

양식넙치의 Ceroid증 발생에 대하여

이 창 훈

제주수산연구소

1. 1991년 4월 1일부터 9월 27일까지 넙치의 Ceroid증 발생실험을 행하였다.
2. Ceroid증을 발생시키기 위하여 과산화물가가 90.4mEq/kg, 36.9mEq/kg, 15.5mEq/kg, 15.2mEq/kg인 산화사료를 투여한 실험군과 대조군의 성장은 과산화물가가 90.4mEq/kg인 산화사료를 첨가한 실험군에서는 3개월째 부터, 과산화물가가 36.9mEq/kg인 산화사료를 첨가한 실험군에서는 4개월째 부터 과산화물가가 15.5mEq/kg, 15.2mEq/kg 및 대조군보다 둔화하였다.
3. 병리조직학적으로는 대조군은 정상적인 조직상을 나타냈으며 과산화물가가 높은 실험군일수록 간장, 비장과 신장조직에 Ceroid 침착량 및 조직변화가 심하였고 낮은 실험군일수록 변화가 적었으나 근육과 장조직에서는 과산화물가의 함량에 관계없이 별다른 이상을 발견할 수 없었다.

Key Words : *Paralichthys olivaceus*, Ceroidosis, POV, Development

어류의 육질내의 지질성분은 고도 불포화지방산을 다량 포함하고 있으며, 지질성분의 산화로 지질의 쉽게 변화하여 과산화물을 형성하므로 어류에 유독한 작용을 일으키게 된다. 이와 같이 산패된 사료를 어류에 장기간 투여하게 되면 어류의 각 장기에 ceroid가 형성되어 침착되고 침착된 부위의 조직은 변성되거나 괴사된다. 어체의 각 장기에 ceroid 침착량이 많을수록 각 장기의 기능장애는 더 커지므로 어류의 성장이 둔화되고 결국 폐사된다.

산패된 사료를 잉어, 방어, 자주복, 은연어, 참돔의 양식어류에 투여하면 ceroid증이나 myopathy 증이 발생된다는 결과가 많은 학자에 의하여 보고되고 있다(橫手, 1967, 1970; 宮崎 등, 1981, 1985; 窪田 등, 1980, 1981^h, 1982; Endo 등, 1979; Roald 등, 1981; 坂口 등, 1979).

제주도내 넙치 양식장에서 사용되는 사료는 대부분 장기간 냉동(-20℃) 보관된 생사료에 배합사료를 혼합하여 만든 모이스트 펠렛(Moist Pellet)을 사용하고 있다. 일부 양식장에서는 어류의 성장과 사료효율을 높이기 위하여 이 MP 사료에 피드오일(Feed Oil)을 첨가하여

사용하고 있다.

이 Feed Oil은 불포화지방산을 많이 함유하고 있어서 일단 개봉하면 공기중의 산소에 의하여 쉽게 산화되며, 산화된 생사료와 같이 과산화물을 형성하여 어류의 성장둔화, 체색흑화 현상을 유발시키는 사례가 많다. 내수면과 해면양식이 활발히 이루어지고 있는 우리나라에서는 현재까지 산패사료에 의한 ceroid증의 연구보고가 극히 드물며, 특히 넙치를 대상으로 한 이와 같은 보고는 거의 없는 실정이다.

본 연구에 있어서는 질병의 발생원인이 되고 있는 ceroid증의 발생 기구를 구명하기 위하여 인위적으로 산패사료를 넙치에 투여한 결과 및 이에 따른 각 장기조직의 병변이 관찰되었으므로 여기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험어 및 방법

본 실험에 사용한 어류는 제주도 북제주군 행원리 행원수산 종묘배양장에서 생후 약 3개월 정도의 넙치치어 840마리(평균체중, 3.0g)를 구입하여 사용하였으며, 이

중 200마리는 실험수조(1.1×1.0×0.5m) 4개에 각각 50마리씩 분리, 수용하여 대조군으로 사용하였고, 나머지 640마리는 실험수조 8개에 각각 80마리씩 분리, 수용하여 실험군으로 사용하였다. 실험은 2개의 수조를 1개의 실험군으로 하여 총 4개의 실험군으로 나누어 1991년 4월부터 9월 27일까지 총 180일간 실시하였다. 이 기간동안의 수온은 13.4~26.9℃, pH는 8.2±0.1, 용존산소량(DO)은 5.6±0.05mg/l였으며, 사육수조의 일일 환수량은 18회전이 되도록 유수식으로 교환하였다.

