



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
SISTEMÁTICA

**Análisis de morfometría geométrica en dos especies de tricotínidos (Ciliophora:
Trichodinidae) asociados a tilapias en un contexto global**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALMA GABRIELA ISLAS ORTEGA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. ROGELIO AGUILAR AGUILAR
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. JOSÉ MARTÍN GARCÍA VARELA
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM
DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
SISTEMÁTICA

**Análisis de morfometría geométrica en dos especies de tricotínidos (Ciliophora:
Trichodinidae) asociados a tilapias en un contexto global**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

ALMA GABRIELA ISLAS ORTEGA

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

DR. ROGELIO AGUILAR AGUILAR
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DR. JOSÉ MARTÍN GARCÍA VARELA
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM
DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN ACADÉMICA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
OFICIO FCIE/DAIP/649/2022
ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité de Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **01 de agosto de 2022** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la estudiante **ISLAS ORTEGA ALMA GABRIELA** con número de cuenta **306161078** con la tesis titulada: **“Análisis de morfometría geométrica en dos especies de tricodínidos (Ciliophora: Trichodinidae) asociados a tilapias en un contexto global”**, realizada bajo la dirección del **DR. ROGELIO AGUILAR AGUILAR:**

Presidente: **DR. GERARDO PEREZ PONCE DE LEON**
Vocal: **DR. MIROSLAV MACEK**
Vocal: **DRA. EBERTO NOVELO MALDONADO**
Vocal: **DRA. NANDINI SARMA**
Secretario: **DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA**

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 07 de diciembre de 2022

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Al CONACYT por la beca otorgada durante mis estudios de posgrado.

Al Apoyo a los estudios de posgrado (PAEP) por su apoyo para la realización de la estancia de investigación en el CEPAVE, en la Universidad de La Plata, Argentina y en la University of the Free State, Bloemfontein, Sudáfrica.

Al Dr. Rogelio Aguilar Aguilar (tutor principal) por todo el apoyo durante mi proceso de formación académica, por su interés y entusiasmo durante el proyecto y por siempre motivarme a seguir adelante.

A mi comité tutorial, el Dr. Martín García Varela y la Dra. Patricia Ornelas García por todo su apoyo y sus valiosos comentarios en el desarrollo de este proyecto.

Agradecimientos personales

A la Universidad Nacional Autónoma de México por ser mi alma máter, por que sin duda ahí he conocido a muchas de las personas más importante de mi vida. Gracias por todas las oportunidades brindadas que me han hecho ser la persona que soy.

A los miembros del jurado Dr. Gerardo Pérez Ponce de León, Dr. Miroslav Macek, Dr. Eberto Novelo, Dra. Patricia Ornelas y Dra. Nandini Sarma, por la revisión del documento y sus valiosos comentarios.

A la Dra. Paula Marcotegui por todo el apoyo en la realización de este proyecto, por compartirme su conocimiento en morfometría y en el estudio de los tricodínidos, por todos los viajes por tilapias, por ser una excelente anfitriona durante mi estancia en Argentina. ¡Y sobre todo gracias por tu gran amistad!

Al Dr. Sergio Martorelli y a los miembros del laboratorio de Parásitos de Peces, Crustáceos y Moluscos en el Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), en la Universidad de La Plata, Argentina; Martín, Jorge, Samy, Ceci, Marinela, Yasmin, por hacer de mi estancia en Argentina meses maravillosos, gracias por compartirme su conocimiento, su cultura, sus gustos y su valiosa amistad.

A la Dra. Linda Basson y a Gerhard del Laboratory of Aquatic Ecology and Parasitology, University of the Free State, Bloemfontein por su invaluable apoyo y tiempo invertido en este proyecto, por compartir conmigo el entusiasmo por los tricodínidos, sin duda nada hubiera sido lo mismo sin ustedes. Gracias por su hospitalidad durante mi estancia en Sudáfrica. *(To Dr. Linda Basson and Gerhard of the Laboratory of Aquatic Ecology and Parasitology, University of the Free State, Bloemfontein for their invaluable support and time invested in this project, for sharing with me the enthusiasm for trichodinids, no doubt nothing would have been the same without you. Thank you for your hospitality during my stay in South Africa.)*

Al Dr. Gerardo Rivas por su invaluable apoyo tanto para la parte académica como la personal.

A mis compañeros del Laboratorio de Zoología Acuática: Mauricio y Aurora por todas las pláticas, consejos y apoyo durante mi proyecto.

A mis alumnas: Ingrid y Erika, por todo el apoyo en las técnicas y el trabajo de campo, por todas sus enseñanzas porque en este camino hemos ido creciendo juntas.

A mis amigos: Ana, Bere, Gari y Ángel por siempre estar, por las palabras de aliento y motivarme a seguir adelante.

A Regina por su apoyo incondicional, por nunca dejarme, por siempre creer en mí y sobre todo por todos los años de amistad y complicidad.

Y a todos aquellos que han sido parte de mi formación, ¡muchas gracias!

Dedicatoria

A mis padres por todo el apoyo incondicional, por su amor y confianza, por ser mi ejemplo y pilar más grande en la vida.

A mis hermanos que siempre están cuidándome y viendo por mí, por todo el apoyo en los momentos buenos y malos.

A mis sobrinos, Tobías, Javier y Julia por llenar mi vida de felicidad.

A Roge, por todos estos años de amor y complicidad, por ser un excelente compañero de vida, por siempre estar a mi lado en los momentos buenos, pero sobre todo en los difíciles, por no dejarme caer nunca y siempre motivarme a seguir adelante y seguir creciendo, ¡te amo!

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
PREFACIO	5
INTRODUCCIÓN	12
Mandalas naturales: Tricodínidos asociados a peces y su diversidad en México	21
HIPÓTESIS	37
OBJETIVOS	37
Objetivo general	37
Objetivos particulares	37
CAPITULO I. Diversidad de tricodínidos asociados a tilapias en el mundo	39
A checklist of trichodinid species (Ciliophora: Trichodinidae) on tilapia (Cichlidae), with new records from Mexico and the first data from Argentina	41
CAPITULO II. Morfometría geométrica de <i>Trichodina centrostrigata</i> en localidades de Argentina, México y Sudáfrica	75
Comparative exploration of the morphological plasticity of <i>Trichodina centrostrigata</i> (Peritrichia: Mobilida), ectoparasite from the gills of two tilapia species (<i>Oreochromis niloticus</i> and <i>O. mossambicus</i>) in a global context.....	77
CAPITULO III. Morfometría geométrica de <i>Paratrichodina africana</i> en localidades de Argentina y México	88

Morphological characterization of two Latin American populations of the tilapia's ectoparasitic ciliate <i>Paratrichodina africana</i> (Peritrichia: Mobilida), through the elliptical Fourier analysis	90
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	109
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	118

Resumen

La familia Trichodinidae incluye una gran cantidad de especies parásitas de ciliados. La clasificación taxonómica de esta familia se basa en la morfología de los dentículos que conforman el disco adhesivo y en la longitud de los cilios adorales espirales. Como es usual en aquellos taxones cuya taxonomía aún se basa en caracteres morfológicos, todavía es difícil discriminar entre especies morfológicamente similares, y la delimitación entre especies es confusa debido a la gran variación entre las entidades a comparar. La taxonomía contemporánea explora distintas herramientas que complementen el trabajo clasificatorio tradicional, entre ellas destaca la evidencia molecular, que ayuda a establecer diferencias genéticas para posteriormente corroborarlas morfológicamente, o los análisis de morfometría geométrica que detectan diferencias estadísticamente cuantificables.

Alrededor de 40 especies de la familia Trichodinidae han sido registradas en el mundo asociadas a cíclidos, entre ellas se encuentran *Paratrichodina africana* y *Trichodina centrostrigata*, quienes se consideran fuertemente asociadas a cíclidos, especialmente a tilapia, lo que ha provocado que estas especies tengan una amplia distribución debido a la introducción de su hospedero. En este trabajo, tres poblaciones de la especie *T. centrostrigata*, y dos de *P. africana* asociadas a tilapias de regiones geográficamente distantes, se caracterizaron morfológica y morfométricamente para detectar variaciones en las estructuras en las que se basa la discriminación específica, y verificar la utilidad del análisis para describir cuantitativamente discontinuidades morfológicas.

La aplicación del Análisis Elíptico de Fourier, en combinación con la taxonomía tradicional, evidenció que los dentículos de la especie *P. africana* poseen uniformidad

morfológica, en tanto que *T. centrostrigeata* puede agruparse en dos morfotipos separados, el primero (*tipo a*) de granjas de acuicultura en Argentina y México y el segundo (*tipo b*) de un hábitat natural en Sudáfrica. Se sugiere que las diferencias detectadas en esta última especie sean un reflejo de la separación geográfica que ha tenido a partir de la introducción antropogénica de su hospedero a distintas regiones del mundo.

Con base a los resultados obtenidos se afirma que los análisis de morfometría geométrica son un complemento útil en la discriminación entre taxones en los que no es posible aplicar técnicas de biología molecular. Por tanto, se sugiere que el futuro inmediato de la taxonomía de la familia Trichodinidae, así como la de los ciliados en general, debe basarse en un análisis morfológico minucioso, e incluir herramientas de morfometría geométrica, especialmente en especies donde la diferenciación taxonómica es problemática o en aquellas que presentan una amplia distribución o un amplio espectro de hospedadores. Así también, se discute la posibilidad de re-examinar las especies de la familia Trichodinidae bajo el enfoque de la morfometría geométrica, para establecer cuantitativamente la variación intraespecífica y, en su caso, proponer los arreglos taxonómicos necesarios.

Abstract

The family Trichodinidae includes numerous species of parasitic ciliates. The taxonomic classification in this family is based on the morphology of the denticles forming the adhesive disc and the length of the adoral spiral. Given that the taxonomy is based on morphological characters, the discrimination between morphologically similar taxa is a challenging issue; usually, the delimitation between species is confusing due to the great variation between the organisms to be compared. Contemporary taxonomy explores different tools to supplement the traditional work, such as the molecular evidence, which helps to establish genetic differences susceptible to be corroborated morphologically, or the geometric morphometric analyses, which are capable to detect statistically quantifiable differences.

Around 40 species from the family Trichodinidae have globally been reported from cichlid hosts, among these, the species *Paratrichodina africana* and *Trichodina centrostrigeata* have a wide distribution due to the introduction of their host. In this work, three populations of the species *T. centrostrigeata*, and two populations of *P. africana* associated with tilapia from geographically distant regions, were characterized both morphologically and morphometrically to detect variations in the taxonomically relevant structures, and to verify the usefulness of the analysis to quantitatively describe morphological discontinuities.

As result of the Elliptical Fourier analysis, combined with traditional taxonomy, it was found that denticles of the species *P. africana* possess morphological uniformity, while *T. centrostrigeata* can be grouped into two separate morphotypes, the first (*type a*) from aquaculture farms in Argentina and Mexico and the second (*type b*) from a natural habitat in South Africa. It is suggested that these detected differences could be explained by the

geographical separation from the anthropogenic introduction of its host to different regions of the world.

Based on the results, the geometric morphometric analyses are a useful complement in the discrimination between taxa when is not possible to apply molecular biology techniques. Therefore, it is suggested that the immediate future of the taxonomy of the family Trichodinidae must be based on meticulous morphological analysis and include tools of geometric morphometry, especially in species where taxonomic differentiation is problematic, but also in species with wide distribution or a wide host range. We also have suggested the re-examination of the species of the family Trichodinidae under the geometric morphometric approach, to quantitatively establish intraspecific variation and, if necessary, to propose new taxonomic arrangements.

PREFACIO

La taxonomía, pretende simplificar y ordenar la inmensa diversidad de la vida en unidades coherentes denominadas taxones, que tienen nombres ampliamente aceptados y cuyos miembros comparten propiedades importantes. Tiene sus orígenes en la Grecia antigua, y en su forma moderna se remonta a casi 250 años, cuando Linneo introdujo el sistema de clasificación biológica, usado hasta la actualidad (Charles y Godfray, 2002). La taxonomía contemporánea sintetiza la información relativa a una gran variedad de caracteres (p. ej. morfológicos, moleculares, genes, metagenoma, biogeográficos, etc.) (Padial et al., 2010; Ruggiero et al., 2015; Britz et al., 2020).

Recientemente, varios autores han señalado que la taxonomía como disciplina se enfrenta a una crisis y que hay que determinar cuál será el futuro de su práctica (Dayrat, 2005; Padial et al., 2010; Britz et al., 2020; Poulin y Presswell, 2022). El trabajo taxonómico se considera como algo obsoleto, actualmente rebasado por otro tipo de disciplinas que la toman como base, pero que pretenden alejarse de ella dada la antigüedad de sus preceptos. Sin embargo, la realidad es que el trabajo taxonómico no está cerca de haberse completado, actualmente se estima que hay hasta 15 millones de especies eucariotas existentes en la Tierra, de las cuales solo se han descrito hasta ahora aproximadamente dos millones (Wilson, 2004; Mora et al., 2011; Zamani et al., 2020; Zamani et al., 2022). Ante este escenario es evidente que los trabajos taxonómicos son insuficientes en número, amplitud y rapidez de publicación, por lo que son incapaces de satisfacer las demandas de los conservacionistas, ante el inicio de un nuevo evento de extinción masiva (Wheeler, 2004; Wilson, 2004; Evenhuis, 2007; Raposo et al., 2021), ante el

cual los taxónomos serán incapaces de nombrar toda la biota existente en el planeta antes de que muchas especies desaparezcan (Raposo et al., 2021). Lo anterior pone de manifiesto que la actividad taxonómica está lejos de desaparecer, sino más bien se encuentra en un proceso de transformación, ya que si bien algunos taxónomos continúan usando los sistemas de clasificación basados en la morfología (lo que se conoce como taxonomía tradicional o descriptiva) (Charles y Godfray, 2002; Hebert et al., 2003; Wheeler, 2004; Dayrat, 2005; Zamani et al., 2022), la gran mayoría de taxónomos contemporáneos recurre a la información derivada de los métodos filogenéticos para la clasificación de especies, considerándose filogenetistas, lo que tiene sentido ya que buscan reconstruir las relaciones naturales entre los seres vivos, lo que se ha considerado taxonomía filogenética (Dayrat, 2005).

En consecuencia, la forma de hacer y comunicar la taxonomía ha cambiado en las últimas décadas, enfrentando retos importantes; uno de ellos es alcanzar un consenso científico sobre la categoría básica en torno a la cual se constituye la taxonomía – la especie – y mejorar así la delimitación de especies (Padial et al., 2010; Coleman y Radulovici, 2020).

Mientras que nombrar a las especies obedece a un convenio establecido, la delimitación de las especies y sus relaciones sistemáticas son hipótesis más que hechos. Por ello, estas prácticas deben formularse de forma que se aclaren las diferencias de las especies con respecto a otras descritas anteriormente mediante un diagnóstico claro (p. ej., a través de caracteres únicos o combinaciones de caracteres), así como un conjunto de caracteres compartidos que representen las líneas ancestro-descendientes (Pante et al., 2015; Zamani et al., 2022). Tal búsqueda de procedimientos para mejorar la delimitación de especies mediante la integración de la teoría y de los métodos de las disciplinas que estudian el origen y la evolución de las especies

resulta fundamental para tratar de hacer frente a la crisis de la pérdida de biodiversidad y a la necesidad de reconstruir conocimientos y la infraestructura para la taxonomía (Padial et al., 2010).

Para los que consideran que existe, una buena parte de la problemática de la taxonomía es que la morfología es la más básica fuente de información para la inferencia taxonómica, y que, sin embargo, presenta una serie de limitaciones (Seberg et al., 2003; Dayrat, 2005; Zamani et al., 2022). Métodos comparativos que prescinden del uso tradicional de los caracteres morfológicos han evidenciado graves inconsistencias en la delimitación de taxones, que actualmente cimbran los sistemas de clasificación, como es el caso de la existencia de especies crípticas, cuya existencia refleja la baja resolución de los caracteres tradicionales, no necesariamente ligada a una ausencia real de diferencias morfológicas (Zamani et al., 2022), las cuales deben de ser evidenciadas a través de propuestas novedosas. Por ejemplo, en las últimas décadas, se han visto avances considerables en los métodos computacionales que permiten extraer características relevantes a partir de fotografías (Kaya et al., 2019; Valan et al., 2019; Zamani et al., 2022), demostrando que estos métodos tienen un gran potencial para descubrir caracteres que discriminan entre especies, incluso en taxones crípticos para los que los caracteres tradicionales tienen baja resolución (Zamani et al., 2022).

Por otra parte, el desarrollo de las técnicas de secuenciación de ADN, como es el código de barras, el cual intenta vincular un espécimen tipo con una parte de su ADN, generalmente del gen mitocondrial de la subunidad I del citocromo C oxidasa (COI) (Ebach, 2011), ha acelerado considerablemente el hallazgo de discontinuidades taxonómicas y la documentación de la distribución de las especies (Pante et al., 2015; Britz et al., 2020; Zamani et al., 2020; Raposo et

al., 2021), exhibiendo una diversidad subestimada por los métodos tradicionales, y que a pesar de delimitar especies con un considerable grado de precisión, no conducen necesariamente a descripciones formales de las especies (Pinheiro et al., 2019; Raposo et al., 2021).

Proporcionar una diagnosis en el proceso de nombrar una nueva especie, a menudo suele ser la parte más complicada de la descripción de las especies. Algunas especies estrechamente emparentadas no presentan diferencias morfológicas o las presentan en escasa medida. Por ello es esencial que la diagnosis se haga a partir de una combinación de caracteres (morfológicos, ecológicos, de comportamiento y genéticos) para separar las especies y validar su identidad (Dupérré, 2020). En algunos casos, puede ser conveniente limitarse exclusivamente a los marcadores moleculares (por ejemplo, cuando existe una gran plasticidad morfológica o cuando los linajes genéticos distintos se manifiestan como crípticos), pero es muy probable que estos casos sean más una excepción que una regla (Zamani et al., 2020). Por otro lado, en los casos en los que se demuestre que los caracteres morfológicos proporcionan una identificación más rápida y fiable, no hay razón para descartarla. Estos dos sistemas de identificación no deben considerarse como competidores entre sí o excluyentes, si no como aproximaciones al mismo objetivo que simplemente difieren en los caracteres que consideran (Dayrat, 2005).

La identificación de especies debe ser fácil y eficiente, la delimitación de especies es fundamental para descubrir la diversidad de la vida, ya que determina si podemos reconocer o no que diferentes especímenes son miembros de un mismo linaje (Dayrat, 2005). Se requieren enfoques integradores, tomando en cuenta la congruencia de señales genéticas, con otros conjuntos de datos, para seguir describiendo especies (Gómez-Diaglo y Dawson, 2019). Los continuos avances en el uso de las herramientas analíticas especializadas de muchos campos

diferentes y sus conclusiones e hipótesis resultantes requieren actualizaciones periódicas a medida que avanzan los conocimientos (Ruggiero et al., 2015).

A pesar de la importancia de comprender la biodiversidad y de cómo preservarla frente a los rápidos cambios medioambientales globales, hay grupos de organismos como los protistas que han sido menos estudiados que el resto de los eucariontes (animales, plantas y hongos) (Keeling, 2019; Burki et al., 2021). Actualmente, no existe una definición única aceptada de lo que son los protistas, y como un grupo polifilético, los protistas representan un grupo funcional más que una entidad biológica (O'Malley et al., 2013; Burki et al., 2021). Los protistas incluyen una amplia gama de organismos eucariontes, en su mayoría microscópicos, que pueden ser unicelulares o coloniales. Pueden ser puramente fotosintéticos, en cuyo caso se denominan algas, mientras que otros protistas son similares a los hongos en su modo de nutrición y/o en sus estrategias reproductivas y de dispersión. Otras formas no fotosintéticas de protistas, especialmente móviles, suelen denominarse protozoos (O'Malley et al., 2013; Burki et al., 2021). Los objetivos principales de la taxonomía de los protistas han sido: construir y mantener un sistema de clasificación y denominación capaz de identificar y agrupar todos los tipos de protistas existentes y resumir todo lo que se sabe sobre ellos, ya sea morfológico, fisiológico o ecológico (Finlay, 2004).

El sistema de clasificación que prevaleció durante mucho tiempo fue el de Whittaker (1969) el cual agrupaba a los organismos en cinco reinos: Monera, Protista, Plantae, Fungi y Animalia. Los eucariontes unicelulares se incluyeron en el reino Protista, y se organizaron según su morfología y preferencias nutricionales (Caron et al., 2017). Recientemente, los estudios sobre la sistemática y la evolución de los eucariontes unicelulares (algas, protozoos y hongos inferiores)

han tenido mayor actividad. A lo largo de este periodo algunas barreras taxonómicas se han derribado, incluidas las existentes entre algas y protozoos, y se han establecido nuevas relaciones (Cavalier-Smith, 2010; Adl et al., 2012, 2019; Ruggiero et al., 2015; Caron et al., 2017; Warren y Esteban, 2019). Recientemente, Adl y colaboradores (2005, 2012, 2019) realizaron una revisión a la clasificación, nomenclatura y diversidad de los eucariontes, con énfasis en los protistas, en donde se incorporan datos ultraestructurales y filogenias moleculares para sustentar un esquema de clasificación que reconoce a los taxones que se consideran evolutivamente relacionados, tomando en cuenta los super grupos propuestos por Simpson y Roger (2002). En este esquema los protistas se distribuyen en todos los supergrupos: Amoebozoa, Opisthokonta, Archaeplastida, SAR (Stramenopiles + Alveolata + Rhizaria) y Excavata.

Los recientes avances en los estudios filogenéticos han introducido nuevas perspectivas en el conocimiento de estos organismos. Términos como alga (protistas fotosintéticos) y protozoos (la mayoría de los protistas heterótrofos, aparte de los que se parecen mucho a los hongos, especies heterótrofas predominantes no filamentosas) perdieron su delimitación y no tienen valor taxonómico (Küpers et al., 2020). Así, los protozoos *sensu lato*, son un conjunto diverso de organismos que comprende una serie de linajes separados, que representan casi todos los clados principales de eucariontes, incluyendo a Alveolata, Stramenopiles, Amebozoa, Opisthokonta, Rhizaria y Excavata (Warren y Esteban, 2019).

Hay una serie de factores que suponen importantes limitaciones a la taxonomía de los protozoos. Estos incluyen: (1) la falta de métodos adecuados para la fijación y la conservación a largo plazo de los especímenes durante la gran parte de los cerca de 350 años de historia de la disciplina de la protozoología; (2) la ausencia de especímenes tipo de la mayoría de los

especímenes; (3) la falta de caracteres morfológicos suficientes para la delimitación de especies; (4) descripciones inadecuadas de las especies para una identificación fiable; (5) altas tasas de sinonimia; (6) número insuficiente de taxónomos capacitados; (7) submuestreo y una gran diversidad de especies desconocidas; y (8) dificultades técnicas para el cultivo de muchas especies, que a veces es un requisito previo para una caracterización adecuada (Warren y Esteban, 2019).

Idealmente, los estudios moleculares podrían combinarse con estudios igualmente eficientes, como la observación directa de la estructura y el comportamiento de los protozoos (morfología, morfometría, ecología) (Keeling, 2019) para conseguir una mejor delimitación de especies. Sin embargo, no siempre es posible esto, ya que, al abarcar una gran parte del árbol de la vida, la diversidad de especies presenta una infinidad de morfologías, comportamientos, modos nutricionales y papeles ecológicos diferentes entre sí (Caron et al., 2017), lo que hace que cada grupo de protozoos requiera atención específica. Así, tomando en cuenta la relevancia de la labor taxonómica para describir la diversidad biológica, y considerando las diferentes fuentes de información que complementan el trabajo taxonómico contemporáneo, en este trabajo se utiliza como modelo biológico a dos especies de protozoos ciliados de la familia Trichodinidae, para exponer las dificultades inherentes al trabajo taxonómico en este tipo de protozoos, y proponer métodos alternativos que contribuyan a la delimitación adecuada y objetiva entre las distintas entidades.

INTRODUCCIÓN

Los ciliados (Phylum Ciliophora) forman un grupo monofilético dentro de Alveolata, que se distingue de otros protozoos por una serie de características especializadas, incluida la posesión de cilios en algún momento de su ciclo de vida, variables en número y en arreglo, distribuidos sobre la superficie corporal y derivados del cinetosoma, la presencia de dos tipos de núcleos; macronúcleo y micronúcleo, el primero controla las funciones fisiológicas y bioquímicas de la célula y el segundo actúa como una reserva de la línea germinal, por lo cual son heterocarióticos. Y una forma de recambio genético llamada conjugación, en el cual los organismos típicamente se fusionan temporalmente para intercambiar núcleos gaméticos (Lynn, 2008; Warren y Esteban, 2019).

Se reconocen aproximadamente 8000 especies de ciliados de vida libre y epibiontes (Lynn, 2008; Warren et al., 2017). De estas, aproximadamente 4800 son de vida libre, pero el total aun es discutido (Finlay et al., 1996, 2004; Foissner et al., 2008; Agatha, 2011). Otros ciliados son simbioses, comensales o parásitos, quienes se encuentran principalmente en las superficies externas de sus huéspedes, y en algunas ocasiones internamente. Al igual que ocurre con los ciliados de vida libre, el número de especies simbióticas conocidas es probablemente sólo una pequeña fracción de su verdadera diversidad (Warren et al., 2017).

Las especies de ciliados se han descrito durante casi dos siglos, mientras que la base teórica que subyace su comprensión y delimitación se ha ido modificando. Las clases y los órdenes se han fundido, re combinado y renombrado en múltiples ocasiones, siguiendo

diferentes criterios (Lynn, 2008; Boscaro et al., 2014). Su identificación suele basarse en caracteres morfológicos, ya que presentan una amplia variabilidad morfológica relacionada con sus adaptaciones ecológicas (Andreoli et al., 2009).

De acuerdo con Lynn (2008), la historia de la sistemática de los ciliados se ha dividido en cinco periodos: (1) la era del descubrimiento; (2) la era de la explosión; (3) la era de la infraciliatura; (4) la era de la ultraestructura y (5) la era del refinamiento. El progreso en cada uno de estos periodos surgió a través de una interacción de la tecnología y los puntos de vista conceptuales. Así, la era del descubrimiento (1880 – 1930) se caracterizó por la simpleza del esquema de clasificación, creado principalmente por Otto Bütschli. El cual separaba a los ciliados en varios grupos basándose principalmente en diferencias fácilmente visibles en la localización y composición de la ciliatura externa; en este periodo, sólo eran conocidas 500 especies de ciliados. Durante la era de la explotación (1930 – 1950) se incrementaron enormemente tanto del número de especies (aproximadamente 3000), como el interés por estos organismos por parte de biólogos (Corliss, 1974); sin embargo, el sistema de clasificación se mantuvo similar que el de la era anterior. En ambas eras se utilizaron principalmente observaciones de los organismos a través de microscopios ópticos, sin el uso de tinciones sofisticadas. El enfoque conceptual se centró en el carácter de la ciliatura somática y oral y en la consideración de que la evolución procedía de formas más simples a formas más complejas (Lynn, 2008).

Para la era de la infraciliatura (1950 – 1970), Chatton y Lwoff, Klein y Fauré-Fremiet destacan como los pioneros. Pese a que esta era comienza en 1950, sus raíces van desde principios del siglo XX con las descripciones de diferentes enfoques técnicos que utilizaron la

plata para impregnar la corteza y otras estructuras de los ciliados, estos son el método seco de plata de Klein (1929) y el método húmedo de plata de Chatton y Lwoff (1930) (Lynn, 2008). La combinación de una técnica citológica más apropiada y eficaz, así como de hipótesis filogenéticas y evolutivas, basadas en una apreciación completa de la infraciliatura de los ciliados, hasta ese momento desconocida propuestas por Fauré-Fremiet (1950), hizo posible una revisión del sistema de clasificación. Como resultado, el número de especies alcanzó unas 6000, y muchos nichos ecológicos nuevos empezaron a ser explorados (Corlis, 1974). Posteriormente, la era de la ultraestructura (1970 – 1990) se vio beneficiada por la microscopia electrónica. Los estudios de la estructura fina de las partes de la infraciliatura y de otros orgánulos proporcionaron información que incidía directamente en los grados de diferencia y similitud entre las especies de ciliados (Corliss, 1974). Durante esta era, la clasificación de los ciliados fue refinada por Small y Lynn (1985), y Lynn y Small (1990), esta última revisión comenzó a considerar los primeros datos moleculares. Las cinetias somáticas fueron utilizadas para identificar clados monofiléticos, llamados clases y este enfoque colocó juntos a géneros que anteriormente habían sido asignados a taxones superiores (Lynn, 2008). Finalmente, la era del refinamiento (1990 – actualmente) se basa de manera importante en el trabajo molecular. Durante las últimas décadas, el desarrollo de herramientas basadas en el ADN, principalmente en la secuenciación del gen 18s rRNA, ha reformulado la comprensión de la diversidad, taxonomía, historia evolutiva y la ecología de los ciliados en múltiples ambientes (Shazib et al., 2016; Posch et al., 2021). El gen 18s rRNA ha ayudado a resolver una serie de cuestiones importantes sobre las relaciones entre los ciliados a varios niveles taxonómicos. Estos estudios revelan que las clasificaciones tradicionales pueden ser subjetivas y que las morfoespecies pueden contener especies crípticas (Shazib et al., 2016).

Los análisis moleculares pueden superar la sensibilidad de las descripciones morfológicas para delimitar algunas especies en conflicto, como las especies crípticas y/o detectar especies raras de linajes conocidos y desconocidos (Santoferrara et al., 2016; Posch et al., 2021). Se han propuesto hipótesis cladísticas basadas en morfología para las relaciones entre varios clados/clases de ciliados, muchas de ellas se han apoyado de datos moleculares, principalmente del gen 18s rRNA (Vd'áčný et al., 2010; Lynn y Kolisko, 2017). El enfoque filogenómico proporciona una prueba adicional y más sólida para estas hipótesis cladísticas, que se cree que pueda dilucidar que caracteres morfológicos son convergentes y cuales son realmente homólogos (Lynn y Kolisko, 2017).

Los enfoques del código de barras, combinados con datos morfológicos y moleculares han atenuado los límites de la resolución taxonómica y han revelado tanto la plasticidad fenotípica como la (pseudo) críptica de ciliados como los oligotricos (McManus et al., 2010; Santoferrara et al., 2015, 2017; Kim et al., 2020). Los marcadores moleculares utilizados (18s, ITS y 28s rRNA) generalmente permiten distinguir a los ciliados hasta nivel de especie (Warren et al., 2017; Ganser et al., 2021; Zhang et al., 2022). Los ciliados presentan una serie de características que hacen probable la identificación a través de un código de barras genético. Son monofiléticos, están relativamente bien estudiados y tienen una morfología compleja y rica en caracteres que permite identificar la mayoría de las formas con fiabilidad hasta la morfoespecie (Corlis, 2002). A pesar de estas ventajas, son relativamente pocos los estudios que se centran en el código de barras de ADN de los ciliados (Barth et al., 2006; Chantangsi et al., 2007; Guggiari y Peck, 2008; Strüder-Kypke y Lynn, 2010; Gentekaki y Lynn, 2012; Santoferrara et al., 2013; Zhao et al., 2013; Stoeck et al., 2014). Actualmente existen secuencias de la subunidad pequeña del ADNr

vinculadas a aproximadamente 850 especies de ciliados con nombre, esto representa el 1% de las especies de ciliados conocidos (Lynn, 2008; Warren et al., 2017).

Lo ideal, es identificar y documentar una solo célula, analizar los marcadores moleculares y depositar las secuencias junto con sus metadatos (información sobre su ecofisiología, biogeografía y comportamiento) en una base de datos de referencia. De este modo, las secuencias de los genes se vinculen inequívocamente con las morfoespecies correspondientes (Santoferrara et al., 2016; Warren et al., 2017; Ganser et al., 2021).

A pesar de los avances moleculares, sigue reinando una enorme confusión en la taxonomía de los ciliados a nivel de género y especie (Boscaro et al., 2014). Son pocos los trabajos que se interesan en la redescrición de especies antiguas (Modeo et al., 2013; Nitla et al., 2019; Bai et al., 2020), y aun menos los que se interesan en la sistemática integrada de los géneros, salvo un puñado de especies pertenecientes a géneros emblemáticos e intensamente estudiados como *Paramecium*, *Tetrahymena* o *Euplotes* (Strüder-Kypke et al., 2000; Petroni et al., 2002; Chantangsi y Lynn, 2008; Kher et al., 2011; Boscaro et al., 2012; Yan et al., 2018; Przboś et al., 2019). Adicionalmente, muchas descripciones antiguas son tan vagas que es prácticamente imposible comparar los nuevos datos con los originales (Boscaro et al., 2014).

