

바이오플락 양식기술 적용 넙치, *Paralichthys olivaceus* 수용밀도에 따른 수질변화 및 혈액학적 성상 변화

김준환*, 정은하, 김석렬, 김수경, 김수경, 허영백

국립수산과학원 서해수산연구소

Changes in water quality and hematological parameters according to the stocking density of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* raised in bio-floc environment

Jun-Hwan Kim*, Eun-Ha Jeong, Seok-Ryel Kim, Su Kyoung Kim, Su-Kyoung Kim and Young Baek Hur

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

*Corresponding author

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

Received: 22 April 2019

Revised: 16 May 2019

Revision accepted: 22 May 2019

Abstract: The *Paralichthys olivaceus* (mean weight 34.3 ± 3.5 g) was used in the conduction of density experiment in this study to establish the optimal density determination for a period of 13 weeks. The density consisted of four groups. These were group 1 (500 fish, 40 fish m^{-2}), group 2 (750 fish, 60 fish m^{-2}), group 3 (1,000 fish, 80 fish m^{-2}) and group 4 (1,250 fish, 100 fish m^{-2}), each in 12.56 m^2 circular water tanks. In the high density groups, such as groups 1 and 2, the nitrite was increased to over 21 mg L^{-1} (group 3) and 25 mg L^{-1} (group 4). The experiment of the groups was terminated by skin ulcers and mortality after 49 days for group 3 and 43 days for group 4. The water quality environment, such as the water temperature, dissolved oxygen, salinity and pH, remained constant. The ammonia and nitrite in groups 1 and 2 remained stable after ammonia and nitrite peak. However, the experiments in groups 3 and 4 were terminated due to the mortality induced by high nitrite. Hematological parameters, such as hemoglobin and hematocrit, were significantly decreased in the high density groups. The plasma components were significantly changed in the high density groups, such as groups 3 and 4. The mean weight of groups 1 and 2 after 13 weeks were 91.3 g and 83.7 g, respectively. The survival rates were 99.4% and 98.2%, respectively. The final FCR was 0.6 in both groups. The results of this study show that the density of 80 fish m^{-2} or more induce mortality due to high nitrite with hematological changes. Additionally, they indicate that the 60 fish m^{-2} indicate proper density in bio-floc environment in olive flounder weighing less than 100 g.

Keywords: *Paralichthys olivaceus*, stocking density, water quality, hematological parameter, plasma components

서 론

우리나라 양식산업은 1970년대 이후 양식기법개발 등 기술보급으로 꾸준한 양식생산량 증대를 이루며 급속한 성장을 이루고 있다. 하지만, 급속한 성장과 함께 밀집된 양식장 배출수로 인한 연안오염과 연안오염으로 인한 유입용수 오염으로 빈번한 질병발생 등으로 높은 폐사를 나타내고 있다(Kim *et al.* 2018a). 연안 환경악화 및 빈번한 질병발생으로 지속 가능한 친환경 양식기법 개발에 대한 필요성이 높아지고 있다. 친환경 양식기법 중 바이오플락 기술은 대표적인 녹색기술로 미생물을 이용해 사육용수를 교환하지 않고 자체 순환을 통해, 수중 암모니아 및 아질산을 생태친화적으로 저감하고, 유용 미생물을 이용해 수질정화 뿐만 아니라, 사육생물의 성장, 소화효소 활성, 항산화능 증가 및 면역력을 향상시키는 기법이다(Xu and Pan 2012; Zhao *et al.* 2012; Kim *et al.* 2018b; Kim *et al.* 2019a).

다양한 환경요인 중 밀도는 수온, 염분, 용존산소와 함께 생물 사육에 가장 중요한 환경요인 중 하나이다(Lee and Kim 2017). 적정 사육밀도 범위 내에서는 높은 사육밀도를 유지하는 것이 양식생산성향상과 경제성확보에 유리하며, 최적의 사육밀도를 확인하기 위한 연구는 필수적이다. 특히, 바이오플락을 적용한 양식에서 수질안정화 균형을 유지하기 위한 적정사육밀도의 산정은 중요한 해결과제이다.

수질환경 요인 중 암모니아, 아질산 및 질산과 같은 질산계 물질은 높은 독성으로 작용하며, 안정적인 사육양성을 위해 내성범위보다 낮은 농도를 유지해야 한다(Bae *et al.* 2017; Kim *et al.* 2017a; Kim *et al.* 2018a; Kim *et al.* 2019b). 어류의 혈액학적 성상은 환경적 스트레스를 판단할 수 있는 중요한 지표 중 하나이다(Kim and Kang 2017b). 따라서 수질환경 모니터링 및 혈액학적 성상을 통한 건강도 평가는 생리적 영향을 주지 않는 적정밀도 산정에 주요한 지표가 될 것이다.

