Korean Journal of Environmental Biology

Note

https://doi.org/10.11626/KJEB.2020.38.1.093

Korean J. Environ. Biol.
38(1) : 93-100 (2020)
ISSN 1226-9999 (print)
ISSN 2287-7851 (online)

대왕범바리(*Epinephelus fuscoguttatus* ♀× *E. lanceolatus* ♂)의 아질산 급성노출에 따른 내성한계: 혈액성상 및 혈장성분의 변화

조재황, 김석렬, 허영백, 이경미, 김준환*

국립수산과학원 서해수산연구소 양식산업과

Tolerance limit of nitrite exposure to hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀× *E. lanceolatus* ♂): hematological parameters and plasma components

Jea-Hwang Cho, Seok-Ryel Kim, Young Baek Hur, Kyung Mi Lee and Jun-Hwan Kim*

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

***Corresponding author**
Jun-Hwan Kim
Tel. 041-675-3773
E-mail. junhwan1982@korea.kr

Received: 27 December 2019
First Revised: 13 February 2020
Second Revised: 18 February 2020
Revision accepted: 18 February 2020

Abstract: Hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀× *E. lanceolatus* ♂) (mean weight 27.3±3.8 g, mean length 11.6±0.7 cm) were exposed to waterborne nitrite at 0, 100, 200, 400, 800, and 1600 mg L^{-1} for 96 hours. The hematocrit and hemoglobin values were significantly decreased by exposure to 100 mg L^{-1} and 400 mg L^{-1}, respectively. In plasma components, no significant change was observed in magnesium. Glucose was significantly increased by 200 and 400 mg L^{-1} nitrite but reduced by 800 mg L^{-1}. Cholesterol was significantly decreased by 400 mg L^{-1} nitrite, but there was no significant change in total protein. GPT (glutamic pyruvate transaminase) was significantly increased by exposure to 200 and 400 mg L^{-1}. ALP (Alkaline phosphatase) was significantly increased by 800 mg L^{-1}. The results of this study indicate that acute exposure to nitrite changes physiological parameters, such as hematological properties and plasma components.

Keywords: hematological parameter, hybrid grouper, nitrite, plasma components

서 론

아질산은 수중생물의 질소대사과정 후 배설물에 의해 발생되는 암모니아에 의해 생성되는 중간산물이다. 일반적인 자연 환경 내에서 아질산은 산소가 충분한 경우 아질산 산화세균에 의해 질산으로 산화되고, 수중 생물에게 영향을 미치지 않는다(Jung *et al.* 2016; Lee *et al.* 2017). 하지만, 아질산은 일부 고밀도로 양성되고 있는 양식장이나, 사육수의 교환이 거의 없는 순환여과식이나 바이오플락과 같은 폐쇄식 시스템에서는 초기 질산화 사이클이 안정되기 전까지는 단기간에 높은 수준의 농도로 존재할 수 있다(Kim *et al.* 2018).

어류에서 높은 수준의 아질산 노출은 혈액, 아가미, 간, 뇌 및 근육조직에서의 아질산 축적을 유발할 수 있으며, 이는 산-염기 조절, 가스교환 및 배설 기능을 감소시킨다(Jia *et al.* 2016). 아질산 이온(NO_2^-)은 염화물 이온(Cl^-)

을 대신하여 혈장의 젖산염, 질산염 및 중탄산염의 증가를 유도하여 아가미의 이온교환에도 영향을 미친다(Jensen 2003). 또한 만성적인 아질산 노출은 어류의 산소-결합-기능장애뿐만 아니라, 상피세포 비대, 괴사 및 과형성과 같은 다양한 생리기능장애를 유발하여 독성으로 작용한다(Kroupova *et al.* 2010).

혈액학적 성상의 변화는 다양한 스트레스 요인에 노출된 생물의 건강상태를 확인하기 위한 지표 중 하나이다(Kim *et al.* 2017). 아질산 노출은 어류의 Cl^- 흡수 메커니즘을 통해 혈액에 축적되고 적혈구로 유입되어, 혈중 hemoglobin (Hb)를 met-hemoglobin (Met-Hb)으로 전환시켜 산소 운반 능력의 상실로 인한 저산소증 및 질식을 유발한다(Tilak *et al.* 2007). 혈중 Met-Hb의 증가는 저산소증에 의한 골수 및 조혈 세포의 손상을 유발하고, 이는 혈액 성상인 Hb와 hematocrit (Hct)의 감소를 유발한다(Das *et al.* 2004b). 따라서 혈액 성상의 변화는 아질산의 생리적 독성을 평가하기 위한 주요한 지표가 될 것이다.

