

잉어, *Cyprinus carpio* 에 미치는 암모니아 急性毒性的 組織病理學的 研究

梁 漢 春 · 田 世 圭
麗水水産專門大學 養殖學科 釜山水産大學 養殖學科
(1986년 2월 25일 수리)

Histopathological Study of Acute Toxicity of Ammonia on Common Carp, *Cyprinus carpio*

Han Choon YANG

Department of Aquaculture, National Yösu Junior Fisheries College Yösu 542, Korea

and

Seh Kyu CHUN

Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan, Nam-gu, Pusan 608, Korea

(Received February 25, 1986)

The carp (*Cyprinus carpio*) used in the experiment were hatched in the spring this year and reared to 5.96 g (4.84~6.55 g) in mean weight in a nursery pond at Daeyon fish farm, Pusan, Korea. The sample fish were exposed to different conditions of total ammonia (TA-N) concentrations 10, 20 and 30 ppm and pH 6.5, 7.0, 7.5 and 8.0 at water temperatures 20, 25 and 30°C for 24, 48 and 72 hours. After the procedure, the gill, liver and kidney of the fish were examined histopathologically.

In this experiment, with the rise of water temperature, increase of pH and ammonia concentration, and the extension of exposure time the three organs showed the tendency of apparent abnormal changes such as hypertrophy and necrosis in their tissues. At 20°C of water temperature gill tissue did not show any abnormality regardless of the change of pH at 10 ppm of ammonia concentration for 24 hours of exposure, but beyond the conditions given above, there occurred hypertrophy and the epithelium of gill lamellae was detached.

The detach of gill lamellae epithelium initiated from the proximal part of the gill lamellae then gradually spread toward the uppermost tip.

The heavier vacuolation of the liver was observed with the rise of water temperature and pH, and such morbid state in the liver was considered to be the result of edema in the liver tissue. The kidney showed no damage to the renal tubule epithelium at pH 6.5, but it was damaged at pH 8.0 when exposed to 30 ppm ammonia at 20°C for 24 hours.

緒 論

魚類를 高密度로 飼育하면 窒素化合物이 主가 되는 魚類의 排泄物인 암모니아 때문에 生産이 減少되

고 疾病이 發生되는 要因으로 推定된다. 無機態窒素의 水中 蓄積은 溶存酸素量의 低下와 함께 成長이 되지 않는 要因이 되고(山形等, 1975), 암모니아 毒性이 가장 크게 作用하는 것은 ion化되지 않는 암

모니아型이고 ion 化된 것은 無毒하며 pH와 水溫이 上昇하면 ion 化 되지 않은 ion 암모니아 量도 따라서 增加한다(Trussel, 1972; Dower와 Bidwell, 1978; Tomasso 등, 1980; Yamagata와 Niwa, 1982). 魚類에 관한 암모니아 毒性은 廣範圍하게 研究되고 있다. 急性毒性에 관한 研究로는 cutthroat trout *Salmo clarki* (Thurston과 Russo, 1978), rainbow trout *Salmo gairdneri* (Burkhalter와 Kaya, 1977; Hillaby와 Randll, 1979; Soderberg 등, 1983; Thurston 등, 1981; Thurston와 Russo, 1983), eel *Anguilla japonica* (Yamagata와 Niwa, 1982), fathead minnow *Pimephales promelus* (Thurston 등, 1983) 및 channel catfish *Ictalurus punctatus* (Colt와 Tchobanoglous, 1976; Knepp와 Ankin, 1973)에 對하여 報告된바 있고, Thurston 등 (1984)은 무지개송어의 慢性的인 毒性에 關해서 研究한바 있다. Smart (1976), Thurston과 Russo (1978)는 魚類를 암모니아에 半致死狀態로 露出시켜 아가미와 腎臟이 損傷된 退行性組織에 關해서 報告했고 Yamagata와 Niwa (1982), Colt와 Tchobanoglous (1978) 및 Holt와 Arnold (1983)는 成長率의 減少에 關해서 報告했다. 이와 같이 魚類들에 미치는 암모니아 毒性은 一律적으로 나타나지 않고 反應하는 程度가 種類에 따라 各各 다르다는 것은 잘 알려진 事實이다. 또한 Yamagata와 Niwa (1982)는 뱀장어에 대한 암모니아 急性 및 慢性毒性試驗에서 飼育水中에 암모니아가 增加함으로써 組織變化가 일어나고 成長에 障害을 받게 된다는 것을 組織病理學的으로 研究해서 報告했다.