바이오플락을 이용한 어류양식기술은 현재까지 African catfish (*Clarias gariepinus*), Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), rohu (*Labeo rohita*), common carp (*Cyprinus carpio* L.) 등 일부 담수어종에 국한되어 연구가 이루어져오고 있다(Kamilya *et al.* 2017; Mansour and Esteban 2017; Martins *et al.* 2017; Putra *et al.* 2017; Bakhshi *et al.* 2018; Dauda *et al.* 2018). 하지만 우리나라 어류 양식은 해산양식어종이 주

를 이루고 있으며, 바이오플락 기술을 해산어류에 적용한 많은 연구가 필요한 시점이다. 우리나라에서 가장 많이 양식되고 있는 넙치 바이오플락 양식기법으로 사육지침을 마련하기 위한 연구가 필요하며, 가장 기본요소인 바이오플락 환경에서 최적밀도 산정은 중요하다. 따라서 본 실험의 목적은 넙치 바이오플락에서 밀도별 수질환경 및 혈액성상의 확인을 통해 최적 밀도산정을 위한 기본지침을 마련하는 것이다.

재료 및 방법

1. 실험어 및 실험환경

본 실험에 사용한 실험어는 평균 무게 34.3 ± 3.5 g의 넙치 치어를 이용하여 실험을 실시하였다. 실험은 원형수조 (12.56 m^2) 4개에 밀도 구간별 (group 1: 500 마리, 40 fish m^{-2} ; group 2: 750 마리, 60 fish m^{-2} ; group 3: 1,000 마리, 80 fish m^{-2} ; group 4: 1,250 마리, 100 fish m^{-2}) 넙치를 입식하여 사육양성 실험을 13주간 진행하였다. 입식밀도별 사육환경의 변화를 확인하기 위해, 매일 수질환경 측정을 수행하였다. 건강도 확인을 위해 사육 2주, 4주, 6주, 13주 밀도 구간별 5마리씩 4개 구간 20마리씩 샘플링 후 혈액을 채취하여 혈액성상 및 혈장성분을 조사하였다.

2. 수질분석

수조별 수질(수온, 용존산소, 염분, pH)은 휴대용 수질분석기(YSI-EXO2, YSI Inc., USA)를 이용하여, 매일 측정하여 모니터링 하였다. 수온은 겨울철 보일러를 이용하여 사육수온을 유지해주었으며, 염분은 담수를 보충하여 증발에 의한 증가를 보정해주었다. pH 감소는 중탄산을 이용하여 적정수준으로 유지시켜 주었다. 질산계 물질인 암모니아, 아질산 및 질산은 분석용 키트(Merck & Co., Inc., USA)를 이용하여 매일 측정하였다. 포도당을 탄소원으로 이용하여 암모니아 수준을 안정적으로 유지했다.

3. 혈액학적 성상

혈액은 헤파린(Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) 처리된 주사기를 이용해 채취 후, 즉시 적혈구용적(Hematocrit)과 헤모글로빈(Hemoglobin)을 측정하였다. Hematocrit은 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-methemoglobin법으로 측정하였다.

4. 혈장성분 분석

혈장성분을 분석하기 위해 채취한 혈액을 4°C에서 3000×g로 15분간 원심분리 후 혈장을 분리하였다. 혈장 무기성분으로 칼슘(Calcium), 마그네슘(Magnesium)을 측

정하였다. 칼슘은 OCPC법, 마그네슘은 Xylidyl blue-I 법에 따라 임상용 kit (Asan Pharm. Co., Ltd, Korea)를 이용하여 측정하였다. 혈장 유기성분으로 콜레스테롤(Cholesterol) 및 총 단백질(Total protein)을 측정하였다. 콜레스테롤은 비색법 및 총 단백질은 Biuret법에 의해 시판되고 있는 임상용 kit를 이용하였다.

