

〈Original article〉

## 바이오플락 및 일반 해수에서 질산염의 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)에 미치는 급성 독성 및 혈액학적 성상의 변화

배선희 · 김기욱 · 김수경 · 김수경 · 김종현 · 김준환\*

국립수산과학원 서해수산연구소

## Lethal Toxicity and Hematological Changes Exposed to Nitrate in Flatfish, *Paralichthys olivaceus* in Biofloc and Seawater

Sun-Hye Bae, Ki Wook Kim, Su Kyoung Kim, Su-Kyoung Kim,  
Jong-Hyun Kim and Jun-Hwan Kim\*

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

**Abstract** - Juvenile *Paralichthys olivaceus* (mean length  $19.8 \pm 2.6$  cm, mean weight  $97.8 \pm 15.8$  g) were exposed for 96 hours to different nitrate concentrations of 0, 62.5, 125, 250, 500, 1,000, and 1,500 mg L<sup>-1</sup> in biofloc and 0, 62.5, 125, 250, 500, and 1,000 mg L<sup>-1</sup> in seawater. Median lethal concentration values (LC<sub>50</sub>, the concentration at which 50% of mortality occurred after 96 hours of exposure) of nitrate to *P. olivaceus* in biofloc and seawater were 1,226 and 597 mg NO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> ( $P < 0.05$ ), respectively, revealing a higher toxicity of nitrate to *P. olivaceus* in seawater than in biofloc. In hematological parameters, hematocrit level in *P. olivaceus* exposed to nitrate was significantly increased only at a concentration of 1,000 mg L<sup>-1</sup> in biofloc and at concentrations higher than 250 mg L<sup>-1</sup> in seawater, but no significant changes in hemoglobin were found in biofloc and seawater. In plasma parameters, aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were significantly increased by nitrate exposure in biofloc and seawater, but no significant changes in alkaline phosphatase (ALP) were found in biofloc and seawater. Results of this study indicate that nitrate exposure to *P. olivaceus* have a lethal toxic effect and alter hematological and plasma constituents of flatfish *P. olivaceus*. Given relatively lower toxicity of nitrate in biofloc than in seawater, the use of biofloc in aquaculture may reduce potential toxic effect caused by nitrate in feces and feed residue.

**Key words** : biofloc, *Paralichthys olivaceus*, nitrate, acute toxicity, hematology

## 서 론

\* Corresponding author: Jun-Hwan Kim, Tel. 041-675-3773,  
Fax. 041-675-7077, E-mail. junhwan1982@korea.kr

우리나라 양식산업은 1970년대 이후로 빠르게 발전해오고 있지만, 최근 환경자정능력을 초과하는 양식장의 방류수

로 인해 환경 악화와 이에 따른 양식생물의 면역력 감소 및 빈번한 질병의 발생으로 어려움을 겪고 있다. 양식장의 오염원 중 질산염은 암모니아 및 아질산염과 함께 주요한 질소 오염물질 중 하나이다. 수중의 높은 질산염 농도가 문제를 일으킬 수 있음에도 불구하고, 암모니아와 아질산염이 더 높은 독성을 가진다는 기존의 인식 때문에 질산염에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는데 (Alonso and Camargo 2003), 이는 질산염의 수중생물 아가미로의 낮은 침투성 때문에 암모니아와 아질산염보다 제한적으로 노출되며, 이로 인해 다른 질소태 오염물질에 비해 상대적으로 낮은 위해성을 일으키는 것에 기인한다 (Jensen 1996). 그러나 수중환경에서 질산염의 농도는 암모니아와 아질산염보다 매우 높으며, 최근 환경적 문제로 인해 수중의 질산염 농도가 높아지고 있어 수중생물에게 큰 위해 요소로 작용할 수 있다 (Camargo *et al.* 2005).

수중의 높은 수준의 질산염은 어류의 산소운반색소 (oxygen-carrying pigment)인 hemoglobin과 hemocyanin을 산소를 운반할 수 없는 methemoglobin의 형태로 전환시킴으로써 주요 독성작용을 나타낸다 (Scott and Crunkilton 2000; Cheng and Chen 2002). 또한, 포유동물에서 소화된 질산염은 잠재적인 발암물질인 니트로사민 (nitrosamine) 형성을 하며, 소화관의 암 발생을 유발할 수도 있다 (Camargo *et al.* 2005). 이러한 질산염 노출에 따른 독성 영향으로부터 안전한 수산양식 생산을 이루어내기 위해서는 질산염 노출에 따른 기준 마련이 무엇보다 시급할 것이다.

