

# 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)의 혈액성상, 혈장성분 및 항산화 반응에 미치는 미세플라스틱의 독성 영향

강정훈 · 고지연 · 유영빈 · 최재호 · 이주형 · 강주찬\*

부경대학교 수산생명의학과

## Toxic Effects of Microplastic on Hematological Parameters, Plasma Components, and Antioxidant Responses in the Korean Rockfish *Sebastes schlegelii*

Jung-Hoon Kang, Ji Yeon Ko, Young-Bin Yu, Jae-Ho Choi, Ju-Hyeong Lee and Ju-Chan Kang\*

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

This study aimed to evaluate the effects of polyethylene microplastic (PE-MPs) via measuring the growth performance, hematological parameters, and antioxidant responses in Korean rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to waterborne polyethylene microplastic with dimensions of 22–71  $\mu\text{m}$ . *S. schlegelii* (mean weight, 34.55 $\pm$ 5.82 g; mean length, 12.59 $\pm$ 0.79 cm) were exposed to PE-MPs at concentrations of 0, 400, 800, 1,600 and 3,200  $\mu\text{g/L}$  for 10 and 20 days. PE-MPs significantly affected growth performance, hematological parameters, plasma components, and antioxidant responses in a concentration-dependent manner. At a concentration  $\geq 1,600 \mu\text{g/L}$ , PE-MPs significantly decreased body weight gain and specific growth rate, and significantly increased the hepatosomatic index. Hematological parameters showed a significant decrease in total red blood cell count and hemoglobin levels. Plasma components showed a significant increase in glucose, aspartate aminotransferase, and alanine transaminase levels, whereas total protein, calcium, and magnesium levels significantly decreased. Exposure to  $\geq 1,600 \mu\text{g/L}$  PE-MPs also induced reactive oxygen species generation in the gill and liver, significantly increasing superoxide dismutase and catalase activity. These findings suggest that exposure to  $\geq 1,600 \mu\text{g/L}$  PE-MPs could significantly change growth performance, hematological parameters, plasma components, and antioxidant responses, resulting in physiological toxicity.

Keywords: Polyethylene, Microplastic, Hematological parameters, Antioxidant responses

## 서론

플라스틱은 가공이 용이하고 내구성이 좋으며 가격이 저렴하여 상업, 의료, 건축 등 다양한 분야에서 사용량이 급격하게 증가했다(Xiang et al., 2022). 전 세계적으로 플라스틱의 생산량은 2018년에 약 3억 6천만톤에 달했으며, 2050년까지 약 11억 톤으로 증가할 것으로 예상된다(Yu et al., 2023). 플라스틱의 생산량의 증가와 함께 많은 양의 플라스틱 폐기물이 수생환경으로 유입되었고, 이는 자외선, 마모 및 침식 등 물리적 요인과 열분해 및 광분해 같은 화학적 요인 의해 작은 입자로 분해된다(Barboza et al., 2020; Dai et al., 2022). 일반적으로 입자 크기

가 5 mm 이하인 것을 미세플라스틱이라 하며 이는 출처에 따라 산업 또는 화장품 용도로 제조되는 1차 미세플라스틱과 환경 요인으로 인해 플라스틱이 분해되어 만들어지는 2차 미세플라스틱으로 나뉜다(Jiang et al., 2022). 폴리에틸렌(polyethylene)은 전 세계에서 생산되는 플라스틱 중 약 38%를 차지하는 주요 플라스틱으로, 분해되는 속도가 상대적으로 빨라 수생환경에서 발견되는 미세플라스틱의 대부분인 약 90%를 차지한다(Kim et al., 2021a).

수생 환경에서 고농도의 미세플라스틱 노출은 어류에게 독성 영향을 미칠 수 있다. 미세플라스틱은 폴리염화비페닐(polychlorinated biphenyls), 다환방향족탄화수소(polycyclic aro-

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5944 Fax: +82. 51. 629. 5938

E-mail address: jckang@pknu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2024.0227>

Korean J Fish Aquat Sci 57(3), 227-238, June 2024

Received 8 April 2024; Revised 27 May 2024; Accepted 30 May 2024

저자 직위: 강정훈(연구원), 고지연(대학원생), 유영빈(연구원), 최재호(대학원생), 이주형(대학원생), 강주찬(교수)

matic hydrocarbons), 헥사클로로사이클로헥산(hexachlorocyclohexane)과 같은 잔류성 유기오염물질(persistent organic pollutants)을 흡착할 수 있는 넓은 표면적을 가지고 있으며 (Anderson et al., 2016; Conesa, 2022), 수동적 제거가 어려워 수생 환경에서 장기간 잔류하는 경우가 많다(Lee et al., 2023). 미세플라스틱은 섭취나 아가미를 통해 어류의 체내로 흡수되어 소화관 막힘, 장 천공 등 소화 시스템에 물리적 손상을 일으킬 수 있다(Ma et al., 2020). 또한 소화기계를 통해 흡수된 후 영양소 흡수 감소, 성장 저하, 생식 장애, 내분비 교란, 면역 기능 저하 등을 초래할 수 있다(Kim et al., 2021b). 따라서 어류가 미세플라스틱에 지속적으로 노출되면 먹이 사슬에 영향을 미치고, 생물 다양성을 감소시키며, 생태계 상호작용을 방해하여 수생태계의 균형과 안정성을 위협할 수 있다(Wang et al., 2020).

미세플라스틱은 아가미와 장 상피세포를 통해 순환기계로 들어갈 수 있으며, 세포막을 손상시켜 다양한 효소 성분에 영향을 미치고 지질 과산화, 대사 장애 및 염증 반응을 유도하여 혈액학적 성상에 직접적인 영향을 미칠 수 있다(Jovanović et al., 2018). 미세플라스틱은 반데르발스, 정전기, 수소 결합 및 소수성 힘에 의해 적혈구 막에 부착될 수 있으며, 이에 따라 적혈구의 응집 및 혈관 내피 세포 부착으로 이어질 수 있다(Chambers and Mitragotri, 2004; Barshtein et al., 2016). 미세플라스틱이 적혈구 막에 부착되어 적혈구가 물리적 또는 화학적으로 손상되면 적혈구 용혈이 발생하여 악영향을 미칠 수 있다(Yu et al., 2023). 또한, 특정 기관에 축적되어 조혈 조직의 활동을 억제하여 용혈성 빈혈을 일으키고 생리적 항상성 유지에 부정적인 영향을 미칠 수 있다(Choi and Kim, 2023). 따라서 혈액학적 성상은 미세플라스틱이 어류에 미치는 독성 효과를 평가하는 데 중요하고 민감한 지표 역할을 할 수 있다(Hamed et al., 2019).

환경 오염물질은 어류의 체내에서 이물질로 인식되어 초과산화물 음이온(superoxide anion,  $O_2^-$ ), 하이드록실 라디칼(hydroxyl radical,  $OH\cdot$ ) 및 과산화수소(hydrogen peroxide,  $H_2O_2$ )와 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 과도한 생성을 유도한다(Madeira et al., 2013; Kim et al., 2021b). 어류의 체내에서 적절한 ROS 수준을 유지하는 것은 면역 반응, 세포 주기 및 에너지 대사와 관련된 핵심 신호 전달 경로의 기능에 기여한다(Lee et al., 2023). 그러나 과도한 ROS의 생성은 항산화 반응의 자극을 유도하며, ROS 생성과 항산화 능력 사이의 균형이 무너지면 산화스트레스가 유발되어 산화 손상을 초래한다(Solomando et al., 2021). 미세플라스틱 노출로 인한 산화스트레스의 메커니즘은 아직 명확하지 않지만, 이는 ROS 관련 신호 경로 및 항산화 효소의 변화와 같은 산화스트레스와 관련된 생물학적 반응을 유도한다(Jeong et al., 2017). 어류는 SOD (superoxide dismutase) 및 CAT (catalase)와 같은 효소를 포함한 항산화 시스템을 갖고 있으며, 항산화 효소의 활성 또는 억제를 평가하는 것은 어류의 미세플라스틱 노출로 인한 독성 효과를 평가하는 효과적인 수단이 될 수 있다(Yu et al., 2023).

어류는 환경 내 오염물질에 매우 민감하여 수생 환경의 질을 나타내는 효과적인 생물학적 지표 역할을 할 수 있다(Yu et al., 2019). 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)은 치어 생산이 용이하고 우리나라 해상 가두리에서 많이 양식되는 경제적으로 중요한 어종 중 하나이며, 저수온에 강하여 낮은 수온에서도 빠르게 성장한다(Jee et al., 2015). 생태지표종으로써 *S. schlegelii*의 중요성과 최근 플라스틱 사용량의 증가로 인한 수생태계의 미세플라스틱에 대한 잠재적 독성에도 불구하고 어류의 미세플라스틱 독성에 대한 연구는 충분하지 않다. 어류에 대한 미세플라스틱 독성을 모니터링하려면 생태 지표종을 통해 생물학적 지표를 평가하는 것이 중요하며, 이는 통제된 환경에서 스트레스에 대한 생리적 반응을 기반으로 검증할 수 있다(Fabrello et al., 2022; Pagano et al., 2022). 따라서 본 연구에서는 *S. schlegelii*의 미세플라스틱 노출이 성장률, 혈액학적 성상 및 항산화 반응에 미치는 영향을 분석하여 미세플라스틱에 노출된 어류의 독성 표준 지표를 확립하고 잠재적 위험을 식별하는 것을 목표로 하였다.