2. 사 료

본 실험에 사용한 사료는 Table 1에 나타낸 기본 조성에 Feed Oil을 다음과 같은 방법으로 제조, 첨가하여 사용하였다. 즉 대조군에서는 Feed Oil을 첨가하지 않은 배합사료만 사용하였으며(POV : 10.2mEq/kg), 1실험군에서는 Feed Oil을 2시간 끓여 야외에 6일간 방치한 후 배합사료에 흡착시켜 사용하였고(POV : 90.4mEq/kg), 2

실험군에서는 Feed Oil을 야외에 1일간 방치한 것을 배합사료에 흡착시켜 사용하였으며(POV : 36.9mEq/kg), 3실험군에서는 Feed Oil을 MP 사료(생사료 : 배합사료 : 8 : 2)에 흡착시켜 사용하였으며(POV : 15.5mEq/kg), 그리고 4실험군에서는 Feed Oil을 야외에 1시간 방치한 후 배합사료에 흡착시켜 사용하였다(POV : 15.2mEq/kg)(Table 1). 각 실험군에 있어서 일일 사료 투여량은 3%/body weight/day이었다.

3. 과산화물 측정 방법

산화된 Feed Oil을 사료에 흡착시킨 각 실험군 시료의 과산화물 측정은 金田 등(1988)의 과산화지질실험법에 준하였다. 즉 원통여과지에 시료 5g를 환저 flask에 넣고 여기에 2/3정도 ethanol을 채운 후 항온수조 60℃에서 숟싹으로 8시간 동안 지방추출을 하였으며, ethanol을 회수한 후 환저 flask내의 수분을 완전히 제거하여

Table 1. Composition of the diet of each experimental group.

Component	experimental group				
	control	1	2	3	4
Moisture(%)	5.0	5.0	5.0	5.0(62.5)	5.0
Crude protein(%)	50.0	50.0	50.0	50.0(19.8)	50.0
Crude fat(%)	7.0	7.0	7.0	7.0(16.5)	7.0
Crude cellulose(%)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Calcium(%)	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
Phosphate(%)	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
Carbohydrate(%)	2.0	2.0	2.0	2.0(0.1)	2.0
Ash(%)	16.0	16.0	16.0	16.0(1.1)	16.0
Vitamin and mineral(%)	13.8	13.8	13.8	13.8	13.8
POV(mEq/kg)	10.5	90.4	36.9	15.5	15.2

*3 : Addition group of fresh fish meal and experimental diet with 8 : 2 ratio respectively.

() : Component of mackerel, *Scomber japonicus* Houttuyn.

다시 60℃의 진공건조기에서 1시간 건조, 데시케이트에서 30분간 냉각시켜 평량한 시료의 지방 무게를 기록하였다.

측정은 환저플라스크에 크로로포름 10ml와 빙초산 15ml를 넣고 즉시 포화 요오드칼륨 1ml를 다시 넣고 마개를 잘 막은 후 1분간 끌고루 흔들어 주어, 다시 5분간 어두운 곳에서 방치한 후 증류수 75ml를 첨가시켜 1% 전분용액 1ml를 넣으면 어두운 보라색으로 변색되는데 이때 N/100-치오유산나트륨 표준용액으로 적정하여 보라색에서 밝은 백색이 될 때를 종점으로 하였다.

$$\text{과산화물가(POV)} = \frac{A \times F}{B} \times 10$$

A : N/100 치오유산나트륨 표준액 소비량(ml)

F : N/100 치오유산나트륨 역가

B : 추출된 시료의 무게량(g)

4. 성장 및 폐사

위에서 언급한 산화사료를 투여하여 사육한 실험어가 어류에 미치는 영향을 알아보기 위하여 각 실험군의 실험어를 30일 간격으로 6개월간 어체중과 폐사마리수를 조사하였다.

5. 병리조직학적 검사

Ceroid 발생여부를 알아보기 위하여 1개월 간격으로 각 1실험군 및 3실험군 그리고 대조군의 어류의 간장, 비장, 신장, 장 및 근육조직을 떼어내어 10% 중성 formalin에 고정시킨 후 paraffin 상법에 따라 5μm의 조직 절편을 만들어 Hematoxylin-Eosin 염색, PAS반응(Periodic Acid Schiff Reaction)염색, Sudan III염색을 하여 광학현미경(×100~×400배)으로 검경, 조사하였다.