5. 통계분석 방법

혈액학적 성상 및 혈장성분 분석 결과에 대한 통계학

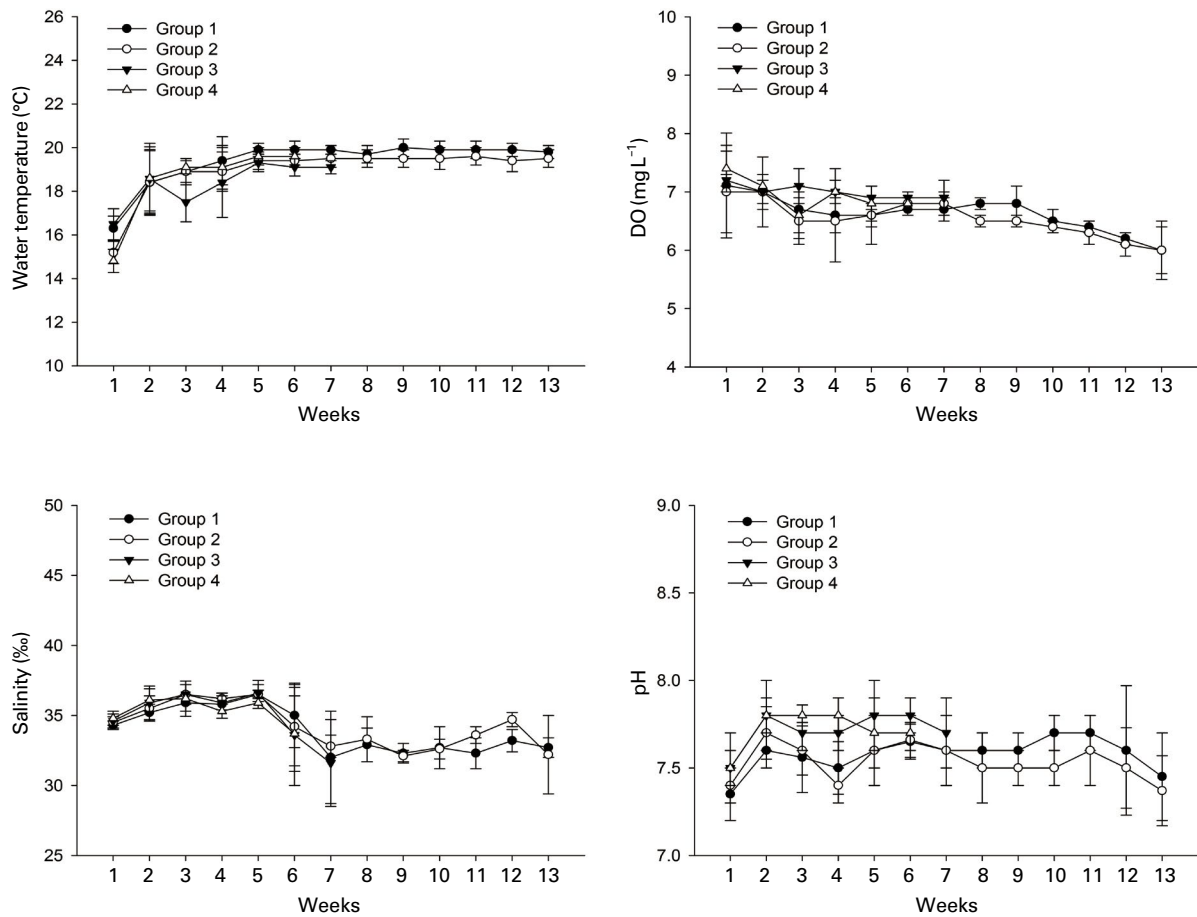


Fig. 1. The changes of water quality in bio-floc environment according to the difference in the stocking density for 13 weeks.

Table 1. The comparative analysis of survival rate according to the difference in density of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* aquaculture using bio-floc for 13 weeks.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Survival rate (%)	Group 1	100	100	100	100	100	100	99.6	99.6	99.6	99.4	99.4	99.4	99.4
	Group 2	100	100	100	100	100	99.9	99.9	98.9	98.9	98.9	98.6	98.6	98.2
	Group 3	100	85.5	85.4	85.3	85.2	84.7	81.5	81.0	-	-	-	-	-
	Group 4	100	99.4	99.4	99.4	99.3	81.3	-	-	-	-	-	-	-

적 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. 생존율

바이오플락 넘치 밀도 구간별 사육양성 13주간의 생존율의 변화는 Table 1에 나타내었다. 밀도 구간 최종생존율은 Group 1에서 99.4%, Group 2에서 98.2%를 나타내었다. 하지만, Group 3의 경우 사육양성 8주에 81%, Group 4는 사육양성 6주에 81.3% 생존율을 나타내었으나, 이후 체표 궤양 및 폐사 발생으로 실험을 종료했다.

2. 수질환경

바이오플락 넘치 밀도 구간별 사육양성 13주간의 수질환경의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 사육수온은 전체 평균 Group 1 19.4°C, Group 2 18.9°C, Group 3 18.3°C, Group 4 18.4°C를 나타내었다. 초기 1주 평균 15.7°C에서 천천히 상승시켜 20°C 수준으로 유지하였다. 용존산소는 전체 평균 Group 1 6.62 mg L⁻¹, Group 2 6.54 mg L⁻¹, Group 3 7.01 mg L⁻¹, Group 4 6.96 mg L⁻¹를 나타내었다. 염분은 전체 평균 Group 1 31.8‰, Group 2 34.2‰, Group 3 34.9‰, Group 4 35.3‰을 나타내었다. 염분은 증발에 의해 36‰ 이상으로 상승 시 담수를 보충하여 유지하였다. pH는 전체 평균 Group 1 7.56, Group 2 7.54, Group 3 7.71, Group 4 7.69를 나타내었다.

바이오플락 넘치 밀도 구간별 사육양성 13주간의 암모니아, 아질산 및 질산의 변화는 Fig. 2에 나타내었다. 수중 암모니아는 Group 1에서 사육 22일차 8 mg L⁻¹, Group 2에서 사육 22일차 10 mg L⁻¹, Group 3에서 사육 22일차 12 mg L⁻¹, Group 4에서 사육 22일차 15 mg L⁻¹까지 최대치 상승 후, Group 1에서 사육 25일차 0.8 mg L⁻¹, Group 2에서 사육 25일차 0.5 mg L⁻¹, Group 3에서 사육 31일차 1 mg L⁻¹, Group 4에서 사육 32일차 0.3 mg L⁻¹ 수준으로 안정적으로 유지되었다. 수중 아질산 농도는 Group 1에서 사육 31일차 21 mg L⁻¹, Group 2에서 사육 27일차 30 mg L⁻¹, Group 3에서 사육 37일차 28 mg L⁻¹, Group 4에서 사육 37일차 32 mg L⁻¹까지 최대치 상승 후, Group 1에서 사육 54

