한국어병학회지 제23권 제3호
J.Fish Pathol., 23(3) : 335~342 (2010)

동남아시아로부터 수입된 paradise fish *Macropodus opercularis* 로부터 분리한 reovirus의 특성

김위식 · 김수진 · 김정호* · 정성주 · 김도형 · 오명주†

전남대학교 수산생명의학과, *강릉원주대학교 해양자원육성전공

Characterization of an isolated reovirus from the paradise fish *Macropodus opercularis* imported from Southeast Asia

Wi-Sik Kim, Soo-Jin Kim, Jeong-Ho Kim*, Sung-Ju Jung, Do-Hyung Kim and Myung-Joo Oh†

Department of Aqualife Medicine, College of Fisheries and Ocean Science, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea

**Faculty of Marine Bioscience and Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangneung, 210-702, Korea*

In 2008, mass mortality was observed in paradise fish *Macropodus opercularis* which was imported from Indonesia. PCR of these fish found positive for megalocytivirus and *Mycobacterium* sp., while an unidentified virus was culture-isolated using CHSE-214 cells. In the present study, we investigated characterization of the unidentified virus and its pathogenicity to determine whether the virus was the causative agent of the mass mortality of paradise fish. The unidentified virus induced cytopathic effect (CPE) with syncytia in CHSE-214 and other fish cells, BF-2, GF, SSN-1, FSP and FFN. The virus was resistant against treatments with IUdR, chloroform, acidity at pH 3, basicity at pH 11 and high temperature at 56℃ for 3h. By electron microscopy, the viral particles were spherical having a double capsid structure with approximately 65 nm in external diameter. Viral genome was composed of at least 10-segmented RNA with sizes ranging from 0.7 kb to 3.6 kb. Based on these characters, this virus can be classified into family *Reoviridae*. This reovirus did not cause any mortality in an artificial experiment conducted by injecting the virus to paradise fish. This indicates that the reovirus is not only responsible for the mass mortality of paradise fish in 2008.

Key words :Reovirus, Tropical fish, Paradise fish, *Macropodus opercularis*

열대어는 세계 각국에서 관상용으로 사육되고 있으며, 발생과 번식이 빨라 연구용으로도 그 이용성이 증가되고 있다. 국내에서 열대어는 말레이시아를 비롯하여 태국, 필리핀, 인도네시아, 중국 등으로부터 수입되고 있으며, 수입량은 1995년 59 ton에서, 2003년 106 ton, 2007년 193 ton, 2008년 187 ton으로 매년 증가하는 추세이다 (관세청, 2010).

열대어에 발생하는 질병으로는 *Trichodina* sp., *Gyrodactylus* sp., *Myxobolus* sp. 등의 기생충에 의한 질병 (Andrews *et al*., 2003; Thilakaratne *et al.,* 2003), *Mycobacterium* sp., *Vibrio* sp., *Flavobacterium* sp. 등의 세균에 의한 질병 (Andrews *et al*., 2003; Gauthier and

†To whom correspondence : Myung-Joo Oh, Tel. and Fax : 061-659-3173
E-mail : ohmj@chonnam.ac.kr

Rhodes, 2009), lymphocystivirus disease virus (LCDV), infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV), spring viraemia of carp virus (SVCV) 등의 바이러스에 의한 질병 (Bernoth and St J Crane, 1995; Paperna *et al*., 2001; Sudthongkong *et al*., 2002) 등이 보고되어 있다. 국내에서 열대어에 대한 질병은 Jeong *et al*. (2008)과 Hossain *et al*. (2008)에 의해 ISKNV 질병과 LCD가 보고된바 있으며, 류 등 (2006)과 Kim *et al*. (2010)에 의해 다양한 열대 어종에서 megalocytivirus가 검출된 바 있다. 이와 같이 국내에서는 LCDV와 megalocytivirus가 보고되어 있다.

2008년 3월 인도네시아로부터 수입되어 유통되고 있는 열대어인 paradise fish *Macropodus opercularis*를 연구목적으로 구입하여 순치하는 과정에서 100%의 누적폐사가 발생하였다. 병원체 검사 결과, megalocytivirus와 *Mycobacterium* sp.가 검출되었으며, 합포체 (syncitium)의 세포변성효과 (cytopathic effect, CPE)를 나타내는 바이러스가 분리되었다. 본 연구에서는 합포체를 형성하는 바이러스의 특성을 조사하여 동정하였으며, 또한 병원성 실험을 통해 paradise fish의 대량 폐사와의 연관성을 조사하였다.

