 상부에 웹 카메라를 설치하여 각각의 분할영역에서 움직이는 개체의 행동패턴을 연속적으로 추적하였다.

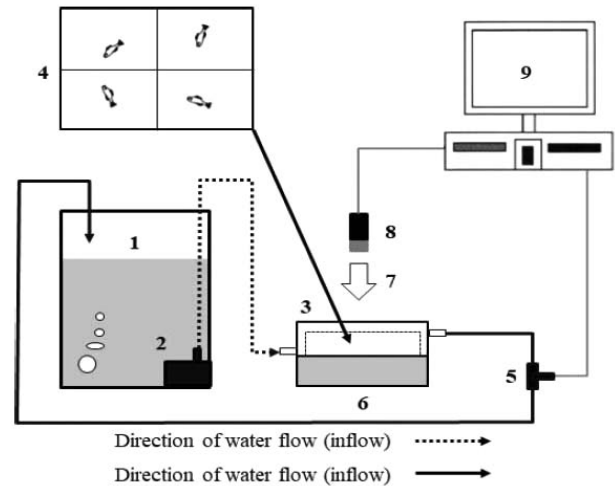


Fig. 1. Schematic (not to scale) of the apparatus used to observe behavioral patterns in the test organisms. 1: Reservoir container, 2: aqua pump, 3: water support chamber, 4: test chamber, 5: temperature sensor, 6: light-emitting diode (LED), 7: camera tracking the direction, 8: web camera, and 9: computer for data storage.

생물을 대상으로 한 연속 행동 모니터링 시스템의 원리 및 상세한 내용은 기 수행된 연구에 자세히 설명되어 있다 (Kwak *et al.* 2002; Yoon and Park 2011; Yoon 2021).

염분노출에 따른 참돔 치어의 행동변화는 $20.0 \pm 1.0^\circ\text{C}$ 수온범위에서 총 3회에 걸쳐 수행하였다. 실험은 사육 염분농도인 31.0 ± 1.0 psu 부근에서의 생물 반응을 대조구로 설정하여 48시간 동안 연속적으로 행동을 관찰하여 안정된 환경 (normal condition)에서 실험생물의 행동패턴을 분석하였다. 염분노출 실험은 실험초기 31.0 psu 부근의 안정된 환경에서 약 48시간 동안 실험생물의 행동변수를 측정 한 후 행동관찰수조에 담수를 공급하여 30분 이내에 실험용수의 염분을 각각 21.4, 17.3, 9.8, 7.3 및 4.3 psu로 희석한 후 저염분에 노출되기 전과 후 참돔 치어의 행동변화를 관찰하였다 (Table 2). 실험생물의 행동은 행동추적프로그램을 이용하여 실시간으로 추적하며, 실험과정은 모니터 상에서 직접 확인할 수 있다. 또한 생물의 3가지 행동변수와 행동지수는 텍스트 파일의 형태로 메인컴퓨터에 자동 저장되어 차후 행동 분석을 위한 자료로 활용하였다.

3. 자료분석

실험생물의 행동분석은 2% weight smooth curve를 통해 분석하였다. BI의 주요 변동패턴 분석은 데이터 중심을 통해 가장 적합한 부드러운 곡선을 그릴 수 있는 가중

Table 2. Experimental conditions for measuring the behavior response of red seabream in the six experimental regimes. Red seabream *Pagrus major* ($n=200$) measured 13.5 ± 0.8 cm in total length and 54.2 ± 9.3 gWWt in wet weight. Statistical values were computed for each batch from 17,389–34,560 data points measured. The values are the mean \pm SD.

	Treatment ranges of salinity (psu)					
	Normal	31.0 \rightarrow 21.4	31.0 \rightarrow 17.3	31.0 \rightarrow 9.8	31.0 \rightarrow 7.3	31.0 \rightarrow 4.3
Temperature ($^{\circ}$ C)	20.0 ± 0.1	20.8 ± 0.2	19.9 ± 0.1	19.9 ± 0.1	19.8 ± 0.3	20.1 ± 0.1
pH	7.8 ± 0.4	7.9 ± 0.5	7.8 ± 0.4	7.9 ± 0.4	7.9 ± 0.3	7.8 ± 0.3
Oxygen saturation level (%)	90.0 >	90.0 >	90.0 >	90.0 >	90.0 >	90.0 >
Chamber volume (L)	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5	11.5
Volume of test seawater (L)	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5	7.5
Flow rate (mL min $^{-1}$)	416.7	416.7	416.7	416.7	416.7	416.7
Duration of the experiment (h)	48.0–19.1	95.3–96.0	95.6–96.0	95.7–96.0	90.5–91.2	77.0–78.3
Number of points measured (n)	17,389–18,422	34,537–34,560	34,519–34,559	34,256–34,558	32,688–33,125	27,744–28,123
Total length (cm)	13.5 ± 0.9	13.4 ± 0.9	13.7 ± 0.5	13.7 ± 0.6	13.7 ± 0.4	13.7 ± 0.5
Wet weight (gWWt)	54.9 ± 7.4	54.6 ± 5.8	56.7 ± 5.2	58.3 ± 6.7	54.4 ± 2.3	56.8 ± 4.5
Number of experiments (n)	3	3	3	3	3	3
Total number of test animals	12	12	12	12	12	12