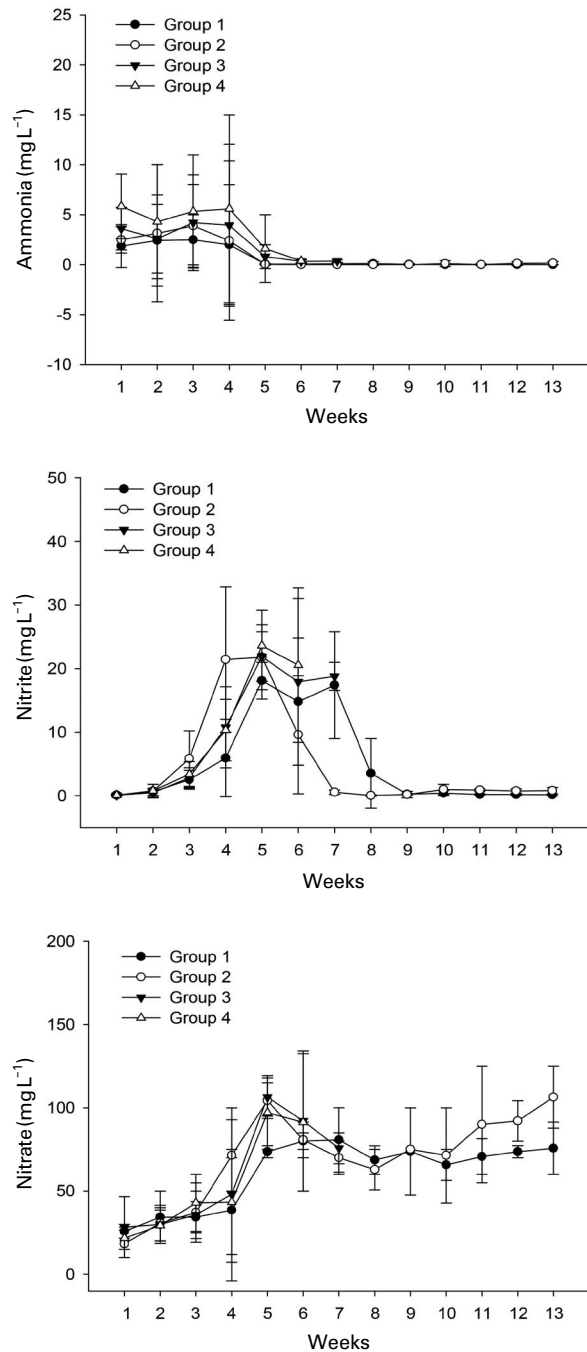


Fig. 2. The changes of dissolved inorganic nitrogen concentrations in bio-floc environment according to the difference in the stocking density for 13 weeks.

일차 0.9 mg L⁻¹, Group 2에서 사육 43일차 0.9 mg L⁻¹ 수준으로 안정적으로 유지되었으며, Group 3과 Group 4의 경우 아질산 안정화 실패로 체표궤양 및 폐사 급증으로 사육 49일 (Group 3), 43일 (Group 4) 실험을 종료하였다. 수

중 질산염은 Group 1에서 25.8~80.7 mg L⁻¹, Group 2에서 18.3~106.4 mg L⁻¹, Group 3에서 28.3~106.4 mg L⁻¹, Group 4에서 21.6~97.1 mg L⁻¹의 범위를 나타내었으며, 사육기간에 따라 증가하는 경향을 나타내었다.

3. 혈액학적 성상

바이오플락 넙치 밀도 구간별 사육양성 13주간의 혈액학적 성상의 변화는 Fig. 3에 나타내었다. Hemoglobin 수치는 사육 4주차에서 밀도 구간 Group 3과 Group 4에서 Group 1과 Group 2에 비해 유의적 감소가 나타났($p < 0.05$). 하지만 Group 1과 Group 2 두 구간 사이의 유의적 변화는 나타나지 않았다. Hematocrit은 사육 2주부터 밀도 구간 Group 3과 Group 4에서 Group 1과 Group 2에 비해 유의적 감소가 나타났으며, 사육 4주부터 Group 2, Group 3, Group 4에서 Group 1에 비해 유의적 감소가 나타났($p < 0.05$). 하지만, 사육 13주 Group 1과 Group 2 사이의 유의적 변화는 나타나지 않았다.

4. 혈장성분

바이오플락 넙치 밀도 구간별 사육양성 13주간의 혈장성분의 변화는 Fig. 4에 나타내었다. 혈장 calcium은 사육 4주 Group 4에서 유의적 감소가 나타나기 시작했으며, 사육 6주 Group 3과 Group 4에서 유의적 감소가 나타났($p < 0.05$). 하지만 Group 1과 Group 2사이의 유의적 변화는 나타나지 않았다. 혈장 magnesium은 사육 6주 Group 3

과 Group 4에서 유의적 증가가 나타났($p < 0.05$). 혈장 cholesterol은 사육 2주부터 Group 3과 Group 4에서 유의적 감소가 나타났으나($p < 0.05$), Group 1과 Group 2 사이의 유의적 차이는 없었다. 혈장 total protein은 사육 2주부터 Group 3과 Group 4에서 유의적 증가를 나타내었다.

