

Caracterización de tricodínidos como peligros biológicos durante el estadio de alevinaje de *Clarias gariepinus* cultivadas en Cuba

Characterization of tricodinids as biohazards during the fingerling stage of *Clarias gariepinus* farmed in Cuba

Eolian M. Rodríguez-Vara ¹, Fernando Lucas Prats León ¹, Mercedes Martínez Pérez ¹, Raquel Silveira Coffigny ¹, Ernestina Solórzano Álvarez ²

¹Centro de Investigaciones Pesqueras, La Habana, Cuba.

²Instituto de Ciencias y Tecnologías Aplicadas, Universidad de La Habana, Cuba.

Correspondencia: Eolian M. Rodríguez-Vara **E-mail:** eorv91@gmail.com

Original article | Artículo original

Palabras clave

Bioseguridad,
acuicultura,
Trichodina
heterodontata,
Trichodina acuta,
Trichodina merciae,
Ciliophora

Keywords

Biosecurity,
aquaculture,
Trichodina
heterodontata,
Trichodina acuta,
Trichodina merciae,
Ciliophora

RESUMEN | La bioseguridad en la acuicultura se ocupa de la gestión de la sanidad de los animales acuáticos y la reducción de los riesgos a la salud pública asociados con la producción y el consumo de productos acuícolas. Particularmente, las enfermedades son un tema de atención en todo sistema de cría y producción de animales. En la acuicultura cubana, una de las especies ícticas de mayor importancia es el pez gato africano *Clarias gariepinus*. Esta especie introducida es afectada por protozoos ciliados parásitos de la familia Trichodinidae durante los primeros estadios de vida. El presente trabajo se trazó como objetivo, identificar y caracterizar las especies de tricodínidos que afectan el cultivo de *C. gariepinus* en la estación de alevinaje La Juventud, Provincia Pinar del Río, Cuba. Dichas especies identificadas y caracterizadas fueron *T. heterodontata*, *T. acuta* y *T. merciae*, las cuales son consideradas peligros biológicos para el cultivo de este pez. Estos resultados constituyen el primer paso para desarrollar un análisis de riesgo que garantice un manejo adecuado de la bioseguridad en las estaciones acuícolas.

ABSTRACT | In aquaculture, biosecurity deals with the management of aquatic animals' health and to reducing risks to public health issues associated with the production and consumption of aquaculture products. In particular, diseases are a matter of care in every animal husbandry and production systems. In Cuban aquaculture, one of the most important fish species is the African catfish *Clarias gariepinus*. This introduced species is affected by parasitic protozoa of the family Trichodinidae during the first stages of its life cycle. The present work was outlined as objective, to identify and characterize the species of tricodinids that affect the *C. gariepinus* cultivation in La Juventud fingerling station, Provincia Pinar del Río, Cuba. The identified and characterized species were *Trichodina heterodontata*, *T. acuta* and *T. merciae*, which are considered biohazards for the culture of this fish. These results constitute the first step to develop a risk analysis that guarantees adequate management of biosecurity in aquaculture stations.

INTRODUCCIÓN

En acuicultura, la bioseguridad hace referencia al concepto de aplicar medidas adecuadas para reducir la probabilidad de que un agente biológico se introduzca o extienda a un individuo, una población o un ecosistema, y para mitigar el efecto negativo que pueda derivarse de ello (Subasinghe y Bondad-Reantaso, 2006). La aparición de enfermedades en animales acuáticos es una amenaza económica permanente y un desafío de gestión para la industria acuícola.

El impacto de enfermedades puede afectar la sanidad y bienestar de los animales acuáticos, el comercio y la salud humana. Particularmente, los tricodínidos representan uno de los grupos de ectoparásitos más comunes que afectan a los peces de cultivo (Basson y Van As, 2006). *Trichodina* Ehrenberg, 1830 (Ciliophora: Peritrichia) representa el género de la familia Trichodinidae con mayor diversidad de especies (superior a 150) (Van As y Basson, 1989; GBIF Secretariat, 2022). Dentro de los principales hospederos de los tricodínidos se encuentra el pez gato africano, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). Actualmente, este pez gato africano es una de las principales especies dulceacuícolas que produce la acuicultura en Cuba (Prats y Martínez, 2017).