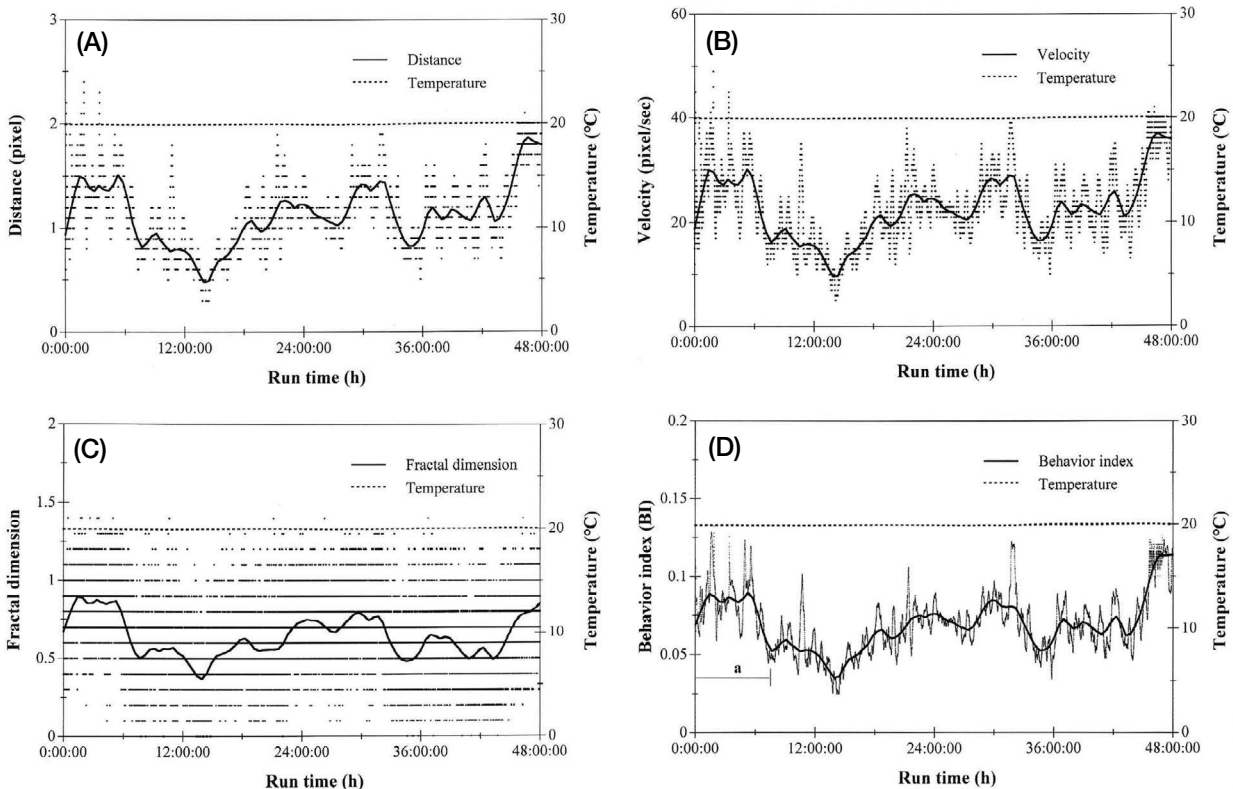


Fig. 2. Behavior patterns (A: distance, B: velocity, C: fractal dimension, and D: behavior index) of four red seabream *Pagrus major* under constant temperature and salinity.

최고-제곱 오차방법 (weighted least-squares error method) 을 사용하였다. 실험을 통해 산출된 값은 최적곡선으로 나

타내었다 (Kim *et al.* 2006). 측정된 데이터 값으로부터 각 각의 노출 염분별 통계 값을 산출하였으며, 통계 값은 평

균±표준편차(mean±SD)를 계산하여 그래프로 나타내었다. 실험생물의 스트레스 반응 여부는 KaleidaGraphy 프로그램(KaleidaGraphy 3.52; Synergy Software, Germany)의 student's t-test를 통해 각각의 실험마다 대조 농도에서 측정된 BI 값과 염분 노출 후 수집된 BI 자료를 비교하여 유의성을 검증하였다.

결 과

일정한 수온과 염분을 유지시키며 48시간 동안 관찰한 실험생물의 활동량은 실험초기 7시간 동안 일시적으로 증가한 후 다시 감소하였다(Fig. 2). 이와 같은 현상은 유영거리, 속도 및 프랙탈 차원 값과 BI 자료에서도 관찰되었다. 이후 행동변수 값은 일정 간격의 주기적인 상하 진폭 변화를 보였다(Fig. 2D_a). 대조 구간에서 산출된 BI 값을 2% weighted smooth curve를 통해 분석한 결과, BI는 48시간 동안 6회 정점(peak)에 도달한 후 다시 감소하는 반복적인 진폭 변동 패턴이 관찰되었다.

대조 구간에서 48시간 동안 참돔 치어의 행동패턴을 관찰한 후 21.4 psu로 염분을 하강시킨 결과, BI는 서서히 감소한 후 다시 증가하였다. 21.4 psu에 노출된 생물의 활동량은 노출 전보다 다소 증가한 경향을 보였으며, 행동지수인 BI의 진폭은 증감을 반복하였다. 실험생물의 행동반응을 2% weighted smooth curve를 통해 분석한 결과, BI의 최대 정점은 21.4 psu에 노출되고 9시간 후에 나타났으며, 이후 BI는 노출 전과 유사하게 뚜렷한 진폭변화 없이 안정된 변동패턴을 보였다(Fig. 3A). 실험생물의 유영거리, 속도, 프랙탈 차원값은 21.4 psu 노출 후 평균 18.9~31.3% 높게 분석되었다. 행동변수를 BI로 환산한 결과, 염분노출 후 참돔 치어의 평균 BI 값은 노출 전보다 25.0% 증가하였으며, 이후 서서히 감소하여 실험생물 본래의 안정된 행동패턴으로 회복되었다(Table 3).

실험용수의 염분을 17.3 psu로 급격히 하강시킨 결과, 참돔 치어의 활동량은 일시적으로 증가한 후 다시 감소하여 본래의 안정된 행동으로 회복되었다(Fig. 3B). 실험생물의 BI 기울기는 17.3 psu 농도에 급격하게 노출된 후 일시적으로 상승하였으며, 노출 후 2.6시간 동안 염분스트레스에 의한 불규칙한 유영패턴을 보였으나, 이후 염분 적응기간을 거치고 본래의 안정된 패턴을 회복하였다(Fig. 3B_a).