대왕범바리는 대왕바리(*Epinephelus lanceolatus*) 수컷과 범바리(*E. fuscoguttatus*) 암컷의 교잡종이며 대왕바리의 성장속도, 범바리의 내병성이라는 두 종 간의 장점을 고루 갖춘 바리과 품종으로써 주목을 받고 있다(Sun *et al.* 2016). 바리과 어종은 아열대성 어종이며, 고수온에 대한 적응력이 25~35°C로 높다(De *et al.* 2016). 수온은 변온동물인 어류를 비롯한 양식 대상 수중동물들에게 신진대사작용을 증감시킴으로써 생존과 성장에 큰 영향을 주는 요인이다(Cheng *et al.* 2017). 또한 수온은 다른 스트레스 요인에도 영향을 미치는데, 수온이 증가함에 따른 대사활동의 증가로 아질산 독성이 더욱 높아진다는 결과가 common carp, *Cyprinus carpio* 및 *Astacus asctacus*, European crayfish에서 나타난 바 있다(Jeberg *et al.* 1994; Kroupova *et al.* 2006). 우리나라는 온난화현상으로 인해 해수온은 꾸준히 상승하고 있으며(Kim *et al.* 2018), 여름철 일부 해역의 수온은 28~30°C에 이르러 고수온 주의보 및 경보가 발령되는 경우가 잦아지고 있다(KMA 2018; Yoo *et al.* 2018). 국내 주력 양식 대상종 넙치와 조피볼락의 적정수온은 20~25°C이며(Kim *et al.* 2001), 최근 고수온기 대량폐사와 같은 피해가 발생하여, 양식어가에서는 고수온기 대체 품종 요구가 높아지고 있다. 대왕범바리의 높은 고수온 내성 한계는 여름철 대체품종으로써 높은 가능성을 보여준다. 그러나 고수온에서 더욱 치명적일 수 있는 아질산에 대한 대왕범바리의 노출실험 결과는 거의 없다. 따라서 본 연구의 목적은 대체 품종인 대왕범바리에 대한 아질산 급성 노출에 따른 반수치사농도, 혈액 성상 및 혈장 성분의 변화를 통해, 아질산 내성 한계 및 기준을 적립하는 데 있다.

재료 및 방법

1. 실험어 및 실험환경

본 실험에 이용된 대왕범바리(평균 무게 27.3±3.8 g; 평균 전장 11.6±0.7 cm)는 경남고성의 종묘생산장에서 분양받아 실험에 이용하였다. 실험은 사육해수에서 10일간 순치 후 실시하였다. 실험은 100 L 원형수조를 이용하였으며, 수조당 6마리 6개 농도구간 총 36마리를 입식 하여 진행하였다. 실험 기간 중 수질(수온, 용존산소, 염분, pH)은 휴대용 수질 분석기(YSI-Professnal plus, YSI Inc., USA)를 이용하여 매일 측정하였다(Table 1). 아질산노출은 $NaNO_2$ (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA)를 이용하여 표준원

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

Item	Value
Temperature (°C)	25.2±0.4
pH	8.13±0.07
Salinity (‰)	32.7±0.2
Dissolved Oxygen (mg L^{-1})	7.1±0.4
Ammonia (mg L^{-1})	0.16±0.06
Nitrite (mg L^{-1})	0.05±0.01
Nitrate (mg L^{-1})	0.43±0.12

Table 2. Analyzed waterborne nitrite concentration (mg L^{-1}) from each source

	Nitrite concentration (mg L^{-1})					
Nitrite concentrations	Control	100	200	400	800	1,600
Measured nitrite concentrations	0.05	95.2	206.7	417.5	823.2	1,590.1

©2020. Korean Society of Environmental Biology.

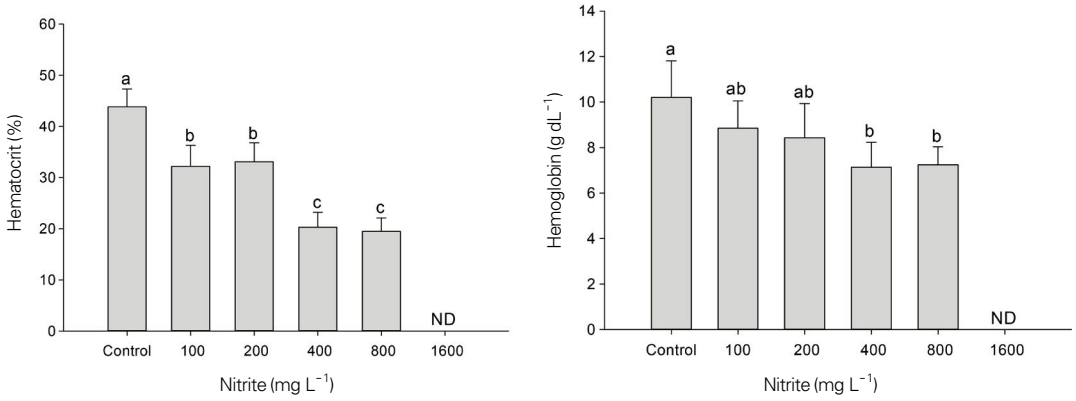

Fig. 1. Hematological parameters, such as hematocrit and hemoglobin, of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) exposed to waterborne nitrite for 96 hours. The values with different superscripts are significantly different ($p<0.05$) as determined by Tukey's multiple range test.