El conocimiento sobre los tricodínidos parásitos que afectan a *C. gariepinus* en condiciones de cultivo, así como los riesgos que implica la presencia de estos patógenos, se convierte en un objetivo de trabajo para la acuicultura.

El presente artículo ofrece una caracterización de las principales especies de tricodínidos parásitos identificados como peligros durante el estadio de alevinaje del cultivo de *C. gariepinus* en Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Centro de alevinaje La Juventud, Pinar del Río, Cuba, localizada en Paso Real de San Diego, municipio Los Palacios, provincia de Pinar del Río, Cuba (Fig. 1). Se realizaron dos muestreos por año, uno por semestre, durante el período comprendido del 2017–2019. Los tricodínidos fueron recolectados de alevines vivos ($n=30/\text{muestreo}$) de *C. gariepinus* cultivados en estanques de cemento de $3,5 \text{ m}^2$ a razón de 10 000 alevines/estanque. El tamaño de muestra estuvo establecido según el Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos de la OIE (2009).



Figura 1. Imagen satelital del área de estudio. Pinar del Río, Cuba ($22^{\circ} 33' 27.98''\text{N}$, $83^{\circ} 18' 42.74''\text{W}$).

Para recolectar las especies de tricodínidos, se realizó un raspado total de piel, branquias y aletas al pez vivo y se preparó un frotis sobre un portaobjeto donde previamente se colocó una gota de agua destilada; posteriormente se dejó secar. Para visualizar al microscopio óptico las estructuras del disco adhesivo, los frotis secos son teñidos con solución al 2% de nitrato de plata (AgNO_3) por 10 min y expuestos por 20 min a irradiación con luz ultravioleta (técnica de Impregnación Argéntica de Klein, 1958).

Las mediciones de las trichodinas se realizaron según lo recomendado por Lom (1958); Wellborn (1967); Arthur y Lom (1984); Van As y Basson (1989) y Prieto *et al.* (1993) (Figura 2), para su posterior identificación con claves especializadas.