재료 및 방법

바이러스

2008년 3월 인도네시아로부터 수입되어 서울에 소재한 수족관에서 유통되고 있는 열대 관상어인 paradise fish (체중 1.3-1.9g)를 연구목적으로 구입하여 순치하는 과정에서 대량 폐사된 병어로부터 바이러스를 분리하였다. 바이러스는 병어의 신장, 비장, 간, 장 및 심장 조직을 pooling한 후 Hanks' balanced salt solution (HBSS, Gibco)로 1:9 (0.5 g/4.5 ㎖)가 되게 처리하여 마쇄하고, 그 마쇄액을 0.45 ㎛ syringe filter로 여과하여 chinook salmon embryo cell line (CHSE-214)에 접종하여 분리하였다. 바이러스를 순수 분리하기 위해 CHSE-214세포를 사용하여 바이러스를 한계 희석법으로 3회 클로닝하였고, 클로닝된 바이러스는 CHSE-214 세포에 접종하여 20℃에서 14일간 배양한 후, 2,000×g로 30분간 원심분리하여 세포 잔유물을 제거한 후 1.5 ㎖ tube에 분주하여 실험에 사용하기 전까지 -80℃에 보관하였다. 실험 전 바이러스액은 Kim *et al*. (2010)의 방법에 준해 megalocytivirus에 대한 PCR을 실시하여 음성반응을 확인하였다.

세포 감수성 실험

바이러스의 세포 감수성 실험은 CHSE-214, flounder spleen cell line (FSP), flounder fin cell line (FFN), bluegill fry-2 cell line (BF-2), grunt fin cell line (GF) 및 stripped snakehead fish cell line (SSN-1)을 대상으로 Reed & Muench (1938)의 방법에 의해 바이러스 감염가를 $TCID_{50}$법으로 측정하였다. 각각의 세포는 20℃에서 배양하였으며, 세포 배양액은 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco), 100 IU/㎖의 penicillin, 100 ㎍/㎖의 streptomycin이 첨가된 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM, Gibco) 또는 Lelbovltz's L-15 medium (Gibco)을 사용하였다.

5-iodo-2-deoxyurine (IUdR)에 의한 증식저해 실험

96 well plate에 단층 배양된 CHSE-214 세포에 50 ㎍/㎖의 IUdR을 첨가한 $DMEM_{10}$으로 12시간 반응시킨 후, 바이러스를 접종하여 20℃에서 14일간 배양하면서 감염가를 측정하였다.

클로로포름 감수성 실험

바이러스액 1 ㎖과 클로로포름 0.5 ㎖을 혼합하여 실온에서 10분 동안 반응시킨 후, 4℃에서 1,500×g, 10분간 원심 분리하여 상층액을 취해 CHSE-214 세포에 접종하여 20℃에서 배양하면서 바이러스의 감염가를 측정하였다. 대조구로서는 클로로포름 대신에 DMEM을 첨가하여 감염가를 측정하였다.

pH 감수성 실험

pH 3과 pH 11로 조정한 DMEM 0.9 ㎖에 바이러스액 0.1 ㎖을 첨가하여 20℃에서 3시간동안 반응시킨 후, CHSE-214 세포에 접종하여 20℃에서 14일간 배양하면서 감염가를 측정하였다.

열 안정성 실험

바이러스액을 56℃에서 3시간 동안 반응시킨 후 신속히 냉각시켜 바이러스 감염가를 측정하였다.

바이러스 정제

CHSE-214 세포에서 대량 배양된 바이러스액을 4,000×g에서 20분간 원심 분리하여 세포 잔유물을 제거한 후, 150,000×g로 2시간 초원심 분리하여 바이러스 펠렛을 얻었다. 바이러스 펠렛은 PBS buffer로 부유시킨 후 CsCl을 첨가하여 비중이 1.32 g/cm^{2}이 되도록 조정한 후, 150,000×g로 14시간동안 원심 분리하여 중간 부분에 형성된 바이러스 밴드를 취해 150,000×g로 2시간 원심분리하여 침전시켰다. 바이러스 펠렛은 PBS buffer로 부유 시킨 후 실험에 사용할 때까지 -80℃에 보관하였다.

