

***Piscinoodinium pillulare* [(Schäperclaus, 1954) Lom, 1981]
in killifish di cattura stabulati in acquario**

Piscinoodinium pillulare [(Schäperclaus, 1954) Lom, 1981]
in aquarium kept wild killifish

Marino Prearo*, Elena Pavoletti, Rinaldo Brunetti, Giuseppe Amato¹

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 - 10154 Torino

¹ C.I.A. Centro Internazionale Acquari, Strada del Francese, 97/2C - 10100 Torino

RIASSUNTO - I killifish sono pesci ancora poco comuni tra gli acquariofili, caratterizzati da una morfologia estremamente varia e da innumerevoli variazioni cromatiche. Questo lavoro descrive un caso di infezione di killi di cattura, mantenuti in acquario, sostenuto dal dinoflagellato *Piscinoodinium pillulare*. Sono stati analizzati 3 esemplari di killi, provenienti da biotopi naturali (esemplari di cattura), appartenenti a due diverse specie (*Fundulosoma thierryi* e *Nothobranchius albimarginatus*); dopo alcune settimane dal loro arrivo sono apparsi i primi sintomi, con lieve sfregamento dei soggetti contro il fondo; dopo circa 10 giorni si è potuto notare il caratteristico aspetto vellutato nella parte dorsale del corpo di un soggetto maschio adulto di *F. thierryi*, il quale presentava anche difficoltà respiratorie e nuoto superficiale. Tutti i soggetti esaminati sono risultati positivi all'esame parassitologico a fresco, presentando una forma grave di piscinoodiniasi.

Considerando l'estrema sensibilità di questo gruppo di pesci ornamentali alle diverse molecole disinfettanti, si è proceduto ad una terapia con solfato di chinino alla dose di 15 mg/l in bagno permanente, con esito positivo.

Alla luce della casistica riportata in questa nota, tenendo conto della provenienza dei pesci, si ritiene di particolare importanza effettuare sempre un controllo da eseguirsi sui soggetti di nuova introduzione, operando quando possibile una quarantena adeguata e la valutazione di tutti i fattori di rischio, biotici e abiotici, che possono alterare l'equilibrio di ecosistemi così delicati e complessi come quelli dell'acquario.

SUMMARY – Killifish are still not very well-known among aquarium holders; they are characterized by an extremely varied morphology and by innumerable chromatic variations. This article describes a case of infestation of captured killifish, kept in aquarium, caused by the dinoflagellate *Piscinoodinium pillulare*. Three specimens of killies, coming from natural biotopes (captured specimens) and belonging to two different species (*Fundulosoma thierryi* and *Nothobranchius albimarginatus*) were analyzed; a few weeks after their arrival, the first symptoms appeared, with a slight rubbing of the subjects against the bottom. After about 10 days, it was possible to note the characteristic velvety aspect in the dorsal part of the body on an *F. thierryi* adult male subject which also presented respiratory difficulties and surface swimming. All the subjects examined were positive at parasitological examination, showing a serious form of piscinoodiniasis.

Considering the extreme sensitivity of this group of ornamental fish to various disinfectant molecules, therapy with quinine sulphate at a dose of 15 mg/l added to the aquarium water was carried out with positive results.

In the light of the case studies reported in this note, taking into account the place of origin of the fish, it is held to be particularly important to check newly introduced subjects, employing, when possible, an adequate period of quarantine and to evaluate all the biotic and abiotic risk factors which can alter the equilibrium of such delicate and complex ecosystems such as that of an aquarium.

Key words: Piscinoodiniasis, *Piscinoodinium pillulare*, Killifish, *Fundulosoma thierryi*, *Nothobranchius albimarginatus*, Therapy, Quinine sulphate.

* Corresponding author: c/o Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta; Area Diagnostica Generale e Sanità Animale, Laboratorio di Ittiopatologia e Acquacoltura, Via Bologna, 148 - 10154 Torino. Tel.: 011-2686251; Fax: 011-2474458; E-mail: marino.prearo@izsto.it

INTRODUZIONE

Con il termine “killifish” o più semplicemente killi si indica un gruppo abbastanza eterogeneo di pesci appartenenti al gruppo dei Cyprinodontiformi, molto apprezzati dagli acquariofili, anche se relativamente poco comuni come pesci ornamentali negli acquari domestici. I killi sono presenti in tutti i continenti ad eccezione dell’Oceania; in Italia l’unico rappresentante di tale gruppo è *Aphanius fasciatus* che popola le zone costiere e vive in acqua salmastra (Seegers, 1999).