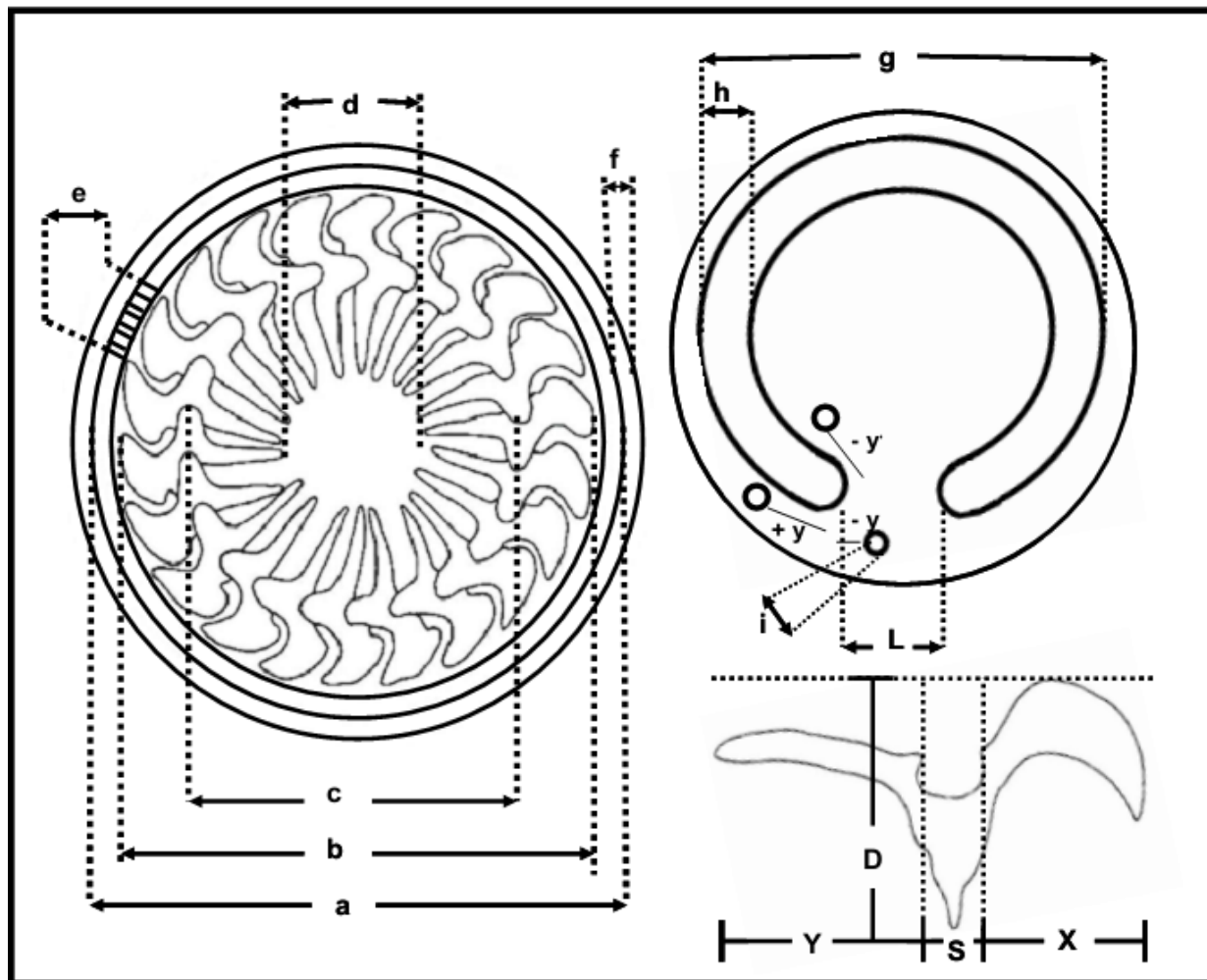


Figura 2. Medidas usadas en este estudio. Abreviaturas: a = diámetro del cuerpo; b = diámetro del disco adhesivo; c = diámetro del anillo denticular; d = diámetro del círculo central; f = ancho de la membrana marginal; e = número de estriaciones (espinas radiales) por denticulo; g = diámetro externo del macronúcleo; h = ancho del macronúcleo; i = ancho del micronúcleo; L = longitud entre las terminaciones del macronúcleo; +y, - y, - y' = diferentes posiciones del micronúcleo en relación al macronúcleo; X = longitud de la apófisis externa (hoja); Y = longitud de la apófisis interna (radio); S = ancho de la porción central del denticulo; D = longitud del denticulo.

Las imágenes digitales se procesaron mediante el software para el procesamiento de imágenes biológicas Motic Images Plus - versión 2. Las medidas se presentan en micrómetros (μm), de la siguiente forma: valor promedio \pm desviación estándar. La prevalencia, intensidad media de parasitación y abundancia se establecieron acorde a lo propuesto por Margolis *et al.*, 1982.

RESULTADOS

La identificación de los peligros biológicos presentes en el estadio de alevinaje del cultivo de *C. gariepinus* se realizó a partir de la metodología establecida y las claves taxonómicas correspondientes. Estos peligros fueron tres especies del género *Trichodina*: *T. acuta* Lom, 1961; *T. heterodentata* Duncan, 1977 y *T. merciae* Prats y Martínez, 2017. El riesgo asociado a la presencia de estos peligros es la ocurrencia de tricodiniasis en los alevines de clarias, lo cual puede implicar una pérdida económica considerable para el proceso de producción. Las características morfológicas y morfométricas de cada especie de tricodínido se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores morfométricos de las especies de *Trichodina*. Las medidas se presentan en micrómetros (μm), de la siguiente forma: valor promedio \pm desviación estándar.