고찰

본 실험에서 바이오플락 환경에서 최적 넙치 수용밀도 산정을 위해 바이오플락 넙치 밀도 구간별 사육양성 13주간의 수질환경 및 생리적 변화를 평가하였다. 사육생물의 안정적인 대사 및 생리반응을 위해 다양한 요소 중 수질환경은 필요한 요소이다(Kim *et al.* 2019c). 사육양성에서 기본적인 사육환경인 수온, 용존산소, 염분 및 pH는 넙치 양식 표준 매뉴얼(NIFS 2016) 기준으로 사육적정 범위로 맞춰 사육양성하였다. 수온은 바이오플락 미생물 배양과 넙치 사육 적정온도 범위인 20°C로 유지하였으며, 용존산소 공급은 벤츄리를 이용하여 공기를 공급하였다. 염분 및 pH 역시 적정 범위를 유지하여 운영했으며, 사육밀도에 따른 차이점은 나타나지 않았다.

육상양식장 환경에서 암모니아는 어류성장에 가장 제한적 요소 중 하나로, 일반적으로 소비되지 않은 사료 및 분뇨 등 유기물 대사과정에서 발생된다(Kim *et al.* 2017b). 높은 수준의 암모니아는 성장감소, 아가미 손상, 과잉 반응 및 세포 내 산소전달 방해 및 폐사 등으로 수생동물에 영

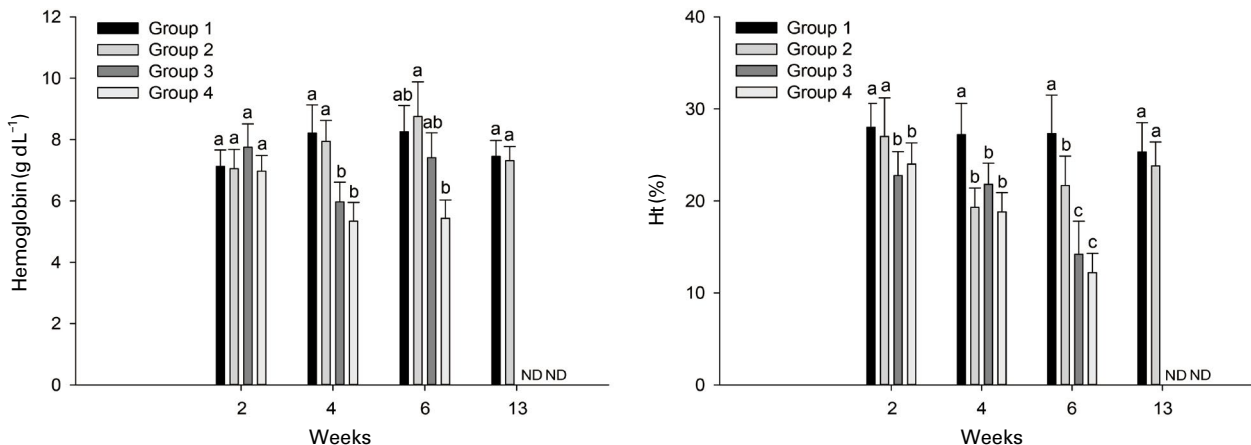


Fig. 3. The hematological parameters of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in bio-floc environment according to the difference in the stocking density for 13 weeks. Values with different letters indicate significantly different ($p < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test.