결 과

1. 성장 및 폐사

실험에 feed oil을 첨가시킨 실험군과 첨가하지 않은 대조군에서의 성장을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다.

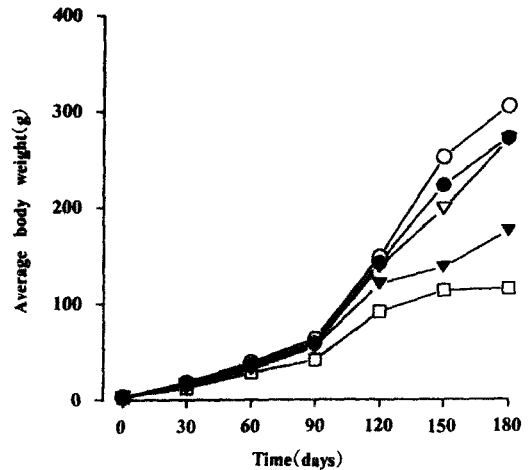


Fig. 1. Time-course changes in the growth of flounders fed the diets of POV value being 15. POV value being 10.5(○), 15.2(●), 15.5(△), 36.9 (▼) or 90.4mEq/kg(□) during 180 days.

어류의 성장은 사료중의 POV 함량이 많을수록 감소하였다. 기본 배합사료만 투여한 대조군(POV : 10.5mEq/kg)에서는 사료투여 60일부터 성장이 현저히 증가하여 180일째에는 평균체중이 300g 정도까지 성장하였고, Feed Oil을 야외에 1시간 방치한 후 배합사료에 혼합시킨 4실험군(POV : 15.2mEq/kg)과 생사료와 배합사료를 8 : 2로 혼합한 것에다 feed oil을 첨가한 3실험군(POV : 15.5mEq/kg)에서는 어류의 성장이 대조군에 비해 다소 감소되었으나 그다지 유의한 차이는 없었으며, feed oil을 2시간 끓인 후 야외에 6일간 방치한 후 배합사료에 혼합시킨 1실험군(POV : 90.4mEq/kg)에 있어서는 60일까지는 성장속도가 비슷하였으나 그 이후 부터는 일부 개체는 흑화되기 시작하였고 성장속도도 대조군에 비해 현저히 감소되어, 180일째에는 2실험군에서는 평균체중이 175g, 1실험군에서는 115g이었다. 어류의 폐사는 1실험군에서는 투여 90일째부터 1마리가 폐사되기 시작하여, 180일째까지는 총 3마리가 폐사하였으나, 다른 실험군에서는 전혀 발생하지 않았다.

2. 병리조직학적 소견

과산화물가가 10.5mEq/kg인 대조군의 결과는 간장, 비

장, 신장, 근육 및 장조직에서는 별다른 이상을 관찰할 수 없었다(Plate 1-①, ②, ③, ④, ⑤, Plate 3-①). 과산화물가가 90.4mEq/kg인 실험군의 실험결과는 Plate 2, 3, 4와 같다.

간장조직에 있어서는 투여 1개월째에는 실질세포의 핵은 농축되어 있었고, 간세포 일부가 괴사되기 시작하였으며(Plate 2-①, ②), 또한 3개월째에는 초자적 변성 및 공포 변성이 나타나기 시작하여(Plate 2-③), 4개월 이후부터는 변성이 더욱 심하게 관찰되었다(Plate 2-④, ⑤, ⑥).

Sudan III염색에서는 대조군에 비해 지방이 더 진하게 나타났다(Plate 3-②, ③, ④). 비장조직에 있어서는 1개월 및 2개월 경과 후 일부세포의 변성 및 다소간의 ceroid 침착이 관찰되기 시작하여(Plate 4-①, ②), 3개월 이후부터는 ceroid 양도 더욱 많아져서(Plate 4-③, ④), 5개월 이후에는 세포변성도 더욱 심하게 관찰될 뿐 아니라 또한 ceroid 탐식 macrophage 집괴가 다수 관찰되었고(Plate 4-⑤, ⑥), Sudan III염색에서는 진한 분홍색을 띠고 있었다(Plate 5-①, ②, ③, ④). 한편 신장 조직의 조혈조직에서는 투여 1개월째에 ceroid 침착상태가 현저하게 나타났고(Plate 6-①), 2개월째에는 다수의 melanin 과립 및 macrophage의 출현과 함께 ceroid 침착을 볼 수 있었다(Plate 6-②). 3개월 이후부터는 ceroid 침착과 더불어 세뇨관 상피세포의 초자적 변성 및 괴사로 세뇨관 구조의 붕괴소견을 볼 수 있었고(Plate 6-③, ④, ⑤, ⑥), Sudan III염색결과, ceroid는 진한 분홍색을 띠고 melanin 과립 및 macrophage의 출현을 볼 수 있었다(Plate 7-①, ②, ③, ④).