Para el correcto estudio taxonómico morfológico de los ciliados, se sugiere que éstos deben fijarse y teñirse o impregnarse con un método que muestre las características taxonómicas más importantes del principal taxón de ciliados al que pertenece la especie. En la actualidad, los dos métodos que cumplen con estos criterios con mayor fiabilidad son el protargol y el nitrato de plata (Foissner, 2014; Warren et al., 2017). Se deben medir, contar, describir e ilustrar cada

detalle observable de la morfología y la ontogenia. Los datos obtenidos mediante estudios morfométricos deben proceder de un número suficiente de especímenes, adecuadamente orientados para proporcionar información sobre el alcance de los caracteres y permitir la separación de especies de otros taxones estrechamente relacionados (Warren et al., 2017). Sumado a estos métodos, la microscopía electrónica de barrido permite una visión tridimensional de los ciliados que permite documentar detalles que son difíciles de revelar con métodos de tinción o impregnación (Abraham et al., 2019).

El grado de variación morfológica dentro y entre las poblaciones de varias especies de ciliados ha provocado que además del uso de la biología molecular, se apliquen técnicas avanzadas de análisis morfométrico en la taxonomía de ciliados, como lo es la morfometría geométrica. Estas técnicas proporcionan herramientas útiles y poderosas para identificar las diferencias entre las poblaciones de ciliados, detectar diferencias entre grupos y diferencias entre las mismas especies (Abraham et al., 2019).

Aunque actualmente haya dos enfoques principales utilizados para la identificación de los ciliados: el método tradicional de morfología celular *in vivo*, fijación, tinción/impregnación, y morfometría y, más recientemente métodos basados en ADN (Abraham et al., 2019), la cantidad de especies sin respaldo genético, morfométrico y/o ecológico registradas a nivel mundial aún son muchas (Finlay et al., 1996; Foissner et al., 2008; Lynn, 2008), lo que ha llevado a que en los estudios sobre la diversidad y distribución geográfica de los ciliados se debatan dos hipótesis respecto a la distribución de estos microorganismos. Una de ellas es la hipótesis de que son cosmopolitas, que postula un alto flujo génico, baja diversidad, y la otra, la hipótesis del

endemismo, que sugiere una alta diversidad y flujo génico restringido geográficamente (Katz et al., 2005; Barth et al., 2006; Finlay et al., 2006; Šlapeta et al., 2006; Bass et al., 2007; Darling et al., 2007; Stoeck et al., 2007; Foissner et al., 2008; Gentekaki y Lynn, 2009; 2010, 2012; Penna et al., 2010; Di Giuseppe et al., 2013; Przyboś et al., 2019). Las evidencias sugieren que la diversidad morfológica y la genética podrían estar desacopladas en algunos grupos de ciliados y que estos grupos podrían ser más diversos de lo que implica su morfología. Muchos de estos estudios han demostrado genéticamente la existencia de diversos linajes de especies con morfología aparentemente homogénea. Y que a pesar de que la mayoría podrían estar ampliamente distribuidos, hay casos en donde están restringidos geográficamente (Gentekaki y Lynn, 2010, 2012; Fenchel et al., 2019).

La integración de nuevos datos morfológicos y moleculares de varias morfoespecies estrechamente relacionadas, junto con estudios exhaustivos de la literatura, es la mejor manera de detectar discrepancias y evaluar mejor la diversidad de ciliados (Boscaro et al., 2014). Por esto, Warren y colaboradores (2017), han sugerido una serie de recomendaciones que favorecen la combinación de métodos moleculares, morfológicos, morfométricos y ecológicos en el estudio de los ciliados.

Dentro de los ciliados se encuentra la familia Trichodinidae Claus, 1951, la cual contiene una gran cantidad de especies parásitas que se incluyen en los géneros *Trichodina* Ehrenberg, 1838, *Vauchomia* Müller, 1938, *Trichodinella* (Raabe, 1950) Šrámek-Hušek, 1953, *Semitrichodina* Kazubski, 1958, *Tripartiella* Lom, 1959, *Dipartiella* Stein, 1961, *Paratrachodina* Lom, 1963, *Trichodoxa* Sirgel, 1983, *Hemitrichodina* Basson y van As, 1989, *Pallitrichodina* van As y Basson,

1993 y *Heterobladetrichodina* Hu, 2011 (Hu, 2011). Los tricotínidos (Trichodinidae) son uno de los grupos más diversos y más ampliamente distribuidos de ectoparásitos (algunas veces endoparásitos). Comúnmente se encuentran asociados a la piel o branquias de peces, dentro de la vejiga urinaria de anfibios o al tegumento y el conducto genital de diversos invertebrados (Lom y Dyková, 1992), en ambientes de agua dulce, marinos y eurihalinos.

La familia Trichodinidae se diferencia por la morfología de sus dentículos en el disco adhesivo y la longitud de los cilios adorales espirales. El dentículo se compone de tres partes: cuchilla, parte central y rayo. Tanto las cuchillas como los rayos muestran diferentes formas y tamaños, algunas veces en el mismo anillo denticular del tricotínido (Basson y van As, 2006). La identificación taxonómica morfológica en los tricotínidos es una tarea difícil, ya que los caracteres utilizados para las descripciones específicas requieren el uso de técnicas de microscopía de alta resolución, y un conocimiento relativamente especializado de las estructuras diagnósticas en este grupo que se considera morfológicamente conservado debido a la uniformidad en los caracteres fenotípicos. La morfometría tradicional ha sido una herramienta fundamental para distinguir entre las especies de tricotínidos, sin embargo, en muchos casos, esto se ve obstaculizado por el alto grado de variación que presentan los mismos caracteres dentro de una población (Marcotegui et al., 2018; Islas-Ortega et al., 2020).

En este sentido, el presente trabajo busca aplicar análisis de morfometría geométrica a poblaciones de tricotínidos asociadas a tilapias de regiones geográficamente distantes para caracterizarlas morfológica y morfométricamente y verificar la utilidad de este análisis para describir cuantitativamente discontinuidades morfológicas.

Las características generales de los tricodínidos, así como la relevancia de su estudio y el estado del conocimiento del grupo en México se presenta a manera de artículo de divulgación publicado en la revista de divulgación científica Recursos Naturales y Sociedad, con el título: **“Mandalas naturales: Tricodínidos asociados a peces y su diversidad en México”**.



Mandalas naturales

Tricodínidos asociados a peces y su diversidad en México

Natural mandalas: Trichodinids associated with fish and their diversity in Mexico

Resumen

Los protozoos ciliados de la familia Trichodinidae son ectosimbiontes asociados a peces y otros animales acuáticos (anfibios, cnidarios, moluscos, crustáceos y otros artrópodos acuáticos) en todos los ambientes marinos y dulceacuícolas del mundo, con excepción de la Antártida. Forman un grupo

diverso que, sin embargo, es relativamente desconocido a pesar de que pueden generar efectos negativos en especies acuáticas de cultivo y de cuerpos de agua naturales. Por ser escasamente estudiados, actualmente se desconocen diversos aspectos de su historia natural como su verdadera diversidad o los factores que modelan su distribución geográfica. En México su registro ha sido escaso, sin embargo, en una reciente línea de investigación nos hemos propuesto abordar el estudio del grupo para incrementar el conocimiento de las especies que habitan en los ambientes acuáticos del país, abordando aspectos de biología molecular y de morfometría geométrica en relación con la delimitación específica.

Recursos Naturales y Sociedad, 2021. Vol. 7 (2): 85-100. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2021.07.07.02.0005>

Alma Gabriela Islas-Ortega¹ y Rogelio Aguilar-Aguilar²

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, UNAM, Circuito Exterior s/n, Delegación Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad Universitaria, México, alisor.721@gmail.com

²Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, UNAM, Circuito Exterior s/n, Delegación Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad Universitaria, México, raguilar@ciencias.unam.mx

Palabras clave: Ciliophora, Trichodinidae, biodiversidad.

Abstract

Members of the family Trichodinidae are ectosymbiotic protozoan ciliates associated with fishes and other aquatic animals (amphibians, cnidarians, mollusks, crustaceans, and other aquatic arthropods) in all marine and freshwater environments of the world, except for Antarctica. Trichodinids constitute a diverse but few known group, however, they may produce a series of negative effects in cultured aquatic species used in aquaculture and species of natural waters. Because of the lack of studies, some aspects of their natural history such as the actual number of species or those factors modeling the geographic distribution remain uncertain. There are very few reports for trichodinid species in Mexico, however, we recently have started a research field aimed to increase the knowledge about trichodinid species inhabiting Mexican aquatic environments, including DNA based studies and morphometric delimitation among species.

Key words: Ciliophora, Trichodinidae, biodiversity.

Introducción

Entre la diversidad de organismos que habitan los sistemas acuáticos existe un conjunto que es invisible al ojo humano y que, sin embargo, está constituido por múltiples especies que adoptan una gran diversidad de formas y estilos de vida. Entre ellos se encuentran los protozoos tricodínidos que son organismos unicelulares que destacan por su belleza singular que permanece oculta por su tamaño microscópico y por vivir asociados como ectosimbiontes a organismos acuáticos. Los tricodínidos son una familia de protozoos ciliados. Son organismos que en una sola célula realizan

todas las funciones y procesos necesarios para su existencia y cuya superficie celular está rodeada de cilios que son proyecciones con movilidad que les permiten desplazarse y conseguir alimento. Si bien, muchos tipos de ciliados son conocidos por que se les encuentra frecuentemente al observar una gota de agua con un microscopio (por ejemplo, el famoso protozoo ciliado del género *Paramecium*), a los tricodínidos únicamente se les puede encontrar cuando se hace un análisis microscópico de la superficie de algunos animales acuáticos como los peces.

Los tricodínidos varían en tamaño de 20 a 100 μm (Van As y Basson, 1987); tienen una forma cónica, redondeada o hemisférica y están cubiertos con una membrana delgada y tienen una estructura típica en la región aboral (es decir, la que está en contacto con el animal que sirve de

hospedero) conocida como disco adhesivo, el cual se compone de dentículos (de 15 – 60 dependiendo de la especie) y membranas estriadas (Basson y Van As, 1995; Basson y Van As, 2006) (Fig. 1A-B). Los dentículos son estructuras proteínicas, que se conectan con las membranas estriadas por medio de microfibrillas y se conforman de cuchilla, parte central y rayo (Fig. 1D). Las cuchillas pueden ser rectas o curvas (Fig. 1E), mientras que los rayos pueden ser en forma de barra, de espina, de aguja o de remo y de diferentes longitudes (Basson y Van As, 1989) (Fig. 1F). Como todos los protozoos ciliados, cuentan con un macronúcleo; que puede tener forma de salchicha o herradura, y un micronúcleo (Basson y Van As, 2006) (Fig. 1C).

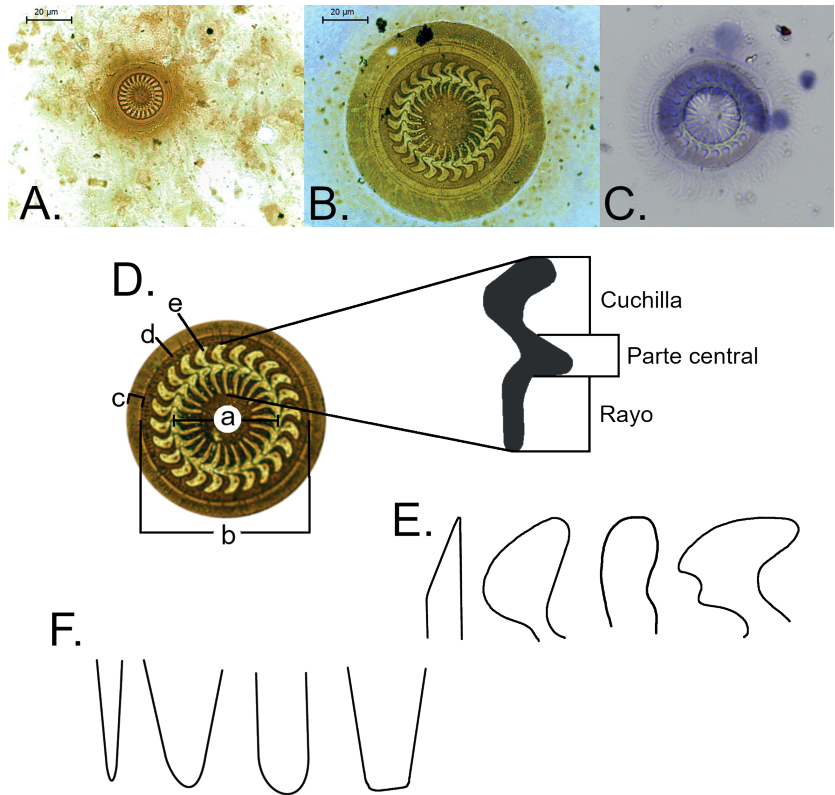
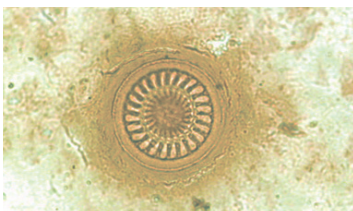


Fig 1. A. *Paratrichodina africana*, tricodínido de tamaño pequeño. B. *Trichodina magna*, tricodínido de gran tamaño. C. Macronúcleo de un tricodínido con la técnica de tinción hematoxilina de Harris. D. Esquema general de un tricodínido: a. anillo denticular, b. disco adhesivo, c. borde de la membrana, d. estriaciones radiales, e. dentículos. E. Diferentes formas que puede tener la cuchilla de los tricodínidos. F. Diferentes formas que pueden tener los rayos de los dentículos. (Fotografías e ilustraciones por Alma Islas)

Tricodínidos y su asociación con los peces y otros animales acuáticos

Como se mencionó anteriormente, los tricodínidos viven como ectosimbiontes de vertebrados e invertebrados acuáticos. Los efectos de estos organismos unicelulares en sus hospederos han sido ampliamente discutidos por varios autores; pues para algunos son sólo comensales que utilizan el hospedero como sustrato, en tanto que para otros autores los tricodínidos son verdaderos parásitos que provocan efectos negativos; pero quizá lo más correcto sea considerarlos parásitos facultativos, ya que, cuando el parásito se fija firmemente a su hospedero, el borde de la membrana aboral crea un movimiento de succión en

el epitelio, lo que provoca irritación en los tejidos de los peces, haciéndolos propensos a infecciones por hongos, virus o bacterias (Basson y Van As, 2006; Yokohama *et al.*, 2015; Hashimoto *et al.*, 2016; Islas-Ortega *et al.*, 2020b). Bajo ciertas condiciones los tricodínidos son capaces de provocar diversos efectos negativos en sus hospederos, que generalmente son peces, aunque también se pueden encontrar en anfibios (p. ej. En la rana leopardo de Moctezuma *Lithobates montezumae*, en la salamandra michoacana *Ambystoma ordinarium*, o en el sapo buey *Rhinella schneideri*, entre muchos otros) y en la superficie de invertebrados como cnidarios, moluscos y artrópodos acuáticos (p. ej. En los copépodos de los géneros *Mastigodiptomus*, *Notodiptomus*, y *Metadiptomus* (de Jager y Basson, 2019), donde probablemente los efectos

negativos también ocurren sin que hayan sido registrados formalmente en la literatura científica.

En los peces, los tricodínidos parasitan principalmente la piel, las aletas y las branquias (Van As y Basson, 1987) (Fig. 2), alimentándose de células, bacterias y/o detritus de la superficie del cuerpo. Bajo condiciones de

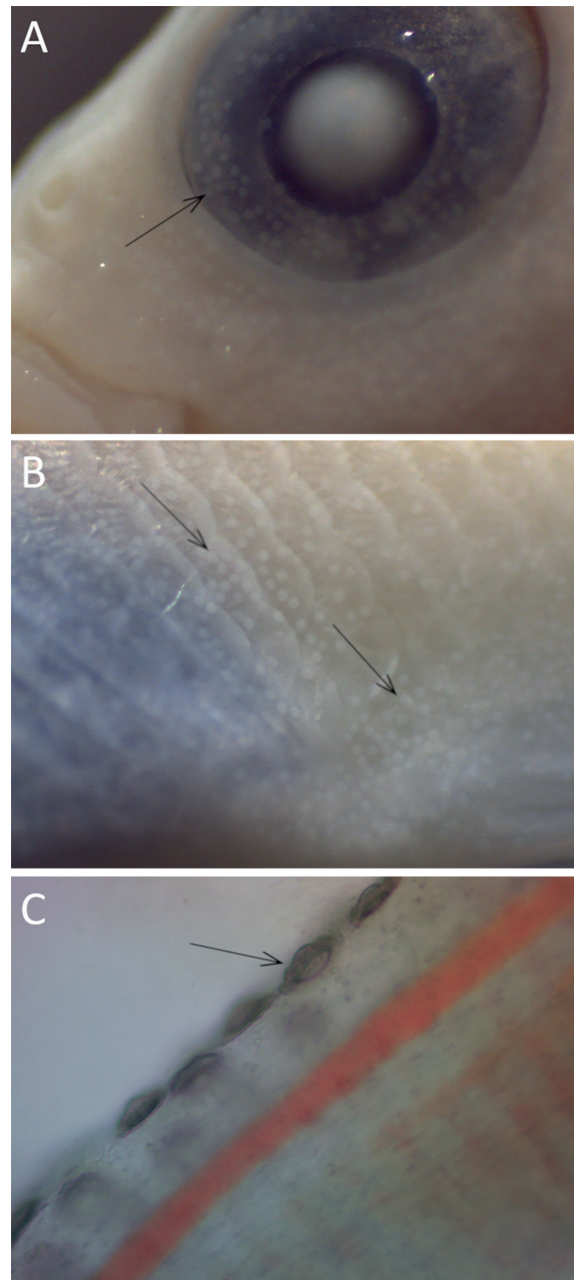


Fig. 2. A. *Trichodina* sp. en los ojos de *Tilapia* sp. (Pargo-UNAM). **B.** *Trichodina* sp. en las aletas de *Tilapia* sp. (Pargo-UNAM). **C.** *Trichodina* sp. en un filamento branquial de *Oreochromis niloticus*. Cada flecha indica uno de los múltiples individuos de *Trichodina* sp. sobre los tejidos de su hospedero. (Fotografías por Alma Islas y Rogelio Aguilar)

cultivo las poblaciones de tricotínidos pueden aumentar rápidamente en número, convirtiéndose en una hiperinfestación que provoca daño epitelial (Van As y Basson, 1987). Dada la importancia en términos económicos, hay un creciente interés por determinar los factores que promueven o limitan la infección de los peces por tricotínidos. La mayor parte de los estudios que refieren los efectos negativos que tienen sobre sus hospederos coinciden en que las lesiones cutáneas, como aletas con aspecto deshilachado y las lesiones al epitelio branquial, son los padecimientos observables más frecuentes sobre los peces, tanto en condiciones silvestres como de cultivo (Reichenbach-Klinke, 1982; Sleight, 1991; Hoffman, 1999; Wlasow *et al.*, 2003; Basson y Van As, 2006; Maciel *et al.*, 2018) (Fig. 3). Otros efectos como la pérdida de escamas, la decoloración de piel y branquias, la fusión

de las lamelas en los filamentos branquiales y los signos de asfisia (Fig. 4) son también frecuentemente mencionados (Van As *et al.*, 1984; Hassan, 1999). Otros efectos derivados de la infección por tricotínidos, como la pérdida de apetito, el adelgazamiento y la inflamación de los filamentos branquiales son referidos más esporádicamente (Madsen *et al.*, 2000). Estos efectos patológicos se agrupan bajo el término *tricotiniasis*, enfermedad que frecuentemente ha sido asociada con la mortalidad o el deterioro del crecimiento de peces dulceacuícolas cultivados en embalses

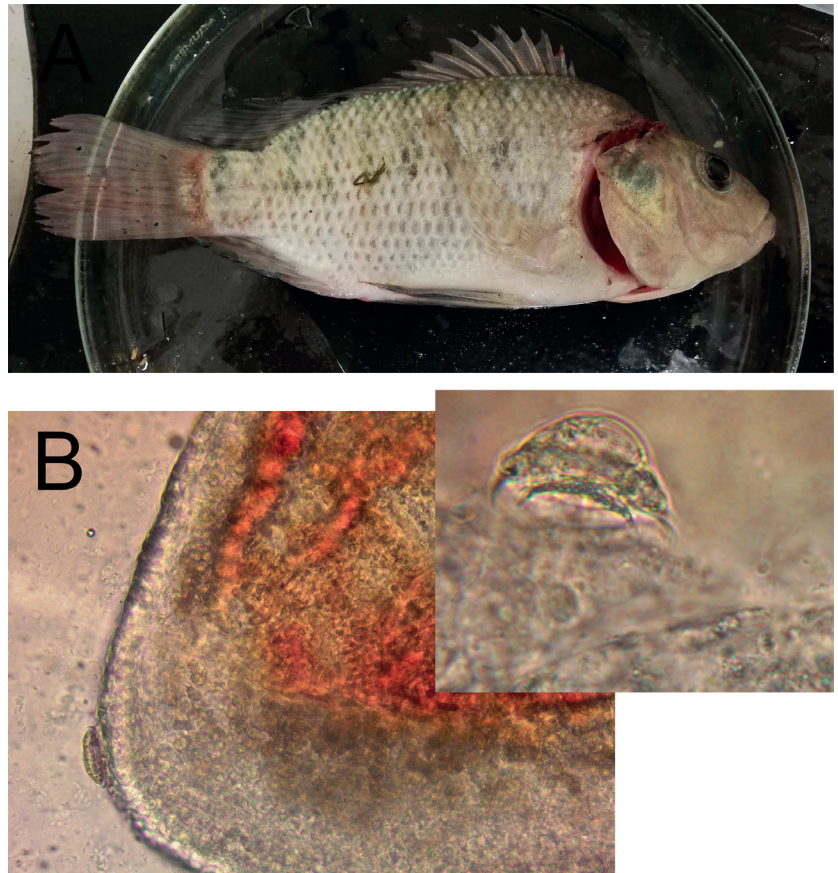


Fig. 3. A. *O. niloticus* parasitadada con *Trichodina* sp. en branquias. **B.** *Trichodina* sp. sobre el filamento branquial. (Fotografías por Alma Islas y Rogelio Aguilar)

naturales o artificiales (Abo-Esa, 2008). Esto último es de gran relevancia. Los tricotínidos son uno de los diversos factores que tienen un efecto negativo sobre la actividad de

cultivo de especies acuáticas para el consumo humano, y la tricodiniasis pueden afectar rápidamente a los individuos en condiciones de confinamiento. Los tricodínidos se reproducen principalmente por fisión binaria y en algunas ocasiones por conjugación, presentan un ciclo de vida monoxénico, por lo que únicamente requieren la presencia del hospedero definitivo y aprovechan la cercanía entre los peces para pasar de un individuo a otro, provocando mortalidades masivas, y en consecuencia, grandes pérdidas económicas en la producción (Balbuena-Rivarolas, 2011).

Algunos estudios han sugerido que la patogenicidad de estos organismos varía entre la especie y el sitio de la infección (Valladão *et al.*, 2016). Aparentemente estos efectos no son constantes a lo largo del año. Buscando una correlación entre la época del año y la

abundancia de tricodínidos, diversos autores (Broeg *et al.*, 1999; Hassan, 1999; Özer, 2000; Yemmen *et al.*, 2011; Valladão *et al.*, 2016) encontraron que están presentes todo el año, pero durante la primavera su abundancia incrementa

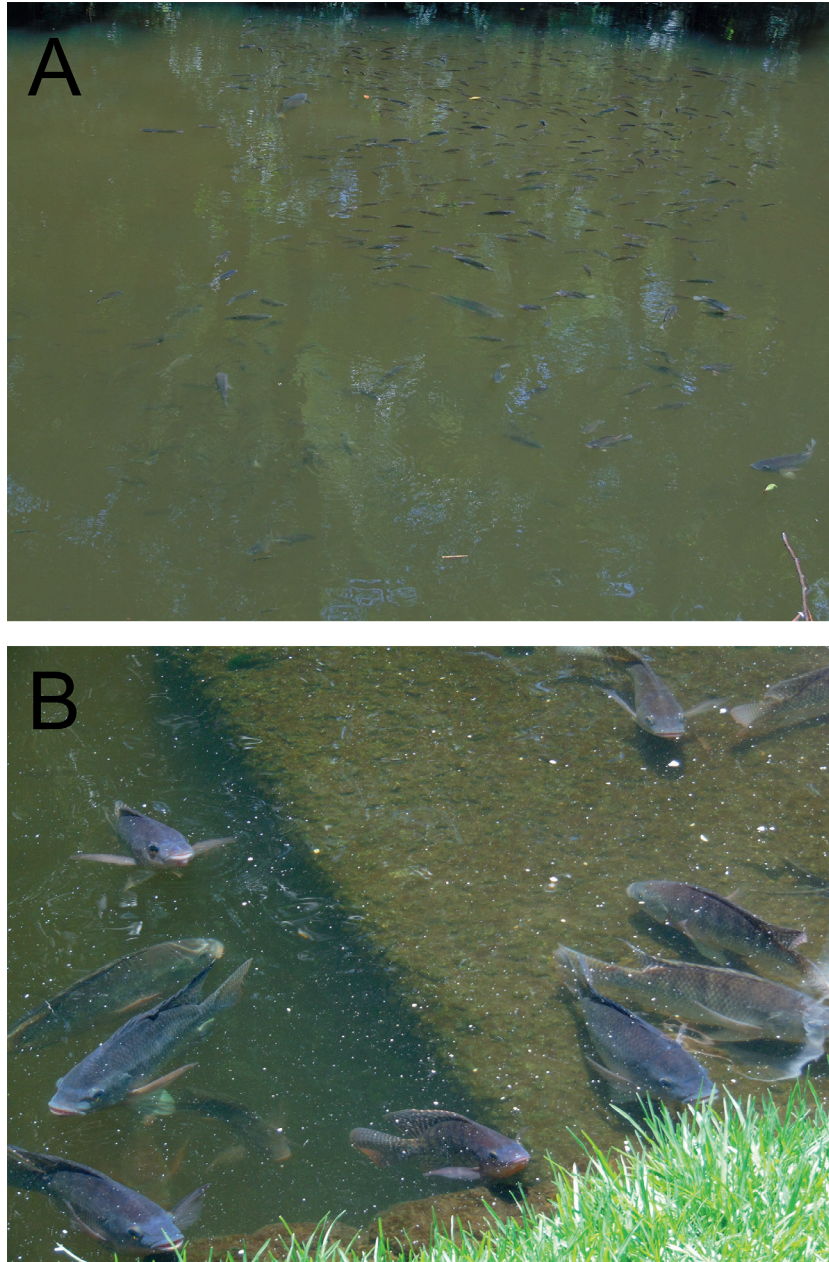


Fig. 4. Grupo de tilapias nadando cerca de la superficie de un estanque artesanal. Este comportamiento se da cuando los peces presentan problemas en el intercambio gaseoso como puede ocurrir con una tricodiniasis. (Fotografías por Rogelio Aguilar)

lo que en condiciones de cultivo puede ocasionar la muerte en masa (Balta *et al.*, 2008). Esto probablemente se debe

al aumento en la temperatura después del invierno, sin embargo, no existen estudios a largo plazo dedicados exclusivamente a analizar el efecto de la estacionalidad en las poblaciones de tricodínidos.

Diversidad y su estudio en México

Los tricodínidos, ciliados pertenecientes a la familia Trichodinidae, son un grupo de ciliados muy diverso ampliamente distribuido en ambientes acuáticos. Tal familia está constituida por once géneros, de los cuales *Trichodina* es el más diverso al contar con más de 250 especies alrededor del mundo (Lom y Diková, 1992), las cuales están principalmente asociadas a vertebrados e invertebrados habitantes de aguas continentales en regiones tropicales y templadas del mundo. A nivel mundial existen algunos lugares con numerosos registros de tricodínidos, sin embargo, su conocimiento es escaso en comparación con el de otras especies o grupos cuyo estudio ha sido tradicionalmente más extenso como las plantas, vertebrados e invertebrados.

En consecuencia, no existe algún lugar en el mundo del que se tenga una aproximación cercana a la realidad sobre la diversidad de especies de tricodínidos, y existen amplias regiones del planeta en donde no se cuenta con información (Basson y Van As, 2006).

En México la situación es similar. Mientras que en el Siglo XX se realizó un avance significativo en el conocimiento de la diversidad de múltiples grupos de seres vivos, el reducido número de especialistas en el estudio de protozoos tanto de vida libre como asociados a fauna silvestre ocasionó que únicamente exista el registro de cinco especies del género *Trichodina* asociadas principalmente a especies exóticas de

peces, introducidas a México con fines de consumo, así como una única mención de tricodínidos en peces nativos del Valle de México; estos registros fueron recopilados a mitad de la década que acaba de concluir (Aguilar-Aguilar e Islas-Ortega, 2015), coincidiendo con el inicio de una línea de investigación que hemos establecido con el propósito de conocer taxonómicamente aquellas especies de tricodínidos que se pueden encontrar en la ictiofauna mexicana, que consta de más de 2500 especies (Espinosa-Pérez, 2014). Es en estos años que el número de especies de tricodínidos registradas en el país se ha incrementado a 24 encontradas en 29 especies de peces, la mayoría nativos (Islas-Ortega y Aguilar-Aguilar, 2014; Aguilar-Aguilar *et al.*, 2016; Lagunas-Calvo *et al.*, 2016; Islas-Ortega *et al.*, 2020a; Islas-Ortega *et al.*, 2020b) (Fig. 5). Si bien está claro que el esfuerzo ha sido

disperso, gracias a los datos generados por nuestro grupo de trabajo, junto con nuevos datos producidos por otros centros de investigación (Paredes-Trujillo *et al.*, 2016; Rodríguez-Santiago *et al.*, 2019), actualmente es posible contar con un conocimiento base, del cual se deriven estudios que planteen objetivos diferentes al reconocimiento taxonómico (p. ej. Islas-Ortega *et al.*, 2018), o que exploren la diversidad de tricodínidos asociados a otros animales diferentes a los peces (p. ej. Antonio-Jasso *et al.*, 2021); en ese sentido, la Figura 5 ilustra por estado una síntesis de este conocimiento base actual, siendo posible apreciar que algunas regiones del centro y sureste de México el número de registros es nulo o muy bajo, en tanto que en los estados del norte y en aquellos del centro que son cercanos a la Ciudad de México existe una mayor cantidad

de especies registradas, siendo a la fecha los estados de Oaxaca y Michoacán los que cuentan con mayor diversidad. Así también, la Figura 5 muestra que además de los peces, existen registros derivados del análisis de otro tipo de animales acuáticos como crustáceos (Silva-Briano *et al.*, 2011) o anfibios (Antonio-Jasso *et al.*, 2021).

Conforme se incrementa el conocimiento de la diversidad de especies, es posible reconocer patrones.

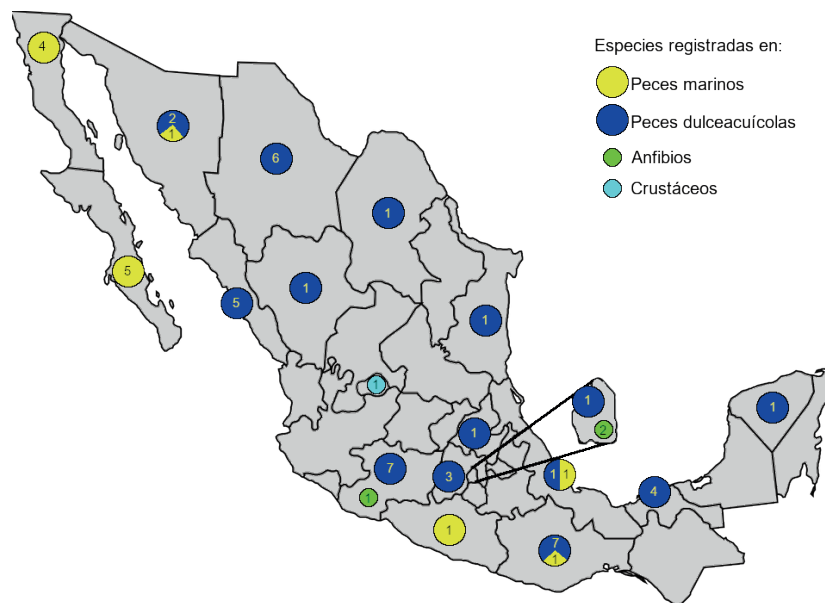


Fig. 5. Mapa de registros de tricodínidos en México. Cada número representa la cantidad de registros por estado.