양식 생산에 위해 요인을 정확하게 평가하기 위해서는 독성에 따른 신뢰성 있는 기준을 정하는 것은 매우 중요하다. 급성노출을 통한 반수치사농도의 산정은 독성을 이해하는 기준을 마련할 뿐만 아니라, 향후 양식장 현장에서 발생할 수 있는 질산염 만성노출 실험을 위한 농도설정 근거를 마련해줄 것이다.

어류의 혈액학적 성상은 독성물질의 영향을 평가하기 위해 가장 중요한 지표 중 하나이며, 어류의 생리 및 병리학적인 변화를 확인하는 지표로 사용된다 (Kim and Kang 2014, 2015, 2016, 2017). 어류의 혈액학적 성상은 어류의 건강상태를 나타내는 중요한 지표이며 (Harikrishnan *et al.* 2011), 혈액성상의 변화는 환경 독성에 노출된 어류의 건강의 변화 및 스트레스에 따른 영향을 판단하는 지표이다 (Kim and Kang 2017). 특히, 어류의 hemoglobin과 hemocyanin과 같은 산소운반색소에 직접적인 영향을 주는 질산염의 독성기작을 고려해 보았을 때, 혈액학적 성상을 통한 평가는 좋은 독성 지표가 될 것이다.

본 실험에 이용된 넙치는 우리나라 대표양식 어종이며, 높은 수요와 상품성을 지닌 어종이다 (Kim *et al.* 2015b). 넙치

양식장은 다른 어종에 비해서 많은 수량을 필요로 하는 어종이다. 양식용수의 유입수와 배출수는 가까운 연안에서 공급 및 배출이 되며, 과다한 양식 배출수로 인한 연안의 오염으로 정화되지 않은 오염된 유입수는 양식 생물의 건강성을 위협하는 가장 중요한 요소 중 하나이다. 물 교환을 최소화하는 바이오플락 기법을 이용한 양식방법은 이러한 문제점을 해결하는 핵심이 될 것이다. 바이오플락은 양식장에서 발생하는 암모니아 및 아질산염을 바이오플락의 유용미생물에 의해 낮추는 친환경 미래양식 기법으로 새우를 이용한 많은 연구가 진행되어 왔다 (Kim *et al.* 2015a). 하지만, 어류에서의 바이오플락에 대한 연구는 현재까지 많이 부족한 상황이며, 사육 기준에 대한 연구도 이루어지지 않았다. 따라서, 본 실험의 목적은 급성 질산염 노출에 따른 바이오플락과 일반 해수 사육 넙치의 반수치사농도 확인 및 혈액학적 성상의 변화를 통해서, 사육수 조성에 따른 넙치의 질산염 내성의 차이를 확인 및 독성기준을 마련하고, 향후 만성 노출실험에 필요한 근거를 제시하는 데 있다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험어 및 실험환경

본 실험에 사용한 실험어인 넙치는 평균 무게  $6.8 \pm 1.1$  g의 치어를 받아 바이오플락에서 3개월 동안 키운 실험어와 일반 해수에 유수식으로 3개월 동안 키운 실험어 (전장  $19.8 \pm 2.6$  cm, 무게  $97.8 \pm 15.8$  g)를 사용하였다. 질산염은  $\text{KNO}_3$  (Sigma Chemical, St. Louis, MO,  $\geq 99.0\%$ )를 이용하여 질산염  $20,000 \text{ mg NO}_3 \text{ L}^{-1}$ 의 표준원액을 증류수에 제조 후, 바이오플락에서는 0, 62.5, 125, 250, 500, 1000, and 1500  $\text{mg L}^{-1}$ , 일반 해수에서는 0, 62.5, 125, 250, 500, and 1000  $\text{mg L}^{-1}$ 의 농도로 용액을 준비하였다. 각 30 L 사육수조에 노출물질의 각 농도당 6마리씩 총 78마리를 이용하였고, 노출환경은 수온  $21^\circ\text{C}$ , 염분 33.7‰, pH 8.2, DO  $7.4 \text{ mg L}^{-1}$ 에서 실시하였다. 질산염 노출 후 실제 측정된 질산염 농도는 해양환경공정시험기준 (2010)에 따라 카드뮴-구리 환원관을 이용하여, 발색 후 흡광도를 검량선에 대입하여 측정하였고, 농도 값은 Table 1과 같다.

