



## ORIGINAL ARTICLE /ARTÍCULO ORIGINAL

### LYMPHOCYSTIC DISEASE IN THE CLOWN FISH *AMPHIPRION OCELLARIS* (PERCIFORMES, POMACENTRIDAE), FIRST REPORT IN PERU

### ENFERMEDAD LINFOCÍSTICA EN EL PEZ PAYASO *AMPHIPRION OCELLARIS* (PERCIFORMES, POMACENTRIDAE), PRIMER REPORTE EN EL PERÚ

Teresa Castro<sup>1\*</sup>, Enrique Mateo<sup>1</sup> & Verónica Sierralta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Patobiología y Sanidad Acuática, Instituto del Mar del Perú (IMARPE),  
Esquina Gamarra y General Valle S/N, Chucuito, Callao, Perú. E-mail: tcastro@imarpe.gob.pe

The Biologist (Lima), 12 (2), jul-dec: 313-321.

## ABSTRACT

The present histopathological research was carried out in April 2008 in order to diagnose the cause of granular lumps or nodules on the skin of some "clown fish" *Amphiprion ocellaris*, from a local aquarium in Lima, Peru. This study revealed pathognomonic lesions of the lymphocystic viral infection. It was seen in these nodules numerous lymphocystic cells in various stages of hypertrophy. Some of these cells exceeded 280  $\mu\text{m}$  and had a large nucleus, large basophilic cytoplasmic inclusions between the cytoplasmic membrane and the nucleus, and were covered by a thick hyaline layer. The infection was also observed in the muscle along with severe necrotic foci. The present work reports, for the first time in Peru, the existence of viral lymphocystic infection. This disease is of considerable health and economic importance for the obvious and unpleasant skin lesions that significantly reduce the marketing of fish, not just ornamental but also the species destined for human consumption.

**Keywords:** *Amphiprion ocellaris*, histopathology, lymphocystic disease, ornamental fish, Peru.

## RESUMEN

La presente investigación histopatológica se realizó, en abril de 2008, con el objetivo de diagnosticar la causa de las tumoraciones granulares o nodulaciones que presentaban en la piel varios "peces payaso" *Amphiprion ocellaris*, procedente de un acuario local en Lima, Perú. Este estudio reveló lesiones patognomónicas de la infección linfocística viral. Se observó en estos nódulos gran cantidad de células linfocísticas en diversos estados de hipertrofia. Algunas de estas células superaban los 280  $\mu\text{m}$  y presentaban un gran núcleo, extensas inclusiones citoplasmáticas basófilas entre la membrana citoplasmática y el núcleo, y estaban cubiertas por una gruesa capa hialina. La infección también se apreció a nivel muscular con presencia de focos necróticos severos. El presente trabajo reporta, por primera vez en el Perú, la existencia de la infección linfocística viral. Esta enfermedad es considerada de importancia sanitaria y económica, debido a las evidentes y desagradables lesiones cutáneas que reducen significativamente la comercialización de los peces, no solo a los ornamentales sino también a las especies destinadas para consumo humano.

**Palabras clave:** *Amphiprion ocellaris*, enfermedad linfocística, histopatología, peces ornamentales, Perú.

## INTRODUCCIÓN

La enfermedad linfocística o linfoquística fue descrita por primera vez por Lowe en 1874 (Liversidge & Munro 1978) y su nombre de linfocistis o linfoquistis proviene de Woodcock quién en 1904 describe la enfermedad creyendo que era producida por un esporozoo al que le da el nombre de *Lymphocystis johnstonei* por producir lesiones quísticas o células enormemente hipertrofiadas en espacios linfáticos rodeados por linfocitos (Wolf 1988). Su etiología viral fue propuesta por Weissenberg en 1914 debido a que en las lesiones no hallaba bacterias, hongos ni protozoos, pero la enfermedad era muy infecciosa y la podía transmitir fácilmente de un pez a otro (Wellings 1970); su etiología viral fue demostrada mediante microscopía electrónica por Walker en 1962 y su aislamiento en células vivas por Wolf, Gravell & Malsberger en 1966 (Liversidge & Munro 1978, Wolf 1988).