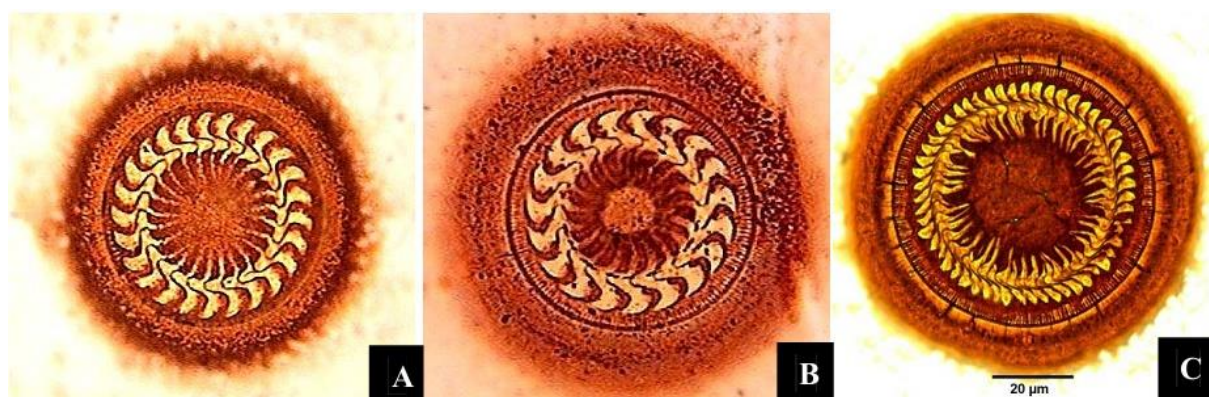
Característica morfológica	<i>T. heterodontata</i>	<i>T. acuta</i>	<i>T. merciae</i>
Diámetro del cuerpo	54,2 \pm 4,3	49,4 \pm 3,7	57,9 \pm 4,3
Diámetro del disco adhesivo	47,3 \pm 2,9	40,8 \pm 2,5	52,3 \pm 2,5
Diámetro del anillo denticular	33,3 \pm 2,4	27,9 \pm 2,3	38,1 \pm 1,8
Número de denticulos	23,0 \pm 1,0	19,5 \pm 0,7	52,0 \pm 5,9
Longitud de los denticulos	9,0 \pm 0,5	8,4 \pm 0,1	7,4 \pm 0,5
Longitud de la hoja	5,7 \pm 0,3	4,6 \pm 0,7	5,2 \pm 0,4
Longitud de los radios	9,0 \pm 0,6	6,4 \pm 0,7	6,5 \pm 0,8
Ancho de la porción central del denticulo	3,3 \pm 0,4	3,8 \pm 0,6	3,1 \pm 0,3
Ancho de la membrana marginal	4,4 \pm 0,4	4,9 \pm 0,6	5,1 \pm 0,4
Diámetro del círculo central	12,9 \pm 1,6	13,0 \pm 0,1	22,6 \pm 2,6
Número de pins	12,0 \pm 1,8	10,5 \pm 0,7	6,0 \pm 0,4
Span	17,2 \pm 0,8	14,3 \pm 1,1	14,8 \pm 1,0

Se determinó la prevalencia, intensidad media de parasitación y abundancia para las especies de *Trichodina* encontradas. En la Tabla 2 se muestra el promedio de dichos parámetros ecológicos para los seis muestreos realizados.

Tabla 2. Prevalencia, intensidad media y abundancia para cada especie de *Trichodina*.

Parámetro ecológico	<i>T. heterodontata</i>	<i>T. acuta</i>	<i>T. merciae</i>
Prevalencia (%)	100	100	57,1
Intensidad media	<800	<800	5,0
Abundancia	<800	<800	2,9

La Figura 3 muestra las imágenes de las especies de tricodínidos identificados como peligros en el estadio de alevinaje.

**Figura 3.** Especies de tricodínidos identificadas: A. *T. heterodontata*, B. *T. acuta*, C. *T. merciae*.

DISCUSIÓN

Los miembros de la familia Trichodinidae Claus, 1951 se encuentran fundamentalmente en ambientes acuáticos como simbioses. Además, se encuentran como comensales o parásitos de una gran variedad de invertebrados y vertebrados acuáticos, como crustáceos, moluscos, equinodermos, anfibios y peces (Basson y Van As, 1989; Sabry y Magalhães, 2005; Pinto *et al.*, 2006; Dias *et al.*, 2009; Silva-Briano *et al.*, 2011; Martins *et al.*, 2016).

Particularmente, las especies de tricodínidos tienen gran importancia en la acuicultura, pues constituyen un riesgo epizootico potencial que resulta en pérdidas económicas debido a las elevadas mortalidades en los peces (Basson y Van As, 1989).