Genomic RNA의 분석

정제 바이러스액에 10 ㎎/㎖의 Proteinase K (Invitrogen)를 첨가하여 55℃에서 30분간 반응시킨 후, 상법에 따라 Trizol (Invitrogen)을 사용하여 RNA를 추출한 후 0.8% agarose gel 상에서 전기영동을 실시하였다.

전자현미경 관찰

세포내에 감염된 바이러스 입자를 관찰하기 위해 바이러스에 감염된 CHSE-214세포를 상법에 따라 2.5%의 glutaraldehyde로 전고정하고, 1% osmium tetroxide로 후고정한 후 epoxy-resin으로 포매하고, 초박 절편을 제작하여 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 후 투과전자현미경 (TEM, Hitachi 7500)으로 관찰하였다. 또한 정제 바이러스액으로 부터 바이러스 입자를 관찰하기 위해 정제된 바이러스액을 grid 위에 떨어뜨려 5분간 유지시킨 후 증류수로 수세하고 2% phosphotungstic acid (PTA)로 염색하여 투과전자 현미경으로 관찰하였다.

감염 실험

병원성 실험에 사용된 paradise fish (체중 2.0±0.9 g)는 전남 광주에 위치한 수족관에서 구입하였으며, 실험 전 세균 및 바이러스 검사를 실시하여 음성반응을 확인하였다. 감염실험은 수온 20±1℃와 25±1℃로 유지된 20 L 수조에 각각 10마리씩 수용한 후, 바이러스를 $10^{4.3}$ $TCID_{50}$/fish로 복강주사 하였으며, 대조구는 HBSS를 사용하여 복강 주사 한 후 20일간 누적 폐사율을 조사하였다. 실험 종료 후 폐사어 및 생존어를 대상으로 신장과 비장 조직을 마쇄하여 CHSE-214 세포에 접종한 후 CPE의 유무를 확인하였다.

결 과

감염어

2008년 3월 인도네시아로부터 수입되어 서울에 소재한 수족관에서 유통되고 있는 열대 관상어인 paradise fish (구입 당시의 사육수온: 24-25℃)를 연구 목적으로 구입하여 수온 23℃에서 순치하는 과정에서 100%의 누적폐사율이 발생하였다. 병어는 사료 섭취가 저하되고 힘없이 유영하다 폐사되었다. 죽기 직전의 어류는 외관상 특이한 증상은 관찰되지 않았으나, 해부결과 간이 퇴색되어 있었으며 비장조직이 심하게 비대되어 있었다. 병원체 검사 결과에서는 megalocytivirus와 *Mycobacterium* sp.가 검출되었으며, 바이러스 검사용 시료를 CHSE-214, BF-2 및 FSP 세포에 접종한 결과, 다수의 핵을 지닌 합포체의 CPE가 관찰되었다 (Fig. 1).

