

수인성 아질산 급성 노출에 따른 잉어, *Cyprinus carpio*의 반수치사농도, 혈액학적 성상 및 혈장성분의 영향

박소원^{*+} · 안수민^{*+} · 조아현^{*} · 김준환^{**†}

^{*}선문대학교 수산생명의학과

^{**}제주대학교 수산생명의학과

Effects of lethal concentration, hematological parameters and plasma components of common carp, *Cyprinus carpio* by waterborne acute nitrite exposure

So-Won Park^{*+}, Su-Min An^{*+}, A-Hyun Jo^{*} and Jun-Hwan Kim^{**†}

^{*}Sun Moon University, Department of Aquatic Life and Medical Science, Asan, Korea

^{**}Department of Aquatic Life Medicine, College of Ocean Sciences, Jeju National University

Common carp (*Cyprinus carpio*) (Weight 23.05 ± 6.98 g, Length 12.65 ± 1.38 cm) were exposed to waterborne nitrite at 0, 50, 100, 200, 400 and 800 mg NO₂/L for 96 hours. The lethal concentration 50 (LC₅₀) of *C. carpio* exposed to waterborne nitrite was 398.6 mg NO₂/L. Hemoglobin, hematocrit and RBC count were significantly decreased by waterborne nitrite exposure. The MCV (mean mean corpuscular volume) (μl), MCH (mean corpuscular hemoglobin) (pg) and MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) (%) were significantly increased. The inorganic component, plasma calcium, was significantly increased, and the organic components such as plasma cholesterol and total protein were significantly increased showing a similar tendency with calcium. In enzymatic components, the AST and ALT were also significantly increased by nitrite exposure. The results of this study indicate that exposure to nitrite can affect the survival and hematological physiology of *C. carpio*.

Key words: Nitrite exposure, LC₅₀, Hematological parameters, Plasma components, Common carp

서 론

아질산은 암모니아의 산화 과정 또는 질산염의 환원 과정으로부터 생성되는 중간산물로, 일반적인 수중환경에서는 수중 생물에 대해 영향 이하의 농도로 유지된다(Zhang et al., 2022) 하지만, 외부로

부터 질소 기반 비료, 가축 분뇨 및 생활 하수와 같은 다양한 요인으로 인해서 수중에 높은 농도로 존재할 수 있다(Lin et al., 2018). 특히, 사육수의 교환이 거의 없는 폐쇄식 양식장이나 고밀도로 양식이 이루어지고 있는 양식장 환경에서 높은 수준으로 증가할 수 있으며, 이는 수산생물 체내로 흡수되어 치명적인 독성으로 작용할 수 있다(Cheng et al., 2019; Jia et al., 2016).

높은 수준의 아질산은 수중생물의 아가미, 간 및

⁺These authors contributed equally to this work.

[†]Corresponding author: Jun-Hwan Kim

Tel: +82-41-675-3773, Fax: +82-41-675-7077

E-mail: junhwan1982@korea.kr

근육과 같은 주요 조직에 축적되어 생리적 변화 및 조직학적 손상 등의 독성을 유발할 수 있다(Hu et al., 2022; Xu et al., 2022). 아질산 이온(NO_2^-)은 수중생물의 아가미 조직에서 염화물(Cl^-)/중탄산염(HCO_3^-)이온과 친화성을 가지기 때문에, 염화이온(Cl^-)과 동일한 부위에서 경쟁적으로 작용하여 삼투 장애를 초래할 수 있다; 담수어는 아가미 염류세포를 통해서 수중에 이온을 능동적으로 흡수하기 때문에 아질산 노출에 따른 독성은 담수어에게 더 민감하게 나타날 수 있다(Lefevre et al., 2012). 수중에서 아질산 농도가 증가하게 되면 수중생물의 아가미 상피세포 괴사, 아가미 2차 새변과형성 및 아가미 모세혈관 충혈과 같은 병리학적 증상뿐만 아니라 수면유영 및 무기력증과 같은 행동학적 장애를 나타낼 수 있다(Ciji and Akhtar, 2020).

수중 생물에게 높은 수준의 아질산 노출은 생리학적인 장애를 유발할 수 있으며, 내성한계 이상의 농도에서 대량 폐사를 초래할 수 있다(Kocour Kroupová et al., 2018). 반수치사농도(LC_{50} , Lethal Concentration 50%)는 생물이 독성물질에 노출되었을 때 50%가 폐사하는 농도로, 특히 어류 독성물질 급성 노출 실험에서 독성 물질의 위해성을 평가하고 노출 농도를 결정하기 위한 지표로 많이 이용된다(de Oliveira et al., 2011; Jeong et al., 2022). 또한, 반수치사농도는 독성물질의 노출에 따른 수중생물의 민감도 및 독성물질의 치명률을 나타내며, 반수치사농도가 높을수록 생물의 독성물질에 대한 내성한계가 높다는 것을 의미한다(Jeong et al., 2022). 따라서, 수인성 아질산의 급성 노출에 따른 생물의 반수치사농도는 아질산 독성에 대한 수중생물의 영향을 확인할 수 있는 주요한 지표로 이용할 수 있으며, 수생태계에서 아질산 존재에 따른 안전 기준 농도를 제시할 수 있을 것이다.

혈액학적 성상은 수중생물의 생리적 상태를 나타내는 주요한 건강 지표이며, 아질산 노출에 따른 어류의 독성 영향을 평가하는 데 중요한 기준 지표로 작용할 수 있다(Hu et al., 2022). 수중에서의 아질산 노출은 아가미 이온교환을 통해 순환기계로 유입되어 혈액 내의 산염기 불균형 및 이온 항상성 교란을 유발할 수 있다. 또한, 혈액 내의 아질산은

적혈구의 산소와 반응하여 2가 철(Fe^{2+})을 가진 헤모글로빈을 3가 철(Fe^{3+})을 가진 메트헤모글로빈(methemoglobin, Met-Hb)으로 산화시킬 수 있다(Madison et al., 2006). 아질산 노출에 따른 Met-Hb의 증가는 혈중 산소 농도의 감소에 따른 저산소증을 유발할 수 있으며, 이는 혈액 및 아가미의 갈변을 유발할 수 있다(Gutiérrez et al., 2019; Zhang et al., 2021). 따라서 수인성 아질산 급성 노출에 따른 어류의 혈액학적 성상 및 혈장성분은 어류의 아질산 독성 노출에 따른 생리적 영향을 평가하는 기준을 제시해줄 것이다.