El virus de la enfermedad linfocística pertenece al género *Lymphocystivirus* de la familia Iridoviridae (Williams Jr. *et al.* 1996), y se caracteriza por poseer virus icosaédricos de gran tamaño que tienen un genoma de ADN (Tidona & Darai 1997). Los *Lymphocystivirus* (LCDV) miden entre 130 nm a 380 nm (Russell 1974, Bovo & Florio 2008); y tienen especial tropismo por los fibroblastos (Wolf 1988, Miyazaki & Oota 2002). Actualmente sólo hay dos especies reconocidas de *Lymphocystivirus*, la LCDV-1 que infecta al lenguado *Platichthys flesus* Linnaeus, 1758 en Europa y la especie LCDV-C que infecta al lenguado japonés *Paralichthys olivaceus* Temminck & Schlegel, 1846 en China (Chinchar *et al.* 2009). Las otras especies aisladas, como la LCDV-RF que infecta el “rockfish” *Sebastes schlegeli* Hilgendorf, 1880 (Kitamura *et al.* 2006); la LCDV-2 que infecta a algunos pleuronectidos (Wolf 1988, Chinchar *et al.* 2009), y la especie que afecta al

“largemouth” *Micropterus salmoides* Lacépède, 1802 todavía no han sido definitivamente caracterizadas (Chinchar *et al.* 2009). Hay además otros *Lymphocystivirus* que aún no han sido estudiados, de casos en que la enfermedad linfocística ha sido definitivamente reconocida por la típica lesión patognomónica que estos virus producen. En general, la caracterización de los virus encuentra su primera gran dificultad en la carencia de cultivos de líneas celulares apropiados, por eso recientemente se están diseñando nuevas técnicas moleculares de PCR que evitarían la tediosa y costosa tarea de los cultivos (Hanson *et al.* 2006, Kitamura *et al.* 2006).

A los fibroblastos infectados e hipertrofiados por el *Lymphocystivirus* se les denomina células linfocísticas, y éstas adquieren sus típicas características histopatológicas a partir de los 100 µm. Tienen forma esférica u ovoide, un núcleo central muy grande y lobulado, con membrana nuclear arrugada e invaginada y están cubiertas por una gruesa cápsula hialina que mide entre 5 a 10 µm (Wolf 1988). La célula infectada por el virus deja de dividirse y se hipertrofia incrementando su volumen en 50000 a 100000 veces (Wolf 1988). Los fibroblastos normales miden entre 10-15 µm y los infectados pueden medir más de 1 mm de diámetro (Aneer & Ljungberg 1976) y pueden formar conglomerados macroscópicos que tienen el aspecto de nódulos o verrugas de color crema, rosado o gris (Alexandrowicz 1951, Wolf 1988, Bunkley-Williams *et al.* 1996, Sahoo & Goodwin 2012). Los peces afectados generalmente presentan múltiples nódulos (Nigrelli & Ruggieri 1965, Wolf *et al.* 1966, Sindermann 1970, Marcogliese *et al.* 2001), pero también se han observado nódulos o quistes individuales como lo reportado por Aneer & Ljungberg (1976). El citoplasma de las células con infección avanzada posee inclusiones citoplasmáticas basofílicas en cuya superficie los virus se replican (Peters & Schmidt 1995). La estructura de estas

inclusiones varía según la especie de hospedador (Wolf 1988).

La enfermedad linfocística se manifiesta en peces teleósteos de ambientes marino, salobre y de agua dulce, y de regiones frías, templadas y tropicales de todo el mundo (Hossain *et al.* 2007) y ha sido reportada en más de 125 distintas especies de peces de 42 familias diferentes (Sheng *et al.* 2007). Se presenta con mayor frecuencia en los teleósteos más evolucionados, como platijas o lenguados, percas y bremas marinas (Hossain *et al.* 2007); y en los cultivos de *Sparus aurata* Linnaeus, 1758, en la región del mediterráneo (Cano *et al.* 2006, Cano *et al.* 2009a); en cambio no se le ha registrado en salmónidos (Liversidge & Munro 1978). Es común en peces de acuario (Nigrelli & Ruggieri 1965, Cedillo *et al.* 2001, Sheng *et al.* 2007).

La infección es de curso crónico y generalmente no es letal (Hossain *et al.* 2007). Los peces afectados sufren ligera disminución de su peso y tienen cierta dificultad para moverse (Wolf 1988); pero su aspecto desagradable es causante de pérdidas económicas considerables en los cultivos marinos, especialmente de *P. olivaceus* y de *S. schlegeli*, de Korea, Japón y China (Bovo & Florio 2008, Hossain *et al.* 2009).