액 40,000 mg L^{-1}를 만들어, 각 수조별 0, 100, 200, 400, 800, 1600 mg L^{-1}의 농도로 96시간 노출실험을 진행하였다. 각 노출 실험 수조의 실제 아질산 농도는 아질산 분석용 키트 (Merck & Co., Inc., USA)를 이용하여 측정하였다(Table 2). 노출 96시간 후 살아있는 개체의 혈액을 sampling하여 분석하였다.

2. 혈액학적 성상

혈액학적 분석은 아질산 노출 96시간 후 살아있는 개체를 MS-222 (Sigma Aldrich, USA)를 150 mg L^{-1}의 농도로 용해한 사육수에 60초간 마취시킨 후 채혈을 실시하고 이를 이용하였다. 채혈은 헤파린(Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 처리된 주사기를 하였으며, 채혈직후 적혈구용적(Hematocrit)과 헤모글로빈(Hemoglobin)을 측정하였다. Hematocrit는 모세관 내로 혈액을 넣어, Microhematocrit centrifuge (VS-12000, Korea)에서 12,000 rpm, 10분간 원심분리 후 Micro-hematocrit reader를 이용하여 측정하였다. Hemoglobin 수치는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd, Korea)를 이용하여 Cyan-methemoglobin 법으로 측정하였다.

3. 혈장성분 분석

아질산 노출에 따른 혈장성분의 변화를 분석하기 위해 채취한 혈액을 4°C에서 3000 rpm으로 15분간 원심분리 후 혈장을 분리하였다. 혈장 무기성분으로 마그네슘(Magnesium)을 측정하였다. 마그네슘은 Xylidyl blue-I 법에 따라 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd, Korea)를 이용하여 515 nm에서 흡광광도기를 통해 측정하였다. 혈장 유기성분으로 혈당(Glucose), 콜레스테롤(Cholesterol) 및 총 단백질(Total protein)을 측정하였다. 혈당은 GOD/POD 법을 통해 500 nm에서 측정, 콜레스테롤은 비색법을 통해 500 nm에서 측정하였다. 총 단백질은 Biuret법에 의해 시판되고 있는 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd, Korea)를 이용하여 540 nm에서 측정하였으며, 혈장 효소활성으로 GPT (glutamic pyruvate transaminase) 및 ALP (Alkaline phosphatase)를 측정하였다. GPT 및 ALP는 King-King법을 이용한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd, Korea)로 분석 후 각각 505, 500 nm에서 측정하였다. 사용한 흡광광도기는 Spectramax i3 (Molecular device, USA)를 통해 분석을 실시하였다.

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. 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.