### 2. 독성시험

반수치사농도를 산출하기 위해, 질산염 노출 후 총 96시간 동안 노출 폐사를 관찰하였다. 노출 96시간 후, 폐사 개체를 최종확인 후 통계프로그램 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA, probit model)을 이용하여 반수치사농도 수치를 확인하였다.

**Table 1.** Nominal and measured nitrate concentrations ( $\text{mg L}^{-1}$ ) in biofloc and seawater used in the toxicity test

		Exposure concentration ( $\text{mg L}^{-1}$ )						
Biofloc	Nominal concentrations	0	62.5	125	250	500	1000	1500
	Measured concentrations	0.9	67.3	133.2	268.7	533.1	1058.6	1441.2
Seawater	Nominal concentrations	0	62.5	125	250	500	1000	
	Measured concentrations	1.2	68.3	130.5	262.9	475.8	1081.7	

총 96시간 동안 노출을 하였고, 노출기간 동안 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72 및 96시간째에 각 수조에서 폐사한 개체 발견 시 제거하였다.

### 3. 혈액학적 분석 및 혈장성분

독성실험 후 생존한 개체들을 이용하여, 혈액학적 분석을 실시하였다. 실험어의 혈액은 헤파린(Sigma Chemical, St. Louis, MO)을 처리한 주사기를 사용하여 채취하였다. Hematocrit는 모세관 내로 혈액을 넣어, Microhematocrit centrifuge (VS-12000, 한국)에서 12,000 rpm, 5분간 원심 분리 후 Micro-hematocrit reader를 이용하여 측정하였다. Hemoglobin 농도는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd)를 이용하여 Cyan-methemoglobin법으로 측정하였다. 혈장 성분을 확인하기 위해 채취한 혈액을  $4^{\circ}\text{C}$ 에서  $3000 \times g$ 으로 5분간 원심분리 후 혈장을 분리하였다.

분리한 혈장으로 혈장 내 효소활성 성분인 AST (Aspartate aminotransferase), ALT (Alanine aminotransaminase), 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.

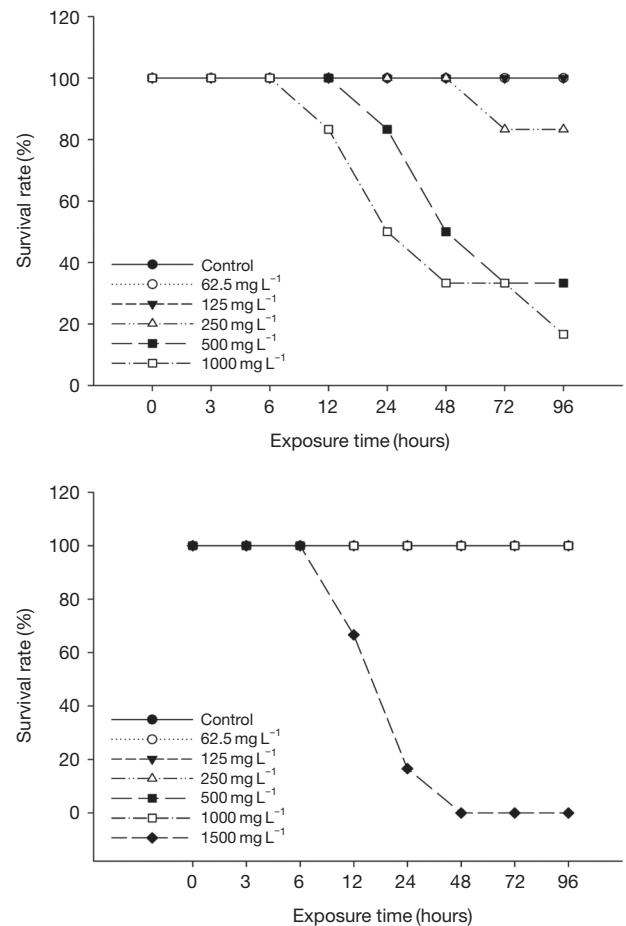
### 4. 통계분석 방법

독성실험을 위한 반수치사농도는 probit 모델을 이용하여 SPSS 통계 프로그램 (SPSS Inc.)으로 확인하였다. 본 실험분석은 노출물질별 농도에 따른 각 6마리를 분석에 이용하였고, 모든 실험은 3반복으로 이루어졌다. 실험분석 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