## 재료 및 방법

### 폴리에틸렌 미세플라스틱

본 연구에서 사용한 미세플라스틱은 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)에서 구입한 폴리에틸렌(CAS number, 9002-88-4)을 사용했다. 제조사 매뉴얼에 따르면 미세플라스틱의 입자 크기는 34–50  $\mu\text{m}$ 이지만, 정확한 크기 분석을 위해 입도분석기(Mastersizer 3000; Malvern Panalytical Ltd., Malvern, UK)를 사용한 결과, 22–71  $\mu\text{m}$ 가 전체 부피의 94.5% 이상을 차지했다(Fig. 1). 미세플라스틱 입자 표면의 형태를 분석하기 위해 전계방사형 주사전자현미경(MIRA 3 LMH In-Beam Detector; TESCAN, Brno, Czech Republic)을 사용한 결과, 다공성의 입자 표면을 확인했다(Fig. 2).

### 실험어 및 실험 방법

본 실험에 이용된 *S. schlegelii* (평균 무게  $34.55 \pm 5.82$  g; 평균 전장  $12.59 \pm 0.79$  cm)는 통영 풍화리 양식장에서 분양받았다. 실험 노출 전 2주 동안 순치하였으며, 외관상 질병이 없는 개체를 선별하여 실험에 이용하였다. 실험 노출은 노출농도(미세플라스틱 0, 400, 800, 1,600, 3,200  $\mu\text{g/L}$ )와 노출기간(10일, 20일)에 따라 10개의 200 L 원형수조에 6마리씩 수용하였다. Nunes et al. (2023)에 따르면 자연 환경에서 해수 내 미세플라스틱 농도가 수체 부피 기준으로 0–809,000개/ $\text{m}^3$ , 수면 면적 기준으로는 21.3–1,650,000,000개/ $\text{km}^2$ 의 다양한 범위를 보인다고 보고되었다. 그러나 미세플라스틱 수집 및 분석 방법의 한계로 인해 실제 수생 생태계 내에는 보고된 것보다 훨씬 더 많은 미세플라스틱이 존재할 것으로 예상된다(Browne et al., 2008; Lindeque et al., 2020; Nunes et al., 2023). 본 연구에

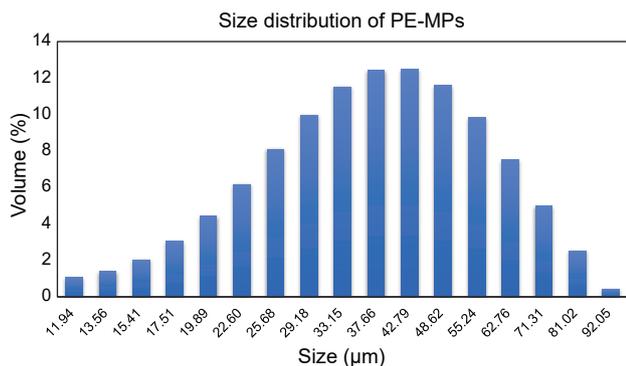


Fig. 1. Size distribution of polyethylene microplastic using a particle size analyzer.

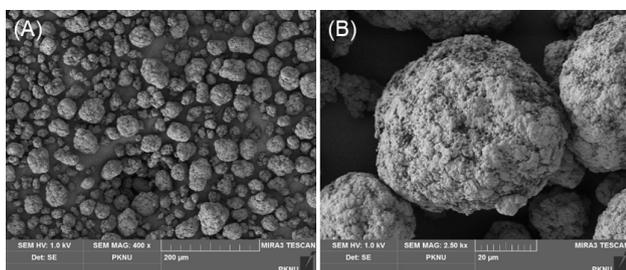


Fig. 2. The particle shape and size of polyethylene microplastic using a field emission scanning electron microscope (A, scale bar = 200 µm, magnification = 400 x; B, scale bar = 20 µm, magnification = 2.50 kx).

서 설정한 노출 농도는 실제 해양 환경에 존재하는 미세플라스틱의 농도보다 훨씬 높지만, 이는 미세플라스틱에 노출된 *S. schelegelii*에 대한 독성 영향 기준을 제시할 수 있다. 본 연구에서는 다양한 미세플라스틱 노출 선행 연구와 예비 실험을 참고하여 본 실험의 노출 농도를 설정하였다(Lu et al., 2016; Kim et al., 2021a; Sahabuddin et al., 2023). 각 수조는 설정한 노출농도 및 기간에 따라 수인성 노출로 진행하였으며, 반지수식 형태로 24시간마다 수조 내 물을 100% 환수하였다. 실험 기간 동안 사료공급량은 실험구별 어체중의 2%를 공급하였다. 사육수의 수질(수온, pH, 염분, 용존산소)는 휴대용 수질 분석기(Cyber-Scan Series 600; Eutech Instruments Pte Ltd., Vernon Hills, IL, USA)를 이용하여 측정하였으며, 질산화물(암모니아, 아질산, 질산염)은 분석용 키트(Merck & Co., Inc., Kenilworth, NJ, USA)를 이용하여 측정하였다(Table 1). 실험 노출 10일 후와 20일 후에 6마리를 50 mg/L tricaine methanesulfonate solution (MS-222; Sigma-Aldrich) 사용하여 마취시켰다. 모든 실험은 3회 반복 실시하였으며, 국립부경대학교 동물실험관리위원회 운영규정 및 승인된 동물실험 방법을 준수하여 진행하였다(PKNU IACUC-2022-54).

성장률

미세플라스틱 노출 10일과 20일 후, 실험어의 체중과 간 중량을 측정하고 다음과 같은 수식을 이용하여 BWG (body weight gain), SGR (specific growth rate), HSI (hepatosomatic index)를 계산하였다.

$$BWG (\%) = 100 \times (\text{Final body weight} - \text{Initial body weight}) / (\text{Initial body weight})$$

$$SGR (\%) = 100 \times (\text{Ln Final weight} - \text{Ln Initial weight}) / (\text{Days})$$

$$HSI (\%) = 100 \times (\text{Liver weight}) / (\text{Final body weight})$$

혈액학적 성상

혈액학적 성상을 분석하기 위해 heparin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 처리된 주사기를 이용하여 꼬리 정맥에서 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 즉시 total red blood cell counts (RBC counts)와 hemoglobin을 측정하였다. RBC counts는 hayem's diluting solution을 이용하여 400배 희석한 후 hemocytometer (Improved Neubauer; Paul Marienfeld GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen, Germany)를 사용하여 측정하였다. Hemoglobin은 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd., Seoul, Korea)을 이용하였으며, 제조사의 매뉴얼에 따라 분석하였다.

혈장성분

혈장성분 분석을 위해 채취한 혈액을 4°C 에서 3000 g로 10분간 원심분리 후 혈장을 분리하였다. 혈장 유기성분으로 glucose과 total protein을 측정하였다. Glucose는 glucose oxidase-peroxidase법을, total protein은 Biuret법을 이용한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하였으며, 모두 제조사의 매뉴얼에 따라 분석하였다. 혈장 무기성분으로 calcium과 magnesium을 측정하였다. Calcium은 o-cresolphthalein

Table 1. The chemical components of seawater and experimental conditions

Item	Value
Photoperiod (light:dark cycle)	12 h:12 h
Temperature (°C)	19.1±0.6
pH	8.0±0.2
Salinity (psu)	32.95±0.40
Dissolved oxygen (mg/L)	7.61±0.47
Ammonia (mg/L)	0.13±0.01
Nitrite (mg/L)	0.08±0.05
Nitrate (mg/L)	0.21±0.09

complexone법을, magnesium은 Xylidyl blue-I법을 이용한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하였으며, 모두 제조사의 매뉴얼에 따라 분석하였다. 혈장 효소활성으로 AST (aspartate aminotransferase)와 ALT (alanine aminotransferase)를 측정하였다. AST와 ALT 모두 Reitman-Frankel법을 이용한 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd., Seoul, Korea)를 사용하였으며, 모두 제조사의 매뉴얼에 따라 분석하였다.

### 항산화 반응

항산화 반응 분석을 위해 아가미와 간의 SOD와 CAT를 분석하였다. 아가미와 간 조직을 0.1 M phosphate buffered solution (PBS; pH 7.4)을 이용하여 10배 희석한 후 Gene Ready standard homogenizer (BSH-2; BIOFACT CO., Ltd., Daejeon, Korea)를 이용하여 균질화했다. 균질화된 조직을 4°C에서 10,000 g로 30분간 원심분리하고 상층액을 분리하여 SOD와 CAT를 분석했다. SOD 및 CAT 활성은 각각 SOD Assay Kit (Dojindo Molecular Technologies, Inc., Rockville, MD, USA) 및 CAT Assay Kit (Cell Biolabs, Inc., San Diego, CA, USA)를 사용하였으며, 모두 제조사의 매뉴얼에 따라 분석하였다. 조직 내 단백질 함량은 비색법을 기반으로 한 Total Protein Assay Kit (Bio-Rad Laboratories, Inc., Seoul, Korea)를 사용하여 분석하였다.

