

## 포르말린 침지에 의한 붕어(*Carassius auratus*)의 혈액학 및 혈액화학치에 대한 영향

임창원 · 박세창<sup>1</sup> · 허강준\*

충북대학교 수의과대학 및 동물의학연구소, <sup>1</sup>서울대학교 수의과대학  
(게재승인: 2006년 9월 14일)

### Effects of formalin on haematology and blood chemistry in crucian carp (*Carassius auratus*)

Chang-Won Im, Se-Chang Park<sup>1</sup>, Gang-Joon Heo\*

College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine,  
Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

(Accepted: Sep 14, 2006)

**Abstract :** To determine the effects of exposure to formalin on the secondary stress indices, changes in haematology and blood chemistry were monitored in healthy crucian carps (*Carassius auratus*). Fishes were separately exposed in a concentration range of 125 to 500 ppm formalin for 60 min. After exposure, red blood cell (RBC) count and packed cell volume (PCV) were elevated in the 500 ppm formalin exposed group. However, mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular haemoglobin (MCH) were decreased significantly in the 500 ppm formalin exposed group. Total protein, albumin, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), creatinine, total bilirubin, inorganic phosphorus (IP) and magnesium were significantly increased at a concentration of 500 ppm. Alkaline phosphatase (ALP) and glucose were increased at a concentration of 500 ppm, but this was not significant. Lactate dehydrogenase (LDH) and calcium were significantly decreased at concentrations of 250 and 500 ppm. AST, ALT, glucose and magnesium were significantly increased in the 250 ppm formalin exposed group. These results suggests that formalin exposure might cause some damage in the liver and kidney of crucian carp.

**Key words :** crucian carp (*Carassius auratus*), formalin, haematology and blood chemistry

## 서 론

물고기는 다양한 요인에 의해 스트레스를 받으면 생식능력 및 성장, 영양, 감염에 대한 저항성 그리고 생존의 불균형을 야기하게 된다. 이러한 스트레스 요인들은 코티졸의 과분비와 같은 내분비 반응을 이끌어 내고, 이는 혈액학적 수치 및 혈액 화학치의 변화와 같은 이차적인 반응을 야기한다 [18]. 물고기에게 스트레스를 주는 요인으로는 하천의 수질오염에 의한 자극성이 강한

오염물질의 유입, 고밀도 사육과 질병, 그리고 질병의 치료 및 예방을 위한 화학물질 처리 등이 있다 [2, 3, 25].

현재 양식 어류의 세균성 및 기생충성 질병을 치료하기 위해 항생제나 설파제와 같은 항균물질과 포르말린, 과망간산칼륨, 소석회 등의 화학물질을 널리 사용하고 있다 [21]. 그러나 이러한 화학물질이 질병 구제에 미치는 이점에 대해선 크게 인정하고 있지만 양식어류 뿐만 아니라 외계환경의 물고기에게 커다란 스트레스 요인으로 작용한다는 것에 대해서는 간과하고 있다. 국내의 내

이 논문은 2006년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

\*Corresponding author: Gang-Joon Heo

College of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea  
[Tel: +82-43-261-2617, Fax: +82-43-267-3150, E-mail: gjheo@cju.ac.kr]

수면 양식에 사용된 양식폐수는 직접 하천으로 흘러 들어가기 때문에 하천을 크게 오염시키게 된다 [4]. 이러한 상황에서 기생충 구제에 가장 널리 사용되고 있는 포르말린에 대한 하천 수계 생물체에 대한 연구의 필요성이 대두되고 있다.

포르말린은 메틸알콜(methyl alcohol)과 산소의 결합 작용으로 생성되는 포름알데히드( $\text{CH}_2\text{OH} + \text{O}$ )의 35% 수용액으로 formaldehyde solution이라고도 한다. 포르말린의 작용은 포름알데히드가 원형질(protooplasm) 내 수분을 단단한 젤(gel) 상으로 전환시켜 세포가 파괴됨으로써 나타난다 [5, 12]. 현재까지의 연구는 포르말린이 물고기에 미치는 독성 영향에 대해 조직학적인 접근이 주를 이루었고 [7, 9, 10, 19], 혈액학적인 독성 연구는 넙치(*Paralichthys olivaceus*), 대서양연어(*Salmo salar*), 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*), 잉어(*Cyprinus carpio*) 등의 몇몇 어종에서만 이루어졌다 [14, 16, 22, 25]. 그러나 우리나라 하천에서 우세하게 출현하고 있는 붕어(*Carassius auratus*)에 있어서 포르말린의 독성연구는 중금속 및 농약, 생활하수에 대한 일부 급성독성 연구만이 이루어졌을 뿐으로 [2, 11, 17], 포르말린의 혈액학 및 혈액화학치에 대한 독성연구는 아직 이루어지지 않고 있다.