잉어(Common carp, *Cyprinus carpio*)는 Cypriniformes목 Cyprinidae과에 속하는 온수성 어종으로 물의 흐름이 적은 연못, 호수 및 강과 같은 담수 환경에서 서식한다(Rahman, 2015). 또한, 잉어는 환경 변화에 대한 적응이 빠르며, 이로 인해 건기나 겨울철에도 진흙 속으로 파고들어가 유기 오염물과 추위로부터 견딜 수 있다(Yaqoob, 2021). 우리나라에서 잉어는 높은 영양학적 가치와 소비자의 수요로 인해 가장 많이 양식되고 있는 대표 양식 어종이다. 한편, 폐쇄식 양식 시스템 또는 고밀도 양식이 이루어지고 있는 환경에서 높은 수준의 아질산이 발생할 수 있다(Molayemraftar et al., 2022). 하지만, 아질산 급성 노출에 따른 잉어의 독성 영향에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 실험의 목적은 아질산 노출에 대한 잉어의 반수치사농도, 혈액학적 성상 및 혈장성분을 통해 아질산 노출에 따른 독성 내성한계를 제시하고 생리적 영향을 확인하는 데 있다.

재료 및 방법

실험어 및 실험환경

본 실험에 이용된 *C. carpio*(무게 23.05 ± 6.98 g, 전장 12.65 ± 1.38 cm)는 아산 인근의 종묘생산장에서 분양 받아 실험실에서 사육 양성한 개체를 이용하였다. 실험은 실험 전 2주간 실험실 조건에서 순치를 실시하였으며, 30L의 실험수조를 이용하여, 6개 농도구간(0, 50, 100, 200, 400 및 800 mg NO_2^-/L)으로 노출을 96시간 실시하였다. 실험은 총 36마리(아질산 농도구간 6개 x 실험구간 당 6마리)

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 측정하였으며, 암모니아, 아질산 및 질산은 해양공정시험법을 이용하여 분석하였다. 본 연구에서 아질산 노출은 아질산나트륨(NaNO_2)을 이용하여, 표준원액 10,000 mg NO_2/L 를 만들었으며 각 수조에 농도에 맞게 노출을 실시하였다.

반수치사농도(LC₅₀)

수인성 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 수인성 아질산 노출에 따른 최종 폐사 개체를 바탕으로 통계프로그램(SPSS Inc, Chicago, IL, USA, probit model)을 이용하여 반수치사농도 수치를 산출하였다.

혈액성상

혈액학적 분석은 수인성 아질산 노출 96시간 후 살아있는 개체를 이용하여 채혈을 실시하였다. 채혈은 헤파린(Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 처리된 주사기를 사용하였으며, 채혈 직후 헤모글로빈(Hemoglobin)과 적혈구 용적(Hematocrit)을 측정하였다. Hemoglobin 수치는 임상용 kit (Asan 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. RBC count는 Hendrick's diluting solution으로 혈액을 400 배 희석 후, hemocytometer (Improved Neubauer, Germany)를 이용하여 광학현미경으로 계수하였다.

Hemoglobin, hematocrit 및 RBC count 결과를 바탕으로 평균적혈구용적(MCV: mean corpuscular volume), 평균적혈구혈색소량(MCH: mean corpuscular hemoglobin) 및 평균적혈구헤모글로빈농도(MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration)는 아래의 방식으로 산출하였다.

$$\text{MCV } (\mu\text{l}) = \text{Hematocrit } (\%) / \text{적혈구수}(10^6 / \mu\text{l}) \times 10$$

$$\text{MCH } (\text{pg}) = \text{Hemoglobin } (\text{g/dl}) / \text{적혈구수}(10^6 / \mu\text{l}) \times 10$$

$$\text{MCHC } (\%) = \text{Hemoglobin } (\text{g/dl}) / \text{Hematocrit } (\%) \times 100$$

혈장성분 분석

수인성 아질산 급성 노출에 따른 혈장 성분의 변화를 분석하기 위해 채취한 혈액을 4°C에서 3000 x 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. AST와 ALT는 505 nm에서 Reitman-Frankel법, ALP는 King-King법으로 500 nm에서 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하여 분석하였다.

통계분석 방법

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

결 과

생존율 및 반수치사농도(LC₅₀)

수인성 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 생존율은 Fig. 1에 나타내었다. 대조구에서 200 mg

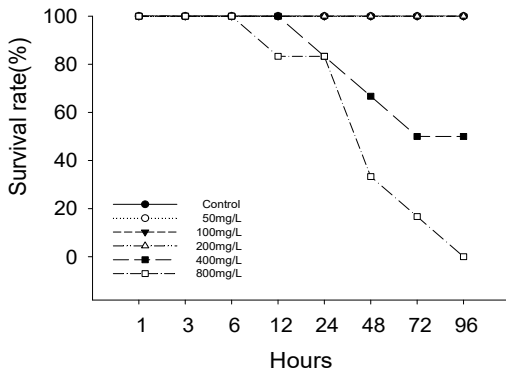


Fig. 1. Survival rate of Common carp, *Cyprinus carpio* exposed to waterborne nitrite for 96 hours.

NO₂/L의 노출에서는 100% 생존했으며, 400 mg NO₂/L의 아질산 노출에서는 24시간부터 폐사 개체가 발생하기 시작하였으며, 노출 96시간 뒤에는 50%가 폐사하였다. 800 mg NO₂/L의 아질산 노출에서는 12시간부터 폐사 개체가 발생하기 시작하였으며, 노출 96시간 뒤에는 100% 폐사하였다. 수인성 아질산 노출에 따른 *C. carpio*의 반수치사농도(Lethal concentration 50, LC₅₀)는 Table 1에 나타내었다. 수인성 아질산 노출에 따른 *C. carpio*의 반수치사농도는 398. 6 mg NO₂/L로 나타났다.

혈액학적 성상

수인성 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 혈

Table 1. Lethal concentration (LC₅₀) of Common carp, *Cyprinus carpio* exposed to waterborne nitrite for 96 hours

95% Confidence Limits	
Probability	Estimate (mg/L)
0.01	260.2
0.10	322.3
0.20	348.5
0.30	367.4
0.40	383.5
0.50	398.6
0.60	413.7
0.70	429.8
0.80	448.7
0.90	474.8
0.99	537.0

액학적 성상은 Fig. 2에 나타내었다. *C. carpio*의 hemoglobin concentration과 hematocrit value는 100 mg NO₂/L 이상의 아질산 농도에서 유의적 감소를 나타내었다($P < 0.05$). RBC count는 50 mg NO₂/L 이상의 아질산 농도에서 유의적 감소를 나타내었다($P < 0.05$). Hemoglobin, hematocrit 및 RBC count 결과를 바탕으로 MCV (μ l)은 200 mg NO₂/L에서 유의적 증가를 나타냈으며, MCH (pg) 및 MCHC (%)은 50 mg NO₂/L 이상의 아질산 농도에서 유의적 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

혈장 성분

수인성 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 혈장 무기성분은 Fig. 3에 나타내었다. 혈장 calcium은 400 mg NO₂/L의 수인성 아질산 노출에 의해 유의적인 증가가 나타났다($P < 0.05$). 반면, 혈장 magnesium은 수인성 아질산 노출에 따른 유의적인 변화는 나타나지 않았다.