### 1. 질산염의 급성독성

질산염 노출에 따른 해수와 바이오플락에서 넙치의 생존

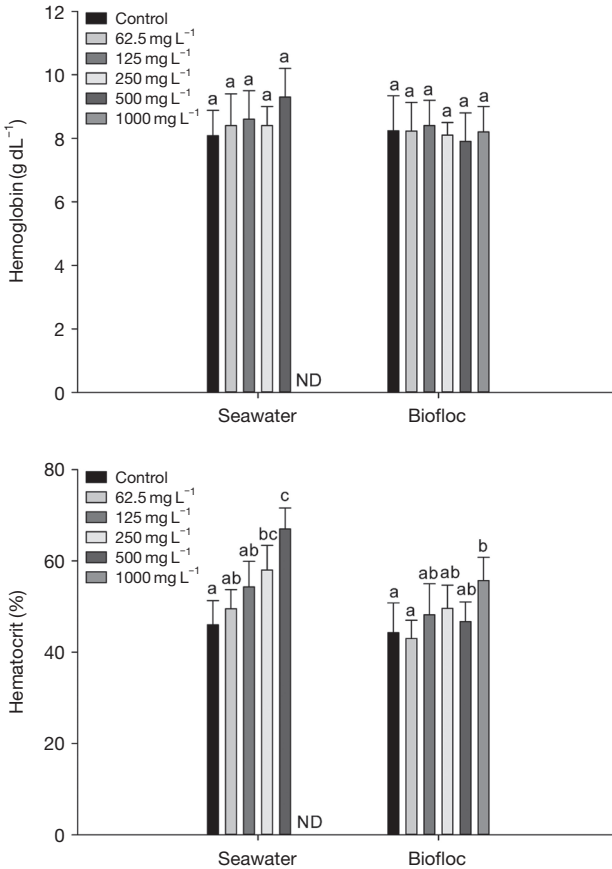


**Fig. 1.** Survival rate (%) of flatfish, *Paralichthys olivaceus* exposed to nitrate for 96 hours (Top: seawater, Bottom: biofloc).

율 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 일반 해수에서는 질산염  $250 \text{ mg L}^{-1}$  이상의 농도에서 노출 후 72시간에 폐사가 발생하였으며,  $500 \text{ mg L}^{-1}$  이상의 농도에서 66% 이상의 높은 폐사의 증가를 보였다. 반면, 바이오플락에서는  $1000 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도에서 폐사개체는 발생하지 않았으나,  $1500 \text{ mg L}^{-1}$ 의 농도에서는 100% 폐사를 나타내었다. 이러한 생존율을 바탕으로 반수치사농도를 Table 2에 나타내었다. 질산염의 넘치에 대한 96시간 반수치사농도는 일반 해수에서  $597.9 \text{ mg L}^{-1}$ , 바이오플락에서는  $1226.7 \text{ mg L}^{-1}$ 로 산출되었으며, 일반 해수에

**Table 2.** LC<sub>50</sub> of flatfish, *Paralichthys olivaceus* exposed to nitrate in seawater and biofloc for 96 hours

LC <sub>50</sub>	Seawater (mg L <sup>-1</sup> )	Biofloc (mg L <sup>-1</sup> )
24 h	966.852	1340.131
48 h	748.499	1226.773
72 h	664.112	1226.773
96 h	569.677	1226.773

**Fig. 2.** Hematocrit and hemoglobin of flatfish, *Paralichthys olivaceus* exposed to nitrate for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ( $P < 0.05$ ) after one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test.

서 상대적으로 높은 반수치사농도 값을 보였다.