La transmisión de esta enfermedad estaría estrechamente asociada con la elevación de la temperatura ambiental (Hossain *et al.* 2009); y se realizaría en forma directa y horizontal por contacto, ingesta o ingresando por las branquias. Por contacto, los más propensos los peces que presentan heridas abiertas en la piel (Nigrelli & Ruggieri 1965, Russell 1974). La *Artemia* sp. podría actuar como huésped reservorio de este virus (Cano *et al.* 2009b) y podría ser un medio para su transmisión oral (Cano *et al.* 2009a).

Su incidencia y grado de infección varía con la estación del año (Kitamura *et al.* 2007) y con su

distribución ambiental (Russell 1974). Su temperatura óptima es de 20°C en ambientes marinos (Kitamura *et al.* 2007, Hossain *et al.* 2009) y de 22 a 25°C en peces tropicales de acuario (Nigrelli & Ruggieri 1965). El estrés y la contaminación estarían asociados a la infección (Anderson & Conroy 1968, Sindermann 1970).

A la especie *Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830, se le conoce como pez payaso, y es nativa de las aguas cálidas de los océanos Índico y Pacífico; y por su singular belleza y diversos colores intensos es utilizado como un pez marino ornamental (Pirarat *et al.* 2011).

El presente trabajo reporta el primer hallazgo en el Perú, de la infección linfocística, en tres peces payaso *A. ocellaris* procedente de un acuario de la ciudad de Lima, en abril de 2008, en la que se detectó lesiones patognomónicas de esta enfermedad utilizando el diagnóstico histopatológico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

La investigación se realizó en el mes de abril de 2008. Se estudiaron tres peces ornamentales marinos *A. ocellaris* “pez payaso”, procedentes de la importación, para ser comercializados y distribuidos en acuarios de Perú. Estos peces mostraban lesiones tumorales en la piel, razón por la cual fueron llevados para su estudio al Laboratorio de Patobiología y Sanidad Acuática de la Sede Central del Instituto del Mar del Perú (IMARPE), por un acuarista del departamento de Lima.

Los peces se encontraban moribundos al momento de llegar al laboratorio. Se anotaron los signos externos y se procedió a realizar la disección y la toma de muestra de las zonas afectadas de la piel, para su estudio histopatológico.

### Estudio histopatológico

Se emplearon para el estudio, las zonas de la piel que presentaban tejido tumoral, las que se fijaron por 24 h en formol neutro al 10% (v/v) tamponado a pH 7,0. Después de la fijación las muestras fueron deshidratadas en alcohol etílico e infiltradas en parafina siguiendo las

técnicas descritas por Genten *et al.* (2009), luego se cortaron a 5  $\mu\text{m}$  y se tiñeron con hematoxilina & eosina de Harris, siguiendo la técnica descrita por Luna (1968). El estudio histopatológico se realizó con un microscopio compuesto Nikon Eclipse 90i con cámara incorporada.