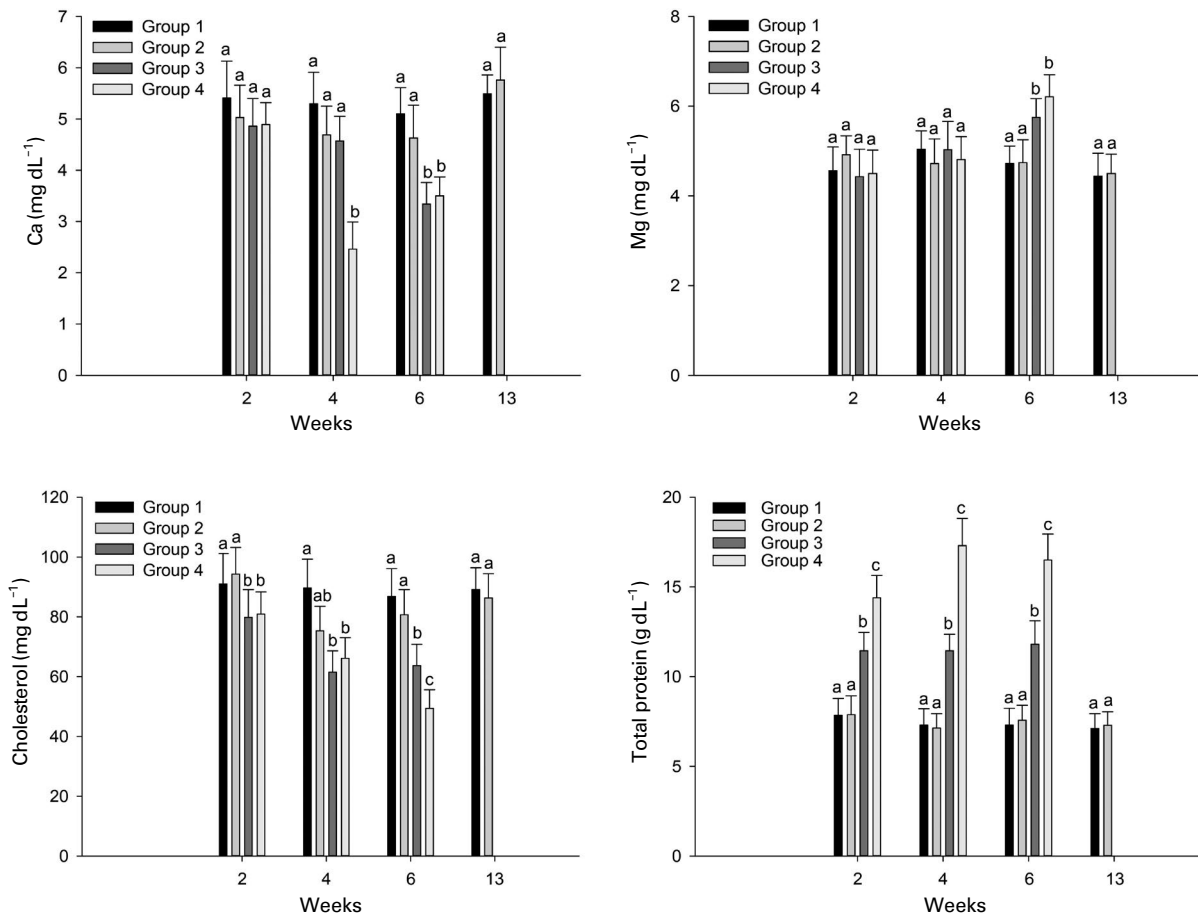


Fig. 4. The plasma components of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in bio-floc environment according to the difference in the stocking density for 13 weeks. Values with different letters indicate significantly different ($p < 0.05$) after one-way ANOVA following Tukey's multiple range test.

향을 미친다(Hegazi *et al.* 2010). 바이오플락 넙치 암모니아 내성한계를 확인하기 위한 연구에서 바이오플락 사육 넙치 (평균무게 280.4 ± 26.5 g) 7일간의 암모니아 노출 시 32 mg L^{-1} 이상의 암모니아 농도에서 혈액성상의 변화 및 16 mg L^{-1} 이상에서 항상화효소의 변화를 확인하였다(Kim *et al.* 2017a). 본 실험에서 밀도 구간별 암모니아 안정화 되는 기간의 차이는 있었지만, 사육 32일차 이내로 안정적 유지를 나타내었다. 수중 아질산은 암모니아에서 질산염으로 질산화 과정에서 발생하는 물질로, 이온조절장애 ($\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 교환장애 및 골격근 K^+ 손실)로 심부전 및 신경기능 상실 및 신진대사에 영향을 준다(Jensen 2003). 아질산 노출에 따른 바이오플락 및 우수식 사육 넙치 내성한계 비교분석 연구에서 넙치치어 (평균무게 280.1 ± 10.5 g) 7일간의 아질산 노출 시 50 mg L^{-1} 이상의 아질산 농도에

서 혈액학적 성상의 변화 및 스트레스 지표의 증가를 보고 하였다(Kim *et al.* 2018a). 하지만, 배양장 규모 ($12 \sim 20 \text{ m}^2$) 및 현장양식장 (64 m^2)에서 바이오플락 넙치 장기간 사육 시 아질산 $10 \sim 20 \text{ mg L}^{-1}$ 이상에서 주둥이 발적 및 체표 궤양 현상이 나타났다. 본 연구에서 고밀도 구간 Group 3과 Group 4에서 아질산 농도 $28 \sim 32 \text{ mg L}^{-1}$ 까지 상승한 뒤 감소되지 않아 주둥이 발적 및 체표 궤양 현상 및 폐사 증가로 인해 실험을 종료했다. 수중 질산염은 암모니아 및 아질산에 비해 독성이 낮지만 높은 수준 질산염 노출은 어류 혈액의 hemoglobin을 methemoglobin으로 전환시켜 혈액의 산소운반능력을 감소시켜 독성을 나타낸다(Bae *et al.* 2017). 질산염 노출에 따른 바이오플락 및 우수식 사육 넙치 내성한계 비교분석 연구에서 넙치 (평균무게 97.8 ± 15.8 g) 96시간의 질산 노출 시, 우수식 양생 넙치 250 mg

L^{-1} 및 바이오플락 양성 넘치 $1,000 mg L^{-1}$ 의 질산염 노출에 의해 혈액학적 변화를 나타내었다(Bae *et al.* 2017). 또한, 질산염 $150 mg L^{-1}$ 수준을 유지하며, 1년 이상 양성을 유지해 $1.5 kg$ 이상의 넘치를 수확한 바, 본 연구에서 질산염 $100 mg L^{-1}$ 수준의 농도는 큰 영향을 미치지 않았을 것으로 판단된다.