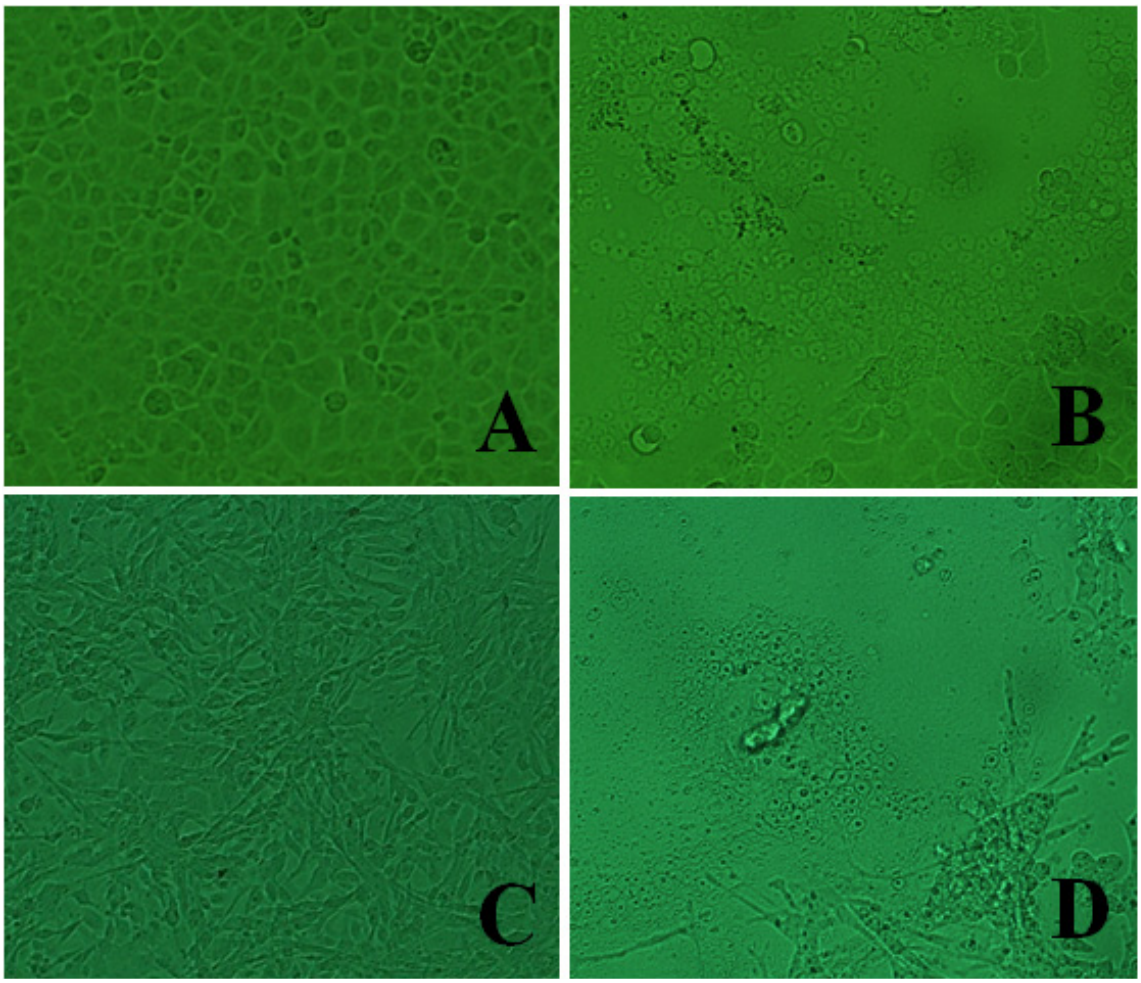

Fig. 1. Cytopathic effects produced by inoculation of the tissue filtrate from diseased paradise fish in CHSE-214 cells (13 days post-inoculation; A, normal cells; B, infected cells) and BF-2 cells (7 days post-inoculation; C, normal cells; D, infected cells).

바이러스의 생화학적 · 생물학적 성상

분리 바이러스의 각종 어류 주화세포에 대한 감수성 실험 결과, CHSE-214, BF-2, GF, SSN-1, FSP 및 FFN 세포 모두에서 합포체의 CPE가 관찰되었으며, FSP, CHSE-214, FFN 세포에서 $10^{5.0}$ $TCID_{50}$/㎖ 이상의 감염가를 나타내었다 (Table 1). 분리 바이러스의 핵산을 결정하기 위해 DNA 합성 저해제인 IUdR에 대한 감수성을 조사한 결과, IUdR 처리구에서 $10^{4.55}$ $TCID_{50}$/㎖의 감염가를 보였고 (Table 2), 대조구에서는 $10^{4.8}$ $TCID_{50}$/㎖의 감염가를 나타내어, 분리 바이러스는 RNA 바이러스로 확인되었다. 바이러스의 인벨롭 유무를 확인하기 위해 클로로포름에 대한 바이러스의 감수성을 조사한 결과에서는 클로로포름 처리구에서 $10^{4.55}$ $TCID_{50}$/㎖의 감염가를 보였고 (Table 2), 대조구인 DMEM 처리구에서는 $10^{4.8}$ $TCID_{50}$/㎖의 감염가를 나타내어, 분리 바이러스는 인벨롭이 없는 바이러스로 확인되었다.

Table 1. Cell line susceptibility of the isolated virus

Cell line	Virus titer (Log TCID50/㎖)
FSP	5.55
CHSE-214	5.3
FFN	5.05
BF-2	4.8
GF	4.55
SSN-1	4.3

분리 바이러스의 산, 알칼리 및 열에 대한 안정성을 조사한 결과에서는 pH 3에서 $10^{6.3}$ $TCID_{50}$/㎖, pH 11에서 $10^{5.05}$ $TCID_{50}$/㎖의 감염가를 보였으며 (Table 2), pH 7.4인 대조구에서는 $10^{4.8}$ $TCID_{50}$/㎖의 감염가를 나타내어, 분리 바이러스는 산과 알칼리에 안정함이 확인되었다. 열에 대한 안정성 실험 결과에서는 56℃에서 3시간 반응시켜도 대조구와 뚜렷한 차이가 나타나지 않아 (Table 2), 분리 바이러스는 열에 안정함이 확인되었다.