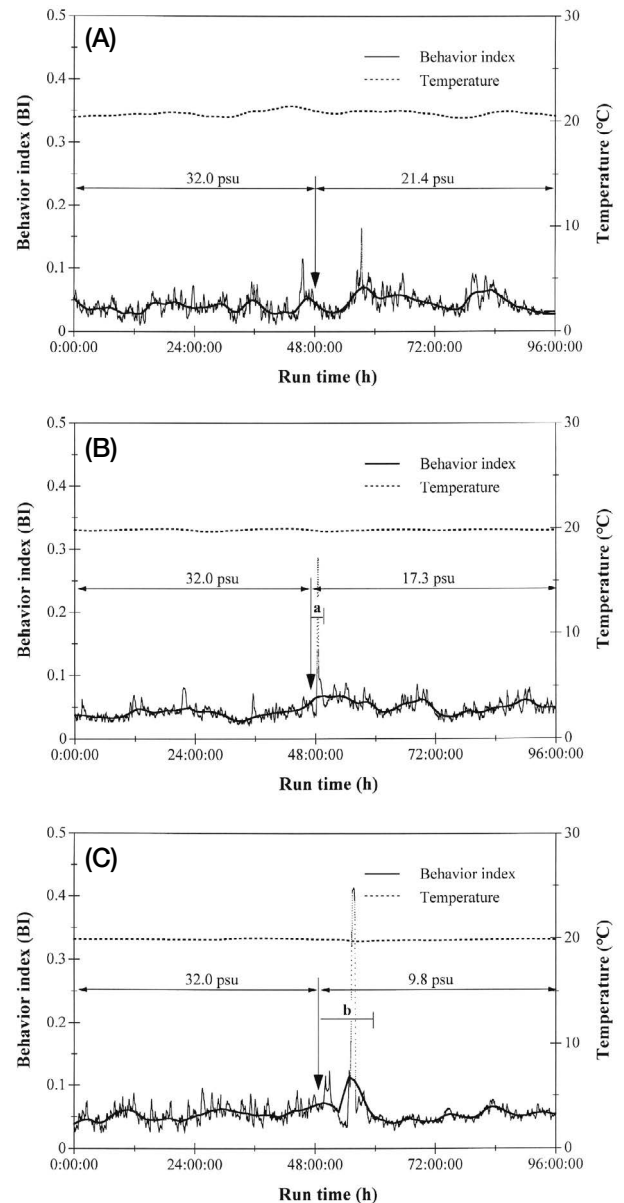


Fig. 3. Behavior patterns of four red seabream *Pagrus major* fingerlings at 32.0 PSU and after transfer to 21.4 (A), 17.3 (B), and 9.8 (C) psu salinity.

생물의 유영거리와 속도는 17.3 psu에 노출된 직후 대조구보다 각각 94.6%와 94.0% 증가하였으며, 프랙탈 차원 값은 54.2% 높게 산출되었다. 또한 2.6시간 동안 염분스트레스 반응을 보인 후 모든 행동변수 값은 노출 전보다 다소 낮게 산출되었으나 생물의 활동량은 노출 전과 유사한 수준으로 회복되었다. 본 연구에서 BI는 노출 전에는 0.02~0.08 범위였으며, 17.3 psu 노출 후 0.04~0.27 범위로 급상

Table 3. Comparison of the behavior change patterns of adapted saline water red seabream *Pagrus major* before and after sudden changes in salinity from 32.0 to 21.4 psu, 17.3 psu, and 9.8 psu. The values are means ± SD.

	32.0 psu → 21.4 psu				
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	% = [(B-A)/A]×100	% = [(C-A)/A]×100
Distance (pixel)	0.10–2.00 (0.61 ± 0.28)	–	0.20–2.20 (0.76 ± 0.33)	–	10.0–100.0 (24.6%↑)
Velocity (pixel/sec)	2.00–40.00 (12.20 ± 5.55)	–	4.00–44.00 (14.51 ± 6.58)	–	10.0–100.0 (18.9%↑)
FD*	0.00–0.13 (0.35 ± 0.22)	–	0.00–0.14 (0.46 ± 0.24)	–	0.0–77 (31.4%↑)
BI**	0.01–0.12 (0.04 ± 0.01)	–	0.02–0.16 (0.05 ± 0.02)	–	33.3–100.0 (25.0%↑)
Dead inds.*** (n)	0	–	0	–	–
	32.0 psu → 17.3 psu				
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	% = [(B-A)/A]×100	% = [(C-A)/A]×100
Distance (pixel)	0.30–1.30 (0.56 ± 0.18)	0.40–2.30 (1.09 ± 0.55)	0.30–1.60 (0.77 ± 0.25)	33.3–76.9 (94.6%↑)	00.0–23.1 (37.5%↑)
Velocity (pixel/sec)	5.00–26.00 (11.24 ± 3.63)	9.00–46.00 (21.80 ± 10.91)	6.00–32.00 (15.28 ± 4.97)	76.9–80.0 (94.0%↑)	20.0–23.1 (35.9%↑)
FD*	0.00–1.20 (0.48 ± 0.18)	0.10–1.30 (0.74 ± 0.26)	0.00–1.30 (0.57 ± 0.18)	0.0–8.3 (54.2%↑)	0.0–8.3 (18.8%↑)
BI**	0.02–0.08 (0.04 ± 0.01)	0.04–0.27 (0.08 ± 0.06)	0.03–0.09 (0.05 ± 0.01)	100.0–237.5 (100.0%↑)	12.5–50.0 (25.0%↑)
Dead inds.*** (n)	0	0	0		
	32.0 psu → 9.8 psu				
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	% = [(B-A)/A]×100	% = [(C-A)/A]×100
Distance (pixel)	0.30–1.60 (0.81 ± 0.24)	0.40–3.60 (1.17 ± 0.66)	0.40–1.40 (0.73 ± 0.17)	33.3–125.0 (44.4%↑)	–12.5–33.3 (–9.9%↓)
Velocity (pixel/sec)	6.00–31.00 (16.11 ± 4.67)	8.00–72.00 (23.41 ± 13.11)	7.00–28.00 (14.65 ± 3.32)	33.3–132.3 (45.3%↑)	–9.7–16.7 (–9.0%↓)
FD*	0.00–1.30 (0.59 ± 0.23)	0.10–1.60 (0.73 ± 0.24)	0.10–1.20 (0.59 ± 0.17)	0.0–23.1 (23.7%↑)	–7.7–0.0 (0.0%)
BI**	0.03–0.10 (0.05 ± 0.01)	0.03–0.41 (0.09 ± 0.08)	0.03–0.08 (0.05 ± 0.01)	0.0–310.0 (80.0%↑)	–20.0–0.0 (0.0%)
Dead inds.*** (n)	0	0	0		

*Fractal dimension
 **Behavioral index
 ***Number of dead individuals

승하였고, 실험종료 시에는 0.03~0.09 범위로 감소하였다. 실험생물의 BI 산출 값의 비율은 노출 후 대조구보다 100.0% 증가하였으며, 종료 시에는 25.0%까지 감소하였다 (Table 3).

9.8 psu의 저염분에 노출된 생물의 행동은 17.3 psu 노출

결과와 다소 차이를 보였다. 저염분 노출 전 참돔 치어의 활동량은 급격한 진폭 변화없이 증감을 반복하며 행동관찰수조 내에서 안정된 유영 패턴을 유지하였다 (Fig. 3C). 그러나 9.8 psu에 노출된 후 생물의 활동량은 체내 삼투 스트레스 반응으로 급작스럽게 증가하여 최대 정점에 도달