과산화물가가 36.9mEq/kg인 실험군의 결과는 Plate 8, 9, 10과 같다. 간장조직에 있어서는 5개월까지는 별다른 소견을 관찰할 수 없었으나(Plate 8-①, ②, ③, ④, ⑤), 6개월 이후부터는 일부 세포가 괴사소를 나타내었다(Plate 8-⑥). 비장조직에 있어서는 1개월 이후부터는 비수내에 ceroid 과립이 관찰되었으며(Plate 9-①, ②, ③), 4개월 이후부터는 세포변성도 관찰되었다(Plate 9-④, ⑤, ⑥). 한편 신장조직에 있어서는 조혈조직의 세포가 일부 소실로 인한 공포화 소견을 나타내었고(Plate

10-①), 입자가 다양한 대형의 melanin 과립과 macrophage가 다수 출현하였으며(Plate 10-②, ③), 또한 4개월 이후부터는 대형의 ceroid 침착소의 형성과 함께 세뇨관 주위의 조직은 소실되거나 불규칙하게 나타났다(Plate 10-④, ⑤, ⑥).

고 찰

어류, 특히 양식용 어류에 산화된 사료를 장기간 급여하게 되면, 임상적으로 체색의 흑화(窪田 등, 1981^a), 섭이 활동 및 성장 둔화(池田 등, 1988; 橋本, 1966; Smith, 1979; 窪田 등, 1981^a), 등 여윌 현상(橋本, 1966; 横手, 1967, 1970; 宮崎 등, 1981^{a,b}; 窪田 등, 1980), 빈혈증상(坂口 등, 1969; Smith, 1979) 등의 소견을 나타내면서, 심한 경우에는 폐사에 이르게 된다. 조직학적으로는 근육축 및 변성(坂口 등, 1969; 横手, 1967, 1970; 窪田 등, 1981^{a,b}; 宮崎 등, 1985^a; 延東 등, 1979), 각종 장기에 Ceroid 침착(宮崎 등, 1981^{a,b}; 窪田 등, 1981^{a,b}; Roald 등, 1981), 간의 지방변성(Smith, 1979; Roald 등, 1981; 中川, 1990) 등을 보고하고 있다. 이와같은 증상 및 소견은 어류 사료내에 함유된 불포화지방산의 산화규정에서 생긴 각종 과산화물(Hydroperoxides)에 기인한 것으로 생각하고 있다(김진, 1983; 궁기 등, 1981^{a,b}; 연동 등, 1979). 어류의 사료는 고도의 다불포화지방산을 다량 함유하고 있어, 사료의 장기간 보관 및 보관상의 잘못으로 공기에 장기간 접촉되면 쉽게 산화될 수 있으므로, 산패된 사료가 급여될 가능성은 매우 높다 하겠으며, 이로 인한 큰 경제적 손실을 쉽게 예상할 수 있다.

따라서, 본 연구에서는 우선, 정도를 각각 달리한 산패사료를 넙치에 장기간 급여함으로써 유발되는 임상증상 및 각종 장기의 조직학적 변화, 특히 Ceroid 침착장기 및 그 침착정도를 파악하고자 하였다. 과산화물가가 90.4mEq/kg 및 36.9mEq/kg인 사료투여로 4개월째부터 현저한 성장둔화가 인정되었고 이후 6개월까지 거의 성장이 되지 않았다. 특히 90.4mEq/kg의 과산화물가를 갖는 사료를 투여한 실험군에서는 폐사에도 출현하였다. 그러나

과산화물농도에 상관적으로 성장의 둔화는 전반적인 현상이었다. 와전 등(1981¹⁴)은 복어에 산패 또는 산화한 어유를 사료에 혼합투여하여, 관구 등(1979¹⁵)은 양식 참돔에 사료와 산화유의 혼합투여하여, 성장 및 소화율이 극히 불량하였음을 보고하고, 이때 관구 등은 간체장의 글리코겐 및 혈당치가 현저히 감소되었다고 하였다. 성장의 둔화 내지 정지는 산화사료로부터 생긴 과산화물에 기인하여 장으로부터의 지방흡수가 현저히 억제되어 섭취활동이 저하하여 빈혈현상을 일으키기 때문인 것으로 여겨진다.