Table 2. Biochemical and biophysical characterization of the isolated virus

Characteristics	Virus titer (Log TCID50/㎖)
Control	4.8
IUdR (50 ㎍/㎖)	4.55
Chloroform (33%, 10 min)	4.55
pH (3.0 and 11.0, 3h)	6.3, 5.05
Heat (56℃, 3 h)	4.55

바이러스의 핵산 성상

정제된 바이러스로부터 RNA을 추출하여 agarose gel상에서 전기 영동한 결과, 3.6 kb, 3.5 kb, 2.5 kb, 2.1 kb, 1.9 kb, 1.3 kb, 1.2 kb, 1.0 kb, 0.9 kb 및 0.7 kb로 구성된 10개의 segment가 관찰되었다 (Fig. 2).

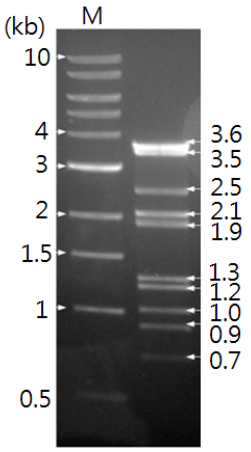

Fig. 2. Agarose gel (0.8%) electrophoresis of the isolated virus nucleic acid (M=marker).

전자현미경적 성상

바이러스에 감염된 CHSE-214세포를 전자현미경으로 관찰한 결과, 약 65 nm 크기로 인벨롭이 없으며, 이중의 capsid를 가진 구형의 바이러스 입자가 세포질에서 관찰되었다 (Fig. 3). 정제된 바이러스를 negative 염색을 실시하여 관찰한 결과에서는 감염된 세포에서 관찰되는 바이러스 입자와 동일한 형태의 바이러스가 관찰되었다 (자료게재 생략).

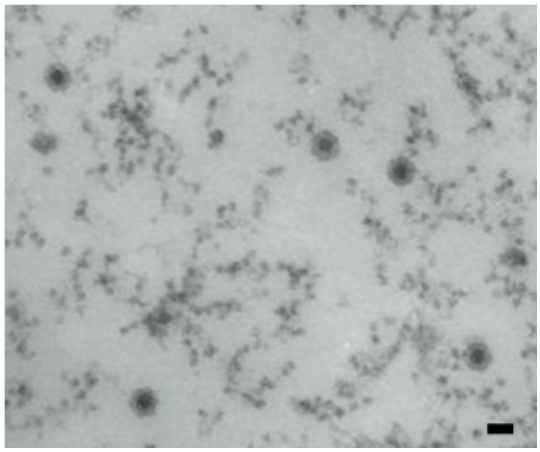

Fig. 3. Electron micrograph of spherical particles approximately 65 nm in diameter composed of a double capsid in CHSE-214 cells (bar = 60 nm).

감염 실험

분리 바이러스의 병원성을 확인하기 위해 감염실험을 실시한 결과, 실험구 및 대조구 모두 이상 유영 및 증상을 보이지 않았으며, 폐사어는 관찰되지 않았다 (자료게재 생략). 바이러스 접종후 40일째, 생존어를 대상으로 바이러스 검사를 실시한 결과에서는 90% (9/10마리)의 개체에서 합포체를 형성하는 CPE가 관찰되었다.

고 찰

본 연구에서는 대량 폐사된 paradise fish로부터 분리한 바이러스의 특성을 조사하였으며, 또한 병원성 실험을 통해 paradise fish의 대량폐사와의 연관성을 조사하였다.