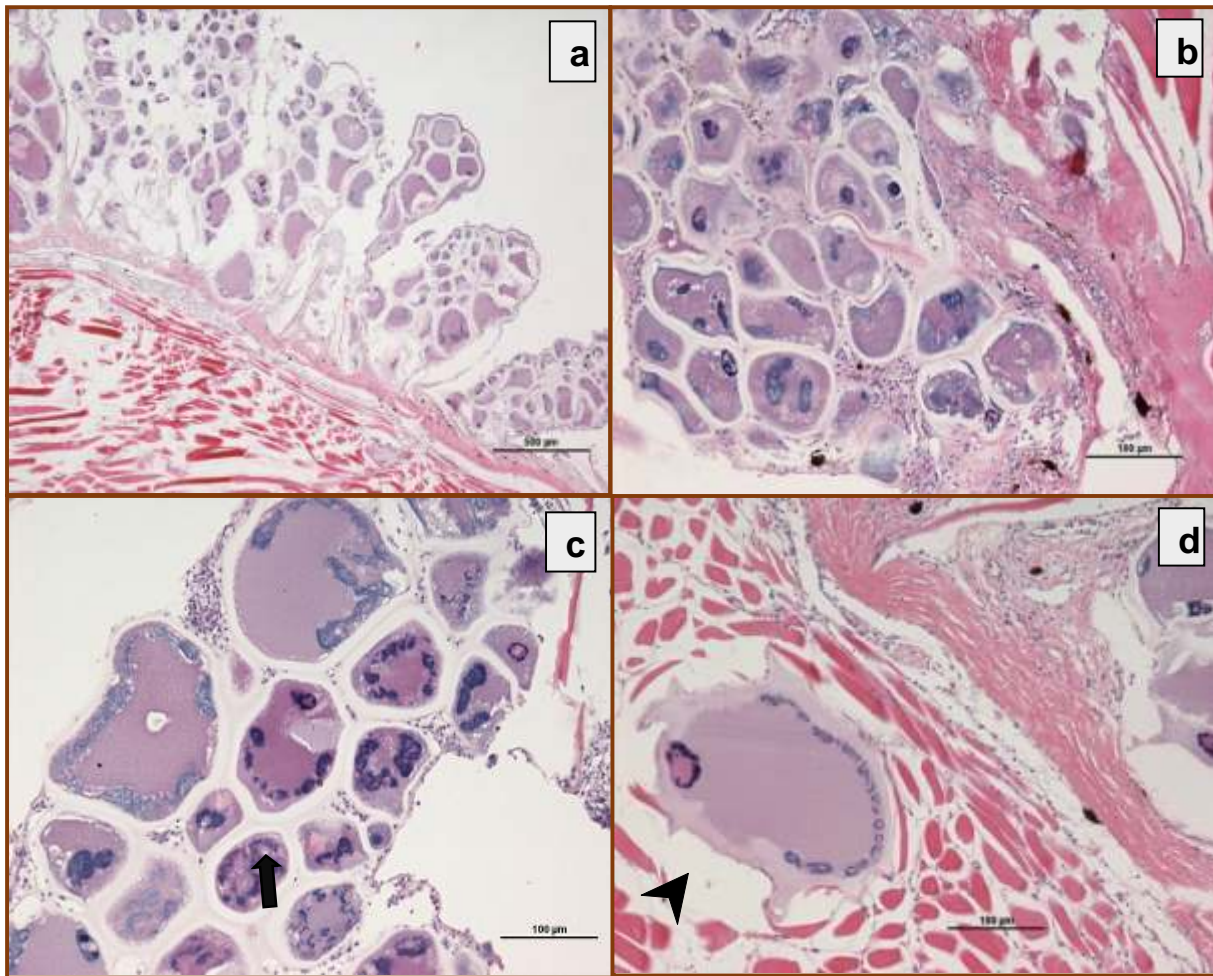
Figura 1. *Amphiprion ocellaris* "pez payaso", con nodulaciones irregulares blancas en la piel, aletas y boca.

## RESULTADOS

Los peces infectados presentaban externamente formaciones de aspecto tumoral o nodular, de 1 a varios mm de diámetro, en diferentes lugares de la piel, especialmente en el lado de la aleta pectoral, en el borde de la boca y en la parte lateral del cuerpo (Fig. 1).

El estudio histopatológico de estas lesiones reveló un cuadro patológico específicamente distintivo o patognomónico de la infección

linfocística viral. Los nódulos eran racimos de fibroblastos dermales con variados grados de citomegalia (Fig. 2a). Las células hipertrofiadas eran generalmente ovoides y estaban cubiertas por una gruesa envoltura hialina (Figs. 2b y 2c). Algunas de éstas superaban los 280  $\mu\text{m}$  y presentaban un gran núcleo y extensas inclusiones intracitoplasmáticas basófilas cerca a los bordes de la célula (Figs. 2b y 2c). La infección también se apreció a nivel muscular con presencia de focos necróticos severos (Fig. 2d).



**Figura 2.** (a) Nódulos linfocísticos en la piel. (b y c) Células linfocísticas donde se aprecia claramente la cápsula gruesa, lisa e hialina que las cubre. En algunas se aprecia el núcleo grande y las inclusiones intracitoplasmáticas basófilas que estas células poseen. (d) Célula linfocística hipertrofiada irregular en el tejido muscular del pez payaso, *A. ocellaris*.