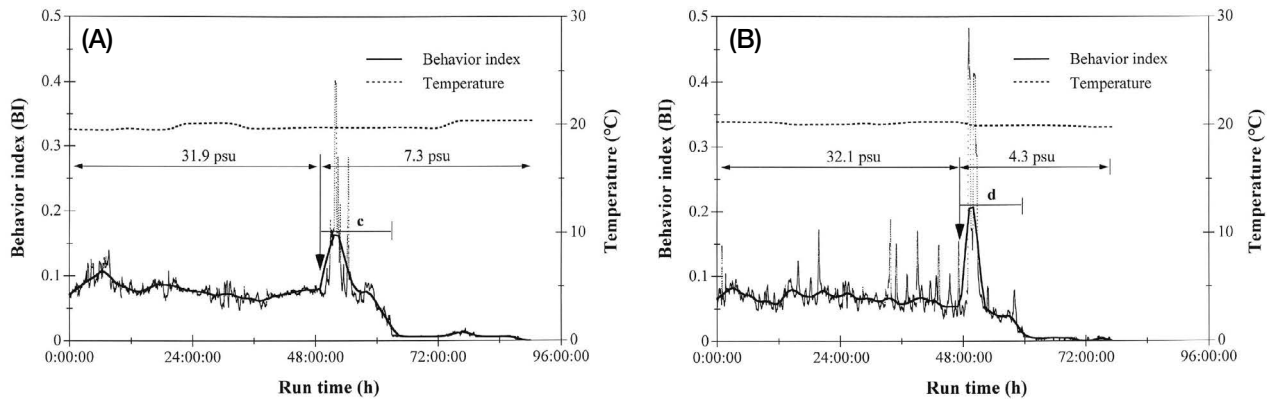


Fig. 4. Behavior patterns of four red seabream *Pagrus major* fingerlings at about 32.0 psu and after transfer to 7.3 (A) and 4.3 (B) psu salinity.

하였으며, 일시적으로 유영 패턴이 교란되었다(Fig. 3C_b). 참돔 치어의 교란 행동은 9.8 psu에 노출된 후 10.9시간 동안 2회 관찰되었는데, 초기에는 정점의 진폭 변화가 크지 않았으나 노출 5.9시간 후에는 활동량이 급증하여 최대 정점에 도달하였다. 일시적으로 저염분에 노출된 이후 생물의 유영활동은 10.9시간 동안 수조 내부를 빠르게 선회하거나 상하로 이동하는 등 일시적인 교란 현상을 보였으나 염분 적응과정을 거친 후에는 노출 전에 관찰된 유영 패턴과 유사한 수준을 유지하였다. 9.8 psu 노출 후 염분 스트레스를 받은 10.9시간 동안 생물의 유영거리 및 속도는 노출 전보다 44.4%와 45.3% 증가하였으나 이후 각각 -9.9%와 -9.0%로 감소하였다. 행동변수를 통해 산출된 BI는 노출 후 80.0%까지 급격히 상승하였으나 이후 0.0%로 감소하여 본래의 행동패턴을 회복하였다(Table 3).

한편 7.3 psu에 노출된 참돔 치어의 행동반응은 노출 전과 후 뚜렷한 차이를 보였다(Fig. 4A). 실험결과, 7.3 psu에 노출된 후 생물의 BI는 급격하게 상승하여 14.1시간 동안 급격하게 증가하였으며, 수조 바닥에 불규칙한 행동반응을 보이며 한쪽 방향으로 선회하였다. 이 시기에 산출된 BI 값도 0.01~0.40 범위로 급격하게 상승하여 최대 진폭을 포함한 3개의 BI 정점이 관찰되었다. 생물은 7.3 psu에 노출된 후 체내 삼투 스트레스로 인해 평형감각을 상실하였으며, 불안정한 유영활동, 수조 바닥 및 벽면에 어체를 고정시키는 등 노출 전과 뚜렷하게 구분되는 교란 행동이 관찰되었다. BI의 최대 정점은 노출 2.9시간 후 나타났으며, 5.6시간과 9.9시간 후 BI 진폭의 정점이 관찰되었다(Fig. 4A_c). 7.3 psu 노출된 후 참돔 치어의 유영거리, 속도 및 프랙탈 차원 값은 일시적으로 노출 초기에는 -100.0~

3.5%까지 상승하였으나 염분스트레스를 받은 14.1시간 평균 값은 각각 -7.4%, -5.5% 및 -13.3%로 감소하였으나 BI는 12.5% 증가하였다(Table 4). 저염분 스트레스로 행동 교란이 관찰된 14.1시간 동안 실험개체의 25.0%가 사망하였으며, 48시간 경과 후 100.0% 사망하였다.

4.3 psu에 노출되기 전 실험생물의 활동량은 실험초기 일시적으로 상승하였으나 이후 서서히 감소하여 안정된 패턴을 유지하였다(Fig. 4B). 그러나 4.3 psu에 급작스럽게 노출된 후 참돔 치어의 움직임은 노출 후 12.2시간 동안 심각한 염분 스트레스 반응에 의한 유영행동의 교란현상이 관찰되었다(Fig. 4B_d). 생물의 활동성은 저염분에 노출된 이후 1.6시간 동안 급격하게 상승하여 최대 정점에 도달하였으며, BI 기울기는 12.2시간 동안 빠르게 감소하였다. 참돔 치어는 노출시간이 경과함에 따라 수조 바닥에 머무르는 시간이 증가하였으며, 평형감각이 둔화되어 옆으로 누운 개체들이 증가하였다. 이 시기에 실험생물은 58.0%가 사망하였다. 그러나 급격한 저염분(4.3 psu) 노출 후 생물은 12.2시간 동안 체내 삼투 스트레스 반응을 보였으며, 이후 염분적응에 실패하여 노출 32.4시간 후 모든 개체가 사망하였다. 한편 4.3 psu에 노출된 후 실험종료까지 산출된 유영속도, 거리 및 프랙탈 차원 값은 각각 -99.1%, -99.8% 및 -97.3%로 급격하게 감소하였으며, BI 값은 -85.7%의 낮은 값이 산출되었다(Table 4).

참돔 치어의 BI 변동 비율 분석결과, 21.4 psu에 노출된 생물의 BI는 노출 후 25.0% 증가하였으나 뚜렷한 염분 스트레스 반응은 보이지 않았다($p > 0.05$). 17.3 psu 노출 실험결과, BI는 초기에 일시적으로 상승하여 노출 전보다 100.0% 증가하였으나 저염분 환경에 빠르게 적응하

Table 4. Comparison of the behavior change patterns of adapted saline water red seabream *Pagrus major* before and after sudden changes in salinity from 32.0 psu to 7.3 psu and 4.3 psu. The values are means \pm SD.