본 연구에서는 앞서 연구된 조직학적 독성연구들과 관련하여 바이오모니터링의 척도라 할 수 있는 혈액학 및 혈액화학적 수치를 측정함으로써 포르말린의 붕어에 대한 독성학적인 영향을 평가하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 공시약제

기생충성 질병치료 및 예방을 위한 포름알데히드가 35%가 들어있는 포르말린원액 [HCHO, assay 35%, residue after ignition(sulfate) 0.01%, acid(HCOOH) 0.1%, chloride 0.001%,  $\text{SO}_4$  0.01%, 중금속(as Pb) 0.002%, Shehwa Industrial, Japan]을 시중에서 구입하여 공시약제로 사용하였다.

### 공시어종

붕어의 수컷 성어(평균체장 :  $27.33 \pm 3.35$  cm, 평균체중 :  $381.25 \pm 23.27$  g)를 충북 진천의 관상어양식조합에서 분양받아 수조 내에서 일주일간 적응시켰다. 또한 적응 기간 동안 사료는 잉어용 사료를 1일 1회 투여하였고, 시험을 시작하기 24시간 전부터 절식시켜서 사용하였다.

### 시험수조

각 공시어는 시험 시작 전까지 공기주입장치와 순환

여과장치, 온도조절기, 그리고 형광등이 설치된 200 리터의 유리수조에서 사육하였으며, 수조의 수온은  $21.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지하였다.

### 침지 및 채혈

4개의 유리수조(80 리터)에 공시약제의 권장 치료농도인 250 ppm의 1/2, 1, 2배 농도인 125, 250, 500 ppm으로 희석한 후, 20마리씩의 공시어를 넣어 1시간 동안 침지하였다. 한편 포르말린을 처리하지 않은 수조를 대조군으로 사용하였다. 침지가 끝난 공시어는 benzocaine ( $\text{C}_9\text{H}_{11}\text{NO}_2$ , Sigma, USA)으로 마취하고 미부혈관에서 헤파린으로 처리한 주사기로 채혈하였다. 채혈된 혈액분석용 혈액은 분석 전까지 냉장보관하였고 혈청분석용 혈액은 3000 rpm에서 8분간 원심분리하여 상층의 혈청만 수집한 후 분석 전까지 냉동보관하였다.

### 혈액학 및 혈액화학적 분석

혈액학 및 혈액화학적 분석은 표준 임상병리학적 방법에 따라 아래와 같이 시행하였다 [1]. 즉, RBC와 WBC 계산은 임상혈액학적 표준방법으로 시행하였다. 그리고 PCV는 microhaematocrit 법으로 측정하였다. 또한 Hb은 시안하모글로빈법으로 구하며, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular haemoglobin(MCH)과 mean corpuscular haemoglobin concentration(MCHC)을 계산하였다.

또한, total protein은 biuret법, albumin은 BCG법, AST는 UV rate법, ALT는 Reitman Frankel법, ALP는 p-니트로페닐인산기질법, creatinine은 Jaffe법, glucose는 Hexokinase법, bilirubin은 디아조늄법, LDH는 디아포라제법, calcium은 OCPC법, inorganic phosphorus(IP)는 UV법, 그리고 magnesium은 xylidyl blue법으로 측정하였다.

### 결과 분석

SPSS통계프로그램(SPSS Inc., USA)을 이용하여 대조군과 시험군의 수치를  $\chi^2$ -test에 의해 유의차를 5% 이내 ( $p < 0.05$ )에서 검정하였다.