## DISCUSIÓN

Las lesiones nodulares observadas en la piel del pez payaso, *A. ocellaris*, correspondían a una masiva conglomeración de células ovales y esféricas de diferentes tamaños, algunas extremadamente hipertrofiadas, procedentes del tejido conectivo, como las descritas por Nigrelli & Ruggieri (1965), y Wolf (1988) para la enfermedad linfocística. También se observó que las células hipertrofiadas (Figs. 3-5) presentes en estas malformaciones

nodulares tenían las mismas características morfológicas (gruesa pared hialina, núcleo muy grande y enormes inclusiones citoplasmáticas alrededor de éste o cerca de los bordes de la célula) de la típica célula linfocística descrita por Nigrelli & Ruggieri (1965), Liversidge & Munro (1978), Wolf (1988), y Schaperclaus (1992), como lesión patognomónica de la enfermedad linfocística viral. Estas células linfocísticas también fueron observadas en el tejido muscular adyacente a las lesiones de la piel, pero debido a que el examen histopatológico se limitó a la

zona de las lesiones nodulares externas no fue posible comprobar si la infección estaba en otros órganos tal como ha sido observado por Alexandrowicz (1951), Nigrelli & Ruggieri (1965), Huizinga & Cosgrove (1973), Aneer & Ljungberg (1976), Schaperclaus (1992) y Pirarat *et al.* (2011).

El diagnóstico de la infección linfocística se realizó por estudio histopatológico, de las lesiones patognomónicas, pero no se pudo determinar la especie de Lymphocystivirus causante de la infección, por no tener los equipos que se requieren para el cultivo de células de peces, fundamentales para el aislamiento del virus; ni las técnicas moleculares que se necesitan para su identificación.

En el pez payaso, *A. ocellaris*, la enfermedad viral de la linfocistis fue detectada por primera vez en Tailandia hace tres años (Pirarat *et al.* 2011) y en el presente año en India (Siva *et al.* 2014). A nuestro entender este es el primer reporte de la enfermedad linfocística en el pez payaso *A. ocellaris* en el Perú.

No obstante que la enfermedad ha sido detectada en un pez ornamental no nativo del país, cuyo hábitat natural son los arrecifes coralinos del Mar de Andaman en el Océano Índico y muy difundido por todo el mundo como pez ornamental (Pirarat *et al.* 2011), el hallazgo que reportamos en el presente trabajo es de significativa importancia, debido a que el ingreso de esta infección viral podría afectar a especies nativas de nuestro país de gran importancia comercial y muy sensibles a esta enfermedad, como los lenguados. La sensibilidad de los peces planos a la infección linfocística y el perjuicio que causa a la comercialización de estas especies por la presencia de las desagradables lesiones cutáneas que la enfermedad produce, se resalta en los trabajos de Hossain *et al.* (2007), Kitamura *et al.* (2007), Bovo & Florio (2008), y Hossain *et al.* (2009). Así mismo, cabe

destacar que en los últimos cinco años se ha incrementado en el Perú la importación de peces ornamentales marinos, procedentes del Sudeste asiático, y son numerosos los reportes orales de acuaristas y comercializadores de peces ornamentales que mencionan acerca de los grados de morbilidad en el pez payaso debido a la presencia de estos nódulos que, según sus observaciones, pueden conducir a estos peces a la muerte.

Una de las controversias que ha generado el comercio de especies ornamentales marinas, es que sólo el 2% de los peces son obtenidos mediante técnicas de cultivo en cautiverio (Wabnitz *et al.* 2003) y el resto de especies que se comercializan internacionalmente provienen del ambiente natural con riesgo a que las enfermedades se propaguen a países lejanos (Williams Jr. *et al.* 1996, Cedillo *et al.* 2001). Por esta razón concordamos con Lango-Reynoso *et al.* (2012), en que se debe fomentar la implementación de estrategias de gestión que abarquen no sólo el comercio de la acuariofilia sino también la creación de programas funcionales de certificación, inocuidad y trazabilidad de los productos acuícolas.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Rafael Inocente por facilitarnos la obtención de la muestra.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexandrowicz, J.S. 1951. Lymphocystis tumours in the red mullet (*Mullus surmuletus* L.). Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 30: 315-332.
- Aneer, G. & Ljungberg, O. 1976. Lymphocystis disease in Baltic herring (*Clupea harengus* var. *membras* L.). Journal of Fish Biology, 8: 345-350.