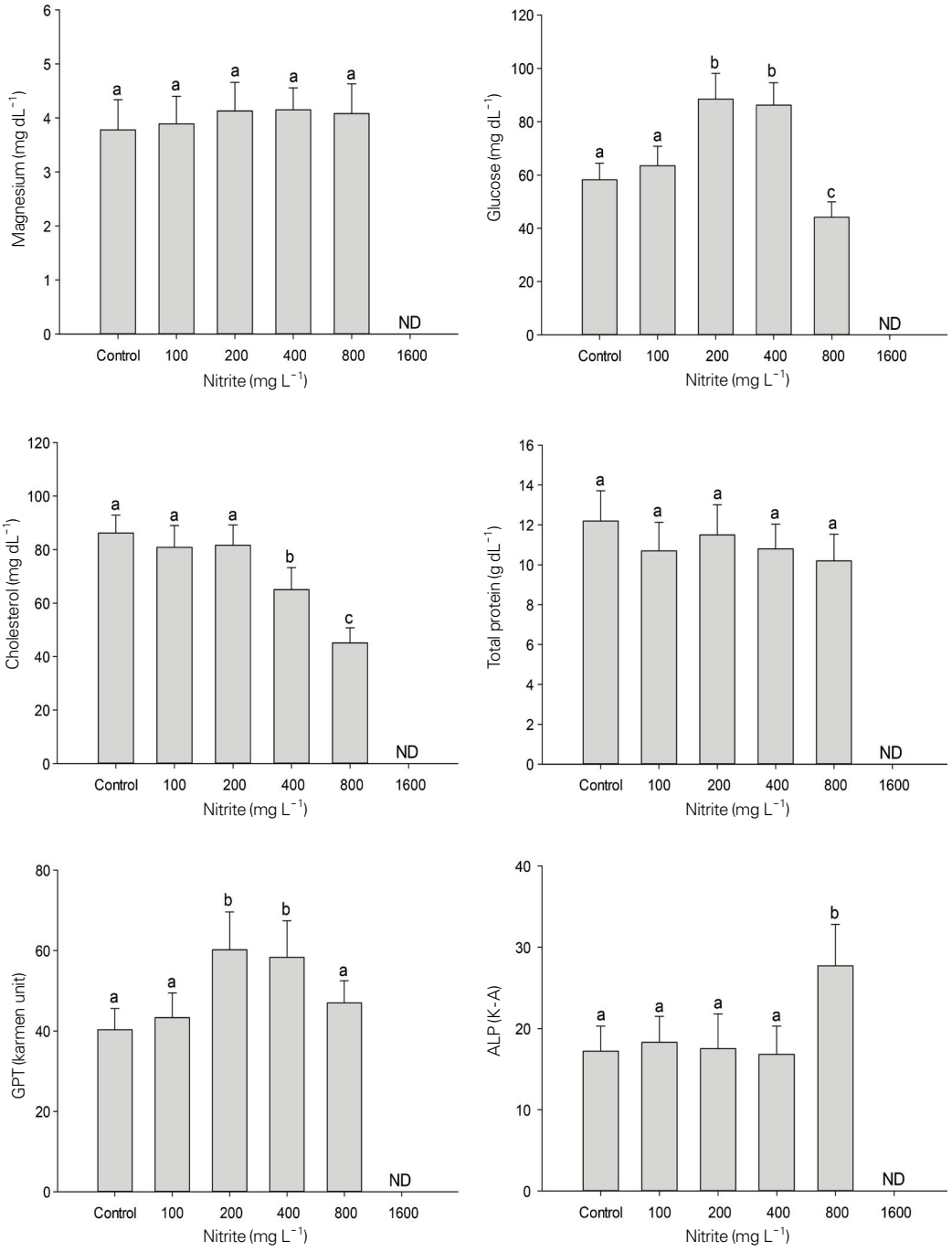

Fig. 2. Plasma components of hybrid grouper (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) exposed to waterborne nitrite for 96 hours. The values with different superscripts are significantly different ($p<0.05$) as determined by Tukey's multiple range test.

결 과

1. 혈액학적 성상

아질산 96시간 노출에 의한 대왕범바리 혈액성상의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 아질산 노출에 의한 대왕범바리 hematocrit 수치는 아질산 노출 100 mg L^{-1} 이상의 농도에서 유의적 감소를 나타내었다($p<0.05$). Hemoglobin 농도는 아질산 노출 400 mg L^{-1} 이상의 농도에서 유의적 감소

©2020. Korean Society of Environmental Biology.

를 나타내었다($p<0.05$).

2. 혈장성분

아질산 노출에 따른 대왕범바리의 혈장성분의 변화는 Fig. 2에 나타내었다. 아질산 노출에 의한 대왕범바리 혈장 magnesium의 유의적 변화는 나타나지 않았다. 혈장 glucose는 아질산 노출 200과 400 mg L^{-1}의 노출에 의해 유의적 증가를 나타내었다($p<0.05$). 하지만, 더 높은 아질산 농도인 800 mg L^{-1}에서는 다시 감소를 나타내었다. 혈장 cholesterol은 아질산 노출 400 mg L^{-1} 이상의 농도에서 유의적 감소를 나타내었다($p<0.05$). 혈장 total protein의 경유 아질산 노출에 의한 유의적 변화는 나타나지 않았다. 혈장 GPT는 아질산 노출 200과 400 mg L^{-1}에 의해 유의적 증가를 나타내었지만($p<0.05$), 더 높은 농도인 800 mg L^{-1}에서는 다시 감소를 나타내었다. 혈장 ALP는 아질산 노출 800 mg L^{-1}에 의해 유의적 증가를 나타내었다($p<0.05$).

고 찰

아질산 노출은 수중 생물의 혈액에 유입되어 Met-Hb 혈증을 유발하고, 혈액학적 성상의 변화를 유발한다(Jensen 2003). 아질산 노출은 olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Kim *et al*. 2018)와 common carp, *C. Carpio* (Jensen and Knudsen 1997)의 혈액 Hct 및 Hb 유의적 감소를 유발하였다. 본 연구에서 아질산 노출은 대왕범바리의 Hct 수치 및 Hb 농도를 유의적으로 감소시켰으며, 이는 아질산 노출에 따른 적혈구 용해 및 사멸에 의한 조혈 세포의 손상으로 판단된다.

혈장 성분 중 주요 이온의 변화는 체내 이온 교란을 판단하는 주요한 지표이며, 삼투 조절 장애를 유발한다 (Medeiros *et al*. 2016). 혈장 magnesium은 어류 체내 이온 균형 유지를 위해 필수적인 요소이며, 독성 노출에 의한 생리적 변화를 판단하는 주요한 지표이다(Bijvelds *et al*. 1998). 본 실험에서 아질산 노출에 대한 대왕범바리의 혈장 마그네슘은 유의미한 변화를 보이지 않았다. 하지만, Chen and Lee (1997)는 아질산 노출에 의한 giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, 혈액 magnesium이 2 mg L^{-1}에서는 유의미한 변화가 없었으나, 5 mg L^{-1} 이상에서 유의적 감소를 보고했으며, Stormer *et al*. (1996) 역시 아질산 노출이 rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, 0.2 mg L^{-1}의 아급성 아질산 노출에서는 유의적 변화가 없었으나, 1 mg L^{-1} 급성 아질산 노출에서 magnesium의 유의적 증가를 보고했다. 아질산 노출에 의한 영향은 실험조건과 생물 종에 따른 차이가 크며(Das *et al*. 2004c), 본 실험에서 적용한 아질산 농도가 대왕범바리에게 영향을 미치지 못하는 수준의 농도로 판단된다.