## 결 과

### 혈액학적 분석

공시어를 포르말린에 1시간 침지한 후 각각의 농도별 혈액학적 수치의 변화는 Table 1과 같다. Hb은 250 ppm에서 대조군에 비해 유의적으로 증가했고, PCV는 500 ppm에서 대조군에 비해 유의적으로 증가했으며, RBC 수는 500 ppm에서 대조군에 비해 유의적으로 증가했다. 또한 MCV와 MCH는 500 ppm에서 대조군에 비해 유의

**Table 1.** Change of haematological parameters in crucian carp (*Carassius auratus*) after formalin exposure at different concentrations

	Control	Formalin (ppm)		
		125	250	500
Body Weight (g)	391.0 ± 13.5	393.2 ± 7.4	392.3 ± 10.3	394.8 ± 12.5
RBC ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )	95.2 ± 10.1	104.6 ± 33.4	108.4 ± 15.8	150.2 ± 16.6*
Hb (g/dl)	9.87 ± 1.05	10.16 ± 1.45	12.21 ± 0.80*	10.47 ± 1.90
PCV (%)	34.80 ± 3.35	32.40 ± 4.34	35.05 ± 1.0	41.04 ± 1.87*
WBC ( $\times 10^3/\mu\text{l}$ )	5.6 ± 0.04	3.9 ± 0.06	3.3 ± 0.05	3.2 ± 0.09
Red blood cell indices				
MCV (fl)	366.13 ± 15.03	327.64 ± 82.48	327.92 ± 44.36	274.87 ± 22.93*
MCH (pg)	104.99 ± 18.46	103.54 ± 30.97	114.63 ± 19.41	70.01 ± 12.52*
MCHC (g/dl)	28.58 ± 4.25	31.40 ± 2.27	34.87 ± 2.06	25.46 ± 3.99

Data represent the mean ± SD of three experiments.

\* Significantly different from control at  $p < 0.05$ .

**Table 2.** Change of blood serum chemistry in crucian carp (*Carassius auratus*) after formalin exposure at different concentrations

	Control	Formalin (ppm)		
		125	250	500
Total protein (g/dl)	3.75 ± 0.35	3.62 ± 0.40	3.88 ± 0.38	5.50 ± 0.98*
Albumin (g/dl)	1.56 ± 0.08	1.52 ± 0.10	1.56 ± 0.10	2.12 ± 0.29*
AST (IU/l)	911.80 ± 122.30	927.20 ± 87.08	1020.80 ± 88.85*	1070.80 ± 50.05*
ALT (IU/l)	40.40 ± 15.14	45.20 ± 12.34	71.80 ± 7.15*	82.60 ± 20.01*
ALP (IU/l)	101.80 ± 6.60	104.40 ± 10.79	104.20 ± 2.38	118.40 ± 30.97
Creatinine (mg/dl)	0.50 ± 0.07	0.51 ± 0.05	0.58 ± 0.02*	0.59 ± 0.02*
Glucose (mg/dl)	181.80 ± 40.61	176.60 ± 5.83	223.60 ± 17.90*	219.80 ± 33.84
Total bilirubin (mg/dl)	0.54 ± 0.13	0.52 ± 0.08	0.58 ± 0.14	0.63 ± 0.06*
LDH (IU/l)	573.60 ± 53.67	558.00 ± 59.37	383.40 ± 55.80*	371.00 ± 49.39*
Calcium (mg/dl)	12.94 ± 1.73	12.84 ± 0.84	11.28 ± 1.52*	10.48 ± 2.21*
IP (mg/dl)	4.20 ± 0.64	4.30 ± 0.72	4.34 ± 0.89	6.80 ± 1.43*
Magnesium (mg/dl)	2.86 ± 0.43	4.06 ± 1.41*	4.58 ± 0.94*	6.14 ± 0.44*

Data represent the mean ± SD of three experiments.

\* Significantly different from control at  $p < 0.05$ .

적으로 감소했다. 반면 MCHC는 모든 시험군에서 유의적인 변화가 나타나지 않았다. WBC 수는 농도별로 감소하는 경향을 보이나 유의적인 차이는 없었다.