El género *Trichodina* Ehrenberg, 1830 es el más amplio dentro de la familia, comprendiendo más de 150 especies descritas mayormente en peces usando la técnica de impregnación argéntica de Klein para su observación (Asmat *et al.*, 2003). Muchas especies son morfológicamente variables y muestran baja especificidad de hospederos, lo cual dificulta su identificación (Lom y Dyková, 1992). El ciclo de vida de estos parásitos es monoxeno y ocurre mediante división binaria o, en ciertas condiciones, conjugación (Basson y Van Ass, 2006; Bruno *et al.*, 2006). El mecanismo de patogenicidad está relacionado con la manera en que infectan a sus hospederos. Al momento en que el parásito se fija fuertemente a la superficie del cuerpo, el borde de la membrana aboral crea un movimiento de succión permanente sobre la superficie de las células epiteliales causando irritación de los tejidos de los peces (Basson y Van Ass, 2006).

Las especies del género *Trichodina* pueden causar, además de mortalidades importantes en los sistemas de acuicultura, problemas de crecimiento en peces dulceacuícolas cultivados en estanques (Abo-Esa, 2008). Estos protozoos se alimentan del mucus y los detritos que cubren la superficie de las branquias y la piel del pez. Además de provocar hiperplasia o proliferación de las células epiteliales, pueden llegar a ocasionar la fusión de los filamentos branquiales. Dichos daños afectan las capacidades respiratoria y excretora óptimas de las branquias, así como las funciones homeostática y osmorreguladora de la piel. Además, las infestaciones masivas con estos patógenos pueden llegar a ocasionar ulceraciones profundas en la superficie de la piel que actúan como sitio de entrada para infecciones secundarias por bacterias u hongos (Noga, 2010; Valladão *et al.*, 2014).

En el presente estudio se evidenció una elevada susceptibilidad de los alevines de *Clarias* a la infestación con tricodínidos. Este hecho puede verse asociado a que los alevines se siembran en altas densidades y al ciclo biológico directo de estos parásitos. La morfología de los dentículos y de los componentes del anillo denticulado del disco adhesivo de los tricodínidos, constituyeron caracteres de gran valor taxonómico utilizados para la descripción de las diferentes especies del género encontradas en este estudio. Se tuvo en cuenta que la cantidad de dentículos por ejemplar es, usualmente con una ligera variación, constante para cada especie (Van As y Basson, 1989).

Los primeros reportes de especies del género *Trichodina* en Cuba, como parásitos de peces de agua dulce, fueron realizados por Arthur y Lom (1984). Estos autores describieron la especie *Trichodina cubanensis* en piel de la biajaca cubana *Nandopsis tetracanthus* (Cuvier y Valenciennes, 1831) (familia Cichlidae), y *Trichodina* sp. en piel del pez sol *Lepomis gibbosus* (Linnaeus, 1758) (familia Centrarchidae). Posteriormente Prieto *et al.* (1993) registraron las siguientes especies de tricodínidos en peces cultivados en aguas interiores: *T. pediculus* Ehrenberg, 1831, en piel y filamentos branquiales de *Oreochromis aureus* Steindacher, 1864 (familia Cichlidae), *O. mossambicus* Peters, 1952 y del híbrido de *O. hornorum* x *O. mossambicus*; *T. nigra* Lom, 1960, en piel y filamentos branquiales de *Aristichthys nobilis* Richardson, 1844 (familia Cyprinidae), *Ctenopharyngodon idella* Cuvier y Valenciennes, 1844 (familia Cyprinidae), *Ictiobus cyprinellus* Valenciennes, 1844 (familia Catostomidae), *I. niger* Rafinesque, 1818, y de *O. aureus*, y *T. acuta* Lom, 1961, en piel de *A. nobilis*, *C. idella*, *I. cyprinellus*, *I. niger*, *O. aureus* y *O. mossambicus*.