혈장 glucose는 어류 스트레스 반응을 평가하는 주요 지표이다. 어류는 스트레스 상황에서 간과 근육에서 glycogen 생성을 통해 대사에너지를 확보하고, glycogen은 부신 조직으로부터 생성된 glucocorticoids와 catchecolamines에 의해 glucose로 전환되어, hyperglycemia를 유발한다(Sachar *et al*. 2014). Das *et al*. (2004c)는 아질산 노출이 mrigal carp, *Cirrhinus mrigala*의 혈장 glucose를 유의적으로 증가시킨다고 보고했다. 본 실험에서 대왕범바리의 혈장 glucose는 아질산 노출에 의해 유의적 증가했다. 하지만, 아질산 800 mg L^{-1}의 농도에서는 다시 감소를 나타내었다. 이러한 변화는 초기 glycogen 분해에 따른 증가에 의해 상승하였으나, 농도와 노출 기간에 따른 탄수화물의 과도한 소진으로 인해 다시 감소로 이어진 것으로 판단된다. 이와 같은 glucose 증가 후 감소는 초기 경보, 저항, 그리고 고갈, 소진의 3단계 스트레스 단계 반응을 통해 입증된 바 있으며, 질산염에 노출된 Hybrid striped bass, *Morone saxatilis* ♀×*M. chrysops* ♂이 스트레스로 인한 소진으로 glucose 및 cortisol 감소된 바를 보고하였으며(Hrubec *et al*. 1996), Ahn *et al*. (2013) 역시 크롬 노출에 의한 Flathead grey mullet, *Mugil cephalus* 체내 glucose의 유의적 증가 후 감소를 보고한 바 있다.

혈장 cholesterol은 세포막의 필수 구조 성분이며, 모든 스테로이드 호르몬의 전구체이다(Firat and Kargin 2010). 혈장 cholesterol은 스트레스 요인에 의해 간과 신장기능에 영향을 주어 혈액으로 방출되며, 스트레스 지표로 이용된다(Oner *et al*. 2008). 환경 스트레스 요인인 아연(Zn)과 구리(Cu) 노출은 Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*의 cholesterol를 유의적으로 감소시키며(Firat and Kargin 2010), 유기인계 물질인 monocrotophos의 노출 또한 spotted snakehead, *Channa punctatus*의 cholesterol을 유의적으로 감소시킨다고 보고되었다(Agrahari *et al*. 2007). 본 실험에서 대왕범바리의 cholesterol은 아질산 노출에 의해 유의

적 감소를 나타내었으며, 이는 독성스트레스에 의한 세포의 손상이 esterified cholesterol이 free cholesterol으로 전환되는 것을 억제한 것으로 판단된다.

혈장 total protein (Tp)는 세포의 주 구성물질이자 에너지원 생성 등 신진대사에 중요한 역할을 하며, 독성 노출에 의한 신진대사 장애 등의 영향으로 변화될 수 있다 (David *et al.* 2004; Kim *et al.* 2019). Das *et al.* (2004c)은 아질산 노출에 의해 mrigal carp, *C. Mrigala*의 total protein이 유의적으로 감소한다고 보고했다. 하지만, 본 실험에서 대왕범바리의 혈장 total protein은 아질산 노출에 의한 유의적 변화는 나타나지 않았다. Red-tailed Brycon, *Brycon cephalus*를 0.6 mg L^{-1} 아질산에 노출시킨 결과 유의적 변화는 보이지 않았다(Avilez *et al.* 2004). Barramundi, *Lates calcarifer*는 30~50 mg L^{-1}의 아질산 농도에서는 혈장 total protein의 유의미한 변화가 없었으나, 80 mg L^{-1} 농도에서는 유의미하게 감소하는 경향을 확인했다(Woo *et al.* 1997).

혈장 GPT (glutamic pyruvate transaminase)는 탄수화물과 단백질의 상호 전환에서 아미노기(amino group)를 alpha-keto acids으로, aspartic acid을 α-ketoglutaric acid로 이동시키는 촉매 작용을 하며, 독성 노출에 따른 어류의 건강 상태와 간 손상 평가지표로써 사용된다(Ramesh *et al.* 2018). 본 실험에서 대왕범바리의 혈장 GPT는 아질산 노출 200과 400 mg L^{-1}에 의해 유의적 증가를 나타내었지만, 800 mg L^{-1}의 농도에서는 감소를 나타내었다. Malarvizhi *et al.* (2012)은 common carp, *C. Carpio*, GPT는 Carbamazepine 노출에 의해 유의적으로 증가하였으며, 더 높은 농도에서 오히려 감소함을 보고했으며, Le Ruyet *et al.* (1998) 역시 암모니아 노출에 의한 Turbot, *Scophthalmus maximus* 및 Gilthead seabream, *Sparus aurata*의 유의적 증가와 더 높은 농도에서 감소를 보고했다. 아질산의 체내 축적은 간 세포 손상을 유발하여 GPT 효소의 분비를 증가시켰을 것으로 판단되며, 더 높은 농도에서의 감소는 한계 이상의 농도에서 효소 및 세포 교란 및 파괴로 인한 활성의 감소로 판단된다(Sathya *et al.* 2012).