- Anderson, J.I.W. & Conroy, D.A. 1968. The significance of disease in preliminary attempts to raise flatfish and salmonids in sea water. *Bulletin of the Office of International Epizootics*, 69:1129-1137.
- Bovo, G. & Florio, D. 2008. *Viral Diseases of cultured marine fish*. pp 185-238. In: Eiras, J.C.; Segner, H.; Wahli, T. & Kapoor, B.G. (Eds.) *Fish Diseases*. Vol.1, Enfield (NH): Science Publishers.
- Bunkley-Williams, L.; Grizzle, J.M. & Williams Jr., E.H. 1996. First report of lymphocystis in the family Gerreidae: Caitipa Mojarras *Diapterus rhombeus* from La Parguera, Puerto Rico. *Journal of Aquatic Animal Health*, 8: 176-179.
- Cano, I.; Alonso, M.C.; García-Rosado, E.; Rodríguez Saint-Jean, S.; Castro, D. & Borrego, J.J. 2006. Detection of Lymphocystis disease virus (LCDV) in asymptomatic cultured gilt-head seabream (*Sparus aurata*, L.) using an immunoblot technique. *Veterinary Microbiology*, 113: 137-141.
- Cano, I.; Ferro, P.; Alonso, M.C.; Sarasquete, C.; García-Rosado, E.; Borrego, J.J. & Castro, D. 2009a. Application of *in situ* detection techniques to determine the systemic condition of Lymphocystis disease virus infection in cultured gilt-head seabream, *Sparus aurata* L. *Journal of Fish Diseases*, 32: 143-150.
- Cano, I.; Lopez-Jimena, B.; García-Rosado, E.; Ortiz-Delgado, J.B.; Alonso, M.C.; Borrego, J.J.; Sarasquete, C. & Castro, D. 2009b. Detection and persistence of Lymphocystis disease virus (LCDV) in *Artemia* sp. *Aquaculture*, 291: 220-236.
- Cedillo, C.; Rosales, L.M. & Constantino, F. 2001. Linfoquistosis en peces tetra fantasía (*Parambassis baculis*) de la ciudad de México. *Veterinaria México*, 32: 73-76.
- Chinchar, V.G.; Hyatt, A.; Miyazaki, T. & Williams, T. 2009. Family Iridoviridae: Poor viral relations no longer. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 328: 123-170.
- Genten, F.; Terwinghe, E. & Danguy, A. 2009. *Atlas of Fish Histology*. Enfield, NH: Science Publishers, 215 p.
- Hanson, L.A. & Rudis, M.R.; Vasquez-Lee, M. & Montgomery, R.D. 2006. A broadly applicable method to characterize large DNA viruses and adenoviruses based on the DNA polymerase gene. *Virology Journal*, 3: 28.
- Hossain, M.; Kim, S.R. & Oh, M.J. 2007. The lymphocystis diseases in the Olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *University Journal of Zoology, Rajshahi University*, 26: 59-62.
- Hossain, M.; Kim, S.R.; Kitamura, S.L.; Kim, D.W.; Jung, S.J.; Nishizawa, T.; Yoshimizu, M. & Oh, M.J. 2009. Lymphocystis disease virus persists in the epidermal tissues of olive flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminch & Schlegel), at low temperatures. *Journal of Fish Diseases*, 32: 699-703.
- Huizinga, H.W. & Cosgrove, G.E. 1973. Surface and visceral lymphocystis disease in a white crappie, *Pomoxis annularis*. *Journal of Wildlife Diseases* 9: 349-351.
- Kitamura, S.I.; Jung, S.J.; Kim, W.S.; Nishizawa, T.; Yoshimizu, M. & Oh, M.J. 2006. A new genotype of lymphocystivirus, LCDV-RF, from lymphocystis diseased rockfish. *Archives of Virology*, 151: 607-615.
- Kitamura, S.I.; Ko, J.Y.; Lee, W.L.; Kim, S.R.; Song, J.Y.; Kim, D.K.; Jung, S.J & Oh, M.J. 2007. Seasonal prevalence of lymphocystis disease virus and aquabirnavirus in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* and blue mussel, *Mytilus galloprovincialis*. *Aquaculture*, 266: 26-31.
- Lango-Reynoso, F.; Castañeda-Chávez, M.; Zamora-Castro, J.E.; Hernández-Zárate, G.; Ramírez-Barragán, M. & Solís-Morán, E. 2012. La acuariofilia de especies ornamentales marinas: un

