

넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 에 대한 포르말린의 급성독성 효과

박인석 · 김형배* · 김민석* · 박철원*

군산대학교 해양자원육성학과, *한국해양연구소 해양생물공학연구그룹

평균 전장 6.1 ± 0.5 cm 의 양식산 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어에 대한 포르말린의 1 시간, 2 시간, 4 시간 및 24 시간 급성독성 효과를 조사한 결과, 각 처리구간의 대조군은 모두 생존하였으며 포르말린에 대한 1 시간 LC_{50} 값은 2,520 ppm 이며 95% 신뢰한계의 상한치는 2,540 ppm, 하한치는 2,490 ppm 이었다. 2 시간 LC_{50} 값은 1,610 ppm 이며 95% 신뢰한계의 상한치는 1,630 ppm, 하한치는 1,590 ppm 이었다. 4 시간 LC_{50} 값은 868 ppm 이며 95% 신뢰한계의 상한치는 885 ppm, 하한치는 851 ppm 이었다. 그리고 24 시간 LC_{50} 값은 141 ppm 이며 95% 신뢰한계의 상한치는 147 ppm, 하한치는 136 ppm 이었다. 각 처리시간에서 독성실험 종료 후 죽은 개체들은 아가미덮개 및 입이 열리고 몸통이 유안측으로 만곡되었고 표피 점액질에 손상을 입은 독성증후를 나타내었다. 포르말린에 대한 24 시간 급성독성 실험 후 죽은 개체들의 아가미, 신장, 간 및 심장 조직을 대조군과 조직학적 비교를 한 결과 대조군은 모두 정상이었으나 24 시간 급성독성 실험군에서는 아가미세엽 (혈관 확장, 점액세포 파괴, 상피세포의 확장 및 괴사를 동반하는 퇴행성 병변), 신장 (쇄뇨관 상피세포 확장, 괴사 및 초자적의 퇴행), 간 (염색질의 핵막침착, 핵크기 감소 및 부분 혹은 전반적인 괴사) 및 심장 (핵의축, 심장근 확장 및 괴사) 조직에서 손상 등을 확인할 수 있었다. 현재 넙치의 세균성, 기생충성 질병의 구제에 포르말린 약욕이 실시되고 있어 해당 약제에 대한 넙치 치어의 독성실험 결과는 포르말린의 그 정확한 처리시간 및 처리농도를 결정하는데 중요한 자료로 판단된다.

Key Words : Acute toxicity, Formaline, Flounder (*Paralichthys olivaceus*)

독성실험은 대상물질이 생명체에게 미치는 영향을 정해진 짧은 시간 동안에 사망하는 정도로 평가하는 급성독성 (acute toxicity) 실험과 아울러 아급성독성 (subchronic toxicity) 및 만성독성 (chronic toxicity) 실험 등으로 대별되어 100 여종 이상의 여러가지 생물을 대상으로 기준 실험 방법에 맞추어 실시되고 있다

(Peltier, 1978; U.S. EPA, 1978; ASTM, 1980; OECD, 1981). 이들 생물중 수계의 다수 어류를 실험 동물로 하여 평가목적에 따라 급성독성 실험이 이루어지고 있으나 현재의 실험 동물의 성장 기간중 독성물질에 가장 민감하고 그 처리 방법에서도 경제적인 배 (胚) 발생 시기와 부화 직후 자어 및 초기치어 단계가

생체기능의 대사활동이 활발하므로 보다 명확한 반응결과를 기대할 수 있다. 대다수의 실험 대상 어류는 거의 성체에 국한되어 획일화된 결과를 기대하는 방향으로 지침이 설정된 것이 현실이며 (박 과 박, 1987; Mckim and Benoit, 1977), OECD (1981) 등은 이에 따라 평가기준을 설정하고 있는 실정이다.

현재 산업적 육상 고밀도 사육시설에서 어병의 예방 및 처리방법의 하나로 약제를 일정량 용해시켜 대상어종을 침지시키고 있으며 이러한 침지 방법은 대상어류의 체표나 아가미 등 표면에서 발생하는 질병에 치유효과가 크나, 약제의 약용 실시조건, 다시말해서 약액의 농도와 약육시간 등 면밀한 검토가 선행되어야 효율적인 처리효과를 기대할 수 있으며 (Tucker, 1987), 이러한 약육치료는 효과면에서 살균제, 살충제, 항균제 등이 있다 (정 과 전, 1992).