本 研究에서는 養魚用水中の 암모니아 許容限界를 밝히기 위해서 암모니아 毒性이 飼育水の 溫度, pH, 암모니아 濃度 및 露出時間에 따라 잉어(*Cyprinus carpio*)에 미치는 影響을 組織病理學的으로 觀察하였다.

材料 및 方法

試料 잉어는 釜山 大淵養魚場에서 孵化시킨 平均 體重 5.96 g (4.84~6.55 g)인 當年生 稚魚이고 實驗 水槽는 10 l (30×15×15 cm)들이 4角水槽에 試水 9 l를 채웠다. 試水는 麗水水産專門大學 構內에서 養魚用水로 쓰고 있는 地下水이고 水槽에는 空氣를 充分히 注入하여 酸素가 5~6 ppm으로 維持되게 했다. 供試魚는 實驗始作 36時間前부터 絶食을 시켰고 水槽에 試魚 10尾씩을 收容하고 逃避防止와 試魚의 安定을 위해서 水槽위에 검정색 비닐을 덮어 주었다.

암모니아 濃度を 調節하는 試藥은 염화암모늄 (NH₄Cl)을 使用했다.

實驗方法은 水溫 20, 25 및 30°C와 pH 6.5, 7.0, 7.5 및 8.0의 條件에서 암모니아 濃度を 各各 10, 20 및 30 ppm으로 維持하면서 24, 48 및 72時間마다 1個 實驗區 水槽에서 3尾씩을 麻醉시켜 解剖하고 아가미, 肝 및 腎臟을 切取하여 Bouin液에 固定했다.

pH의 調節은 0.01 M 제1인산칼륨(KH₂PO₄)과 0.01 M 중탄산나트륨(NaHCO₃)을 緩衝液으로 使用했고 암모니아 濃도와 pH를 一定하게 維持하기 爲해서 24時間마다 換水하여 주었는데 換수로 쓰인 물은 使用 24時間前에 緩衝液을 만들고 pH를 調節하여 24時間 동안 水質을 安定시키기 위해서 空氣를 注入하여 酸素가 5~6 ppm으로 維持되게 하였으며 實驗魚를 投入하기 直前に 規定量의 암모니아 溶液을 各 水槽別로 添加하여 암모니아 濃度を 調節하였다. 水溫은 加熱器와 溫度調節器를 使用하여 一定하게 維持시켰다. pH의 測定은 電極 pH meter(model HM-5 A)로 했고 水溫은 水銀溫度計로 測定했으며 總암모니아 量의 檢討는 Nessler試藥法으로 했다. Bouin液에 固定시킨 試料는 常法에 따라 4 μm의 paraffin切片을 만들어 Hematoxyline-Eosin染色을 한 組織標本을 比較觀察했다.

結 果

암모니아 濃度, pH 및 水溫 등의 各 條件下에서 잉어稚魚(平均體重 5.96 g)를 사료를 주지않고 飼育하면서 24, 48 및 72時間마다 아가미, 肝 및 腎臟을 解剖하여 組織病理學的으로 觀察한 結果(Table 1, 2, 3), 아가미, 肝 및 腎臟에 나타난 組織變化는 어느 條件에서나 pH와 水溫이 높고 암모니아 濃도가 增加함에 따라 또 암모니아의 露出時間이 길어짐에 따라 組織의 異常肥大나 崩壞가 增加하는 傾向이 뚜렷하였다.