I killi analizzati in questo studio appartengono ai generi *Fundulosoma* e *Nothobranchius*, entrambi appartenenti alla famiglia Aplocheilidae.

Il genere *Fundulosoma* è monotipico, cioè costituito da una sola specie, *Fundulosoma thierryi* Ahl, 1924. E’ un killi propriamente stagionale, di taglia relativamente piccola, diffuso nell’Africa occidentale, prevalentemente nelle pozze stagionali della savana (Mali, Burkina Faso, Niger, Senegal, Gambia, Nigeria) e nelle pozze costiere di drenaggio (Ghana e Togo) (Seegers, 1997).

Al genere *Nothobranchius* appartengono invece le specie stagionali più diffuse del continente africano, estremamente ben adattate alla successione delle stagioni umide e secche tipiche delle savane e delle boscaglie africane. La distribuzione del genere è molto ampia: dalle pozze di drenaggio del Ciad e Sudan a nord, lungo l’asta fluviale del Nilo fino al Lago Vittoria, alla grande Rif Valley ad est ed alla regione del Natal in Sud Africa a sud; ad occidente si spingono fino allo Zaire. La maggior parte delle specie conosciute sono presenti sul territorio pianeggiante della Tanzania (Seegers, 1997). La specie *N. albimarginatus* Watters, Wildekamp & Cooper, 1998, è caratterizzata da piccole dimensioni ed il biotopo caratteristico è rappresentato da pozze con acque poco profonde, in mezzo ai cespugli; necessita di acque acide (pH ottimale intorno a 6,0) ed il suo areale di distribuzione risulta quanto mai ristretto, in quanto è conosciuto solamente nella località tipo, situata nei dintorni di Kiparunganda (Tanzania) (Watters *et al.*, 1998; Wildekamp *et al.*, 2002).

Lo stato di cattività dei pesci d’acquario favorisce l’instaurarsi di svariate patologie, tra cui quelle parassitarie. Ci sono in particolar modo alcuni fattori che favoriscono lo sviluppo delle parassitosi: fattori abiotici, quali la temperatura, la quantità di ossigeno disciolto, il pH, possono condizionare sia la capacità replicativa, invasiva e di sopravvivenza del parassita, sia lo stato di benessere dei pesci; fattori biotici, caratteristici invece dell’ospite e del parassita stesso, quali rispettivamente lo stato immunitario e la virulenza.

Piscinoodinium pillulare è l’agente eziologico della Piscinoodiniasi od oodiniasi d’acqua dolce, nota anche come “malattia del velluto”, “pillularis krankheit” o ancora “velvet-, rust-, o gold dust-disease”; *P. pillulare* è stato segnalato più volte quale causa di elevata mortalità, soprattutto in specie ittiche allevate, quali carpa erbivora (*Ctenopharyngodon idella*), carpa testa grossa (*Aristichthys nobilis*), barbo di Hoven o jelawat (*Leptobarbus hoevenii*) e barbo di Giava o lampam jawa (*Puntius gonionotus*) in Malaysia (Shaharom-Harrison *et al.*, 1990; Siti & Rokiah, 1988b), carpa (*Cyprinus carpio*) e tilapia (*Oreochromis mossambicus*) in India (Ramesh *et al.*, 2000), Characidi (*Colossoma macropomum*) in Brasile (Martins *et al.*, 2001) ed in Venezuela (Dezon de Fogel *et al.*, 2004). La presenza di *P. pillulare* nel continente africano non è stata mai segnalata ufficialmente, anche se è da ritenersi sicuramente presente (Paperna, 1996). Infezioni da *Piscinoodinium* sp. sono state osservate anche in trosculture e allevamenti di anguille ubicati in zone temperate (Lom & Dykova, 1992).