수산 증양식 사업에 널리 사용되어지고 있는 포르말린 (formaline) 은 뱀장어 및 틸라피아류에서 포르말린과 말라카이트그린 (malachite green) 혼합 약육방법으로 트리코디나 등의 원충류를 구제하는데 유효하며 (Leteux and Meyer, 1972; Fox *et al.*, 1985), 이들 포르말린과 말라카이트그린의 혼합처리시 뱀장어 사육에 미치는 영향도 보고된 바 있다 (김 과 박, 1974). 또한 넙치의 육상 고밀도 양식시설에서 세균성 및 기생충성 질병 예방 및 처리에 포르말린 약육이 실시되고 있는 바, 포르말린을 이용한 약육시 정확한 처리 시간 및 처리농도를 결정함은 생산성 증대를 위한 매우 중요한 어병 처치 기법의 하나이다. 따라서 본 실험은 넙치의 생활사중 특히 어린 치어 단계를 대상으로 포르말린 처리에 의한 시간별 LC₅₀ 값과 아울러 급성독성 평가시 나타나는 기관의 조직학적 변화를 조사하여 약육 농도 및 처리 시간에 대한 적절한 기초자료를 제공하는데 의의가 있다.

재료 및 방법

평균 전장 6.1±0.5 cm 의 양식산 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어를 무작위 추출하여 공시어로 사용하였다. 실험 처리구의 회석수는 U.S. EPA (1975) 의 기준에 의거 용존 산소량이 6 ppm 이상이 되도록 하였으며 이때 염분은 31.5±0.5 ‰, 수온은 19.0±1.0°C 이었다.

각각의 실험구에 회석수 20 ℓ 를 주입 후 필요량의 포르말린용액 (동양화학, 한국) 을 첨가하여 교반 후 최종농도가 1 시간 급성독성 실험군은 2,300 ppm, 2,400 ppm, 2,500 ppm, 2,550 ppm, 2,600 ppm, 2,650 ppm, 2,700 ppm, 2,750 ppm 이었고, 2 시간 급성독성 실험군들은 1,450 ppm, 1,550 ppm, 1,600 ppm, 1,650 ppm, 1,700 ppm, 1,750 ppm, 1,800 ppm, 4 시간 급성독성 실험군들은 750 ppm, 800 ppm, 850 ppm, 875 ppm, 900 ppm, 925 ppm, 950 ppm, 975 ppm, 1,000 ppm 그리고 24 시간 급성독성 실험군들은 100 ppm, 120 ppm, 130 ppm, 140 ppm, 160 ppm, 180 ppm, 200 ppm 이 되도록 처리하였으며 대조군은 회석수만을 처리하였다.

실험군들은 각 농도당 공시어 50 마리씩을 U.S. EPA (1975) 의 기준에 의거 처리하였으며 아울러 1 시간, 2 시간, 4 시간, 24 시간의 대조군 역시 공시어 50 마리로 회석수에 처리하였다. 각 실험군에서의 사망확인은 유영상태, 가슴지느러미의 운동, 아가미와 입의 움직임 등을 기준으로 하여 치사여부를 판별하였다. 각 농도에 따른 처리시간의 LC₅₀ 값과 95% 유의수준에서의 상한치와 하한치는 Litchfield and Wilcoxon 법 (U.S. EPA, 1978) 에 따른 'probit analysis' software 로 계산하였다.

24 시간 급성독성 실험군에서의 사망개체는 사망 즉시 10% 중성 포르말린에 고정하였으며 24

시간 회석수처리 대조군 역시 실험 종료 후 고정하였다. 대조군 및 24 시간 급성독성 실험군의 사망개체로 부터 아가미, 신장, 간 및 심장조직은 Bouin's 용액에 24 시간 재고정하였다. 처리된 시료의 아가미, 신장, 간, 심장조직을 상법에 따라 4~6 μm 의 두께로 절편을 만든 후 Harris's hematoxylin 과 Eosin-phroxine B 로 염색하였으며 현미경 하에서 검경하여 대조군 및 24 시간 급성독성 처리군간의 조직학적 차이를 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