수인성 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 혈장 유기성분은 Fig. 4에 나타내었다. 혈장 glucose는 수인성 아질산 노출에 따른 유의적인 변화는 나타나지 않았다. 반면, 혈장 cholesterol 및 total protein은 50 mg NO₂/L 이상의 수인성 아질산 노출에 의해 유의적인 증가를 나타내었다($P < 0.05$).

수인성 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 혈장 효소성분은 Fig. 5에 나타내었다($P < 0.05$). 혈장 AST 및 ALT는 100 mg NO₂/L의 아질산 농도에서 유의적 감소를 나타내었다($P < 0.05$). 반면, 혈장 ALP는 수인성 아질산 노출에 따른 유의적인 변화는 나타나지 않았다.

고 찰

아질산은 사육수의 환수량이 낮거나 과밀 사육이 이루어지는 양식장 환경에서 짧은 시간에 영향 농도 혹은 한계 농도 이상으로 높아질 수 있으며 높은 수준의 아질산 농도는 양식장 사육 생물의 주요 장기에 축적이 일어나며 생리적 기능의 붕괴로 인한 기능 장애 및 대량 폐사를 유발할 수 있다 (de Sousa Miranda et al., 2022). Doleželová et al. (2022)은 juvenile zebrafish, *Danio rerio*(전장 30±

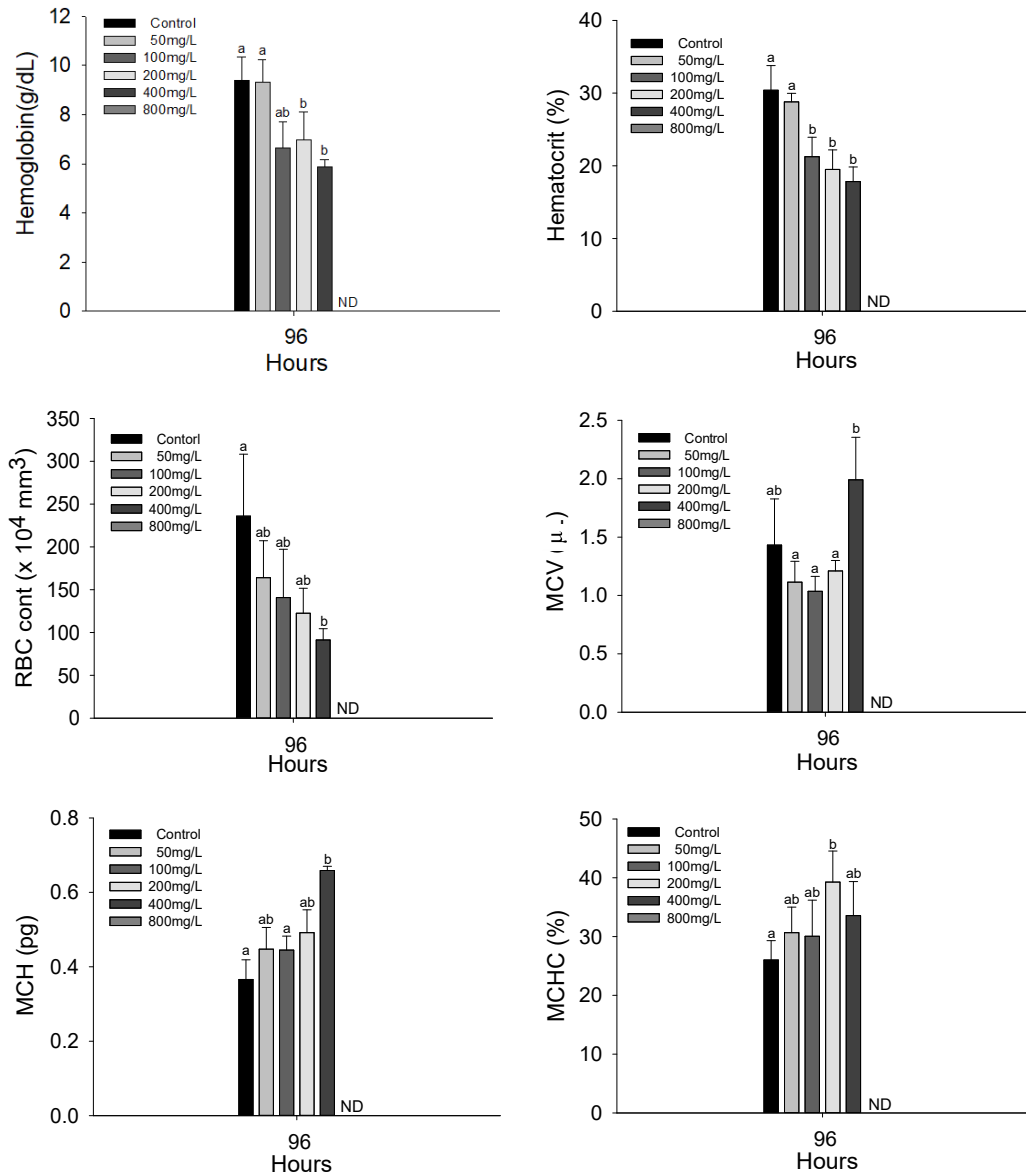


Fig. 2. Hematological parameters of Common carp, *Cyprinus carpio* exposed to waterborne nitrite for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ($P < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test.

5mm, 무게 0.3 ± 0.1 g)의 96시간 아질산 급성 노출에 따른 반수치사농도는 $242.6 \text{ mg NO}_2/\text{L}$ 으로 보고했으며, juvenile guppy, *Poecilia reticulata*(전장 25 ± 5 mm, 무게 0.3 ± 0.1 g)에 대한 반수치사농도는 $30.2 \text{ mg NO}_2/\text{L}$ 라고 보고하였다. 위 연구에서 juvenile guppy, *Poecilia reticulata*의 아질산 노출에 따른 더

높은 민감성은 염화 이온(Cl^-)의 아가미의 흡수율이 높기 때문에, 아질산 이온(NO_2^-)의 노출이 염화 이온(Cl^-)과 경쟁적으로 작용함에 따른 것이라고 주장하였다. Das et al. (2004)은 mrigal, *Cirrhinus mrigala* (무게 11.42 ± 1.47 g)에서 수인성 아질산의 96시간 급성 노출에 따른 반수치사농도는 10.35