## 2. 혈액성상 분석

질산염 노출에 따른 일반 해수와 바이오플락에서 넙치의 hematocrit와 hemoglobin 수치는 Fig. 2에 나타내었다. 일반 해수에서 넙치의 hematocrit는 250 mg L<sup>-1</sup> 이상의 농도에서 대조구에 비해 통계적으로 유의한 증가를 나타낸 반면, 바이오플락에서 넙치의 hematocrit는 1000 mg L<sup>-1</sup>의 질산염 노

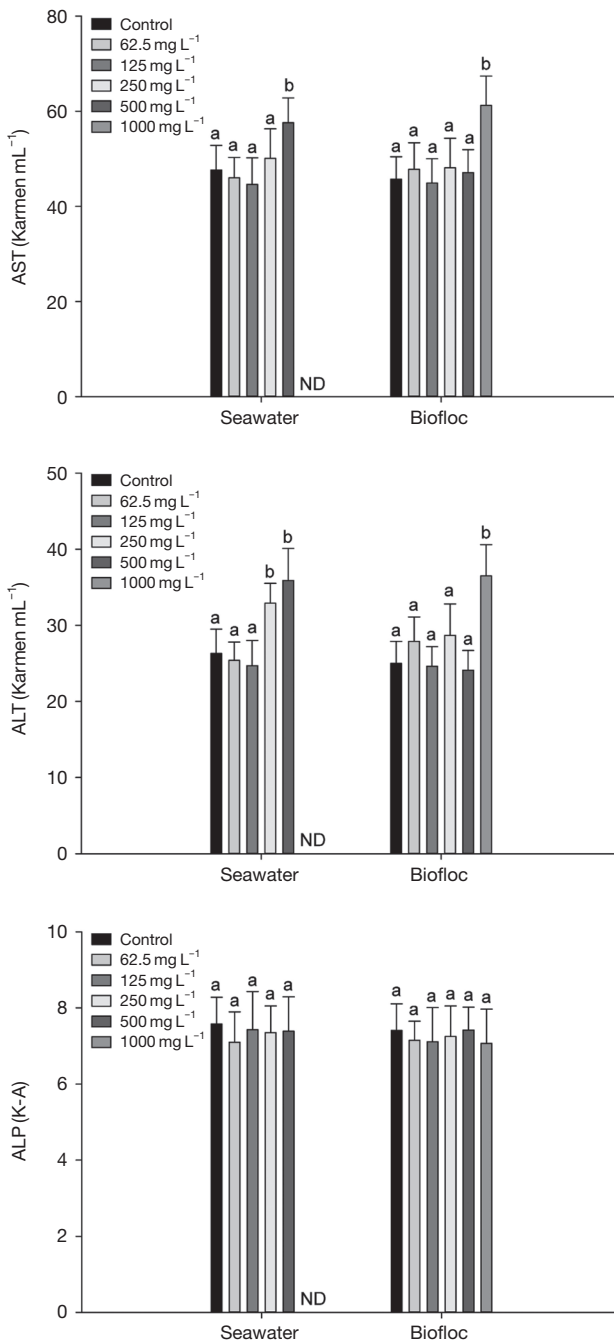
출에서만 대조구 대비 통계적으로 유의한 증가를 나타냈다 ( $P < 0.05$ ). 그러나, hemoglobin은 일반 해수와 바이오플락 모두 질산염 농도 의존적 변화가 나타나지 않았다.

질산염 노출에 따른 혈장 효소 성분인 AST, ALT 및 ALP의 변화는 Fig. 3에 나타내었다. 혈장 AST의 경우, 일반 해수에서는 500 mg L<sup>-1</sup>에서, 바이오플락에서는 1000 mg L<sup>-1</sup>에서 대조구 대비 통계적으로 유의한 증가가 나타났다 ( $P < 0.05$ ). 혈장 ALT는 일반 해수에서는 250 mg L<sup>-1</sup> 이상에서 대조구 대비 통계적으로 유의한 증가가 나타난 반면, 바이오플락에서는 1000 mg L<sup>-1</sup>에서만 대조구 대비 통계적으로 유의한 증가가 나타났다 ( $P < 0.05$ ). ALP는 일반 해수 및 바이오플락 모두에서 질산염 농도 증가에 따른 처리 그룹 간 통계적으로 유의한 차이가 관측되지 않았다.