대조군으로 사용된 넙치, *Paralichthys olivaceus* 치어의 경우 각 처리시간의 실험구에서 공허 모두 생존하였다. 포르말린에 대한 1 시간, 2 시간, 4 시간 및 24 시간의 급성독성 값의 결과는 Fig. 1 과 같다. Fig. 1 에서 나타난 바와 같이 포르말린의 1 시간 LC_{50} 값은 2,520 ppm 이며 95% 신뢰한계의 상한치는 2,540 ppm, 하한치는 2,490 ppm 이었다. 2 시간 LC_{50} 값은 1,610 ppm 이며 95% 신뢰한계의 상한치는 1,630 ppm, 하한치는 1,590 ppm 이었다. 포르말린의 4 시간 LC_{50} 값은 868 ppm 이며 95% 신뢰한계의 상한치는 885 ppm, 하한치는 851 ppm 이었다. 24 시간 LC_{50} 값은 141 ppm 이며 95% 신뢰한계의 상한치는 147 ppm, 하한치는 136 ppm 이었다.

넙치 치어에서 포르말린에 대한 1 시간, 2 시간, 4 시간, 24 시간의 LC_{50} 값을 formaldehyde 농도로 환산하여 보면 각각 925 mg/l, 596 mg/l, 321 mg/l 및 52 mg/l 의 LC_{50} 값에 해당한다. 독성물질에 대한 사망율은 화학적 요소와 아울러 종, 크기등의 생물학적 그리고 온도, 용존산소등의 환경적 요소에 의해 좌우된다. 본 실험의 넙치 치어에 대한 formaldehyde 의 급성독성 결과

를 타어종 및 환경조건등과 직접 비교는 어려우나 넙치 치어에서 2 시간 LC_{50} 값 596 mg/l 은 잉어에서 2 시간 급성독성 값 370 mg/l, guppy 에서 2.5 시간의 치사농도 185 mg/l 와 급성독성 값을 비교하여 보면 다소 높은 결과를 볼 수 있다 (Haya, 1989).

Meteliev 등 (1971) 의 보고 결과 잉어와 guppy 에서 6 시간 급성치사 농도는 90 mg/l, 넙치 치어에서 4 시간의 LC_{50} 값 321 mg/l 은 상당히 높은 결과였다. 또한 *Lepomis humilis* 의 18°C 에서 5 일간의 formaldehyde 처리에 대한 급성치사 농도는 50 mg/l 인 반면 무지개송어 성체에서 5 일간의 치사농도 30 mg/l 를 나타낸 바 있다. 반면에 3 일간 10 mg/l 처리구의 무지개송어 치어에서 전혀 치사에 대한 독성 효과를 확인할 수 없었다. Bitterling 인 경우 24 시간 18 mg/l formaldehyde 처리시 민감한 독성반응을 나타낸 결과를 고려시 본 실험의 넙치 치어에서 24 시간 급성치사 농도 52 mg/l 값은 넙치 치어의 포르말린에 대한 높은 민감성을 보여준 결과라고 할 수 있다.

본 실험에서는 포르말린의 넙치 치어에 대한 LC_{50} 값은 처리시간이 길어짐에 따라 그 농도가 낮게 나타나 처리시간과 농도와의 관계는 이 등 (1984) 의 결과와 같이 서로 반비례하게 나타났다. 각 처리시간에서 포르말린에 대한 매우 좁은 농도 범위 내에서 급성독성값에 대한 신뢰범위가 결정되고, 또한 농도 증가에 따라 매우 유의한 농도 의존성을 나타내었다. 아울러 1 시간, 2 시간, 4 시간 및 24 시간에서의 급성독성값을 비교하여 보면 (Fig. 1) 처리시간이 짧을수록 사망률 - 포르말린 농도 간 상관관계에서 포르말린 농도 변화에 따라 사망율에 민감한 반응을 나타냄을 확인할 수 있었다.