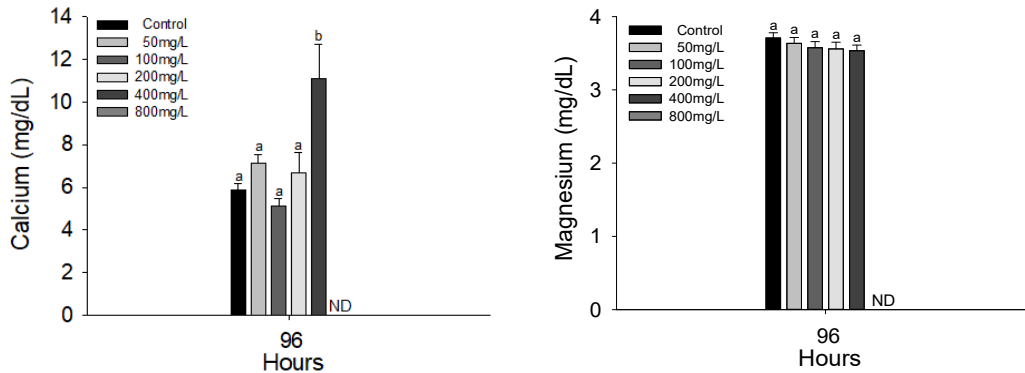


Fig. 3. Inorganic plasma components of Common carp, *Cyprinus carpio* exposed to waterborne nitrite for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ($P < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test.

mg NO_2^-/L 으로 보고하였고, 아질산 노출에 따른 실험생물의 폐사는 아질산 독성에 의한 메트헤모글로빈혈증에 의한 것이라고 주장하였다. Saoud et al. (2014) 역시 rabbitfish, *Siganus rivulatus*에서 96시간 아질산 급성 노출에 따른 반수치사농도는 105 mg NO_2^-/L 라 보고하였으며, 아질산의 노출은 실험어의 혈액 내의 헤모글로빈을 메트헤모글로빈으로 전환시켜 혈중 산소 농도의 감소를 초래하였으며 이는 주요 장기의 생리적 기능 장애를 유발하였을 것이라고 주장하였다.

Sohn et al. (2015)은 juvenile banded Catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*(무게 14.5±0.46g)에서 pH의 차이(pH 6.18, pH 6.50, pH 7.07)에 따른 96시간 아질산의 반수치사농도는 각각 32.68 mg NO_2^-/L , 40.49 mg NO_2^-/L , 45.85 mg NO_2^-/L 으로 보고하였으며, 이는 pH가 낮아질수록 아질산 독성이 높게 나타난다고 주장하였다. Kir et al. (2015)은 juvenile meagre, *Argyrosomus regius*(전장 5.4±0.9 cm, 무게 3.2±0.6 g)에서 수온의 차이(18°C, 22°C, 26°C)에 따른 수인성 아질산 96시간 급성 노출에 의한 반수치사농도는 각각 177.63 mg NO_2^-/L , 139.55 mg NO_2^-/L , 49.61 mg NO_2^-/L 으로 보고하였으며, 이는 수온이 높아질수록 어체 내 대사 활동이 높아져 아질산 독성에 취약하게 나타날 수 있다고 주장하였다. Atwood et al. (2001)은 수인성 아질산 96시간 급성 노출에 따른 반수치사농도를 Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*의 크기(무게 4.4±1.50 g: 81 mg NO_2^-/L , 무게 90.7±16.43

g: 8 mg NO_2^-/L)에 따라 관찰하였으며, 생물의 크기가 작을수록 생리적 대사율이 높아져 방어 기작이 덜 발달함에 따라 독성물질의 노출에 따른 영향이 더 민감할 수 있다고 주장하였다. Molayemraftar et al. (2022)은 common carp, *Cyprinus carpio*(무게 40.51±5.8 g)에서 수인성 아질산의 96시간 급성 노출에 따른 반수치사농도는 512.5 mg NO_2^-/L 으로 보고하였으며, 본 연구에서 수인성 아질산 노출에 따른 잉어(전장 12.65±1.38 cm, 무게 23.05±6.98 g)의 반수치사농도는 398.6 mg NO_2^-/L 로 나타났다. 본 연구에서 동일한 *C. carpio*에서 더 낮은 내성 한계는 실험어의 크기에 따른 결과로 판단되며, 잉어에서 아질산 노출에 따른 내성 한계는 실험 생물의 크기에 따라서도 높은 영향이 나타나는 것을 의미한다. 수인성 아질산 급성 노출에 따른 내성 한계는 생물의 종에 따라 다르게 나타날 뿐만 아니라 실험어의 크기 및 수온, pH와 같은 수질환경요인에 의해서도 차이가 나타날 수 있으므로 다양한 조건에 따른 추가적인 연구가 필요할 것이다.

혈액학적 성상은 독성 물질 노출에 따른 어류의 생리학적 건강 상태를 평가할 수 있으며, 환경성질병을 이해하기 위한 병리학적 기준지표를 제시할 수 있다(Lek et al., 2020). Molayemraftar et al. (2022)은 96시간 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*에서 RBC와 hemoglobin의 유의적인 감소를 보고하였으며, 이는 아질산 노출이 어류의 아가미 기능을 손상시켜 삼투조절장애 및 적혈구의 용혈 발생 때문