Trichodina heterodentata fue descrita originalmente por Duncan en 1977, basado en un material recolectado de tres poblaciones de peces dulceacuícolas en cultivo pertenecientes a las familias Cichlidae (*O. mossambicus* y *Tilapia zillii*) y Anabantidae (*Trichogaster trichopterus*), en Filipinas. Dicha especie se ha registrado además en muchos países (Sudáfrica, Israel, Taiwán, Venezuela, Brasil, India, Australia) infestando diferentes familias de peces que se cultivan con fines comerciales (alimento u ornato) o presentes en medio natural (Cichlidae, Anabantidae, Cyprinidae, Centrarchidae, Eleotridae, Ambassidae, Apogonidae, Poecillidae, Galaxidae, Gerreidae, Percichthyidae, Pseudomugilidae) (Basson *et al.*, 1983; Van As y Basson, 1989; Albaladejo y Arthur, 1989; Asmat, 2004; Dove y O'Donoghue, 2005). Van As y Basson (1989) consideran el posible origen de *T. heterodentata* en Sudáfrica a pesar de que su descripción original fue en Filipinas. Para ello, estos autores se basan en recolecciones del parásito de especímenes de *O. mossambicus*, su principal hospedero, en diferentes localidades del Sureste de

África no expuestas a introducciones de peces foráneos y donde la especie *O. mossambicus* es nativa (Basson *et al.*, 1983).

Las características morfológicas de *T. heterodontata* con la hoja de los dentículos fuertemente falciforme y robusta terminada en punta, radios engrosados en la base y extremos puntiagudos, porción central alargada con los extremos redondos, así como la ausencia de una inclusión central y los pins radiales prominentes, juntamente con la morfometría realizada a los parásitos recolectados, hicieron posible la identificación de este patógeno. En 2011, Prats y colaboradores, añadieron un nuevo registro de distribución geográfica para esta especie, al reportarla por primera vez en Cuba, así como un nuevo hospedero con *C. gariepinus*. En otros países, esta especie de tricodínido también se ha encontrado infectando alevines de otras especies dulceacuícolas. Tal es el caso de la especie *Prochilodus lineatus*, una especie de pez común en la acuicultura en Sudamérica, donde se han encontrado especímenes de *T. heterodontata*. Ante esta infección, los alevines mostraron nado errático hacia los bordes de los estanques y tegumento blanquecino. Además, los análisis histológicos mostraron hiperplasias ligeras en los filamentos branquiales con edema subepitelial de las lamelas secundarias (Valladão *et al.*, 2014).

Por otro lado, *T. acuta* fue descrita por Lom (1961) en diferentes hospederos de la localidad de Bohemia, Checoslovaquia. Dicha especie es considerada una de las especies de tricodínidos con más amplia distribución en peces de agua dulce (Lom, 1970). Las características morfológicas y medidas morfométricas presentadas en este trabajo son semejantes a los mostrados por Lom (1961) en la descripción original y en posteriores descripciones realizadas por Duncan (1977); Van As y Basson (1989); Prieto *et al.* (1993); Dove y O'Donoghue (2005). Prats *et al.* (2011) reportaron por primera vez a *T. acuta* como parásito de *C. gariepinus* en Cuba. Además de encontrarse en especies comerciales de cultivo, destinadas a la alimentación, este tricodínido también se ha colectado en peces ornamentales tales como *Xiphophorus maculatus*, *Xiphophorus helleri*, *Beta splendens* y *Carassius auratus* (Piazza *et al.*, 2006).

Trichodina merciae fue descrita por primera vez por Prats y Martínez (2017). Este tricodínido se distingue del resto de los miembros de su familia por las características de su disco adhesivo, particularmente por presentar un elevado número de dentículos 52 (44-63). Dentro de la familia Trichodinidae, solo algunas especies del género *Trichodina* tienen un número de dentículos superior a 50 en su anillo, por lo que dicha especie en particular es, probablemente, el tricodínido parásito de peces de agua dulce con el mayor número de dentículos conocido. Otras dos especies con características similares son *T. renicola* (Mueller, 1931), endoparásito de la vejiga urinaria de *Esox niger* Lesueur, 1818 (regularmente tiene 56 dentículos en su anillo) y *T. marplatensis* (Martorelli *et al.*, 2008), tricodínido marino encontrado en el ctenóforo costero *Mnemiopsis mccradyi* (Mayer, 1900). Estos ectoparásitos comparten la característica distintiva de presentar un elevado número de dentículos, lo cual representa un carácter morfológico inusual entre los tricodínidos.