혈액학적 성상은 환경요인에 따른 어류의 건강도 및 생리영향을 판단하는 가장 중요한 지표로 사용된다(Kim and Kang 2016). 높은 밀도는 행동변화 및 성장 등 다양한 영향을 미치며 만성 스트레스로 인해 폐사를 유발할 수 있으며, 혈액학적 성상에 영향을 준다(Montero *et al.* 1999; Rafatnezhad *et al.* 2008). 본 실험에서 높은 밀도 구간에서의 hemoglobin 농도 및 hematocrit 수치는 유의적으로 감소하였으며, 이는 혈액학적 성상에 높은 밀도가 혈액학적 성상에 영향을 미침을 의미한다. Wagner *et al.* (1997) 역시 *Oncorhynchus clarki utah*에서 밀도에 따른 혈액학적 성상의 영향을 보고하였다. 환경스트레스에 의한 hemoglobin과 hematocrit의 감소는 일반적인 현상으로 많은 연구에서 보고되었다(Kim and Kang 2014; Kim and Kang 2015). 반면, Trenzado *et al.* (2006)은 rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*의 고밀도 구간에서 만성 스트레스에 의한 높은 에너지 요구에 따른 혈액 산소 운반 능력을 증가시키기 위한 hemoglobin과 hematocrit의 증가를 보고했다.

혈장 무기성분인 칼슘과 마그네슘은 혈장 이온조절 및 항상성 유지에 필수적인 요소이며, 외부 환경스트레스에 따른 건강상태를 확인하는 지표로 많이 사용된다(Kim and Kang 2017b). 본 실험에서 고밀도 구간의 칼슘은 유의적으로 감소한 반면, 마그네슘은 유의적 증가를 나타내어, 고밀도 구간의 이온조절에 영향을 미쳤을 것으로 판단된다. Kjartansson *et al.* (1988) 역시 밀도 구간별 Atlantic salmon, *Salmo salar* L.에서 고밀도 구간에서 혈장 칼슘과 마그네슘의 변화를 보고하였다. 혈장 콜레스테롤은 세포막에 존재하는 지질로 세포막을 만들고 유지하는데 필수적이며, 세포 내 수송, 신호전달, 신경전도 등의 기능을 한다(Kim and Kang 2016). 본 연구에서 고밀도 구간에서 혈장 콜레스테롤은 유의적 감소를 나타내었다. 혈장 총단백은 체내 모든 조직의 구성성분으로 간에서 합성되고 간에서 대사되며, 일정치를 유지하고 있으며 건강상태를 판단하는 주요한 지표가 된다(Kim and Kang 2015). 본 연구에서 고밀도 구간의 넘치에서 유의적 증가가 관찰되었다. 전

반적으로 혈장성분은 고밀도 구간에서 유의적 변화를 나타내었으며, 이는 고밀도 스트레스 및 고밀도 구간의 수질환경악화에 따른 혈장성분의 변화로 판단된다.

본 실험에서 $100 g$ 이하 크기의 넘치는 밀도 구간 Group 2 ($60 \text{ 마리 } m^{-2}$) 이하의 밀도가 수질안정과 안정적 양성을 위해 최적의 사육밀도로 판단이 되며 향후 시스템 개선 및 바이오플락 미생물 활성화를 통해 더 높은 구간에서 안정적 수질유지와 사육양성을 위한 연구를 지속적으로 수행해야 할 것이다.

적 요

본 연구에서 바이오플락 환경에서 적정 밀도 구간 안정을 위한 실험을 진행했으며, 본 실험의 결과 밀도 구간 Group 1 ($40 \text{ 마리 } m^{-2}$)과 Group 2 ($60 \text{ 마리 } m^{-2}$)에서는 수질안정을 통해 생리적 변화 없이 13주간 실험이 이루어졌지만, 밀도 구간 Group 3 ($80 \text{ 마리 } m^{-2}$)과 Group 4 ($100 \text{ 마리 } m^{-2}$)에서는 아질산염 안정화 실패, 혈액성상 및 혈장성분의 변화를 나타내었다. 물론, 유수를 하지 않는 바이오플락 시스템 특성상 고밀도 구간에 따른 밀도 스트레스뿐만 아니라, 고밀도 구간의 수질불안정에 따른 높은 암모니아 및 아질산 농도에 따른 영향도 복합적으로 고려해야 할 것이다. 본 실험의 결과 밀도 $60 \text{ 마리 } m^{-2}$ 까지의 밀도 구간에서 수질안정과 함께 혈액학적 성분의 유의적 변화 없이 $100 g$ 크기의 넘치 사육양성에 적합할 것으로 보인다.

