

수온별 아질산 급성 노출에 따른 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 혈액학적 성상 및 혈장성분의 영향

홍수민¹ · 조아현¹ · 김다은¹ · 박연숙¹ · 이혜성¹ · 전유현² · 김석렬³
김대희² · 강예재^{1†} · 김준환^{1†}

¹선문대학교 수산생명의학과, ²국립수산과학원 서해수산연구소,
³공주대학교 스마트수산자원학과

Effects of hematological parameters and plasma components of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* by acute nitrite exposure according to water temperature

Su-Min Hong¹, A-Hyun Jo¹, Da-Eun Kim¹, Yeon-Sook Park¹, Hye-Sung Lee¹,
Yu-Hyeon Jeon², Seok-Ryel Kim³, Dae-Hee Kim², Yue Jai Kang^{1†} and Jun-Hwan Kim^{1†}

¹Sun Moon University, Department of Aquatic Life and Medical Science, Asan, Korea
²West Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Taean, Korea
³Dept. of Smart Fisheries Resources, Kongju National University

Olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) (Weight 110.9±17.1 g, length 22.3±1.2 cm) were exposed to waterborne nitrite at 0, 30, 60, 120, 240, 480 and 960 mg NO₂/L according to water temperature at 20°C and 25°C for 96 hours. The lethal concentration 50 (LC₅₀) of olive flounder, *P. olivaceus* exposed to waterborne nitrite was 513.87 mg NO₂/L at 20°C and 208.35 mg NO₂/L at 25°C, which means a significant difference in LC₅₀ by the water temperature. Hemoglobin and hematocrit were significantly decreased by waterborne nitrite exposure. The inorganic component, plasma calcium, was significantly decreased, and the organic components such as plasma glucose and cholesterol were significantly decreased showing a similar tendency with calcium. In enzymatic components, the AST and ALP were also significantly decreased by nitrite exposure. The results of this study indicate that exposure to nitrite can affect the survival and hematological physiology of *P. olivaceus*, and the effect of exposure to nitrite had a significant effect on nitrite toxicity depending on the water temperature.

Key words: Nitrite exposure, LC₅₀, Water temperature, Blood physiology, Olive flounder

서 론

아질산은 수중 환경에 생물의 대사과정 중 자

연발생적으로 존재하는 물질이며, 농업 및 다양한 산업활동을 통해서도 수중에 노출이 일어날 수 있다(Kim et al., 2020a). 아질산은 암모니아가 질산으로 전환되는 질산화 과정에서 발생하는 중간생성물이며, 해양환경에서는 낮은 농도로 존재하지만 고밀도로 양식이 이루어지는 양식장에서는 높

[†]Corresponding author: Jun-Hwan Kim, Yue Jai Kang
Tel: +82-41-530-2206, Fax: +82-41-530-2917
E-mail: junhwan1982@hanmail.net, kyj5088@hanmail.net

은 농도로 존재할 수 있다 (Das et al., 2004). 또한, 양식과정에서 과도한 사료의 공급으로 인한 잔존 사료는 수중에서 분해되어 암모니아를 발생하고 질산화 과정에서 높은 아질산 축적을 유발할 수 있다(Zhang et al., 2021).

수중의 높은 농도의 아질산 노출은 어류의 간, 아가미, 근육 및 혈액과 같은 주요 조직에 아질산 축적을 유발할 수 있으며, 이는 어류의 산-염기조절, 가스 교환, 이온수송 및 노폐물 배출 등의 생리기능을 저해한다(Jia et al., 2016). 어류 체내의 아질산은 활성산소종(reactive oxygen species: ROS)을 생성하여, 세포 및 조직 손상을 유발할 수 있으며, 산화스트레스를 유발하는 원인으로 작용할 수 있다(Kim et al., 2018). 해산어류에서 아질산 노출은 높은 아가미 상피 이온투과성으로 인해 체내에 빠르게 확산이 일어나며, Na^+ , K^+ 및 Cl^- 등의 이온을 교란시켜 체내 이온불균형을 통해 신경 장애를 유발한다(Jensen, 2003; Qu et al., 2021).

수중환경에 존재하는 아질산이 어류에 미치는 독성영향은 어종, 어류의 크기 및 개별 내성의 차이와 같은 종별 영향에 의해서도 다르게 나타날 수 있지만, 수온 및 pH와 같은 환경적 요소에 의해 서 특히 직접적인 영향을 미칠 수 있다(Kroupova et al., 2005). 아질산 노출에 따른 어류의 독성영향은 pH가 낮아지면 증가하는데, 이는 낮은 pH에서 어류 아가미의 Na^+ 와 Cl^- 농도가 감소하며 Na^+/K^+ ATPase 활성이 저하됨에 따른 것이다(Sohn et al., 2015). 수온은 어류의 대사와 직결되며 어류의 생리적 영향에 영향으로 인해 다양한 독성물질 노출 시 어류의 독성에 영향을 미치는 환경적 요소이다 (Kim et al., 2019a).

반수치사농도(LC_{50} , Lethal Concentration 50%)는 노출실험에서 독성물질에 의한 50%의 생물이 폐사하는 농도로, 해양 환경에서 화학물질의 위해성을 평가하고 독성을 정의하는 가장 중요한 독성 평가 요소이다(Bita et al., 2021). 노출 실험에서 반수치사농도는 정확한 독성의 판단을 통해 독성 간 비교 및 생물 별 독성내성 비교 평가할 수 있는 기준을 제시하며, 생물이 독성물질로부터 안전농도도 판단할 수 있는 지표를 제시한다(de Oliveira et al., 2011; Yunus et al., 2019). 아질산은 수중 생

물에게 치명적인 독성으로 작용할 수 있으며, 높은 폐사를 유발할 수 있다. 특히, 수온은 어류의 대사를 결정하는 중요한 환경적 요소이며, 수온의 차이는 독성 노출에서 대사량의 차이에 의해 독성 정도에 영향을 미칠 수 있다. 따라서, 수온별 아질산 노출에 따른 반수치사농도는 아질산 노출에 따른 독성을 평가하고, 수온이 아질산 독성에 미치는 영향을 판단하는 지표를 제시해 줄 것이다.