La bioseguridad en la acuicultura implica implementar estrategias eficaces para prevenir la introducción, proliferación y propagación de patógenos. Los tratamientos preventivos en los animales, el control del agua del cultivo y las cuarentenas son algunos de los métodos más efectivos para el manejo de estos riesgos biológicos (Subasinghe y Bondad-Reantaso, 2006). La presente identificación y caracterización de los patógenos que afectan al cultivo de *C. gariepinus* durante los primeros estadios de vida, constituye el primer paso para desarrollar un análisis de riesgo que garantice un manejo adecuado de la bioseguridad de las estaciones acuícolas dedicadas a este tipo de cultivo.

REFERENCIAS

- Abo-Esa J.F.K. (2008). Study on some ectoparasitic diseases of catfish, *Clarias gariepinus* with their control by Ginger, *Zingiber officinale*. *Med Aqua J.*, 1:1-10.
- Albaladejo J.D., Arthur J.R. (1989). Some Trichodinid Ciliates (Protozoa: Peritrichida) from Freshwater Fishes Imported into the Philippines. *Asian Fish Sci.*, 3:1-25.
- Arthur J.R., Lom J. (1984). Trichodinid protozoa (Ciliophora: Peritrichida) from freshwater fishes of Rybinsk Reservoir, USSR. *Journal of Eukaryot Microbiology*, 31(1):82-91.

- Asmat G.S.M. (2004). First Record of *Trichodina diatomi* (Dogiel, 1940) Basson and Van As, 1991, *T. heterodentata* Duncan, 1977 and *T. oligocotti* (Lom, 1970) (Ciliophora: Trichodinidae) from Indian Fishes. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 7(12):2066-2071.
- Asmat G.S.M., Hafizuddin A.K.M., Habib M.M.A. (2003). *Trichodina sulhetensis* sp. n. (Ciliophora: Trichodinidae) from de Mud Perch, *Nandus nandus* (Hamilton-Buchanan, 1822) in Sylhet. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 6(20):1774-1777.
- Basson L., Van As J.G. (1989). Differential diagnosis of the genera in the family Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichida) with the description of a new genus ectoparasitic on freshwater fish from southern Africa. *Systematic Parasitology*, 13: 153-160.
- Basson L., Van As J.G. (2006). Trichodinidae and other ciliophorans (Phylum Ciliophora). In: Woo PTK (ed) Fish diseases and disorders. CAB International, Wallingford. 154-182.
- Basson L., Van As J.G., Paperna I. (1983). Trichodinid ectoparasites of cichlid and cyprinid fishes in South Africa and Israel. *Systematic Parasitology*, 5(4):245-257.
- Bruno D.W., Nowak B., Elliott D.G. (2006). Guide to the identification of fish protozoan and metazoan parasites in stained tissue sections. *Diseases of Aquatic Organisms*, 12:1-36.
- Dias R.J.P., Fernandes N.M., Sartini B., Silva-Neto I.D., D'Agosto M. (2009). Occurrence of *Trichodina heterodentata* (Ciliophora: Trichodinidae) infesting tadpoles of *Rhinella pombali* (Anura: Bufonidae) in the Neotropical area. *Parasitology International*, 58:471-474.
- Dove A.D.M., O'Donoghue P.J. (2005). Trichodinids (Ciliophora: Trichodinidae) from Native and Exotic Australian Freshwater Fishes. *Acta Protozoologica*, 44:51-60.
- Duncan B.L. (1977). Urceolariid ciliates, including three new species from cultured Philippine fishes. *Transactions of the American Microscopical Society*, 96:76-81.
- GBIF Secretariat. (2022). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset <https://doi.org/10.15468/39omei>.
- Klein B.M. (1958). The dry Silver method and its proper use. *Journal of Protozoology*, 5:99-103.
- Lom J. (1958). A contribution to the systematics and morphology of endoparasitic trichodinids from amphibians, with a proposal of uniform specific characteristics. *Journal of Protozoology*, 5:215-263.
- Lom J. (1961). Ectoparasitic trichodinids from freshwater fish in Czechoslovakia. *Acta Soc. Zool. Bohemoslov.*, 25:215-227.
- Lom J. (1970). Observations on Trichodinid ciliates from freshwater fishes. *Arch. Protistenk.* 112: 153-177.
- Lom J., Dyková I. (1992). Protozoan parasites of fishes. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science, Elsevier, Amsterdam*. 26: 315 pp.
- Margolis L., Esch G.W., Holmes J.C., Kuris A.M., Shad G.A. (1982). The use of ecological terms in parasitology (report of an adhoc committee of the American Society of Parasitologists). *Journal of Parasitology*, 68:131-133.
- Martins M.L., Marchiori N., Bittencourt L.S., Tavares-Dias M. (2016). A new species of *Tripartiella* (Ciliophora: Trichodinidae) from *Aequidens tetramerus* (Perciformes: Cichlidae) in north Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 76: 435-438.