사 사

이 논문은 2019년 국립수산물과학원 '바이오플락을 이용한 해수양식 기술개발(대하, 넘치) (R2019011)'의 지원으로 수행된 연구입니다.

REFERENCES

- 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.

- Bakhshi F, EH Najdegerami, R Manaffar, A Tukmechi and KR Farah. 2018. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings. *Aquaculture* 484:259–267.
- Dauda AB, N Romano, M Ebrahimi, JC Teh, A Ajadi, CM Chong, M Karim, I Natrah and MS Kamarudin. 2018. Influence of carbon/nitrogen ratios on biofloc production and biochemical composition and subsequent effects on the growth, physiological status and disease resistance of African catfish (*Clarias gariepinus*) cultured in glycerol-based biofloc systems. *Aquaculture* 483:120–130.
- Hegazi MM, ZI Attia and OA Ashour. 2010. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure. *Aquat. Toxicol.* 99:118–125.
- Jensen FB. 2003. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals. *Comp. Biochem. Physiol. A-Mol. Integr. Physiol.* 135:9–24.
- Kamilya D, M Debbarma, P Pal, B Kheti, S Sarkar and ST Singh. 2017. Biofloc technology application in indoor culture of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822) fingerlings: The effects on inorganic nitrogen control, growth and immunity. *Chemosphere* 182:8–14.
- 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, KW Kim, SH Bae, SK Kim, SK Kim and JH Kim. 2017a. 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, HJ Park, IK Hwang, JM Han, DH Kim, CW Oh, JS Lee and JC Kang. 2017b. Toxic effects of juvenile sablefish, *Anoplopoma fimbria* by ammonia exposure at different water temperature. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 54:169–176.
- Kim JH and JC Kang. 2017a. Effects of dietary chromium exposure to rockfish, *Sebastes schlegelii* are ameliorated by ascorbic acid. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 139:109–115.
- Kim JH and JC Kang. 2017b. Toxic effects on bioaccumulation and hematological parameters of juvenile rockfish *Sebastes schlegelii* exposed to dietary lead (Pb) and ascorbic acid. *Chemosphere* 176:131–140.
- Kim JH, JY Kim, LJ Lim, SK Kim, HS Choi and YB Hur. 2018a. 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, SK Kim and JH Kim. 2018b. Bio-floc technology application in flatfish *Paralichthys olivaceus* culture: Effects on water quality, growth, hematological parameters, and immune responses. *Aquaculture* 495:703–709.
- Kim JH, SK Kim and YB Hur. 2019a. Temperature-mediated changes in stress responses, acetylcholinesterase, and immune responses of juvenile olive flounder *Paralichthys olivaceus* in a bio-floc environment. *Aquaculture* 506:453–458.
- Kim JH, YJ Kang, KI Kim, SK Kim and JH Kim. 2019b. Toxic effects of nitrogenous compounds (ammonia, nitrite, and nitrate) on acute toxicity and antioxidant responses of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 67:73–78.
- Kim JH, HJ Park, DH Kim, CW Oh, JS Lee, JC Kang. 2019c. Changes in hematological parameters and heat shock proteins in juvenile sablefish depending on water temperature stress. *J. Aquat. Anim. Health* 1–7.
- Kjartansson H, S Fivelstad, JM Thomassen and MJ Smith. 1988. Effects of different stocking densities on physiological parameters and growth of adult Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) reared in circular tanks. *Aquaculture* 73:261–274.
- Lee SM and YO Kim. 2017. Effect of stocking density on the growth and body composition of the mandarin fish *Siniperca scherzeri*. *Korean J. Fish. Aquat. Sci.* 50:762–769.
- Mansour AT and MA Esteban. 2017. Effects of carbon sources and plant protein levels in a biofloc system on growth performance, and the immune and antioxidant status of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish Shellfish Immunol.* 64:202–209.
- Martins GB, F Tarouco, CE Rosa and RB Robaldo. 2017. The utilization of sodium bicarbonate, calcium carbonate or hydroxide in biofloc system: water quality, growth performance and oxidative stress of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 468:10–17.
- Montero D, MS Izquierdo, L Tort, L Robaina, JM Vergara. 1999. High stocking density produces crowding altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles. *Fish Physiol. Biochem.* 20:53–60.
- NIFS. 2016. Standard manual of olive flounder culture. National Institute of Fisheries Science, Korea.
- Rafatnezhad S, B Falahatkar and MHT Gilani. 2008. Effects of stocking density on hematological parameters, growth and fin erosion of great sturgeon (*Huso huso*) juveniles. *Aquac.*

- Res. 39:1506–1513.
- Wagner EJ, T Jeppsen, R Arndt, MD Routledge and Q Bradwisch. 1997. Effects of rearing density upon cutthroat trout hematology, hatchery performance, fin erosion, and general health and condition. N. Am. J. Aquacult. 59:173–187.
- Xu WJ and LQ Pan. 2012. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks culture tanks manipulating C/N ratio in feed. Aquaculture 356–357:147–152.
- Zhao P, J Huang, X Wang, X Song, C Yang, X Zhang and G Wang. 2012. The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*. Aquaculture 354–355:97–106.