혈액은 독성물질 노출에 따른 어류 생리에 직접적인 영향을 주는 성분이며, 독성물질 노출 하에서 어류의 건강상태 및 생리적 교란을 평가하는 중요한 요소이다(Kim et al., 2018). 수중의 고농도 아질산은 어류 아가미를 통해 상피세포에 흡수되고, 순환기계로 축적되어 적혈구 내 hemoglobin과 결합된다(Lefevre et al., 2012). 혈중 hemoglobin과 결합한 아질산은 hemoglobin 내 Fe^{2+} 를 Fe^{3+} 로 산화시켜, methemoglobin으로 전환하여, 저산소증 및 용혈성 빈혈을 유발할 수 있다(da Costa et al., 2004). 이러한 증상들은 메트헤모글로빈의 경우 산소와 가역적으로 결합할 수 없으며, 이로 인해 혈액의 산소 운반 능력 감소에 따른 결과이다(Yildiz et al., 2006). 하지만, 어류는 상대적으로 높은 농도의 methemoglobin을 견딜 수 있다(Korwin-Kossakowski and Ostaszewska, 2003). 아질산 노출은 어류 순환기계에 독성으로 작용을 하며, 수온은 어류의 대사량에 영향을 주어 아질산 노출된 어류의 독성 흡수량과 밀접한 연관이 있다(Kumar et al. 2019). 따라서, 수온별 아질산 노출에 따른 어류 혈액생리의 분석은 아질산 독성 평가 및 수온에 따른 영향을 평가하는 기준을 제시해 줄 것이다.

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 2018년 기준 전체 해산 어류 양식생산량의 50%이상의 생산량(약 4,957억원)을 가지는 우리나라 주요 양식어종이다 (Kim et al., 2020b). 넙치의 사육 적정수온은 20~25 °C로 알려져 있다. 하지만, 양식장 주요 환경독성 물질인 아질산 노출에 따른 독성영향에 대한 연구와 수온이 아질산 독성에 영향을 미치는 상관관계에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다. 본 연구에서는 사육적정 범위내의 수온범위 내에서 수온의 차이에 따른 대사량의 변화가 아질산 노출에 따른 어류의 독성영향에 미치는 영향을 확인하고

Table 1. The chemical components of seawater and experimental condition used in the experiments.

Item	Value (20°C)	Value (25°C)
Temperature (°C)	20.0±0.21	24.5±0.10
pH	8.29±0.01	8.31±0.01
Salinity (‰)	32.24±0.03	32.17±0.03
Dissolved Oxygen (mg/L)	7.10±0.04	6.26±0.02
Ammonia (mg/L)	0.20±0.05	0.21±0.13
Nitrite (mg/L)	0.12±0.02	0.09±0.01
Nitrate (mg/L)	0.24±0.03	0.15±0.03

자 넙치의 사육 적수온인 20°C 및 25°C의 범위를 설정하였다. 본 실험의 목적은 수온 20°C와 25°C에서 아질산에 노출된 넙치의 반수치사농도, 혈액 성상 및 혈장 성분의 변화를 분석하여 아질산 노출에 의한 독성영향을 수온별로 평가하여 환경조건(수온)에 따른 정확한 아질산 독성지표를 제시하는데 있다.

재료 및 방법

실험어 및 실험환경

본 실험에 이용된 넙치(무게 110.9±17.1 g, 전장 22.3±1.2 cm)는 태안 인근의 종묘생산장에서 분양 받아 사육 양성한 개체를 이용하였다. 실험은 실험 전 3주간 실험실 조건에서 순차를 실시하였으며, 실험수조는 100L 원형 수조를 이용하여, 7개 농도구간(0, 30, 60, 120, 240, 480 및 960 mg NO₂⁻/L)으로 노출을 96시간 실시하였다. 본 연구에 사용된 농도는 일반적인 양식장의 아질산 농도 수치(1 mg/L 이하)보다 매우 높은 수치에 해당하지만, 바이오플락 및 순환여과식 기법과 같은 폐쇄식 순환양식시스템에서는 높은 수치로 존재할 수 있으며, 넙치의 최대 내성한계를 확인하기 위해 예비 실험을 바탕으로 농도를 산정하였다. 수온 구간은

20°C 및 25°C로 적정 사육수온 범위 내로 설정하였으며, 20°C에서 하루 1°C씩 올려 25°C까지 순차하였으며, 수온 구간이 맞추어 졌을 때 노출실험을 시작하였다. 실험은 총 84마리(아질산 농도구간 7개 × 실험구간 당 6마리 × 수온 구간 2개)를 이용하여 노출을 진행하였으며, 실험 기간 중 수질(수온, 용존산소, 염분 및 pH)은 휴대용 수질 분석기(YSI-Professional plus, YSI Inc., USA)를 이용하여 매일 측정하였으며, 암모니아, 아질산 및 질산은 분석용 키트(Merck & Co., Inc., USA)를 이용하여 측정하였다(Table 1). 본 연구에서 아질산 노출은 아질산나트륨(NaNO₂)을 이용하여, 표준원액 20,000 mg NO₂⁻/L를 만들었으며 각 수조에 농도에 맞게 노출을 실시하였으며, 아질산 농도구간 별 실제 아질산 농도는 Table 2와 같다. 노출 96시간 후 살아있는 모든 개체(구간 당 6마리)의 혈액을 sampling하여 분석하였다.

반수치사농도(LC₅₀)

수온별 아질산 노출에 의한 반수치사농도를 확인하기 위해, 아질산 노출 후 0, 1, 3, 6, 12, 24, 48, 72 및 96시간 수조 별 폐사 유무를 확인하였으며, 폐사 개체는 관찰 즉시 제거해주었다. 96시간 후 수온별 아질산 노출에 따른 최종 폐사 개체를 바탕으로 통계프로그램(SPSS Inc, Chicago, IL, USA, probit model)을 이용하여 반수치사농도를 산출하였다.

혈액성상

혈액학적 분석은 수온별 아질산 노출 96시간 후 살아있는 개체를 이용하여 채혈을 실시하였다. 채혈은 혜파린(Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 처리된 주사기를 사용하였으며, 채혈 직후 해모글로빈(hemoglobin)과 적혈구 용적(hematocrit)을 측정하였다. Hemoglobin 수치는 임상용 kit (Asan

Table 2. Analyzed waterborne nitrite concentration (mg/L) from each source

Nitrite concentration (mg/L)						
Nitrite concentrations	Control	30	60	120	240	480
Measured nitrite concentrations (20°C)	0.76	29.19	64.68	126.83	238.21	468.92
Measured nitrite concentrations (25°C)	0.56	29.98	67.08	125.31	246.94	483.75

Pharm. Co., Ltd)를 이용하여 Cyan-methemoglobin 법으로 측정하였다. Hematocrit는 모세관 내로 혈액을 넣어, Microhematocrit centrifuge (VS-12000, Korea)에서 12,000 rpm, 10분간 원심분리 후 Microhematocrit reader를 이용하여 측정하였다.