혈장 ALP (Alkaline phosphatase)는 어류의 골격 형성 및 세포막 수송 활동에 관여하며, 어류의 정상적 대사기능여부를 확인하는 수단으로 사용되고 있다(Molina *et al.* 2005). Das *et al.* (2004c)는 아질산 노출에 의한 Cypriniformes 3종(Indian Carp, *Catla catla*; Rohu, *Labeo rohita*; Mrigal carp, *C. mrigala*) ALP의 유의적 증가를 보고했다. 본 실험에서 아질산 노출은 대왕범바리 혈장 ALP의 유의적 증가를 유발했으며, 이와 같은 결과는 세포막 투과성 증가에 의한 아질산 증가로 간과 신장의 손상에 의한 것으로 판단된다(Kavitha *et al.* 2012).

적 요

본 실험에서 아질산 급성노출은 대왕범바리의 혈액학적 성상 및 혈장성분에 유의적 변화를 나타내었다. 혈액학적 성상인 Hct와 Hb는 아질산 노출에 의한 유의적 감소를 확인하였다. 혈장 성분인 glucose, cholesterol, GPT 및 ALP는 아질산 노출에 의해 유의적으로 변화를 나타냄을 확인하였다. 본 실험의 결과 아질산 노출 100 mg L^{-1} 이상의 농도는 대왕범바리의 혈액 성상 및 혈장 성분의 유의적 영향을 미치며, 800 mg L^{-1}의 아질산 급성 노출은 대량 폐사를 유발할 수 있으나, 기존 국내 양식 대상종인 Olive flounder, *P. Olivaceus*는 171.043 mg L^{-1} (Kim *et al.* 2018), Yellow tail, *Seriola quinqueradiata*는 147 mg L^{-1} (Sugiyama *et al.* 1991)에 비해 상대적으로 높은 값을 보여 아질산 내성이 상대적으로 강함을 확인할 수 있었다.

사 사

이 논문은 2020년 국립수산과학원 '천수만 양식어장 고수온피해 대응기술 연구(R2020042)'의 지원으로 수행된 연구입니다. 본 연구 수행을 위해 노력해주신 정은하 선생님께 진심으로 감사의 말씀을 전합니다.

REFERENCES

Agrahari S, KC Pandey and K Gopal. 2007. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). Pest. Biochem. Physiol. 88:268–272.

Ahn TY, DS Jeong, JH Kim and JC Kang. 2013. Changes of hematological constituents in the mullet, *Mugil cephalus* exposed to chromium. J. Fish Pathol. 26:89–97.

Atwood HL, QC Fontenot, JR Tomasso and JJ Isely. 2001. Toxici-

 ©2020. Korean Society of Environmental Biology.

ty of nitrite to Nile tilapia: effect of fish size and environmental chloride. N. Am. J. Aquacult. 63:49–51.

Avilez IM, AE Altran, LH Aguiar and G Moraes. 2004. Hematological responses of the Neotropical teleost matrinxa (*Brycon cephalus*) to environmental nitrite. Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol. 139:135–139.

Bae SH, KW Kim, SK Kim, SK Kim, JH Kim and JH Kim. 2017. Lethal toxicity and hematological changes exposed to nitrate in flatfish, *Paralichthys olivaceus* in biofloc and seawater. Korean J. Environ. Biol. 35:373–379.

Bijvelds MJ, JA Velden, ZI Kolar and G Flik. 1998. Magnesium transport in freshwater teleosts. J. Exp. Biol. 201:1981–1990.

Cheng CH, CX Ye, ZX Guo and AL Wang. 2017. Immune and physiological responses of pufferfish (*Takifugu obscurus*) under cold stress. Fish Shellfish Immunol. 64:137–145.

Chen JC and Y Lee. 1997. Effects of nitrite exposure on acid-base balance, respiratory protein, and ion concentrations of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* at low pH. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 33:290–297.

Das PC, S Ayyappan, JK Jena and BK Das. 2004a. Acute toxicity of ammonia and its sub-lethal effects on selected haematological and enzymatic parameters of mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton). Aquac. Res. 35:134–143.

Das PC, S Ayyappan, BK Das and JK Jena. 2004b. Nitrite toxicity in Indian major carps: sublethal effect on selected enzymes in fingerlings of *Catla catla*, *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala*. Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol. 138:3–10.

Das PC, S Ayyappan, JK Jena and BK Das. 2004c. Nitrite toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.): acute toxicity and sub-lethal effect on selected haematological parameters. Aquaculture 235:633–644.

David M, SB Mushigeri, R Shivakumar and GH Philip. 2004. Response of *Cyprinus carpio* (Linn) to sublethal concentration of cypermethrin: alterations in protein metabolic profiles. Chemosphere 56:347–352.