Por ejemplo, es evidente que muchas de las especies registradas corresponden con las que han sido reportadas para otras partes del mundo, como Asia o África. A partir de este hecho, la composición de especies de tricodínidos en México tiene dos posibles explicaciones, la primera implica que estos organismos tienen una distribución amplia, por lo que se les puede encontrar en diversas partes del mundo (en microbiología esto se conoce como la hipótesis de “*everything is everywhere*” (O’Malley, 2007), o bien, una segunda posibilidad es que varias de las especies de tricodínidos que ahora encontramos en nuestro país

hayan sido introducidas como especies co-invasoras con peces originarios de otros sitios como las carpas asiáticas *Cyprinus carpio* y *Ctenopharyngodon idella*, o como las tilapias africanas del género *Oreochromis*.

Esta situación ha sido ampliamente discutida en la literatura de la especialidad, tanto para tricodínidos como para otros diversos grupos de parásitos. Actualmente se considera que el efecto de las co-invasiones sobre fauna autóctona constituye uno de los factores emergentes más importantes a considerar en términos de conservación biológica (Pérez-Ponce de León *et al.*, 2018), y tomando en cuenta la gran cantidad de peces que han sido o están siendo introducidos en diversas partes del mundo, se puede suponer que existe un enorme intercambio de especies simbiotas asociadas a cada población de peces que es movida de un lugar a otro (Lymbery

et al., 2014). Por ejemplo, en años recientes de manera intencional o accidental los sistemas acuáticos de México han resentido la invasión de peces como las carpas *Cyprinus carpio*, las tilapias *Oreochromis* spp., las truchas *Lepomis* spp. o el pez león *Pterois volitans*, entre muchos otros, que son registrados cada vez de manera más frecuente y han establecido poblaciones reproductivas estables en nuestro país (Ruíz-Campos *et al.*, 2014; Espinosa-Pérez y Ramírez, 2015; Villaseñor, 2020). Hasta el momento se ha documentado la invasión exitosa por parte de estas especies, sin que se tengan estudios de los organismos asociados a ellas y que seguramente han sido acarreados como co-invasores. En este sentido, algunos de los peces nativos que examinamos presentan varias especies de tricodínidos atribuidas típicamente a carpas o tilapias, lo que merece particular atención ya que la presencia de estas especies co-invasoras debe considerarse como un factor adicional en los planes de conservación *in situ* de las especies (Arnaud, 2020), en este caso de los peces nativos, de los cuales muchas especies en México se encuentran en alguna categoría de riesgo (Ceballos *et al.*, 2016). Por ejemplo, recientemente hemos documentado la presencia de especies relacionadas con tilapias y carpas como *Trichodina koloti* y *Trichodinella epizootica* en peces ciprínidos nativos del norte de México como *Campostoma ornatum*, *Dionda episcopa* o *Gila pulchra*, o la especie *Trichodina reticulata* en el godeido endémico *Girardinichthys viviparus*.

El trabajo taxonómico realizado hasta ahora es importante porque proporciona conocimiento sobre la diversidad de especies de tricodínidos que es posible encontrar en México. Sin embargo, algunos especialistas tienen reservas sobre la correcta determinación de muchas especies, y en general, se tiene una idea de que la verdadera

diversidad del grupo está subestimada (Tang *et al.*, 2017, Marcotegui *et al.*, 2018, Islas-Ortega *et al.*, 2018). Esto se debe a que los tricodínidos, al ser pequeños organismos unicelulares, presentan un número muy reducido de caracteres diagnósticos, por lo que todas las especies descritas hasta el momento resultan muy similares entre sí a primera vista, y su diferenciación taxonómica se basa en ligeras variaciones. En otras palabras, de acuerdo con algunos autores es probable que el grupo de los tricodínidos esté conformado por numerosas especies que no podemos reconocer debido al número reducido de estructuras diagnósticas que poseen y por la dificultad de observarlas (Tang *et al.*, 2017). En el trabajo taxonómico moderno esta situación se ha presentado de manera similar en numerosos grupos biológicos (Simon *et al.*, 2008; Guevara y Sainoz, 2012; Ortega-Andrade *et al.*, 2015; Pérez-Ponce de León y Poulin, 2016, 2018), donde recientemente la diversidad conocida se ha incrementado de manera notable debido a la presencia de especies crípticas, detectadas a partir de la comparación de individuos con una morfología muy similar pero que analizados con otras técnicas, como la biología molecular, muestran que genéticamente se encuentran tan separadas que es posible considerarlos pertenecientes a especies diferentes.

Lo anterior sugiere que la taxonomía tradicional resulta insuficiente para describir la diversidad del grupo, por esta razón, como complemento de la labor taxonómica, recientemente hemos recurrido a la taxonomía integrativa, que busca utilizar información de diversas fuentes para conseguir una correcta delimitación de cada especie. En este sentido, hemos iniciado análisis moleculares con el gen nuclear 18s para caracterizar genéticamente poblaciones de tricodínidos provenientes de diferentes localidades,

y con ello decidir si la distancia geográfica se relaciona con una diferencia a nivel genético en estas poblaciones tal como ocurre con otros parásitos como los helmintos, sin embargo, hasta hoy la comparación de las secuencias entre las poblaciones de la especie marina *Trichodina rectuncinata* muestra uniformidad genética que más bien apoya la idea generalizada de que estos organismos son cosmopolitas (Islas-Ortega *et al.*, 2018). Cabe señalar que esta conclusión corresponde a una sola especie de las más de 250 que se consideran válidas, por lo que es necesario realizar análisis similares en un número mucho mayor de especies antes de intentar postular un patrón sobre la distribución de estos organismos.

Como complemento a los análisis moleculares, actualmente hemos comenzado a estudiar los

caracteres morfológicos más evidentes bajo los supuestos de los análisis de morfometría geométrica.

Así, a partir de un contorno promedio de la estructura bajo estudio, el cual generalmente se obtiene a través de la superposición de imágenes analizadas mediante una librería del programa RStudio (1.3.1056) (RStudio Team) se busca detectar discontinuidades morfológicas estadísticamente significativas entre los diferentes tricodínidos (Fig. 6), de tal forma que ello nos permita decidir si tales discontinuidades son lo suficientemente relevantes para contribuir en establecer una sólida propuesta de delimitación entre especies.

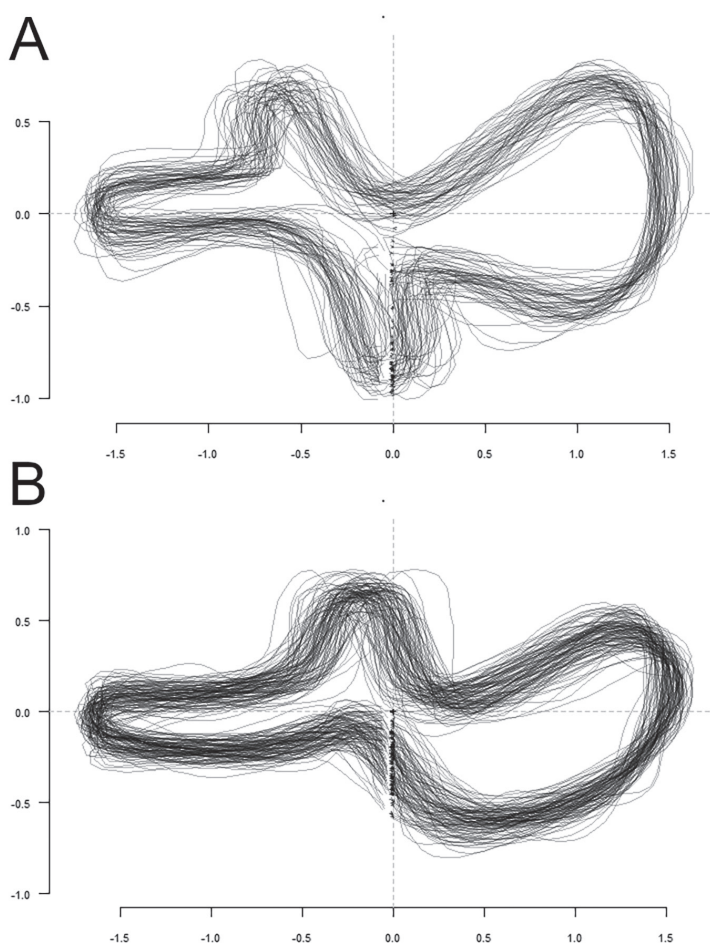


Fig. 6. Alineación de los denticulos para obtener una silueta promedio de **A.** *Paratrichodina africana*, **B.** *Trichodina centrostrigeta* bajo el análisis de morfometría geométrica. (Imagen correspondiente al proyecto de doctorado de Alma Islas)

Consideraciones finales

En un país megadiverso como México es normal que los inventarios biológicos de muchos taxones sean aun incompletos, y el caso de los protozoos tricodínidos no es una excepción. A pesar de que en los años recientes se han incrementado los registros sobre estos organismos, tenemos que considerar que hasta hoy ha sido examinado un muy escaso conjunto de peces hospederos (aproximadamente el 2%), por lo que se estima que el número conocido de especies de tricodínidos actualmente se elevará conforme exista una mayor cantidad de estudios.

Además de su importancia como un componente de la biodiversidad, los tricodínidos están fuertemente ligados a una actividad tan importante como la acuicultura. Por lo anterior, resulta deseable la formación de recursos

humanos (biólogos, ecólogos, veterinarios, etc.) capaces de reconocer, diferenciar y analizar las relaciones ectosimbionte-hospedero en estos interesantes organismos.

Agradecimientos

La primera autora agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca para realizar los estudios de doctorado, así como al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) y al Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas (UNAM) por el apoyo económico para trabajo de campo y estancias de investigación en el extranjero.

Bibliografía

- Abo-Esa, J.F.K. 2008. *Study on some ectoparasitic diseases of catfish, Clarias gariepinus with their control by ginger, Zingiber officinale*. Mediterranean Journal 1: 1-10.
- Aguilar-Aguilar, R. y A.G. Islas-Ortega. 2015. *A checklist of ciliate parasites (Ciliophora) of fishes from Mexico*. Zootaxa 4027 (2): 270-280.
- Aguilar-Aguilar, R., A.G. Islas-Ortega, O. Lagunas-Calvo, N. López y H. Espinosa-Pérez. 2016. *New host-parasite relationships for Trichodina rectuncinata (Ciliophora: Trichodinidae) on the gills of marine fishes from Mexico*. Marine Biodiversity 46 (1): 3-4.
- Antonio-Jasso, I.P., E. Monserrat-Vilchis, R.I. Santillán-Pérez, R. Aguilar-Aguilar y A.G. Islas-Ortega. 2021. *Parasites of Lithobates montezumae tadpoles from the "Jardín Botánico Exterior", Pedregal de San Ángel Ecological Reserve, National University of Mexico*. BIOCYT, Biología, Ciencia y Tecnología 14: 1021-1028.
- Arnaud, G. 2020. *Estrategias de conservación de los vertebrados de México*. Recursos Naturales y Sociedad. 6 (2): 55-66.
- Balbuena-Rivarolas, E.D. 2011. *Manual básico de sanidad piscícola*. Ministerio de agricultura y ganadería. Viceministerio de Ganadería, Montevideo. 52 pp.
- Balta, F., S. Kayis y I. Altinok. 2008. *External protozoan parasites in three trout species in the Eastern Black Sea region of the Turkey: intensity, seasonality, and their treatments*. Bulletin-European Associations of Fish Pathologists 28 (4): 157-162.
- Basson, L. y J.G. Van As. 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. y J.G. Van As. 1995. *SEM methods for revealing structures in mobile ciliophorans*. Electron Microscopy Society of Southern Africa 25 (1): 68.
- Basson, L. y J.G. Van As. 2006. *Trichodinidae and other ciliophorans (Phylum Ciliophora)*. pp. 154-182. En: Woo P.T.K. (Ed.). *Fish diseases and disorders*, vol. 1. Wallingford, CAB International. 800 pp.
- Broeg, K., S. Zander, A. Diamant, W. Körting, G. Krüner, I. Paperna y H.V. Westernhagen. 1999. *The use of fish metabolic, pathological and parasitological indices in pollution monitoring*. Helgoland Marine Research 53: 171-194.
- Ceballos, G., E. Díaz-Pardo, L. Martínez y H. Espinosa-Pérez. 2016. *Los peces dulceacuícolas de México en peligro de extinción*. Fondo de Cultura Económica, Ciudad de México. 487 pp.
- de Jager, G.P. y L. Basson. 2019. *Taxonomic assessment of three North American trichodinids by re-evaluating the taxon validity of Trichodina heterodentata Duncan, 1977 (Peritrichia)*. Acta Protozoologica 58: 125-139.
- Espinosa-Pérez, H. 2014. *Biodiversidad de peces en México*. Revista Mexicana de Biodiversidad 85: S450-S459.
- Espinosa-Pérez, H. y M. Ramírez. 2015. *Exotic and invasive fishes in Mexico*. Check list 11: 1627.
- Guevara, L.M. y A. Sainoz. 2012. *Especies crípticas: diferentes especies con una misma forma*. Ciencia y Desarrollo 38 (258): 6-13.
- Hashimoto, G.S.O., N.C. Marchiori, S.B. Pádua, M.M. Ishikawa, J.R.E. Garcia y M.L. Martins. 2016. *A new species of Trichodina Ehrenberg, 1830 (Ciliophora: Trichodinidae) from Rhamdia quelen (Siluriformes: Heptapteridae) and Gymnotus sp. (Teleostei: Gymnotidae) in Brazil*. Acta Parasitologica 61: 707-712.
- Hassan, M.A.E.A.H. 1999. *Trichodiniasis in farmed freshwater Tilapia in Eastern Saudi Arabia*. Journal of King Saud University - Engineering Sciences 10: 157-168.
- Hoffman, G.L. 1999. *Parasites of North American Freshwater Fishes*. Comstock Publishing Associates, Nueva York, 539 pp.
- Islas-Ortega, A.G. y R. Aguilar-Aguilar. 2014. *Trichodina mutabilis (Protozoa: Ciliata: Trichodinidae) from the characid fish Astyanax mexicanus in the Cuatro Ciénegas region, northern Mexico*. Revista Mexicana de Biodiversidad 85: 613-616.
- Islas-Ortega, A.G., R. Aguilar-Aguilar, P. Marcotegui, S. Martorelli, D. Hernández-Mena y G. Pérez-Ponce de León. 2018. *Morphology and sequence data of mexican populations of the ciliate parasite of marine fishes Trichodina rectuncinata (Ciliophora: Trichodinidae)*. Acta Protozoologica 57: 145-151.

- Islas-Ortega, A.G., L. Basson, P. Marcotegui, G. Ruiz-Campos, G.P. de Jager, G. Rivas y R. Aguilar-Aguilar. 2020a. *Trichodinids (Ciliophora: Trichodinidae) on rocky-tidal fishes from the Baja California Peninsula, Mexico*. Journal of Parasitology 106 (5): 689-698.
- Islas-Ortega, A.G., P.S. Marcotegui, L. Basson y R. Aguilar-Aguilar. 2020b. *A checklist of trichodinid species (Ciliophora: Trichodinidae) on tilapia fishes (Cichlidae), with new records from Mexico and the first data from Argentina*. Zootaxa 4896 (4): 451-484.
- Lagunas-Calvo, O., R. Aguilar-Aguilar, A.G. Islas-Ortega y A. Martínez-Aquino. 2016. *Parásitos de peces dulceacuícolas de la porción oaxaqueña de la provincia biogeográfica Sierra Madre del Sur*. pp. 313-323. En: Luna I., D. Espinosa y R. Contreras-Medina (Eds.). Biodiversidad de la Sierra Madre del Sur: una síntesis preliminar. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México. 524 pp.
- Lom, J. y I. Dyková. 1992. *Protozoan parasites of fishes*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 355 pp.
- Lymbery, A.J., M. Morine, H.G. Kanani, S.J. Beatty y D.L. Morgan. 2014. *Co-invaders: The effects of alien parasites on native hosts*. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife 3: 171-177.
- Maciel, P.O., F. Garcia, E.C. Chagas, R.Y. Fujimoto y M. Tavares-Dias. 2018. *Trichodinidae in commercial fish in South America*. Reviews in Fish Biology and Fisheries 28 (1): 33-56.
- Madsen, H.C.K., K. Buchmann y S. Møllergaard. 2000. *Association between trichodiniasis in eel (Anguilla anguilla) and water quality in recirculation systems*. Aquaculture 187: 275-281.
- Marcotegui, P.S., M.M. Montes, J. Bernache, W. Ferrari y S. Martorelli. 2018. *Geometric morphometric on a new species of Trichodinidae. A tool to discriminate species combined with traditional morphology and molecular analysis*. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife 7: 228-236.
- O'Malley, M. 2007. *The nineteenth century roots of 'everything is everywhere'*. Nature Reviews Microbiology 5: 647-651.
- Ortega-Andrade, H.M., O.R. Rojas-Soto, J.H. Valencia, A. Espinoza de los Monteros, J.J. Morrone, S.R. Ron y D.C. Cannatella. 2015. *Insights from integrative systematics reveal cryptic diversity in Pristimantis frogs (Anura: Craugastoridae) from the up upper Amazon basin*. Plos One 10 (11): e0143392.
- Özer, A. 2000. *The occurrence of three species of Trichodina (Ciliophora: Peritricha) on Cyprinus carpio in relation to culture conditions, seasonality and host characteristics*. Acta Protozoologica 39: 61-66.

- Paredes-Trujillo, A., I. Velázquez-Abunader, E. Torres-Irineo, D. Romero y V.M. Vidal-Martínez. 2016. *Geographical distribution of protozoan and metazoan parasites of farmed Nile tilapia Oreochromis niloticus (L.) (Perciformes: Cichlidae) in Yucatán, Mexico*. Parasites & Vectors 9: 66.
- Pérez-Ponce de León, G., O. Lagunas-Calvo, L. García-Prieto, R. Briosio-Aguilar y R. Aguilar-Aguilar. 2018. *Update on the distribution of the co-invasive Schyzocotyle acheilognathi (= Bothriocephalus acheilognathi), the Asian fish tapeworm, in freshwater fishes of Mexico*. Journal of Helminthology 92(3): 279-290.
- Pérez-Ponce de León, G. y R. Poulin. 2016. *Taxonomic distribution of cryptic diversity among metazoans: not so homogeneous after all*. Biology Letters 12(8): 20160371.
- Pérez-Ponce de León, G. y R. Poulin. 2018. *An updated look at the uneven distribution of cryptic diversity among parasitic helminths*. Journal of Helminthology 92: 197-202.
- Reichenbach-Klinke, H.H. 1982. *Enfermedades de los peces*. Editorial Acribia, España. 524 pp.
- Rodríguez-Santiago, M.A., L. García-Magaña, M.I. Grano-Maldonado, E.N. Silva-Martínez, J. Guerra-Santos y R. Gelabert. 2019. *First record of Trichodina centrostrigeata Basson, Van As & Paperna, 1983 (Ciliophora: Trichodinidae) from Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758) cultured in southeastern Mexico*. Latin American Journal of Aquatic Research 47: 367-370.
- RStudio Team. 2020. RStudio: Integrate Development for R. Studio, PBC, Boston, <http://www.rstudio.com/>
- Ruíz-Campos, G., A. Varela-Romero, S. Conteras-Balderas, F. Camarena-Rosales y A. Andreu-Soler. 2014. *Current distributional status of seven invasive exotic fishes in the Peninsula of Baja California*. pp. 351-372. En: Wehncke E.V., J.R. Lara-Lara, S. Álvarez-Borrego y E. Ezcurra (Eds.). Conservation science in Mexico's northwest. Ecosystem's status and trends in the Gulf of California. UC Mexus-SEMARNAT, California. 550 pp.
- Silva-Briano, M., E. Suárez-Morales, A. Adabache-Ortiz y M. Reyes-Flores. 2011. *Two species of Mastigodiatomus (Copepoda: Diaptomidae), hosts of the epibiotic ciliate Trichodina diaptomi (Peritricha) in North America*. Journal of Limnology 70(2): 329-333.
- Simon, E.M., D.L. Nanney y F.P. Doerder. 2008. *The "Tetrahymena pyriformis" complex of cryptic species*. Biodiversity and Conservation 17: 365-380.
- Sleigh, M.A. 1991. *The nature of Protozoa*. En: Kreier J.P. (Ed.). Parasitic Protozoa. Academic Press, Inc., San Diego, California. 53 pp.

- Tang, F.H., Y. Zhang y Y. Zhao. 2017. *Morphological and molecular identification of the new species Trichodina pseudoheterodontata sp. n. (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) from the channel catfish, Ictalurus punctatus, in Chongqing China*. Journal of Eukaryotic Microbiology 64: 45-55.
- Van As, J.G. y L. Basson. 1987. *Host specificity of trichodinid ectoparasites of freshwater fish*. Parasitology Today 3 (3): 88-90.
- Van As, J.G., L. Basson y J. Theron. 1984. *An experimental evaluation of the use of formalin to control trichodiniasis and other ectoparasitic protozoans on fry of Cyprinus carpio L. and Oreochromis mossambicus (Peters)*. African Journal of Wildlife Research 14: 42-48.
- Valladão, G.M.R., L.O. Alves y F. Pilarski. 2016. *Trichodiniasis in Nile tilapia hatcheries: Diagnosis, parasite: host-stage relationship and treatment*. Aquaculture 451: 444-450.
- Villaseñor, J.C. 2020. *El pez león: invasor en el Caribe Mexicano*. Biodiversitas 149: 1-6.
- Wlasow, T., I. Zmysłowska, D. Lewandowska, K. Mierzejewska, R. Idzikowski y E. Ziomek. 2003. *Bacteria and parasites on the gills of pike Esox lucius L. and tench Tinca tinca (L.) as indices of the trophic level of Oświn lake (Northeastern Poland)*. Archives of Polish Fisheries 11: 225-235.
- Yemmen, C., M.H. Ktari y S. Bahri. 2011. *Seasonality and histopathology of Trichodina puytoraci Lom, 1962, a parasite of flathead mullet (Mugil cephalus) from Tunisia*. Acta Adriatica 52 (1): 15-20.
- Yokoyama, H., N. Itoh y K. Ogawa. 2015. *Fish and shellfish diseases caused by marine protists*. pp. 533-549. En: Ohtsuka, S., T. Suzaki, T. Horiguchi, N. Suzuki y F. Not (Eds.). Marine protists: Diversity dynamics. Springer, Tokyo. 648 pp.

Cita

- Islas-Ortega A.G., y R. Aguilar-Aguilar. 2021. *Mandalas naturales. Tricodínidos asociados a peces y su diversidad en México*. Recursos Naturales y Sociedad, 2021. Vol. 7 (2): 85-100. <https://doi.org/10.18846/renaysoc.2021.07.07.02.0006>

Sometido: 15 de abril de 2021

Revisado: 14 de junio de 2021

Aceptado: 11 de julio de 2021

Editora asociada: Dra. Hortencia Obregón Barboza

Diseño gráfico editorial: Lic. Gerardo Hernández

En el siguiente trabajo se maneja la siguiente:

Hipótesis

Dentro de la familia Trichodinidae las especies aparentan ser uniformes morfológicamente hablando, sin embargo, la distancia geográfica entre las poblaciones pudiera ser responsable de variaciones morfológicas poco detectables con análisis morfológicos clásicos, así, se espera que la morfometría geométrica resulte de utilidad para detectar y cuantificar discontinuidades morfológicas que contribuyan a caracterizar poblaciones.

Así como los siguientes objetivos:

Objetivo general

Aplicar análisis de morfometría geométrica a poblaciones de *Trichodina centrostrigeata* y *Paratrichodina africana* asociadas a tilapias de regiones geográficamente distantes para su implementación en el análisis taxonómico de un grupo morfológicamente conservado a través de la detección de discontinuidades morfológicas.

Objetivos particulares

- Enlistar la diversidad de tricodínidos en tilapias a nivel mundial.
- Caracterizar morfológica y morfométricamente las poblaciones de tricodínidos provenientes de tilapias recolectadas en diferentes localidades.
- Verificar la utilidad de la morfometría geométrica para describir cuantitativamente discontinuidades morfológicas.

- Proponer el uso de la morfometría geométrica como complemento a las descripciones taxonómicas de especies de la familia Trichodinidae.

CAPITULO I

Diversidad de tricodínidos asociados a tilapias en el mundo

El primer objetivo particular de este estudio se refiere a enlistar la diversidad de especies de la familia Trichodinidae asociadas a tilapias a nivel mundial. Para cumplir con éste, se recopilaron los datos publicados sobre la composición taxonómica y la distribución geográfica de estos tricodínidos, a los que se adicionaron los resultados provenientes de la revisión de tilapias de Argentina y México. Durante el proyecto se obtuvieron tilapias de la granja piscícola “El Pescadito” Huandacareo, Michoacán (19° 56’ 24’’ N, 101° 18’ 36’’ W; n = 60), en el cuerpo de agua “Las Pocitas” Baja California Sur, (24° 24’ 10.5’’ N, 111° 06’ 12.9’’ W; n = 22), en México, y en las granjas piscícolas “Ponte Vedra” (34°44’44.1’’S, 58°43’54.6’’W; n = 10) y “San Vicente” (35°04’00.1’’S, 58°31’01.9’’W; n = 10), en la provincia de Buenos Aires, Argentina, las cuales fueron examinadas en busca de tricodínidos. La mayor parte de los registros derivados de estos muestreos fueron registros nuevos para cada localidad.

El resultado principal de este capítulo es un listado que se presenta a manera de artículo titulado **“A checklist of trichodinid species (Ciliophora: Trichodinidae) on tilapia (Cichlidae), with new records from Mexico and the first data from Argentina”** publicado en la revista Zootaxa. Aquí, se registraron 44 especies de tricodínidos asociados a 15 especies de tilapias de 162 localidades pertenecientes a 29 países y cuatro continentes. El género más registrado fue *Trichodina* con 371 registros, le siguió *Tripartiella* con 39 registros y *Paratrachodina* con 26 registros. A pesar de que se tiene un conocimiento relativamente sólido sobre los tricodínidos

asociados a tilapias, aun es necesario ampliar la investigación a aquellas regiones en el mundo en donde las tilapias han sido introducidas pero los tricodínidos no han sido estudiados. Tanto *Paratrichodina africana* como *Trichodina centrostrigeata*, registradas para Argentina y México, se analizaron posteriormente con morfometría geométrica, los resultados de estos análisis se presentan en los capítulos siguientes.



A checklist of trichodinid species (Ciliophora: Trichodinidae) on tilapia fishes (Cichlidae), with new records from Mexico and the first data from Argentina

ALMA G. ISLAS-ORTEGA¹, PAULA S. MARCOTEGUI², LINDA BASSON³ & ROGELIO AGUILAR-AGUILAR^{4*}

¹Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

✉ alisor.721@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-4723-0765>

²Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores, (CONICET-CCT-LA PLATA-UNLP), La Plata, Argentina.

✉ pmarcotegui@hotmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-2353-4235>

³Department of Zoology and Entomology, University of the Free State, Bloemfontein, South Africa.

✉ bassonl@ufs.ac.za; <https://orcid.org/0000-0003-0956-8447>

⁴Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, Apartado Postal 70-399, C. P. 04510 México D.F., México.

*Corresponding author: ✉ raguilar@ciencias.unam.mx; <https://orcid.org/0000-0002-2414-6384>

Abstract

Tilapia is the common name for a wide spectrum of cichlid fishes usually selected for aquaculture activities. However, some aspects of the natural history of these fishes, such as the diversity of certain ectoparasitic protistan groups remain understudied. In order to understand the diversity of ciliates of the family Trichodinidae parasitizing tilapia around the world, a database with all available accounts was assembled. This information, along with records derived from our own recent research, allowed us to generate a checklist containing all the records for tilapia-Trichodinidae associations. The checklist is presented as a host-parasite list containing 44 nominal taxa from 29 countries on four continents, and it also presents the first data from Argentina, where tilapia culture is still an incipient, but growing activity. The observed high species richness of trichodinids is probably derived from a set of specific taxa for tilapia, along with an important component of species acquired from the new environments where tilapia have been introduced. Data presented here could be used along with existing information of metazoan parasites to build a general view about diseases that affect tilapia.

Key words: Ectoparasites, trichodinids, *Trichodina*, *Trichodinella*, *Tripartiella*, *Paratrichodina*

Introduction

Tilapia has become an important fish in aquaculture in various tropical and subtropical regions worldwide (El-Sayed 1999) and history of its culture goes back to ancient Egypt. Tilapia refers to a generalized common name for a wide set of species of African cichlid fishes (Lowe-McConnell 1959; Stickney 1986; El-Sayed 1999; Klett & Meyer 2002), of which at least eight species (*Coptodon guineensis* (Günther), *C. rendalli* (Boulenger), *C. zillii* (Gervais), *Oreochromis andersonii* (Castelnau), *O. aureus* (Steindachner), *O. mossambicus* (Peters), *O. niloticus* (Linnaeus), and *Tilapia sparrmanii* Smith) or sets of species (including hybrids such as the hybrid tilapia *O. niloticus* x *O. aureus* or the red tilapia *O. mossambicus* x *O. niloticus*) have been commercially cultured worldwide, either in backyard ponds or extensive hatcheries intended for commercial operations (Jansen *et al.* 2019). The great success of this activity involves several favorable factors, such as the general hardiness and adaptability of tilapia to various production systems, combined with rapid growth (Ponzoni *et al.* 2011).

Due to the elevated disease susceptibility of fishes under culture conditions, parasitic diseases have become more frequent, causing inestimable economic losses and mortality outbreaks (Nunes *et al.* 2016). Although tilapia had been considered relatively resistant to diseases in the past (Coward & Bromage 2000), recent studies show that this group is actually more susceptible to both bacterial and parasitic diseases (Shoemaker *et al.* 2006; Kotob *et al.* 2016).

Due to the negative influence on growth and nutritional coefficient of different species of juvenile fishes, infestation by ectoparasitic protists could be considered as one of the most serious problems of intensive breeding cultivations (Paperna 1991; Prats & Martínez 2017). Among these, numerous species of ciliates of the family Trichodinidae Claus (Oligohymenophorea, Ciliophora) have been reported infecting fishes in freshwater environments (Basson *et al.* 1983). This high species diversity, reported from multiple areas of the world, represents a potential permanent epizootic risk threatening the fish farming activity with severe economic losses due to the high fish mortality (Ghoneim *et al.* 2015).

In order to understand the diversity of species of the family Trichodinidae affecting tilapia around the world, the current knowledge about the taxonomic composition and geographical distribution of these trichodinids has been compiled and is presented here.

Material and methods

An exhaustive revision of all the published records on the trichodinid species reported from tilapia fishes around the world were performed and compiled via databases and electronic resources such as Zoological Record, Biological Abstracts, ISI Web of Knowledge, Google Scholar, Aquatic Sciences and Fisheries Abstracts, Biological and Agricultural Index Plus, Scopus, Latindex, and SERIUNAM. All these sources of metadata were consulted to guarantee all possible information; the bibliographic search included sources up to December 2019. A table was constructed using the compiled data (see Table 1). Valid names of host species were updated according to Froese & Pauly (2020), however, where species were not indicated and difficult to verify, these were provided as in the original source (i.e. *Tilapia* sp.)

TABLE I. Trichodinid ciliate-tilapia list. G = gills, S = skin, F = fins, ND = Not determined, CRPH = Catalog number.