혈장성분 분석

수온별 아질산 노출에 따른 혈장 성분의 변화를 분석하기 위해 채취한 혈액을 4°C에서 3000 × g로 15분간 원심분리 후 혈장을 분리하였다. 혈장 무기성분으로 칼슘(calcium), 마그네슘(magnesium)을 측정하였다. 칼슘은 OCPC법, 마그네슘은 Xylidyl blue-I 법에 따라 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하여 측정하였다. 혈장 유기성분으로 혈당(glucose), 콜레스테롤(cholesterol) 및 총 단백질(total protein)을 측정하였다. 혈당은 GOD/POD법, 콜레스테롤은 비색법, 총 단백질은 Biuret법에 의해 시판되고 있는 임상용 kit(Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하였다. 혈장 효소활성으로 AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransaminase) 및 ALP (alkaline phosphatase)를 측정하였다. AST 와 ALT는 505 nm에서 Reitman-Frankel법, ALP는 King-King법으로 500 nm에서 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하여 분석하였다.

통계분석 방법

본 실험분석은 수온별 아질산 농도구간에서 각 6마리를 분석에 이용하였고, 모든 실험은 3반복 분석으로 이루어졌다. 실험 분석 결과에 대한 통

계학적 유의성은 SPSS 통계 프로그램(SPSS Inc.)을 이용하여 ANOVA test를 실시하여 Tukey's multiple range test를 통해 $P<0.05$ 일 때 유의성이 있는 것으로 간주하였다. 수온 25°C의 240 mg/L 농도에서 생존개체는 1마리로 표준편차 및 통계를 위한 요건이 충족되지 않아 통계분석에서는 제외하였다.

결 과

생존율 및 반수치사농도(LC_{50})

수온별 아질산 노출에 따른 납치의 생존율은 Fig. 1에 나타내었다. 20°C의 수온에서는 아질산 240 mg NO₂/L까지 모든 100% 생존했으며, 480 mg NO₂/L의 아질산 노출에서 노출 96시간에 2마리 폐사하여 66.7% 생존했다. 960 mg NO₂/L의 아질산 노출에서는 노출 6시간 83.3% 생존 후, 노출 12시간 전량 폐사하였다. 25°C의 수온에서는 아질산 120 mg NO₂/L까지 모든 100% 생존했으며, 240 mg NO₂/L의 아질산 노출에서 노출 72시간에 1마리 폐사하여 83.3% 생존 후, 노출 96시간에 4마리가 추가 폐사하여 16.7% 생존하였다. 아질산 480 및 960 mg NO₂/L의 아질산 노출에서는 전량 폐사하였다.

수온별 아질산 노출에 따른 납치의 반수치사농도(LC_{50})는 Table 3에 나타내었다. 20°C의 수온에서 아질산 노출에 따른 납치의 반수치사농도(LC_{50})는 513.87 mg NO₂/L 및 25°C의 수온에서는 208.35 mg NO₂/L으로, 수온이 높아질수록 반수치사농도(LC_{50})가 낮아져 아질산 노출에 따른 독성이 높아

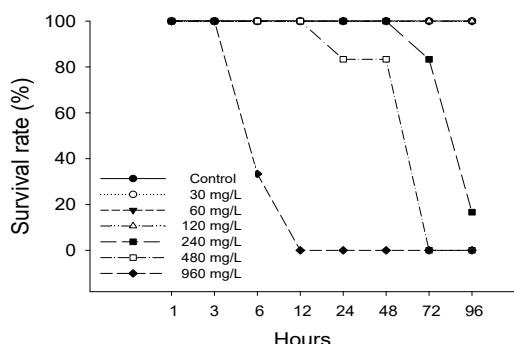
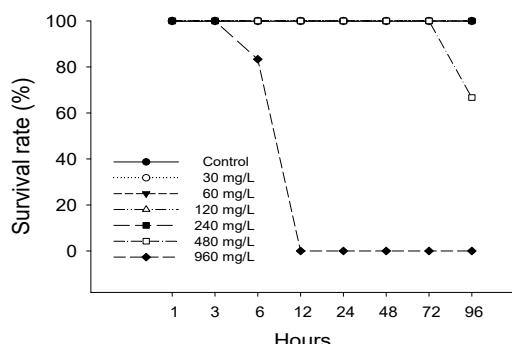


Fig. 1. Survival rate of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to waterborne nitrite according to water temperature for 96 hours (Left: 20°C, Right: 25°C).

Table 3. Lethal concentration (LC_{50}) of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to waterborne nitrite according to water temperature for 96 hours

Probability	95% Confidence Limits	
	Estimate (mg/L) at 20°C	Estimate (mg/L) at 25°C
0.01	324.69	135.71
0.10	409.65	168.34
0.20	445.43	182.07
0.30	471.23	191.97
0.40	493.27	200.44
0.50	513.87	208.35
0.60	534.47	216.26
0.70	556.51	224.72
0.80	582.31	234.63
0.90	618.08	248.37
0.99	703.04	280.98

지는 것으로 나타났다.

혈액학적 성상

수온별 아질산 노출에 따른넙치의 혈액학적 성상은 Fig. 2에 나타내었다. Hemoglobin은 20°C의 수온에서 240 mg NO₂/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 나타내었다($P<0.05$). 25°C에서는 대조구에서 120 mg NO₂/L까지 유의적 변화는 나타나지 않았다. Hematocrit은 20°C의 수온에서 120 mg NO₂/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 나타내었으며, 25°C에서도 아질산 120 mg NO₂/L의 농도에서 유

의적 감소를 나타내었다($P<0.05$).

혈장 성분

수온별 아질산 노출에 따른넙치의 혈장 무기성분은 Fig. 3에 나타내었다. 혈장 calcium은 20°C의 수온에서 120 mg NO₂/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 보였으며, 25°C의 수온에서 60 mg NO₂/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 보였다($P<0.05$). 반면, 혈장 magnesium은 수온별 아질산 노출에 따른 유의적인 변화는 나타나지 않았다.

수온별 아질산 노출에 따른넙치의 혈장 유기성분은 Fig. 4에 나타내었다. 혈장 glucose는 20°C의 수온에서 120 mg NO₂/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 나타내었으며, 25°C의 수온에서 60 mg NO₂/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 나타내었다($P<0.05$). 혈장 cholesterol은 20°C 및 25°C 수온에서 60 mg NO₂/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 나타내었다($P<0.05$). 혈장 total protein은 수온별 아질산 노출에 따른 유의적인 변화는 보이지 않았다.

수온별 아질산 노출에 따른넙치의 혈장 효소성분은 Fig. 5에 나타내었다. 혈장 AST는 20°C의 수온에서 460 mg NO₂/L의 농도에서 유의적 감소를 나타내었으며, 25°C의 수온에서 대조구에서 120 mg NO₂/L까지의 농도에서는 유의적 변화는 나타나지 않았다($P<0.05$). 혈장 ALT는 수온별 아질산 노출에 따른 유의적인 변화는 나타나지 않았다.