아가미(Table 1)는 水溫 20°C 때 암모니아 10 ppm 濃度の 24時間 露出區에서만 正常組織이 보였고 그 以外의 實驗區에서는 組織이 異常肥大되었다(Fig. 1-b). pH 7.5 및 8.0에서의 암모니아 30 ppm 濃度區에서는 露出時間이나 水溫에 關係없이 鰓葉表皮의 分離가 심하게 나타났다. 水溫 25°C에서는 pH 7.5의 48 및 72時間 露出區에서 各各 鰓葉崩壞가 보였고 30°C에서는 全 實驗區에서 鰓葉의 表皮分離를 隨伴했으며 pH 8.0의 72時間 露出區에서는 鰓葉의 崩壞가 두드러졌다(Fig. 1-f). 그리고 아가미組織의 암모니아 變性에서 흔히 볼 수 있는 血栓은 약간 그



Fig. 1 Photomicrograph illustrating the change of the gill of common carp ($\times 200$, H-E stain).

- a. Normal gill tissues of common carp (control)
- b. Hypertrophy of the epithelium of gill lamellae when exposed to 10 ppm TA-N for 48 hours at 20°C and pH 7.5
- c. Edematous detach of the epithelium of the gill lamellae initiating from the proximal part of the lamellae, when exposed to 30 ppm TA-N for 48 hours at 20°C and pH 7.0
- d. Edematous detach of the epithelium which has spread toward the uppermost tip of the gill lamellae, when exposed to 30 ppm TA-N for 24 hours at 30°C and pH 8.0
- e. Most epithelium cells detached and some already disappeared, when exposed to 20 ppm TA-N for 72 hours at 25°C and pH 7.5
- f. Gill lamellae heavily damaged, when exposed to 30 ppm TA-N for 72 hours at 30°C and pH 8.0

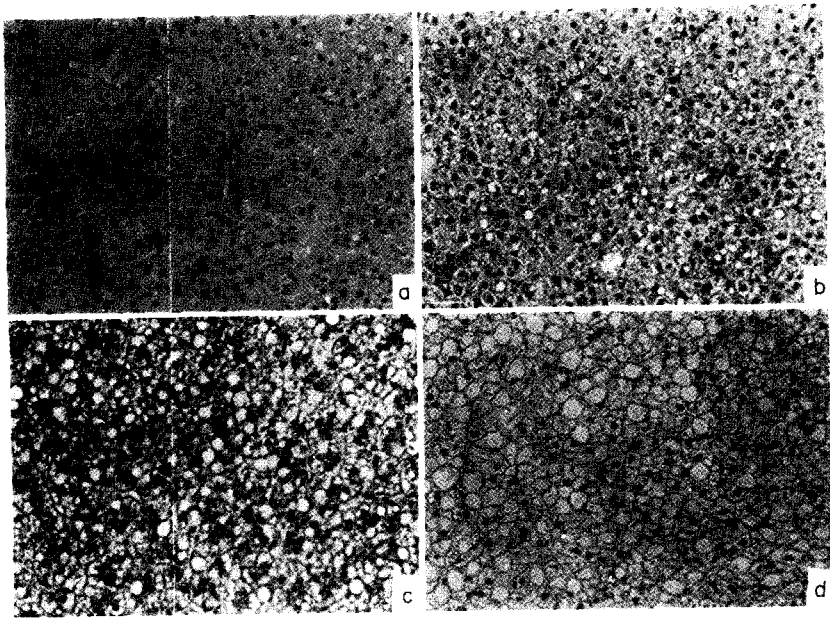


Fig. 2. Photomicrograph illustrating the change of the liver of the common carp ($\times 200$, H-E stain)
a. Normal liver tissues of common carp (control)
b. Edematous tissues, when exposed to 20 ppm TA-N for 48 hours at 25°C and pH 7.0
c. Increase of vacuolation, when exposed to 30 ppm TA-N for 48 hours at 25°C and pH 8.0
d. Necrotic tissues, when exposed to 30 ppm TA-N for 72 hours at 30°C and pH 8.0