	31.9 psu \rightarrow 7.3 psu				
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	% = [(B-A)/A]×100	% = [(C-A)/A]×100
Distance (pixel)	0.70 - 2.90 (1.35 \pm 0.34)	0.10 - 2.80 (1.28 \pm 0.55)	0.00 - 2.00 (0.03 \pm 0.06)	-85.7 - -3.5 (-74%↓)	-100.0 - -31.0 (-97.8%↓)
Velocity (pixel/sec)	14.00 - 59.00 (27.04 \pm 6.77)	2.00 - 55.00 (25.59 \pm 10.87)	0.00 - 5.00 (0.58 \pm 1.07)	-85.7 - -6.8 (-5.5%↓)	-100.0 - -91.5 (-97.9%↓)
FD*	0.10 - 1.50 (0.83 \pm 0.21)	0.00 - 1.40 (0.72 \pm 0.28)	0.00 - 0.60 (0.03 \pm 0.07)	-100.0 - -6.7 (-13.3%↓)	-100.0 - -60.0 (-96.4%↓)
BI**	0.05 - 0.14 (0.08 \pm 0.01)	0.01 - 0.40 (0.09 \pm 0.07)	0.00 - 0.02 (0.01 \pm 0.01)	-80.0 - 185.7 (12.5%↑)	-100.0 - -85.7 (-87.5%↓)
Dead inds.*** (n)	0	3	9		

	32.1 psu \rightarrow 4.3 psu				
	Control (A)	Treatment (B)	After (C)	% = [(B-A)/A]×100	% = [(C-A)/A]×100
Distance (pixel)	0.50 - 2.30 (1.16 \pm 0.30)	0.10 - 5.40 (1.06 \pm 0.91)	0.00 - 0.30 (0.01 \pm 0.02)	-80.0 - 134.8 (-8.6%↓)	-100.0 - -30.4 (-99.1%↓)
Velocity (pixel/sec)	9.00 - 46.00 (23.21 \pm 6.02)	3.00 - 78.00 (21.12 \pm 18.21)	0.00 - 5.00 (0.05 \pm 0.36)	-66.7 - 69.6 (-9.0%↓)	-11.0 - -89.1 (-99.8%↓)
FD*	0.10 - 1.50 (0.75 \pm 0.22)	0.00 - 1.50 (0.62 \pm 0.33)	0.00 - 0.50 (0.02 \pm 0.02)	-100.0 - 0.0 (-17.3%↓)	-100.0 - -66.7 (-97.3%↓)
BI**	0.04 - 0.19 (0.07 \pm 0.02)	0.01 - 0.48 (0.09 \pm 0.11)	0.00 - 0.02 (0.01 \pm 0.01)	-75.0 - 152.6 (28.6%↑)	-89.5 - -100.0 (-85.7%↓)
Dead inds.*** (n)	0	7	5		

*Fractal dimension
 **Behavioral index
 ***Number of dead individuals

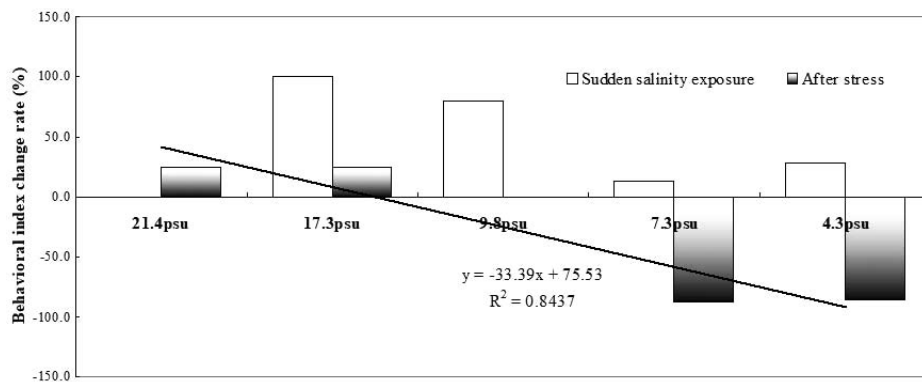


Fig. 5. Percentage of BI variation of red seabream *Pagrus major* fingerlings exposed to various salinity concentrations.

여 안정된 행동패턴을 회복하였다. 9.8 psu에 노출된 생물은 17.3 psu 결과와 유사한 반응을 보였는데, 노출 초기 BI는 일시적으로 상승한 후(80.0%) 염분적응 과정을 거치고

본래의 안정된 행동패턴을 회복하였다. 이와 반면 실험용수의 염분을 각각 7.3 psu와 4.3 psu로 급작스럽게 하강시킨 경우, BI는 노출 초기 각각 12.5%와 28.6%로 다소 증가

하였으나 이후 -87.5% 와 -85.7% 로 급격히 감소하였다 ($p < 0.05$). 또한 이 시기에 참돔 치어는 급작스런 염분 노출에 따른 체내 삼투 스트레스에 적응하지 못하고 본래의 안정적인 행동패턴이 교란되어 비정상적인 유영행동을 보였으며, 실험종료 시에는 모든 개체가 사망하였다(Fig. 5).

고 찰

본 연구에서 일정한 수온과 염분을 유지시키며 48시간 동안 관찰한 참돔 치어의 활동량은 행동관찰수조에 생물을 입식한 후 초기 7시간 동안 일시적으로 증가하였으며 이후 안정된 행동패턴이 관찰되었다. 이러한 현상은 수조 적응을 위한 실험어류의 초기 불안정한 상태(non-steady-state effects) 및 생물을 운반하는 과정에서 handling에 의한 스트레스에서 나타나는 반응으로 해석할 수 있다(Reubush and Heath 1996; Yoon *et al.* 2002; Yoon and Park 2011). 이와 관련하여 Yoon (2021)은 반복실험을 통해 실험수조에서 생물의 초기 적응시간은 입식 후 12시간가량 소요되기 때문에 충분한 적응기간을 거친 후 실험을 진행하는 것이 바람직한 것으로 제안하였다.

염분은 수생생물의 생태·생리활동에 주요 환경요인으로 인식되어 변동폭이 좁은 염분(stable salinity)은 내성범위가 좁은 협염성 어류(stenohaline fish)의 서식처로 이용되며, 변동폭이 큰 환경에서는 내성범위가 넓은 광염성 어류(euryhaline fish)가 분포하는 것으로 알려져 있다(Kültz 2015). 본 연구에서 급작스럽게 21.4 psu와 17.3 psu에 노출된 참돔 치어의 활동량은 노출 초기 3시간 이내에서 일시적으로 증가하여 불규칙한 유영행동을 보였으나 이후 빠른 염분적응을 통해 본래의 안정된 활동 패턴을 회복하였다. 일반적으로 환경변화가 극심한 연안지역이나 하구 주변에 서식하는 광염성 종들은 행동학적 삼투조절 반응을 하는 것으로 보고되었다(Davenport 1985). 예를 들면, 서식처가 한정된 종들은 급작스럽게 내성한계 농도에 노출된 경우 격리반응으로써 구멍을 파거나 패각을 닫아 염분 스트레스를 견뎌내며, 어류와 같은 이동성 종들은 유해한 염분을 회피하거나 최적 염분을 선택하여 이동하는 것으로 알려져 있다(Peterson and Meador 1994; Lehtonen *et al.* 2016). 또한 일부 광염성 어류는 현장 해수보다 2배가량