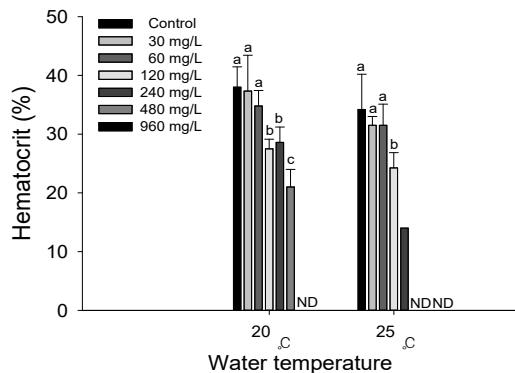
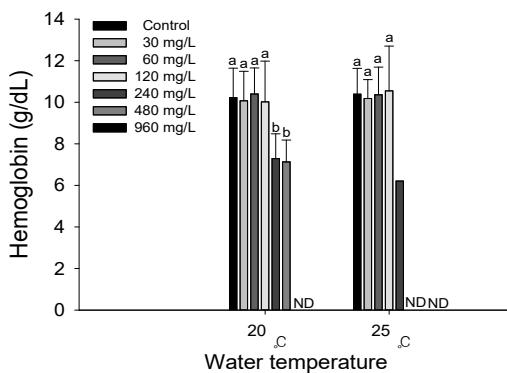


Fig. 2. Hematological parameters of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to waterborne nitrite according to water temperature for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ($P<0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test (ND: no data).

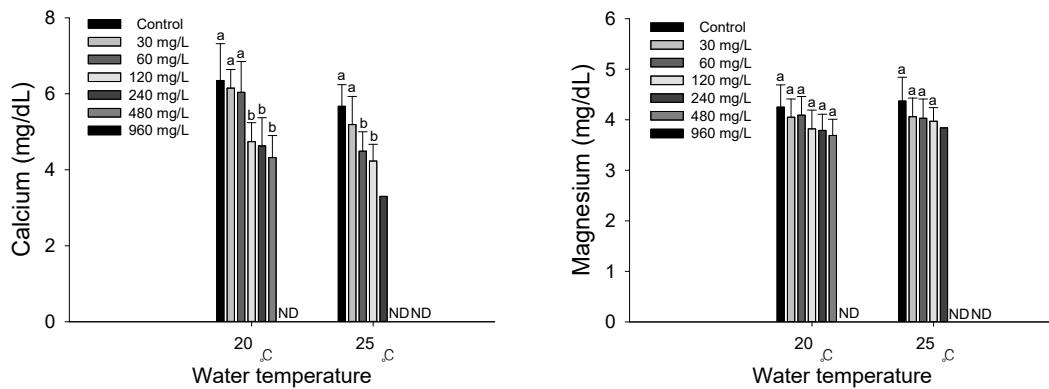


Fig. 3. Inorganic plasma components of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to waterborne nitrite according to water temperature for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ($P < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test (ND: no data).

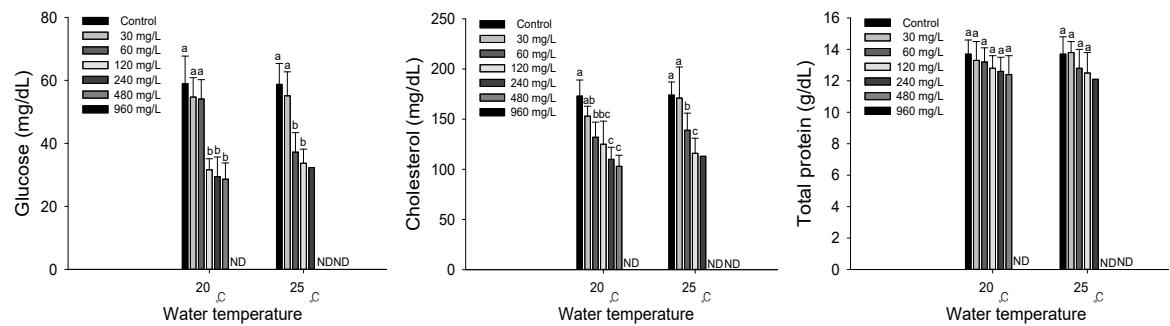


Fig. 4. Organic plasma components of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to waterborne nitrite according to water temperature for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ($P < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test (ND: no data).

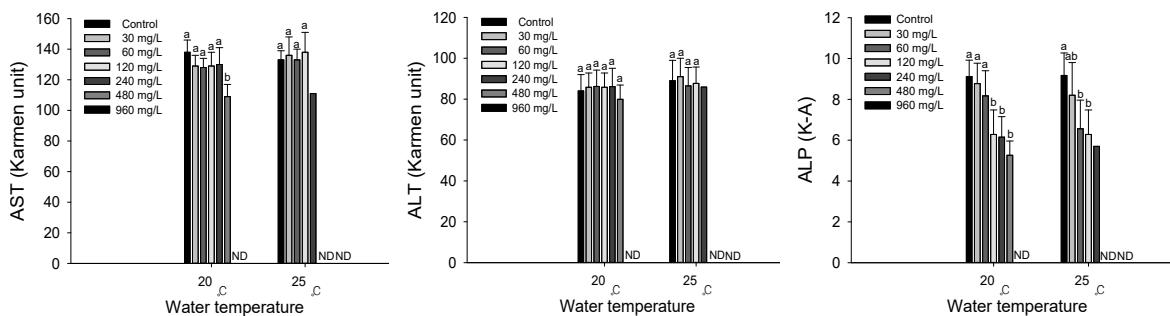


Fig. 5. Enzymatic plasma components of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to waterborne nitrite according to water temperature for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ($P < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test (ND: no data).

다. 혈장 ALP는 20°C의 수온에서 120 mg NO₂⁻/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 보였으며, 25°C의

수온에서 60 mg NO₂⁻/L 이상의 농도에서 유의적 감소를 보였다($P < 0.05$).