De M, MA Ghaffar, Y Bkar and SK Das. 2016. Effect of temperature and diet on growth and gastric emptying time of the hybrid, *Epinephelus fuscoguttatus*♀×*E. lanceolatus*♂. Aquacult. Rep. 4:118–124.

Ferrario C, M Parolini, B De Felice, S Villa and A Finizio. 2018. Linking sub-individual and supra-individual effects in *Daphnia magna* exposed to sub-lethal concentration of chlorpyrifos. Environ. Pollut. 235:411–418.

Firat O and F Kargin. 2010. Individual and combined effects of heavy metals on serum biochemistry of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 58:151–157.

Gisbert E, A Rodrıguez, L Cardona, M Huertas, MA Gallardo, C Sarasquete and F Orvay-Castello. 2004. Recovery of Siberian sturgeon yearlings after an acute exposure to environmental nitrite: changes in the plasmatic ionic balance, Na^+-K^+ ATPase activity, and gill histology. Aquaculture 239:141–154.

Grosell M and FB Jensen. 2000. Uptake and effects of nitrite in the marine teleost fish *Platichthys flesus*. Aquat. Toxicol. 50:97–107.

Hilmy AM, El-Domiaty NA and K Wershana. 1987. Acute and chronic toxicity of nitrite to *Clarias lazera*. Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol. 86:247–253.

Hrubec TC, SA Smith and JL Robertson. 1996. Nitrate toxicity: a potential problem of recirculating systems. pp. 1–8. In: Aquacultural Engineering Society Proceedings II: Successes and Failures in Commercial Recirculating Aquaculture. Northeast Regional Agricultural Engineering Service Cooperative Extension, Ithaca, NY.

Huertas M, E Gisbert, A Rodrıguez, L Cardona, P Williot and F Orvay-Castello. 2002. Acute exposure of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) yearlings to nitrite: median-lethal concentration (LC50) determination, haematological changes and nitrite accumulation in selected tissues. Aquat. Toxicol. 57:257–266.

Jeberg MV and FB Jensen. 1994. Extracellular and intracellular ionic changes in crayfish *Astacus astacus* exposed to nitrite at two acclimation temperatures. Aquat. Toxicol. 29:65–72.

Jensen FB. 2003. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. Comp. Biochem. Physiol. Part A-Mol. Integr. Physiol. 135:9–24.

Jia R, BL Liu, C Han, B Huang and JL Lei. 2016. The physiological performance and immune response of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) to nitrite exposure. Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol. 181:40–46.

Jung TK, CS Ra, KS Joh and HG Song. 2016. Characterization of heterotrophic nitrification and aerobic denitrification by *Alcaligenes faecalis* NS13. Korean J. Microbiol. 52:166–174.

Kavitha C, M Ramesh, SS Kumaran and SA Lakshmi. 2012. Toxicity of *Moringa oleifera* seed extract on some hematological and biochemical profiles in a freshwater fish, *Cyprinus carpio*. Exp. Toxicol. Pathol. 64:681–687.

Kim JH, KW Kim, SH Bae, SK Kim, SK Kim and JH Kim. 2017. Alterations in hematological parameters and antioxidant responses in the biofloc-reared flatfish *Paralichthys olivaceus* following ammonia exposure. Korean J. Fish. Aquat. Sci. 50:750–755.

Kim JH, JY Kim, LJ Lim, SK Kim, HS Choi and YB Hur. 2018. 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.

Kim JH, HJ Park, DH Kim, CW Oh, JS Lee and JC Kang. 2019. Changes in hematological parameters and heat shock proteins in juvenile sablefish depending on water temperature stress. J. Aquat. Anim. Health 31:147–153.

Kim KH, YJ Hwang and SR Kwon. 2001. Influence of daily water

temperature changes on the chemiluminescent response and mortality of cultured rockfish (*Sebastes schlegeli*). Aquaculture 192:93–99.

Kim KH, SW Hong, HN Moon and IK Yeo. 2018. Physiological responses of the chicken grunt *Parapristipoma trilineatum* to high water temperature stress. Korean J. Fish. Aquat. Sci. 51:714–719.

KMA. 2018. 2017 Abnormal Climate Report. Korea Meteorological Administration. Seoul, Korea. pp. 1–190.

Kroupova H, J Machova and Z Svobodova. 2005. Nitrite influence on fish: a review. Vet. Med. 50:461.

Kroupova H, M Prokes, S Macova, M Penaz, V Barus, L Novotny and J Machova. 2010. Effect of nitrite on early-life stages of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Environ. Toxicol. Chem. 29:535–540.

Kroupova H, J Máchová, V Piačková, M Flajšhans, Z Svobodova and G Poleszczuk. 2006. Nitrite intoxication of common carp (*Cyprinus carpio* L.) at different water temperatures. Acta Vet. Brno 75:561–569.

Knudsen PK and FB Jensen. 1997. Recovery from nitrite-induced methaemoglobinaemia and potassium balance disturbances in carp. Fish Physiol. Biochem. 16:1–10.