높은 농도에서 염분 내성 상한선 한계를 가지며, 내성한계를 초과하는 농도에 노출될 경우, 염분 스트레스에 견디기 위한 생리적 대응 전략을 전환시키는 것으로 보고되었다(Kültz 2015). 본 연구에서 관찰된 참돔 치어의 행동에서도 이와 유사한 결과를 보였는데, 9.8 psu에 노출된 생물의 유영 행동은 저염분에 노출된 후 10.9시간 동안 수조 내부를 빠르게 선회하거나 상하로 이동하는 등 일시적인 교란 현상을 보였으나 일정기간 동안 염분 적응과정을 거친 후에는 노출 전에 관찰된 유영 패턴과 유사한 수준을 유지하였다. 이와 관련하여 회유성 어종으로 분류되는 Asian seabass *Lates calcarifer*와 동북아산 뱀장어 *Anguilla japonica*는 기수역(10.0 psu 부근)에서 아가미와 신장에서 조직학적 변화(예, 염세포 형성 및 호르몬 변화), 삼투조절을 위한 세포의 부피 조절과 관련된 삼투적응 유전자가 발현되는 것으로 보고되었다(Janech *et al.* 2006; Kim *et al.* 2006; Vij *et al.* 2020). 또한 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 치어의 경우 혈액학적 매개변수, 신경전달물질, 항산화제 및 스트레스 반응은 8.0 psu 미만의 염분에서 뚜렷하게 변동하며, 은대구(*Anoplopoma fimbria*) 유어는 17.5 psu 이하 농도에서 혈장 성분 및 항산화반응에 영향을 받는 것으로 보고되었다(Kim *et al.* 2016; Kim *et al.* 2021). 이와 같은 결과는 염분변화에 대한 생태·생리 반응이 어종별로 다양하게 나타나는 것으로 해석할 수 있다. 상기 어종들에서 분석된 생리반응은 본 연구에서 9.8 psu 노출 후 관찰된 참돔 치어의 행동반응 결과와 유사하였는데, 이는 서식환경에 따라 생리적으로 다소 차이가 있으나 일부 생물은 삼투조절을 위한 행동반응 및 체내 염분 적응 기작(salinity acclimation mechanism)을 가진 것으로 해석할 수 있다.

본 연구에서 참돔 치어의 BI는 21.4, 17.3 및 9.8 psu에 노출된 후 초기에 25.0~100.0% 범위에서 일시적으로 상승하였으나 뚜렷한 염분 스트레스 반응은 보이지 않았으며, 노출 염분 환경에 빠르게 적응하여 안정된 행동패턴을 회복하였다. 일부 연구자들은 어류의 경우 총 에너지 소비량의 20~50%를 체내 삼투압 조절에 사용되는 것으로 보고하였으나 최근 연구에 따르면 삼투압 조절에 사용되는 에너지는 10% 가량으로 보고하였다(Boeuf and Payan 2001). 또한 최근에 육종으로 개발된 어류인 대왕바리(*Epinephelus lanceolatus*) 치어는 담수순환 과정에서 35.0 psu에서 각각 20.0, 10.0, 0.0 psu 농도로 단계적으로 염분을 하강시킨 결과 각각의 노출 구간별로 산소소비량을 감소

시키는 것으로 보고되었다(Kim *et al.* 2015). 또한 광염성 어류인 shorttron sculpin (*Myoxocephalus scorpius*)은 33.0 psu에서 15.0 psu로 염분을 하강시킨 결과 15.0 psu에 노출된 후 심장 박동수와 대사율은 4~9일 적응하면서 서서히 감소하였으나 급작스럽게 노출된 개체들의 표준 대사율은 3시간 이후 급격히 감소하였는데, 이는 15.0 psu에서 삼투 조절에 필요한 에너지 비용이 감소한 것으로 해석하였다(Sundell *et al.* 2021). 이와 같은 결과는 본 연구에서 관찰된 바와 같이 내성범위 이내 농도에서 초기 염분 스트레스에 따른 행동반응과 삼투조절에 필요한 체내 에너지 소비를 최소화 하기 위한 전략으로 판단된다. 한편 대서양 가오리(Atlantic stingray)의 신장 배설 기능은 저염분에 노출된 생물에서 현저하게 높게 분석되었으며, shorttron sculpin의 경우 내성한계 이내의 농도에 노출된 어류의 혈장 조성물은 특정 염분 범위 내에서 변동할 수 있으나 상피세포 이온 전달 메커니즘(epithelial ion transport mechanism)을 적용하면 부분적으로 염분변화에 적응할 수 있음을 제안하였는데, 이러한 현상은 어류가 저염분 서식지로 이동할 때 나타나는 것으로 판단된다(Janech *et al.* 2006; Sundell *et al.* 2021).

본 연구에서 30.0 psu 농도 부근의 해수에서 급작스럽게 7.3 psu 이하 농도에 노출된 참돔 치어의 행동반응은 노출 전과 후 뚜렷한 차이를 보였다. 실험결과 7.3 psu와 4.3 psu에 노출된 개체들은 각각 14.1시간과 12.2시간 동안 유영 행동이 심각하게 교란되었다. 실험기간 동안 생물의 유영 거리 및 속도는 급격하게 빨라졌으며, 평형감각을 상실하여 불안정한 유영활동, 수조 바닥 및 벽면에 어체를 고정시키는 등 정상적인 활동패턴과 구분되는 교란 행동이 관찰되었다. 염분은 어류의 삼투 및 성장 조절에 관여하여 체 성분, 호르몬 분비, 먹이 섭취량과 먹이전환 과정에 대한 자극을 주며, 변화된 염분농도에 적응하기 위해 등삼투압 조건을 유지함으로써 체내 에너지 조절을 최소화하기도 한다(Lisboa *et al.* 2015; Hamed *et al.* 2016). 그러나 급작스럽게 아치사 및 치사 농도에 노출된 어류는 불안한 행동, 호흡 곤란, 비정상적인 유영패턴을 보였으며, 체내 대사활동 교란, 혈액의 성분 및 성상변화 등의 생리적·행동적 스트레스 반응이 관찰되는 것으로 보고되었다(Amin *et al.* 2016). 본 연구에서 7.3 psu 이하 농도에 노출된 참돔 치어는 노출 직후 심각한 교란 행동을 보였고, 염분 내성한계에 도달하였는데, 7.3 psu 노출 시 25.0%, 4.3 psu에 노출

된 개체들은 50.0%가 넘게 사망하였다. 이와 같은 결과는 참돔 치어의 경우 급작스럽게 8.0 psu 농도 부근에 노출될 경우 내성한계에 도달하여 아치사 반응이 나타나게 되며, 저염분 환경이 지속되면 사망하는 개체가 증가하여 결국 모든 개체가 폐사하는 현상이 발생할 것으로 판단된다.