고 찰

아질산은 밀식된 양식장이나 순환여과시스템과 같은 양식시스템에서 높은 농도로 존재할 수 있으며, 높은 농도의 아질산은 어류에서 생리적 교란을 미쳐 심각한 독성을 작용할 수 있다(Zhang et al., 2020). 어류에서 내성한계 이상의 아질산 농도는 대량폐사를 유발할 수 있으며, 반수치사농도(LC_{50})는 어류의 아질산 내성한계를 확인하고 독성을 평가하는 지표로 이용될 수 있다(Bita et al., 2021). Kroupova et al. (2008)는 아질산 노출에 따른 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*의 노출 96시간 반수치사농도(LC_{50})는 $11.2 \text{ mg NO}_2^-/\text{L}$ 라고 보고했다. Lin et al. (2018)은 bighead carp, *Aristichthys nobilis*에서 아질산 노출에 따른 96시간 반수치사농도(LC_{50})는 $121.6 \text{ mg NO}_2^-/\text{L}$ 라고 보고했다. Huertas et al. (2002) 역시 Siberian sturgeon, *Acipenser baeri*에서 내성한계 이상의 아질산 노출에 따른 폐사를 보고했으며, 노출 72시간 반수치사농도(LC_{50})는 $130 \text{ mg NO}_2^--\text{N}/\text{L}$ 라고 보고했다. Wuertz et al. (2013)는 juvenile pike-perch, *Sander lucioperca*에서 아질산 노출에 따른 96시간 반수치사농도(LC_{50})는 $7.5 \text{ mg NO}_2^--\text{N}/\text{L}$ 라고 보고했다. 본 연구에서 수온별 아질산 노출에 따른 넙치(110.9g)의 반수치사농도(LC_{50})는 20°C 에서 $513.87 \text{ mg NO}_2^-/\text{L}$ 였으며, 25°C 에서 $208.35 \text{ mg NO}_2^-/\text{L}$ 로 나타났다. 아질산 노출에 따른 내성한계는 어종에 따라 다르게 나타나며, 반수치사농도(LC_{50})는 어종에 따라 차이를 보였다. Kim et al. (2019b)은 수온 22°C 에서 아질산 노출된 넙치 치어(2.4g)의 96시간 반수치사농도(LC_{50})는 $768.1 \text{ mg NO}_2^-/\text{L}$ 으로 보고했다. 이와 비교해보았을 때, 넙치 크기에 따른 아질산 내성한계의 차이를 보였으며, 본 연구에서 수온에 따른 아질산 내성한계가 크게 차이가 나는 것을 확인했다.

수온은 어류의 호흡 및 대사를 결정하는 중요한 요소이며, 높은 수온에서 아질산 노출에 따른 더 높은 생체축적이 나타날 수 있다(Kroupova et al., 2008). 본 연구에서 수온의 차이에 따른 아질산 내성한계는 상당한 차이를 보였으며, 25°C 의 수온에서는 아질산 노출에 따른 내성한계가 20°C

의 수온보다 2.46배 낮게 나타났다. 이러한 수온에 따른 내성한계의 차이는 높은 수온에서 더 많은 대사량을 가지며, 호흡량 증가에 의한 독성노출 빈도가 높아짐에 의한 것으로 판단된다. Lemus and Chung (1999) 역시 높은 수온이 호흡량의 증가를 유발하여 독성에 대한 영향을 높일 수 있다고 주장했으며, 구리 노출에 의한 yellow mojarra, *Petenia kraussii*의 반수치사농도의 차이(LC_{50} at 22°C : 4.85 ppm , LC_{50} at 30°C : 2.84 ppm)를 보고했다.

수중의 아질산 노출은 어류 아가미 상피세포를 통해 혈액으로 유입되어, hemoglobin을 methemoglobin으로 전환을 하며, 어류의 순환계 시스템에 직접적인 영향을 미칠 수 있다(Zhang et al., 2020). 어류에서 혈중 methemoglobin의 수준이 50%미만에서는 폐사와 직접적인 연관은 없으며, 70~80%의 혈중 methemoglobin은 어류의 행동학적 장애를 나타낼 수 있다(Roques et al., 2015). 어류의 혈액 성상 중 hemoglobin 및 hematocrit는 어류의 건강도를 평가하는 중요한 지표이며, 환경스트레스에 대한 생리적 영향을 평가 할 수 있는 요소이다 (Kim et al., 2020a; Yu et al., 2021). 본 연구에서 수온에 따른 아질산 노출은 olive flounder, *Paralichthys olivaceus*의 hemoglobin 및 hematocrit의 유의적 감소를 나타내었다. Zhang et al. (2020)은 아질산에 노출된 yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*에서 유의적으로 감소된 hemoglobin 농도 및 hematocrit 수치를 보고했으며, 이는 적혈구로 확산된 아질산염이 hemoglobin을 산화시켜 methemoglobin으로 생성하여 산소운반능력의 감소에 의한 것으로 판단했다. da Costa et al. (2004) 역시 아질산 노출에 따른 Amazonian fish, *Colossoma macropomum*의 hemoglobin 및 hematocrit의 유의적 감소를 보고했으며, 이는 아질산 노출로 인한 혈소판 감소, 적혈구 수축 및 용혈에 의한 결과라고 주장했다. Das et al. (2004)는 아질산 노출에 의한 fingerlings of mrigal, *Cirrhinus mrigala*의 혈중 methemoglobin의 증가를 확인했으며, 이로 인한 혈중 hemoglobin의 유의적 감소를 보고했다.

수온은 어류의 신진대사에 영향을 주는 가장 중요한 환경적 요인이며, 이로 인해 독성 노출에 따른 어류의 독성 정도에 직접적인 영향을 미치는

환경지표이다(Kim et al., 2019c). 수온의 변화에 따른 수중 용존산소의 차이는 아질산 노출에 따른 헤모글로빈 내의 heme 산화 능력 및 산소친화성에 직접적인 영향을 미칠 수 있으며, methemoglobin 형성에 영향을 줄 수 있다(Madison and Wang, 2006). Lim et al. (2021)는 olive flounder, *P. olivaceus*에서 수온의 변화는 어류의 산소요구량과 호흡량을 증가시키고 생리적으로 직접적인 영향을 주었다고 보고했다. Kroupova et al. (2006)는 수온이 아질산 노출에 따른 수산생물의 체내 아질산 축적에 상당한 영향을 미칠 수 있다고 주장했으며, 높은 수온에서 신진대사, 심박동수, 효소활성 및 혈류량의 증가로 인해 아질산 노출에 따른 common carp, *Cyprinus carpio* L.의 더 높은 체내 아질산 축적을 보고했다. Abdel-Tawwab and Wafeek (2017)은 수온별 카드뮴에 노출된 Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*의 혈액학적 성상(hemoglobin 및 hematocrit)의 유의적 감소를 나타내었으며, 수온은 카드뮴 노출에 따른 혈액학적 성상의 변화에 영향을 주는 요소로 작용했다고 보고했다. 본 연구에서 olive flounder, *P. olivaceus*의 아질산 노출에 따른 혈액성상의 감소는 나타났지만, 수온의 차이에 따른 영향은 나타나지 않았다.