Piscinoodinium infetta cute e branchie allo stadio di trofante, il quale presenta una forma sferico-piriforme, con dimensioni massime di 12 x 96 µm (Noga & Levy, 1995). La sintomatologia è del tutto simile a quella riscontrata nell’amiloodiniasi: il pesce mostra

lesioni cutanee tipiche dall'aspetto polveroso, talora giallastre, che gli conferiscono un aspetto simil-vellutato; la cute può staccarsi a lembi e le pinne possono andare in disfacimento o presentarsi con piccoli noduli; i pesci colpiti tendono a sfregarsi sul fondo o contro oggetti vari, mostrando difficoltà respiratorie; presentano movimenti anomali, nuotando spesso in superficie; risultano inoltre molto spesso inappetenti, andando incontro a progressivo dimagrimento; la morte sopraggiunge in tempi relativamente rapidi, soprattutto in seguito a stress da trasporto (Ghittino, 1985).

La profilassi risulta senza dubbio la migliore arma di difesa nei confronti delle patologie sostenute da dinoflagellati, soprattutto a causa della loro estrema velocità di replicazione e di infezione. Tra le varie azioni di natura profilattica che si possono intraprendere, l'utilizzo di raggi U.V., capaci di neutralizzare le dinospore presenti nell'acqua, è quello maggiormente efficace soprattutto in avannotteria. La terapia, invece, si basa essenzialmente sull'utilizzo di disinfettanti comuni come il solfato di rame; inoltre, soprattutto a scopo profilattico, ma anche a fini terapeutici, si può utilizzare acqua salata nel caso di *Piscinoodinium* e acqua dolce nel caso di *Amyloodinium* per contrastare la parassitosi (Ghittino, 1985).

La presente nota vuole segnalare un caso di piscinoodiniasi, parassitosi non così frequente sia in pesci allevati che ornamentali, occorso in killi provenienti direttamente da biotopi naturali africani; lo scopo è quello di descrivere tale episodio avvenuto in ambiente confinato come l'acquario, in soggetti di cattura di recente introduzione e di delineare la terapia intrapresa.

MATERIALI E METODI

In un allevamento amatoriale di killi del Piemonte, sono giunti direttamente da biotopi naturali africani numerosi esemplari di killi appartenenti a diverse specie. L'arrivo è avvenuto attraverso i normali scambi che si effettuano tra allevatori amatoriali di killi, poco dopo alcune battute di raccolta effettuate nel continente africano da studiosi e collezionisti di questo gruppo di pesci. Per quanto riguarda la specie *Fundulosoma thierryi*, 7 esemplari sono giunti da una spedizione in Togo (Africa centro-occidentale), mentre i 4 esemplari appartenenti alla specie *Nothobranchius albimarginatus* provenivano dalla Tanzania. Tutti gli esemplari presi in considerazione erano soggetti di cattura (F_0), importati direttamente dai rispettivi biotopi con spedizioni diverse. Al loro arrivo nell'allevamento amatoriale in questione, questi killi sono stati stabulati in vasche separate; in quel momento erano presenti altri esemplari di *F. thierryi* nati in cattività (F_2), posti in vasche distinte. Dopo alcune settimane si è potuto notare che in alcune vasche dove erano posti i soggetti di cattura in oggetto, i pesci presentavano un comportamento anomalo. In breve tempo un esemplare di *F. thierryi* è deceduto, mentre tutti gli altri hanno mostrato una sintomatologia caratteristica con sfregamento sul fondo e aspetto "polveroso" della cute.

Gli esemplari che presentavano i segni più evidenti (1 *F. thierryi* e 2 *N. albimarginatus*) sono stati portati ancora vivi presso il laboratorio di Ittiopatologia e Acquacoltura di Torino, per procedere alle analisi diagnostiche routinarie. I tre soggetti sono stati analizzati previa eutanasia utilizzando l'anestetico MS-222 (Sigma Aldrich) in overdose: si è proceduto all'esame parassitologico a fresco di cute e branchie, all'esame anatomopatologico e a quello batteriologico, utilizzando terreni di primo isolamento come Agar Sangue (Microbiol) e Tryptone Soy Agar (Oxoid).

L'esame parassitologico a fresco è stato effettuato asportando l'opercolo branchiale e prelevando del muco branchiale e gli archi branchiali *in toto*; inoltre è stato condotto un raschiato cutaneo a livello delle pinne dorsale e caudale e della cute a livello delle porzioni

laterale e ventrale del corpo. I vetrini allestiti secondo le modalità suddette sono stati osservati a fresco al microscopio ottico.

L'esame anatomopatologico e l'esame colturale di primo isolamento sono stati condotti seguendo le comuni procedure di analisi (de Kinkelin *et al.*, 1985; Ghittino, 1985).