염분은 해산 어류뿐만 아니라 담수어류의 피부에 영향을 주는 유해균의 퇴치에 단기적인 장점이 있지만 내성한계 주변 농도에서 장기적으로 노출될 경우 대부분의 어류에게는 치명적인 스트레스 요인이 될 수 있다(Nahar *et al.* 2016; Velasco *et al.* 2018). 본 연구에서 4.3 psu에 노출된 후 BI는 실험종료 후 -85.0% 이하로 급격히 감소하였으며, 실험개체들은 노출 32.4시간 후 삼투 적응 능력이 급격히 저하되어 모든 개체가 사망하였다. 이와 같은 결과는 5.0 psu 농도에 급작스럽게 노출된 생물의 경우 저염분에 대한 내성 및 아치사 한계 농도를 벗어난 것으로 해석할 수 있다. 또한 어류의 경우 자연의 서식지에서는 급작스런 저염분 환경이 발생할 경우 타 지역으로의 이동을 통한 회피가 가능하지만 육상 및 해상가두리과 같이 이동범위가 제한된 환경에서는 단기간 동안 대량 폐사의 발생 가능성이 높은 것으로 판단된다. 따라서 고유 서식처에서 급작스런 염분변화가 발생할 경우 대부분의 어류는 생존 가능한 최소 염분에 적응하기 위한 회피 행동 및 체내 삼투조절을 통해 본래의 대사패턴을 회복하기 위한 전략이 필요하다. 그러나 염분변동 강도가 심한 환경에서 급작스런 염분변화에 노출된 어류는 체내 삼투 스트레스에 의한 일시적인 행동 및 대사활동의 교란 현상을 유발할 수 있기 때문에 저염분 노출에 따른 어류의 행동과 체내 대사물질 반응 과정을 관찰함으로써 삼투 조절이 가능한 내성한계, 아치사 반응 및 개체를 사망에 도달하게 하는 임계농도를 규명할 필요가 있다.

결론적으로 본 연구에서 행동관찰을 통해 분석된 참돔 치어의 염분 내성 및 아치사 반응은 타 연구에서도 제시한 바와 같이 참돔이 염분변화에 강한 광염성 종임이 입증되었다. 실험생물은 내성한계 이내 염분 환경에서는 삼투 스트레스에 적응하기 위한 방법으로 체내 에너지 소비를 줄이기 위한 산소소비율 감소 및 일시적인 행동 교란과정을 거치면서 다양한 염분변화에 적응할 수 있는 제어 메커니즘을 가진 것으로 판단되었다. 또한 본 연구결과에 따르면 참돔 치어는 10.0 psu 이상의 농도에서는 노출 초기 일시적인 염분 스트레스 과정을 겪지만 최소 11시간 이내에

체내 삼투조절이 가능하여 안정된 대사활동이 가능한 것으로 판단되었다. 그러나 5.0 psu 이하 농도에 급작스럽게 노출된 생물은 저염분에 대한 내성 및 아치사 한계를 초과한 것으로 분석되었는데, 본 농도 구간에 노출된 생물은 노출 초기 심각한 행동 및 대사활동의 교란현상이 관찰되며, 삼투조절 실패로 인해 폐사에 도달한 것으로 관찰되었다. 따라서 저염분에 노출된 참돔 치어의 생태·생리적 내성한계는 10.0 psu 농도 부근에서 존재하며, 5.0~10.0 psu 염분 범위는 생물의 삼투조절 능력이 상실되어 아치사 반응을 보이는 농도 구간에 해당되는 것으로 판단되었다.

사 사

이 성과는 정부(과학기술정보통신부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2021R1F1A1045925).

REFERENCES

- Amin FB, T Farhana, GM Mostakim, MM Zahangir, MM Mishu and MS Islam. 2016. Behavioral and physiological stress responses of Java barb (*Barbonymus gonionotus*) to environmental salinity challenge. *J. Aquacult. Eng. Fish. Res.* 2:176-184.
- Boenf G and P Payan. 2001. How should salinity influence fish growth? *Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol.* 130:411-423.
- Chevalier J, E Harscoet, M Keller, P Pandard, J Cachot and M Grote. 2015. Exploration of *Daphnia* behavioral effect profiles induced by a broad range of toxicants with different modes of action. *Environ. Toxicol. Chem.* 34:1760-1769.
- Choi H, YH Park, JW Lee, KY Kwon and UK Hwang. 2020. Toxic effects of new anti-fouling agents (diuron and irgarol) on the embryogenesis and developmental delay of sea urchin, *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Korean J. Environ. Biol.* 38:518-527.
- Cong Y, YWang, M Zhang, F Jin, J Mu and Z Li. 2021. Lethal, behavioral, growth and developmental toxicities of alkyl-PAHs and non-alkyl PAHs to early-life stage of brine shrimp, *Artemia parthenogenetica*. *Ecotox. Environ. Safe.* 220:1-12.
- Creencia LA and T Noro. 2018. Effects of salinity on the growth and mucous cells of the abalone *Haliotis diversicolor* Reeve, 1846. *Int. Aquat. Res.* 10:179-189.
- Davenport. 1985. Osmotic control in marine animals. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 39:207-244.
- De Azevedo RV, K dos Santos-Costa, KF de Oliveira, F Flores-Lopes, EA Teixeira-Lanna and LG Tavares-Braga. 2015. Responses of Nile tilapia to different levels of water salinity. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 43:828-835.
- Fukuda S, IJ Kang, J Moroishi and A Nakamura. 2010. The application of entropy for detecting behavioral responses in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to different toxicants. *Environ. Toxicol.* 25:446-455.
- Hamed SS, NS Jiddawi and POJ Bwathondi. 2016. Effect of salinity levels on growth, feed utilization, body composition and digestive enzymes activities of juvenile silver pompano *Trachinotus blochii*. *Int. J. Fish. Aquat. Stud.* 4:279-283.
- Harris LN, DJ Yurkowski, MJH Gilbert, BGT Else, PJ Duke, MMM Ahmed, RF Tallman, AT Fisk and JS Moore. 2020. Depth and temperature preference of anadromous Arctic char *Salvelinus alpinus* in the Kitikmeot Sea, a shallow and low-salinity area of the Canadian Arctic. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 634:175-197.
- Janech MG, WR Fitzgibbon, DW Ploth, ER Lacy and DH Miller. 2006. Effect of low environmental salinity on plasma composition and renal function on the Atlantic stingray, a euryhaline elasmobranch. *Am. J. Physiol. -Renal Physiol.* 291:F770-F780.
- Kim JH, EH Jeon, SK Kim and YB Hur. 2021. Salinity-mediated changes in hematological parameters, stress, antioxidant responses, and acetylcholinesterase of juvenile olive flounders (*Paralichthys olivaceus*). *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 83:1-9.
- Kim JH, HJ Park, IK Hwang, DH Kim, CW Oh, JS Lee and JC Kang. 2016. Alterations of hematological parameters, plasma constituents and antioxidant responses in the sablefish *Anoplopoma fimbria* depending on salinity. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.* 49:830-837.
- Kim MJ, HK Lim and MH Jeong. 2015. Effects of low salinity acclimation on oxygen consumption in giant grouper, *Epinephelus lanceolatus*. *J. Fish. Mar. Sci. Edu.* 27:526-536.
- Kim WS, SJ Yoon, JW Kim, JA Lee and TW Lee. 2006. Metabolic response under different salinity and temperature conditions for glass eel *Anguilla japonica*. *Mar. Biol.* 149:1209-1215.
- Komoroske LM, KM Jeffries, RE Connon, J Dexter, M Hasenbein, C Verhille and NA fangue. 2016. Sublethal salinity stress contributes to habitat limitation in an endangered estuarine fish. *Ecol. Appl.* 9:963-981.
- Kültz 2015. Physiological mechanisms used by fish to cope with salinity stress. *J. Exp. Biol.* 218:1907-1914.
- Kwak IS, TS Chon, HM Jang, N Chung, JS Kim, SC Koh, SK Lee and YS Kim. 2002. Pattern recognition of the movement