### 통계분석 방법

통계 분석은 SPSS Statistics version 27 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 그룹 간 분석은 일원분산분석(one-way ANOVA)과 Tukey's multiple range test를 사용하여 P 값이 0.05 미만일 때 유의미한 차이로 간주하였다. 모든 값은 평균 ± 표준편차(standard deviation, S.D)로 표현되었다.

## 결 과

### 성장률

미세플라스틱에 10일 및 20일간 노출된 *S. schlegelii*의 BWG, SGR, HSI는 Fig. 3에 나타났다. *S. schlegelii*의 BWG는 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 감소했다( $P < 0.05$ ). SGR은 미세플라스틱 노출 10일차와 20일차 모두 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 감소했다( $P < 0.05$ ). HSI는 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 증가했다( $P < 0.05$ ).

### 혈액학적 성상

미세플라스틱에 10일 및 20일간 노출된 *S. schlegelii*의 혈액학적 성상은 Fig. 4에 나타났다. *S. schlegelii*의 RBC counts 및 hemoglobin은 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 감소했다( $P < 0.05$ ).

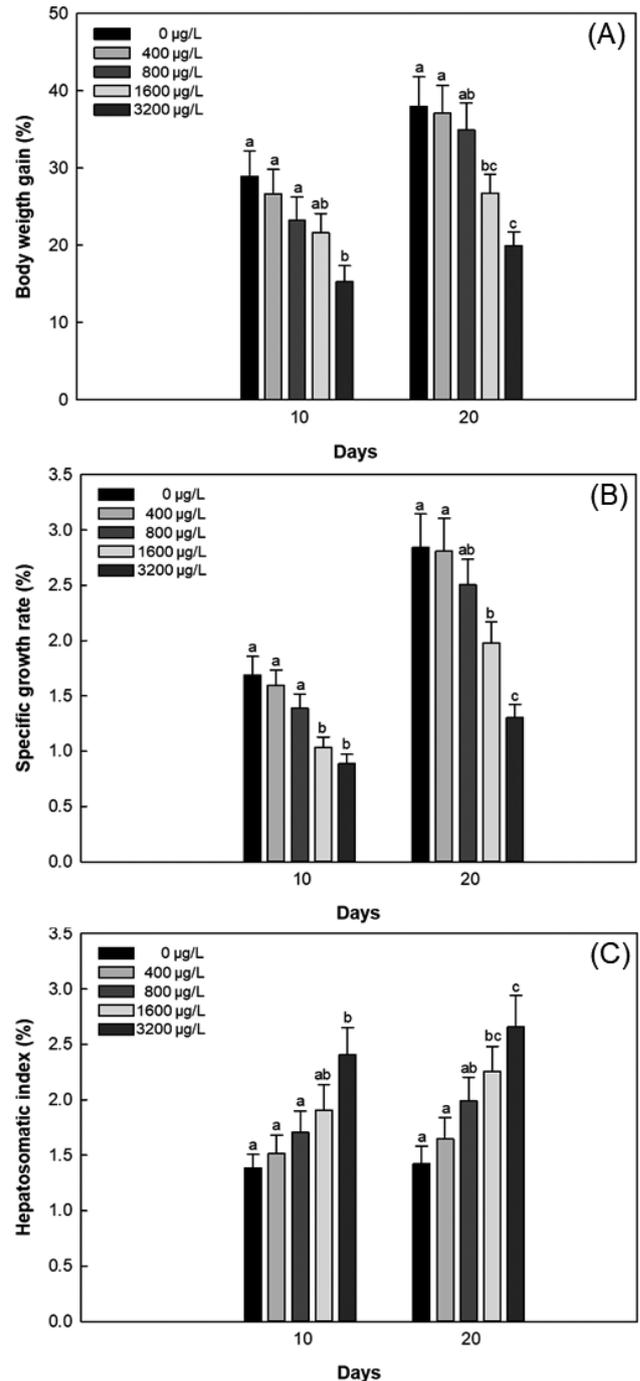


Fig. 3. (A) Body weight gain, (B) specific growth rate, and (C) hepatosomatic index of black rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to polyethylene microplastic after 10 and 20 days. Values were expressed as mean±S.D. Results were compared using one-way ANOVA followed by Tukey multiple range test. The superscript indicates the significant differences between groups ( $P < 0.05$ ) at 10 and 20 days.

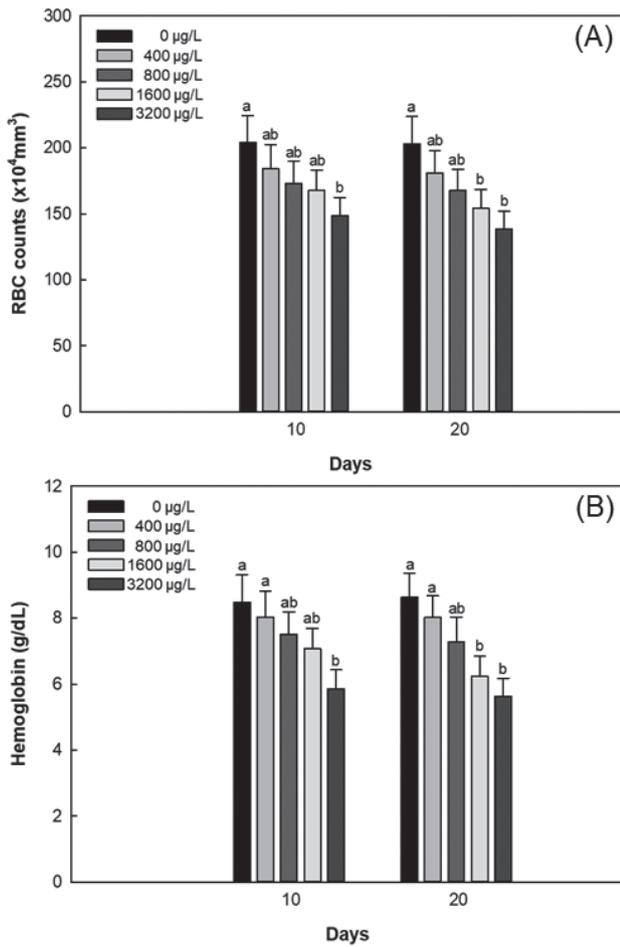


Fig. 4. (A) RBC counts and (B) hemoglobin of black rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to polyethylene microplastic after 10 and 20 days. Values were expressed as mean±S.D. Results were compared using one-way ANOVA followed by Tukey multiple range test. The superscript indicates the significant differences between groups (P<0.05) at 10 and 20 days. RBC, Total red blood cell.

혈장 성분

미세플라스틱에 10일 및 20일간 노출된 *S. schlegelii*의 혈장 유기성분은 Fig. 5에 나타났다. *S. schlegelii*의 glucose 수치는 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 증가했다(P<0.05). Total protein 수치는 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 감소했다(P<0.05).

미세플라스틱에 10일 및 20일간 노출된 *S. schlegelii*의 혈장 무기성분은 Fig. 6에 나타났다. *S. schlegelii*의 calcium 수치는 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 감소했다(P<0.05). *S. schlegelii*의 magnesium 수치는 미세플라스틱 노출 10일차 및 20일차 모두

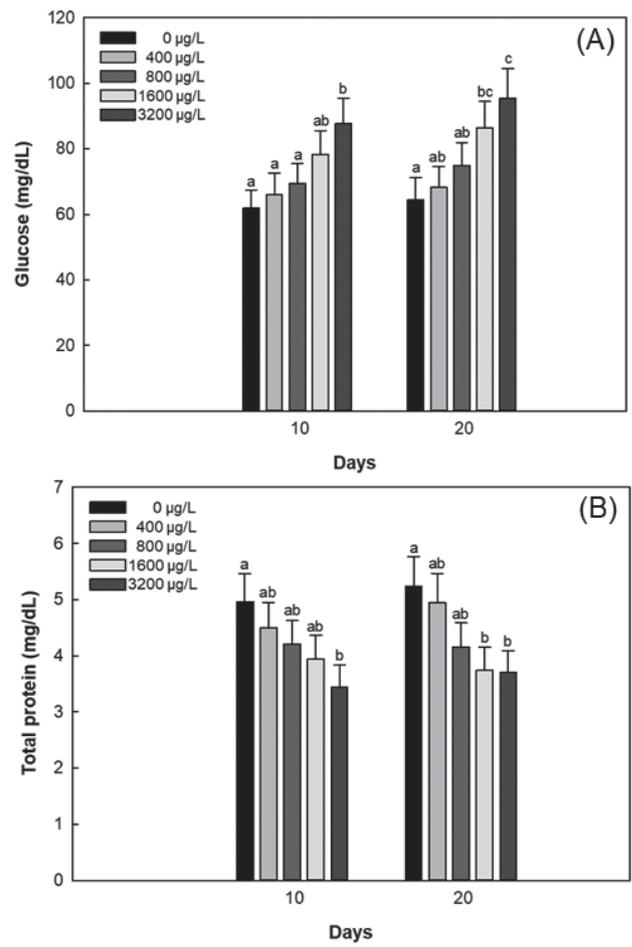


Fig. 5. (A) Glucose and (B) total protein of black rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to polyethylene microplastic after 10 and 20 days. Values were expressed as mean±S.D. Results were compared using one-way ANOVA followed by Tukey multiple range test. The superscript indicates the significant differences between groups (P<0.05) at 10 and 20 days.