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
<i>Paratrichodina africana</i> Kazubski & El-Tantawy				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	ND	Churni River system, West Bengal, India	Mitra & Bandyopadhyay (2006)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Nile Delta, Egypt	El-Tantawy & Kazubzki (1986)
		G, S	Nile Delta, Egypt	Kazubzki & El-Tantawy (1986)
		G	River Nile, Tanta city, Egypt	El-Din & Naeim (1998)
		G	ND, Brazil	Hashimoto <i>et al.</i> (2011)
		G	Amapá, Brazil	Pantoja <i>et al.</i> (2011)
		G	Macapá, Amapá, Brazil	Pantoja <i>et al.</i> (2012)
		G	Amapá, Brazil	Tavares-Dias <i>et al.</i> (2013)
		G	Ituberá, Bahia, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2013)
		G	Nova Ponte, Minas Gerais, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2013)
		G	Santa Fé do Sul, São Paulo, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2013)
		G	Amapá, Brazil	Bittencourt <i>et al.</i> (2014)
		G	Bahia, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
		G	Ceará, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
		G	Mato Grosso do Sul, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
		G	Minas Gerais, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
	G	São Paulo, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)	
	G	Fish Farm, Minas Gerais, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2016)	
	G	São Paulo, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2018)	
	G	State of Goiás, Brazil	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)	

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		G	Huandacareo, Michoacán, Mexico	New record CRPH: C0006
		F, G, S	San Vicente, Buenos Aires province, Argentina	New record CRPH: C0007
	<i>Tilapia</i> sp.	G	Lake Victoria, Kenya	Kazubzki (1986)
		G	Lake Victoria, Kenya	Kazubzki & El-Tantawy (1986)
<i>Paratrichodina incissa</i> (Lom)				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
<i>Trichodina acuta</i> Lom				
	<i>Coptodon guineensis</i> (Günther)	F, G, S	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Coptodon zillii</i> (Gervais)	ND	Muñoz de Nueva Ecija, Philippines	Duncan (1977)
	<i>Oreochromis mossambicus</i> (Peters)	ND	Muñoz de Nueva Ecija, Philippines	Duncan (1977)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		ND	ND, India	Asmat (2000)
	<i>Oreochromis niloticus</i> (L.)	ND	Muñoz de Nueva Ecija, Philippines	Natividad <i>et al.</i> (1986)
		G, S	Bureau of Fisheries and Aquatic Resources, National Freshwater Fish Hatchery, Muñoz de Nueva Ecija Province, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G, S	Sampaloc Lake, San Pablo City, Laguna, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
		ND	Mediterranean region, Turkey	Özer & Öztürk (2015)
<i>Trichodina canton</i> Basson & Van As				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	F, G, S	Swamp north of Taipei, Taiwan	Basson & Van As (1994)
<i>Trichodina centrostrigata</i> Basson, Van As & Paperna				
	<i>Coptodon rendalli</i>	G	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		G	Zambesi River System, Namibia	Van As & Basson (1992)
	<i>Coptodon zillii</i>	ND	ND, Egypt	Ghoneim (1998)
		G, S	Presa Yosocuta, Oaxaca, Mexico	Lagunas-Calvo <i>et al.</i> (2016)
	<i>Oreochromis andersonii</i> (Castelnau)	F, G, S	Zambesi River System, Namibia	Van As & Basson (1992)
	<i>Oreochromis aureus</i>	ND	ND, Cuba	Fajer <i>et al.</i> (1997)
		ND	ND, Egypt	Ghoneim (1998)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	F, G, S	Hartbeespoort Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Luphephe Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Olifants River & Marble Hall Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Letaba River & Pietersburg Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Seshego Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	TOMPI Seleka Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Van As <i>et al.</i> (1984)
		G, S	Hartbeespoort Dam, South Africa	Oldewage (1985)
		ND	ND, Taiwan	Van As & Basson (1986)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		F, G, S	Swamp north of Taipei, Taiwan	Basson & Van As (1994)
		ND	Churni River System, West Bengal, India	Mitra & Bandyopadhyay (2006)
		G	Sarker Bari culture ponds, Bangladesh	Kibria <i>et al.</i> (2011)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Nile Delta, Egypt	El-Tantawy & Kazubzki (1986)
		ND	Luzon, Philippines	Natividad <i>et al.</i> (1986)
		G, S	Bureau of Fisheries and Aquatic Resources, National Freshwater Fish Hatchery, Muñoz de Nueva Ecija Province, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G, S	Calarian Lake, Zamboanga City, Zamboanga del Sur, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G, S	Sampaloc Lake, San Pablo City, Laguna, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		G, S	River Nile, Tanta city, Egypt	El-Din & Naeim (1998)
		F, S	Sinaloa, Mexico	Rodriguez-Santiago (2002); Morales-Serna <i>et al.</i> (2018)
		G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G	Qena, Egypt	Hussein <i>et al.</i> (2012)
		G	Amapá, Brazil	Bittencourt <i>et al.</i> (2014)
		S	ND, Brazil	Ikefuti <i>et al.</i> (2015)
		G	Bahia, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
		G	Ceará, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
		G	Mato Grosso do Sul, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
		G	Minas Gerais, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
		G	São Paulo, Brazil	Pádua <i>et al.</i> (2015)
		G	Santa Catarina, Brazil	Nunes <i>et al.</i> (2016)
		G, S	Fish Farm, Minas Gerais, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2016)
		G, S	Fish Farm, São Paulo, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2016)
		G, S	Riyadh, Saudi Arabia	Abdel-Baki <i>et al.</i> (2017)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		G	State of Goiás, Brazil	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
		G, S	Tabasco, Mexico	Rodríguez-Santiago <i>et al.</i> (2019a)
		F, S	Villahermosa, Tabasco, Mexico	Rodríguez-Santiago <i>et al.</i> (2019b)
		G	Huandacareo, Michoacan, Mexico	New record CRPH: C0008
		F, G, S	San Vicente, Buenos Aires Province, Argentina	New record CRPH: C0009
	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis mossambicus</i>	G, S	Nong Suea Prefecture, Pathumthani Province, Thailand	Worananthakij & Maneepitaksanti (2014)
	<i>Oreochromis</i> sp.	G	Cuchujaquí River, Sonora, Mexico	Aguilar-Aguilar & Islas-Ortega (2015)
	<i>Tilapia sparrmanii</i>	G	Boskop Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Zambesi River System, Namibia	Van As & Basson (1992)
	<i>Tilapia</i> sp.	G	Chupei Fishery Station, Taiwan	Basson & Van As (1994)
		G	Confluence of Nankang and Peikang Rivers, Taiwan	Basson & Van As (1994)
		G	Lukang Fishery Station, Taiwan	Basson & Van As (1994)
<i>Trichodina compacta</i> Van As & Basson				
	<i>Coptodon rendalli</i>	F, S	Lowveld Fisheries research Station, South Africa	Basson, <i>et al.</i> (1983); Van As & Basson (1989)
		F, S	Amalinda, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Hartbeespoort Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Nyl Pans, Mowalakwena River, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Orlando Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Letaba River, Pietersburg Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		F, S	Zambesi River System, Namibia	Van As & Basson (1992)
	<i>Coptodon zilli</i>	G, S	Luzon, Philippines	Duncan (1977)
		ND	ND, Egypt	Ghoneim (1998)
	<i>Oreochromis andersonii</i>	F, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Zambesi River system, Zambia	Van As & Basson (1992)
	<i>Oreochromis aureus</i>	F, S	El Rom, Israel	Basson <i>et al.</i> (1983); Van As & Basson (1989)
		F, S	Ginnosar, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Nir David, Israel	Van As & Basson (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		ND	ND, Egypt	Ghoneim (1998)
	<i>Oreochromis aureus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>	F, S	El Rom, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Lehavot Habashan, Israel	Van As & Basson (1989)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G, S	Luzon, Philippines	Duncan (1977)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983); Van As <i>et al.</i> (1984); Van As & Basson (1989)
		F, S	Amalinda, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Hartbeespoort Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Nyl Pans, Mowalakwena River, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Orlando Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Letaba River, Pietersburg Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		G, S	Hartbeespoort Dam, South Africa	Oldewage (1985)
		F, S	Lisbon Estates, South Africa	Van As & Basson (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Luzon, Philippines	Natividad <i>et al.</i> (1986)
		G, S	Luzon, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G, S	Santa Catarina, Brazil	Ghiraldelli <i>et al.</i> (2006a)
		G, S	Santa Catarina, Brazil	Ghiraldelli <i>et al.</i> (2006b)
		G, S	Santa Catarina, Brazil	Ghiraldelli <i>et al.</i> (2006c)
		F, G, S	Santa Catarina, Brazil	Martins (2008)
		G	Santa Catarina, Brazil	Martins <i>et al.</i> (2010)
		G, S	Santa Catarina, Brazil	Jerônimo <i>et al.</i> (2011)
		G	Al-Fashn city, Egypt	Abd El-Galil & Aboelhadid (2012)
		G, S	São Paulo, Brazil	Zago <i>et al.</i> (2014)
		S	ND, Brazil	Ikefuti <i>et al.</i> (2015)
		G	Santa Catarina, Brazil	Nunes <i>et al.</i> (2016)
		ND	Fish Farm, Minas Gerais, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2016)
		F, S	Santa Catarina, Brazil	Steckert (2017)
		ND	ND, Egypt	Abdelkhalek <i>et al.</i> (2018)
		G	Chattogram, Bangladesh	Kibria & Asmat (2019)
		F, G, S	State of Goiás, Brazil	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
		G, S	Tabasco, Mexico	Rodriguez-Santiago <i>et al.</i> (2019a)
		G	Huandacareo, Michoacán, Mexico	New record CRPH: C0010
	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis mossambicus</i>	G, S	Nong Suea Prefecture, Pathumthani Province, Thailand	Worananthakij & Maneepitaksanti (2014)
	<i>Tilapia sparrmanii</i>	F, S	Amalinda, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Boskop Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Limpopo River System, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Vaal River System, South Africa	Van As & Basson (1989)
	<i>Tilapia</i> sp.	F, S	Lake Kinneret, Israel	Basson <i>et al.</i> (1983); Van As & Basson (1989)
		F, G, S	Chupei Fishery Station, Taiwan	Basson & Van As (1994)
		F, S	Lukang Fishery Station, Taiwan	Basson & Van As (1994)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
<i>Trichodina cottidarum</i> Dogiel				
	<i>Coptodon zillii</i>	G	Euphrates River at Al-Musaib city, Iraq	Mhaisen <i>et al.</i> (2015)
		G	Euphrates River at Al-Musaib city, Iraq	Mhaisen & Al-Rubaie (2018)
<i>Trichodina domerguei</i> Wallengren				
	<i>Coptodon zillii</i>	G	Euphrates River at Al-Musaib city, Iraq	Mhaisen <i>et al.</i> (2015)
		G	Euphrates River at Al-Musaib city, Iraq	Mhaisen & Al-Rubaie 2018
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
<i>Trichodina equatorialis</i> Kazubski				
	<i>Tilapia</i> sp.	G	Lake Victoria, Kenya	Kazubzki (1986)
<i>Trichodina esocis</i> Lom				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	S	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
<i>Trichodina frenata</i> Van As & Basson				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	S, G	Riyadh, Saudi Arabia	Abdel-Baki <i>et al.</i> (2017)
<i>Trichodina fultoni</i> Davis				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G	Loiza River, Puerto Rico	Bunkley-Williams & Williams (1994)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	ND	Kafr El Sheikh, Egypt	Eissa <i>et al.</i> (2013)
<i>Trichodina hypsilepis</i> Wellborn (Note: This species, frequently recorded for teleost hosts as <i>T. heterodentata</i> , was recently synonymized by de Jager & Basson (2019))				
	<i>Coptodon rendalli</i>	F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Olifants River, Marble Hall Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Van As & Basson (1989)
	<i>Coptodon zillii</i>	G, S	Muñoz de Nueva Ecija, Philippines	Duncan (1977)
		F, S	Bar'am, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	El Rom, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Ein HaMifratz, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Ginnosar, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Lake Kinneret, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Tabgha, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Zaki River, Israel	Van As & Basson (1989)
		ND	ND, Egypt	Ahmed <i>et al.</i> (2000)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		G, S	Presa Yosocuta, Oaxaca, Mexico	Lagunas-Calvo <i>et al.</i> (2016)
	<i>Oreochromis aureus</i>	F, S	El Rom, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Jordan River, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Lake Kinneret, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Tabgha, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Zaki River, Israel	Van As & Basson (1989)
	<i>Oreochromis aureus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>	F, S	El Rom, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Lehavot Habashan, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Tabgha, Israel	Van As & Basson (1989)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G, S	Muñoz de Nueva Ecija, Philippines	Duncan (1977)
		F, G, S	Amalinda, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Luphephe Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Olifants River & Marble Hall Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Nyl Pans & Mowalakwena River, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Letaba River & Pietersburg Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Port Elizabeth Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Seshego Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Venda Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	ND, Taiwan	Van As & Basson (1986)
		F, S	Lake Valencia, Venezuela	Van As & Basson (1989)
		F, S	Dzindi Fisheries Station, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Lukang Fishery Station, Taiwan	Van As & Basson (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		F, G, S	Billabong at Bangarang road, Echuca, Victoria, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Boorolong Creek, New South Wales, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Crayfish Farm, Beenleigh, Queensland, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Gum Bend Lake, Condobolin, New South Wales, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Kalinga Park Creek, Queensland, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Lake Burley-Griffin al East Basin Kingston, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Lake Wivenhoe, Queensland, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		F, G, S	Monsildale Creek, Queensland, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Narrandera Fisheries Centre, New South Wales, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	North Pine River, Queensland, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Shoalhaven River at Warri bridge, New South Wales, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
		F, G, S	Walkamin Research Station, north Queensland, Australia	Dove & O'Donoghue (2005)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	ND	ND, Philippines	Natividad <i>et al.</i> (1986)
		G, S	Bureau of Fisheries and Aquatic Resources, National Freshwater Fish Hatchery, Muñoz de Nueva Ecija Province, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G, S	Calarian Lake, Zamboanga City, Zamboanga del Sur, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G, S	Iwahig Penal Colony, Puerto Princesa, Palawan, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G, S	Lake Buhi, Camarines Sur, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G, S	Sampaloc Lake, San Pablo City, Laguna, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		G, S	Luzon, Philippines	Arthur & Lumanlan-Mayo (1997)
		G, S	Mindanao, Philippines	Arthur & Lumanlan-Mayo (1997)
		G, S	Palawan, Philippines	Arthur & Lumanlan-Mayo (1997)
		ND	ND, Egypt	Ahmed <i>et al.</i> (2000)
		G, S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	ND, United States	Martins <i>et al.</i> (2011)
		G	Al-Fashn city, Egypt	Abd El-Galil & Aboelhadid (2012)
		S	Fish Farm, Minas Gerais, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2016)
		S	São Paulo, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2018)
		F, G, S	State of Goiás, Brazil	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis mossambicus</i>	G, S	Nong Suea Prefecture, Pathumthani Province, Thailand	Worananthakij & Maneepitaksanti (2014)
	<i>Tilapia sparrmanii</i>	F, G, S	Amalinda, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Van As & Basson (1989)
	<i>Tilapia</i> sp.	F, S	Lake Kinneret, Israel	Van As & Basson (1989)
		F, S	Chupei Fishery Station, Taiwan	Basson & Van As (1994)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		F, S	Taishi Fishery Station, Taiwan	Basson & Van As (1994)
		F, G, S	Confluence of Nankang and Peikang Rivers, Taiwan	Basson & Van As (1994)
<i>Trichodina kalimbeza</i> Van As & Basson				
	<i>Coptodon rendalli</i>	F, S	Zambesi River System, Namibia	Van As & Basson (1992)
<i>Trichodina latispina</i> Dogiel				
	<i>Coptodon guineensis</i>	G, S	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Sarotherodon melanotheron</i> Rüppell	G, S	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
<i>Trichodina linyanta</i> Van As & Basson				
	<i>Oreochromis andersonii</i>	F, S	Zambesi River System, Namibia	Van As & Basson (1992)
<i>Trichodina magna</i> Van As & Basson				
	<i>Coptodon rendalli</i>	F, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983); Van As & Basson (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		S	Zambesi River System, Namibia	Van As & Basson (1992)
	<i>Coptodon zillii</i>	G, S	Ehamia-Basarta canal station of the River Nile, Egypt	Ghoneim (1998)
		G, S	El-Aasar Station of the River Nile estuary, Egypt	Ghoneim (1998)
		G, S	El Sayala Station of Lake Manzalah, Egypt	Ghoneim (1998)
		G, S	ND, Egypt	Ahmed <i>et al.</i> (2000)
		G	Qena, Egypt	Hussein <i>et al.</i> (2012)
	<i>Oreochromis andersonii</i>	F, S	Lisbon Estates, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, G, S	Zambesi River System, Namibia	Van As & Basson (1992)
	<i>Oreochromis aureus</i>	G, S	Ehamia-Basarta Canal Station of the River Nile, Egypt	Ghoneim (1998)
		G, S	EL-Aasar Station of the River Nile estuary, Egypt	Ghoneim (1998)
		G, S	El Sayala Station of Lake Manzalah, Egypt	Ghoneim (1998)
		G	Trigris River, Iraq	Abdul-Ameer & Atwan (2018)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983); Van As <i>et al.</i> (1984); Van As & Basson (1989)
		F, G, S	Hartbeespoort Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983); Oldewage (1985)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		F, S	Luphephe Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Orlando Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, S	Lisbon estates, South Africa	Van As & Basson (1989)
		F, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Van As & Basson (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	ND	El-serw Fish Farm, Egypt	Ali (1992)
		G, S	River Nile, Tanta City, Egypt	El-Din & Naeim (1998)
		G, S	ND, Egypt	Ahmed <i>et al.</i> (2000)
		F, S	Sinaloa, Mexico	Rodriguez-Santiago (2002); Morales-Serna <i>et al.</i> (2018)
		G, S	Santa Catarina, Brazil	Ghirdelli <i>et al.</i> (2006c)
		F, G, S	Santa Catarina, Brazil	Martins (2008)
		G, S	Blumenau, Santa Catarina, Brazil	Martins & Ghirdelli (2008)
		G, S	Ituporanga, Santa Catarina, Brazil	Martins & Ghirdelli (2008)
		G, S	Joinville, Santa Catarina, Brazil	Martins & Ghirdelli (2008)
		G	Nova Trento, Santa Catarina, Brazil	Martins <i>et al.</i> (2010)
		G, S	Blumenau, Santa Catarina, Brazil	Jerônimo <i>et al.</i> (2011)
		G, S	Ituporanga, Santa Catarina, Brazil	Jerônimo <i>et al.</i> (2011)
		G, S	Joinville, Santa Catarina, Brazil	Jerônimo <i>et al.</i> (2011)
		G, S	São Paulo, Brazil	Zago <i>et al.</i> (2014)
		S	ND, Brazil	Ikefuti <i>et al.</i> (2015)
		G	Santa Catarina, Brazil	Nunes <i>et al.</i> (2016)
		F, S	Santa Catarina, Brazil	Steckert (2017)
		F, S	State of Goiás, Brazil	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
		G	Huandacareo, Michoacán, Mexico	New record CRPH: C0011
	<i>Tilapia sparrmanii</i>	F, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983); Van As & Basson (1989)
<i>Trichodina maritinkae</i> Basson & Van As				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Riyadh, Saudi Arabia	Abdel-Baki <i>et al.</i> (2017)
<i>Trichodina migala</i> Van As & Basson				
	<i>Oreochromis aureus</i> x <i>Oreochromis niloticus</i>	F, G, S	Lehavot Habashan, Israel	Van As & Basson (1989)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	ND	Fish Farm, São Paulo, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2016)
		G	State of Goiás, Brazil	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
	<i>Tilapia</i> sp.	F, G, S	Lake Kinneret, Israel	Van As & Basson (1989)
<i>Trichodina minuta</i> Basson, Van As & Paperna				
	<i>Coptodon zillii</i>	G	Las Pocitas, Baja California Sur, Mexico	New record CRPH: C0012
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		F, G, S	Luphephe Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Orlando Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Letaba River & Pietersburg Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		F, G, S	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Van As <i>et al.</i> (1984)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
	<i>Tilapia sparrmanii</i>	F, G, S	Amalinda, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
<i>Trichodina mossambicus</i> Asmat				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G	Kalyani of Nadia District, India	Asmat (2005)
		G	Sarker Bari culture ponds, Bangladesh	Kibria <i>et al.</i> (2011)
<i>Trichodina mutabilis</i> Hirschmann & Partsch				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
		F, G, S	Giza, Egypt	Younis <i>et al.</i> (2009)
<i>Trichodina nigra</i> Lom				
	<i>Coptodon guineensis</i>	S	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	F, G, S	Luphephe Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	S	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
		G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
		F, S	Sinaloa, Mexico	Rodriguez-Santiago (2002); Morales-Serna <i>et al.</i> (2018)
		G, S	Tabasco, Mexico	Rodriguez-Santiago <i>et al.</i> (2019a)
	<i>Sarotherodon melanotheron</i>	S	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Tilapia sparrmanii</i>	F, G, S	Amalinda, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
<i>Trichodina nobilis</i> Chan				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	Amapá, Brazil	Bittencourt <i>et al.</i> (2014)
	<i>Tilapia</i> sp.	F, G, S	Lukang Fishery Station, Taiwan	Basson & Van As (1994)
<i>Trichodina oreochromisi</i> Asmat & Sultana				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G	Peerbari pond, Bangladesh	Asmat & Sultana (2005)
<i>Trichodina orientalis</i> Chen & Hsien				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		ND	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
<i>Trichodina pediculus</i> Ehrenberg				
	<i>Coptodon rendalli</i>	F, G, S	Cidra, Puerto Rico	Bunkley-Williams & Williams (1994)
		F, G, S	Guajataca, Puerto Rico	Bunkley-Williams & Williams (1994)
		F, G, S	La Plata, Puerto Rico	Bunkley-Williams & Williams (1994)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	ND	ND	Lom & Dyková (1992)
		F, G, S	Cartagena lagoon, Puerto Rico	Bunkley-Williams & Williams (1994)
		F, G, S	Cidra, Puerto Rico	Bunkley-Williams & Williams (1994)
		F, G, S	Lucchetti, Puerto Rico	Bunkley-Williams & Williams (1994)
		F, G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		F, G, S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
		F, S	Sinaloa, Mexico	Rodriguez-Santiago (2002); Morales-Serna <i>et al.</i> (2018)
		G, S	Tabasco, Mexico	Rodriguez-Santiago <i>et al.</i> (2019a)
<i>Trichodina siluri</i> Lom				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	S	Bureau of Fisheries and Aquatic Resources, National Freshwater Fish Hatchery, Muñoz de Nueva Ecija Province, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
<i>Trichodina velasquezae</i> Bondad-Reantaso & Arthur				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Visayas Brackishwater Aquaculture Center, Leganes, Iloilo Province, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
<i>Trichodina</i> sp.				
	<i>Alcolapia grahami</i> (Boulenger)	ND	Lake Nakuru, Kenya	Ong'ondo <i>et al.</i> (2013)
	<i>Oreochromis aureus</i>	F, G, S	Lajas, Puerto Rico	Bunkley-Williams & Williams (1994)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G, S	Luzon, Philippines	Guerrero & Monje (1980)
		G	Lowveld Fisheries Research Station, South Africa	Van As <i>et al.</i> (1984)
		G, S	Luzon, Philippines	Arthur & Lumanlan-Mayo (1997)
		G	Isla de los Mártires, Isla de Margarita, Venezuela	Moreno <i>et al.</i> (2008)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Luzon, Philippines	Guerrero & Monje (1980)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		G, S	Luzon, Philippines	Guerrero & Paycana (1981)
		G, S	Nile Delta, Egypt	El-Tantawy & Kazubzki (1986)
		G	Visayas Brackishwater Aquaculture Center, Leganes, Iloilo Prvince, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G	ND, Saudi Arabia	Afifi <i>et al.</i> (2000)
		G	Maringá, Brazil	Vargas <i>et al.</i> (2000)
		G	São Paulo, Brazil	Tavares-Dias <i>et al.</i> (2001)
		G	Paraná, Brazil	Cavichiolo <i>et al.</i> (2002)
		G	Floriano, Brazil	Vargas <i>et al.</i> (2003)
		S	Chiang Mai, Thailand	Chitmanat <i>et al.</i> (2005)
		G	Guarapiranga Reservoir, São Paulo, Brazil	Ranzani-Paiva <i>et al.</i> (2005)
		G, S	Ashanti, Ghana	Amoako (2006)
		G	Santa Catarina, Brazil	Azevedo <i>et al.</i> (2006)
		G	Maringá, Brazil	Leonardo <i>et al.</i> (2006)
		G, S	Floriano, Brazil	Braccini <i>et al.</i> (2007)
		G, S	ND, Malaysia	Braccini <i>et al.</i> (2007)
		G	Kafr El Sheikh, Egypt	Noor El Deen & Mohamed (2009)
		G	Ismailia, Egypt	Salama & Gharib (2009)
		F, G, S	Giza, Egypt	Younis <i>et al.</i> (2009)
		G	Paraná, Brazil	Schaedler (2010)
		G	Amapá, Brazil	Pantoja <i>et al.</i> (2011)
		F, G, S	ND, Uganda	Akoll <i>et al.</i> (2012)
		F, S	ND	Jiménez-García <i>et al.</i> (2012)
		G	Macapá, Amapá, Brazil	Pantoja, <i>et al.</i> (2012)
		F, G, S	Maros, Indonesia	Rahmi (2012)
		ND	Santa Catarina, Brazil	Bortoluzzi (2013)
		S	El Tal El Kabir-Sharkia, Egypt	Mohamed <i>et al.</i> , (2013)
		G	Brejo, Brazil	Bezerra (2014)
		F, S	ND, Indonesia	Ginting <i>et al.</i> (2014)
		F, G, S	Palembang, Indonesia	Nofyan <i>et al.</i> (2015)
		G, S	Bengal, India	Saha <i>et al.</i> (2015)
		G	Lingsar village, Indonesia	Supriadi & Janah (2015)
		G	Kampung Hyung, Menganitu District, Sangihe Island, Indonesia	Manurung & Gaghenggang (2016)
		S	Yucatán, Mexico	Paredes-Trujillo <i>et al.</i> (2016)
		G	São Paulo, Brazil	Silva (2016)
		G	ND, Saudi Arabia	Suliman & Al-Harbi (2016)
		G, S	Guanacaste, Costa Rica	Arguedas <i>et al.</i> (2017)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		G	São Paulo, Brazil	Dias-Neto <i>et al.</i> (2017)
		G	Santa Catarina, Brazil	Steckert <i>et al.</i> (2018)
		F, G, S	Ponte Vedra, Buenos Aires Province, Argentina	New record
		F, G, S	San Vicente, Buenos Aires Province, Argentina	New record
	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis aureus</i>	G, S	Florida, United States	Xu <i>et al.</i> (2015)
	<i>Oreochromis niloticus</i> x <i>Oreochromis mossambicus</i>	G, S	Luzon, Philippines	Guerrero & Monje (1980)
		ND	Amphoe Nong-Sua, Pathum Thani Province, Thailand	Sriwongpuk (2018)
	<i>Oreochromis</i> sp.	G, S	An Giang, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Binh Duong, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Ho Chi Minh, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G	Lima, Peru	Gonzales-Fernández (2012)
	<i>Tilapia</i> sp.	ND	ND, Egypt	Husien <i>et al.</i> (1997)
		ND	ND, Egypt	Eissa (2002)
		ND	ND, Egypt	Salama & Gharib (2009)
<i>Trichodinella epizootica</i> (Raabe)				
	<i>Coptodon rendalli</i>	G	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G	Letaba River & Pietersburg Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		G	Seshego Dam, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		G	Tompi Seleka Fisheries, South Africa	Basson <i>et al.</i> (1983)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	Huandacareo, Michoacán, Mexico	New record CRPH: C0013
<i>Trichodinella</i> sp.				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	State of Goiás, Brazil	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
<i>Tripartiella bulbosa</i> (Davis)				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G, S	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		G, S	Quang Ninh, Vietnam	Arthur & Te (2006)
<i>Tripartiella cichlidarum</i> Basson, Van As & Paperna				
	<i>Coptodon zilli</i>	G	Bar'am, Israel	Basson <i>et al.</i> (1983)
	<i>Oreochromis aureus</i>	G	El Rom, Israel	Basson <i>et al.</i> (1983)
		G	Nir David, Israel	Basson <i>et al.</i> (1983)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	River Nile, Tanta City, Egypt	El-Din & Naeim (1998)
<i>Tripartiella clavodonta</i> Basson & Van As				
	<i>Oreochormis mossambicus</i>	G	Hudson-Ntsanwisi Dam, South Africa	Basson & Van As (1987)

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
		G	Klein Letaba River, South Africa	Basson & Van As (1987)
		G	Mogalakwena River, South Africa	Basson & Van As (1987)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	Lake Buhi, Camarines Sur, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G	Visayas Brackishwater Aquaculture Center, Leganes, Iloilo Prvince, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		G	Mekong River Delta, Vietnam	Arthur & Te (2006)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
<i>Tripartiella copiosa</i> Lom				
	<i>Coptodon guineensis</i>	G	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Coptodon zillii</i>	G	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Sarotherodon melanotheron</i>	G	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
<i>Tripartiella kashkovskyi</i> Lom & Haldar				
	<i>Coptodon guineensis</i>	G	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
	<i>Seratherodon melanotheron</i>	G	ND, Benin	Maslin-Leny (1988)
<i>Tripartiella lechridens</i> Basson & Van As				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G	Klein Letaba River, South Africa	Basson & Van As (1987)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
<i>Tripartiella leptospina</i> Basson & Van As				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G	Klein Letaba River, South Africa	Basson & Van As (1987)
		G	Klipvoor Dam, South Africa	Basson & Van As (1987)
		G	Mogalakwena River, South Africa	Basson & Van As (1987)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
<i>Tripartiella nana</i> Basson & Van As				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	G	Nuanedzi River in the Limpopo River system, Republic of Venda, South Africa	Basson & Van As (1987)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
<i>Tripartiella obtusa</i> Ergens & Lom				
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	Northern Vietnam	Arthur & Te (2006)
<i>Tripartiella orthodens</i> Basson & Van As				

...Continued on the next page

TABLE I. (Continued)

Parasite	Host	Site	Locality	Reference
	<i>Coptodon rendalli</i>	G	Sabie River in the Komati River system, Transvaal, South Africa	Basson & Van As (1987)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	Fish Farm, Minas Gerais, Brazil	Valladão <i>et al.</i> (2016)
		G	Huandacareo, Michoacán, Mexico	New record CRPH: C0014
		G	State of Goiás, Brazil	Rodrigues <i>et al.</i> (2019)
<i>Tripartiella spatula</i> Van As & Basson				
	<i>Oreochromis mossambicus</i>	ND	ND	Lom y Dyková (1992)
<i>Tripartiella tilapiae</i> (Duncan)				
	<i>Coptodon zillii</i>	G	Central Luzon, State University, Nueva Ecija, Philippines	Duncan (1977)
	<i>Oreochromis niloticus</i>	G	Visayas Brackishwater Aquaculture Center, Leganes, Iloilo Prvince, Philippines	Bondad-Reantaso & Arthur (1989)
		ND	ND	Lom & Dyková (1992)

New data were also included. A total of 102 tilapia fishes collected from the farm “El Pescadito” Huandacareo, Michoacan (19° 56’ 24” N, 101° 18’ 36” W; n = 60), and the stream “Las Pocitas” Baja California Sur, (24° 24’ 10.5” N, 111° 06’ 12.9” W; n = 22), in Mexico, and the farms “Ponte Vedra” (34°44’44.1”S, 58°43’54.6”W; n = 10) and “San Vicente” (35°04’00.1”S, 58°31’01.9”W; n = 10), Buenos Aires Province, Argentina, were analyzed (the scientific names of these fishes are shown in Table 1). Gills from each host were obtained and placed in Petri dishes with tap water. Squash slides of gills and skin were made. Fresh skin smears were observed under stereomicroscope when searching for trichodinids; these slides were impregnated with silver-nitrate using Klein’s (1926) method, as recommended by Lom (1958), to observe the adhesive disc of trichodinids. Identification was made using specialized literature (Basson *et al.* 1983; Basson & Van As 1987; Kazubzki & El-Tantawy 1986; Van As & Basson 1989; Basson & Van As 1994; Tavares-Dias *et al.* 2013; Valladão *et al.* 2013). New data are indicated in Table 1 as a new record. Smears with representative specimens of each species were deposited at Colección de Referencia Parásito-Huésped, Laboratorio de Zoología Acuática (CRPH), UNAM, Mexico.