본 실험을 통해서 처리시간에 대한 최저사망을 보인 농도 미만에서는 사망개체가 없음이 확인되

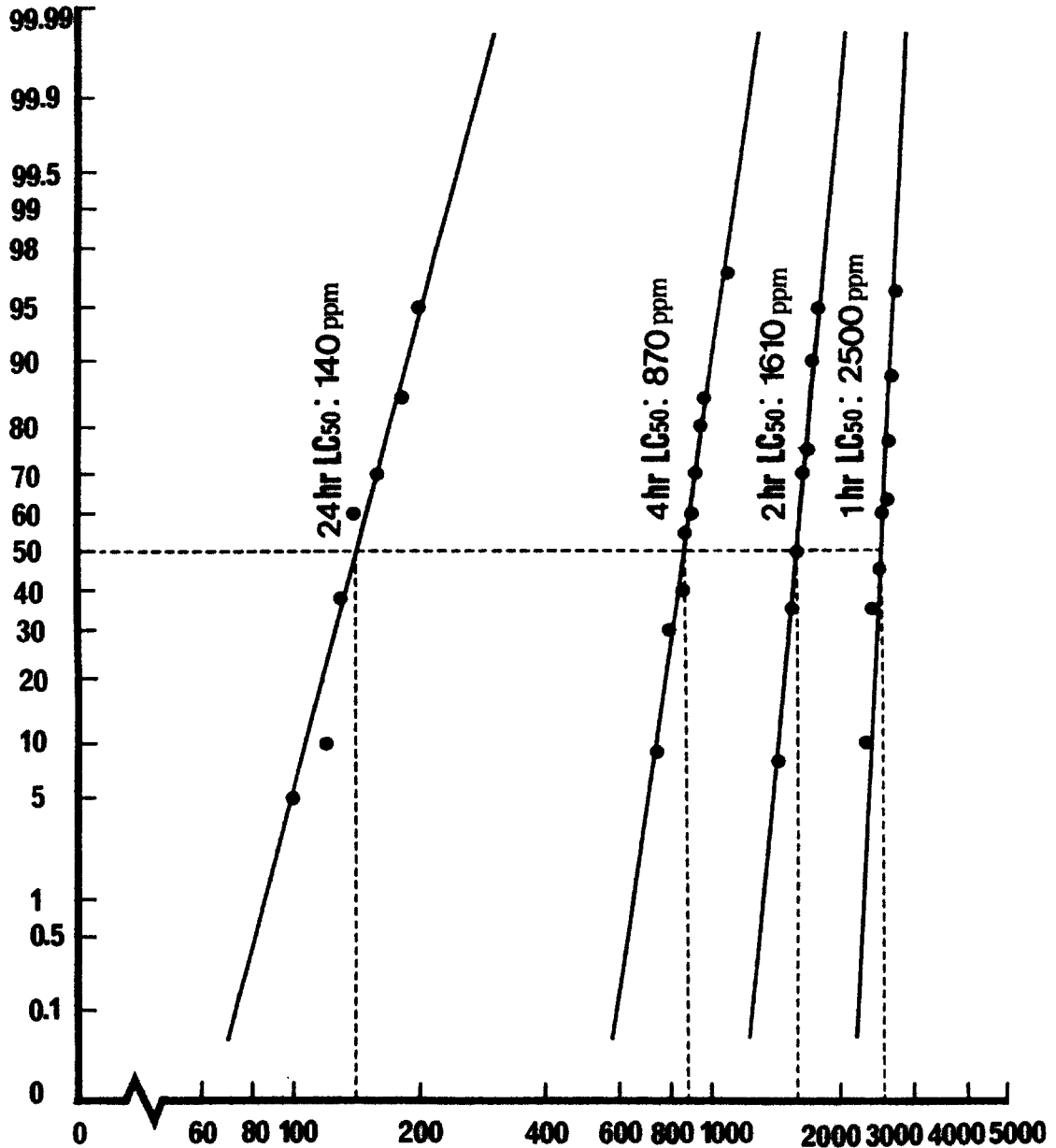


Fig. 1. Dosage-mortality responses of flounder, *Paralichthys olivaceus* larvae exposed to formaline for 1, 2, 4 and 24 hours.

어 기생충성, 세균성 질병의 구제에 안전하게 사용될 수 있는 가능성을 시사하였다. 초어 치어 및 자어에서 40 ppm 포르말린 용액으로 1 시간 처리시 23% 사망율은 보였으나 *Chilodonella* 류와 *Trichodinella* 류 및 *Dactylogyrus* 류의 구제에는 100%의 효과를 보인 결과를 고려하여 포르말린 각 처리시간에서의 최저 사망을 보인 농도 미만으로 기생충 및 세균 자체에 대한 처리효과 평가가 필요시되며 포르말린 약욕 후 처리 개체의 아가미 및 체표에서 질병의 구제여부 판별이 요구된다. 한편 부화 후 3 주의 초어 치어인 경우 0.7%의 일반 소금으로 *Chilodonella* 류와 *Trichodinella* 류의 처리시 (Willomitzer, 1980) 21~24 시간의 장기침적이 단기침적에 비해 효과적임을 볼 때, 본 실험의 1 시간, 2 시간, 4 시간 및 24 시간 처리시간에 따른 기생충성 및 세균성 질병 구제 효과를 평가하여 보다 효율적인 약욕 방안을 확립함이 바람직하다.