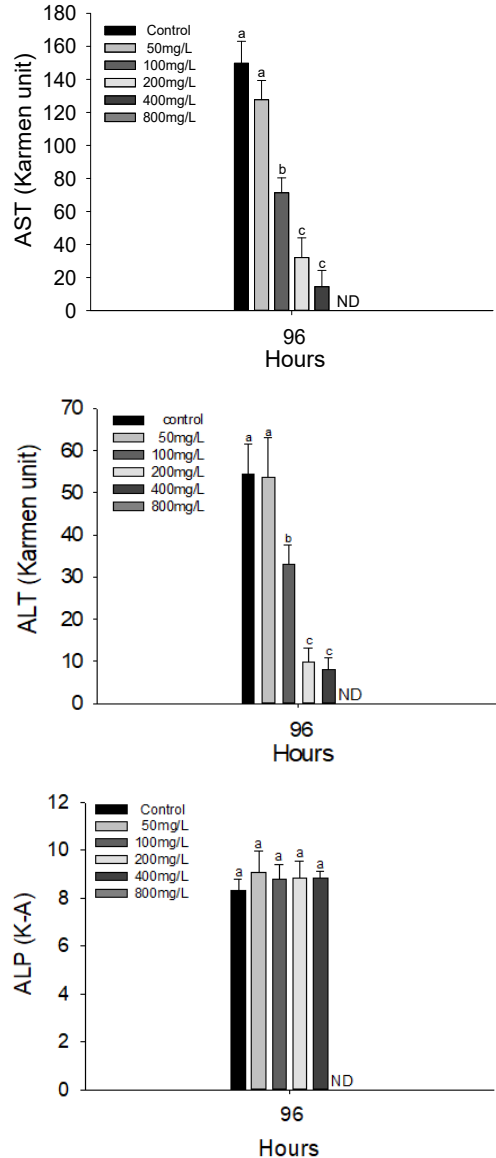
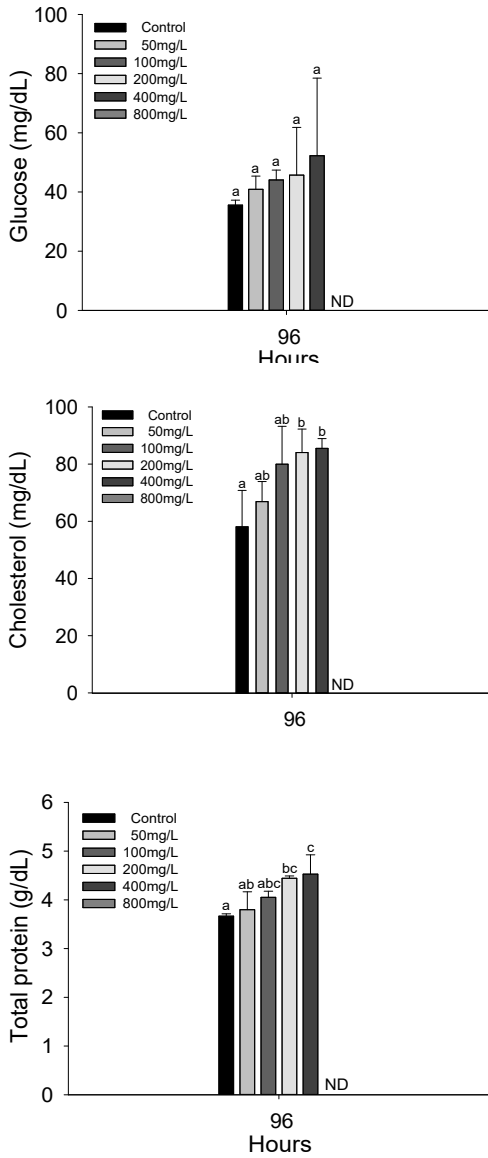


Fig. 4. Organic plasma components of Common carp, *Cyprinus carpio* exposed to waterborne nitrite for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ($P < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test.

Fig. 5. Enzymatic plasma components of Common carp, *Cyprinus carpio* exposed to waterborne nitrite for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ($P < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test.

일 것이라 주장하였다. Svobodová et al. (2005)는 어류에서 아질산 노출은 혈액 내의 Met-Hb의 비율을 증가시키며, 이로 인한 정상적인 산소운반능력을 저해시킬 수 있다고 주장하였다. Avilez et al. (2004)은 *matrinxã*, *Brycon cephalus*에서 96시간 아

질산 급성 노출에 따른 hemoglobin, hematocrit 및 RBC의 유의적 감소를 보고하였으며, 이는 아질산 노출에 따른 Met-Hb의 증가에 의한 것으로 판단되며, 용혈성 빈혈의 의한 혈액 성상의 감소는 적혈구의 기능상실을 초래할 수 있다. 본 연구에서 96

시간 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 hemoglobin, hematocrit 및 RBC count는 유의적인 감소가 나타났다. 본 연구에서 높은 수준의 아질산 급성 노출은 실험 어류의 혈액학적 성상에 영향을 주며, 이는 아질산 노출로 인한 혈중 methemoglobin의 증가와 적혈구 용혈로 인한 결과로 판단된다.

MCH(평균적혈구헤모글로빈)는 적혈구 세포의 헤모글로빈의 평균치를 나타내고, MCV(평균적혈구용적)는 적혈구 세포의 평균 용적을 나타내는 지표이며, MCHC(평균적혈구헤모글로빈농도)는 각각의 적혈구 용적에 대한 헤모글로빈양의 비율을 의미한다(Molayemraftar et al., 2022). Molayemraftar et al. (2022)은 *C. carpio*에서 96시간 암모니아 급성 노출에 따른 MCV의 유의적 증가가 나타났으며, 이는 거대적혈구빈혈을 유도하여 MCV수치가 증가했다고 주장하였다. Brucka-Jastrzębska and Protasowicki. (2005)은 *C. carpio*에서 cadmium 및 nickel 만성 노출 실험을 통해 MCV의 유의적인 증가를 보고하였으며, 이는 독성물질 노출에 의한 적혈구의 수명이 단축된 결과라 보고하였다. MCHC 지표에서 Lek et al. (2020)은 clown knifefish, *Chitala ornate*에서 96시간 아질산 급성 노출에서 유의적 증가를 보고하였다. Rodgers and De Boeck. (2019) 역시 juvenile European carp, *C. carpio*에서 MCHC는 증가를 보고하였으며, 이는 아질산 노출에 따른 삼투압 변화로 인한 적혈구 수축의 결과라고 주장하였다. 본 연구에서 수인성 아질산 급성 노출에 의한 *C. carpio*의 MCV, MCH 및 MCHC는 유의적 증가를 나타내어 hemoglobin에 비해 적혈구 및 적혈구 용적이 더 높은 감소를 보였으며, 이는 적혈구의 용혈과 미성숙 적혈구의 증가로 인한 빈혈에 의한 것으로 판단된다.

혈장 무기성분인 calcium과 magnesium은 어류의 이온조절 및 삼투조절에 중요한 역할을 하며, 생리학 및 생화학적 기능에서 중요한 기능을 한다 (Valencia-Castañeda et al., 2020). Kim et al. (2022)은 juvenile hybrid groupers, *Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀에서 96시간 아질산 급성노출에 따른 calcium의 유의적인 감소를 보고하였으며, 이는 수인성 아질산 노출에 따른 실험어의 이온 조절 저해로 인한 것이라 주장하였다.

Azevedo et al. (2004)은 *O. niloticus*에서 48시간 아질산 급성 노출 후 회복하는 과정에서 magnesium의 유의적 감소를 보고하였으며, 이는 아질산의 노출이 신장 세노관의 Mg^{2+} 흡수 교란에 의한 것이라고 주장하였다. 본 연구에서 아질산 노출에 의한 *C. carpio*의 calcium은 유의적 증가를 나타내었으며, 이는 아질산 노출이 실험어의 혈장 이온 균형에 영향을 주었음을 의미한다. 반면 magnesium은 유의적 변화는 나타나지 않아, 아질산 노출에 따른 이온 조절 항상성은 어종 및 노출 시간에 따라 제한적으로 발생했을 것이라고 판단된다.