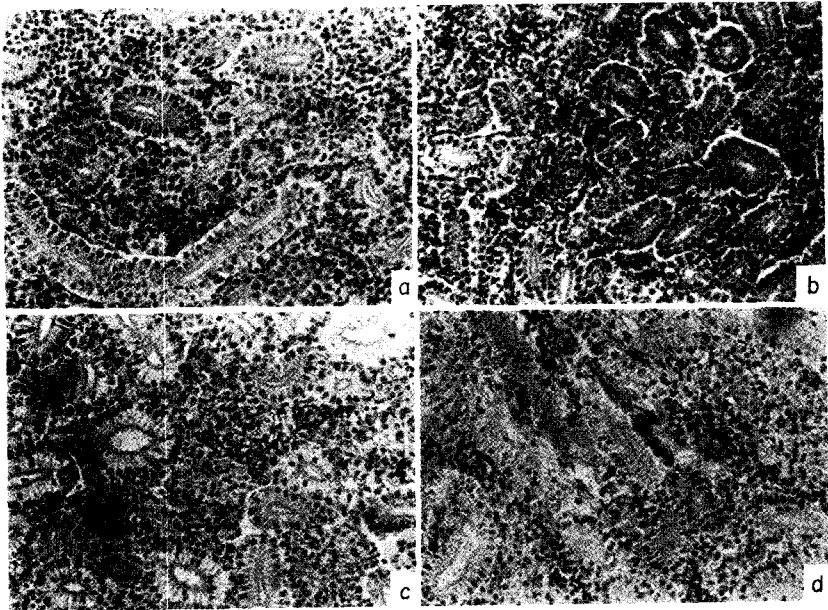


Fig. 3. Photomicrograph illustrating the change of the kidney of common carp ($\times 200$, H-E stain)
a. Normal kidney tissues of common carp (control)
b. Degenerated hyaline droplet of renal tubules, when exposed to 20 ppm TA-N for 72 hours at 20°C and pH 7.5
c. Mild damage of renal tubule cells, when exposed to 30 ppm TA-N for 24 hours at 20°C and pH 8.0
d. Severe damage of renal tubule cells, when exposed to 30 ppm TA-N for 48 hours at 30°C and pH 8.0

Table 1. Influence of water temperature and pH on the acute toxicity of total ammonia (TA-N) to the gill of common carp

Temperature (°C)		20									25									30									
Exposure (hrs)		24			48			72			24			48			72			24			48			72			
TA-N (ppm)		10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	
pH	6.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	7.0	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	7.5	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	○	+	+	○	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	8.0	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	○

- : no change, + : mild hypertrophy, ++ : slight detach of epithelium of gill lamellae, +++ : severe detach of epithelium of gill lamellae, ○ : severely damaged epithelium of gill lamellae

Table 2. Influence of water temperature and pH on the acute toxicity of total ammonia (TA-N) to the liver of common carp

Temperature (°C)		20									25									30									
Exposure (hrs)		24			48			72			24			48			72			24			48			72			
TA-N (ppm)		10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	
pH	6.5	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	7.0	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	7.5	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	8.0	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- : no change, + : mild edematous, ++ : slight vacuolation, +++ : severe vacuolation, ○ : necrotic tissues

Table 3. Influence of water temperature and pH on the acute toxicity of total ammonia (TA-N) to the kidney of common carp

Temperature (°C)		20									25									30								
Exposure (hrs)		24			48			72			24			48			72			24			48			72		
TA-N (ppm)		10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30	10	20	30
pH	6.5	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	7.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	○
	7.5	-	+	+	+	+	+	+	+	○	+	+	+	+	○	○	+	○	○	+	+	+	+	+	+	○	○	○
	8.0	-	+	○	+	+	○	+	○	○	+	+	○	+	○	○	+	○	○	+	+	○	○	○	○	○	○	○

- : no change, + : mild swelling, ++ : slight hyaline droplet, +++ : severe hyaline droplet, ○ : damage of epithelium of renal tubules

徵候가 보일 뿐이었고, 鰓葉의 表皮分離는 初期에는 鰓葉의 基底部에서만 나타났고(Fig. 1-c), 激甚해짐에 따라 鰓葉의 先端部에까지 表皮分離가 波及되었었다(Fig. 1-d).

肝(Table 2)은 水溫 20°C에서 24時間 露出시킨 것은 거의 正常이었고 水溫 20°C의 48時間 露出區와

25°C의 24時間 露出區의 암모니아 10 ppm 濃度區에서도 거의 正常을 維持하였으나 그 以上の 實驗區에서는 異常肥大, 空胞 및 組織崩壞가 있었다. 水溫 30°C의 pH 7.5 및 8.0 實驗區에서는 全 實驗區의 肝組織에 空胞變性이 나타났고 pH 8.0 實驗區는 空胞變性이 激甚해지고 組織崩壞도 이 區에서만 나타

났다(Fig. 2-d). 그리고 肝組織의 變化는 肥大된 組織(Fig. 2-b) 이 암모니아 濃度의 增加와 露出時間이 길어짐에 따라 空胞化가 增大되었다(Fig. 2-c).