Results

The results of this compilation are presented in a parasite-host list (Table 1), and a host-parasite list (Table 2). Both, trichodinid parasite species and hosts for each trichodinid species are arranged alphabetically. The next category is the site, followed by the locality. The last category includes the bibliographical reference(s) from which the information was obtained. Information that has not been clearly or precisely presented by the authors is presented as not determined (ND). The host-parasite list shows the diversity of trichodinid species for each tilapia species. A total of 44 species/taxa of trichodinids are recorded from 15 host species from 162 localities belonging to 29 countries on four continents and present the first data from Argentina (Table 1). The list includes 371 records for *Trichodina* Ehrenberg, which was the most frequently recorded genus, followed by *Tripartiella* Lom (39), *Paratrachodina* Lom (26), and *Trichodinella* Sramek-Husek (7). The list also includes records for the species *Trichodina centrostrigata* Basson, Van As & Paperna, *T. compacta* Van As & Basson, *T. magna* Van As & Basson, *T. minuta* Basson, Van As & Paperna, *Trichodinella epizootica* (Raabe), *Tripartiella orthodens* Basson & Van As, and *Paratrachodina africana* Kazubski & El-Tantawy, resulting from the present examination of *Oreochromis niloticus* or *Coptodon zillii* (Figs 1, 2).

TABLE II. Host-parasite list of species of Trichodinidae recorded from tilapia

Host	Host common name	Parasite
<i>Alcolapia grahami</i>	Lake Magadi tilapia	<i>Trichodina</i> sp.
<i>Coptodon guineensis</i>	Guinean tilapia	<i>Trichodina acuta</i> <i>Trichodina latispina</i> <i>Trichodina nigra</i> <i>Tripartiella copiosa</i> <i>Tripartiella kashkovskiyi</i>
<i>Coptodon rendalli</i>	Redbreast tilapia	<i>Trichodina acuta</i> <i>Trichodina centrostrigeata</i> <i>Trichodina compacta</i> <i>Trichodina hypsilepis</i> <i>Trichodina kalimbeza</i> <i>Trichodina magna</i> <i>Trichodina pediculus</i> <i>Trichodinella epizootica</i> <i>Tripartiella orthodens</i>
<i>Coptodon zillii</i>	Redbelly tilapia	<i>Trichodina centrostrigeata</i> <i>Trichodina compacta</i> <i>Trichodina cottidarum</i> <i>Trichodina domerguei</i> <i>Trichodina hypsilepis</i> <i>Trichodina magna</i> <i>Trichodina minuta</i> <i>Tripartiella cichlidarum</i> <i>Tripartiella copiosa</i>
<i>Oreochromis andersonii</i>	Three spotted tilapia	<i>Trichodina centrostrigeata</i> <i>Trichodina compacta</i> <i>Trichodina linyanta</i> <i>Trichodina magna</i>
<i>Oreochromis aureus</i>	Blue tilapia	<i>Trichodina centrostrigeata</i> <i>Trichodina compacta</i> <i>Trichodina hypsilepis</i> <i>Trichodina magna</i> <i>Trichodina</i> sp. <i>Tripartiella cichlidarum</i>
<i>O. aureus</i> x <i>O. niloticus</i>	“Hybrid tilapia”	<i>Trichodina compacta</i> <i>Trichodina hypsilepis</i> <i>Trichodina migala</i>

... Continued on the next page

TABLE II. (Continued)

Host	Host common name	Parasite
<i>Oreochromis mossambicus</i>	Mozambique tilapia	<i>Paratrichodina africana</i>
		<i>Trichodina acuta</i>
		<i>Trichodina canton</i>
		<i>Trichodina centrostrigeata</i>
		<i>Trichodina compacta</i>
		<i>Trichodina fultoni</i>
		<i>Trichodina hypsilepis</i>
		<i>Trichodina magna</i>
		<i>Trichodina minuta</i>
		<i>Trichodina mossambicus</i>
		<i>Trichodina nigra</i>
		<i>Trichodina oreochromisi</i>
		<i>Trichodina pediculus</i>
		<i>Trichodina sp.</i>
		<i>Trichodinella epizootica</i>
		<i>Tripartiella clavodonta</i>
		<i>Tripartiella lechridens</i>
		<i>Tripartiella leptospina</i>
		<i>Tripartiella nana</i>
		<i>Tripartiella spatula</i>
<i>Oreochromis niloticus</i>	Nile tilapia	<i>Paratrichodina africana</i>
		<i>Paratrichodina incissa</i>
		<i>Trichodina acuta</i>
		<i>Trichodina centrostrigeata</i>
		<i>Trichodina compacta</i>
		<i>Trichodina domerguei</i>
		<i>Trichodina esocis</i>
		<i>Trichodina frenata</i>
		<i>Trichodina fultoni</i>
		<i>Trichodina hypsilepis</i>
		<i>Trichodina latispina</i>
		<i>Trichodina magna</i>
		<i>Trichodina maritinkae</i>
		<i>Trichodina migala</i>
		<i>Trichodina mutabilis</i>
		<i>Trichodina nigra</i>
		<i>Trichodina orientalis</i>
		<i>Trichodina pediculus</i>
<i>Trichodina siluri</i>		
<i>Trichodina velasquezae</i>		

...Continued on the next page

TABLE II. (Continued)

Host	Host common name	Parasite
		<i>Trichodina</i> sp. <i>Trichodinella epizootica</i> <i>Tripartiella bulbosa</i> <i>Tripartiella cichlidarum</i> <i>Tripartiella clavodonta</i> <i>Tripartiella copiosa</i> <i>Tripartiella kashkovskyi</i> <i>Tripartiella obtusa</i> <i>Tripartiella orthodens</i> <i>Tripartiella tilapiae</i>
<i>O. niloticus</i> x <i>O. aureus</i>	“Hybrid tilapia”	<i>Trichodina</i> sp.
<i>O. niloticus</i> x <i>O. mossambicus</i>	Red tilapia	<i>Trichodina centrostrigeata</i> <i>Trichodina compacta</i> <i>Trichodina hypsilepis</i> <i>Trichodina</i> sp.
<i>Oreochromis</i> sp.	“tilapia”	<i>Trichodina centrostrigeata</i> <i>Trichodina</i> sp.
<i>Sarotherodon melanotheron</i>	Blackchin tilapia	<i>Trichodina latispina</i> <i>Trichodina nigra</i> <i>Tripartiella copiosa</i> <i>Tripartiella kashkovskyi</i>
<i>Tilapia sparrmanii</i>	Banded tilapia	<i>Trichodina centrostrigeata</i> <i>Trichodina compacta</i> <i>Trichodina hypsilepis</i> <i>Trichodina magna</i> <i>Trichodina minuta</i> <i>Trichodina nigra</i>
<i>Tilapia</i> sp.	“tilapia”	<i>Paratrichodina africana</i> <i>Trichodina acuta</i> <i>Trichodina centrostrigeata</i> <i>Trichodina compacta</i> <i>Trichodina equatorialis</i> <i>Trichodina hypsilepis</i> <i>Trichodina migala</i> <i>Trichodina nobilis</i> <i>Trichodina</i> sp.

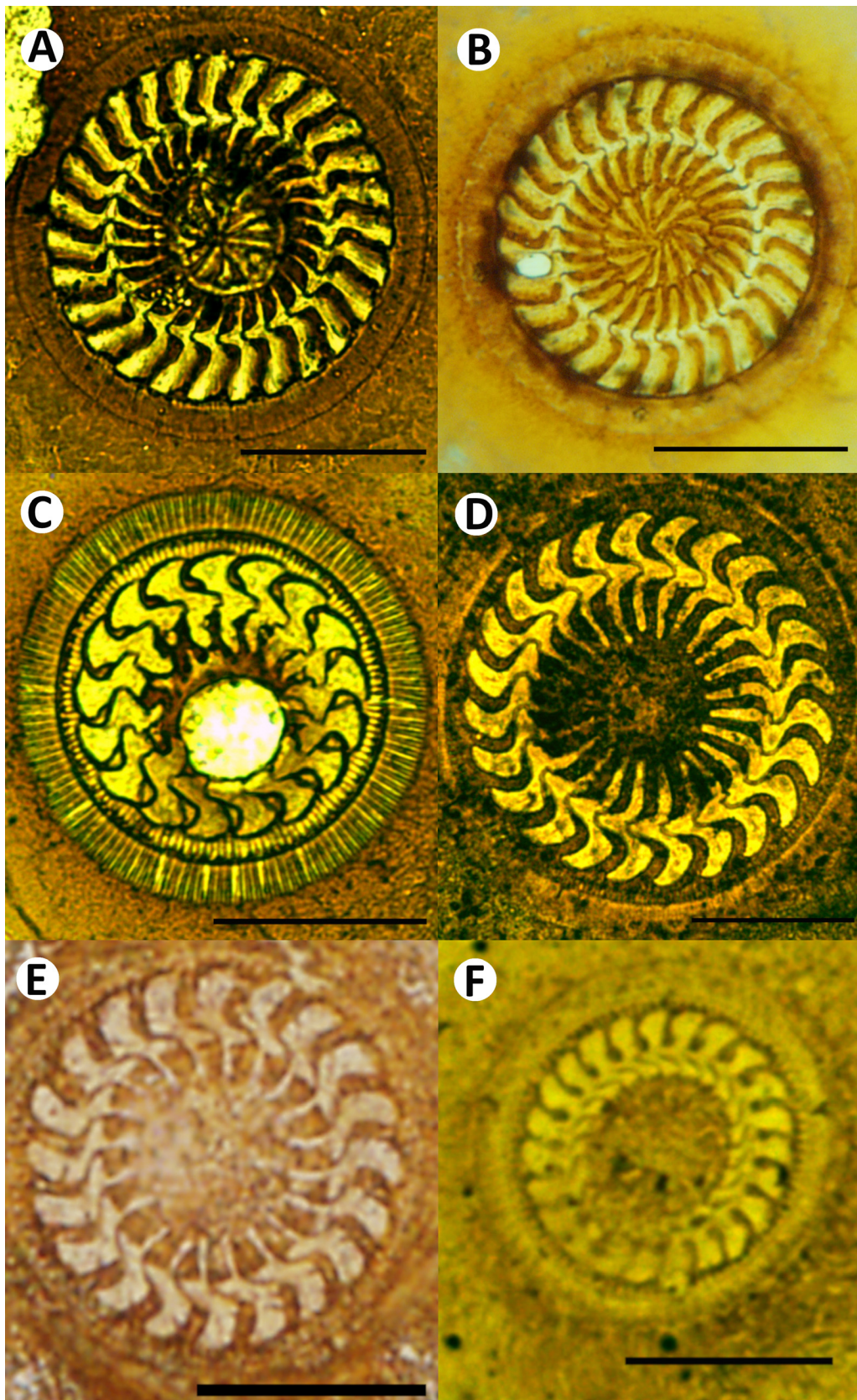


FIGURE 1. Photomicrographs of representative specimens from each of the populations studied. **A.** *Trichodina centrostrigata*, Huandacareo, Michoacán, Mexico; scale bar = 20 μm . **B.** *T. centrostrigata*, San Vicente, Buenos Aires, Argentina; scale bar = 20 μm . **C.** *T. compacta*, Huandacareo, Michoacán, Mexico; scale bar = 20 μm . **D.** *T. magna*, Huandacareo, Michoacán, Mexico; scale bar = 20 μm . **E.** *T. minuta*, Las Pocitas, Baja California Sur, Mexico; scale bar = 10 μm . **F.** *Trichodinella epizootica*, Huandacareo, Michoacán, Mexico, scale bar = 10 μm .

Discussion

The present study is the first publication that is gathering all available information about trichodinid parasites of tilapia. Tilapia is the common name of a wide spectrum of cichlid fishes but is more commonly used to designate species extensively cultured for human consumption, which are arranged in the genera *Alcolapia* Thys van den Audenaerde, *Coptodon* Gervais, *Oreochromis* Günther, *Sarotheron* Rüppell, and *Tilapia* Smith (De Silva *et al.* 2004). Because of their high prolificacy and tolerance to a wide range of environmental conditions, these species have been selected for aquaculture in order to provide a potentially affordable and high-yield source of protein to human (Canonico *et al.* 2005). For these reasons, these fishes are among the most important commercial freshwater species (Suliman & Al-Harbi 2016), being introduced to numerous countries worldwide, conferring them the current global distribution (De Silva *et al.* 2004).

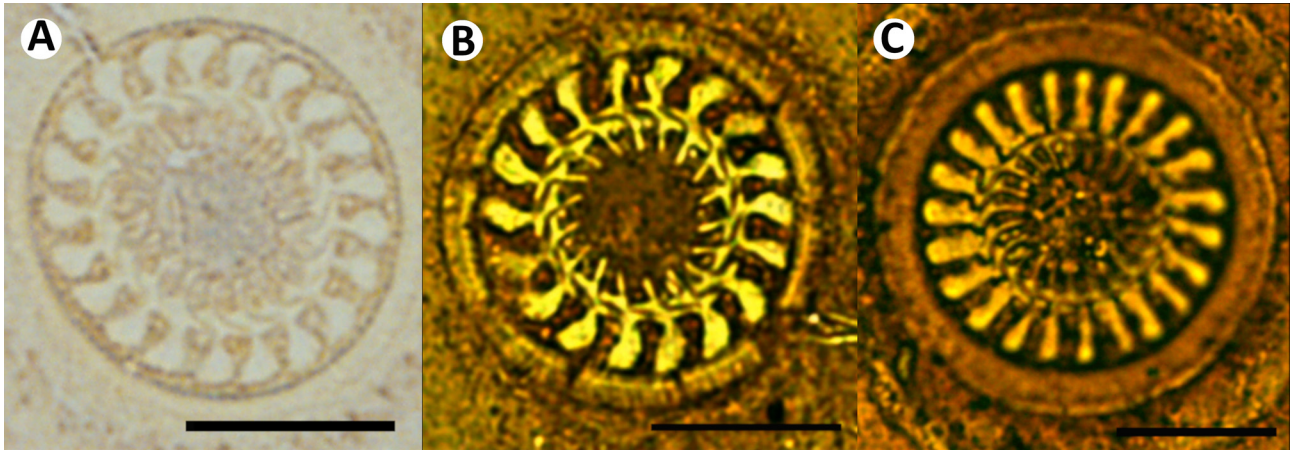


FIGURE 2. Photomicrographs of representative specimens from each of the populations studied. **A.** *Paratrichodina africana*, San Vicente, Buenos Aires, Argentina; scale bar = 10 µm. **B.** *P. africana*, Huandacareo, Michoacán, Mexico; scale bar = 10 µm. **C.** *Tripartiella orthodens*, Huandacareo, Michoacán, Mexico; scale bar = 10 µm.

Among parasites infesting tilapia, there are several species of trichodinids. Ciliates of the family Trichodinidae (Oligohymenophorea) are considered to be one of the most diverse groups of fish parasites (Valladão *et al.* 2013), affecting skin, fins and gills, and less frequently the eyes, mouth, gastrointestinal tract, urinary tract, and gonads (Van As & Basson 1987; Noga 2010; Valladão *et al.* 2014). The effects of these unicellular organisms on their hosts have been widely discussed by various authors, with some conflicting opinions. All trichodinids are considered to be essentially commensals (Lom & Dykova 1992, Basson & van As 2006), but earlier views works considered them to be parasitic, stating that host damage was inflicted by the abrasive action of the denticles in the adhesive disc when these ciliates rotate in one place (see Lom 1973). The same author later discarded this assumption when it became clear that the pellicle in fact covered the entire body, including the adhesive disc with the denticles. This pellicle clearly prevents any abrasive action of the denticles. While it is true that host epithelial cells are drawn into the adhesive disc during attachment when the ciliate is stationary, this disc and its affiliated denticles play no part in feeding (van As & Basson 1990; Basson & van As 2006). The feeding organelles are situated on the opposite side, with the adoral spiral of cilia collecting food particles from the surrounding water, i.e. by a filtering action. The collected food particles are then transported via the poly- and haplokineties towards the cytostome, present at the end of the infundibulum in trichodinids. Trichodinids, furthermore, never occur in large numbers on healthy fish, but in fish debilitated by others factors, or in fish fingerlings or young fry, the normal repellent ability of the host's surface is diminished. Under these conditions, some trichodinid species can proliferate massively. The constant skimming action or stationary attachment with epithelial cells drawn into the adhesive disc can potentially damage the epithelial and/or epidermal cells of the host, with consequent vacuolar degeneration, hypertrophy, hyperplasia of the gill filaments, or sub-epithelial oedema of secondary lamellae, and abrasion, ulcers, and other lesions. These actions normally facilitate secondary bacterial infections (Paperna 1991; Lom 1995; Barker *et al.* 2002; Abdel-Baki *et al.* 2011; Valladão *et al.* 2014; Ovcharenko 2015; Xu *et al.* 2015; Yokoyama *et al.* 2015; Meira-Filho *et al.* 2017; Smith & Schwarz 2019). According to Lom and Dykova (1992) trichodinids can be considered as true ectoparasites under these conditions where the adoral cilia transport the disrupted host cells and associated bacterial growth towards

the infundibulum. For this reason, Yokoyama et al. (2015) and Hashimoto et al. (2016) also consider trichodinids as facultative/opportunistic parasites, mainly due to their negative effect on individuals or population growth. Either way, the set of the symptoms caused by infestation with trichodinids is known as “trichodiniasis”, which have frequently been associated with mortality or growth impairment of cultured freshwater fishes in natural and artificial ponds (Abo-Esa 2008). This fish disease is particularly significant in aquaculture, where it causes a decrease in the immune response of vaccinated fish, chronic mortality during cage production and changes in vision and swimming in larvae, culminating in acute mortality (Martins et al. 2011; Valladão et al. 2013, 2014, 2016). The pathogenicity of trichodiniasis and the occurrence of host mortality depend on factors such as the intensity of the infestation, infestation site, host age, or co-infections, among others (Maciel et al. 2017). Because of their direct transmission, trichodinid ciliates invade their hosts within a short period, especially the fish kept under suboptimal conditions (Lom 1995). In temperate or cold localities, the occurrence of trichodinids in fishes seems to be influenced by seasonality (Nikolić & Simonović 1998a; Hossain et al. 2008; Yemmen et al. 2011; Özer et al. 2015; Maciel et al. 2017).

Several studies reported diverse negative effects associated with the presence of trichodinids, such as hemorrhage on the sides, trunk region, fins and scales, increased mucus production, paleness in the gills, congestion or interlamellar epithelial hyperplasia (Valladão et al. 2016; Steckert et al. 2018). Therefore, high mortality rates have been described for tilapia fishes from diverse countries (Noor El Deen & Mohamed 2009; Valladão et al. 2013; Xu et al. 2015; Valladão et al. 2016; Steckert et al. 2018), and presumably, trichodinids may be responsible for multiple unreported cases of tilapia’s mass mortality in most of the regions where these hosts are cultured. However, only Hassan (1999) and Valladão et al. (2016), carried out on cultured tilapia from Saudi Arabia and Brazil respectively, specifically used the term trichodiniasis to refer to the symptoms associated with this fish disease as a whole.

The compiled list presented below includes at least 44 species of trichodinids of the genera *Trichodina*, *Trichodinella*, *Tripartiella* and *Paratrachodina*. There are also numerous records indicated as *Trichodina* sp., presumably these belong to a wide species spectrum, which would increase the diversity of species parasitizing tilapia around the world. This high diversity of species suggests that tilapia represents a desirable living-environment for trichodinids. Among the recorded species of *Trichodina* genus, *T. hypsilepis* Wellborn (as *T. heterodentata* Duncan, see Table I) and *T. centrostrigeata* count more than 50 records (79 and 55, respectively), being also the most widely distributed, with reports from 12 and 13 countries, respectively (Table 1). Other frequently recorded species of *Trichodina* are *T. compacta* and *T. magna*.

There is a relatively high number of trichodinid taxa recorded for a relatively small core of host species, as can be appreciated from the list presented here. Since tilapia is one of the most extensively introduced group of freshwater fishes (Zambrano et al. 2006), these fishes have also been exposed to numerous interactions with very diverse aquatic fauna. In this sense, the presumable high diversity of trichodinids parasitizing tilapia could be a product of a core of species specialists for these fishes from its place of origin, such as *Paratrachodina africana*, *Trichodina compacta*, and *T. magna* (Bittencourt et al. 2014), and other more generalist components, which have colonized tilapia in different ways. There are numerous records of trichodinids made from different localities outside Africa, such as *Trichodina canton* Basson & Van As, *T. cottidarum* Dogiel, *T. domerguei* Wallengren, *T. esocis* Lom, *T. frenata* Van As & Basson, *T. latispina* Dogiel, *T. maritinkae* Basson & Van As, *T. migala* Van As & Basson, *T. mossambicus* Asmat, *T. nobilis* Chan, *T. oreochromisi* Asmat & Sultana, *T. orientalis* Chen & Hsien, *T. siluri* Lom, *T. velasquezae* Bondad-Reantaso & Arthur, *Tripartiella bulbosa* (Davis), *T. copiosa* Lom, *T. kashkovskiy* Lom & Haldar, *T. obtusa* Ergens & Lom, *T. tilapiae* (Duncan), and *Paratrachodina incissa* (Lom) (Maslin-Leny 1988; Bondad-Reantaso & Arthur 1989; Van As & Basson 1989; Lom & Dyková 1992; Basson & Van As 1994; Asmat & Sultana 2005; Arthur & Te 2006; Asmat 2005; Kibria et al. 2011; Bittencourt et al. 2014; Mhaisen et al. 2015; Valladão et al. 2016; Abdel-Baki et al. 2017; Mhaisen & Al-Rubaie 2018; and the present study), which have never been reported for tilapia fishes in their native African localities. The new reports from these non-native regions may be a result of the acquisition of new parasites favored by anthropogenic introduction. The acquisition of native parasites by exotic hosts seems to be a frequent but still understudied factor influencing the parasite composition (see Kelly et al. 2009; Paterson et al. 2012), which occurs due to the global translocations and introductions of fishes into non-native regions.

As another consequence of the anthropogenic introduction through the fish aquaculture, several of the trichodinid species recorded from tilapia have also been found on other fish hosts from diverse regions around the world. Origin and host preference of many of these species remain unclear, however, some species such as *Trichodina centrostrigeata* or *Paratrachodina africana*, have been considered to be strongly associated with tilapia (Van As

& Basson 1989; Paperna 1991; Valladão *et al.* 2016), being introduced into new areas through the anthropogenic dispersal of cichlids worldwide (Valladão *et al.* 2016). In addition to those African regions where tilapia is native, current distribution of these species includes other places from Africa, Asia, and North and South America (El-Tantawy & Kazubski 1986; Kazubski 1986; Mitra & Bandyopadhyay 2006; Pádua *et al.* 2015; Hashimoto *et al.* 2016; Present study). Along with species mentioned above, other species of trichodinids with a more moderate association with tilapia, such as *T. hypsilepis* (as *T. heterodentata*, see Table I) and *T. mossambicus*, have presumably been also co-introduced with other cichlid hosts (de Jager & Basson 2019; Wilson *et al.* 2019), while *T. acuta* Lom, *T. mutabilis* Kazubski & Migala, *T. nigra* Lom, *T. pediculus* Ehrenberg, and *Trichodinella epizootica*, have been confirmed as co-invader species (as indicated by Lymberry *et al.* 2014), which have colonized localities outside their natural distributional area (Africa) along with their intentionally introduced fish hosts (Smit *et al.* 2017). Tilapia fishes have been cultured with other animals living in fresh or brackish water, such as carp, mullet, catfish, prawns, and shrimps (El-Sayed 2006; Abdel-Baki *et al.* 2017), possibly causing the transmission of parasites from tilapia to other fish species (see Van As & Basson 1989). Also, spread of parasites is possible because tilapia frequently escape from the aquaculture system to natural habitats (Canonico *et al.* 2005). As a result of these probable co-introductions, most of these species are now widespread, infesting a wide host range, both cultured and wild.

As suggested above, several factors may explain the high species richness of trichodinids on tilapia, however, their current diversity could be overestimated due to lack of molecular data. It was shown that members of different populations show variation in denticle morphology and morphometrics, difficulting the specific discrimination. To date, several taxonomic assignments remain unconfirmed, hindering further taxonomic identifications, and promoting the proposals of possible diverse synonymies. Morphological taxonomic identification is a difficult task in trichodinids as characters used for specific descriptions require the use of high-resolution microscopy techniques, and a relatively specialized knowledge of diagnostical structures in this morphologically conservative group. Traditional morphometry has been a fundamental tool to distinguish between trichodinid species. However, in many cases, this is hampered by the high degree of variation that denticles present within a population or even within the same individual (Marcotegui *et al.* 2018). Even though the taxonomic analysis of the ciliates usually include a large number of useful characters helping to discriminate among species, the taxonomy of the trichodinids is mainly based on the dimensions and shape of denticles in the adhesive disc (Lom 1958; Van As & Basson 1989); thus, descriptions of some new species may be based on slight differences, which could be a consequence of natural morphological variations of a single species, artificially increasing the diversity. As a simple example, the current assignation of specimens to the species *Trichodina acuta* or *T. compacta* remains a challenge (Van As & Basson 1989; Ghiraldeh *et al.* 2006a). In this sense, taxonomic validity of only-once recorded species exhibiting similarities with other more frequent trichodinids, must be re-interpreted.

Molecular studies using DNA markers have become a common practice in taxonomic investigations of parasitic organisms, as an approach to solve taxonomic conflicts such as mentioned above (e.g., de Jager *et al.* 2019; Lagunas-Calvo *et al.* 2019), or to deliberately searching for evidence of cryptic species (Blouin 2002; Pérez-Ponce de León & Nadler 2010; Nadler & Pérez-Ponce de León 2011). Results derived from these works suggest that parasite species exhibiting low morphological variations actually constitute diverse cryptic complexes (e.g., Simon *et al.* 2008; Pérez-Ponce de León & Poulin 2018). Although the use of DNA-based taxonomy on trichodinids has been established relatively recently (Hertel *et al.* 2004; Gong *et al.* 2006), numerous studies have been published since (e.g., Gong *et al.* 2006; Zhan *et al.* 2013; Tang & Zhao 2013, 2016; Tang *et al.* 2013, 2017; Irwin & Lynn 2015; Fariya *et al.* 2017; Islas-Ortega *et al.* 2018; Marcotegui *et al.* 2018; de Jager *et al.* 2019; Wang *et al.* 2020). Although molecular data are available for many trichodinid species (e.g. *Trichodina belloti* Marcotegui, Montes, Barneche, Ferrari & Martorelli, *T. domerguei*, *T. modesta* Lom, *T. ruditapicis* Xu, Song & Warren, *T. truttae* Mueller, *T. pseudoheterodentata* Tang, Zhang & Zhao), currently, only a few sequences from tilapia-associated trichodinids have been published so far (but this have been done for non-tilapia hosts, e.g. *Trichodinella epizootica*, *Trichodina hypsilepis*, and *T. nobilis*), having only one sequence isolated directly from tilapia hosts, which was obtained for the species *Trichodina compacta* (Abdelkhalek *et al.* 2018). Conclusions from research on trichodinid species delimitation still remain unclear, however, further molecular data will contribute to reveal real species diversity of trichodinids.

Finally, we also added new records for trichodinids parasitizing tilapia from two localities in Mexico (North America) and other two localities from Argentina (South America). Most of the new records corresponded to ciliate species that have frequently been observed as parasites of cichlids around the world, for this reason, all of them are only new records of locality, however, the species *Trichodina minuta* and *Trichodinella epizootica* are reported here

for the first time on a new host species. There are reports of *Trichodina minuta* parasitizing diverse hosts in Africa (Basson & Cook 2018), while *Trichodinella epizootica* have been frequently recorded on numerous host species around the world (Nikolić & Simonović 1998b; Mitra & Haldar 2004; Aguilar-Aguilar & Islas-Ortega 2015; Saha & Bandyopadhyay 2016; Basson & Cook 2018); however, present records of these ciliates in Mexico constitute the first for each species in association with a tilapia host in the Americas. Additional relevance of this study is to provide the first data about trichodinids parasitizing tilapia in Argentina. Tilapia farming in Argentina started in the last third of the 20th century, mainly from the tropical and subtropical provinces of this country (Wicki & Gromenida 1998), however, this activity is still in its infancy. For this reason, the establishment of tilapia in the wide region of the Buenos Aires Province has been difficult (Wicki & Gromenida 1998). However, there are a few farms and breeding facilities where tilapia is produced nowadays. Monitoring of the tilapia culture, detecting the diversity of parasites, including trichodinids, is necessary to prevent a potential co-introduction of fish parasites to the Argentinian natural aquatic environments. In this sense, the first data on tilapia-associated trichodinids from Argentina presented here, result fundamental in the design of future conservation strategies of aquatic ecosystems in that country.

As could be appreciated, there is relatively sound knowledge on trichodinids present on tilapia. However, it is necessary to expand the research in those particular regions where tilapia have been introduced but trichodinids still remain understudied (e. g. Australia, Central America or China). In terms of animal production, the present work represents a useful piece of information, which must be complemented with similar information from other parasitic groups, in order to build a general view about some diseases affecting tilapia.

Acknowledgments

We thank Dr. Gorgonio Ruiz-Campos (Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California) for support in the field and identification of the tilapia fishes collected from Baja California, Mexico. Appreciation is also due to Luis Giambelluca for taking microphotographs at Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE, UNLP), Argentina. Tilapia from Buenos Aires province were provided for local producers of San Vicente and Ponte Vedra. We appreciate the valuable comments of the anonymous reviewer(s) and section editor that greatly improve the manuscript. A.G. Islas-Ortega is supported by a scholarship from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, Mexico), to complete her PhD program. A.G. Islas-Ortega wishes to also thank both Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) and Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de Mexico, for funding during a short-term stay at the CEPAVE, Argentina, and the University of the Free State, Bloemfontein, South Africa. R. Aguilar-Aguilar thanks the Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA, UNAM), for financial support during a sabbatical at CEPAVE, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

References

- Abd El-Galil, M.A.A. & Aboelhadid, S.M. (2012) Trials for the control of trichodiniosis and gyrodactylosis in hatchery reared *Oreochromis niloticus* fries by using garlic. *Veterinary Parasitology*, 185, 57–63.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.10.035>
- Abdel-Baki, A.S., Ghamdi, A. & Al-Quraishy, S. (2017) First record of three African trichodinids (Ciliophora: Peritrichida) in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Saudi Arabia with re-evaluation of their host specificity. *Parasitology Research*, 116, 1285–1291.
<https://doi.org/10.1007/s00436-017-5407-0>
- Abdel-Baki, A.S., Sakran, T., Fayed, H. & Zayed, E. (2011) *Trichodina fahaka* (Ciliophora: Peritrichia) in *Tetradon fahaka* from Nile River, Egypt: Seasonality and histopathology. *Scientific Research and Essays*, 6, 1583–1587.
<https://doi.org/10.5897/SRE10.1046>
- Abdelkhalek, N.K., El-Adl, M.A., Salama, M.F., Elmishmishy, B., Ali, M.O., El-Ashram, A., Hamed, M.F. & Al-Araby, M.A. (2018) Molecular identification of *Trichodina compacta* Van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Peritricha) from cultured *Oreochromis niloticus* in Egypt and its impact on immune responses and tissue pathology. *Parasitology Research*, 117, 1907–1914.
<https://doi.org/10.1007/s00436-018-5883-x>
- Abdul-Ameer, K.N. & Atwan, F.K. (2018) First record of *Trichodina magna* Van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Trichodinidae) from gills of blue tilapia *Oreochromis aureus* (Steindachner, 1864) in Iraq. *Ibn Al-Haitham Journal for Pure and*

Applied Science, Special Issue, 59–62.