Una volta effettuata la diagnosi è stato intrapreso, nei soggetti ancora presenti nelle vasche di stabulazione, un trattamento terapeutico tenendo conto della notevole sensibilità dei killi nei confronti dei principali prodotti disinfettanti, consistente nell'utilizzo di solfato di chinino alla dose di 15 mg/l in bagno permanente per sei giorni.

RISULTATI

Dopo l'arrivo in Italia direttamente dalle spedizioni di cattura, gli esemplari di *F. thierryi* e di *N. albimarginatus* sono stati stabulati in piccoli acquari, ben separati da altri pesci congeneri presenti nell'allevamento amatoriale. La sintomatologia in vasca si è presentata dopo alcune settimane dal loro arrivo, dapprima negli acquari con *F. thierryi* e successivamente dopo circa 6 giorni anche nelle vasche con *N. albimarginatus*. Dopo circa 10 giorni dalla comparsa dei primi sintomi, dati da lieve sfregamento dei soggetti contro il fondo, si è potuto notare il caratteristico aspetto vellutato nella parte dorsale del corpo di un soggetto maschio adulto di *F. thierryi*, il quale presentava anche difficoltà respiratorie e nuoto superficiale. Dopo 3 giorni dalla comparsa della sintomatologia evidente, l'esemplare è deceduto, mentre sono iniziate a comparire le manifestazioni sintomatologiche caratteristiche anche in altri soggetti della stessa vasca e nelle vasche contenenti *N. albimarginatus*. Tutti i soggetti presenti nelle vaschette di stabulazione hanno iniziato a manifestare la sintomatologia, con diversa gravità.

In laboratorio sono giunti 1 esemplare femmina adulta di *F. thierryi* e 2 soggetti maschi adulti di *N. albimarginatus* che presentavano la sintomatologia più evidente. Dall'osservazione dei soggetti direttamente in vasca, si è potuto notare una sintomatologia del tutto simile in entrambe le specie: difficoltà di respirazione con dilatazione evidente degli opercoli, movimenti natatori anomali, con nuoto in superficie, soggetti estremamente letargici anche dopo sollecitazioni manuali, presenza di lesioni cutanee con aspetto "polveroso", soprattutto a livello del dorso, con lembi di cute che si distaccavano e pinne caudali in disfacimento; inoltre i soggetti si presentavano notevolmente dimagriti.

Procedendo con l'esame parassitologico a fresco, la visione al microscopio di preparati costituiti sia da porzioni degli archi branchiali, che da raschiati branchiali e cutanei, ha permesso di osservare in tutti i pesci esaminati la presenza massiva di elementi parassitari brunastri, immobili, di forma sferico-piriforme e di dimensioni variabili da 30 a 50 µm, riferibili a trofonti di dinoflagellati. I trofonti risultavano presenti in maggior numero a livello cutaneo, ma erano molto numerosi anche a livello branchiale. Per la morfologia rilevata e per le caratteristiche delle specie ittiche considerate è risultato verosimile ascrivere il parassita al genere *Piscinoodinium*.

L'esame anatomopatologico dei soggetti ha permesso di evidenziare a livello cutaneo, dopo asportazione dei lembi di cute che si distaccavano facilmente, la presenza di numerose petecchie emorragiche, evidenti soprattutto a livello della parete laterale del corpo. Tali emorragie sono risultate presenti in numero decisamente minore anche a livello branchiale. All'apertura della cavità addominale tutti gli organi apparivano nella norma, ad eccezione dell'intestino che si presentava completamente vuoto, a dimostrazione del fatto che gli animali non avevano assunto cibo da diversi giorni. L'esame colturale è risultato negativo per tutti i pesci esaminati.

Alla luce dei risultati di laboratorio ottenuti e considerando che i parametri abiotici delle vasche di stabulazione risultavano entro i limiti di accettabilità relativi alle specie considerate, si è proceduto alla terapia dei soggetti rimasti (1 maschio ed 1 femmina adulti, 3 subadulti di *F. thierryi*; 1 maschio ed 1 femmina adulti di *N. albimarginatus*).