腎臟(Table 3)은 水溫 20°C 에서 pH 6.5의 24時間 露出區의 암모니아 10 ppm 濃度區에서는 正常組織이 있었으나 水溫과 pH가 높아짐에 따라 細尿管上皮細胞가 肥大되고 이어서 細尿管內部에 水晶體가 생기며, 더 激甚해지면 細尿管上皮細胞와 腎臟組織 사이에도 龜裂이 생기고 細尿管自體가 完全히 組織에서 分離됐다(Fig. 3-b). 細尿管上皮細胞의 崩壞는 pH 6.5에서는 全 實驗區에서 나타나지 않았고 pH 8.0에서는 水溫 20°C 의 30 ppm 濃度區의 24時間 露出示킨 것에서 細尿管上皮細胞의 崩壞가 일어났고(Fig. 3-c) 水溫 25°C 와 30°C 에서는 露出時間에 關係없이 崩壞되었다(Fig. 3-d).

考 察

本 研究는 低濃度의 암모니아 毒性이 飼育中인 魚類의 아가미, 肝 및 腎臟組織에 미치는 組織病理學的 變化를 調査한 것이며 이러한 암모니아의 毒性 効果는 다른 研究者에 의해서도 形態가 調査되었다(Kubota 等, 1982; 山形와 丹羽, 1979; Yamagata 와 Niwa, 1982; Thurston 과 Russo, 1978, Thurston 等, 1984; Wedemeyer 와 Yasutake, 1978). 잉어는 環境에 대한 抵抗力이 鰻장어에 못지않게 강하다는 것은 잘 알려져 있으나 암모니아에 대한 TL_m 値 調査는 없고 잉어科의 fathead minnow의 96 hr-TL_m 은 34~108 mg/l NH₃·N (Thurston 과 Russo, 1983), channel catfish의 24 hr-TL_m 은 pH 7.0에서는 263±11.3, pH 8.0에서는 38.8±1.8 mg/l NH₃·N (Tomasso 等, 1980)로서 本 研究에 쓰인 암모니아 濃度는 이들 致死濃度에 비하여도 아주 낮았고 72時間 동안 암모니아 實驗水中에 露出示킨 後의 잉어稚魚의 活力은 棼 좋았으며 實驗中이 斃死魚는 없었다.

아가미組織은 水溫 20°C 의 pH 7.0 이상의 암모니아 10 ppm 濃度區에서 24時間 露出示킨 것에서만 正常的인 아가미를 볼 수 있었고 다른 實驗區에서는 異常肥大現象이 생기기 始作했고 그 程度가 심해짐에 따라 鰓葉表皮의 分離가 일어났고 더욱 심해진 것은 鰓葉表皮의 剝離가 일어나는 것 같았다(Fig. 1-d, e). 아가미의 異常肥大는 심하지 않으면서도 鰓葉表皮의 分離가 일어난 것은 鰓葉의 基部에서만 볼 수 있었고 水溫, pH, 암모니아濃度 등이 높아지고 암모니아 實驗水에 露出示키는 時間이 길어짐에

따라 表皮分離가 鰓葉의 先端部에까지 擴大되어가는 것을 確認할 수 있었다. Thurston 과 Russo(1978)은 cutthroat trout를 21.4 mg/l NH₃·N(0.34 mg/l NH₃) 濃度에서 29日동안 飼育하였더니 아가미 表皮가 鰓葉으로부터 分離되었고 浮腫이 생겼다고 했다. Thurston 等(1984)은 아가미에 障害가 생긴 結果, 鰓葉을 通過해서 들어오는 酸素가 줄어들고 또 細菌性感染症에 걸리기 쉽게 되며 特히 孵化場에서 암모니아 濃度가 增加되면 細菌性 아가미病에 敏感해진다고 했다. 本 實驗에서의 鰓葉의 基部에서만 나타난 것과 같은 表皮分離現象만으로도 細菌感染에 敏感해질 것이고 酸素供給量이 減少됨으로써 成長障害要因이 될 것이라고 推定된다.