<https://doi.org/10.30526/2017.IHSCICONF.1771>

- Abo-Esa, J.F.K. (2008) Study on some ectoparasitic diseases of catfish, *Clarias gariepinus* with their control by ginger, *Zingiber officinale*. *Mediterranean Aquaculture Journal*, 1, 1–10.
<https://doi.org/10.21608/maj.2008.2658>
- Afifi, S.H., Thobiati, A.L. & Hazaa, M.S. (2000) Parasitic lesions in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* from fish farms in Saudi Arabia. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 42, 183–194.
- Aguilar-Aguilar, R. & Islas-Ortega, A.G. (2015) A checklist of ciliate parasites (Ciliophora) of fishes from Mexico. *Zootaxa*, 4027 (2), 270–280.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.4027.2.6>
- Ahmed, A.K., Twafik, M.A.A. & Waffa, T.A. (2000) Some parasitic protozoa infecting fish from different localities of the River Nile, Egypt. *Egyptian Journal of Zoology*, 34, 59–79.
- Akoll, P., Konecny, R., Mwanja, W.W., Nattabi, J.K., Agoe, C. & Schiemer, F. (2012) Parasite fauna of farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and African catfish (*Clarias gariepinus*) in Uganda. *Parasitology Research*, 110, 315–323.
<https://doi.org/10.1007/s00436-011-2491-4>
- Ali, M.A. (1992) *Biological and ecological studies on protozoan parasites infecting cultured tilapia in Serow fish farm*. MSc thesis, Faculty of Sciences, Cairo University, Cairo, 100 pp.
- Amoako, M. (2006) *Infestation of ectoparasites on Nile tilapia (Oreochromis niloticus) in aquaculture production in the Ashanti region, Ghana*. MSc thesis, Department of Marine and Freshwater Biology, Norwegian College of fishery Science, University of Tromsø, 35 pp.
- Arguedas, D.C., Ortega, C.S., Martínez, S.C. & Astroza, A.C. (2017) Parasites of Nile tilapia larvae *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae) in concrete ponds in Guanacaste, Northern Costa Rica. *Cuadernos de Investigación UNED*, 9, 313–319.
<https://doi.org/10.22458/urj.v9i2.1904>
- Arthur, J.R. & Te, B.Q. (2006) *Checklist of the parasites of fishes of Viet Nam*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 133 pp.
- Arthur, J.R. & Lumanlan-Mayo, S. (1997) *Checklist of the parasite of fishes of the Philippines*. Food and Agriculture of the United Nations, Rome, 102 pp.
- Asmat, G.S.M. (2000) First record of *Trichodina acuta* Lom, 1961 (Ciliophora: Trichodinidae) from India. *The Chittagong University Journal Science*, 24, 63–70.
- Asmat, G.S.M. (2005) Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Trichodinidae) of fishes in India. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 1, 31–37.
- Asmat, G.S.M. & Sultana, N. (2005) Four new species of *Trichodina* Ehrenberg, 1830 (Ciliophora: Trichodinidae) from Bangladeshi fish. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 8, 895–900.
<https://doi.org/10.3923/pjbs.2005.895.900>
- Azevedo, T.M.P., Martins, M.L., Bozzo, F.R. & Moraes, F.R. (2006) Haematological and gill responses in parasitized tilapia from valley of Tijucas River, SC, Brazil. *Scientia Agricola (Piracicaba, Brazil)*, 62, 115–120.
<https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000200002>
- Barker, D.E., Cone, D.K. & Burt, M.D.B. (2002) *Trichodina murmanica* (Ciliophora) and *Gyrodactylus pleuronecti* (Monogenea) parasitizing hatchery-reared winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum): effects on host growth and assessment of parasite interaction. *Journal of Fish Diseases*, 25, 81–89.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2761.2002.00341.x>
- Basson, L. & Cook, C. (2018) Protista. In: Scholz, T., Vanhove, M.P.M., Smit, N., Jayasundera, Z. & Gelnar, M. (Eds), *A guide to the parasites of African freshwater fishes*. CEBioS, Royal Belgian Institute of Natural Sciences, Meise, pp. 141–167.
- Basson, L. & Van As, J.G. (1987) Trichodinid (Ciliophora: Peritricha) gill parasite of freshwater fish in South Africa. *Systematic Parasitology*, 9, 143–151.
<https://doi.org/10.1007/BF00012192>
- Basson, L. & Van As, J.G. (1994) Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of wild and cultured freshwater in Taiwan, with notes on their origin. *Systematic Parasitology*, 28, 197–222.
<https://doi.org/10.1007/BF00009518>
- Basson, L. & Van As, J.G. (2006) Trichodinidae and other ciliophorans (Phylum Ciliophora). In: Woo, P.T.K. (Ed.), *Fish diseases and disorders*. CAB International, Wallingford, pp. 154–182.
<https://doi.org/10.1079/9780851990156.0154>
- Basson, L., Van As, J.G. & Paperna, I. (1983) Trichodinid ectoparasites of cichlid and cyprinid fishes in South Africa and Israel. *Systematic Parasitology*, 5, 245–257.
<https://doi.org/10.1007/BF00009159>
- Bezerra, T.L.C. (2014) *Ectoparasitofauna e hematologia de tilapia do Nilo (Oreochromis niloticus) proveniente de cultivo intensivo na microrregião do Brejo Paraibano*. MSc thesis, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 55 pp.
- Bittencourt, L.S., Pinheiro, D.A., Cardenas, M.Q., Fernandes, B.M. & Tavares-Dias, M. (2014) Parasites of native Cichlidae populations and invasive *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in tributary of Amazonas River (Brazil). *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 23, 44–54.

<https://doi.org/10.1590/S1984-29612014006>

- Blouin, M.S. (2002) Molecular prospecting for cryptic species of nematodes: mitochondrial DNA versus internal transcribed spacer. *International Journal for Parasitology*, 32, 527–531.
[https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(01\)00357-5](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(01)00357-5)
- Bondad-Reantaso, M.G. & Arthur, J.R. (1989) Trichodinids (Protozoa: Ciliophora: Peritrichida) of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the Philippines. *Asian Fisheries Science*, 3, 27–44.
- Bortoluzzi, N.L. (2013) *Aspecto sanitário de pisciculturas do litoral sul catarinense*. Phd thesis, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 77 pp.
- Braccini, G.L., Vargas, L., Ribeiro, R.P., Takemoto, R.M., Lizama, M.A.P. & Fülber, V.M. (2007) Ectoparasitos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), das linhagens Chitralada e GIFT, em diferentes e alimentadas com dois níveis de proteína. *Acta Scientiarum Animal Sciences*, 29, 441–448.
<https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v29i4.1015>
- Bunkley-Williams, L. & Williams, E.H. (1994) *Parasites of Puerto Rican freshwater sport fishes*. Sportfish Disease Project. Department of Marine Sciences, University of Puerto Rico, Puerto Rico, 164 pp.
<https://doi.org/10.2307/3284515>
- Canonico, G.C., Arthington, A., McCrary, J.K. & Thieme, M.L. (2005) The effects of introduced tilapias on native biodiversity. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 5, 463–483.
<https://doi.org/10.1002/aqc.699>
- Cavichiolo, F., Vargas, L., Ribeiro, R.P., Morerira, H.L.M. & Leonardo, J.M. (2002) Níveis de suplementação de vitamina C na ração sobre a ocorrência de ectoparasitas, sobrevivência e biomassa em alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Acta Scientiarum*, 24, 957–964.
<https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v24i0.2449>
- Chitmanat, C., Tongdonmuan, K. & Nunsong, W. (2005) The use of crude extracts from traditional medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 27, 259–364.
- Coward, K. & Bromage, N.R. (2000) Reproductive physiology of female tilapia broodstock. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10, 1–25.
<https://doi.org/10.1023/A:1008942318272>
- de Jager, G.P. & Basson, L. (2019) Taxonomic assessment of three North American trichodinids by reevaluating the taxon validity of *Trichodina heterodontata* Duncan, 1977 (Peritrichia). *Acta Protozoologica*, 58, 125–139.
<https://doi.org/10.4467/16890027AP.19.013.11914>
- de Jager, G.P., Basson, L. & van Marwijk, J. (2019) A new *Trichodina* species (Peritrichia: Mobilida) from anuran tadpole hosts, *Scelerophrys* spp. in the Okavango Panhandle, Botswana, with comments on this taxon. *Acta Protozoologica*, 58, 141–153.
<https://doi.org/10.4467/16890027AP.19.014.11915>
- De Silva, S.S., Subasinghe, R.P., Bartley, D.V. & Lowther, A. (2004) *Tilapias as alien aquatics in Asia and the Pacific: a review*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 65 pp.
- Dias-Neto, J., Valladao, G.M.R., Viadanna, P.H.O. & Pilarski, F. (2017) Homeopathic complex increases survival without affecting the performance of Nile tilapia during masculinization. *Journal of Applied Aquaculture*, 29, 33–45.
<https://doi.org/10.1080/10454438.2016.1274705>
- 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.
<https://doi.org/10.2307/3225966>
- Eissa, I.A.M. (2002) *Parasitic fish diseases in Egypt*. Dar El-Nahda El- Arabia Publishing, Cairo, 160 pp.
- Eissa, I.A.M., Derwa, H.I., Nooreldeen, A.E. & Abdelhady, M.S. (2013) Studies on the prevailing ectoparasitic protozoal diseases in wild and cultured *Oreochromis niloticus* with reference to control. *The Global Journal of Fisheries and Aquaculture Researches*, 6, 57–64.
- El-Din, N.S. & Naiem, E.S. (1998) Ciliates of the genera *Trichodina*, *Tripartiella* and *Paratrichodina* invading the Nile fish *Clarias lazera* and *Oreochromis niloticus*. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 2, 35–49.
<https://doi.org/10.21608/ejabf.1998.1623>
- El-Sayed, M.A. (1999) Alternative dietary protein sources for farmed tilapia, *Oreochromis* spp. *Aquaculture*, 179, 149–168.
[https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00159-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00159-3)
- El-Sayed, M.A. (2006) *Tilapia culture*. EBL-Schweitzer, CAB International Publishing, Oxfordshire, 277 pp.
<https://doi.org/10.1079/9780851990149.0000>
- El-Tantawy, S.A.M. & Kasubzki, S.L. (1986) The trichodinid ciliates from fish, *Tilapia nilotica* from the Nile Delta (Egypt). *Acta Protozoologica*, 25, 439–444.
- Fajer, A.E., Martínez, P.M., & Silveira, C.R. (1997) *Trichodina centrostrigata* Basson, Van As & Paperna, 1983 (Peritrichida: Trichodinidae) from *Oreochromis aurea* Steindachner, 1864 in super-intensive culture, first record to Cuba. XIII Congreso Latinoamericano de Parasitología (FLAP). La Habana, Cuba, 286 pp.

- Fariya, N., Abidi, R. & Chauhan, U.K. (2017) Morphological and molecular description of a new species, *Trichodina cirhinii* sp. nov. (Ciliophora: Trichodinidae), infesting native freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. *Journal of Biological Sciences and Medicine*, 3, 10–17.
- Froese, R & Pauly, D. (2020) FishBase, World Wide Web electronic publication. Available from: <http://www.fishbase.org> (accessed 18 May 2020)
- Ghiraldelli, L., Martins, M.L., Adamante, W.B. & Yamashita, M.M. (2006a) First record of *Trichodina compacta* van As and Basson, 1989 (Protozoa: Ciliophora) from cultured Nile tilapia in the state of Santa Catarina, Brazil. *International Journal of Zoological Research*, 2, 369–375.
<https://doi.org/10.3923/ijzr.2006.369.375>
- Ghiraldelli, L., Martins, M.L., Jerônimo, G.T., Yashimata, M.M. & Adamante, W.B. (2006b) Ectoparasites communities from *Oreochromis niloticus* cultivated in the state of Santa Catarina, Brazil. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 1, 181–190.
<https://doi.org/10.3923/jfas.2006.181.190>
- Ghiraldelli, L., Martins, M.L., Yashimata, M.M. & Jerônimo, G.T. (2006c) Ectoparasites influence on the haematological parameters of Nile tilapia and carp in the State of Santa Catarina, South Brazil. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 1, 270–276.
<https://doi.org/10.3923/jfas.2006.270.276>
- Ghoneim, A.M. (1998) *Studies on some ectoparasitic protozoans and monogeneans infecting some bony fishes in Damietta province*. MSc thesis Faculty of Sciences (Damietta)-Mansoura, University of Egypt, Giza City, Giza, 246 pp.
- Ghoneim, W.M., Khalil, R.H., Saad, T.T., Tanekhy, M. & Abdel-Latif, H.M.R. (2015) Ectoparasite fauna of cultured African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822), El-Behera province, Egypt. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 3, 19–22.
- Ginting, D.S.B., Yunasfi, D. & Nurmatias N. (2014) The effectiveness of herbal plant extract to infection of ectoparasites on tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Aquacoastmarine*, 3, 10–23.
- Gong, Y., Yu, Y., Villalobo, E., Zhu, F. & Miao, W. (2006) Reevaluation of the phylogenetic relationship between mobilid and sessilid peritrichs (Ciliophora, Oligohymenophorea) based on small subunit rRNA genes sequences. *Journal of Eukariotic Microbiology*, 53, 397–403.
<https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2006.00121.x>
- Gonzales-Fernández, J.G. (2012) Parasitofauna en tilapia causante de mortalidad en alevinos en dos centros de cultivos, Lima, Perú. *Neotropical Helminthology*, 6, 219–229.
- Guerrero, L.A. & Monje, P.M. (1980) Technical report. Common ectoparasites of *Tilapia* spp. *Freshwater Aquaculture Center, Central Luzon State University, Technical Report*, 18, 15–18.
- Guerrero, L.A. & Paycana, J.B. (1981) Identification and culture of parasitic protozoans of *Tilapia nilotica*. *Freshwater Aquaculture Center, Central Luzon State University, Technical Report*, 20, 39–41.
- Hashimoto, G.S.O., Marchiori, N.C., Pádua, S.B., Ishikawa, M.M., Garcia, J.R.E., & Martins, M.L. (2016) A new species of *Trichodina* Ehrenberg, 1830 (Ciliophora: Trichodinidae) from *Rhamdia quelen* (Siluriformes: Heptapteridae) and *Gymnotus* sp. (Teleostei: Gymnotidae) in Brazil. *Acta Parasitologica*, 61, 707–712.
<https://doi.org/10.1515/ap-2016-0099>
- Hashimoto, G., Marchiori, N.C., Tavares-Dias, M. & Martins, M.L. (2011) Paratrichodina africana *Kazubski & El-Tantawy, 1986* (Ciliophora: Trichodinidae) em brânquias de tilápia do Nilo salvagem e cultivada no Norte do Brasil. Symposium at the meeting of Aquapesca Brasil, Feria Internacional da Pesca e Aquicultura, Brazil (November). Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/915310/paratrichodina-africana-kazubski-el-tantawy-1986-ciliophora-trichodinidae-em-branquias-de-tilapia-do-nilo-selvagem-cultivada-no-norte-do-brasil> (accessed 9 December 2020)
- Hassan, M.A.H. (1999) Trichodiniasis in farmed freshwater tilapia in eastern Saudi Arabia. *Journal of King Abdulaziz University: Marine Science*, 10, 157–168.
<https://doi.org/10.4197/mar.10-1.11>
- Hertel, L.A., Barbosa, C.S., Santos, R.A.A.L. & Loker, E.S. (2004) Molecular identification of symbionts from the pulmonate snail *Biomphalaria glabrata* in Brazil. *Journal of Parasitology*, 90, 759–763.
<https://doi.org/10.1645/GE-223R>
- Hossain, M.D., Hossain, M.K., Rahman, M.H., Akter, A. & Khanom, D.A. (2008) Prevalence of ectoparasites of carp fingerlings at Santaher, Bogra. *University Journal of Zoology, Rajshahi University*, 27, 17–19.
<https://doi.org/10.3329/ujzru.v27i0.1947>
- Husien, M.M., El-Khatib, N.R.H. & Riad, E.M. (1997) Studies on enteric red mouth disease (REM) among freshwater fish. *Veterinary Medical Journal*, 45, 549–559.
- Hussein, A.N.A., Rabie, S.A., Mohammed, N.E. & Hussein, N.M. (2012) *Trichodina* parasites infections on gills on some freshwater fishes from Qena, Egypt. *Research and Reviews: A Journal of Life science*, 2, 53–64.
- Ikefuti, C.V., Carraschi, S.P., Barbuio, R., Cruz, C., Pádua, S.B., Onaka, E.M. & Ranzani-Paiva, M.J.T. (2015) Teflubenzuron as a tool for control of trichodinids in freshwater fish: Acute toxicity and *in vivo* efficacy. *Experimental Parasitology*, 154, 108–112.
<https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.04.007>
- Irwin, N.A.T. & Lynn, D.H. (2015) Molecular phylogeny of mobilid and sessilid ciliates symbiotic in eastern Pacific limpets

- (Mollusca: Patellogastropoda). *Journal of Eukariotic Microbiology*, 62, 543–552.
<https://doi.org/10.1111/jeu.12208>
- Islas-Ortega, A.G., Aguilar-Aguilar, R., Marcotegui, P., Martorelli, S., Hernández-Mena, D.I. & Pérez-Ponce de León, G. (2018) Morphology and sequence data of Mexican populations of the ciliate parasite of marine fishes *Trichodina rectuncinata* (Ciliophora: Trichodinidae). *Acta Protozoologica*, 57, 145–151.
<https://doi.org/10.4467/16890027AP.18.012.8986>
- Jansen, M.D., Dong, H.T. & Mohan, C.V. (2019) Tilapia lake virus: a threat to the global tilapia industry? *Reviews in Aquaculture*, 11, 725–739.
<https://doi.org/10.1111/raq.12254>
- Jerônimo, G.T., Speck, G.M., Cechinel, M.M., Gonçalves, E.L.T. & Martins, M.L. (2011) Seasonal variation on the ectoparasitic communities of Nile tilapia cultured in three regions in southern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 71, 365–373.
<https://doi.org/10.1590/S1519-69842011000300005>
- Jiménez-García, I., Rojas-García, C.R., Castro-José, C.N., Pavón-Suriano, S., Lango-Reynoso, F. & Castañeda-Chávez, M.R. (2012) Growth enhancement, survival and decrease of ectoparasitic infections in masculinized Nile tilapia fry in a recirculating aquaculture system. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15, S51–S56.
- Kazubski, S.L. (1986) The trichodinid ciliates from fish, *Tilapia* sp. from Lake Victoria (Kenya) and description of *Trichodina equatorialis* nom. nov. *Acta Protozoologica*, 25, 445–448.
- Kazubski, S.L. & El-Tantawy, S.A.M. (1986) The ciliate *Paratrachodina africana* sp. n. (Peritricha, Trichodinidae) from *Tilapia* fish (Cichlidae) from Africa. *Acta Protozoologica*, 25, 433–438.
- Kelly, D.W., Paterson, R.A., Townsend, C.R., Poulin, R. & Tompkins, D.M. (2009) Parasites spillback: A neglected concept in invasion ecology? *Ecology*, 90, 2047–2056.
<https://doi.org/10.1890/08-1085.1>
- Kibria, M. & Asmat, G.S.M. (2019) An addition of a trichodinid parasite (Ciliophora: Trichodinidae) from cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) (Linnaeus, 1758) in Bangladesh. *I3 Biodiversity*, 6, 1–11.
<https://doi.org/10.3329/jbcbm.v3i2.36024>
- Kibria, M., Islam, H., Habib, M.M.A., Shutrathar, L.C. & Asmat, G.S.M. (2011) Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Trichodinidae) from the gills of freshwater fishes in the Shitalakhsya River, Bangladesh. In: Bandyopadhyay, P.K. (Ed.), *22nd National Congress of Parasitology*, Department of Zoology, University of Kalyani, Kalyani, West Bengal, pp. 131–134.
- Klein, B.N. (1926) Die silberliniensysteme der ciliaten, ihr verhalten während eilung und conjugation. *Archiv für Protistenkunde*, 58, 55–142.
- Klett, V. & Meyer, A. (2002) What, if anything, is a Tilapia?—Mitochondrial ND2 phylogeny of Tilapiines and the evolution of parental care systems in the African cichlid fishes. *Molecular Biology and Evolution*, 19, 865–883.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004144>
- Kotob, M.H., Menanteau-Ledouble, S., Kumar, G., Abdelzaher, M. & El-Matbouli, M. (2016) The impact of co-infections on fish: A review. *Veterinary Research*, 47, 98.
<https://doi.org/10.1186/s13567-016-0383-4>
- Lagunas-Calvo, O., Aguilar-Aguilar, R., Islas-Ortega, A.G. & Martínez-Aquino, A. (2016) Parásitos de peces dulceacuicolas de la porción oaxaqueña de la provincia biogeográfica Sierra Madre del Sur. In: Luna-Vega, I., Espinosa, D. & Contreras-Medina, R. (Eds.), *Biodiversidad de la Sierra Madre del Sur*. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, pp. 313–323.
- Lagunas-Calvo, O., Santacruz, A., Hernández-Mena, D.I., Rivas, G., Pérez-Ponce de León, G. & Aguilar-Aguilar, R. (2019) Taxonomic status of *Rhabdochona ictaluri* (Nematoda: Rhabdochonidae) based on molecular and morphological evidence. *Parasitology Research*, 118, 441–452.
<https://doi.org/10.1007/s00436-018-6189-8>
- Leonardo, J.M.L.O., Pereira, J.V. & Krajevieski, M.E. (2006) Ocorrência de ectoparasitas e estacionalidade em alevinos de tilápia-do-Nilo (*Oreochromis niloticus*) após a recensão sexual, na região noroeste do Paraná. *Iniciação Científica CESUMAR*, 8, 185–191.
- Lom, J. (1958) A contribution to the systematic and morphology of endoparasitic trichodinids from amphibians with a proposal uniform specific characteristic. *Journal of Protozoology*, 5, 251–263.
<https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.1958.tb02563.x>
- Lom, J. (1973) The adhesive disc of *Trichodinella epizootica*, ultrastructure and injury to the host tissue. *Folia Parasitologica*, 20, 193–202.
- Lom, J. (1995) Trichodinidae and other ciliates (Phylum Ciliophora). In: Woo, P.T.K. (Ed.), *Fish diseases and disorders, Vol 1. Protozoan and metazoan infections*. CAB International, Wallingford, pp. 229–262.
- Lom, J. & Dyková, I. (1992) *Protozoan parasites of fishes*. Elsevier, California, 316 pp.
<https://doi.org/10.2307/3283600>
- Lowe-McConnell, R.H. (1959) Breeding behaviour patterns and ecological differences between *Tilapia* species and their significance for evolution within the genus *Tilapia* (Pisces: Cichlidae). *Proceedings of the Zoological Society of London*, 132, 1–30.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1959.tb05510.x>
- Lymbery, A.J., Morine, M., Kanani, H.G., Beatty, S.J. & Morgan, D.L. (2014) Co-invaders: The effects of alien on native hosts.

- International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 3, 171–177.
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.04.002>
- Maciel, P.O., Garcia, F., Chagas, E.C., Fujimoto, R.Y. & Tavares-Dias, M. (2017) Trichodinidae in commercial fish in South America. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 28, 33–56.
<https://doi.org/10.1007/s11160-017-9490-1>
- Manurung, U.N. & Gaghenggang, F. (2016) Identification and prevalence of ectoparasite on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in Kampung Hiung, Manganitu District, Sangihe Island Regency. *Budidaya Perairan Mei*, 4, 26–30.
<https://doi.org/10.35800/bdp.4.2.2016.13053>
- Marcotegui, P.S., Montes, M.M., Barneche, J., Ferrari, W. & Martorelli, S. (2018) Geometric morphometric on a new species of Trichodinidae. A tool to discriminate trichodinid species combined with traditional morphology and molecular analysis. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 7, 228–236.
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.06.004>
- Martins, J.D.H. (2008) Caracterização de *Trichodina magna* e *T. compacta* (Protozoa: Ciliophora: Peritrichia) em *Tilápia do Nilo cultivada no Estado de Santa Catarina*. Thesis, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, 16 pp.
- Martins, M.L., Azevedo, T.M.P., Ghiraldelli, L. & Bernardi, N. (2010) Can the parasitic fauna on Nile tilapias be affected by different production systems? *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 82, 493–500.
<https://doi.org/10.1590/S0001-37652010000200024>
- Martins, M.L. & Ghiraldelli, L. (2008) *Trichodina magna* van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Peritrichia) from cultured Nile tilapia in the state of Santa Catarina, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 68, 169–172.
<https://doi.org/10.1590/S1519-69842008000100024>
- Martins, M.L., Shoemaker, C.A., Xu, D. & Klesius, P.H. (2011) Effect of parasitism on vaccine efficacy against *Streptococcus iniae* in Nile tilapia. *Aquaculture*, 314, 18–23.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.01.022>
- Maslin-Leny, Y. (1988) Répartition des Trichodines (Ciliés, Péritriches, Urceolariidae) épibiontes des poissons des lagunes du sud Bénin (Afrique del l’Ouest). *Revue d’Hydrobiologie Tropicale*, 21, 35–46.
- Meira-Filho, M.R.C., Ramirez, J.R.B., Vianna, R.T. & Júnior, J.P. (2017) Efficacy of glacial acetic acid in the control of *Trichodina* sp. and *Apiosoma* sp. associated with *Mugil liza*. *Aquaculture*, 479, 7–12.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.014>
- Mhaisen, F.T. & Al-Rubaie, A.R.L. (2018) Checklist of fish parasites of Babylon province of Iraq, exclusive of farm fishes. *Biological and Applied Environmental Research*, 2, 57–110.
- Mhaisen, F.T., Al-Rubaie, A.R.L. & Al-Sa’adi, B.A.H. (2015) Ciliophoran and myxozoan parasites of fishes from the Euphrates River al Al-Musaib city, Babylon Province, Mid Iraq. *American Journal of Biology and Life Science*, 3, 12–16.
- Mitra, A.K. & Bandyopadhyay, P.K. (2006) First record of ectoparasitic African trichodinids (Ciliophora: Peritrichida) in a cichlid fish *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) from the Churni River system, West Bengal, India. *Animal Biology*, 56, 323–333.
<https://doi.org/10.1163/157075606778441912>
- Mitra, A.K. & Haldar, D.P. (2004) First record of *Trichodinella epizootica* (Raabe, 1950) Sramek-Hušek, 1953, with description of *Trichodina notopteridae* sp. n. (Ciliophora: Peritrichida) from freshwater fishes of India. *Acta Protozoologica*, 43, 269–274.
- Mohamed, S.M., Magdy, I.H., Olfat, A.M., Ebtsam, A.T. & Nesreen, S.Y. (2013) Role of oligosaccharides as biological additives in cultured *Oreochromis niloticus*. *Journal of Aquaculture Research and Development*, 5, 207.
<https://doi.org/10.4172/2155-9546.1000207>
- Morales-Serna, F.N., Medina-Guerrero, R.M., Pimentel-Acosta, C., Ramírez-Tirado, H. & Fajer-Ávila, E.J. (2018) Parasite infections in farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in Sinaloa, Mexico. *Comparative Parasitology*, 85, 212–216.
<https://doi.org/10.1654/1525-2647-85.2.212>
- Moreno, A.Z., Fuentes, J.L., Mago, Y. & Chinchilla, O. (2008) Descripción, taxonomía e índices ecológicos de parásitos en peces de la Laguna de los Mártires, Isla de Margarita, Venezuela. *Saber, Universidad de Oriente*, 20, 3–11.
- Nadler, S.A. & Pérez-Ponce de León, G. (2011) Integrating molecular and morphological approaches for characterizing parasite cryptic species: implications for parasitology. *Parasitology*, 138, 1688–1709.
<https://doi.org/10.1017/S003118201000168X>
- Natividad, J.M., Bondad-Reantaso, M.G. & Arthur, J.R. (1986) Parasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the Philippines. In: Maclean, J.L., Dizon, L.B. & Hosilos, L.V. (Eds.), *The first Asian fisheries forum proceedings*, Asian Fish Forum, Manila, pp. 255–259.
- Nikolić, V.P. & Simonović, P.D. (1998a) Seasonal dynamics of carp infestation by *Trichodina nobilis* Chen, 1963 (Peritricha, Ciliata) in two fish-ponds in Banat. *Tiscia*, 31, 59–61.
- Nikolić, V.P. & Simonović, P.D. (1998b) *Trichodinella epizootica* (Raabe, 1950) (Protozoa: Ciliata) a new species for the Yugoslav fish-parasite fauna. *Ichthyologia*, 30, 39–41.
- Nofyan, E., Ridho, M.R. & Fitri, R. (2015) *Identifikasi dan prevalensi ektoparasit dan endoparasit pada ikan nila (Oreochromis niloticus) di kolam budidaya Palembang, Sumatera selatan*. *Prosiding Semirata bidang MIPA BKS-PTN Barat*, Universitas Tanjungpura Pontianak, Pontianak, West Kalimantan, pp. 19–28.

- Noga, E.J. (2010) *Fish disease: diagnosis and treatment*. Iowa State University Press, Iowa, 536 pp.
<https://doi.org/10.1002/9781118786758>
- Noor El Deen, A.I.E. & Mohamed, R.A. (2009) Application of some medicinal plants to eliminate *Trichodina* sp. in tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Report and Opinion*, 1, 1–5.
- Nunes, G.C., Jerônimo, G.T., Vicente, L.R.M., Madi, R.R., Valladão, G.M.R. & Martins, M.L. (2016) Trace elements and parasitism in Nile tilapia farmed in the Southern Brazil. *Boletim do Instituto de Pesca*, 42, 578–589.
<https://doi.org/10.20950/1678-2305.2016v42n3p578>
- Oldewage, W.H. (1985) *Studies on winter mortalities of cichlid fishes in Hartbeespoort Dam*. MSc thesis, Faculty of Natural Sciences, Rand Afrikaans University, Johannesburg, Gauteng, 103 pp.
- Ong'ondo, G.O., Wamalwayaasindi, A., Oduor, S.O., Jost, S., Schagerl, M., Sonntag, B. & Boenigk, J. (2013) Ecology and community structure of ciliated protist in two alkaline—saline Rift Valley lakes in Kenya with special emphasis on *Frontonia*. *Journal of Plankton Research*, 35, 759–771.
<https://doi.org/10.1093/plankt/fbt044>
- Ovcharenko, M. (2015) Microparasites of worldwide mullets. *Annals of Parasitology*, 61, 229–239.
<https://doi.org/10.17420/ap6104.12>
- Özer, A. & Öztürk, T. (2015) Trichodinid fauna of freshwater fishes with infestation indices in the Lower Kizilirmak delta in Turkey and a checklist of trichodinids (Ciliophora: Trichodinidae) in Turkish waters. *Turkish Journal of Zoology*, 39, 749–761.
<https://doi.org/10.3906/zoo-1407-13>
- Özer, A., Öztürk, T., Kornychuk, Y.M. & Yurakhno, V. (2015) *Trichodina gobii* (Ciliophora: Trichodinidae) on whiting *Merlangius merlangus* with a checklist from Turkish and Russian coasts of the Black sea. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 62, 119–134.
<https://doi.org/10.17109/AZH.61.2.119.2015>
- Pádua, S.B., Menezes-Filho, R.N., Martins, M.L., Belo, M.A.A., Ishikawa, M.M., Nascimento, C.A., Saturnino, K.C. & Carrijo-Maud, J.R. (2015) A survey of epitheliocystis disease in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) in Brazil. *Journal of Applied Ichthyology*, 31, 927–930.
<https://doi.org/10.1111/jai.12840>
- Pantoja, W.M.F., Neves, L.R., Dias, M.R.D., Marinho, R.G.B., Montagner, D. & Tavares-Dias, M. (2012) Protozoan and metazoan parasites of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* cultured in Brazil. *Revista MVZ Córdoba*, 17, 2812–2819.
<https://doi.org/10.21897/rmvz.248>
- Pantoja, W.M.F., Tavares-Dias, M., Pinhero, D.A., Dias, M.K.R., Marinho, R.G.B., Montagner, D. & Neves, L.R. (2011) *Fauna parasitária de tilapia-do-Nilo de quatro piscicultoras de Macapá, Estado do Amapá*. Congresso Brasileiro de Engenharia de Pesca, Belém (December). Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/914551/fauna-parasitaria-de-tilapia-do-nilo-de-quatro-pisciculturas-de-macapa-estado-do-amapa> (accessed 9 December 2020)
- Paperna, I. (1991) Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm water fish. *Annual Review of Fish Diseases*, 1, 155–194.
[https://doi.org/10.1016/0959-8030\(91\)90028-I](https://doi.org/10.1016/0959-8030(91)90028-I)
- Paredes-Trujillo, A., Velázquez-Abunader, I., Torres-Irineo, E., Romero, D. & Vidal-Martínez, V.M. (2016) Geographical distribution of protozoan and metazoan parasites of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) (Perciformes: Cichlidae) in Yucatán, Mexico. *Parasites & Vectors*, 9, 66.
<https://doi.org/10.1186/s13071-016-1332-9>
- Paterson, R.A., Townsend, C.R., Tompkins, D.M. & Poulin, R. (2012) Ecological determinants of parasites acquisition by exotic fish species. *Oikos*, 121, 1889–1895.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20143.x>
- Pérez-Ponce de León, G. & Nadler, S.A. (2010) What we don't recognize can hurt us: a plea for awareness about cryptic species. *Journal of Parasitology*, 96, 453–464.
<https://doi.org/10.1645/GE-2260.1>
- Pérez-Ponce de León, G. & Poulin, R. (2018) An updated look at the uneven distribution of cryptic diversity among parasitic helminths. *Journal of Helminthology*, 92, 197–202.
<https://doi.org/10.1017/S0022149X17000189>
- Ponzoni, R.W., Nguyen, N.H., Khaw, H.I., Hamzah, A., Bakar, K.R.A. & Yee, H.Y. (2011) Genetic improvement of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) with special reference to the work conducted by the WorldFish Center with the GIFT strain. *Reviews in Aquaculture*, 3, 27–41.
<https://doi.org/10.1111/j.1753-5131.2010.01041.x>
- 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, 1033–1038.
<https://doi.org/10.1007/s11230-017-9753-1>
- Rahmi, R. (2012) Identifikasi ektoparasit pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang dibudidayakan pada tambak kabupaten maros. *Octopus: Jurnal Ilmu Perikanan*, 1, 19–23.
- Ranzani-Paiva, M.J.T., Nunes, N. & Luque, J.L. (2005) Parasitological and hematological analysis of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1757 from Guarapiranga Reservoir, São Paulo state, Brazil. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, 27,

231–237.