혈장 유기 성분인 glucose는 물질대사를 통해 에너지를 확보하여 항상성을 유지할 수 있으며, 독성 노출 시 에너지 요구량의 증가에 따른 glucose의 증가가 나타나며, 이로 인해 glucose는 스트레스 수준을 나타내는 지표로 이용된다(Hu et al., 2022). Kroupova et al. (2008)은 rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*에서 28일 아질산 만성 노출에 따른 glucose의 유의적 증가를 보고하였으며, 이는 아질산 노출이 실험어에게 독성으로 작용하여 이로 인한 에너지 증가에 의한 것이라고 주장하였다. Zhang et al. (2020) 역시 yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*에서 96시간 급성 아질산 노출에 의한 스트레스 반응으로 glucose의 유의적 증가를 보고하였다. Ciji et al. (2012)은 rohu, *Labeo rohita*에서 96시간 아질산 급성 노출에 따른 glucose의 유의적 증가를 보고하였으며, 이는 스트레스로 인한 glucose의 합성 및 glycogen의 분해로 인한 것이라고 주장하였다. 하지만, 본 연구에서 *C. carpio*의 혈장 glucose는 아질산 노출에 의해 유의적 변화는 나타나지 않았다.

혈장 cholesterol은 세포의 세포막에서 발견되는 지질 구조 성분으로, 각종 스테로이드 호르몬을 합성하는 데 중요한 역할을 하는 전구체이다(Kumar and Banerjee, 2016). Xu et al. (2022)은 large yellow croaker, *Larimichthys crocea*에서 48시간 아질산 급성 노출에 따른 cholesterol의 유의적인 감소를 보고하였으며, 이는 스테로이드 호르몬 합성을 억제하였을 수 있음을 시사하였다. Hu et al.(2022) 역시 Wuchang bream, *Megalobrama amblycephala*에서 96시간 아질산 노출에 따른 cholesterol의 유의적인

감소를 보고하였으며, 이는 외부 스트레스에 대한 저항력이 과도한 에너지 소비를 일으켰음을 의미하고, 이는 cholesterol의 수치를 감소시키는 원인이 될 수 있다고 주장하였다. 반면 Zhang et al. (2021)은 Chinese perch, *Siniperca chuatsi*에서 30일 동안 아질산 노출에 따른 cholesterol의 유의적 증가를 보고하였으며, 이는 혈류로 콜레스테롤이 방출되는 간 및 신장의 기능 장애에 의한 것이라 주장하였다. 본 연구에서 아질산 노출에 따른 *C. carpio*의 cholesterol은 유의적인 증가를 보였으며, 이는 아질산 노출이 실험어에게 항상성 교란을 초래했음을 의미하며, 지속적인 아질산의 노출은 수중 생물에게 고콜레스테롤혈증을 유발할 수 있음을 의미한다.

혈장 total protein은 혈관의 체액 누출을 방지하기 위한 삼투 평형 유지에 기여할 뿐만 아니라, 신장 및 간 질환과 같은 어류의 건강 상태를 나타낼 수 있는 중요한 지표로 사용된다(dos Santos Silva et al., 2018). 혈장 total protein은 어류가 스트레스 상황에 노출되었을 때, 생체 방어를 위한 면역 반응의 활성화를 위해 일시적으로 증가될 수 있으며, 이로 인한 에너지 소모로 건강 이상을 유발할 수 있다(Kanwal et al., 2019). dos et al. (2018)은 pacamã, *Lophiosilurus alexandri*에서 96시간 급성 아질산 노출에 의한 영향으로 total protein의 증가를 보고하였다. 본 연구에서 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 혈장 total protein은 유의적 증가를 보였다. 이는 아질산 노출로 인한 어류의 체내 면역력 반응의 증가를 위한 일시적인 증가에 따른 결과로 판단된다.

혈장 aspartate transaminase(AST), alanine transferase(ALT) 및 alkaline phosphatase(ALP)는 아미노산이나 단백질을 분해하는 간 효소로, 독성물질 노출에 대한 어류의 건강 상태를 평가할 수 있는 중요한 지표이다(Rashida et al., 2022). AST는 혈액 내 aspartate를 공급함으로써 어류의 호르몬 주기에 관여한다(Banaee et al., 2019). ALT는 간세포의 cytoplasm에서 pyruvic acid으로 전환되는 것을 촉매하여, mitochondria의 ATP 생성에 중요한 역할을 한다(Banaee et al., 2019). AST 및 ALT는 독성 물질 노출로 인해 세포 소기관에서의 소포체 및 막 수송

시스템에서의 교란이 발생하여 감소될 수 있다(Gaim et al., 2015). Malarvizhi et al. (2012)은 Carbamazepine(CBZ) 만성 노출의 영향으로 *C. carpio*의 아가미 및 간 조직에서 AST의 유의적인 감소를 보고하였으며, 이는 아가미와 간과 같은 어류의 주요 조직에 노출된 독성물질을 통해 체내의 항상성 교란이 일어난 것으로 판단된다. Banaee et al (2019)은 *C. carpio*에서 microplastic(MP)와 cadmium(Cd) 동시 노출에서 ALT의 유의적 감소를 보고하였으며, 이는 독성물질 노출이 간 기능 장애로 인해 세포에서의 ALT 합성을 감소시킬 수 있다고 주장하였다. 본 연구에서 96시간 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 AST 및 ALT는 유의적인 감소가 나타났으며, 이는 아질산의 독성에 따른 실험어의 세포 손상으로 인해 막 수송에서의 교란에 의한 것으로 판단된다. 혈장 ALP는 세포막에서 대사물의 수송에 관여하는 결합 효소로, 투과성 및 호르몬 수용체의 활성 조절에 관여한다(Ajani et al., 2011). 본 연구에서 96시간 아질산 노출에 따른 *C. carpio*의 ALP는 유의적 변화는 나타나지 않았으며, 이는 아질산 노출에 따른 실험어의 혈장 효소 성분은 독성물질 및 노출 시간에 따라 제한적으로 영향을 받았음을 의미한다. Jia et al. (2016)은 *S. maximus*에서 48시간 아질산 노출에 따른 ALP의 유의적 변화는 나타나지 않았다고 보고하였다. dos et al. (2018) 역시 pacman catfish, *Lophiosilurus alexandri*에서 96시간 아질산 노출에 따른 ALP는 유의적 변화는 나타나지 않았다고 보고하였다.