肝組織은 水溫 30°C 의 pH 8.0 實驗區에서는 空胞變性이 激烈하고, 암모니아 30 ppm 濃度에서 72時間 露出示킨 것은 崩壞된 組織이 생겼으나, 水溫과 pH가 낮아짐에 따라 組織의 變化가 줄어들었다. 山形와 丹羽(1979)는 水溫 24~27°C 에서 鰻장어를 370~490 mg/l NO₂·N 濃度에 48時間 露出示켜 鰓類洞 등이 擴張되는 것을 確認했고 Yamagata 와 Niwa (1982)는 水溫 25°C 의 pH 7.0에서 鰻장어를 80 mg/l NH₃·N 에 96時間 露出示킨 肝에서 空胞가 생긴다고 했다. 本 實驗에서 생긴 空胞는 異常肥大된 肝組織이 水腫化됨으로써 組織사이에 물집이 고였던 것이 組織標本에 그대로의 形態가 나타난 것이라고 推定된다.

pH 7.0 이상에서는 pH가 높아짐에 따라 NH₃·N의 毒性이 強해지고 (Amend 等, 1982; Yamagata 와 Niwa, 1982), Thurston 과 Russo (1983)는 무지개송어를 대상으로 한 NH₃·N의 93 hr-TL_m 實驗에서, 低水溫에서보다 高水溫에서 암모니아 毒性이 增大된다고 했다. 本 實驗에서는 가장 敏感하게 암모니아의 毒性에 反應한 것은 아가미와 腎臟이었다고 보며 特히 腎臟은 암모니아 濃度和 pH가 높아지거나, 또 低水溫에서 보다 高水溫에서 異常肥大와 細尿管에 水晶體가 두드러지게 擴大되고 細尿管上皮細胞의 崩壞가 심해진 것을 볼 수 있었다.

要 約

암모니아 濃度 10, 20 및 30 ppm, pH 6.5, 7.0 및 8.0의 條件下에서 水溫 20, 25 및 30°C 로 各各 維持하고 잉어 當年生稚魚(平均體重 5.96 g)를 24, 48 및 72時間 露出示켜 아가미, 肝 및 腎臟의 組織病理學的인 觀察을 했다.

1. 아가미, 肝 및 腎臟의 組織變化는 pH 및 水溫

이 높고 암모니아 濃度가 增加되고, 露出時間이 길어짐에 따라 組織의 異常肥大나 崩壞가 增大하는 傾向이 뚜렷했다.

2. 아가미는 水溫 20°C에서 pH 7.0이상의 암모니아 30 ppm 濃度區에서 24時間 露出し킨 것에서는 鰓葉의 表皮分離가 생기기 始作했고, pH 7.5 및 8.0에서는 암모니아 30 ppm 濃度區의 72時間 露出し킨 것은 水溫에 關係없이 鰓葉表皮의 分離가 심해졌다.

3. 鰓葉表皮의 分離는 鰓葉의 基部에서부터 進行되었고 激烈해짐에 따라 鰓葉의 先端部에까지 擴大되었다.

4. 肝은 水溫 20°C에서 pH 8.0, 암모니아濃度 30 ppm 및 49時間 露出區에서 組織에 空胞가 나타나기 始作했고, 肝臟의 空胞는 肝組織中에 생긴 水腫化의 結果라고 본다.

5. 腎臟은 pH 6.5에서는 細尿管上皮細胞의 崩壞는 없었고, pH 8.0에서는 水溫 20°C, 암모니아 30 ppm 濃度에서 24時間 露出し킨 것에서도 細尿管上皮細胞의 崩壞가 일어나기 始作했다.