Le Ruyet JP, G Boeuf, JZ Infante, S Helgason and A Le Roux. 1998. Short-term physiological changes in turbot and seabream juveniles exposed to exogenous ammonia. Comp. Biochem. Physiol. Part A-Mol. Integr. Physiol. 119:511–518.

Lee HJ, HW Kim, MH Kim, DJ Kim, KH Kim, SH Bae and CH Han. 2017. Nitrite removal characteristics and application of *Bosea* sp. isolated from BFT system culture water. Korean J. Fish. Aquat. Sci. 50:378–387.

Malarvizhi A, C Kavitha, M Saravanan and M Ramesh. 2012. Carbamazepine (CBZ) induced enzymatic stress in gill, liver and muscle of a common carp, *Cyprinus carpio*. J. King Saud Univ. Sci. 24:179–186.

Medeiros RS, BA Lopez, LA Sampaio, LA Romano and RV Rodrigues. 2016. Ammonia and nitrite toxicity to false clownfish *Amphiprion ocellaris*. Aquac. Int. 24:985–993.

Michael MI, AM Hilmy, NA El-Domiaty and K Wershana. 1987. Serum transaminases activity and histopathological changes in *Clarias lazera* chronically exposed to nitrite. Comp. Biochem. Physiol. C-Toxicol. Pharmacol. 86:255–262.

Molina R, I Moreno, S Pichardo, A Jos, R Moyano, JG Monterde and A Camean. 2005. Acid and alkaline phosphatase activities and pathological changes induced in Tilapia fish (*Oreochromis* sp.) exposed subchronically to microcystins from toxic cyanobacterial blooms under laboratory conditions. Toxicon 46:725–735.

Oner M, G Atli and M Canli. 2008. Changes in serum biochemical parameters of freshwater fish *Oreochromis niloticus* following prolonged metal (Ag, Cd, Cr, Cu, Zn) exposures. Environ. Toxicol. Chem. 27:360–366.

Ramesh M, S Anitha, RK Poopal and C Shobana. 2018. Evaluation of acute and sublethal effects of chloroquine (C18H-26CIN3) on certain enzymological and histopathological biomarker responses of a freshwater fish *Cyprinus carpio*. Toxicol. Rep. 5:18–27.

Sachar A and S Raina. 2014. Effect of inorganic pollutant (Nitrate) on biochemical parameters of the fish, *Aspidoparia morar*. Int. J. Innov. Res. Sci. Eng. Technol. 3:12568–12573.

Saroglia MG, G Scarano and E Tibaldi. 1981. Acute toxicity of nitrite to sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and European eel (*Anguilla anguilla*). J. World Aquac. Soc. 12:121–126.

Sathya V, M Ramesh, RK Poopal and B Dinesh. 2012. 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 Immunol. 32:862–868.

Song YB, SR Oh, JP Seo, BG Ji, BS Lim, YD Lee and HB Kim. 2005. Larval development and rearing of longtooth grouper *Epinephelus bruneus* in Jeju Island, Korea. J. World Aquac. Soc. 36:209–216.

Stormer J, FB Jensen and JC Rankin. 1996. Uptake of nitrite, nitrate, and bromide in rainbow trout, (*Oncorhynchus mykiss*): effects on ionic balance. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 53:1943–1950.

Sugiyama M, H Tanaka and K Fukusho. 1991. Toxicity of total ammonia and nitrite nitrogen to young yellowtail, *Seriola quinqueradiata*. Bull. Natl. Res. Inst. Aquacult. (Jpn.) 19:31–33.

Sun Y, CY Guo, DD Wang, XF Li, L Xiao, X Zhang and HR Lin. 2016. Transcriptome analysis reveals the molecular mechanisms underlying growth superiority in a novel grouper hybrid (*Epinephelus fuscogutatus*♀ × *E. lanceolatus*♂). BMC Genet. 17:24.

Tilak KS, K Veeraiah and JMP Raju. 2007. Effects of ammonia, nitrite and nitrate on hemoglobin content and oxygen consumption of freshwater fish, *Cyprinus carpio* (Linnaeus). J. Environ. Biol. 28:45–47.

Wang W, H Wang, C Yu and Z Jiang. 2015. Acute toxicity of ammonia and nitrite to different ages of Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) larvae. Chem. Speciation Bioavail. 27:147–155.

Woo NYS and Chiu SF 1997. Metabolic and osmoregulatory responses of the sea bass *Lates calcarifer* to nitrite exposure. Environ. Toxicol. Water Qual. 12:257–264.

Yildiz HY, G Koksal, G Borazan and CK Benli. 2006. Nitrite-induced methemoglobinemia in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. J. Appl. Ichthyol. 22:427–426.

Yoo JT, YH Kim, SH Song and SH Lee. 2018. Characteristics of egg and larval distributions and catch changes of anchovy in relation to abnormally high sea temperature in the South Sea of Korea. J. Korean Soc. Fish. Ocean Technol. 54:262–270.

 ©2020. Korean Society of Environmental Biology.