#### 혈액화학적 분석

각각의 포르말린 농도별 혈액화학적 수치의 변화는 Table 2와 같다. Total protein과 albumin은 500 ppm에서

유의적으로 증가하였다. AST와 ALT는 250, 500 ppm에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. ALP는 500 ppm에서 증가하였으나 유의적인 차이는 보이지 않았다. 또한 creatinine은 250, 500 ppm에서 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. Glucose는 대조군에 비해 250 ppm에서 유의적인 증가를 보였고, total bilirubin은 500 ppm에서 유의적인 증가를 보였다. LDH와 calcium은 대조

군과 비교했을 때 250, 500 ppm에서 유의적으로 감소하였다. IP는 500 ppm에서 유의적으로 증가하였다. Magnesium은 모든 시험군에서 유의적으로 증가하였다.

## 고 찰

지금까지 어류에서 세균 및 기생충성 질병의 치료와 예방에 사용되는 포르말린 등과 같은 화학물질에 의한 독성평가는 주로 병리조직학적면에서 다루어져 왔다. 조피볼락(*Sebastes schlegelii*)에서 포르말린에 침지하면 아가미 조직에서 부종과 상피세포의 박리, 뒤틀림, 괴사증상이 나타나고, 간장에서는 부종과 핵농축, 공포화 현상이 나타난다. 그리고 신장에서는 퇴행적 병변과 세뇨관 상피세포의 과립화 및 괴사가 일어나며, 피부에서는 점액 세포의 증가와 표피의 괴사 및 과화조직과 진피층의 균열 소견이 관찰된다고 하였다 [10]. 대서양연어에서는 아가미에서 점액세포가 다량 증가한다고 하고 [19] 무지개송어에서는 피부에서 점액세포가 다량 증가한다고 하였다 [7]. 넙치에서는 아가미의 부종, 혈전, 새박판의 뒤틀림과 상피세포 박리가 나타났고, 신장에서는 부종, 수종성 퇴행성 병변, 그리고 초자변성이 관찰되었다 [9]. 이와 같이 포르말린은 어류에 있어서 아가미, 피부, 간장, 그리고 신장에 독성이 주로 나타남을 확인할 수 있다.

그러나 어류에서의 포르말린에 의한 혈액학적 독성평가는 넙치와 잉어에 있어서 연구되었을 뿐으로 다양한 어종에 있어서의 연구는 아직 이루어지지 않고 있다. 혈액학적 수치에는 RBC, WBC, Hb, 그리고 PCV 등이 있는데, 이는 물고기에 있어 독성물질에 대한 생리적 스트레스의 척도로 사용한다 [14, 23]. 또한 혈액화학적 수치에는 독성물질로 인한 간의 손상을 나타내는 AST, ALT, LDH, ALP가 있고, 신장의 손상을 나타내는 creatinine, calcium, IP, magnesium이 있다 [6, 8]. 또한, total protein과 albumin, glucose는 스트레스 시 에너지의 소비를 지시하며 bilirubin은 간과 bile duct의 손상을 나타낸다 [15, 16].

Yang 등[22]에 의하면 PCV, Hb, 그리고 total protein은 붕어와 같은 과에 속하는 잉어에서의 포르말린 침지 시 변화가 없었고, glucose는 250 ppm에서 1시간, 그리고 100 ppm에서 2시간 침지한 군에서 대조군에 비해 유의하게 증가하였다고 한다. 또한 Kakuta 등 [16]의 연구에서는 280 ppm의 포르말린에 잉어를 침지했을 경우 PCV, glucose, total protein, 그리고 lactic acid는 증가하였고 심박수와 호흡은 짧은 시간동안 증가했다가 감소하였다 한다. 또한 넙치에서 포르말린 침지 시, PCV와 Hb가 모든 시험군에서 유의적으로 증가하였고 RBC count는 300 ppm에서 대조군과 비교했을 때 유의적으로

증가하였다고 한다 [14]. 본 연구에서는 PCV, Hb, 그리고 RBC 모두가 유의적으로 증가하였는데, 이들은 물고기에서 독성물질에 의한 생리적 스트레스의 척도로 사용되어지는 항목들로, 이는 속발성 저산소증이 원인이 되어 또한 MCV와 MCHC이 500 ppm에서 유의적인 감소를 보인 것은 적혈구수의 증가를 의미한다 [1].