## 고 찰

본 실험에서 유수식과 바이오플락에서 3개월간 키운 넙치를 이용하여, 일반 해수와 바이오플락에서 질산염 노출에 대한 영향을 평가하였다. 우선 높은 질산염의 노출은 실험어인 넙치에게 독성으로 작용하여, 높은 폐사율을 나타냈다. 질산염에 대한 독성 영향은 종별 민감성의 차이 및 실험 환경에 따라 달라질 수 있지만, Iqbal *et al.* (2004)는 질산염에 노출된 common carp, *Cyprinus carpio*에서 48시간과 96시간 반수치사농도를 각각 995 mg L<sup>-1</sup>와 865 mg L<sup>-1</sup>로 보고한 바 있다. 본 실험에서 질산염 노출에 따른 넙치의 반수치사농도는 바이오플락에서 1226.7 mg L<sup>-1</sup>로 일반 해수의 597.9 mg L<sup>-1</sup>에 비해 상대적으로 높은 수치를 나타내었다. Long *et al.* (2015)는 바이오플락에서 양성된 tilapia, *Oreochromis niloticus*에서 높은 면역의 향상을 보고한 바 있다. 다양한 미생물은 수중 생물의 선천적 면역, 항산화 능력 및 질병 저항력을 향상시키는 probiotics 또는 면역증강제로 작용하며, 바이오플락은 이러한 카로티노이드, 엽록소, 다당류, 식물 스테롤, 타우린 및 지용성 비타민과 같은 생체활성화합물이 풍부해 면역을 향상시킨다 (Irshad *et al.* 2016). Xu and Pan (2013) 역시 바이오플락은 면역증강제로 작용하여 양식생물의 생리적 건강상태를 향상시킨다고 보고하였다.

Hematocrit는 전체 혈액 중 적혈구 양의 비율을 나타내는 지표이며, 다양한 독성물질의 노출에 의해 hematocrit의 증가, 감소, 또는 무변화 등이 많이 보고되어 있다. 본 실험에서 질산염에 노출된 넙치에서 유의한 hematocrit의 증가가 관측되었는데, 이는 질산염 노출에 의한 혈액용해를 일으키는 적혈구 생성의 증가에 따른 것으로 판단된다. Hematocrit 증가는 일반 해수에서 250 mg L<sup>-1</sup> 이상에서 유의적인 증가를



**Fig. 3.** Aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), and alkaline phosphate (ALP) in plasma of flatfish, *Paralichthys olivaceus* exposed to nitrate for 96 hours. Values with different letters indicate significantly different ( $P < 0.05$ ) after one-way ANOVA followed by Tukey's multiple range test.

보인 반면, 바이오플락에서 1000 mg L<sup>-1</sup>에서 유의적 증가를 나타내었고, 이는 바이오플락 넙치에서 일반 해수 넙치보다 질산염에 대한 영향이 덜 미쳤음을 의미한다. Hemoglobin

은 어류의 적혈구 속에 분포되어 있으며, 산소와 가역적으로 결합하여, 산소를 운반하는 역할을 하며, 어류의 건강을 판단하는 중요한 지표이다 (Kim and Kang 2014). 질산염 독성의 메커니즘 중 대표적인 것이 hemoglobin의 산화에 의한 혈중 methemoglobin에 의한 methemoglobinemia이다 (Camargo *et al.* 2005). 하지만, 본 실험에서 질산염 노출에 의한 hemoglobin의 변화는 나타나지 않았다. van Bussel *et al.* (2012) 역시 질산염에 노출된 turbot, *Psetta maxima*에서 질산염 독성에도 hemoglobin의 수치에는 변화가 없었음을 보고하였다.

혈장 효소 성분인 AST와 ALT는 혈장 효소 성분으로 간, 심장 및 근육 등의 조직손상을 판단하는 지표로 많이 사용된다 (Kim and Kang 2015). 본 실험 결과 넙치에서 질산염 노출에 따라 혈장 AST와 ALT 모두 유의적으로 증가하였다. Vedel *et al.* (1998) 역시 암모니아에 노출된 rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*에서 혈장 AST의 유의적 증가를 보고하였으며, 이는 암모니아에 의한 조직의 괴사에 따른 것으로 판단된다. 반면 ALP에서는 유의적인 변화는 나타나지 않았다. 혈액성상의 결과 질산염에 의해 넙치의 유의적인 변화를 나타내었으며, 바이오플락에 비해 일반 해수에서 그 정도는 더 유의적으로 나타났다.