그러므로, 산패도에 따라 그 정도를 달리하겠으나, 산패사료를 낚치에 4개월 이상 장기간 투여로 성장에 미치는 영향은 상당할 것으로 사료된다.

병리조직학적으로, 간장, 비장 및 신장에서는 실질조직의 변성 및 ceroid 침착이 과산화물가가 비교적 높은 실험군에서부터 인정되었고 급여기간이 길어짐에 따라 정도가 심하였다. 군결성의 황갈색 색소인 ceroid는, 불포화 지방산에서 유래하는 산화색소이며, 주로 macrophage 또는 간세포내에 침착한다. 이의 조직내 침착은 choline, methionine과 같은 항지방성 인자의 결핍, 비타민 E 결핍 등에 기인한 지방대사장애의 결과이다. 그러나, ceroid의 침착은 간에 한정되는 소견은 아니고, 전신에 분포하는 macrophage내, 지방세포, 심근세포, 비장 및 장의 평활근, 신장세포, 신결절세포 등에 침착할 수 있다. 조직내 과량의 ceroid 침착은 어류, 특히 양식어류에서 빈발하는 소견으로, 인공사료의 결점, 즉 영양소의 결핍 또는 산패사료 등에 기인한다고 사료된다.

窪田 등(1980)은 냉동 보관중에 산패한 사료를 투여한 방어에서 근증(Myopathy)과 함께 ceroid증을 보고하고 있다. 그러나, 본 연구의 결과에서는 근육 및 장조직에서는 특이할 만한 변화가 인정되지 않았는데, 각기 다른 어종에 관한 다수의 보고예(坂口 등, 1969; 横手, 1967, 1970; 窪田 등, 1981¹⁶; 宮崎 등, 1985¹⁷; 延東 등, 1979)에서 근변성을 인정하고 있는 점과는 일치하지 않는 소견이라 하겠다. 양식낚치에 관한 보고예가 현재는 적고, 이 점은 추후 많은 실험보고예가 있어야 할 것으로 여겨진다.

참 고 문 헌

- 江草周三・窪田三朗・宮崎照雄：魚の病理組織學，東京大學出版會，東京，8~24，1979.
- 延東 眞・宮崎照雄・窪田三朗・大林萬鋪・長野泰三・松本紀男：養殖魚の營養性ミオパチー症候群に関する研究-II，種苗生産中に發生したトラフグの營養性ミオパチー症候群について，Fish Pathol., 13(4)：183~187, 1979.
- 金田尚志・植田伸夫：過酸化脂質實驗法，醫齒藥出版株式會社，第II部 實驗法：58~60, 1988.
- 月刊 Medical Technology：染色法のすべて，醫齒藥出版株式會社，第2版：36~40, 1984.
- 窪田三朗・丹橋紀男・延東 眞・宮崎照雄：養殖魚の營養性ミオパチー症候群に関する研究-I，ブリの營養性ミオパチー症候群，魚病研究，15(2)：75~80, 1980.
- 窪田三朗・宮崎照雄・津田茂美・糟谷浩一：養殖魚の營養性ミオパチー症候群に関する研究-IV，ニジマスの激しいセロイド症をともなう營養性ミオパチー，三重大學水産研報，8：107~115, 1981¹⁸.
- 宮崎照雄・窪田三朗：養殖魚の營養性ミオパチー症候群に関する研究-V，變敗蛋による背コケ症狀，三重大學水産研報，8：117~129, 1981¹⁹.
- 宮崎照雄・窪田三朗：養殖魚の營養性ミオパチー症候群に関する研究-VI，コイに對する蛋油と魚油の投與實驗-i，脱脂 北洋ミール基本ビタミンE缺乏飼料，三重大學水産研報，8：131~147, 1981²⁰.
- 宮崎照雄・津田 晃・窪田三朗：養殖魚の營養性ミオパチー症候群に関する研究-IX，フラウンミールで飼育したコイの病理組織象，三重大學水産研報，12：131~137, 1985²¹.
- 中川平介：トラフグ營養研究の現況と課題(上)，餌料による肝臟組成の相違と營養要求，養殖 10月，113~117, 1990.
- Roald, S. O., D. Armstrong, T. Landsverk : Histochemical, fluorescent and electron microscopical ap-