文 獻

- Amend, D. F., T. R. Croy, B. A. Goven, K. A. Johnson and D. H. Mccarthy, 1982. Transportation of fish in closed systems; Methods to control ammonia, carbon dioxide, pH and bacterial growth. Trans. Am. Fish. Soc., 111, 605—611.
- Burkhalter, D. E., and C. M. Kaya, 1977. Effects of prolonged exposure to ammonia on fertilized eggs and sac fry of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Trans. Am. Fish. Soc., 106, 470—475.
- Colt, J., and G. Tchobanoglous, 1976. Evaluation of the shortterm toxicity of nitrogenous compounds to channel catfish, *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 8, 209—224.
- Colt, J., and G. Tchobanoglous, 1978. Chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus* to ammonia: Effects on growth and survival. Aquaculture, 15, 353—372.
- Dower, C. E., and J. P. Bidwell, 1978. Ionization of ammonia in seawater of temperature, pH and salinity. J. Fish. Res. Board Can., 35, 1012—1016.
- Hillaby, B. A., and D. J. Randall, 1979. Acute ammonia toxicity and ammonia excretion in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish. Res. Board Can., 36, 621—629.
- Holt, G. J., and C. R. Arnold, 1983. Effects of ammonia and nitrite on growth and survival of red-drum eggs and larvae. Trans. Am. Fish. Soc., 112, 314—318.
- Knepp, G. L., and G. F. Ankin, 1973. Ammonia toxicity level and nitrite tolerance of channel catfish. Progr. Fishcult., 35, 221—224.
- Kubota, S., H. Amano, M. Ichioka, T. Miyazaki and M. Niwa. 1981. Methemoglobinemia in Japanese Eel. Bull. Fac. Fish., Mie Univ., 8, 149—161.
- Kubota, S., H. Amano, T. Miyazaki, N. Kamiya and M. Ichioka. 1982. Studies on Experimentally occurred Methemoglobinemia in Japanese Eel-I. Bull. Fac. Fish. Mie Univ., 9, 135—153.
- Smart, G. R. 1976. The effect of ammonia exposure on gill structure of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). J. Fish Biol., 8, 471—475.
- Soderberg, R. W., J. B. Flynn, and H. R. Schmittou, 1983. Effects of ammonia on growth and survival of rainbow trout in intensive static-water culture. Trans. Am. Fish. Soc., 112, 448—451.
- Thurston, R. V., and R. C. Russo. 1978. Acute toxicity of ammonia and nitrite to cutthroat trout fry. Trans. Am. Fish. Soc., 107, 361—368.
- Thurston, R. V., G. R. Phillips, R. C. Russo, and S. M. Hinkins, 1981. Increased toxicity of ammonia to rainbow trout (*Salmo gairdneri*) resulting from reduced concentration of dissolved oxygen. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 38, 983—988.
- Thurston, R. V., and R. C. Russo. 1983. Acute toxicity of ammonia to rainbow trout. Trans. Am. Fish. Soc., 112, 696—704.
- Thurston, R. V., R. C. Russo, and G. R. Phillips, 1983. Acute toxicity of ammonia to fathead

- minnows. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 112, 705—711.
- Thurston, R. V., R. C. Russo, R. J. Luedtke, C. E. Smith, E. L. Meyn, C. Chakoumakos, K. C. Wang, and C. J. D. Brown. 1984. Chronic toxicity of ammonia to rainbow trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 113, 56—73.
- Tomasso, J. R., C. A. Goudim B. A. Simco, and K. B. Davis, 1980. Effects of environmental pH and calcium on ammonia toxicity in channel catfish, *Trans. Am. Fish. Soc.*, 109, 229—234.
- Trussell, R. P. 1972. The percent un-ionized ammonia in aqueous ammonia solution at different pH levels and temperature. *J. Fish. Res. Board. Can.*, 29, 1505—1507.
- Wedemeyer, G. A., and W. T. Yasutake. 1978. Prevention and treatment of nitrite toxicity in juvenile steelhead trout (*Salmo gairdneri*). *J. Fish. Res. Board Can.*, 35, 822—827.
- 山形陽一・丹羽 誠・山本光明, 1975. 循環濾過式飼育池におけるウナギ養殖實態調査, 1975年度三重縣内水面水試年報, 63—83.
- 山形陽一・丹羽 誠, 1979. 亞硝酸のウナギに對する毒について. *水産増殖*, 27(1), 5—11.
- Yamagata, Y. and M. Niwa, 1982. Acute and chronic toxicity of ammonia to eels *Anguilla japonica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 48(2), 171—176.