La terapia si è basata sulla somministrazione di solfato di chinino utilizzando preparazioni farmaceutiche. Una capsula da 300 mg ogni 20 litri d'acqua è stata usata per il trattamento degli adulti e ½ capsula (150 mg/20 litri) per il trattamento degli avannotti. L'utilizzo di solfato di chinino in bagno permanente per 6 giorni consecutivi (due somministrazioni di tre giorni ciascuna), ha permesso di eliminare tutti i parassiti, consentendo la sopravvivenza di tutti i soggetti trattati. Dopo tale periodo è stato effettuato, ancora per due volte a distanza di 5 giorni uno dall'altro e dopo il periodo di cura, un bagno di 1 giorno con solfato di chinino a dose piena, per eliminare gli elementi parassitari eventualmente ancora presenti. Le vasche in cui si è effettuata la terapia sono state munite di pietre porose per consentire una buona aerazione dell'acqua.

Al termine della terapia con solfato di chinino, i pesci trattati apparivano vitali e non si sono verificati casi di reinfezione; il trattamento utilizzato risulta quindi efficace e può essere applicato anche sulle forme giovanili e sugli avannotti senza determinare effetti tossici e mortalità.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Le parassitosi sostenute da dinoflagellati sono da sempre causa di gravi perdite in pesci allevati. L'oodiniasi marina, tra queste, risulta particolarmente importante per l'elevato tasso di mortalità che la caratterizza (Ghittino, 1985). Anche la piscinoodiniasi presenta una elevatissima morbilità ed una rilevante mortalità, in dipendenza della temperatura ambientale e della concomitanza di fattori stressanti (Siti & Rokiah, 1988b; Shaharom-Harrison *et al.*, 1990; Ramesh *et al.*, 2000; Martins *et al.*, 2002). Tale parassitosi viene considerata come una patologia tipica delle zone tropicali e temperate; per tale motivo, in zone dove la temperatura rimane relativamente costante durante l'anno, non sono state notate differenze sostanziali correlate a variazioni stagionali (Tavares-Dias *et al.*, 2001).

Non risultano, allo stato attuale delle nostre conoscenze, descrizioni di casi di piscinoodiniasi nel gruppo dei Cyprinodontiformes. Unica segnalazione di rilievo ritrovata, è stata quella in cui viene descritto un episodio in killi delle acque salmastre del Golfo del Messico (*Fundulus similis* e *Cyprinodon variegatus*), sostenuto però da un'altra specie di dinoflagellato marino, *Oodinium cyprinodontum* (Williams, 1972), attualmente riclassificato nel genere *Crepidoodinium* (Lom & Dyková, 1992).

Risultano invece numerose le segnalazioni di piscinoodiniasi, sia in allevamento che direttamente nei biotopi naturali (Shaharom-Harrison *et al.*, 1990; Martins *et al.*, 2000; Ramesh *et al.*, 2000; Martins *et al.*, 2001; 2002; Carneiro *et al.*, 2002b; Thilakaratne *et al.*, 2003; Dezon de Fogel *et al.*, 2004).

Da studi condotti da Martins *et al.* (2002), sono state calcolate le percentuali di infezione relative a *Piscinoodinium pillulare* in pesci allevati nello stato brasiliano di São Paulo; durante gli anni 1999 e 2000 sono state registrate percentuali di positività rispettivamente del 43,2% e del 35,7%.

In un precedente studio, condotto da Ferraz & Sommerville (1998), si era osservato come la presenza di *P. pillulare* in *Corydoras* spp. e *Brochis splendens* di importazione provenienti da Colombia e Brasile fosse relativamente alta (rispettivamente 14% e 22,5%), con conseguente elevato rischio di infezione nei soggetti importati a scopo ornamentale.

Si ribadisce pertanto l'importanza della pratica della quarantena quale efficace arma preventiva nella lotta alla piscinoodiniasi, associata eventualmente all'utilizzo di disinfezioni con cloruro di sodio (1 g/litro) (Ghittino, 1985; Carneiro *et al.*, 2002a).

Nel caso d'insorgenza di piscinoodiniasi, ai primi sintomi di infezione risulta utile, ai fini di accelerare il ciclo biologico del parassita e devitalizzare le forme libere, innalzare il più possibile la temperatura dell'acqua e massimizzare l'illuminazione dell'acquario (Ghittino, 1985). Inoltre è opportuno effettuare la rimozione immediata dall'acquario dei soggetti colpiti, cercando di evitare condizioni di sovraffollamento o altre fonti di stress.