1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 감소했다(P<0.05).

미세플라스틱에 10일 및 20일간 노출된 *S. schlegelii*의 혈장 효소성분은 Fig. 7에 나타났다. *S. schlegelii*의 AST 수치는 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 증가했다(P<0.05). *S. schlegelii*의 ALT 수치는 미세플라스틱 노출 10일차 및 20일차 모두 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 증가했다(P<0.05).

항산화 반응

미세플라스틱에 10일 및 20일간 노출된 *S. schlegelii*의 아가미와 간의 SOD 활성은 Fig. 8에 나타났다. 아가미와 간의 SOD 활성은 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 증가했다(P<0.05).

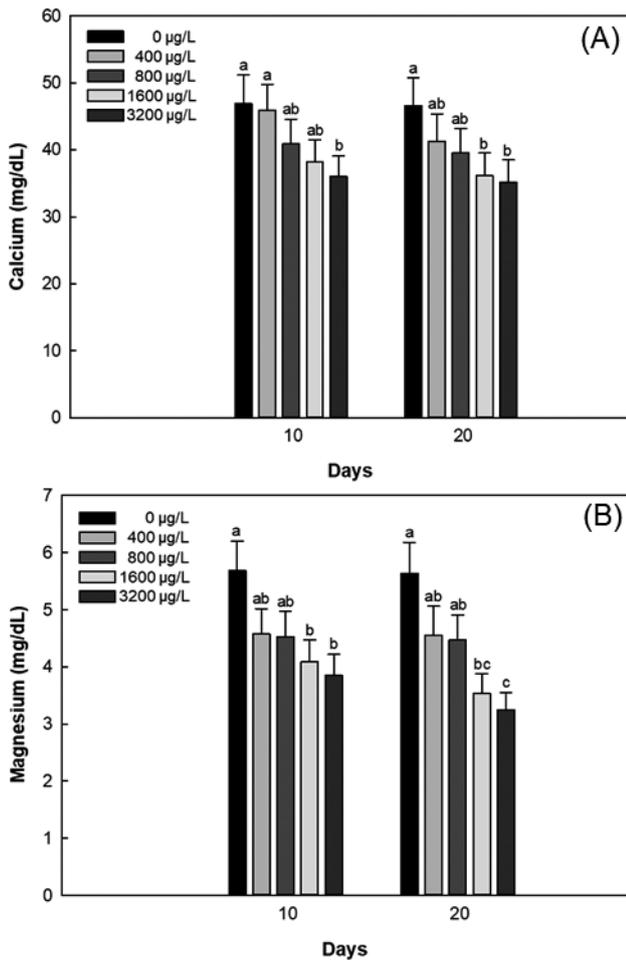


Fig. 6. (A) Calcium and (B) magnesium of black rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to polyethylene microplastic after 10 and 20 days. Values were expressed as mean±S.D. Results were compared using one-way ANOVA followed by Tukey multiple range test. The superscript indicates the significant differences between groups ( $P < 0.05$ ) at 10 and 20 days.

미세플라스틱에 10일 및 20일간 노출된 *S. schlegelii*의 아가미와 간의 CAT 활성은 Fig. 9에 나타났다. 아가미의 CAT 활성은 미세플라스틱 노출 10일차에 3,200 µg/L, 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 증가했다( $P < 0.05$ ). 간의 SOD 활성은 미세플라스틱 노출 10일차 및 20일차에 1,600 µg/L 이상의 농도에서 유의하게 증가했다( $P < 0.05$ ).

## 고찰

본 연구에서 선택한 분석 지표들은 영양 상태, 간 기능, 대사 및 면역 반응, 세포 손상과 같은 *S. schlegelii*의 생리적 특성을 나타내므로 미세플라스틱의 독성 영향을 정밀하게 평가할 수 있을 것으로 생각된다. 미세플라스틱과 같은 환경오염물질에

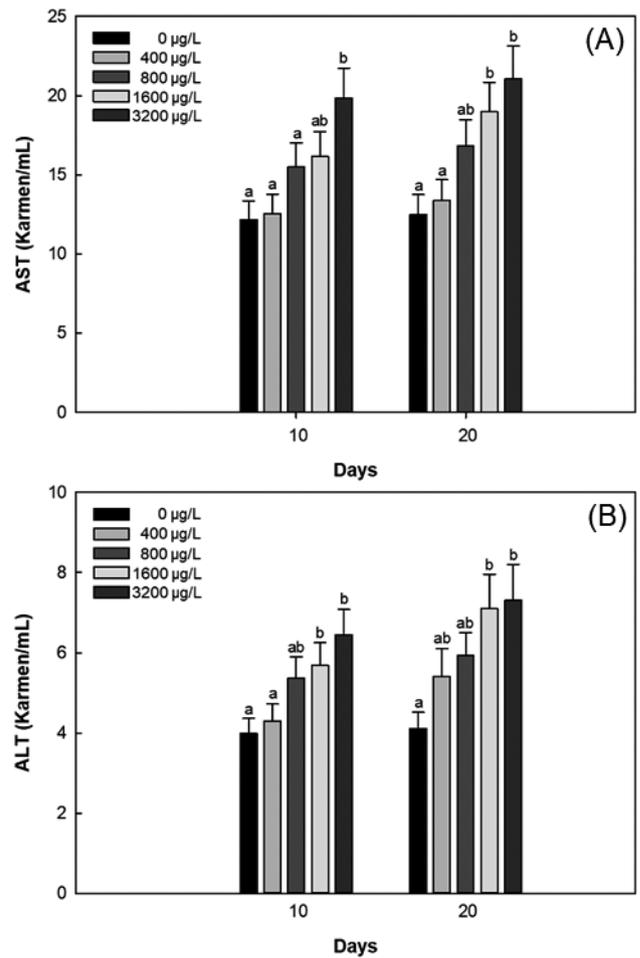


Fig. 7. (A) AST and (B) ALT of black rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to polyethylene microplastic after 10 and 20 days. Values were expressed as mean±S.D. Results were compared using one-way ANOVA followed by Tukey multiple range test. The superscript indicates the significant differences between groups ( $P < 0.05$ ) at 10 and 20 days. AST, Aspartate aminotransferase; ALT, Alanine aminotransferase.

노출된 어류는 성장에 필요한 에너지를 독성 대사 및 스트레스 완화에 소비함으로써 에너지 활용 효율이 감소하여 성장 저하가 발생한다(Jung et al., 2024). 더 나아가, 어류가 섭취한 미세플라스틱은 신진대사를 방해하고 소화관을 막아 에너지 흡수를 저해함으로써 어류의 성장을 저하시킨다(Wu et al., 2023). Lee et al. (2023)에 따르면 가장 높은 미세플라스틱 축적량이 발생하는 조직은 장이며, 지속적인 미세플라스틱 섭취는 어류의 장 폐색을 유발할 우려가 있다. 따라서, 어류의 성장률은 만성 독성 실험에서 신뢰할 수 있는 어류 건강 및 영양 평가지표로 활용될 수 있다(Wang et al., 2016a). BWG와 SGR은 어류의 성장 속도를 나타내는 지표로서 환경오염물질 노출이 어류의 건강과 생태계에 미치는 영향을 평가하는데 유용하게 사용된다

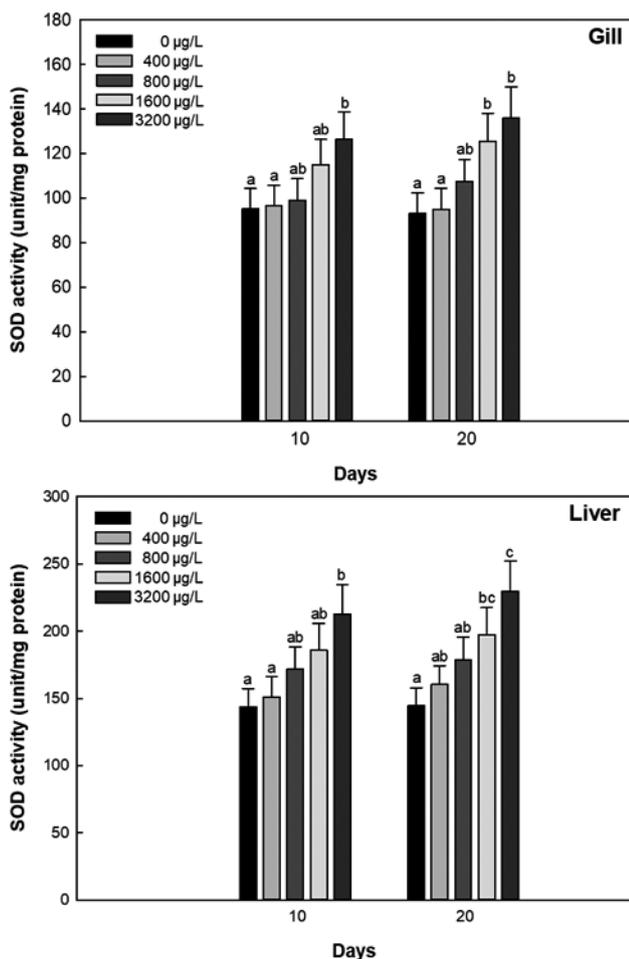


Fig. 8. SOD activity in the gill and liver of black rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to polyethylene microplastic after 10 and 20 days. Values were expressed as mean±S.D. Results were compared using one-way ANOVA followed by Tukey multiple range test. The superscript indicates the significant differences between groups ( $P<0.05$ ) at 10 and 20 days. SOD, Superoxide dismutase.