본 연구에서 수인성 아질산(> 400 mg NO₂⁻/L) 급성 노출은 *C. carpio*에 독성으로 작용하여 폐사를 유발하였으며, 96시간 수인성 아질산 급성 노출에 따른 *C. carpio*의 반수치사농도는 398.6 mg NO₂⁻/L로 나타났다. 또한 수인성 아질산 노출에 따른 *C. carpio*의 혈액 성상의 경우 hemoglobin, hematocrit, RBC count, MCV, MCH 및 MCHC에서 유의적 변화를 보였으며, 혈장 성분의 경우 calcium, cholesterol, total protein, AST 및 ALT에서 유의적 변화를 나타내었다. 본 연구의 결과는 영향 농도 이상(> 50 or 100 mg NO₂⁻/L)의 수인성 아질산 노출이 *C. carpio*의 생리학적 변화를 유발할 수 있으며, 한계 농도 이상에서는 대량 폐사를 유발하는 요인

으로 작용할 수 있음을 확인하였다. 하지만, 수인성 아질산의 독성은 수질 환경 조건에 따라 다르게 나타날 수 있기 때문에, 다양한 환경 조건에 의한 아질산 독성영향에 대한 추가적인 연구가 필요할 것이다.

사 사

이 성과는 2023년도 과학기술정보통신부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2022R1C1C1003858).

References

- Ajani, F., Emikpe, B.O. and Adeyemo, O.K.: Histopathological and Enzyme Changes in *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) Exposed to Nitrite at Different Water Temperatures. *Nature and Science.*, 9: 119-124, 2011.
- Atwood, H.L., Fontenot, Q.C., Tomasso J.R. and Isely, J.J.: Toxicity of nitrite to Nile tilapia: effect of fish size and environmental chloride. *N. Am. J. Aquac.*, 63: 49-51, 2001. [https://doi.org/10.1577/1548-8454\(2001\)063<0049:TONTNT>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8454(2001)063<0049:TONTNT>2.0.CO;2)
- Azevedo, M., Souza, M.M. and Freire, C.A.: Reversibility of deleterious effects of the pisciculture byproduct nitrite on cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquatic Living Resources.*, 17: 19-23, 2004. <https://doi.org/10.1051/alr:2004006>
- Avilez, I.M., Altran, A.E., Aguiar, L.H. and Moraes, G.: Hematological responses of the Neotropical teleost matrinxã (*Brycon cephalus*) to environmental nitrite. *Com. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 139: 135-139, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2004.10.001>
- Banaee, M., Akhlaghi, M., Soltanian, S., Gholamhosseini, A., Heidarieh, H. and Fereidouni, M.S.: Acute exposure to chlorpyrifos and glyphosate induces changes in hemolymph biochemical parameters in the crayfish, *Astacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823). *Com. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 222: 145-155, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.05.003>
- Banaee, M., Soltanian, S., Sureda, A., Gholamhosseini, A., Haghi, B.N., Akhlaghi, M. and Derikvand, A.: Evaluation of single and combined effects of cadmium and micro-plastic particles on biochemical and immunological parameters of common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere.*, 236: 124335, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.066>
- Brucka-Jastrzębska, E., and Protasowicki, M.: Effects of cadmium and nickel exposure on haematological parameters of common carp, *Cyprinus carpio* L. *Acta. Ichthyol. Piscat.*, 35: 29-38, 2005. <https://doi.org/10.3750/aip2005.35.1.04>
- Cheng, C.H., Su, Y.L., Ma, H.L., Deng, Y.Q., Feng, J., Chen, X.L. and Guo, Z.X.: Nitrite-induced oxidative stress, histopathology, and transcriptome changes in the mud crab (*Scylla paramamosain*). *Isr. J. Aquac.*, 71:1626-1637, 2019. <https://doi.org/10.46989/001c.20956>
- Ciji, A. and Akhtar, M.S.: Nitrite implications and its management strategies in aquaculture: A review. *Rev. Aquac.*, 12: 878-908, 2020. <https://doi.org/10.1111/raq.12354>
- Ciji, A., Sahu, N.P., Pal, A.K., Dasgupta, S. and Akhtar, M.S.: Alterations in serum electrolytes, antioxidative enzymes and haematological parameters of *Labeo rohita* on short-term exposure to sublethal dose of nitrite. *Fish. Physiol. Biochem.*, 38: 1355-1365, 2012. <https://doi.org/10.1007/s10695-012-9623-3>
- Das, P.C., Ayyappan, S., Jena, J.K. and Das, B.K.: Effect of sub-lethal nitrite toxicity on the hematological parameters of fingerlings of rohu, *Labeo rohita*(Ham.). *Indian journal of fisheries.*, 51: 287-294, 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. *Exp. Parasitol.*, 127: 418-422, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.09.009>
- de Sousa Miranda, D.H., Maltez, L.C., Santo Campello, M.E., Córdova, J.F.L., Rodrigues, R.V., Sampaio, L.A. and Okamoto, M.H.: Acute toxicity and sublethal effects of nitrite on oxidative stress in early juvenile Brazilian flounder, *Paralichthys orbignyanus*. *Aquac. Res.*, 53: 1939-1946, 2022. <https://doi.org/10.1111/are.15722>
- Doleželová, P., Mácová, S., Pištěková, V., Svobodová, Z., Bedáňová, I. and Voslářová, E.: Nitrite toxicity assessment in *Danio rerio* and *Poecilia reticulata*. *Acta. Vet. Brno.*, 80: 309-312, 2011. <https://doi.org/10.2754/avb201180030309>