어류의 혈장 무기성분은 어류의 이온조절과 직접적인 연관이 있으며, 높은 농도의 아질산 노출은 어류의 이온 항상성에 영향을 주어 이온교란을 미칠 수 있다(Gao et al., 2020). Woo and Chiu (1997)은 아질산 노출이 sea bass, *Lates calcarifer*의 삼투조절 기능장애를 유발하여 혈장 무기성분의 변화를 보고했다. Sathya et al. (2012)는 아가미를 통한 독성물질의 흡수는 아가미 세포의 손상을 유발하여 호흡 및 삼투압 조절을 방해한다고 주장했으며, David et al. (2004)는 cypermethrin에 노출된 common carp, *Cyprinus carpio*에서 혈장 calcium을 포함한 다른 무기성분의 감소를 보고했으며, 이는 독성노출에 따른 혈장 이온 및 삼투압의 교란으로 판단된다. 본 연구에서 아질산 노출에 따른 넙치 혈장 calcium의 유의적 감소가 나타난 반면, 혈장 magnesium은 아질산 노출에 의한 유의적 변화는 나타나지 않았다.

수온의 변화는 혈장 이온펌프의 활성에 영향을

주어, 체내 혈장 무기성분에 영향을 줄 수 있다 (Metz et al., 2003). Lek et al. (2020)는 아질산 노출이 어류의 혈장 이온 및 삼투압에 생리독성으로 작용을 하며, 높은 수온에서 아질산 노출에 따른 더 높은 이온교란을 일으킬 수 있다고 주장했다. 본 연구에서도 아질산 노출에 따른 넙치 혈장 calcium의 감소는 수온에 따라 영향을 받는 것을 확인했으며, 이는 수온의 차이에 따른 대사량 차이에 의한 아질산 노출의 빈도에 의한 것으로 판단된다.

혈장 glucose는 독성물질 노출 및 환경변화에 따른 어류의 스트레스를 평가하는 중요한 요소이며, 일반적으로 스트레스 상황에서 gluconeogenesis에 의해 증가가 일어난다(Kim et al., 2021). Gao et al. (2020)은 아질산 노출에 의한 tiger puffer, *Takifugu rubripes*의 혈장 glucose의 유의적 증가를 보고했으며, 이는 아질산 노출에 따른 스트레스 반응에 대응하기 위해 탄수화물 대사 증가를 유도했음을 나타낸다. 하지만, 본 연구에서 아질산 노출에 따른 넙치의 혈장 glucose는 유의적 감소를 나타내었다. Park et al. (2007) 역시 아질산 노출에 따른 dark-banded rockfish, *Sebastes inermis*의 혈장 glucose의 유의적 감소를 보고했으며, 이는 스트레스에 따른 glucose의 증가보다 세포대사를 위한 더 많은 glucose의 사용에 의한 것으로 주장했다. Cho et al. (2020)은 낮은 농도의 아질산 노출에서는 hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂)의 glucose 농도가 증가했으나, 높은 아질산 농도에서는 glucose의 급격한 감소를 보고했으며, 이는 높은 농도의 아질산 노출에 의한 항상성 붕괴 및 탄수화물의 과도한 소진으로 인한 것이라고 주장했다.

혈장 cholesterol은 모든 세포막 구조 및 스테로이드 호르몬의 전구체로 중요한 물질이며, 독성 노출에 의한 산화스트레스는 일반적으로 hypercholesterolemia를 유발할 수 있다(Ibrahim, 2020). 본 연구에서 넙치 혈장 cholesterol은 아질산 노출에 의해 유의적으로 감소하였다. Zhang et al. (2020)은 아질산 노출에 의한 yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*의 혈장 cholesterol의 유의적 감소를 보고했으며, 이는 탄수화물의 이용과도 연관이 있을

수 있다고 주장했다. Kim et al. (2018) 역시 바이오플락 및 유수식으로 양성한 olive flounder, *P. olivaceus*에서 아질산 노출에 따른 혈장 cholesterol의 유의적 감소를 보고했으며, 이는 높은 농도의 아질산 노출이 어류의 스테로이드 합성 억제를 유발했음을 나타낸다.

혈장 total protein은 어류의 정상적인 대사를 위해 에너지를 공급하며, 독성물질 노출에 따른 스트레스에 의해 변화하여 어류의 스트레스 및 건강 상태를 평가하는 중요한 요소이다(Lee et al., 2019). 어류에서 독성물질 노출은 높은 에너지 요구량을 필요로 하며, 이는 단백질 이화작용의 증가로 인해 혈장 total protein의 감소를 유발할 수 있다(Park et al., 2007). 하지만, 본 연구에서 아질산 노출에 따른 넙치 혈장 total protein의 유의적 변화는 나타나지 않았다. Jia et al. (2016) 역시 아질산 노출이 유리 아미노산의 비율을 증가시키고 단백질 교체를 억제하는 독성영향이 있지만, 아질산에 노출된 juvenile turbot, *Scophthalmus maximus*에서 혈장 total protein의 유의적 변화는 나타나지 않았다고 보고했다.

혈장성분 중 AST, ALT 및 ALP와 같은 효소 성분은 독성물질 노출에 의해 빠르게 반응하기 때문에 독성 노출에 따른 병리학적 변화를 평가하기 위한 민감한 지표로 이용된다(Ramesh et al., 2018). 특히, AST 및 ALT의 활성변화는 근육, 간 및 신장 세포의 기능적 손상과 직접적인 연관이 있어, 독성 노출에 따른 어류 장기의 건강상태를 알 수 있는 주요한 지표이기도 하다(Kim et al., 2020b). 아질산 노출은 어류의 스트레스 및 간 조직 손상을 유발할 수 있으며, 혈장 효소성분인 AST 및 ALP에 변화를 나타낼 수 있다(dos Santos et al., 2018). 일반적으로 독성노출에 따른 조직의 손상으로 인해 AST 및 ALT는 유의적 증가를 나타내지만, 너무 높은 농도의 급성노출에서는 어류 조직의 완전한 기능상실로 인해 효소의 활성이 감소할 수도 있다(Malarvizhi et al., 2012). 혈장 ALP는 어류의 대표적인 인산분해효소이며, 주요 어류조직의 손상 및 기능장애에 대한 영향을 평가하기 위한 민감한 지표로 이용된다(Wan et al., 2014). 본 연구에서 아질산 노출은 넙치 혈장 AST 및 ALP의 유

의적인 감소를 유발했으며, 이는 한계치 이상의 높은 아질산 노출에 의한 조직의 정상적인 기능상실에 의한 것으로 판단된다. 수온은 아질산 노출에 따른 혈장 유기 및 효소성분의 변화에 영향을 미치는 주요한 요인으로 작용했으며, 아질산 노출에 따른 독성영향에 영향을 미칠 수 있음을 확인하였다.