- tracks of medaka (*Oryzias latipes*) in response to sub-lethal treatments of insecticide by using artificial neural networks. *Environ. Pollut.* 120:671–681.
- Lee KW and YU Choi. 2016. The availability of tropical copepod *Nitocra* sp. for marine ecotoxicological evaluation. *J. Korea Acad. Indust. Coop. Soc.* 17:701–707.
- Lehtonen TK, BBM Wong and C kvarnemo. 2016. Effects of salinity on nest-building behavior in a marine fish. *BMC Ecol.* 16:1–9.
- Li M, XY Liu and Feng XZ. 2019. Cardiovascular toxicity and anxiety-like behavior induced by deltamethrin in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Chemosphere* 219:155–164.
- Lisboa V, IF Barcarolli, LA Sampaio and A Bianchini. 2015. Effects of salinity on survival, growth and biochemical parameters in juvenile lebranch mullet *Mygil liza* (Perciformes: Mugilidae). *Neotrop. Ichthyol.* 13:447–452.
- Nahar F, W Haque, DA Ahsan and MG Mustafa. 2016. Effects of salinity changes on growth performance and survival of climbing perch, *Anabas testudineus* (Bloch, 1795). *Dhaka Univ. J. Biol. Sci.* 25:65–732.
- NIWA. 1998. Marine Fish (*Rombosolea plebeian*). Acute Toxicity Test Protocol. National Institute of Water and Atmospheric Research. Auckland, New Zealand. p. 29.
- Paiva F, NC Pauli and E Briski. 2020. Are juveniles as tolerance to salinity stress as adults? A case study of Northern European, Ponto-Caspian and North American species. *Divers. Distrib.* 26:1627–1641.
- Paterson MS and MR Meador. 1994. Effects of salinity on freshwater fishes in coastal plain drainage in the southeastern U.S. *Rev. Fish. Sci.* 2:95–121.
- Remen M. 2015. Effect of temperature on metabolism behaviour and oxygen requirements of *Sparus aurata*. *Aquac. Environ. Interact.* 7:115–123.
- Reubush KJ and AG Heath. 1996. Metabolic responses to acute handling by fingerling inland and anadromous striped bass. *J. Fish Biol.* 49:830–841.
- Steele WB, LA Kristofco, J Corrales, GN Saari, SP Haddad, EP Gallagher, TJ Kavanagh, J Kostal, JB Zimmerman, A Voutchkova-Kostal, P Anastas and BW Brooks. 2018. Comparative behavioral toxicology with two common larval fish models: Exploring relationships among modes of action and locomotor responses. *Sci. Total Environ.* 640–641:1587–1600.
- Sundell E, D Morgenroth, A Ekstrom, J Brijs, M Axelsson, A Grans and E Sandblom. 2021. Energetic savings and cardiovascular dynamics of marine euryhaline fish (*Myoxocephalus Scorpius*) in reduced salinity. *J. Comp. Physiol. B-Biochem. Syst. Environ. Physiol.* 191:301–311.
- USEPA. 2002. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Water to Freshwater and Marine Organisms. United States Environment Protection Agency. Washington, D.C. p. 122.
- Velasco J, C Gutiérrez-Cánovas, M Botella-Cruz, D Sánchez-Fernández, P Arribas, JA Carbonell, A Millán and S Palarés. 2018. Effects of salinity changes on aquatic organisms in a multiple stressor context. *Philos. Trans. R. Soc. B-Biol. Sci.* 374:20180011.
- Vij S, K Purushothaman, PSR Sridatta and DR Jerry. 2020. Transcriptomic analysis of gill and kidney from Asian seabass (*Lates calcarifer*) acclimated to different salinities reveals pathways involved with euryhalinity. *Genes* 11:733.
- Xia C, L Fu, Z Liu, H Lin, L Chen and Y Liu. 2018. Aquatic toxic analysis by monitoring fish behavior using computer vision: A recent progress. *J. Toxicol.* 2018:1–11.
- Yuan F, Y Huang, X Chen and E Cheng. 2018. A biological sensor system using computer vision for water quality monitoring. *IEEE Access* 6:61535–61546.
- Yoon SJ. 2021. Critical low temperature and response of behavioral tolerance in red seabream *Pagrus major* fingerlings exposed to cold shock. *JKAIS* 22:575–584.
- Yoon SJ, CK Kim, JG Myoung and WS Kim. 2002. Comparison of oxygen consumption patterns between wild and cultured black rockfish *Sebastes schlegeli*. *Fish. Sci.* 69:43–49.
- Yoon SJ. 2016. Ecological effects of slag extracts on the initial life cycle of the rotifer *Brachionus plicatilis* and benthic copepod *Tigriopus japonicas*. *Korean Soc. Mar. Environ. Safe.* 22:490–499.
- Yoon SJ and GS Park. 2011. Toxicity and behavioral changes of medaka (*Oryzias latipes*) by brine exposure. *The Sea* 16:39–51.
- Yuan F, Y Huang, X Chen and AE Cheng. 2018. A biological sensor system using computer vision for water quality monitoring. *IEEE Access* 6:61535–61546.