- dos Santos Silva, M.J., da Costa, F.F.B., Leme, F.P., Takata, R., Costa, D.C., Mattioli, C.C., Luz, R.K. and Miranda-Filho, K.C.: Biological responses of Neotropical freshwater fish *Lophosilurus alexandri* exposed to ammonia and nitrite. *Sci. Total. Environ.*, 616: 1566-1575, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.157>
- Gaim, K., Gebru, G. and Abba, S.: The effect of arsenic on liver tissue of experimental animals (fishes and mice) – a review article. *International Journal of Scientific and Research Publications.*, 5: 1-9, 2015.
- Gutiérrez, X.A., Kolarevic, J., Takle, H., Baeverfjord, G., Ytteborg, E. and Fyhn Terjesen, B.: Effects of chronic sub-lethal nitrite exposure at high water chloride concentration on Atlantic salmon (*Salmo salar*, Linnaeus 1758) parr. *Aquac. Res.*, 50: 2687-2697, 2019. <https://doi.org/10.1111/are.14226>
- Hu, Z., Qi, C., Lin, C. and Tang, R.: Nitrite Stress Induces Oxidative Stress and Leads to Muscle Quality Decreased in Wuchang Bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) Juveniles. *Water.*, 14: 160, 2022. <https://doi.org/10.3390/w14020160>
- 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. *Com. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 181: 40-46, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.01.002>
- Jeong, J.H., Eun, J.S., Joo, C.H., Jo, A.H., Hong, S.M. and Kim, J.H.: Effects on lethal concentration 50%, hematological parameters and plasma components of mirror carp, *Cyprinus carpio* nudus exposed to waterborne ammonia. *Journal of Fish Pathology.*, 35: 65-75, 2022. <http://dx.doi.org/10.7847/jfp.2022.35.1.065>
- Kanwal, Z., Raza, M.A., Manzoor, F., Riaz, S., Jabeen, G., Fatima, S. and Naseem, S.: A comparative assessment of nanotoxicity induced by metal (silver, nickel) and metal oxide (cobalt, chromium) nanoparticles in *Labeo rohita*. *Nanomaterials.*, 9: 309, 2019. <https://doi.org/10.3390/nano9020309>
- Kim, J.H., Kang, Y.J. and Lee, K.M.: Effects of Nitrite Exposure on the Hematological Properties, Antioxidant and Stress Responses of Juvenile Hybrid Groupers, *Epinephelus lanceolatus* ♂ × *Epinephelus fuscoguttatus* ♀. *Antioxidants.*, 11: 545, 2022. <https://doi.org/10.3390/antiox11030545>
- Kir, M., Topuz, H., Sunar, M.C., Topuz, M.: Effect of temperature on acute toxicity of nitrite to meagre, *Argyrosomus regius* (Asso, 1801). *Journal of the World Aquaculture Society.*, 46: 564-568, 2015. <https://doi.org/10.1111/jwas.12214>
- Kocour Kroupová, H., Valentová, O., Svobodová, Z., Šauer, P. and Máchová, J.: Toxic effects of nitrite on freshwater organisms: a review. *Rev. Aquac.*, 10: 525-542, 2018. <https://doi.org/10.1111/raq.12184>
- 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*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 71: 813-820, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.01.015>
- Kumar, R. and Banerjee, T.K.: Arsenic induced hematological and biochemical responses in nutritionally important catfish *Clarias batrachus* (L.). *Toxicol. Rep.*, 3: 148-152, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.01.001>
- 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*. *Aquat. Toxicol.*, 118: 48-53, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2012.03.011>
- Machat, R., Pojezdal, L., Piackova, V. and Faldyna, M.: Carp edema virus and immune response in carp (*Cyprinus carpio*): Current knowledge. *J. Fish. Dis.*, 44: 371-378, 2021. <https://doi.org/10.1111/jfd.13335>
- Lek, S., U.t, 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735060>
- Lin, Y., Miao, L.H., Pan, W.J., Huang, X., Dengu, J.M., Zhang, W.X., Ge, X.P., Liu, B., Ren, M.C., Zhou, Q.L., Xie, J., Pan, L.K. 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. Immunol.*, 76: 126-132, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.02.015>
- Madison, B.N. and Wang, Y.S.: Haematological responses of acute nitrite exposure in walleye (*Sander vitreus*). *Aquat. Toxicol.*, 79: 16-23, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2006.04.011>
- 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*. *J. King. Saud. Univ. Sci.*, 24: 179-186, 2012.

- <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2011.01.001>
- Molayemraftar, T., Peyghan, R., Jalali, M.R. and Shahriari, A.: Single and combined effects of ammonia and nitrite on common carp, *Cyprinus carpio*: Toxicity, hematological parameters, antioxidant defenses, acetylcholinesterase, and acid phosphatase activities. *Aquaculture.*, 548: 737676, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737676>
- Rahman, M.M.: Role of common carp (*Cyprinus carpio*) in aquaculture production systems. *Front. Life. Sci.*, 8: 399-410, 2015. <https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1045629>
- Rashida, Y., Jehu, A., Sallau, B. and Balarebe, M.L.: Sublethal toxicity of glyphosate and propanil on some biochemical parameters in juveniles of freshwater catfish, *Clarias gariepinus* (Teugels, 1986). *Int. J. Fish. Aquat. Stud.*, 10: 40-45, 2022. <https://doi.org/10.33545/26649926.2022.v4.i1b.94>
- Rodgers, E.M. and De Boeck, G.: Nitrite-induced reductions in heat tolerance are independent of aerobic scope in a freshwater teleost. *J. Exp. Biol.*, 222: jeb212035, 2019. <https://doi.org/10.1242/jeb.212035>
- Sohn, S.G., Lee, Y.S., Kim, K.W., Lee, H.N., Lee, J.Y. and Back, S.J.: Acute Toxicity of Nitrite on Juvenile Banded Catfish (*Pseudobagrus fulvidraco*). *Journal of Fisheries and Marine Sciences Education.*, 27: 41-48, 2015. <http://dx.doi.org/10.13000/JFMSE.2015.27.1.41>
- Saoud, P., Naamani, S., Ghanawi, J. and Nasser, N.: Effects of acute and chronic nitrite exposure on rabbitfish *Siganus rivulatus* growth, hematological parameters, and gill histology. *J. Aquac. Res. Dev.*, 5, 2014. <https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000263>
- Svobodová, Z., Máchová, J., Drastichová, J., Groch, L., Lusková, V., Poleszczuk G., Velíšek, J. and Kroupová, H.: Haematological and biochemical profiles of carp blood following nitrite exposure at different concentrations of chloride. *Aquac. Res.*, 36: 1177-1184, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01334.x>
- Valencia-Castañeda, G., Frías-Espericueta, M.G., Vanegas-Pérez, R.C., Chávez-Sánchez, M.C. and Páez-Osuna, F.: Physiological changes in the hemolymph of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* to sublethal nitrite and nitrate stress in low-salinity waters. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 80: 103472, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2020.103472>
- Xu, Z., Zhang, H., Guo, M., Fang, D., Mei, J. and Xie, J.: Analysis of Acute Nitrite Exposure on Physiological Stress Response, Oxidative Stress, Gill Tissue Morphology and Immune Response of Large Yellow Croaker (*Larimichthys crocea*). *Animals.*, 12: 1791, 2022. <https://doi.org/10.3390/ani12141791>
- Yaqoob, S.: A Review of Structure, Origin, Purpose & Impact of Common Carp (*Cyprinus carpio*) in India. *Ann. Rom. Soc. Cell. Biol.*, 25: 34-47, 2021.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736123>
- Zhang, H., Fang, D., Mei, J., Xie, J. and Qiu, W.: A Preliminary Study on the Effects of Nitrite Exposure on Hematological Parameters, Oxidative Stress, and Immune-Related Responses in Pearl Gentian Grouper. *Fishes.*, 7: 235, 2022. <https://doi.org/10.3390/fishes7050235>
- 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*). *Com. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, 238: 108867, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2020.108867>

Manuscript Received : Oct 23 2023

Revised : Nov 13 2023

Accepted : Nov 16 2023