분리 바이러스는 CHSE-214, BF-2, GF, SSN-1, FSP 및 FFN 세포에서 합포체의 CPE를 나타내었고 IUdR 및 chloroform 처리에 감염성이 상실되지 않으며, 산 (pH 3), 알카리 (pH 11) 및 열 (56℃, 30분)에 안정하였다. 핵산 분석 결과에서는 적어도 10개의 segment를 지닌 RNA 바이러스로 확인되었으며, 전자현미경 관찰 결과, 약 65 nm 크기로 인벨롭이 없으며 2중의 capsid를 지닌 바이러스가 세포질에서 관찰되었다. *Reoviridae* family에 속하는 바이러스는 포유류, 곤충, 조류, 어류 및 식물 등에서 분리되며, 지름 60-80 nm 크기의 구형 또는 정이십면체의 구조로 인벨롭이 없고 1-3개의 capsid로 구성되어 있으며, 10-12개의 dsRNA segment를 가진다 (Mertens *et al*., 2005). 본 연구의 결과는 *Reoviridae* family에 속하는 바이러스의 전형적인 특성과 일치하므로 paradise fish에서 분리된 바이러스는 reovirus로 동정되었다. *Reoviridae* family에는 12개의 genera가 있으며 (Mertens *et al*., 2005), 이중 *Aquareovirus* genus에 속하는 바이러스들은 수산동물에서 분리되는 바이러스로서 2개의 capsid로 구성되어 있고 11개의 dsRNA segment를 가지고 있다 (Lupiani *et al*., 1995; Essbauer and Ahne, 2001; Samal *et al*., 2005). 이에 paradise fish에서 분리된 reovirus는 *Aquareovirus* genus에 속하는 것으로 사료되나 10개의 RNA segment로 구성되어 있어 전형적인 *Aquareovirus*와 차이를 보였다. 이는 11개의 segment 중 1개의 segment가 겹쳐서 10개로 보일 가능성이 있거나, 또는 원래부터 10개의 segment를 지닌

바이러스로서 *Aquareovirus* genus에 10개의 segment를 지닌 바이러스가 존재할 것으로 여겨진다. 더욱이 *Aquareovirus*에는 지금까지 연어과 어류, 잉어류, 메기 (*Ictalurus punctatus*) 등의 담수어 및 해산어, 패류, 갑각류 등 다양한 수산 동물에서 분리되었으나 (Lupiani *et al*., 1995; Essbauer and Ahne, 2001), 열대어인 paradise fish에서는 보고된바 없어 paradise fish는 *Aquareovirus*의 새로운 숙주로 확인되었다.

Paradise fish의 대량폐사와 분리 바이러스와의 연관성을 조사하기 위해 병원성 실험을 실시한 결과에서는 실험구와 대조구 모두 이상 유영 및 증상을 보이지 않았으며, 폐사어는 관찰되지 않았다. 이상의 결과, reovirus는 paradise fish의 대량폐사에 대한 직접적인 원인으로 보기는 어려울 것으로 판단되었다. 그러나 생존어를 대상으로 (바이러스 접종 후 40일째) 바이러스 검사를 실시한 결과, 90%의 개체에서 바이러스가 분리되어 reovirus-생존어는 carrier로 작용할 수 있을 것으로 사료된다. 이전 연구에서 대량 폐사된 paradise fish로 부터 병원체 검사를 수행한 결과, PCR 법에 의해 megalocytivirus (Kim *et al*., 2010)와 *Mycobacterium* sp.가 검출되었으며, 또한 병리조직학적 검사 결과, 비장조직에서 이형비대세포는 관찰되지 않았으나 *Mycobacterium* sp.에 의한 심한 육아종성 병변이 관찰되었다 (자료게재 생략). 이에 대량폐사의 정확한 원인 규명을 위해서는 *Mycobacterium* sp.를 사용한 감염 실험 또는 reovirus와의 혼합감염 실험 등을 통한 다각적인 접근이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 paradise fish의 대량폐사의 원인은 밝히지 못했으나 국내에 보고된 바 없는 새로운 바이러스인 reovirus가 인도네시아로부터 수입되는 열대어인 paradise fish를 통해 국내로 유입됨이 확인되었다. 향후 연구로서 reovirus에 의한 국내 주요 어종에 미치는 영향에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