본 연구에서는 total protein과 albumin이 500 ppm에서 대조군과 비교하여 유의적인 증가를 보였는데, 물고기는 스트레스 하에서 증가된 생리적 활동성을 지탱하기 위해 protein을 동원한다고 한다 [20]. 따라서 고농도의 포르말린 침지는 붕어에 스트레스를 유발하는 것으로 사료된다. 혈중 glucose 농도 역시 250 ppm에서 유의적으로 증가했고 500 ppm에서는 증가하였는데, 이는 물고기가 스트레스를 받았음을 의미한다 [13].

AST, ALT, ALP, LDH, 그리고 total bilirubin 수치의 증가변화는 물고기에서 독성물질에 의해 간장의 손상을 지시하는 항목으로 사용되어 진다 [2, 6]. 포르말린을 처리한 무지개송어의 경우 AST는 증가했지만 ALT와 LDH에는 변화가 없었다고 하고 [22], 넙치에서는 AST와 LDH가 증가했고 GPT는 변화가 없었다고 한다 [15]. 무지개송어를 포르말린 처리했을 때는 bilirubin이 증가하였지만 [22], 넙치에서 변화가 없었다고 한다 [15]. 이와 같이 붕어에서도 AST와 ALT, 그리고 total bilirubin이 증가한 것으로 보아 포르말린이 간장에 손상을 준 것으로 사료된다.

Creatinine, magnesium, IP, 그리고 calcium과 같은 수치의 증가는 잠재적으로 물고기의 신장 손상을 지시한다는 보고가 있다 [8]. 무지개송어에 포르말린을 처리했을 때 calcium 수치의 감소가 나타났고 coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*)에서는 변화가 없었다고 한다 [22]. 또 넙치에서는 calcium과 creatinine의 수치는 변화가 없었고 magnesium과 IP는 증가했다고 한다 [14]. 본 연구에서도 creatinine, IP, 그리고 magnesium이 증가를 보여 포르말린 처리가 붕어의 신장에 손상을 준 것으로 사료된다.

이상과 같이 본 연구에서도 포르말린 250 ppm 이상의 농도에서 1시간 침지하였을 경우 다른 어종에서와 마찬가지로 붕어에 있어서도 간장과 신장의 포르말린에 의한 독성을 확인할 수 있었다. 이는 양식장에서 치료 적정수준의 농도로 포르말린을 사용하더라도 처리되지 않은 채로 하천으로 유입된다면 내수면에 대표적으로 서식하는 붕어와 같이 하천 생태계에 영향을 미침을 의미한다. 따라서 양식 어류에 있어서 포르말린 사용을 가능한 자제하여야 하며, 사용하더라도 권장용량의 준수는 물론 사용 후 처리에도 각별한 주의가 필요하다고 하겠다.

## 결 론

본 연구에서 RBC count와 Ht치는 500 ppm에서 유의적으로 증가하였으나, MCV와 MCH는 500 ppm에서 유의적인 감소를 보였다. 또한 WBC count도 모든 시험군에서 감소했으나 유의적인 차이는 없었다. Total protein, albumin, AST, ALT, creatinine, total bilirubin, IP와 magnesium은 500 ppm에서 유의적인 증가를 보였고, ALP와 glucose는 500 ppm에서 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다. LDH와 calcium은 250 ppm과 500 ppm에서 유의적으로 감소했다. 그리고 AST, ALT, creatinine, glucose, magnesium은 250 ppm에서 유의적으로 증가하였다.

따라서 붕어에 있어서 포르말린 250 ppm 이상의 농도에서 1시간 침지하였을 경우 다른 어종에서와 마찬가지로 간장과 신장의 포르말린에 의한 독성을 확인할 수 있었다.