포르말린을 1 시간, 2 시간, 4 시간 및 24 시간 처리시 죽은 개체들은 공통적으로 아가미 덮개와 입을 벌리고, 몸통은 유안측 (eyed side)으로 완만하게 U 자형으로 굽었고, 표피 점액질에 손상을 입은 독성증후를 나타내었다. 이와같은 현상은 암수동체성 어류인 *Rivulus marmoratus* 치어 (박 과 박, 1987)에서 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), N-nitro-N-methylurea (MNU) 및 aflatoxin B₁ (AFB₁)에 의한 독성증후와 유사한 것으로, 넓치 및 *Rivulus marmoratus*의 죽은 치어 개체의 아가미덮개 열림은 독성물질 처리에 의한 호흡장애로 판단되었다.

조직학적 변화는 24 시간 처리시 대조군의 아가미 세엽 (gill lamella)은 정상이었으나 (Plate 1, 2), 24 시간 급성독성 실험군의 아가미 세엽은 혈관 (blood vessel)의 확장, 점액세포 (mucous cell)의 비대 및 파괴, 상피세포 (epithelial cell)의 확장을 나타내었다. 일부 상

피세포는 탈락현상을 나타내었으며 괴사 (necrosis) 등의 퇴행성 병변 (degenerative changes)을 나타내었다 (Plate 3, 4). 이와같은 아가미 조직의 변화는 독성물질 처리 대상 어체의 호흡에 직접적인 영향을 미치는 중요한 변화로서 무지개송어 1 세어 (Mueller *et al.*, 1989; Umehara *et al.*, 1986)의 경우 마취제 tricaine methanesulfonate (MS-222), phentiazamine, oigenol, paraaminobenzoic acid 및 2-phenoxyethanol를 2 시간 처리하였을 때 아가미조직의 변화 결과와 매우 유사하였다. 역시 brook trout (*Salvelinus fontinalis*) 치어의 pH 5.2 조건에서 저농도의 aluminum을 10 일간 처리하였을 때 이와같은 아가미조직의 퇴행적 병변과 아울러 2 차세엽 (secondary lamella)의 융합 (fusion) 현상도 확인할 수 있었다 (Mckim and Benoit, 1977).

24 시간 처리시 대조군의 신장 조직은 정상적인 구조를 나타내었으나 (Plate 5, 6), 급성독성 실험군의 신장 조직은 근위세뇨관 (proximal convoluted segment of renal tubule)의 상피세포가 확장되며 괴사가 일어났으며, 초자적 (hyaline droplet) 형태의 퇴행이 나타났다 (Plate 7, 8). 신장은 아가미세엽과 더불어 독성물질의 영향을 직접 받는 조직으로서 많은 신장 독성물질 (nephrotoxin)은 근위세뇨관에 영향을 미치며, glucose와 아미노산의 1 차적인 재흡수 장소로 chromium과 같은 금속에 민감한 반응을 나타내기도 한다 (Hook, 1980; Umehara *et al.*, 1986).

대조군의 간조직은 정상적인 구조를 나타내었으나 (Plate 9, 10), 24 시간 급성독성 실험군의 간조직은 염색질 (chromatin)이 핵막에 거의 부착된 상태였고 핵 (nucleus)의 크기는 감소되었으며 세포질 (cytoplasm)은 eosin 염색에 균일하게 짙게 염색되었다 (Plate 12). 그리고 부분적 혹은 전반적인 괴사현상 (focal or massive necrosis)을 나타내었다 (Plate 11). 포르말린에

대한 넙치 치어 간조직의 변화는 피사나 지방 변성 (fatty change) 이 동반될 수 있는 독성물질에 대한 1 차 범주에 속하는 부분적인 간변성으로서 무지개송어 1 세어를 대상으로한 여러 마취제의 24 시간 급성독성 (Umehara *et al.*, 1986) 처리 개체의 간세포에서 조면소포체, 모세 담관 (bile canaliculi) 의 확장과 더불어 리소솜 (lysosome) 의 형성이 확인된 바 있다 (Popper and Schaffner, 1959). 또한 대조군의 심장조직은 정상적인 구조를 나타내었으나 (Plate 13, 14), 24 시간 급성독성 실험군의 심장조직은 핵농축현상 (pycnosis) 을 동반하며 심근이 확장되며 근육괴사를 나타내었다 (Plate 15, 16).