- Martorelli S.R., Marcotegui P., Alda P. (2008). *Trichodina marplatensis* sp. n (Ciliophora: Trichodinidae) from combjelly *Mnemiopsis mccradyi* Mayer 1900 in the Argentina sea. *Acta protozoologica*, 47:257-261.
- Mueller J.F. (1932). *Trichodina renicola* (Mueller, 1931): A Ciliate Parasite of the Urinary Tract of *Esox niger*. *Roosevelt Wildlife Annals*, 3(2):139-154.
- Noga E.J. (2010). Fish disease: diagnosis and treatment. Iowa State University Press, Iowa.
- OIE. (2009). Aquatic animal health code. 12th edition. Paris, Office International des Epizooties.
- Piazza R.S., Martins M.L., Guiraldelli L., Yamashita M.M. (2006). Parasitic diseases of freshwater ornamental fishes commercialized in Florianópolis, Santa Catarina, Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 32:51-57.
- Pinto H.A., Wieloch A.H., Melo A.L. (2006). Uma nova espécie de *Trichodina* Ehrenberg, 1838 (Ciliophora: Trichodinidae) em *Biomphalaria schrammi* (Crosse, 1864) (Mollusca: Planorbidae). *Lundiana* 7:121-124.
- Prats F.L., Martínez M.P., Domínguez P.A. (2011). Tricodínidos ectoparásitos (Ciliophora: Peritrichia) de *Clarias gariepinus* (Pisces: Clariidae) cultivadas en Cuba. *Revista AcuaCuba*, 13(2):39-48.
- Prats F.L., Martínez P.M. (2017). A new species of *Trichodina* Ehrenberg, 1830 (Ciliophora: Trichodinidae) infecting farmed *Clarias gariepinus* (Burchell) (Siluriformes: Clariidae) in Cuba. *Systematic Parasitology*, 94(9):1033-1038.
- Prieto T.A., Fajer A.E., Vinjoy C.M., Martínez Pérez M. (1993). Parásitos de peces cultivados en aguas interiores claves para su diagnóstico diferencial. PROYECTO AGUILA II, GCP/RLA/102/ITA. Documento de campo. No 15. 62 pp.
- Sabry R.C., Magalhães A.R.M. (2005). Parasitas em ostras de cultivo (*Crassostrea rhizophorae* e *Crassostrea gigas*) da Ponta do Sambaqui, Florianópolis, SC. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 57:194-203.
- Silva-Briano M., Suárez-Morales E., Adabache Ortiz A., Reyes-Flores M. (2011). Two species of *Mastigodiptomus* (Copepoda: Diaptomidae), hosts of the epibiotic ciliate *Trichodina diaptomi* (Peritricha) in North America. *Journal of Limnology*, 70:329-333.
- Subasinghe R.P., Bondad-Reantaso M.G. (2006). Biosecurity in Aquaculture: International Agreements and Instruments, their Compliance, Prospects and Challenges for Developing Countries. 9-16. In: David Scarfe, A., Cheng-Sheng, L., O'Bryen P. (eds). Aquaculture Biosecurity: Prevention, Control and Eradication of Aquatic Animal Disease. Blackwell Publishing. 182pp.
- Valladão G., Gallani S., De Padua S., Martins M., Pilarski F. (2014). *Trichodina heterodentata* (Ciliophora) infestation on *Prochilus lineatus* larvae: A host-parasite relationship study. *Parasitology*, 141(5):662-669.
- Van As J.G., Basson L. (1989). A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichia) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids. *Systematic Parasitology*, 14:157-179.
- Wellborn T.L. (1967). *Trichodina* (Ciliata: Urceolariidae) of freshwater fishes of the Southeastern United States. *Journal of Protozoology*, 14:399-412.