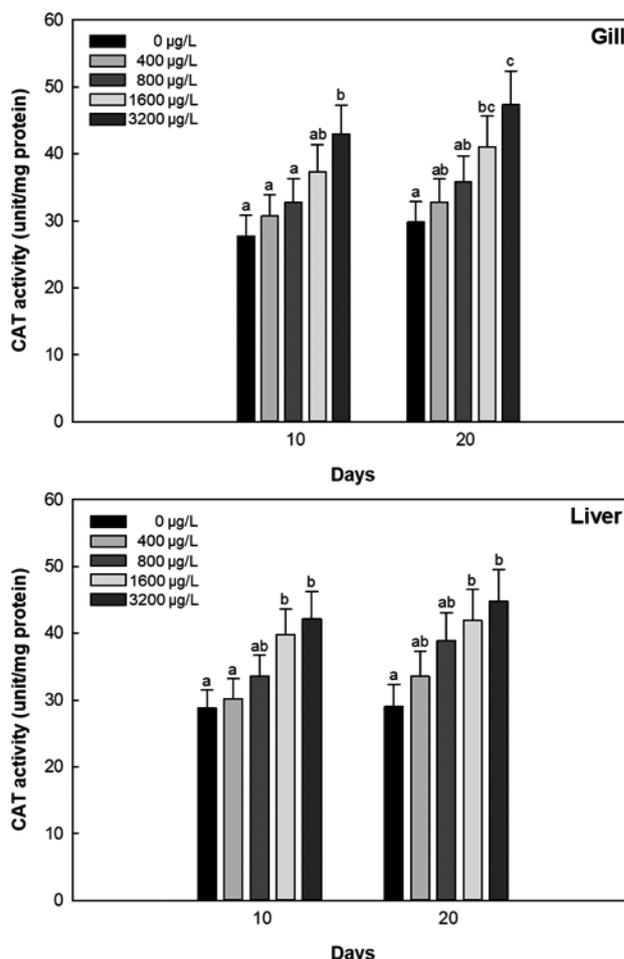


Fig. 9. CAT activity in the gill and liver of black rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to polyethylene microplastic after 10 and 20 days. Values were expressed as mean±S.D. Results were compared using one-way ANOVA followed by Tukey multiple range test. The superscript indicates the significant differences between groups ( $P<0.05$ ) at 10 and 20 days. CAT, Catalase.

(Mustafa et al., 2011). 본 연구에서 미세플라스틱에 노출된 *S. schlegelii*의 BWG와 SGR은 유의적으로 감소했다. 이는 미세플라스틱이 어류의 소화관에 잔류하여 포만감을 유발하고, 이로 인해 영양소 및 에너지 흡수가 저해되었기 때문으로 보인다. Nair and Perumal (2024)은 미세플라스틱에 노출된 나일틸라 피어(*Oreochromis niloticus*)에서 BWG와 SGR의 유의한 감소를 보고했으며, 이는 어류가 불리한 환경에 대응하기 위해 대사를 증가시켜 더 많은 에너지를 소모함으로써 성장에 영향을 줄 수 있음을 시사한다. Naidoo and Glassom (2019)는 미세플라스틱에 노출된 글래스피쉬(*Ambassis dussumier*)에서 BWG의 유의한 감소를 보고했으며, 성장을 위해 소비되는 에너지가 체 내에 잔류하는 플라스틱을 제거하는데 사용하였기 때문에 성장률이 저하되었다고 설명했다.

HSI는 환경오염물질 노출로 인한 간 크기 변화를 반영하여 해독 능력 또는 간 손상을 나타내는 어류 건강의 주요 지표 중 하나이다(Tan et al., 2010). 본 연구에서 미세플라스틱에 노출된 *S. schlegelii*의 HSI가 유의적으로 증가하였으며, 이는 산화스트레스로 인한 간 손상과 영양 대사의 장애로 인한 것으로 보인다. 미세플라스틱의 노출은 산화스트레스와 염증반응을 유발하여 간 지질대사에 장애를 일으킬 수 있으며, 이로 인해 간세포 내 중성지방의 과도한 축적을 초래하여 HSI가 증가할 수 있다(Lai et al., 2021; Del Piano et al., 2024). Yin et al. (2018)은 미세플라스틱에 노출된 *S. schlegelii*에서 간 손상과 비정상적인 지질 대사로 인한 HSI의 유의한 증가를 보고하였다. 이는 장애 축적된 미세플라스틱으로 인해 장 폐색과 위장 내막의 손상을 초래하여 영양소의 소화 및 흡수 장애와 산화스트레스로 인한

간 기능의 저하로 인한 것으로 설명했다. Wang et al. (2016b)은 TiO<sub>2</sub> 나노입자에 노출된 터봇(*Scophthalmus maximus*)의 간에서 울혈, 염증성 세포 침윤이 발견되었으며, 간의 지방대사에 영향을 미쳐 HSI가 유의적으로 증가했다고 보고했다.

수생환경 내 환경오염물질은 어류의 혈액학적 성상에 비교적 빠른 변화를 일으키며, 이러한 변화는 환경스트레스에 대한 어류의 생리적 반응으로 간주된다(Maurya et al., 2019). 게다가, 순환계로 유입된 미세플라스틱은 혈류의 흐름과 혈액 구성성분에 영향을 미칠 수 있기 때문에 어류의 혈액을 분석하는 것은 어류의 전반적인 건강 상태를 평가하는데 중요한 지표가 될 수 있다(Fazio, 2019; Scanes et al., 2019). RBC는 세포와 조직으로 산소와 같은 가스를 전달하는 어류 내 가장 풍부한 세포로서, 다양한 환경 스트레스 노출에 따른 어류의 건강 상태를 평가하는 중요한 지표로 활용된다(Shen et al., 2018). Hemoglobin (Hb)는 적혈구 내에 존재하는 단백질로, 산소를 다양한 조직에 운반하고 이산화탄소와 같은 대사산물을 아가미로 이동시켜 체외로 배출하는 것을 돕는다(Lemos et al., 2023). 본 연구에서 미세플라스틱에 노출된 *S. schlegelii*의 RBC counts와 Hb 수치는 유의하게 감소하였다. 이는 본 연구에서 사용한 22-71 μm 크기의 미세플라스틱이 순환계로 유입되어 적혈구 막의 손상으로 인한 용혈 때문으로 판단되며, 가스 교환 및 대사 물질 배출과 같은 생존에 필수적인 활동에 영향을 미칠 수 있음을 시사한다. 5-150 μm 크기의 미세플라스틱은 장 용모를 통해 순환계로 유입되어 적혈구막에 직접적으로 물리적 손상을 가해 용혈 또는 세포변형을 일으킬 수 있다(Jovanović et al., 2018; Shahriar et al., 2024). Sahabuddin et al. (2023)에 따르면 미세플라스틱 노출로 인해 적혈구의 용혈 및 파괴가 큰입선농어(*Lates calcalifer*)의 RBC counts와 Hb를 유의하게 감소시켰다고 보고했다. 또한 Das et al. (2023) 미세플라스틱에 노출된 *O. niloticus*에서 조직 손상 및 RBC 용혈에 따른 혈액희석으로 RBC counts와 Hb 수치가 유의하게 감소했다고 보고했으며, 더 나아가 혈액희석, 용혈 및 빈혈이 유기체의 미세플라스틱 독성에 대한 생체 지표 역할을 할 수 있음을 설명하였다. Yu et al. (2023)은 미세플라스틱에 노출된 붕어(*Carassius carassius*)에서 RBC counts와 Hb의 유의한 감소를 보고하였으며, 이를 통해 미세플라스틱이 어류 내에서 독성 물질로 작용할 수 있음을 입증하였다.

혈장 성분은 환경 스트레스로 인한 어류의 건강 상태 및 조직 손상을 평가하는데 유용한 지표이다(Yu et al., 2023). 환경 스트레스에 노출된 어류에서 total protein은 즉각적인 에너지원으로 활용되며, 체내의 항상성 유지, 면역 기능 강화 및 간, 아가미를 포함한 여러 조직과 기관의 생리적 기능을 수행하는 데 중요한 역할을 담당한다(Ko et al., 2019). 미세플라스틱을 포함한 다양한 환경 오염 물질은 어류 세포의 기능을 방해하여 단백질 합성에 장애를 일으키고 혈장 내 단백질 수치를 변화시킬 수 있으므로, total protein은 환경오염에 대한 생체지표로 활용될 수 있다(Lee et al., 2023). 본 연구에서 미세플라스틱에 노출

된 *S. schlegelii*의 total protein은 유의적으로 감소하였으며, 이는 미세플라스틱 독성이 세포 기능을 방해하여 단백질 합성을 저해하거나 간 손상을 유발하여 단백질 합성 및 대사 장애를 유발할 수 있음을 시사한다. 또한 미세플라스틱 노출은 어류에서 스트레스를 유발할 수 있으며(Kim et al., 2021b), 그에 따른 대처를 위한 즉각적인 total protein의 활용이 지속된다면 어류에게 다양한 생리적 문제를 유발할 것으로 예상된다. Banaee et al. (2019)은 미세플라스틱에 노출된 잉어(*Cyprinus carpio*)에서 total protein의 유의한 감소를 보고하였으며, 이는 미세플라스틱이 필수 아미노산의 흡수를 방해할 수 있음을 시사하였다. Haghi and Banaee (2017)은 미세플라스틱에 노출된 *C. carpio*에서 비효율적인 아미노산 흡수에 따른 total protein의 감소를 보고했으며, total protein의 감소는 단백질 생합성 장애 및 간 조직 손상을 야기할 수 있다고 설명했다. 마찬가지로, Yedier et al. (2023)은 미세플라스틱에 노출된 *C. carpio*에서 total protein의 유의한 감소를 보고했으며, 이를 조직 기능 장애 및 산화 스트레스를 극복하기 위한 에너지 사용 증가의 결과로 판단했다.