2008년 3월 인도네시아로부터 수입된 paradise fish에서 대량폐사가 발생하여 병원체 검사를 실시한 결과, megalocytivirus 및 *Mycobacterium* sp.가 검출되었으며, CHSE-214세포에서 미동정 바이러스가 분리되었다. 본 연구에서는 미동정 바이러스의 특성을 조사하였으며, 또한 병원성 실험을 통해 paradise fish의 대량 폐사와의 연관성을 조사하였다. 분리 바이러스는 CHSE-214, BF-2, GF, SSN-1, FSP 및 FFN 세포에서 합포체의 세포변성효과를 나타내었고 IUdR 및 chloroform 처리에 감염성이 상실되지 않으며, 산 (pH 3), 알카리 (pH 11) 및 열 (56℃, 30분)에 안정하였다. 핵산 분석 결과에서는 적어도 10개의 segment (0.7-3.6 kb)를 지닌 RNA 바이러스로 확인되었으며, 전자현미경 관찰 결과, 약 65 nm 크기로 인벨롭이 없으며 2중의 capsid를 지닌 바이러스가 세포질에서 관찰되었다. 이상의 결과는 *Reoviridae* family에 속하는 바이러스의 전형적인 특성과 일치하므로 paradise fish에서 분리된 바이러스는 reovirus로 확인되었다. Reovirus를 사용한 감염실험에서는 병원성이 나타나지 않아, reovirus는 paradise fish의 대량 폐사의 직접적인 원인이 아닐 것으로 사료되었다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 수산기술개발사업의 지원에 의해 수행되었습니다.

참고문헌

Andrews, C., Exell, A. and Carrington, N.: Manual of fish health: Everything you need to know about aquarium fish, their environment and disease prevention. Firefly Book, Singapore. 2003.

Bernoth, E.M. and St J Crane, M.: Viral diseases of aquarium fish. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 4:103-110, 1995.

Essbauer, S. and Ahne, W.: Viruses of lower vertebrates. J. Vet. Med., 48:403-475, 2001.

Gauthier, D.T. and Rhodes, M.W.: Mycobacteriosis in fishes: A review. Veterinary Journal., 180, 33-47, 2009.

Hossain, M., Song, J.Y., Kitamura, S.I., Jung, S.J., Oh, M.J.: Phylogenetic analysis of lymphocystis disease virus from tropical ornamental fish species based on a major capsid protein gene. J. Fish Dis., 31:473-479, 2008.

Jeong, J.B., Kim, H.Y., Jun, L.J., Lyu, J.H., Park, N.G., Kim, J.K. and Jeong, H.D.: Outbreaks and risks of infectious spleen and kidney necrosis virus disease in freshwater ornamental fishes. Dis. Aquat. Org., 78:209-215, 2008.

Kim, W.S., Oh, M.J., Kim, J.O., Kim, D.W., Jeon, C.H. and Kim, J.H.: Detection of megalocytivirus from imported tropical ornamental fish, paradise fish *Macropodus opercularis*. Dis. Aquat. Org., 90:243-247, 2010.

Lupiani, B., Subramanian K. and Samal, S.K.: Aquareoviruses. Annu. Rev. Fish Dis., 5:175-208, 1995.

Mertens, P.P.C., Duncan, R., Attoui, H. and Dermody, T.S.: Family *Reoviridae*. In Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U. and Ball, L.A. (eds.), Virus taxonomy, eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. pp. 447-454. Academic Press, San Diego, USA. 2005.

Paperna, I., Vilenkin, M. and de Matos, A.P.A.: Iridovirus infections in farm-reared tropical ornamental fish. Dis. Aquat. Org., 48:17-25, 2001.

Reed, L.J. and Muench, H.: A simple method of estimating fifty percent endpoint. Am. J. Hyg., 27:493-497, 1938.

Samal, S.K., Attoui, H., Mohd Jaafar, F. and Mertens, P.P.C.: Genus *Aquareoviridae*. In Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U. and Ball, L.A. (eds.), Virus taxonomy, eighth report of the international committee on taxonomy of viruses. pp. 511-516. Academic Press, San Diego, USA. 2005.

Sudthongkong, C., Miyata, M. and Miyazaki, T. Iridovirus disease in two ornamental tropical freshwater fishes: African lampeye and dwarf gourami. Dis. Aquat. Org., 48:163-173, 2002.

Thilakaratne, I.D.S.I.P., Rajapaksha, G., Hewakopara, A., Rajapakse, R.P.V.J. and Faizal, A.C.M.: Parasitic infections in freshwater ornamental fish in Sri Lanka. Dis. Aquat. Org., 54:157-162, 2003.

관세청: http://www.customs.go.kr/ 무역통계. 2010.

류지효, 정준범, 김호열, 전려진, 조혜진, 이준우, 정현도: 담수관상어 5종에서의 iridoviruses 검출과 분포 분석. 한국어병학회지. 19:197-206, 2006.

Manuscript Received : September 28, 2010
Revised : November 25, 2010
Accepted : December 3, 2010