본 실험의 결과는 바이오플락 환경에서 사육된 넙치에서 일반 해수에 사육된 넙치에 비해 질산염에 대한 한계농도 및 혈액학적 성상에서 더 높은 질산염 내성을 가지는 것을 확인했다. 최근 빈번하게 발생하고 있는 양식장 환경 악화로 인한 양식생물의 폐사와 연안환경 악화로 인해 현재 우리나라 양식산업은 새로운 지속 가능한 양식기법을 필요로 하고 있다. 그중 바이오플락을 이용한 어류양식은 기존에 발생하고 있는 다양한 현안문제를 해결하고, 지속 가능한 우리나라 양식산업의 발전을 이룰 수 있는 획기적인 방법 중 하나이다. 향후 다양한 환경조건에서 바이오플락 넙치의 생리적 변화를 확인하는 사육환경 기준 실험이 필요로 할 것이며, 지속적인 연구를 통한 사육환경 기준의 마련이 시급할 것이다.

## 적 요

본 연구는 넙치 치어(평균 체장 6.8 ± 2.6 cm, 평균 체중 97.8 ± 15.8 g)를 바이오플락에 각 농도별 0, 62.5, 125, 250, 500, 1,000, 1,500 mg L<sup>-1</sup>의 질산염과 일반 해수에 각 농도별 0, 62.5, 125, 250, 500, 1,000 mg L<sup>-1</sup>의 질산염을 96시간 노출시킨 후 생존율 및 혈액학적 변화를 비교하였다. 본 연구에서 넙치 치어의 반수치사농도(96 h LC<sub>50</sub>, 96시간 노출 후 총 개체수의 50%가 폐사하는 농도)는 바이오플락 내의 질

산염 노출 실험구에서는  $1,226 \text{ mg NO}_3 \text{ L}^{-1}$ , 해수에서는  $597 \text{ mg NO}_3 \text{ L}^{-1}$  ( $P < 0.05$ )였으며, 이는 넙치 유생이 높은 질산염에 노출되었을 경우, 같은 농도에서도 바이오플락 사육수보다 일반 해수에서 생물에 독성의 영향이 크게 나타난다고 볼 수 있다. 혈액학적 분석 결과에서는 일반 해수에서 넙치의 hematocrit는  $250 \text{ mg L}^{-1}$  이상의 농도에서 대조구에 비해 통계적으로 유의한 증가를 나타낸 반면, 바이오플락에서 넙치의 hematocrit는  $1,000 \text{ mg L}^{-1}$ 의 질산염 노출에서만 대조구 대비 통계적으로 유의한 증가를 나타냈다( $P < 0.05$ ). 그러나, hemoglobin은 일반 해수와 바이오플락 모두 질산염 농도 의존적 변화가 나타나지 않았다. 질산염 노출에 따른 혈장 효소 성분 분석 결과에서는 혈장 AST와 ALT의 경우, 바이오플락과 일반 해수 모두 각 농도별 질산염 노출에 따라 유의하게 증가하였으나, ALP의 경우 두 실험구에서 모두 질산염 농도 증가에 따른 유의한 차이를 나타내지 않았다.

본 연구에서는 바이오플락 환경에서 사육된 넙치가 일반 해수에 사육된 넙치에 비해 단기간 질산염 노출에 대한 한계농도 및 혈액학적 성상에서 더 높은 질산염 내성을 가지는 것으로 나타났다. 이는 일반 해수보다 바이오플락 내의 질산염 노출이 상대적으로 생물에겐 낮은 독성을 가지며, 이와 같은 효과는 양식에 있어 바이오플락을 이용함으로써 잠재적인 질산염 독성 영향을 경감시켜줄 수 있을 것이다.

## 사 사

이 논문은 2017년 국립수산물과학원 ‘해산 새우류양식 바이오플락 기술(BFT) 다변화 연구(R2017016)’의 지원으로 수행된 연구입니다. 본 연구 수행에 도움을 주신 조영록 박사님, 권세안 연구원, 김현수 연구원에게 감사의 인사 드립니다.