- pearance of hepatocellular ceroidosis in the Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. Journal of Fish Diseases, 4 : 1~14, 1981.
- 坂口宏海・浜口 章：若年魚の血液、肝すい臓などの化学成分の季節変化. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 45(4) : 443~448, 1979^a.
- 坂口宏海・浜口 章：過酸化投與が血液、肝すい臓成分などに与える影響. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 45(4) : 449~453, 1979^b.
- 坂口宏海・浜口 章：酸化油の消化率ならびに酸化油攝取後の血漿および肝すい臓成分の経時 変化. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 45(5) : 545~548, 1979^c.
- Smith, C. E. : The prevention of liver lipid degeneration(ceroidosis) and microcytic anaemia in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richards on fed rancid diet. A preliminary report. Journal of Fish Disease, 2 : 429~437, 1979.
- 横手元義：コイの背コケ病研究の紹介. 魚病研究, 1(2) : 54~65, 1967.
- Yokote, M. : Sekoke disease, spontaneous diabetes in carp, *Cyprinus carpio*, found in fish farms— I. Pathological study. Bull. Freshwater Fish. Res. Lab., 20(1) : 39~72, 1970.

The Development Ceroidosis in Cultured Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Chang-Hoon Lee

*National Fisheries Research and Development Agency South Sea Fisheries Research Institute
Cheju Laboratory*

1. For the induction of ceroidosis, the flounders were fed on the different Peroxidation Value(POV) diets for 6 months from April 1 to September 27, 1991. The growth of the flounder fed on the high POV diets, 90.4mEq/kg and 36.9mEq/kg, were markedly decreased after 3 months and 4 months respectively, compared to those fed on the two different low POV diets, 15.5mEq/kg or 15.2mEq/kg.
2. Histologically, it was hard to observe any pathological signs in the tissues of the control group with normal diets(POV 10.5mEq/kg). With the increasing of POV values of diets, severe ceroid accumulation and parenchymal degenerative lesions were found in the liver, spleen and kidney. However, any abnormalities were not observed in muscle and intestine been in high POV diets fed flounder.

EXPLANATION OF PLATES

PLATE 1

Control group, H. E stain, $\times 400$

- | | | |
|-----------|-----------|--------------|
| 1. Liver | 3. Kidney | 5. Intestine |
| 2. Spleen | 4. Muscle | |

PLATE 2

Liver fed rancid diets(peroxide 90.4mEq/kg), H. E stain, $\times 400$

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. After 1 month | 4. After four months |
| 2. After two months | 5. After five months |
| 3. After three months | 6. After six months |

PLATE 3

1. Liver in the control group, Sudan III stain, $\times 100$
2. Liver after three months fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg) Sudan III stain, $\times 100$
3. Liver after four months fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg) Sudan III stain, $\times 100$
4. Liver after six months fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg) Sudan III stain, $\times 100$

PLATE 4

Spleen fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg), H. E stain, $\times 400$

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. After 1 month | 4. After four months |
| 2. After two months | 5. After five months |
| 3. After three months | 6. After six months |

PLATE 5

Spleen fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg), Sudan III stain, $\times 100$

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. After 1 month | 3. After four months |
| 2. After three months | 4. After six months |

PLATE 6

Kidney fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg), H. E stain, $\times 400$

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. After 1 month | 4. After four months |
| 2. After two months | 5. After five months |
| 3. After three months | 6. After six months |

PLATE 7

Sudan III stain, $\times 100$

1. Normal kidney in the control group(POV : 90.4mEq/kg)
2. Kidney after two months fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg)
3. Kidney after three months fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg)
4. Kidney after six months fed rancid diets(POV : 90.4mEq/kg)

PLATE 8

Liver fed rancid diets(POV : 36.9mEq/kg), H. E stain, $\times 400$

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. After 1 month | 4. After four months |
| 2. After two months | 5. After five months |
| 3. After three months | 6. After six months |

PLATE 9

Spleen fed rancid diets(POV : 36.9mEq/kg), H. E stain, \times 400

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. After 1 month | 4. After four months |
| 2. After two months | 5. After five months |
| 3. After three months | 6. After six months |

PLATE 10

Kidney fed rancid diets(POV : 36.9mEq/kg), H. E stain, \times 400

- | | |
|-----------------------|----------------------|
| 1. After 1 month | 4. After four months |
| 2. After two months | 5. After five months |
| 3. After three months | 6. After six months |

PLATE 1

PLATE 2

PLATE 3

PLATE 4

PLATE 5

PLATE 6

PLATE 7

PLATE 8

PLATE 9

PLATE 10