<https://doi.org/10.4025/actasciobiolsci.v27i3.1334>

- Rodrigues, F.S., Assane, I.M., Valladão, G.M.R., Paula, F.G., Andrade, C.L., Moraes, A.P., Dall’Agnol, M. & Pascoal, L.M. (2019) First report of *Trichodinella* and new geographical records of trichodinids in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farmed in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 28, 229–237.
<https://doi.org/10.1590/S1984-29612019038>
- Rodriguez-Santiago, M.A. (2002) *Identificación de especies ectoparásitas del género Trichodina (Ciliophora: Peritrichida) en Tilapia nilotica mediante correlación invariante con filtros compuestos*. MSc thesis, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, Mazatlán, Sinaloa, 96 pp.
- Rodriguez-Santiago, M.A., García-Magaña, L., Grano-Maldonado, M.I., Jiménez-Vasconcelos, L. & Guerra-Santos, J. (2019a) The effectiveness of sodium chloride and formalin in trichodiniasis of farmed freshwater tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in southeastern Mexico. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47, 164–174.
<https://doi.org/10.3856/vol47-issue1-fulltext-18>
- Rodriguez-Santiago, M.A., García-Magaña, L., Grano-Maldonado, M.I., Silva-Martínez, E.N., Guerra-Santos, J. & Gelabert, R. (2019b) First record of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As & Paperna, 1983 (Ciliophora: Trichodinidae) from *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) cultured in southeastern Mexico. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 47, 367–370.
<https://doi.org/10.3856/vol47-issue2-fulltext-18>
- Saha, M. & Bandyopadhyay, P.K. (2016) First report of some known *Trichodinella epizootica* Šramek-Hušek, 1953, and *Tripartiella* Lom, 1959 from the cultured Oranda Gold Fish (*Carassius auratus auratus*) in India. *Zootaxa*, 4184 (1), 130–140.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.4184.1.8>
- Saha, M., Bandyopadhyay, P.K., Roy, A. & Ghosh, S. (2015) Impact of seasons, host age, size and sex on the prevalence parasites in ornamental fish. *Journal of Agriculture and Veterinary Science*, 8, 54–59.
<https://doi.org/10.9790/2380-081015459>
- Salama, S.S.A. & Gharib, A.E.T.F. (2009) Parasitic protozoa accompanied with *Pseudomonas putida* infection in cultured *Oreochromis niloticus*. *The Egyptian Journal of Experimental Biology, Zoology*, 5, 101–108.
- Schaedler, A.M. (2010) *Prevalência ectoparasitária em tilápias do Nilo cultivadas em viveiros escavados na região oeste do Paraná*. MSc thesis, Centro de Engenharias e Ciências Exatas, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, Paraná, 46 pp.
- Shoemaker, C.A., Xu, D.H., Evans, J.J. & Klesius, P.H. (2006) Parasites and diseases. In: Lim, C. & Webster, C.D. (Eds.), *Tilapia: Biology, culture and nutrition*. The Haworth Press Inc., Binghamton, pp. 561–582.
- Silva, V.C.M. (2016) *Controle de ectoparásitos em alevinos de tilapia do Nilo (Oreochromis niloticus)*. MSc thesis, Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 31 pp.
<https://doi.org/10.15361/2175-0106.2015v31n2p105>
- Simon, E.M., Nanney, D.L. & Doerder, F.P. (2008) The “*Tetrahymena pyriformis*” complex of cryptic species. *Biodiversity and Conservation*, 17, 365–380.
<https://doi.org/10.1007/s10531-007-9255-6>
- Smit, N.J., Malherbe, W. & Hadfield, K.A. (2017) Alien freshwater fish parasites from South Africa: Diversity, distribution, status and the way forward. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 6, 386–401.
<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2017.06.001>
- Smith, S. & Schwarz, M. (2019) Dealing with *Trichodina* and *Trichodina*-like species. *Virginia Cooperative Extension Publication*, 600, 205.
- Sriwongpuk, S. (2018) A study of ectoparasites of red tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) in cage culture from Klong 13, Amphoe Nong-Sua, Pathum Thani Province. *Journal of Agricultural Research and Extension*, 35, 1044–1050.
- Steckert, L.D. (2017) *Aspectos sanitários e patológicos de tilapia-do-nilo cultivada no estado de Santa Catarina: parasitismo, hematologia, histopatologia e elementos-traço*. MSc Thesis, Universidad Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Pós-graduação de Pós-Graduação em Aquicultura, Florianópolis, Brazil, 136 pp.
- Steckert, L.D., Cardoso, L., Jerônimo, G.T., Pádua, S.B. & Martins, M.L. (2018) Investigation of farmed Nile tilapia health through histopathology. *Aquaculture*, 486, 161–169.
<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.12.021>
- Stickney, R.R. (1986) Tilapia tolerance of saline waters: a review. *The Progressive Fish-Culturist*, 48, 161–167.
[https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1986\)48<161:TTOSW>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1986)48<161:TTOSW>2.0.CO;2)
- Suliman, E.A.M. & Al-Harbi, A.H. (2016) Prevalence and seasonal variation of ectoparasites in cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus* in Saudi Arabia. *Journal of Parasitic Diseases*, 40, 1487–1493.
<https://doi.org/10.1007/s12639-015-0717-6>
- Supriadi, S. & Janah, M. (2015) The effect of intensive keramba on the presence of parasite organisms in Rivers of Lingsar area. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, 4, 11–15.
<https://doi.org/10.14421/biomedich.2015.41.11-15>
- Tang, F.H. & Zhao, Y.J. (2013) Record of three new *Trichodina* species (Protozoa, Ciliophora) parasitic on gills of freshwater fishes from Chongqing, China. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 1226–1232.
<https://doi.org/10.5897/AJMR12.1163>

- Tang, F.H. & Zhao Y.J. (2016) Molecular phylogenetic evidences on Mobilida based on genetic distance and GC content of 18S rDNA using broad taxon sampling. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 40, 358–369.
- Tang, F., Zhang, Y. & Zhao, Y. (2017) Morphological and molecular identification of the new species, *Trichodina pseudoheterodentata* sp. n. (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) from the channel catfish, *Ictalurus punctatus*, in Chongqing China. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 64, 45–55. <https://doi.org/10.1111/jeu.12335>
- Tang, F.H., Zhao, Y.J. & Warren, A. (2013) Phylogenetic analyses of trichodinids (Ciliophora, Olygomenophorea) inferred from 18S rRNA gene sequence data. *Current Microbiology*, 66, 306–313. <https://doi.org/10.1007/s00284-012-0274-5>
- Tavares-Dias, M., Marchiori, N.C. & Martins, M.L. (2013) *Paratrichodina africana* (Ciliophora: Trichodinidae) of wild and cultured Nile tilapia in the Northern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22, 248–252. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612013005000025>
- Tavares-Dias, M., Martins, M.L. & Moraes, F.R. (2001) Fauna parasitária de peixes oriundos de “pesque-pague” do município de Franca, São Paulo, Brasil. I. Protozoários. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18, 67–79. <https://doi.org/10.1590/S0101-81752001000500005>
- Valladão, G.M.R., Alves, L.O. & Pilarski, F. (2016) Trichodiniasis in Nile tilapia hatcheries: Diagnosis, parasite: host-stage relationship and treatment. *Aquaculture*, 451, 444–450. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.09.030>
- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U., Pádua, S.B., Martins, M.L. & Pilarski, F. (2014) *Trichodina heterodentata* (Ciliophora) infestation on *Prochilodus lineatus* larvae: a host-parasite relationship study. *Parasitology*, 141, 662–669. <https://doi.org/10.1017/S0031182013001480>
- Valladão, G.M.R., Gallani, S.U. & Pilarski, F. (2018). South American fish for continental aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 10, 351–369. <https://doi.org/10.1111/raq.12164>
- Valladão, G.M.R., Padua, S.B., Gallani, S.U., Menezes-Filho, R.N., Dias-Neto, J., Martins, M.L., Ishikawa, M.M. & Pilarski, F. (2013) *Paratrichodina africana* (Ciliophora): A pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia. *Veterinary Parasitology*, 197, 705–710. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.043>
- Van As, J.G. & Basson, L. (1986) Trichodinids (Ciliophora: Peritricha) ectoparasites of cultured cichlids from Taiwan. *Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica*, 25, 135–139.
- Van As, J.G. & Basson, L. (1987) Host specificity of Trichodinid ectoparasites of freshwater fish. *Parasitology Today*, 3, 88–90. [https://doi.org/10.1016/0169-4758\(87\)90166-9](https://doi.org/10.1016/0169-4758(87)90166-9)
- 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. <https://doi.org/10.1007/BF02187051>
- Van As, J.G. & Basson, L. (1990) An articulated internal skeleton resembling a spinal column in a ciliated protozoan. *Naturwissenschaften*, 77, 229–231. <https://doi.org/10.1007/BF01138488>
- Van As, J.G. & Basson, L. (1992) Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of freshwater fishes of the Zambesi River System, with a reappraisal of host specificity. *Systematic Parasitology*, 22, 81–109. <https://doi.org/10.1007/BF00009603>
- Van As, J.G., Basson, L. & Theron, J. (1984) An experimental evaluation of the use of formalin to control trichodiniasis and other ectoparasitic protozoans on fry of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus* (Peters). *South African Journal of Wildlife Research*, 14, 42–48.
- Vargas, L., Povh, J.A., Ribeiro, R.P. & Moreira, H.L.M. (2000) Ocorrência de ectoparasitos em tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), de origem tailandesa em Maringá-Paraná. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 3, 31–37. <https://doi.org/10.25110/arqvet.v3i1.2000.685>
- Vargas, L., Povh, J.A., Ribeiro, R.P., Moreira, H.L.M., Loures, B.T.R.R. & Maroneze, M.S. (2003) Efeito do tratamento com cloreto de sódio e formalina na ocorrência de ectoparasitas em alevinos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) revertidos sexualmente. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*, 6, 39–48. <https://doi.org/10.25110/arqvet.v6i1.2003.794>
- Wang, Z., Bourland, W.A., Zhou, T., Yang, H., Zhang, C. & Gu, Z. (2020) Morphological and molecular characterization of two *Trichodina* (Ciliophora, Peritrichia) species from freshwater fishes in China. *European Journal of Protistology*, 72, 125647. <https://doi.org/10.1016/j.ejop.2019.125647>
- Wicki, G.A. & Gromenida, N. (1998) Estudio de desarrollo y producción de tilapia (*Oreochromis niloticus*). *AquaTIC*, 2, 1–10.
- Wilson, J.R., Saunders, R.J. & Hutson, K.S. (2019) Parasites of the invasive tilapia *Oreochromis mossambicus*: evidence for co-introduction. *Aquatic Invasions*, 14, 332–349. <https://doi.org/10.3391/ai.2019.14.2.11>

- Worananthakij, W. & Meneepitaksanti, W. (2014) Identification of trichodinids (Ciliophora: Trichodinidae) from red tilapia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) in Pathumthani Province, Thailand. *Veterinary Integrative Sciences*, 12, 49–55.
- Xu, D.H., Shoemaker, C.A. & Zhang, D. (2015) Treatment of *Trichodina* sp. reduced load of *Flavobacterium columnare* and improved survival of hybrid tilapia. *Aquaculture Reports*, 2, 126–131.
<https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2015.09.007>
- Yemmen, C., Ktari, M.E. & Bahri, S. (2011) Seasonality and histopathology of *Trichodina puytoraci* Lom 1962, a parasite of flathead mullet (*Mugil cephalus*) from Tunisia. *Acta Adriatica*, 52, 15–20.
- Yokoyama, H., Itoh, N. & Ogawa, K. (2015) Fish and shellfish diseases caused by marine protists. In: Ohtsuka, S., Suzaki, T., Horiguchi, T., Suzuki, N. & Not, F. (Eds.), *Marine protists: Diversity dynamics*. Springer, Tokyo, pp. 533–549.
https://doi.org/10.1007/978-4-431-55130-0_22
- Younis, A.A., Gharib, A.E.F. & Tantawy, E.A.A. (2009) Studies on some prevailing parasites affecting *Oreochromis niloticus* fingerlings with a trial of treatment. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 13, 135–148.
<https://doi.org/10.21608/ejabf.2009.2037>
- Zago, A.C., Franceschini, L., Garcia, F., Schalch, S.H.C., Gozi, K.S. & Silva, R.J. (2014) Ectoparasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in cage farming in a hydroelectric reservoir in Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 23, 171–178.
<https://doi.org/10.1590/S1984-29612014041>
- Zambrano, L., Martínez-Meyer, E., Menezes, N. & Peterson, A.T. (2006) Invasive potential of common carp (*Cyprinus carpio*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in American freshwater systems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 63, 1903–1910.
<https://doi.org/10.1139/f06-088>
- Zhan, Z., Xu, K. & Dunthorn, M. (2013) Evaluating molecular support for and against the monophyly of the Peritrichia and phylogenetic relationships within the Mobilida (Ciliophora, Olygohymenophorea). *Zoologica Scripta*, 42, 213–226.
<https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2012.00568.x>

CAPITULO II

Morfometría geométrica de *Trichodina centrostrigeata* en localidades de Argentina, México y Sudáfrica

En este capítulo se presenta el análisis y los resultados de morfometría geométrica de *Trichodina centrostrigeata* a través del análisis elíptico de Fourier.

Alrededor de 40 especies de la familia Trichodinidae han sido registradas en el mundo asociadas a cíclidos (Islas-Ortega et al., 2020), entre ellas se encuentra *Trichodina centrostrigeata*, que se considera fuertemente asociada a cíclidos, especialmente a tilapia, lo que ha provocado que esta especie tenga una amplia distribución debido a la introducción de su huésped.

Aprovechando la amplitud geográfica derivada de los eventos de introducción de las tilapias a distintas partes del mundo, se buscó determinar cuantitativamente la variación morfológica del ectoparásito *T. centrostrigeata* en la que se considera su área de distribución original (Sudáfrica), y en dos nuevas regiones de distribución: Argentina y México. Esta variación, fue explorada utilizando el novedoso enfoque del análisis elíptico de Fourier. La aplicación del método, en combinación con la taxonomía tradicional, evidenció que la especie *T. centrostrigeata* puede agruparse en dos morfotipos separados, el primero (*tipo a*) de granjas de acuicultura en Argentina y México y el segundo (*tipo b*) de un hábitat natural en Glen Alpine Dam, Sudáfrica.

Se propone considerar que el futuro inmediato sobre la taxonomía de la familia Trichodinidae debe basarse en un análisis morfológico minucioso como es el método descriptivo propuesto por van As y Basson (1989), incluyendo herramientas de morfometría geométrica, especialmente en especies donde la diferenciación taxonómica es problemática, también en especies que presentan una amplia distribución o un amplio rango de hospedadores, para iniciar el estudio de la posible relación de la variación morfológica con factores como el hospedador o el ambiente, complementado con caracterizaciones moleculares cuando sea posible.

La información derivada de este capítulo se presenta como el artículo de requisito, aceptado en la revista Folia Parasitologica, titulado **“Comparative exploration of the morphological plasticity of *Trichodina centrostrigeata* (Peritrichia: Mobilida), ectoparasite from the gills of two tilapia species (*Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus*) in a global context”**

Research Article

OPEN ACCESS

Comparative exploration of the morphological plasticity of *Trichodina centrostrigeata* (Peritrichia: Mobilida), ectoparasite from the gills of two tilapia species (*Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus*) in a global context

Alma Gabriela Islas-Ortega^{1,2} , Paula S. Marcotegui³ , Linda Basson⁴ , Gerhard P. de Jager⁴  and Rogelio Aguilar-Aguilar¹ 

¹Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., Mexico;

²Posgrado en Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., Mexico;

³Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Mar del Plata, Argentina;

⁴Department of Zoology and Entomology, University of the Free State, Bloemfontein, South Africa

Abstract: *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983 from *Oreochromis mossambicus* (Peters) and *O. niloticus* (Linnaeus) from different host populations from Argentina, Mexico and South Africa was reviewed. Although *T. centrostrigeata* has a distinct denticle structure that makes morphological taxonomic inferences uncomplicated, variation of the denticles within and among individuals and populations were still observed. While traditional taxonomy of mobilines is heavily reliant on morphometrics, and recently even more so on molecular analysis, this paper proposes the use of geometric morphometry, specifically elliptical Fourier analysis, to address morphological conflicts that arise when comparing different populations. By applying this technique, combined with traditional taxonomy, it was found that *T. centrostrigeata* in this study can be grouped into two separate morphotypes, the first (type *a*) from aquaculture farms in Argentina and Mexico and the second (type *b*) from a natural habitat in Glen Alpine Dam, South Africa. This study supports the validity of geometric morphometry as an additional technique to distinguish not only between species but also evolutionary plasticity of the same species from different localities and habitats.

Keywords: Ciliates, geometric morphometry, Fourier analysis, Trichodinidae, morphology

Trichodinid ciliates are common parasites or symbionts of aquatic invertebrates and vertebrates (Van As and Basson 1989). These ciliates are among the main groups of fish parasites (Valladão et al. 2013), affecting the skin, fins, gills, and less frequently, the eyes, mouth, gastrointestinal tract, urinary tract and gonads (Van As and Basson 1987, Noga 2010, Valladão et al. 2014). Around 40 species from the family Trichodinidae have globally been reported from cichlid hosts (Islas-Ortega et al. 2020), among these, *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983, is considered to have an association with cichlid fishes, especially tilapia (Van As and Basson 1989, Paperna 1991, Valladão et al. 2016, Abdel-Baki et al. 2017). Some of these mobilids have been introduced into new areas through the anthropogenic dispersal of cichlids worldwide (Van As and Basson 1989, Valladão et al. 2016).

Traditional taxonomy based on the analyses of morphological features has been a fundamental tool to distinguish between trichodinid species. However, these studies could

be hampered by the high degree of variation that denticles present within a population of some species, or even within the same individual (Marcotegui et al. 2018). Traditional trichodinid species' delimitation is mainly based on the dimensions and shape of denticles in the adhesive disc (Van As and Basson 1989). However, some authors such as Tang et al. (2017), Islas-Ortega et al. (2018), Marcotegui et al. (2018) and Wang et al. (2019) considered this alone as insufficient, leaving several unresolved taxonomic issues, such as the overlapping of morphological features of distinctly different species, or *vice versa*, an overestimation of the diversity caused by the misinterpretation of small differences in shape or size, or the developmental stage of the individual mobilid.

In recent years, molecular identification has helped to distinguish between remarkably similar species. However, in many cases, multiple infections occur on the same host, and often the different species are morphologically similar, making accurate isolation challenging. In this sense, the

Address for correspondence: Alma Gabriela Islas-Ortega. Departamento de Biología Comparada. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. E-mail: alisor.721@gmail.com

Table 1. Information of samples of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983. Acronyms of scientific collections: CRPH– Colección de Referencia Parásito-Hospedero, Laboratorio de Zoología Acuática, Facultad de Ciencias, UNAM, Mexico. Catalogue number provided refers to single slide considered as representative of the population.

Locality	Host	No. specimens analysed	Scientific Collection
Aquaculture farm, San Vicente, Buenos Aires, Argentina	<i>Oreochromis niloticus</i>	20	CRPH-C0009
“El Pescadito” farm, Hudacareo, Michoacán, Mexico	<i>Oreochromis niloticus</i>	20	CRPH-C0008
Glen Alpine dam, South Africa	<i>Oreochromis mossambicus</i>	20	Laboratory of Aquatic Ecology and Parasitology, UFS, Bloemfontein, South Africa
Luphephe dam, South Africa	<i>Oreochromis mossambicus</i>	20	Laboratory of Aquatic Ecology and Parasitology, UFS, Bloemfontein, South Africa

use of the geometric morphometry arises as an alternative method to provide information regarding changes in the shape of the anatomical structures, independently of the size of the analysed individual, and can be used in cases with multiple infections (Marcotegui et al. 2018). This can be very helpful when endeavouring to quantify variation in species that have large size ranges, e.g., as presented by de Jager and Basson (2019) for *Trichodina hypsilepis* Wellborn, 1967.

Marcotegui et al. (2018) differentiated between trichodinid species for the first time using geometric morphometry through elliptical Fourier analysis (EFA), which quantitatively describes the variation of denticle shapes by using a Fourier transformation of a denticle outline to obtain a set of quantitative variables (called harmonics), each described by four coefficients (Bonhomme et al. 2014). The foundation of the EFA is to separate the x and y coordinates of the denticle outline and calculate a discrete Fourier series based on these two periodic functions using the number (n) of harmonics high enough to capture the satisfactory geometry of the described shape (Bonhomme et al. 2013). These coefficients may then be subjected to multivariate statistical methods, primarily principal component analysis (PCA), which is a statistical method that reduces the number of variables (dimensions) without much loss of information. Moreover, EFA combined with PCA allows visualisation and reconstruction of shapes via inverse Fourier transformation, a powerful tool when considering the potential taxonomic significance of the shape (Tomaszewski and Górkowska 2016).

Geometric morphometry is a promising alternative to address taxonomic conflicts where samples for molecular biology are not available. Since the ectoparasite *T. centrostrigeata* has a wide distribution due to the introduction of their host (tilapia) to numerous places of the world, this study aimed to quantitatively determine the morphological variation of *T. centrostrigeata* from this species' original region of occurrence (South Africa) and two new regions of distribution, i.e., Mexico and Argentina. This variation, which has been modified anthropogenically by recent introductions of tilapia into new geographical habitats, was revealed by using the novel approach of the EFA.

MATERIALS AND METHODS

Taxonomic morphometrics and denticle description

Four populations of *Trichodina centrostrigeata* collected from the gills of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus) from Argentina

(San Vicente aquaculture facility) and Mexico (Huandacareo aquaculture facility), and *Oreochromis mossambicus* (Peters) from South Africa (Glen Alpine and Luphephe Dams, both in the Limpopo River drainage system) were measured, using the uniform characteristics initially proposed by Lom (1958) and later adapted by Van As and Basson (1989), both based on silver-impregnated specimens. Taxonomic identification of these populations of the *T. centrostrigeata* from Argentina and Mexico was reported by Islas-Ortega et al. (2020), and South African specimens by Basson et al. (1983). Micrographs of *T. centrostrigeata* specimens were obtained using Leica DM500® photomicroscope equipment, with Leica ICC50 HD® capture imaging system, a microscope Olympus DP71, and a Zeiss AxioPhot compound microscope fitted with an AxioCam ICc 5 digital camera. The measurements of the populations were acquired from the micrographs, using ZEN core v3.1 imaging software. All morphometric measurements are provided in μm and represented as minimum to maximum (mean \pm standard deviation), for the number of denticles and number of radial pins per denticle the mode was used rather than the arithmetic mean. Body diameter is determined as the adhesive disc plus the border membrane. Denticles were described using the method devised by Van As and Basson (1989).

Analysis of geometric morphometry

Analyses were based on the outlines (silhouettes) of 20 randomly selected *T. centrostrigeata* denticles per population for each of the four localities. A summary of the collection data is given in Table 1. One denticle per individual trichodinid was used for the analyses and the silhouette of the denticle was then drawn from micrographs using GIMP (2.10.2) editing software.

Elliptical Fourier analysis (EFA) and statistical analyses

Elliptical Fourier analysis was done through RStudio (1.3.1056) (RStudio Team 2020) using the Momocs package (version 0.2-01), dedicated to shape analysis (Bonhomme et al. 2014). Silhouettes were imported into RStudio and denticle outlines were extracted into a “Coo” class object as a list of x ; y pixel coordinates. The pixel coordinates were obtained using an algorithm by Claude (2008) extracted from a black denticle silhouette on a white background. An EFA was performed on 80 denticle outlines. Before performing elliptical Fourier descriptor analysis, an estimation of the number of harmonics to perform was calculated using the h_{quant} function. The optimal number of harmonics to reach approximately 99% of the maximum calculated Fourier power was determined from the relationship between the harmonic numbers and their cumulated power (Fourier power spectrum). Qualitative analysis of the ability for different numbers of harmonics to recapitulate the original shape outline

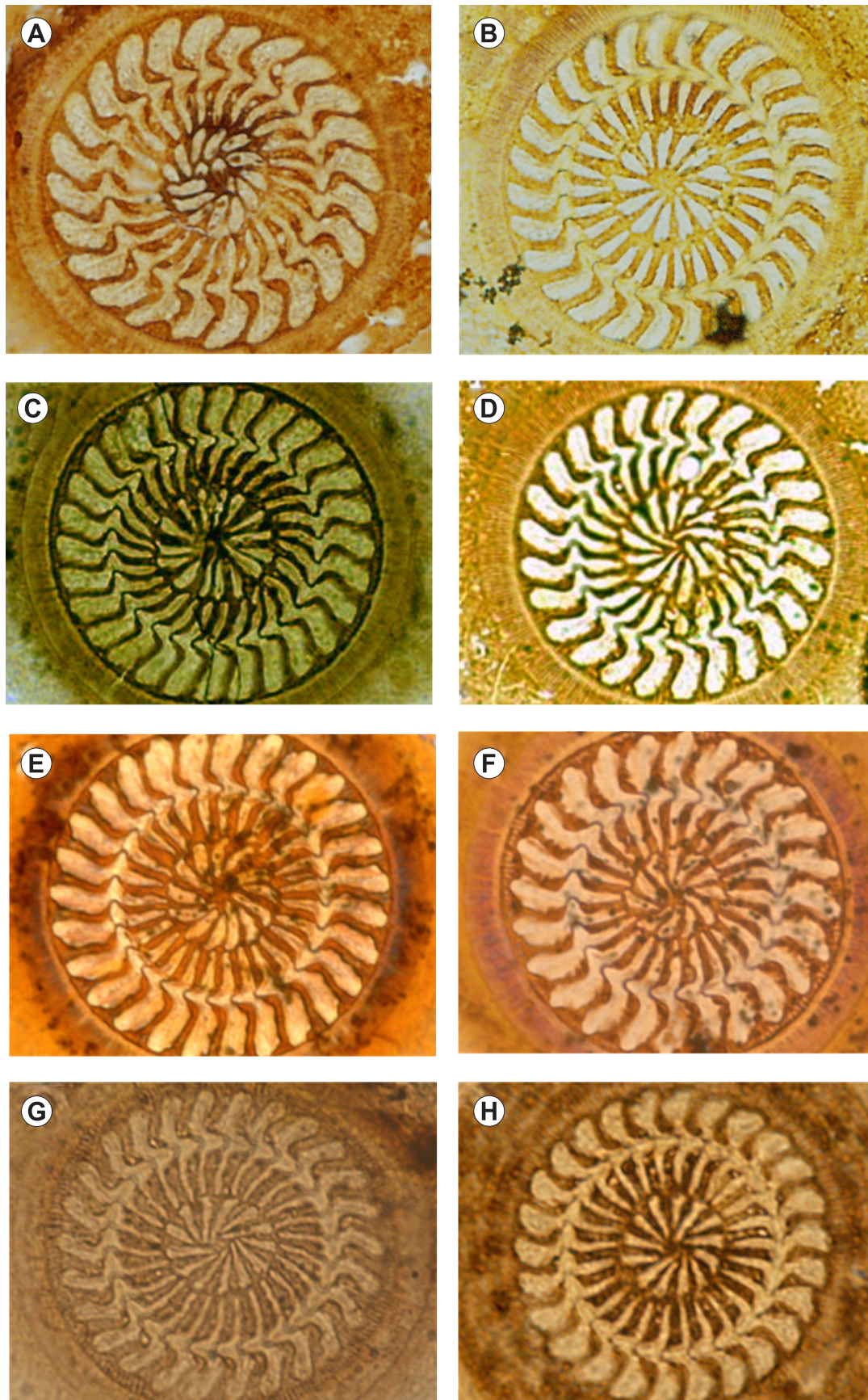


Fig. 1. Micrographs of *Trichodina centrostrigata* Basson, Van As et Paperna, 1983 from *Oreochromis niloticus* (Linnaeus), San Vicente, Argentina (A, B) and Huandacareo, Mexico (C, D), and from *O. mossambicus* (Peters), Luphephe Dam, South Africa (E, F) and Glen Alpine Dam, South Africa (G, H).

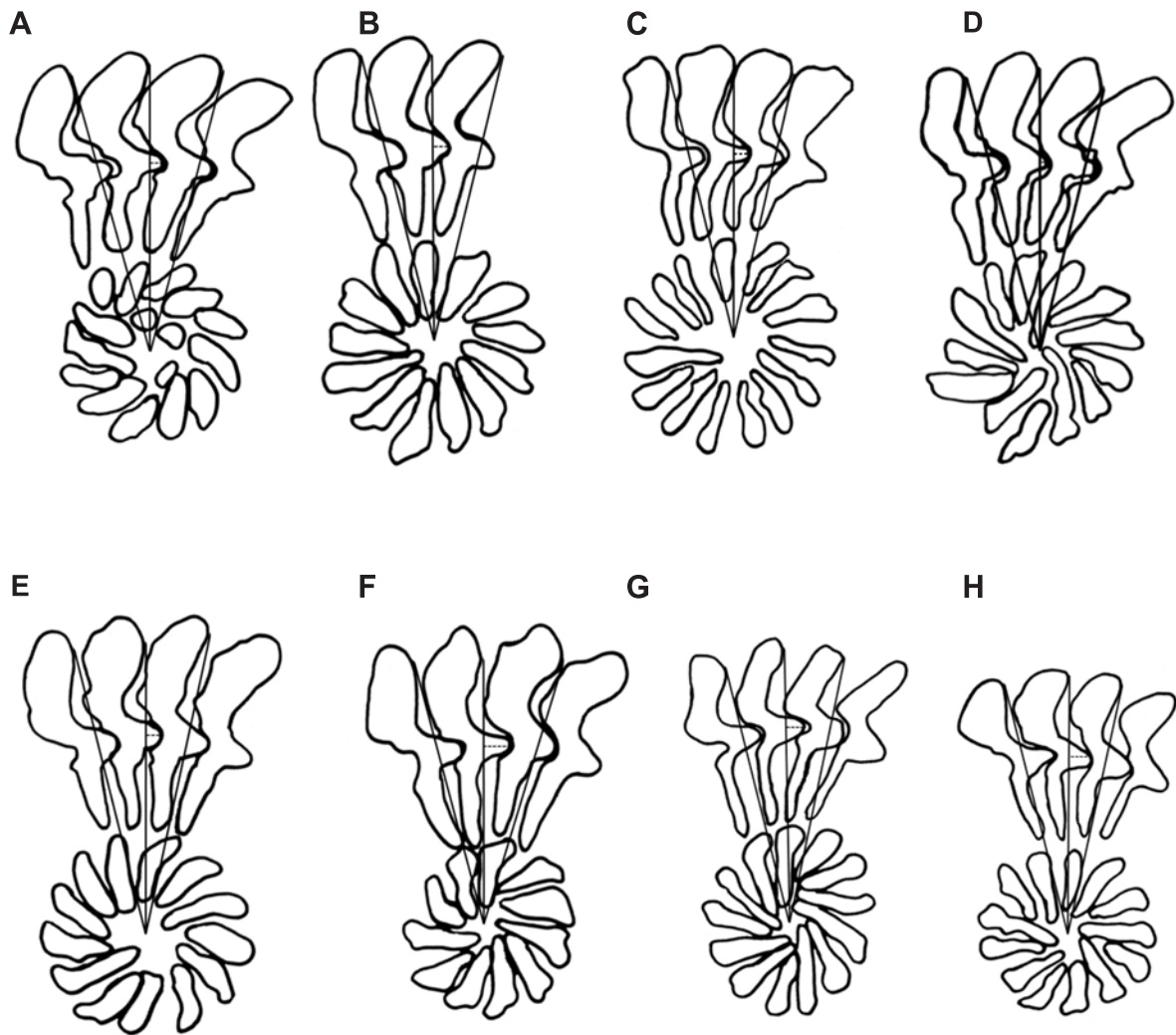


Fig. 2. Diagrammatic drawings of the denticles of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983 from *Oreochromis niloticus*, San Vicente, Argentina (A, B); from *O. niloticus*, Huandacareo, Mexico (C, D); from *O. mossambicus*, Luphephe Dam, South Africa (E,F); and from *O. mossambicus*, Glen Alpine Dam, South Africa (G, H).

was performed using the *hqual* function. Fourier analysis was performed using the *eFourier* function, parameters of the first harmonic were used to normalise coefficients so that they were invariant to size, rotation and starting point of the outline trace. Harmonic coefficients from the resulting “Coe” object were used for subsequent statistical analyses.