## REFERENCES

- Alonso A and JA Camargo. 2003. Short-term toxicity of ammonia, nitrite, and nitrate to the aquatic snail *Potamopyrgus antipodarum* (Hydrobiidae, Mollusca). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 70:1006-1012.
- Camargo JA, A Alonso and A Salamanca. 2005. Nitrate toxicity to aquatic animals: a review with new data for freshwater invertebrates. Chemosphere 58:1255-1267.
- Cheng SY and JC Chen. 2002. Study on the oxyhemocyanin, deoxyhemocyanin, oxygen affinity and acid-base balance of *Marsupenaeus japonicus* following exposure to combined elevated nitrite and nitrate. Aquat. Toxicol. 61:181-193.
- Harikrishnan R, MC Kim, JS Kim, C Balasundaram and MS Heo. 2011. Protective effect of herbal and probiotics enriched diet on haematological and immunity status of *Oplegnathus fasciatus* (Temminck & Schlegel) against *Edwardsiella tarda*. Fish Shellfish Immunol. 30:886-893.
- Iqbal F, IZ Qureshi and M Ali. 2004. Histopathological changes in the kidney of common carp, *Cyprinus carpio*, following nitrate exposure. J. Res. Sci. 15:411-418.
- Irshad AH, AK Verma, AMB Rani, G Rathore, N Saharan and AH Gora. 2016. Growth, non-specific immunity and disease resistance of *Labeo rohita* against *Aeromonas hydrophila* in biofloc systems using different carbon sources. Aquaculture 457:61-67.
- Jensen FB. 1996. Uptake, elimination and effects of nitrite and nitrate in freshwater crayfish (*Astacus astacus*). Aquat. Toxicol. 34:95-104.
- Kim JH and JC Kang. 2014. The selenium accumulation and its effect on growth, and haematological parameters in red sea bream, *Pagrus major*, exposed to waterborne selenium. Ecotoxicol. Environ. Saf. 104:96-102.
- Kim JH and JC Kang. 2015. The lead accumulation and hematological findings in juvenile rock fish *Sebastes schlegelii* exposed to the dietary lead (II) concentrations. Ecotoxicol. Environ. Saf. 115:33-39.
- Kim JH and JC Kang. 2016. The chromium accumulation and its physiological effects in juvenile rockfish, *Sebastes schlegelii*, exposed to different levels of dietary chromium (Cr6+) concentrations. Environ. Toxicol. Pharmacol. 41: 152-158.
- Kim JH and JC Kang. 2017. Effects of dietary chromium exposure to rockfish, *Sebastes schlegelii* are ameliorated by ascorbic acid. Ecotoxicol. Environ. Saf. 139:109-115.
- Kim MS, EY Min, JH Kim, JK Koo and JC Kang. 2015a. Growth performance and immunological and antioxidant status of Chinese shrimp, *Fennerpenaeus chinensis* reared in bio-floc culture system using probiotics. Fish Shellfish Immunol. 47:141-146.
- Kim SH, IK Hwang, JC Kang and JH Kim. 2015b. Changes of hematological parameters and plasma constituents in the olive flounder *Paralichthys olivaceus* exposed to TBT. J. Fish Patol. 28:87-92.
- Long L, J Yang, Y Li, C Guan and F Wu. 2015. Effect of biofloc technology on growth, digestive enzyme activity, hematology, and immune response of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture 448: 135-141.
- Scott G and RL Crunkilton. 2000. Acute and chronic toxicity of nitrate to fathead minnows (*Pimephales promelas*), *Ce-*

- riodaphnia dubia*, and *Daphnia magna*. Environ. Toxicol. Chem. 19:2918-2922.
- van Bussel, CGJ, JP Schroeder, S Wuertz and C Schulz. 2012. The chronic effect of nitrate on production performance and health status of juvenile turbot (*Psetta maxima*). Aquaculture 326-329:163-167.
- Vedel NE, B Korsgaard and FB Jensen. 1998. Isolated and combined exposure to ammonia and nitrite in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on electrolyte status, blood respiratory properties and brain glutamine/glutamate concentrations. Aquat. Toxicol. 41:325-342.
- Xu WJ and LQ Pan. 2013. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input. Aquaculture 412-413:117-124.

Received: 18 July 2017  
Revised: 8 August 2017  
Revision accepted: 8 August 2017