## 참고문헌

1. 강장부, 권오덕, 김덕환, 김두, 나기정, 양만표, 윤화영, 이정갑, 이근우, 이정길, 이창우. 수의임상병리, pp 46-319, 기전연구사, 서울, 2004.
2. 김익수, 김선영, 박종영. 만경강 오염수에서 서식하는 붕어의 아가미와 신장의 비정상적인 조직. Korean J Ichthyol 2002, 14, 70-75.
3. 조계윤. 제주도산 담수어류에 기생하는 기생충에 관한 연구. J Fish Pathol 1990, 3, 51-60.
4. 진해 내수면연구소. 내수면 양어장 수질환경 관리. 수산기술지, 해양수산부, 서울, 1995.
5. 최정일, 유경연, 윤명하. 원저 : 백서를 이용한 포르말린 시험하에서 척수강내 Gabapentin의 항침해작용에 대한 Serotonergic 수용체의 영향. 대한통증학회지 2002, 15, 19-25.
6. Asztalos B, Nemsok J, Benedeczy L, Gabriel R, Szabo A, Refaie OJ. The effects of pesticides on some biochemical parameters of carp (*Cyprinus carpio* L.). Arch Environ Contam Toxicol 1990, 19, 275-282.
7. Buchmann K, Bresciani J, Jappe C. Effects of formalin treatment on epithelial structure and mucous cell densities in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), skin. J Fish Dis 2004, 27, 99-104.
8. Casillas E, Myers M, Ames WE. Relationship of serum chemistry values to liver and kidney histopathology in English sole (*Parophrys vetulus*) after acute exposure to carbon tetrachloride. Aquat Toxicol 1983, 3, 61-78.
9. Cho JK, Chun MN, Yang HC. Histopathological response of flounder, *Paralichthys olivaceus*, treated with formalin and neutral-formalin. J Fish Pathol 1997, 10, 53-63.
10. Cho JK, Yang HC. Determination of formaldehyde residue and histopathological observation in formalin and neutral-formalin treated Korean rockfish (*Sebastes shlegeli*). J Fish Pathol 1996, 9, 157-168.
11. Cho KS, Park JH, Kang JC. Acute toxicity of *Carassius auratus* and *Pungtungia herzi* larva on mercury, lead and copper exposure. J Korean Soc Water Qual 2004, 20, 265-268.
12. Fox CH, Johnson FB, Whiting J, Roller PP. Formaldehyde fixation. J Histochem Cytochem 1985, 33, 845-853.
13. Hattingh J. Blood sugar as an indicator of stress in the freshwater fish, *Labeo capensis* (Smith). J Fish Biol 1976, 10, 191-195.
14. Jee JH, Park HJ, Lee OH, Keum YH, Kim SM, Woo SH, Park SI, Kang JC. Pentachlorophenol impact assessment of haematological parameters in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. J Fish Pathol 2005, 18, 81-91.
15. Jung SH, Sim DS, Park MS, Jo QT, Kim Y. Effects of formalin on haematological and blood chemistry in olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel). Aquac Res 2003, 34, 1269-1275.
16. Kakuta I, Namba K, Uematsu K, Murachi S. Physiological response of the fish, *Cyprinus carpio*, to formalin exposure--I. Effects of formalin on urine flow, heart rate, respiration. Comp Biochem Physiol C 1991, 100, 405-411.
17. Kim IS, Byun JG, Kim HY. Effect of pH on acute toxicity of heavy metals to *Carassius Auratus*. Korean J Limn 1994, 27, 317-326.
18. Mazeaud MM. Primary and secondary effects of stress in fish ; Some new data with a general review. Trans Am Fish Soc 1977, 106, 201-212.
19. Sievers G, Palacios P, Inostroza R, Doelz H. Evaluation of the toxicity of 8 insecticides in *Salmo salar* and the in vitro effects against the isopode parasite, *Ceratothoa gaudichaudii*. Aquaculture 1995, 134, 9-16.
20. Speare DJ, Arsenault G, Macnair N, Powell MD. Branchial lesions associated with intermittent formalin bath treatment of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J Fish Dis 1997, 20, 27-33.
21. Thorburn MA. Use of chemotherapeutics on trout

- farm in Ontario. J Aquat Anim Health 1993, **5**, 85-91.
22. **Wedemeyer G.** The stress of formalin treatments in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). J Fish Res Board Can 1971, **28**, 1899-1904.
23. **Williams HA, Wootten R.** Some effects of therapeutic levels of formalin and copper sulphate on blood parameters in rainbow trout. Aquaculture 1981, **24**, 341-353.
24. **Yang SD, Lin TS, Liu FG.** Studies on the formalin toxicity and formaldehyde residues in common carp (*Cyprinus carpio*). J Taiwan Fish Res 2005, **13**, 25-34.
25. **Yildiz HY, Pulatsii S.** Evaluation of the secondary stress response in healthy Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) after treatment with a mixture of formalin, malachite green and methylene blue. Aquac Res 1999, **30**, 379-383.