본 연구에서 아질산 급성노출은 실험어인 넙치의 높은 폐사와 함께 혈액학적 성상 및 혈장성분 등 생리적인 독성으로 작용하였다. 본 연구결과 960 mg/L(20°C) 및 240 mg/L(25°C) 이상의 아질산 노출은 대량 폐사를 유발할 수 있으며, 전반적으로 120 mg/L(20°C) 및 60 mg/L(25°C) 이상의 아질산 농도는 혈액학적 성상 및 magnesium, total protein 및 ALT를 제외한 혈장성분의 유의적 변화를 일으키는 것을 확인했다. 본 연구결과 아질산 노출에서 농도뿐만 아니라 수온은 아질산 독성의 정도를 결정하는 중요한 요소로 작용하는 것을 확인했다. 어류의 사육을 위한 적정 수온 범위 내의 수온이라고 할지라도 아질산 독성을 결정하는 중요한 요소이기 때문에, 아질산 독성기준을 적립함에 있어 pH 뿐만 아니라 수온에 대한 사육지침기준 마련이 이루어져야 할 것이다.

사사

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

References

- Abdel-Tawwab, M. and Wafeek, M.: Fluctuations in water temperature affected waterborne cadmium toxicity: hematology, anaerobic glucose pathway, and oxidative stress status of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture 477: 106-111, 2017.
- Bita, S., Balouch, A. and Mohammadian, T.: Determination of lethal concentration (LC_{50}) of silver nanoparticles produced by biological and chemical methods in Asian seabass fish. International Journal of Aquatic Research 1: 7-12, 2021.
- Cho, J.H., Kim, S.R., Hur, Y.B., Lee, K.M. and Kim,

- J.H.: Tolerance limit of nitrite exposure to hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*♀ × *E. lanceolatus*♂): hematological parameters and plasma components. Korean Journal of Environmental Biology 38: 93-100, 2020.
- da Costa, O.T.F., dos Santos Ferreira, D.J., Mendonça, F.L.P. and Fernandes, M.N.: Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalmidae), to short-term exposure to nitrite. Aquaculture 232: 627-636, 2004.
- Das, P.C., Ayyappan, S., Jena, J.K. and Das, B.K.: Nitrite toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.): acute toxicity and sub-lethal effect on selected haematological parameters. Aquaculture 235: 633-644, 2004.
- David, M., Mushigeri, S.B., Shivakumar, R. and Philip, G.H.: Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sub-lethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles. Chemosphere 56: 347-352, 2004.
- de Oliveira, P.R., Bechara, G.H., Denardi, S.E., Pizano, M.A. and Mathias, M.I.C.: Toxicity effect of the acaricide fipronil in semi-engorged females of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)(Acari: Ixodidae): Preliminary determination of the minimum lethal concentration and LC50. Experimental Parasitology 127: 418-422, 2011.
- dos Santos Silva, MJ., da Costa, F.F.B., Leme, F.P., Takata, R., Costa, D.C., Mattioli, C.C. and Miranda-Filho, K.C.: Biological responses of Neotropical freshwater fish *Lophiosilurus alexandri* exposed to ammonia and nitrite. Science of The Total Environment 616: 1566-1575, 2018.
- Gao, X.Q., Fei, F., Huo, H.H., Huang, B., Meng, X.S., Zhang, T. and Liu, B.L.: Effect of acute exposure to nitrite on physiological parameters, oxidative stress, and apoptosis in *Takifugu rubripes*. Ecotoxicology and Environmental Safety 188: 109878, 2020.
- Huertas, M., Gisbert, E., Rodriguez, A., Cardona, L., Williot, P. and Castello-Orvay, F.: Acute exposure of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) yearlings to nitrite: median-lethal concentration (LC50) determination, haematological changes and nitrite accumulation in selected tissues. Aquatic Toxicology 57: 257-266, 2002.
- Ibrahim, A.T.A.: Toxicological impact of green synthesized silver nanoparticles and protective role of different selenium type on *Oreochromis niloticus*: hematological and biochemical response. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 61: 126-507, 2020.
- Jensen, F.B.: Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology 135: 9-24, 2003.
- Jia, R., Liu, B.L., Han, C., Huang, B. and Lei, J.L.: The physiological performance and immune response of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) to nitrite exposure. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 181: 40-46, 2016.
- Kim, J.H., Kim, J.Y., Lim, L.J., Kim, S.K., Choi, H.S. and Hur, Y.B.: Effects of waterborne nitrite on hematological parameters and stress indicators in olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, raised in bio-floc and seawater. Chemosphere 209: 28-34, 2018.
- Kim, J.H., Kim, S.K. and Hur, Y.B.: Temperature-mediated changes in stress responses, acetylcholinesterase, and immune responses of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* in a bio-floc environment. Aquaculture 506: 453-458, 2019a.
- Kim, J.H., Kang, Y.J., Kim, K.I., Kim, S.K. and Kim, J.H.: Toxic effects of nitrogenous compounds (ammonia, nitrite, and nitrate) on acute toxicity and antioxidant responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Environmental Toxicology and Pharmacology 67: 73-78, 2019b.
- Kim, J.H., Kim, S.K. and Hur, Y.B.: Hematological parameters and antioxidant responses in olive flounder *Paralichthys olivaceus* in biofloc depend on water temperature. Journal of Thermal Biology 82: 206-212, 2019c.
- Kim, J.H., Kim, S.K. and Hur, Y.B.: Toxic effects of waterborne nitrite exposure on antioxidant responses, acetylcholinesterase inhibition, and immune responses in olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, reared in bio-floc and seawater. Fish & Shellfish Immunology 97: 581-586, 2020a.
- Kim, J.H., Sohn, S., Kim, S.K. and Hur, Y.B.: Effects on hematological parameters, antioxidant and immune responses, AChE, and stress indicators of olive flounders, *Paralichthys olivaceus*, raised in bio-floc and seawater challenged by *Edwardsiella tarda*. Fish & shellfish immunology 97: 194-203, 2020b.
- Kim, J.H., Kim, S.R., Kim, S.K. and Kang, H.W.: Effects of pH changes on blood physiology, antioxidant responses and Ig M of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Aquaculture Reports 21: 100790, 2021.