Glucose는 다양한 환경오염물질의 영향을 받은 어류의 건강 상태 및 스트레스 반응을 반영하는 생체 지표로 이용된다(Haghi and Banaee, 2017). Glucose는 어류를 포함한 대부분의 생물에게 에너지 공급원으로서 중요한 역할을 하며, 체내의 glucose 수준은 glucose 생산과 glycogen 저장의 항상성 유지를 통해 조절된다. 어류가 외부 오염물질에 의해 스트레스 혹은 간 기능 장애가 겪으면 이 과정의 장애가 생겨 체내 glucose 수준이 달라질 수 있다(Polakof et al., 2012; Nair and Perumal, 2024). 본 연구에서 미세플라스틱에 노출된 *S. schlegelii*의 glucose는 유의적으로 증가했다. 이는 미세플라스틱이 어류에 스트레스 반응을 유발할 수 있으며, 스트레스로 인한 높은 에너지 수요가 gluconeogenesis를 가속화하여 혈장 내 glucose의 수준을 증가시킨 것으로 판단된다. Hamed et al. (2019)는 미세플라스틱에 노출된 *O. niloticus*에서 glucose의 유의한 증가를 보고했으며, 이를 미세플라스틱 독성에 의한 간 손상으로 인한 glycogen 분해 및 glucose 흡수 저하에 의한 것으로 시사했다. 또한 Das et al. (2023)은 *O. niloticus*에서 glucose의 유의한 증가를 보고하였으며, 이는 미세플라스틱에 의해 유발된 스트레스에 대응하기 위해 glucose의 신생합성을 촉진함으로써 에너지 요구를 충족시키려는 시도로 설명했다. Iheanacho and Odo (2020)은 아프리카 민물메기(*Clarias gariepinus*)에서 미세플라스틱 노출에 따른 glucose의 유의한 증가를 보고했으며, 이는 미세플라스틱으로 인해 발생한 스트레스 상황에서 대사적 에너지 요구를 충족시키기 위해 glucose 활용이 증가했음을 나타낸다.

AST와 ALT는 간 효소로서, 단백질 및 아미노산 대사에 중요한 역할을 하며, 환경오염물질에 의한 간 조직 손상 및 기능 장애가 발생하면 혈장으로 방출된다(Atli et al., 2015). 따라서, ALT와 AST는 간 조직의 오염물질에 의한 손상을 평가하기 위한 신뢰성 있는 생체지표로 간주된다(Kim et al., 2021b). 본 연

구에서 미세플라스틱에 노출된 *S. schlegelii*의 AST 및 ALT는 유의적으로 증가했으며, 이러한 결과는 미세플라스틱에 의해 생성된 ROS로 인한 어류의 간 세포의 산화 손상으로 인해 혈장 내 수치가 증가한 것으로 보인다. Sahabuddin et al. (2023)은 미세플라스틱에 노출된 *L. calcalifer*에서 AST 및 ALT의 유의한 증가를 보고했으며, 이는 간 세포 손상 및 미토콘드리아와 세포막의 기능 장애에 의한 것으로 판단했다. Banaei et al. (2022)는 미세플라스틱에 노출된 *C. carpio*에서 AST 및 ALT의 유의한 증가를 보고했으며, 이는 미세플라스틱으로 인한 세포 독성이 세포막에 손상을 주어 AST와 ALT가 혈류로 누출되는 현상을 초래한 것으로 판단했다. 마찬가지로, Umamaheswari et al. (2021)은 염증 및 세포 손상에 대한 방어 반응으로 미세플라스틱에 노출된 제브라피쉬(*Danio rerio*)에서 AST 및 ALT의 유의한 증가를 보고했다.

혈장 내 무기성분인 calcium과 magnesium은 이온 항상성, 신호 전달, 지질 대사, 세포 사멸, 식세포 작용, 해독, 호르몬 분비를 포함한 다양한 생리적 기능에 관여하는 2가 양이온이다 (Zhou et al., 2020). 게다가, calcium과 magnesium의 항상성은 ROS와 밀접한 관련이 있으며, 체내 ROS 수준의 변화는 혈장과 소기관막을 손상시켜 세포 내 calcium과 magnesium의 불균형을 초래할 수 있다 (Misra et al., 2012). 본 연구에서 미세플라스틱에 노출된 *S. schlegelii*의 calcium과 magnesium은 유의적으로 감소했으며, 이는 미세플라스틱이 ROS 수준을 감소시킴으로써 어류의 혈장 calcium과 magnesium의 항상성에 변화를 유발하여 어류 건강에 부정적인 영향을 미칠 수 있는 것으로 보인다. Lee et al. (2023)은 미세플라스틱에 노출된 동자개 (*Pseudobagrus fulvidraco*)에서 순환계로 유입된 미세플라스틱의 독성에 따른 이온 항상성의 붕괴로 인해 calcium과 magnesium의 유의하게 감소한 것을 보고했다. Lei et al. (2018)은 미세플라스틱에 노출된 *D. rerio*에서 calcium의 유의한 감소를 보고했으며, 이를 미세플라스틱 독성으로 인한 조직 손상 및 영양 결핍에 의한 것으로 설명했다. Banaei et al. (2021)은 미세플라스틱에 노출된 유럽 연못거북(*Emys orbicularis*)에서 장내 과도한 미세플라스틱 축적으로 인한 장의 영양소 흡수 장애가 magnesium의 유의미한 감소를 초래했다고 보고했다. 하지만 미세플라스틱 독성과 calcium 및 magnesium 변화 사이의 메커니즘은 여전히 불분명한 상태이기 때문에 관련된 연구의 진행이 더 필요하다.

항산화 효소의 분석은 환경 독성물질로 인한 조직의 산화스트레스를 평가하는 지표로 사용된다. 독성물질에 노출된 어류의 항산화 시스템은 과도한 ROS 생성을 방지하기 위한 항산화 시스템의 활성화 단계와 지속적인 ROS 생성으로 인해 항산화 시스템이 손상되어 결과적으로 산화스트레스가 발생하는 단계로 나뉜다 (Zirong and Shijun, 2007). 항산화 효소인 SOD와 CAT는 항산화 시스템의 첫 번째 방어 메커니즘으로 작용한다. SOD는 ROS인 과산화물 음이온을 과산화수소로, CAT는 과산화수

소를 물과 산소로 촉매하여 과도한 ROS 생성을 방지하는 역할을 한다 (Lee et al., 2019). 본 연구에서 미세플라스틱에 노출된 *S. schlegelii*의 아가미와 간의 SOD와 CAT 활성은 유의적으로 증가했다. 이러한 결과는 미세플라스틱 노출이 ROS의 생성을 증가시켜 산화스트레스를 유발할 수 있으며, 이에 대응하기 위해 항산화 효소의 활성이 증가한 것으로 보인다. 본 연구와 유사하게, 많은 연구에서 미세플라스틱의 노출은 ROS를 증가시켜 어류의 항산화 효소의 활성이 증가한다고 보고되었다. Wen et al. (2018)에 따르면, 미세플라스틱에 노출된 디스커스(*Symphysodon aequifasciatus*)의 간에서 SOD와 CAT 활성이 유의하게 증가했으며, 이는 미세플라스틱 노출로 인한 산화스트레스에 대한 항산화 방어 반응으로 판단했다. 또한, Solomando et al. (2021)은 미세플라스틱 노출이 간에서 ROS의 생산을 증가시킴으로써 귀족도미(*Sparus aurata*)의 SOD와 CAT 활성을 유의미하게 증가시킨다고 보고했다. Choi and Kim (2023)는 미세플라스틱에 노출된 붕어(*Carassius carassius*)의 아가미와 간에서 SOD와 CAT 활성의 유의한 증가했으며, 이는 미세플라스틱에 의한 과도한 ROS 생성에 기인한 것으로, 산화스트레스를 예방하기 위한 반응으로 설명했다.