이상의 넙치 치어에 대한 포르말린의 1 시간, 2 시간, 4 시간 및 24 시간에서의 급성독성 실험 결과 및 이에 연관된 조직학적 분석결과는 현재 넙치의 세균성, 기생충성 질병의 구제에 포르말린 약욕이 실시되고 있는 점을 고려하여 차후 본 실험에서의 각 처리시간에 대한 포르말린의 안전 농도가 첨가적으로 구해진다면 넙치 치어에 대한 포르말린의 정확한 처리시간 및 처리농도를 결정케 한다는 관점에서 유용하리라 사료된다. 본 실험결과 각 시간별 넙치 치어에 대한 포르말린 급성독성 농도는 넙치 치어의 세균 및 기생충에서의 포르말린 급성농도보다 높을 것으로 사료되기는 하나 부수적으로 이에 관한 연구가 어병치료 차원에서 필요하리라 사료된다. 아울러 포르말린의 24 시간 급성독성 처리군을 대상으로 독성 실험 종료 후 정상 사육수에서의 손상조직 조사와 그 손상조직의 회복시간 및 회복정도에 관한 연구가 보충적으로 필요시 되며 본 실험에서는 넙치 치어에 대해 포르말린의 24 시간 급성독성 실험 결과를 고려시, 포르말린의 장기 약욕에 의한 넙치 어병 치유효과 증대 가능성을 배제할 수 없으므로 48 시간, 96 시간의 아급성독성에 관한 검토 역시 필요하리라 사료된다.

참 고 문 헌

- 김인배, 박명자 : 순환여과장치 이용의 뱀장어 사육시 어병방제 약품이 여과조기능에 미치는 영향. 한국수산학회지, 7 : 187-194, 1974.
- 박인석, 박은호 : 암수동체성 어류 *Rivulus marmoratus* 의 치어에 미치는 몇가지 화학적 발암원의 급성 독성에 관하여. 한양대학교 환경과학연구소보, 8 : 179-185, 1987.
- 이성규, 박철원, 노정구 : 농약의 급성어독성과 처리방법에 따른 독성의 변화. 한국환경농학회지, 3 : 45-51, 1984.
- 정현도, 전세규 : 항생제 사용과 세균성 어류 질병의 치료. 한국어병학회지, 5 : 37-48, 1992.
- American Society for Testing and Materials : Conducting acute toxicity tests with fishes, macroinvertebrates, and amphibians. In Annual Book of ASTM Standards, American Society for Testing and Materials, pp. 729-780, Philadelphia, 1980.
- Fox, C. H., Johnson, F. B., Whiting, J., and Roller, P. P. : Formaldehyde fixation. J. Histochem. Cytochem., 33 : 845-853, 1985.
- Haya, K. : Toxicity of pyrethroid insecticides to fish. Environ. Toxicol. Chem., 8 : 381-391, 1989.
- Hook, J. B. : Toxic responses of the kidney. In Cararett and Doull's Toxicology, 2nd ed., eds. by J. Doull, C. D. Klaassen and M. O. Amdur, pp. 232-245, Macmillan Publishing CO., INC New York, New York 10022, 1980.
- Leteux, F. and Meyer, F. P. : Mixture of malachite green and formaline for controlling *Ichthyophthirius* and other protozoan parasites of fish. Prog. Fish Cult., 34 : 21-26, 1972.
- Mckim, J. M. and Benoit, D. A. : Effects of