- mercado de retos y oportunidades. Latin American Journal of Aquatic Research, 40: 12-21.
- Liversidge, J. & Munro, A.L.S. 1978. *The virology of teleosts*. In: Roberts, R.J. (Ed.) *Fish Pathology*. London: Bailliere-Tindall. pp. 114-143.
- Luna, L.G. 1968. *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Company, New York. 219 p.
- Marcogliese, D.J.; Fournier, M., Lacroix, A. & Cyr, D.G. 2001. Non-specific immune response associated with infections of lymphocystis disease virus in American plaice, *Hippoglossoides platessoides* (Fabricius). *Journal of Fish Diseases*, 24: 121-124.
- Miyazaki, T. & Oota, S. 2002. Ultrastructures of lymphocystis cells in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Bulletin of the Faculty of Bioresources, Mie University*, 29: 21-30.
- Nigrelli, R.F. & Ruggieri, G.D. 1965. Studies on virus diseases of fishes. Spontaneous and experimentally induced cellular hypertrophy (lymphocystis disease) in fishes of the New York Aquarium, with a report of new cases and an annotated bibliography (1874-1965). *Zoologica*, 50: 83-96.
- Peters, N. & Schmidt, W. 1995. Formation and disintegration of virions in lymphocystis cells of plaice *Pleuronectes platessa*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 21: 109-113.
- Pirarat, N.; Pratakpiriya, W.; Jongnimitpaiboon, K.; Sajjawiriyakul, K.; Rodkhum, C. & Chansue, N. 2011. Lymphocystis disease in cultured false clown anemonefish (*Amphiprion ocellaris*). *Aquaculture*, 315: 414-416.
- Russell, P.H. 1974. Lymphocystis in wild plaice *Pleuronectes platessa* (L.), and flounder, *Platichthys flesus* (L.), in British coastal waters: A histopathological and serological study. *Journal of Fish Biology*, 6: 771-778.
- Sahoo, P.K. & Goodwin, A.E. 2012. Viruses of freshwater finfish in the Asian-Pacific Region. *Indian Journal of Virology*, 23: 99-105.
- Schaperclaus, W. 1992. *Diseases caused by pathogens*. In: Schaperclaus, W.; Kulow, H. & Schreckenbach, K. (Eds.) *Fish Diseases*. Vol. 1: A.A. Balkema Press, Rotterdam, the Netherlands. pp. 311-319.
- Sheng, X.Z.; Zhan, W.B. & Wang, Y. 2007. Whitespotted puffer *Arothron hispidus*, a new host for lymphocystis in Qingdao Aquarium of China. *Diseases of Aquatic Organisms*, 75: 23-28.
- Sindermann, C.J. 1970. *Principal diseases of marine fish and shellfish*. Academic Press, New York. 369 p.
- Siva, M.U.; Marudhupandi, T.; Hag, M.A.B.; Thankappan, T. & Kumar, A. 2014. Histopathological study of lymphocystis disease virus (LCDV) in cultured false clownfish, *Amphiprion ocellaris* (Cuvier, 1830) and true clownfish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802). *Journal of Coastal Life Medicine*, 2: 264-269.
- Tidona, C.A. & Darai, G. 1997. The complete DNA sequence of lymphocystis disease virus. *Virology*, 230: 207-216.
- Wabnitz, C.; Taylor, M.; Green, E. & Razak, T. 2003. *From ocean to aquarium*. UNEP World Conservation Monitoring Centre, Cambridge. 64 p.
- Wellings, S.R. 1970. *Biology of some virus diseases of marine fish*. In: Snieszko, S.F. (Ed.) *Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes*. American Fisheries Society, Special Publication N° 5, Washington, D.C. pp. 296-306.
- Williams Jr., E.H.; Grizzle, J.M. & Bunkley-Williams, L. 1996. Lymphocystis in Indian glassfish *Chanda ranga* imported from Thailand to Puerto Rico. *Journal of Aquatic Animal Health*, 8: 173-175.
- Wolf, K. 1988. *Fish viruses and fish viral*



*diseases*. Cornell University Press, Ithaca & London. 476 p.  
Wolf, K.; Gravel, M. & Malsberger, R.G. 1966. Lymphocystis virus: isolation and propagation in centrarchid fish cell lines. Science, 151: 1004-1005.

---

Received September 29, 2014.  
Accepted December 05, 2014.