- Korwin-Kossakowski, M. and Ostaszewska, T.: Histopathological changes in juvenile carp *Cyprinus carpio* L. continuously exposed to high nitrite levels from hatching. *Fisheries & Aquatic Life* 11: 57-67, 2003.
- Kroupova, H., Machova, J. and Svobodova, Z.: Nitrite influence on fish: a review. *Veterinarni medicina-praha-*, 50: 461-471, 2005.
- Kroupova, H., Machova, J., Piačková, V., Flajšhans, M., Svobodova, Z. and Poleszczuk, G.: Nitrite intoxication of common carp (*Cyprinus carpio* L.) at different water temperatures. *Acta Veterinaria Brno* 75: 561-569, 2006.
- Kroupova, H., Machova, J., Piackova, V., Blahova, J., Dobsikova, R., Novotny, L. and Svobodova, Z.: Effects of subchronic nitrite exposure on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71: 813-820, 2008.
- Kumar, N., Gupta, S.K., Bhushan, S. and Singh, N.P.: Impacts of acute toxicity of arsenic (III) alone and with high temperature on stress biomarkers, immunological status and cellular metabolism in fish. *Aquatic Toxicology* 214: 105233, 2019.
- Lee, J.W., Choi, H., Hwang, U.K., Kang, J.C., Kang, Y.J., Kim, K.I. and Kim, J.H.: Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 68: 101-108, 2019.
- Lefevre, S., Jensen, F.B., Huong, D.T., Wang, T., Phuong, N.T. and Bayley, M.: Haematological and ion regulatory effects of nitrite in the air-breathing snakehead fish *Channa striata*. *Aquatic Toxicology* 118: 48-53, 2012.
- Lek, S., Ut, V.N. and Phuong, N.T.: Effects of nitrite at different temperatures on physiological parameters and growth in clown knifefish (*Chitala ornata*, Gray 1831). *Aquaculture* 521: 735060, 2020.
- Lemus, M.J. and Chung, K.S.: Effect of Temperature on Copper Toxicity, Accumulation, and Purification in Tropical Fish Juveniles *Petenia kraussii* (Pisces: Cichlidae). *Caribbean Journal of Science* 35: 64-69, 1999.
- Lin, Y., Miao, L.H., Pan, W.J., Huang, X., Deng, J.M., Zhang, W.X. and Xi, B.W.: Effect of nitrite exposure on the antioxidant enzymes and glutathione system in the liver of bighead carp, *Aristichthys nobilis*. *Fish & Shellfish Immunology* 76: 126-132, 2018.
- Lim, H.K., Han, H.S. and Hur, J.W.: Effects of water temperature changes on oxygen consumption and hematological factors in olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Fisheries and Aquatic Sciences* 24: 99-107, 2021.
- Malarvizhi, A., Kavitha, C., Saravanan, M. and Ramesh, M.: Carbamazepine (CBZ) induced enzymatic stress in gill, liver and muscle of a common carp, *Cyprinus carpio*. *Journal of King Saud University-Science* 24: 179-186, 2012.
- Madison, B.N. and Wang, Y.S.: Haematological responses of acute nitrite exposure in walleye (*Sander vitreus*). *Aquatic Toxicology* 79: 16-23, 2006.
- Metz, J.R., Van Den Burg, E.H., Bonga, S.E.W. and Flik, G.: Regulation of branchial Na⁺/K⁺-ATPase in common carp *Cyprinus carpio* L. acclimated to different temperatures. *Journal of Experimental Biology* 206: 2273-2280, 2003.
- Park, I.S., Lee, J., Hur, J.W., Song, Y.C., Na, H.C. and Noh, C.H.: Acute toxicity and sublethal effects of nitrite on selected hematological parameters and tissues in dark-banded rockfish, *Sebastodes inermis*. *Journal of the World Aquaculture Society* 38: 188-199, 2007.
- Qu, J., Yang, H., Liu, Y., Qi, H., Wang, Y. and Zhang, Q.: The study of natural biofilm formation and microbial community structure for recirculating aquaculture system. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science (Vol. 742, No. 1, p. 012018). IOP Publishing, 2021.
- Ramesh, M., Anitha, S., Poopal, R.K. and Shobana, C.: Evaluation of acute and sublethal effects of chloroquine (C₁₈H₂₆CIN₃) on certain enzymological and histopathological biomarker responses of a freshwater fish *Cyprinus carpio*. *Toxicology Reports* 5: 18-27, 2018.
- Roques, J.A., Schram, E., Spanings, T., van Schaik, T., Abbink, W., Boerrigter, J. and Flik, G.: The impact of elevated water nitrite concentration on physiology, growth and feed intake of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquaculture Research* 46: 1384-1395, 2015.
- Sathy, V., Ramesh, M., Poopal, R.K. and Dinesh, B.: Acute and sublethal effects in an Indian major carp *Cirrhinus mrigala* exposed to silver nitrate: Gill Na⁺/K⁺-ATPase, plasma electrolytes and biochemical alterations. *Fish & shellfish immunology*, 32: 862-868, 2012.
- Sohn, S.G., Lee, Y.S., Kim, K.S., Lee, H.N., Lee, J.Y. and Back, S.J.: Acute toxicity of nitrite on juvenile banded catfish(*Pseudobagrus fulvidraco*). *JFMSE*

- 27: 41-48, 2015.
- Wan, J., Ge, X., Liu, B., Xie, J., Cui, S., Zhou, M., Xia, S. and Chen, R.: Effect of dietary vitamin C on non-specific immunity and mRNA expression of three heat shock proteins (HSPs) in juvenile *Megalobrama amblycephala* under pH stress. Aquaculture 434: 325-333, 2014.
- Woo, N.Y.S. and Chiu, S.F.: Metabolic and osmoregulatory responses of the sea bass *Lates calcarifer* to nitrite exposure. Environmental Toxicology and Water Quality: An International Journal 12: 257-264, 1997.
- Wuertz, S., Schulze, S.G.E., Eberhardt, U., Schulz, C. and Schroeder, J.P.: Acute and chronic nitrite toxicity in juvenile pike-perch (*Sander lucioperca*) and its compensation by chloride. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 157: 352-360. 2013.
- Yıldız, H.Y., Köksal, G., Borazan, G. and Benli, C.K.: Nitrite-induced methemoglobinemia in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of Applied Ichthyology 22: 427-426, 2006.
- Yu, J., Xiao, Y., Wang, Y., Xu, S., Zhou, L., Li, J. and Li, X.: Chronic nitrate exposure cause alteration of blood physiological parameters, redox status and apoptosis of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). Environmental Pollution 283: 117103, 2021.
- Yunus, K., Jaafar, A.M. and Akbar, J.: Acute-lethal toxicity (LC_{50}) Effect of Terminalia Catappa Linn. leaves extract on *Oreochromis Niloticus* (Red Nile Tilapia) juveniles under static toxicity exposure. Oriental Journal of Chemistry 35: 270-274, 2019.
- Zhang, M., Yin, X., Li, M., Wang, R., Qian, Y. and Hong, M.: Effect of nitrite exposure on haematological status, oxidative stress, immune response and apoptosis in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology 238: 108867, 2020.
- Zhang, Y., Liang, X.F., He, S. and Li, L.: Effects of long-term low-concentration nitrite exposure and detoxification on growth performance, antioxidant capacities, and immune responses in Chinese perch (*Siniperca chuatsi*). Aquaculture 533: 736123, 2021.

Manuscript Received : Aug 31, 2021

Revised : Sep 25, 2021

Accepted : Oct 19, 2021