본 연구에서 1,600과 3,200 µg/L의 미세플라스틱의 노출은 *S. schlegelii*의 성장지표(BWG, SGR, HSI), 혈액학적 성상(RBC counts, hemoglobin)의 유의적인 감소를 나타냈으며, 혈장성분(glucose, total protein, calcium, magnesium, AST, ALT)의 유의적인 변화를 초래했다. 또한 1,600과 3,200 µg/L의 미세플라스틱의 노출은 *S. schlegelii*의 항산화 효소(SOD, CAT) 활성을 유의적으로 증가시켰다. 이러한 결과는 1,600과 3,200 µg/L의 미세플라스틱의 노출이 *S. schlegelii*의 성장 및 혈액학적 지표에 부정적인 영향을 미칠 뿐만 아니라 ROS생성을 유도하여 항산화 시스템에 변화를 초래함으로써 생리학적 독성을 유발할 수 있음을 시사한다. 향후 연구에서는 미세플라스틱은 크기, 모양, 재질에 따라 물리화학적 특성이 다르기 때문에 다양한 미세플라스틱을 대상으로 어류에 미치는 독성 영향을 평가하는 연구가 필요하다. 또한 미세플라스틱 노출이 어류의 면역 반응에 미치는 독성 영향에 관해서도 추가적인 연구가 이루어져야 할 것이다. 특히, 미세플라스틱이 어떠한 면역기작을 자극하여 염증성 사이토카인의 생산을 증가시키는지에 관해 메커니즘을 밝히고, 이에 관여하는 전사인자와 같은 분자생물학 접근에 대한 연구가 필요하다. 또한 항원제시 면역세포인 대식세포와 수지상세포가 미세플라스틱에 노출되었을 때 나타나는 세포 및 전사체 수준의 반응을 규명하는 연구도 필요할 것으로 사료된다.

## References

Anderson JC, Park BJ and Palace VP. 2016. Microplastics in aquatic environments: Implications for Canadian ecosystems. *Environ Pollut* 218, 269-280. <https://doi.org/10.1016/j>

- envpol.2016.06.074.
- Atli G, Ariyurek SY, Kanak EG and Canli M. 2015. Alterations in the serum biomarkers belonging to different metabolic systems of fish (*Oreochromis niloticus*) after Cd and Pb exposures. *Environ Toxicol Pharmacol* 40, 508-515. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.08.001>.
- Banaee M, Gholamhosseini A, Sureda A, Soltanian S, Fereidouni MS and Ibrahim ATA. 2021. Effects of microplastic exposure on the blood biochemical parameters in the pond turtle (*Emys orbicularis*). *Environ Sci Pollut Res* 28, 9221-9234. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-11419-2>.
- Banaee M, Soltanian S, Sureda A, Gholamhosseini A, Haghi BN, Akhlaghi M and Derikvandy A. 2019. 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. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.07.066>.
- Banaei M, Forouzanfar M and Jafarinia M. 2022. Toxic effects of polyethylene microplastics on transcriptional changes, biochemical response, and oxidative stress in common carp (*Cyprinus carpio*). *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 261, 109423. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109423>.
- Barboza LGA, Lopes C, Oliveira P, Bessa F, Otero V, Henriques B, Raimundo J, Caetano M, Vale C and Guilhermino L. 2020. Microplastics in wild fish from North East Atlantic Ocean and its potential for causing neurotoxic effects, lipid oxidative damage, and human health risks associated with ingestion exposure. *Sci Total Environ* 717, 134625 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134625>.
- Barshtein G, Livshits L, Shvartsman LD, Shlomai NO, Yedgar S and Arbell D. 2016. Polystyrene nanoparticles activate erythrocyte aggregation and adhesion to endothelial cells. *Cell Biochem Biophys* 74, 19-27. <https://doi.org/10.1007/s12013-015-0705-6>.
- Browne MA, Dissanayake A, Galloway TS, Lowe DM and Thompson RC. 2008. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environ Sci Technol* 42, 5026-5031. <https://doi.org/10.1021/es800249a>.
- Chambers E and Mitragotri S. 2004. Prolonged circulation of large polymeric nanoparticles by non-covalent adsorption on erythrocytes. *J Control Release* 100, 111-119. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2004.08.005>.
- Choi JH and Kim JH. 2023. Toxic effects of sub-acute microplastic (polyamide) exposure on the accumulation, hematological, and antioxidant responses in crucian carp, *Carassius carassius*. *Environ Toxicol Pharmacol* 102, 104199. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104199>.
- Conesa JA. 2022. Adsorption of PAHs and PCDD/Fs in microplastics: A review. *Microplastics* 1, 346-358. <https://doi.org/10.3390/microplastics1030026>.
- Dai Y, Shi J, Zhang N, Pan Z, Xing C and Chen X. 2022. Current research trends on microplastics pollution and impacts on agro-ecosystems: A short review. *Sep Sci Technol* 57, 656-669. <https://doi.org/10.1080/01496395.2021.1927094>.
- Das BC, Ramanan A, Gorakh SS, Pillai D and Jayadrathan RKV. 2023. Sub-chronic exposure of *Oreochromis niloticus* to environmentally relevant concentrations of smaller microplastics: Accumulation and toxico-physiological responses. *J Hazard Mater* 458, 131916. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131916>.
- Del Piano F, Almroth BC, Lama A, Piccolo G, Addeo NF, Paciello O, Martino G, Esposito S, Mercogliano R, Pirozzi C, Meli R and Ferrante MC. 2024. Subchronic oral exposure to polystyrene microplastics affects hepatic lipid metabolism, inflammation, and oxidative balance in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Ecotox Environ Safe* 279, 116455. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116455>.
- Fabrello J, Pagano M, Arrigo F, Ciscato M, Boldrin F, Giacobbe S, Porcino C, Briglia M, Guerrera MC, German`a A, Faggio C and Matozzo V. 2022. Identification of haemocytes and histological examination of gills of the spiny oyster *Spondylus gaederopus* (Linnaeus, 1758). *Fish Shellfish Immunol* 130, 164-174. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2022.09.013>.
- Fazio F. 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: A review. *Aquaculture* 500, 237-242. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.10.030>.
- Haghi BN and Banaee M. 2017. Effects of micro-plastic particles on paraquat toxicity to common carp (*Cyprinus carpio*): Biochemical changes. *Int J Environ Sci Technol* 14, 521-530. <https://doi.org/10.1007/s13762-016-1171-4>.
- Hamed M, Soliman H, Osman A and Sayed A. 2019. Assessment the effect of exposure to microplastics in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) early juvenile: I. blood biomarkers. *Chemosphere* 228, 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.04.153>.
- Iheanacho SC and Odo GE. 2020. Dietary exposure to polyvinyl chloride microparticles induced oxidative stress and hepatic damage in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Environ Sci Pollut Res* 27, 21159-21173. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08611-9>.
- Jee BY, Do YH, Min BH, Park MS, Hwang HG, Myeong JI and Cho JK. 2015. Changes of blood parameters in Korean rockfish *Sebastes schlegeli* subjected to acute hypoxia at different water temperatures. *Korean J Environ Biol* 33, 412-418. <https://doi.org/10.11626/KJEB.2015.33.4.412>.
- Jeong CB, Kang HM, Lee MC, Kim DH, Han J, Hwang DS, Souissi S, Lee SJ, Shin KH, Park HG and Lee JS. 2017. Adverse effects of microplastics and oxidative stress-induced MAPK/Nrf2 pathway-mediated defense mechanisms in the marine copepod *Paracyclopina nana*. *Sci Rep* 7, 41323. <https://doi.org/10.1038/srep41323>.
- Jiang Y, Yang F, Kazmi SSUH, Zhao Y, Chen M and Wang J.