La terapia comunemente utilizzata nel caso di infezioni da *Piscinoodinium* spp. (come per tutti i dinoflagellati) si basa sull'utilizzo del solfato di rame, usato alla dose di 0,163 g/100 litri d'acqua. Questo trattamento solitamente determina una totale scomparsa della patologia (Ghittino, 1985). Buoni risultati sono stati ottenuti utilizzando cloruro di sodio alla soluzione del 33‰ per alcuni minuti (Ghittino, 1985; Carneiro *et al.*, 2002a); in taluni casi è stata descritta l'efficacia dell'acriflavina alla dose di 10 ppm (Ghittino, 1985). Del tutto inefficaci invece sono risultati il blu di metilene (Ghittino, 1985; Siti & Rokiah, 1988a) ed il cloruro di sodio a basse concentrazioni (Siti & Rokiah, 1988a).

Nel nostro caso non è stato però possibile applicare la terapia generalmente consigliata (solfato di rame o alte concentrazioni di cloruro di sodio) a causa dell'elevata tossicità del primo sui killi e della scarsa alotolleranza di questi pesci. La possibilità di utilizzare il chinino cloridrato quale antiparassitario (Ghittino, 1985) ha indotto l'applicazione di una terapia basata sull'utilizzo di solfato di chinino, comune presidio terapeutico antimalarico facilmente reperibile in farmacia. L'uso in bagno permanente per 6 giorni consecutivi ha permesso la completa remissione della sintomatologia in tutti i soggetti trattati e la scomparsa dei parassiti. L'utilizzo di tale sostanza nella terapia della piscinoodiniasi nei killi alle dosi utilizzate è risultato esente da rischi di tossicità, sia nei soggetti adulti che nelle forme giovanili, in genere più sensibili ai trattamenti. Resta da valutare l'efficacia di tale sostanza in altre condizioni ambientali e su altre specie di killi.

Alla luce di quanto sopra riportato, questo caso risulta interessante per molteplici motivi. Oltre a rappresentare la descrizione di una parassitosi per così dire "minore", perché poco descritta o perché effettivamente di più raro riscontro, è la prima segnalazione di piscinoodiniasi in killi africani provenienti direttamente da biotopi naturali e permette di individuare un protocollo di terapia efficace nei confronti del parassita e privo di effetti tossici sulle specie di killi in studio.

BIBLIOGRAFIA

Carneiro P.C.F., Martins M.L. & Urbinati E.C. (2002a). Effect of sodium chloride on physiological responses and the gill parasite, *Piscinoodinium* sp., in matrinxa, *Brycon cephalus*, (Teleostei: Characidae) subjected to transport stress. *J. Aquaculture Tropics*, 17, 4: 337-348.

Carneiro P.C.F., Urbinati E.C. & Martins M.L. (2002b). Transport with different benzocaine concentrations and its consequences on hematological parameters and gill parasite population of matrinxa *Brycon cephalus* (Gunther, 1869) (Osteichthyes, Characidae). *Acta Scientiarum, Maringá*, 24, 2: 555-560.

de Kinkelin P., Michel C. & Ghittino P. (1985). Précis de pathologie des poissons. *INRA – OIE, Paris*.

Dezon de Fogel D., Fuentes Zambrano J.L. & Gonzalez I. (2004). Parasitos en *Colossoma macropomum* (Pisces: Characidae) cultivado, ocasionada por los protozoos *Ichthyophthirius multifiliis* (Fouquet) y *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus). *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*, 16, 1: 3-8.