- long-term exposures to copper on the survival, growth and reproduction of brook trout. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 28 : 655-662, 1977.
- Metelev, V. V., Kanaev, A. I., and Dzasokhova, N. G. : Organic compounds, pp. 106-123. Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, 1971.
- Mueller, M. E., Sanchez, D. A., Bergman, H. L., McDonald, D. G., Rhem, R. G., and Wood, C. M. : Nature and time course of acclimation to aluminum in juvenile brook trout (*Salvelinus fontinalis*). II. Gill histology. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 48 : 2016-2027, 1989.
- OECD : OECD guideline for testing of chemicals. Report from the OECD expert groups on short term and long term toxicity, March 31, Paris, 1981.
- Peltier, W. : Methods for measuring the acute toxicity for effluents to aquatic organisms. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Technical Information Service, Springfield, VA., EPA 600/4-78-012, 1978.
- Popper, H. and Schaffner, F. : Drug-induced hepatic injury. *Ann. Intern. Med.*, 51 : 1230-1252, 1959.
- Tucker, C. S. : Acute toxicity of potassium permanganate to channel catfish fingerlings. *Aquaculture*, 60 : 93-98, 1987.
- Umehara, M., Sakai, K. and Takashima, F. : Histopathological and hematological studies on the effects of sustained anesthesia in rainbow trout. *Suisanzoshoku*, 34 : 185-191, 1986.
- United States Environmental Protection Agency : Methods for acute toxicity tests with fish, macroinvertebrates and amphibians. Office of Research and Development, National Technical Information Service, Springfield, VA. EPA-600/3-75-009, 1975.
- United States Environmental Protection Agency : Methods for measuring the acute toxicity of effluents to aquatic organisms. Office of Research and Development, National Technical Information Service, Springfield, VA. EPA-600/14-78-012, 1978.
- Willomitzer, J. : Therapy of Major ectoparasitoses in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) fry and fingerlings. *Acta Vet. (Brno)*, 49 : 279-292, 1980.

Explanation of plates

- Plate 1. Normal gill lamella of flounder, *Paralichthys olivaceus* larvae ($\times 400$).
- Plate 2. Magnification of inset in Fig. 1 ($\times 1,000$).
- Plate 3. Gill lamella of flounder larvae exposed to formaline for 24 hrs ($\times 400$).
- Plate 4. Magnification of inset in Fig. 3 ($\times 1,000$). Note degenerative changes including severe proliferation of epithelial cells (*) and mucous cells (**). Mucous cells are hyperplastic and hypertrophic.
- Plate 5. Normal kidney of flounder larvae ($\times 400$).
- Plate 6. Magnification of inset in Fig. 5 ($\times 1,000$).

- Plate 7. Kidney of flounder larvae exposed to formaline for 24 hrs ($\times 400$).
- Plate 8. Magnification of inset in Fig. 7 ($\times 1,000$). Note hyaline droplet degeneration of tubular epithelial cells in the proximal convoluted segment of renal tubule (*).
- Plate 9. Normal liver of flounder larvae ($\times 400$).
- Plate 10. Magnification of inset in Fig. 9 ($\times 1,000$).
- Plate 11. Liver of flounder larvae exposed to formaline for 24 hrs ($\times 400$). Note the presence of focal or massive necrosis (*).
- Plate 12. Magnification of inset in Fig. 11 ($\times 1,000$). Note the decreased size in nucleus.
- Plate 13. Normal heart of flounder larvae ($\times 400$).
- Plate 14. Magnification of inset in Fig. 13 ($\times 1,000$).
- Plate 15. Heart of flounder larvae exposed to formaline for 24 hrs ($\times 400$). Note the presence of muscular necrosis (*).
- Plate 16. Magnification of inset in Fig. 15 ($\times 1,000$). Note the nucleus becomes pycnotic and partially collapses (*).

Acute toxicity effects of formaline to flounder, *Paralichthys olivaceus*

In-Seok Park, Hyung-Bae Kim^{*}, Min-Suk Kim^{*}, and Chul-Won Park^{*}

Department of Marine Living Resources, Kunsan National University, Kunsan 573-360, Korea,

^{*} Marine Biotechnology Group, Korea Ocean Research and Development Institute (KORDI),

Ansan, P. O. BOX 29, Seoul 425-600, Korea

Twenty-four hours, acute toxicity and the histopathological effect of formaline to flounder, *Paralichthys olivaceus* larvae were examined. The LC₅₀ values obtained to formaline were 2,520 ppm in 1 hour treatment, 1,610 ppm in 2 hours treatment, 868 ppm in 4 hours treatment and 141 ppm in 24 hours treatment. Many pathological features such as hypertrophy of mucous and epithelial cells in secondary gill lamella, hyaline droplet degeneration of tubular epithelial cells in the proximal convoluted segment of renal tubules, focal or massive necrosis in liver cells and pycnotic nucleus in heart cells were recognized. The above results were discussed in relation to the application of formaline as therapeutic agent in flounder disease.

Key Words : Acute toxicity, Formaline, Flounder (*Paralichthys olivaceus*)