2022. A review of microplastic pollution in seawater, sediments and organisms of the Chinese coastal and marginal seas. *Chemosphere* 286, 131677. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131677>.
- Jovanović B, Gökdağ K, Güven O, Emre Y, Whitley EM and Kideys AE. 2018. Virgin microplastics are not causing imminent harm to fish after dietary exposure. *Mar Pollut Bull* 130, 123-131. <https://doi.org/10.1016/j.marpollbul.2018.03.016>.
- Jung HC, Kim JH and Kang JC. 2024. Toxic impact of dietary cadmium on bioaccumulation, growth, hematological parameters, plasma components, and antioxidant responses in starry flounder (*Platichthys stellatus*). *Fishes* 9, 59. <https://doi.org/10.3390/fishes9020059>.
- Kim JH, Yu YB and Choi JH. 2021b. Toxic effects on bioaccumulation, hematological parameters, oxidative stress, immune responses and neurotoxicity in fish exposed to microplastics: A review. *J Hazard Mater* 413, 125423. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125423>.
- Kim SH, Kim GH, Kim JS, Kim JH, Jeon YH, Cho JH, Kim SR and Kim DH. 2021a. Changes in hematological parameters and plasma components of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* exposed to acute microplastics. *Korean J Environ Biol* 39, 344-353 <https://doi.org/10.11626/KJEB.2021.39.3.344>.
- Ko HD, Park HJ and Kang JC. 2019. Change of growth performance, hematological parameters, and plasma component by hexavalent chromium exposure in starry flounder, *Platichthys stellatus*. *Fish Aquat Sci* 22, 9. <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0124-5>.
- Lai W, Xu D, Li J, Wang Z, Ding Y, Wang X, Li X, Xu N, Mai K and Ai Q. 2021. Dietary polystyrene nanoplastics exposure alters liver lipid metabolism and muscle nutritional quality in carnivorous marine fish large yellow croaker (*Larimichthys crocea*). *J Hazard Mater* 419, 126454. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126454>.
- Lee JH, Kang JC and Kim JH. 2023. Toxic effects of microplastic (Polyethylene) on fish: Accumulation, hematological parameters and antioxidant responses in Korean Bullhead, *Pseudobagrus fulvidraco*. *Sci Total Environ* 877, 162874. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162874>.
- Lee JW, Choi H, Hwang UK, Kang JC, Kang YJ, Kim KI and Kim JH. 2019. Toxic effects of lead exposure on bioaccumulation, oxidative stress, neurotoxicity, and immune responses in fish: A review. *Environ Toxicol Pharmacol* 68, 101-108. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.010>.
- Lei L, Wu S, Lu S, Liu M, Song Y, Fu Z, Shi H, Raley-Susman K and He D. 2018. Microplastic particles cause intestinal damage and other adverse effects in zebrafish *Danio rerio* and nematode *Caenorhabditis elegans*. *Sci Total Environ* 619-620, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.103>.
- Lemos CH, de Oliveira CPB, de Oliveira IC, Lima AO, Couto RD, Vidal LVO and Copatti CE. 2023. Responses to graded levels of zinc amino acid complex in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Vet Res Commun* 48, 1025-1036. <https://doi.org/10.1007/s11259-023-10278-9>.
- Lindeque PK, Cole M, Coppock RL, Lewis CN, Miller RZ, Watts AJ, Wilson-McNeal A, Wright SL and Galloway TS. 2020. Are we underestimating microplastic abundance in the marine environment? A comparison of microplastic capture with nets of different mesh-size. *Environ Pollut* 265, 114721. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114721>.
- Lu Y, Zhang Y, Deng Y, Jiang W, Zhao Y, Geng J, Ding L and Ren H. 2016. Uptake and accumulation of polystyrene microplastics in zebrafish (*Danio rerio*) and toxic effects in liver. *Environ Sci Technol* 50, 4054-4060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00183>.
- Ma H, Pu S, Liu S, Bai Y, Mandal S and Xing B. 2020. Microplastics in aquatic environments: Toxicity to trigger ecological consequences. *Environ Pollut* 261, 114089 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114089>.
- Madeira D, Narciso L, Cabral HN, Vinagre C and Diniz MS. 2013. Influence of temperature in thermal and oxidative stress responses in estuarine fish. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 166, 237-243. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.06.008>.
- Maurya PK, Malik DS, Yadav KK, Gupta N and Kumar S. 2019. Haematological and histological changes in fish *Heteropneustes fossilis* exposed to pesticides from industrial waste water. *Hum Ecol Risk Assess Int J* 25, 1251-1278. <https://doi.org/10.1080/10807039.2018.1482736>.
- Misra S, Hamilton C and Niyogi S. 2012. Induction of oxidative stress by selenomethionine in isolated hepatocytes of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicol Vitro* 26, 621-629. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2012.02.001>.
- Mustafa SA, Al-Subiai SN, Davies SJ and Jha AN. 2011. Hypoxia-induced oxidative DNA damage links with higher level biological effects including specific growth rate in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Ecotoxicology* 20, 1455-1466. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0702-5>.
- Naidoo T and Glassom D. 2019. Decreased growth and survival in small juvenile fish, after chronic exposure to environmentally relevant concentrations of microplastic. *Mar Pollut Bull* 145, 254-259. <https://doi.org/10.1016/j.marpollbul.2019.02.037>.
- Nair HT and Perumal S. 2024. Growth performance, hematological and oxidative stress responses in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to polypropylene microplastics. *Environ Qual Manag* 2014, 1-14. <https://doi.org/10.1002/tqem.22179>.
- Nunes BZ, Huang Y, Ribeiro VV, Wu S, Holbech H, Moreira LB, Xu EG and Castro IB. 2023. Microplastic contamination in seawater across global marine protected areas boundaries. *Environ Pollut* 316, 120692. <https://doi.org/10.1016/j>

- envpol.2022.120692.
- Pagano M, Fabrello J, Multisanti CR, Zicarelli G, Ciscato M, Boldrin F, Giacobbe S, Matozzo V and Faggio C. 2022. A first insight into haemocytes of *Pinctada imbricata radiata*: A morpho-functional characterization. *Microsc Res Tech* 86, 368-377. <https://doi.org/10.1002/jemt.24278>.
- Polakof S, Panserat S, Soengas JL and Moon TW. 2012. Glucose metabolism in fish: A review. *J Comp Physiol B* 182, 1015-1045. <https://doi.org/10.1007/s00360-011-0636-5>.
- Sahabuddin ES, Noreen A, Daabo HMA, Kandeel M, Saleh MM, Al-Qaim ZH, Jawad M, Sivaraman R, Fenjan M, Mustafa Y, Heidary A, Abarghouei S and Norbakhsh M. 2023. Microplastic and oil pollutant agglomerates synergistically intensify toxicity in the marine fish, Asian seabass, *Lates calcalifer*. *Environ Toxicol Pharmacol* 98, 104059. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.104059>.
- Scanes E, Wood H and Ross P. 2019. Microplastics detected in haemolymph of the Sydney rock oyster *Saccostrea glomerata*. *Mar Pollut Bull* 149, 110537. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110537>.
- Shahriar SIM, Islam N, Emon FJ, Ashaf-Ud-Doulah M, Khan S and Shahjahan M. 2024. Size dependent ingestion and effects of microplastics on survivability, hematology and intestinal histopathology of juvenile striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). *Chemosphere* 356, 141827. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141827>.
- Shen Y, Wang D, Zhao J and Chen X. 2018. Fish red blood cells express immune genes and responses. *Aquac Fish* 3, 14-21. <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2018.01.001>.
- Solomando A, Capó X, Alomar C, Compa M, Valencia JM, Sureda A and Deudero S, 2021. Assessment of the effect of long-term exposure to microplastics and depuration period in *Sparus aurata linnaeus*, 1758: Liver and blood biomarkers. *Sci Total Environ* 786, 147479. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147479>.
- Tan XY, Luo Z, Zhang GY, Liu XJ and Jiang M. 2010. Effect of dietary cadmium level on the growth, body composition and several hepatic enzymatic activities of juvenile yellow catfish, *Pelteobagrus fulvidraco*. *Aquac Res* 41, 1022-1029. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02386.x>.
- Umamaheswari S, Priyadarshinee S, Bhattacharjee M, Kadirvelu K and Ramesh M. 2021. Exposure to polystyrene microplastics induced gene modulated biological responses in zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* 281, 128592. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128592>.
- Wang J, Ren T, Wang F, Han Y, Liao M, Jiang Z and Liu H. 2016a. Effects of dietary cadmium on growth, antioxidants and bioaccumulation of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) and influence of dietary vitamin C supplementation. *Ecotoxicol Environ Saf* 129, 145-153. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2016.01.029>.
- Wang W, Ge J and Yu X. 2020. Bioavailability and toxicity of microplastics to fish species: A review. *Ecotoxicol Environ Saf* 189, 109913. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109913>.
- Wang Z, Yin L, Zhao J and Xing B. 2016b. Trophic transfer and accumulation of TiO<sub>2</sub> nanoparticles from clamworm (*Perinereis aibuhitensis*) to juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) along a marine benthic food chain. *Water Res* 95, 250-259. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.027>.
- Wen B, Jin SR, Chen ZZ, Gao JZ, Liu YN, Liu JH and Feng XS. 2018. Single and combined effects of microplastics and cadmium on the cadmium accumulation, antioxidant defence and innate immunity of the discus fish (*Symphysodon aequifasciatus*). *Environ Pollut* 243, 462-471. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.029>.
- Wu H, Hou J and Wang X. 2023. A review of microplastic pollution in aquaculture: Sources, effects, removal strategies and prospects. *Ecotoxicol Environ Saf* 252, 114567. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114567>.
- Xiang Y., Jiang L, Zhou Y, Luo Z, Zhi D, Yang J and Lam SS. 2022. Microplastics and environmental pollutants: Key interaction and toxicology in aquatic and soil environments. *J Hazard Mater* 422, 126843. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126843>.
- Yedier S, Yalçinkaya SK and Bostancı D. 2023. Exposure to polypropylene microplastics via diet and water induces oxidative stress in *Cyprinus carpio*. *Aquat Toxicol* 259, 106540. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2023.106540>.
- Yin L, Chen B, Xia B, Shi X and Qu K. 2018. Polystyrene microplastics alter the behavior, energy reserve and nutritional composition of marine jacobever (*Sebastes schlegelii*). *J Hazard Mater* 360, 97-105. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.110>.
- Yu JN, Kim SK, Sagong J, Ryu SH and Chae B. 2019. Identification of microsatellite markers and their application in yellow catfish (*Pseudobagrus fulvidraco* Richardson, 1846) population genetics of Korea. *J Genet* 98, 2. <https://doi.org/10.1007/s12041-018-1047-0>.
- Yu YB, Choi JH, Choi CY, Kang JC and Kim JH. 2023. Toxic effects of microplastic (polyethylene) exposure: Bioaccumulation, hematological parameters and antioxidant responses in crucian carp, *Carassius carassius*. *Chemosphere* 332, 138801. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138801>.
- Zhou J, Gao G, Zhang S, Wang H, Ke L, Zhou J, Rao P, Wang Q and Li J. 2020. Influences of calcium and magnesium ions on cellular antioxidant activity (CAA) determination. *Food Chem* 320, 126625. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126625>.
- Zirong X and Shijun B. 2007. Effects of waterborne Cd exposure on glutathione metabolism in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) liver. *Ecotoxicol Environ Saf* 67, 89-94. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2006.04.006>.