- Ferraz E. & Sommerville C. (1998). Pathology of *Piscinoodinium* sp. (Protozoa: Dinoflagellida), parasites of the ornamental freshwater catfish *Corydoras* spp. and *Brochis splendens* (Pisces: Callichthyidae). *Dis. Aquat. Org.*, 33, 1: 43-49.
- Ghittino P. (1985). Tecnologia e patologia in acquacoltura. vol. 2 - Patologia. *Ed. Bono, Torino*: 163-169.
- Lom J. & Dyková I. (1992). Protozoan parasites of fishes. *Elsevier Sc. Publ. Co.*
- Martins M.L., Moraes F.R., Fujimoto R.Y., Onaka E.M., Nomura D.T., Silva C.A.H. & Schalch S.H.C. (2000). Parasitic infections in cultivated freshwater fishes: a survey of diagnosed cases from 1993 to 1998. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 9, 1: 23-28.
- Martins M.L., Moraes J.R.E., Andrade P.M., Schalch S.H.C. & Moraes F.R. (2001). *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus, 1954) Lom, 1981 (Dinoflagellida) infection in cultivated freshwater fish from the northeast region of São Paulo State, Brazil. Parasitological and pathological aspects. *Braz., J. Biol.*, 61, 4: 639-644.
- Martins M.L., Onaka E.M., Ruas de Moraes F., Rizzi Bozzo F., de Mello A., Paiva F.C. & Gonçalves A. (2002). Recent studies on parasitic infections of freshwater cultivated fish in the state of São Paulo, Brazil. *Acta Scientiarum, Maringá*, 24, 4: 981-985.
- Noga E.J. & Levy M.G. (1995). Dinoflagellida (Phylum Sarcomastigophora). *In: Fish Disease and Disorders. Vol. 1. Protozoan and Metazoan Infections. Ed. Woo P.T.K., CAB International, Wallingford, UK*: 1-25.
- Paperna I. (1996). Parasites, infections and diseases of fishes in Africa: an update. *CIFA Technical paper 31, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome*: 60-68.
- Ramesh K.S., Mohan C.V., Shankar K.M. & Ahmed I. (2000). *Piscinoodinium* sp. infection in juveniles of common carp (*Cyprinus carpio*), mahseer (*Tor khundree*) and tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *J. Aquaculture Tropics*, 15, 3: 281-288.
- Seegers L. (1997). Killifishes of the world. Old world Killis – II. *Aqualog, Verlag A.C.S. GmbH, Mörfelden-Walldorf, Germany*, 8: 1-112.
- Seegers L. (1999). Killi - Allevamento e riproduzione. Tutto sui Ciprinodontiformi ovipari. *Primaris s.a.s., Milano*: 1-72.
- Shaharom-Harrison F.M., Anderson I.G., Siti A.Z., Shazili N.A.M., Ang K.J. & Azmi T.I. (1990). Epizootics of Malaysian cultured freshwater pond fishes by *Piscinoodinium pillulare* (Schäperclaus, 1954) Lom, 1981. *Aquaculture*, 86, 1-2: 127-138.
- Siti A.Z. & Rokiah L.A. (1988a). Treatment of *Puntius gonionotus* (Bleeker) fry infested with *Piscinoodinium* sp. with emphasis on use of CuSO₄. *Proceedings of the 11th Annual Conference Malaysian Society of Animal Production, 29-30 March 1988, Kuala Lumpur, Malaysia*, 11: 65-68.
- Siti A.Z. & Rokiah L.A. (1988b). Behavioural and morphological characteristics in *Puntius gonionotus* (Bleeker) with *Piscinoodinium pillulare* infestation. *Proceedings of the 11th Annual Conference Malaysian Society of Animal Production, 29-30 March 1988, Kuala Lumpur, Malaysia*, 11: 69-72.
- Tavares-Dias M., Martins M.L. & Moraes F.R. (2001). Parasitic fauna of cultivated fishes in fee-fishing farms of Franca, Sao Paulo State, Brazil. I. Protozoans. *Rev. Brasil. Zool.*, 18, suppl. 1: 67-79.

Thilakaratne I.D., Rajapaksha G., Hewakopara A., Rajapakse R.P. & Faizal A.C. (2003). Parasitic infections in freshwater ornamental fish in Sri Lanka. *Dis. Aquat. Org.*, 54, 2: 157-162.

Watters B.R., Wildekamp R.H. & Cooper B.J. (1998). Zwei neue *Nothobranchius* – Arten aus der küstenebene Tansanias. *DKG-J.*, 30, 3: 52-63.

Wildekamp R.H, Watters B.R. & Sainthouse I.F.N. (2002). Two new species of the genus *Nothobranchius* (Cyprinodontiformes: Aplocheilidae) from the Kilombero River basin, Tanzania. *Ichthyol. Explor. Freshwat.*, 13, 1: 1-10.

Williams Jr. E.H. (1972). *Oodinium cyprinodontum* Lawler (Dinoflagellida) on *Fundulus similes* (Baird & Girard) and *Cyprinodon variegatus* Lacepede from the Gulf of Mexico. *Alabama Mar. Res. Bull.*, 8: 32-33.