All statistical analyses were performed using RStudio (1.3.1056). Principal Component Analyses (PCA) and multivariate analyses of variance (MANOVA) were used to discriminate between shape variations and to test for differences. Linear Discriminant Analysis (LDA) on the harmonic coefficient was performed using the LDA function.

RESULTS

Morphological analysis (based on traditional taxonomy): denticle description for all four populations (Figs. 1, 2, Table 2)

Blade shape varies from angular and truncated in most denticles to roundly spatulate in some, where blades vary from broad and flattened head (distal part of the blade) ta-

pering towards central part, to others with narrower head broadening slightly towards central part (these variations often within the same population). In some, anterior and posterior blade edges parallel. Most populations with narrow blades, varying from none to 18%. Distal surface ranges from flattened to slightly rounded, very few with flattened distal edge. Distal surface mostly parallel to border membrane in some specimens, in others definitely not parallel to border membrane. In cases where not parallel, distal surface slopes in anterior direction. Contact surface of tangent point varies, in some forms short line rather than point, tangent point situated lower than distal point. Anterior margin varies from curved to angular, some straight.

Apex prominent, less prominent in specimens with rounded anterior margin than in case of angular and straight forms. In latter cases anterior blade margin shows angular, almost triangular shape with apex, as well as distal and proximal sides of anterior blade. Anterior surface extends beyond $y + 1$ axis in some individuals; particularly in case of angular shaped denticles; whilst touching $y + 1$ axis with some close to, but not touching $y + 1$. Blade apophysis

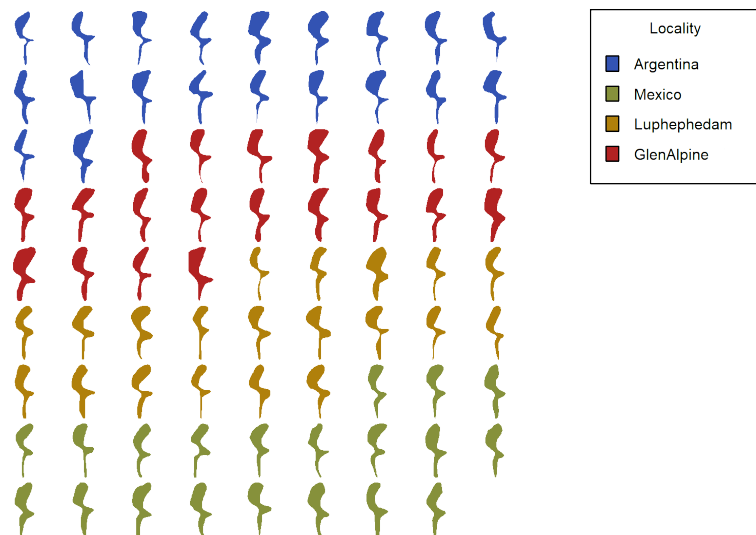


Fig. 3. Denticles silhouettes of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983 utilised with Fourier analysis.

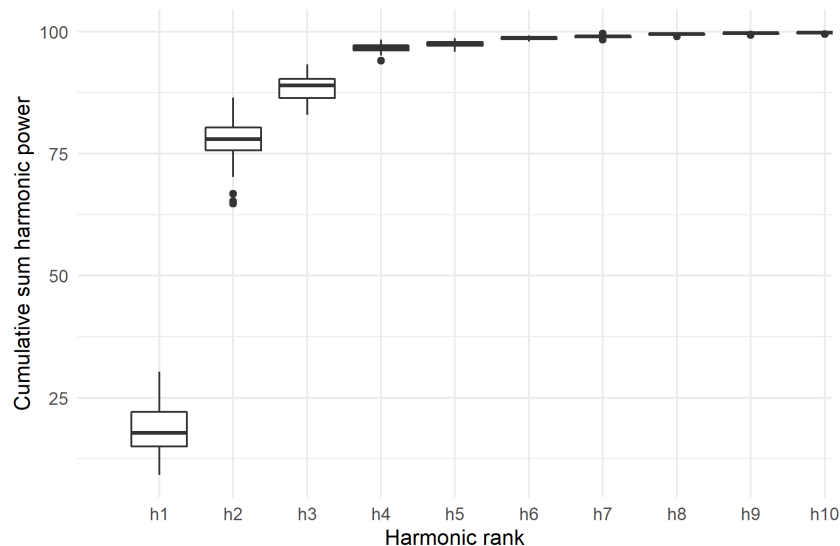


Fig. 4. Fourier harmonic power spectrum based on elliptical Fourier analysis of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983. Harmonics sufficient to reach approximately 99% of the maximum cumulated.

consistently present, never large, but prominent. Posterior margin forms characteristic deep L-shaped curve, varying from shallow to deep, with deepest point at lowest end (adjacent to central part), mostly lower than apex of anterior surface. Posterior projection present, but not prominent in all specimens.

Blade length varies from 1.8–7.5. Blade connection narrow to well developed, but thinner than blade. Central part conical, some longer and narrower than others that are wider and squatter, small number with almost triangular central part. Central part tapering from base to sharply rounded point in some, fitting tightly into preceding denticle. Section above and below x-axis similar in shape. Central part extends less than halfway to y–1 axis in majority, but some halfway to y–1 axis. Central part width 1.0–4.8. Ray connection short, well-developed in some, others of same thickness or slightly thicker than ray.

Ray apophysis present in majority, small, situated high on ray, making contact with tip of central part of following denticle. Rays straight in vast majority of cases, of varying thickness, thinner rays tapering gradually to sharp rounded point, whilst others with broad, well-developed rays ending in rounded tips. Rays run parallel to and between y axes in most cases, some rays directed in anterior direction with tips extending past y+1 axis. Some rays lightly touch y–1 and some y+1 axes. Rays' length 3.7–6.3. Ridged line visible and prominent in blade and rays of many specimens, a typical characteristic of this species.

Ridged line in centre of blade, with both anterior and posterior parts of blade evidently thinner in individuals of some populations. Centre ridges vary in number, collectively from 10 to 17 (mode 13 in all populations); although varying in thickness. Mostly strongly developed, more or less of same thickness as rays. Arrangement of centre ridge

Table 2. Morphometric comparison of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983 of the type population and the four populations in this study

	Basson et al. (1983)	Basson and Van As (1994)		Present study		
	South Africa <i>Pseudocrenilabrus philander</i>	Taiwan <i>Oreochromis mossambicus</i>	Mexico <i>O. niloticus</i>	Argentina <i>O. niloticus</i>	Luphephe (South Africa) <i>O. mossambicus</i>	Glen Alpine (South Africa) <i>O. mossambicus</i>
Body diameter	37.7–54.4 (44.6±3.8; 100)	38.0–51.0 (43.8±4.4; 16)	40.8–56.7 (47.0±4.4; 23)	38.7–50.3 (44.1±2.7; 30)	41.6–55.0 (47.9±3.8; 29)	40.2–51.9 (46.0±3.4; 16)
Adhesive disc	31.2–45.8 (37.6±3.6; 100)	30.0–45.0 (36.0±4.2; 16)	33.2–47.0 (39.2±4.1; 23)	32.3–44.4 (36.9±2.9; 30)	33.4–45.7 (39.2±3.5; 29)	32.1–43.5 (37.8±3.2; 16)
Denticle ring diameter	18.7–33.3 (23.2±2.4; 100)	18.5–26.0 (21.7±2.4; 16)	20.8–28.6 (23.7±2.1; 23)	19.9–26.7 (22.7±1.9; 30)	19.8–28.2 (23.3±2.5; 29)	20.3–27.3 (23.2±2.1; 16)
Border membrane	2.0–4.4 (3.4±0.4; 100)	3.0–4.0 (3.6±0.5; 16)	2.9–4.8 (3.9±0.5; 23)	2.3–5.1 (3.8±0.6; 30)	2.9–5.1 (4.2±0.6; 29)	3.0–5.3 (4.0±0.6; 16)
Blade length	2.8–6.4 (5.2±0.7; 100)	5.0–6.0 (5.5±0.5; 15)	4.7–7.1 (5.8±0.6; 23)	1.8–6.5 (5.2±1.1; 30)	4.5–7.5 (6.2±0.7; 29)	4.2–6.3 (5.2±0.6; 16)
Central width	1.1–3.0 (1.9±0.3; 100)	1.0–1.5 (1.1±0.2; 15)	1.2–2.3 (1.6±0.3; 23)	1.0–4.8 (2.0±0.8; 30)	1.7–2.8 (2.2±0.5; 29)	1.4–2.9 (2.0±0.4; 16)
Ray length	3.2–6.0 (4.5±0.6; 100)	3.5–5.0 (4.3±0.6; 15)	3.7–6.2 (4.8±0.5; 23)	3.8–6.1 (4.6±0.5; 30)	4.3–6.3 (5.0±0.5; 29)	3.8–5.8 (4.9±0.6; 16)
Denticle span	–	10.0–13.0 (11.3±0.9; 12)	10.6–14.0 (12.3±0.9; 23)	9.7–13.5 (11.7±; 30)	11.4–15.6 (13.3±1.0; 29)	10.1–14.1 (12.0±1.2; 16)
Denticle width	3.0–6.2 (4.1±0.6; 100)	3.0–5.0 (4.3±0.6; 13)	3.1–4.7 (4.1±0.4; 23)	2.3–5.2 (3.8±0.7; 30)	3.5–5.0 (4.2±0.5; 29)	3.0–5.0 (3.9±0.6; 16)
Number of denticles	26–30 (28*;100)	24–29 (27*;16)	24–29 (27*; 23)	23–29 (26*; 30)	23–31 (25*; 29)	22–28 (26*; 16)
Radial pins per denticle	6–7 (7*; 100)	7–8 (8*; 7)	7–14 (10*; 14)	8–14 (11*; 26)	8–15 (9*; 29)	9–15 (12*; 15)
Number of central ridges	12–16 (14*; 100)	13–16 (14*; 12)	10–14 (13*; 23)	10–17 (13*; 30)	10–16 (13*; 29)	11–14 (13*; 16)

es not symmetrical but fanning out from roughly centre point. Centre ridges mostly extended rod-shaped, in others rods of varying lengths, some half length of others, and some almost circular structures. Presence of centre ridges constant feature, occurring in immature and adult specimens. Ratio of denticle above x-axis to section below vary slightly among populations, majority slightly more than one (1.1–1.4). In one population minimum ratio just less than one (0.9).

The morphometrics of each population, including the type population from *Pseudocrenilabrus philander* (Weber) as reference, are provided in Table 2.

Analysis of geometric morphometry (EFA)

The Elliptical Fourier Analysis represents a valid method to compare the shape of denticles and found significant differences among populations. In this study, the analysis provides the evidence of the morphological similarities among some populations, but also exhibits statistical differences for one population in relation with others. Figure 3 presents the 80 denticle silhouettes of *Trichodina centrostrigeata* from four populations (20 silhouettes per population) used in this analysis.

Eight harmonics were found to be sufficient to reach approximately 99% of the maximum cumulated Fourier power for the denticles of *T. centrostrigeata* (Fig. 4). Results of the PCA analysis indicate that over 99% of the observed outline shape variation of *T. centrostrigeata* can be represented on 18 orthogonal principal component axes. Table 3 illustrates the per cent of variance contribution of the principal components to morphological variation. To further assess the variation between the four populations, we performed a linear discriminant analysis (LDA) to determine

if this variation could be distinguished quantitatively based on PCA axes 1 to 18.

Based on the LDA, the population of Argentina could correctly be predicted by 50%, the Mexican population by 75%, the Luphephe Dam population by 35%, and the Glen Alpine Dam population by 70% (Fig. 5, Table 4). PCA scores were analysed under a multivariate analysis of variance (MANOVA) pairwise. Shapes between Argentina and Mexico do not present differences, while the rest of the populations have significant differences (Fig. 6, Table 5). Based on the LDA and MANOVA results we found two different morphotypes for *T. centrostrigeata*; morphotype *a*, mainly found in Argentina and Mexico, and morphotype *b*, mainly found in Glen Alpine Dam, South Africa.

Figure 6 shows that populations of Argentina and Mexico are similar but with slight variations in the posterior margin of the blade. The Glen Alpine Dam population presents morphological differences in the shape of the ray and in the general shape of denticle with the Americas and Luphephe dam population respectively; this last population also exhibits morphological differences in the central part of the denticle with the Americas populations.

Our results suggest that there are two main morphotypes for *T. centrostrigeata*, which present detectable variations in the denticles. Population from the Americas (Argentina and Mexico) constituted a single morphological group, by possessing a close similarity in the shape of the denticles. According to the present results, it is possible to differentiate this morphological group from the Glen Alpine Dam population, South Africa, which represents a morphologically separate group characterising the African morphotype (Fig. 6).

Table 3. Principal components analysis scores based on Fourier coefficients from 8 harmonics from *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983.

Importance of components:									
	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9
Standard deviation	0.05767	0.03869	0.03622	0.0338	0.02737	0.02228	0.01763	0.01461	0.01274
Proportion of variance	0.33646	0.15147	0.13271	0.1156	0.07581	0.05024	0.03144	0.02161	0.01641
Cumulative proportion	0.33646	0.48794	0.62065	0.7362	0.81204	0.86229	0.89373	0.91534	0.93175
	PC10	PC11	PC12	PC13	PC14	PC15	PC16	PC17	PC18
Standard deviation	0.01180	0.01010	0.008977	0.00807	0.007425	0.00717	0.006252	0.005696	0.004773
Proportion of variance	0.01408	0.01032	0.008150	0.00659	0.005580	0.00520	0.003960	0.003280	0.002310
Cumulative proportion	0.94583	0.95615	0.964310	0.97090	0.976470	0.98168	0.985630	0.988910	0.991220

Both morphotypes are described below in the remarks based on the method proposed by Van As and Basson (1989).

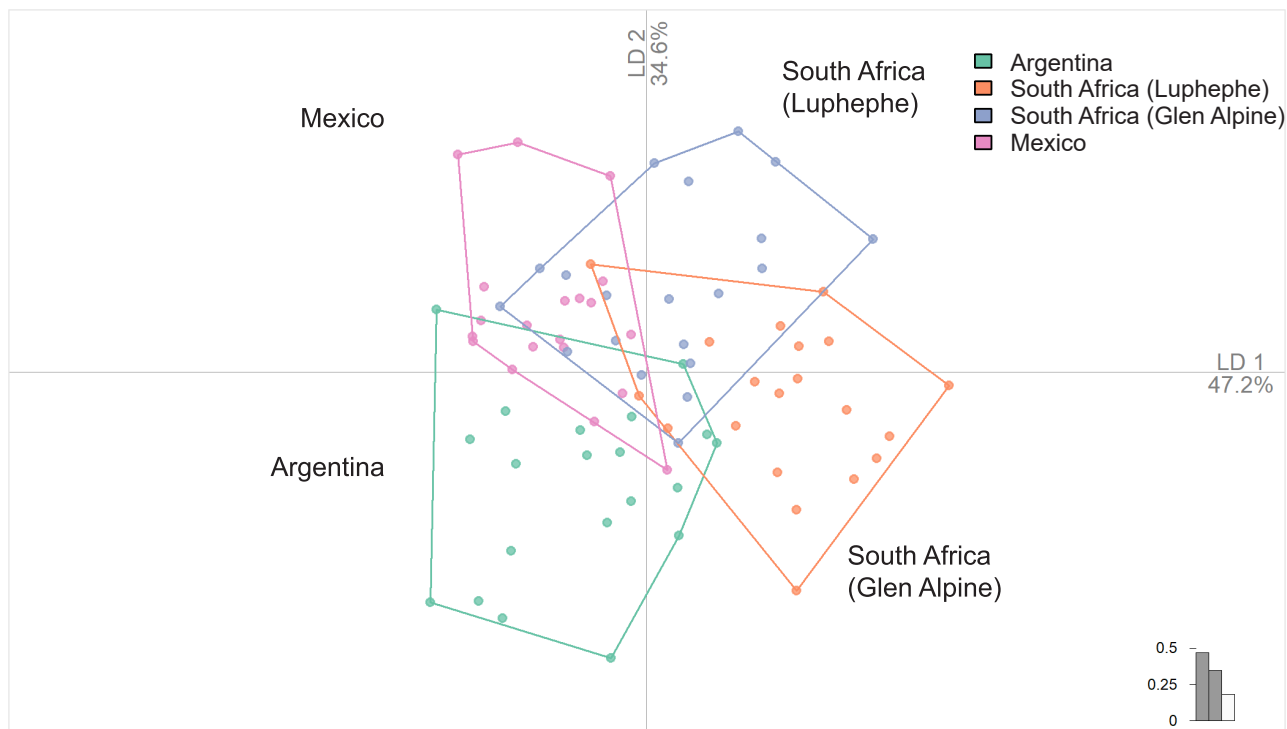
Remarks. Morphotype *a* (Fig. 1A-D, Fig. 2A-D, Fig. 6) presents an angular blade, truncated in most denticles. Narrow blades occur in 8–9% of all specimens. The distal surface ranges from flattened to slightly rounded, being parallel to the border membrane in the majority of cases, with only small numbers not parallel to the border membrane. In cases where the distal margin is not parallel, the distal surface slopes in an anterior direction. Blades vary with broad and flattened heads, tapering towards the central parts in the vast majority of cases, while these broaden slightly towards the central parts in some with narrower heads. The contact surface of the tangent point forms a point rather than a short line, with the tangent point situated lower than the distal point. The anterior margin varies from curved to angular, some with a straight margin. In specimens with a rounded anterior margin, the apex is less prominent than in cases of angular and straight forms. In the latter cases, the anterior blade margin shows an angular, almost triangular shape with the apex, as well as the distal and proximal sides of the anterior blade. The anterior surface extends beyond the $y+1$ axis in most denticles, not just in those with angular denticles. The blade apophysis is consistently present, varying from slight to somewhat prominent. The posterior margin forms a characteristic deep L-shaped curve, with the deepest point at the lowest end (adjacent to the central part), mostly lower than the apex of the anterior surface. The posterior projection is present, but not prominent in all specimens. The blade connection is narrow in the majority of cases, while only some possess a well-developed connection. The central part is conical in shape, some longer and narrower than others that are wider and squatter, but a small number have almost a triangular central part. The central part tapers from the base to a sharply rounded point in some, fitting tightly into the preceding denticle. The sections above and below the x -axis are similar in shape and the central part extends less than halfway to the $y-1$ axis. The ray connection is short, but well-developed in most; in the majority of cases this connection is of the same thickness as the ray. The ray apophysis is small, situated high on the ray, making contact with the tip of the central part of the following denticle. Rays are straight in the vast majority of cases, of varying thickness, with roughly

40–50% of the specimens having thin rays, where these taper gradually to sharp rounded points. In the other half of the cases the rays are broad and well developed, ending in rounded tips. Rays run along the y axes in most cases, mostly directed in an anterior direction with the tips extending past the $y+1$ axes. A ridged line is visible in both the blade and ray of many specimens, a typical characteristic of this species (Fig. 1A,C). The centre ridges vary in number from 10 to 17 (mode 13), also varying in thickness most are thick, more or less of the same thickness as the rays. In some cases, the arrangement of the centre ridges is not symmetrical, with no clear pattern distinguishable. These centre ridges are sometimes extended rod-shaped, fanning out from a rough centre point, in others the rods are of varying lengths, with some half the length of others. Some centre ridges are almost circular in structure. The ratio of the denticle above the x -axis to the section below is slightly more than one (1.2–1.3).

In the morphotype *b* (Fig. 1G–H, Fig. 2G–H, Fig. 6) the blade is angular and truncated in most denticles, but roundly spatulate in a few. Narrow blades occur in 18% of the cases. The distal surface is mostly slightly rounded, while very few have flattened distal edges. The distal surface is mostly parallel to the border membrane, with only a small number that are not parallel to the border membrane. In those cases where the distal surface is not parallel, it slopes in an anterior direction. The blade shape varies, from those possessing broad and flattened heads (distal part) that taper slightly towards the central part, to some with narrower blades, where the anterior and posterior edges are parallel. The contact surface of the tangent point forms a short line rather than a point, with the tangent point situated slightly below the distal point. The anterior margin is angular; some possess a straight margin. The apex is prominent with an angular anterior blade margin that forms an almost triangular shape with the apex, as well as the distal and proximal sides of the anterior blade. The anterior surface barely touches the $y + 1$ axis with a few being close, but not touching the $y + 1$. The blade apophysis is not large, but prominent and is consistently present. The posterior margin forms a characteristic shallow L-shaped curve, with the deepest point at the lowest end (adjacent to the central part), being mostly lower than the apex of the anterior surface. The posterior projection is present, but not prominent

Table 4. Confusion matrix from linear discriminant analysis (LDA) based on PC1-PC18 axes from *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983.

Current identification\pre- dicted identification	San Vicente, Argentina	Glen Alpine dam, South Africa	Luphephe dam, South Africa	Huadacareo Mexico	Total	% Correct
San Vicente, Argentina	10	5	2	3	20	50%
Glen Alpine dam, South Africa	0	14	4	2	20	70%
Luphephe dam, South Africa	3	5	7	5	20	35%
Huadacareo, Mexico	3	0	2	15	20	75%

**Fig. 5.** Linear discriminant analysis (LDA) of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983 using normalised elliptical Fourier descriptors. Percentages indicate the proportion of the trace captured in each LD component.

in all specimens. The blade connection is narrow in the majority of cases, with only some showing a well-developed connection. The central part is conical-shaped, some are longer and narrower than others that are wider and squatter, the central parts are almost triangular in shape, but in a small number of cases. The central part tapers from the base to a sharply rounded point in some specimens, fitting tightly into the preceding denticle. The sections above and below the x-axis are similar in shape. The central part extends either less than halfway, or at least halfway to the y-1 axes. Ray connections are short, but well-developed in most denticles, while slightly thicker than the ray in the majority of cases. The ray apophysis is small but present in most individuals where it is situated high on the ray, making contact with the tip of central part of the following denticle. Rays are straight in the majority of cases, with more than 55% having thin rays. Thinner rays taper gradually to sharp rounded points, whilst well-developed thicker rays tend to end in rounded tips. Rays run parallel to y-axes, with none extending past the y-axes, although some touch the y-1 and some y+1 axes. Ridged lines are prominent in blades and rays of many specimens, a typical characteristic of this species (Fig. 1G). Centre ridges vary in number from 11 to 14 (mode 13); varying slightly in

thickness, with the majority strongly developed and more or less of the same thickness as the rays. The centre ridges in the majority of cases are extended rod-shaped, where these clearly fan out from a rough centre point. The ratio of the denticle above the x-axis to the section below is slightly less to slightly more than one (0.9–1.1).

DISCUSSION

Trichodina centrostrigeata is found associated with a wide variety of tilapia hosts within a large geographical range (Islas-Ortega et al. 2020). One of the main morphological methods of differentiating this species is commonly based on the presence of central ridges, although similar ridges are also found in other species such as *Trichodina miranda* Stein, 1979 and *Trichodina frenata* Van As et Basson, 1992 (Mitra and Bandyopadhyay 2006). Based on traditional morphological features, the shape and measurements of the analysed organisms presented minimal variations in some denticle structures such as blade and ray length and central width. However, some slight differences are detected when particular populations are compared. For example, the blade varies with broad and flattened head tapering towards the central part between trichodinid populations from Glen Alpine Dam and Mexico. Also, Glen Alpine Dam or-

Table 5. MANOVA table with the statistics summary of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983. DF = degrees of freedom; Pillai = values of Pillai's test; AproxF = approximate F-statistic; NumDF = numerator degrees of freedom; Den DF = denominator degrees of freedom; Pr(>F) = P-value. (***) Significance differences).

	DF	Pillai	Aprox F	Num DF	Den DF	Pr(>F)
Argentina – Glen Alpine dam	1	0.7985	4.623	18	21	0.0005693***
Argentina – Luphephe dam	1	0.6378	2.055	18	21	0.0576787***
Argentina – Mexico	1	0.5925	1.696	18	21	0.1227139
Glen Alpine dam – Luphephe dam	1	0.7299	3.153	18	21	0.0066018***
Glen Alpine dam – Mexico	1	0.7720	3.950	18	21	0.0016453***
Luphephe dam - Mexico	1	0.6873	2.564	18	21	0.0203626***

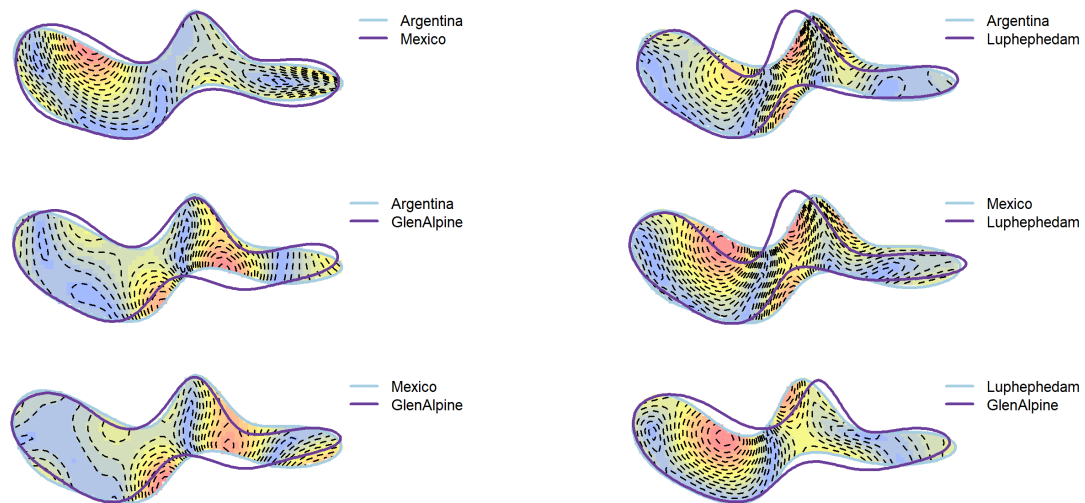


Fig. 6. Isodeformation lines of *Trichodina centrostrigeata* Basson, Van As et Paperna, 1983. Red colour – high variation in the shape; yellow colour – medium variation in the shape; blue colour – low variation in the shape.

ganisms exhibit a slightly more rounded distal surface of the blade in comparison with the remaining populations. Additionally, the Mexican population presents differences in the tangent point of the blade, which forms a point rather than a short line like the other populations; and the blade of Argentine population exhibits a well-developed connection, but thinner than those of the other populations, and the central ridges of the same population are thinner.

The taxonomic work of trichodinid ciliates is based on the shape and dimensions of the denticles in the adhesive disc (Van As and Basson 1989). The standard procedure started with the proposal of Lom (1958) modify by Van As and Basson (1989), which is based on a series of measurements obtained from the analysis of micrographs of silver-impregnated specimens. This method seems to be useful to accurately discriminate genera and species, and because of its effectiveness, there is not an alternative proposal to replace it. Additionally, the difficulties to collect and preserve these organisms for studies based on DNA-taxonomy, reinforce the use of morphological methods described above. Notwithstanding the universal acceptance of the taxonomic criteria, some taxonomic issues still make the discrimination between morphologically similar species difficult due to the high variation of parasites from different host species, in morphometric data, and some morphological characters (Lom 1958, Tang et al. 2017, Islas-Ortega et al. 2018, Marcotegui et al. 2018, Wang et al. 2019). These issues remain unsolved mainly because of the lack of numerical support

confirming or discarding each proposal. In this sense, the use of geometric morphometric arises as a numerical method, complementing morphological studies. While traditional morphometry uses lengths, width, and angles, geometric morphometrics uses the shape as a whole, considering all the geometrical relationships of the input data (Bonhomme et al. 2014). Geometric morphometric data have the advantage of providing a consistent set of shape variables for hypothesis testing and provide graphic analyses that quantify and visualise morphometric variation within and between organisms (Tracey et al. 2006). Elliptical Fourier functions represent a precise method for describing and characterising outlines, efficiently capturing shape information in a quantifiable manner (Kuhl and Giardina 1982, Lestrel 1997, Marcotegui et al. 2018).

Some authors have suggested that *T. centrostrigeata* possesses a morphological uniformity (Basson et al. 1983, Basson and Van As 1994, Mitra and Bandyopadhyay 2006, Abdel-Baki et al. 2017). For this reason, this species is easily distinguishable for other species of the family. In present paper, we used EFA to detect the morphological variations in the shape of the denticles of *T. centrostrigeata* associated with tilapia from geographically separate populations. This work reveals slight differences among the analysed populations, which can be attributed to natural variations in the shape of denticles in this species. These differences are numerically recorded in traditional morphological studies, but occasionally, slight differences could be hidden

by structures with coincident measurements. For example measurements of the central part and the ray of the denticle shown in Table 2 exhibit some slight differences, but in general terms, all of these measurements are in the same range, hindering to discriminate populations. However, the analysis of the shape of these structures by EFA helps to detect some significative differences hidden behind the numerical values. In this sense, the EFA prevents confusions derived from comparisons of numerical data, by an analysis of the shape, where individual silhouettes are the basis to perform one single silhouette representative of each population, susceptible to be compared to find significative differences, indicating the degree of variation among populations. Once detected, a formal description of these variations is desirable to objectively unify the criteria recognising some trichodinid taxa.

Differences between these morphotypes are measurable, and remarkably one of these is distributed in the Americas, while the other is confined to a region in South Africa. There are extensive morphological variations within the Luphephe dam population, most of the individuals share morphological denticular traits with the other three populations. The similarity of Luphephe population with those from Argentina is 15%, and 25% respect to Mexico and Glen Alpine Dam; this prevents its inclusion as a separate morphotype, although fitting within the general description for the species.

Morphotypes suggested in this study are based on results of the MANOVA, where populations from Argentina and Mexico do not present any significant differences in the shape of the denticle. Once detected, the description of each morphotype follows the proposals by Van As and Basson (1989).

Some natural factors could be considered to explain the detected variation. *Oreochromis mossambicus* and *O. niloticus* are indigenous to African freshwater environments, and due to their effective adaption to diverse habitats, it led to their expansion across the world as a financially viable food source (Trewavas 1982, Welcomme 1988, García et al. 2010). In both cases, a wide route of introductions, into and out of many continents and countries, occurred before ending up in the aquaculture farms in the Americas from which the hosts were sampled for this study. Although all of this happened within a very short time scale, their introduction into these new habitats may have had some effect on the niche (as defined by Whittaker et al. 1973) of their protistan symbionts, which could have led to small morphological adaptations to their new environments. Another important factor is that specimens of *T. centrostrigeata* obtained from Argentina and Mexico were collected from the introduced *O. niloticus* acquired from aquaculture farms, meanwhile, the South African populations were obtained

from indigenous *O. mossambicus* from natural systems. Morphological variation may also be possible due to the artificial nature of the aquaculture environment where the extra stresses of this environment may indirectly promote adaptational changes of their parasites. Additional explanations could consider environmental factors influencing variations. Some studies suggest that the morphology of the trichodinids may change over the seasons or host species (Kazubski and Migala 1967, Van As and Basson 1989, Basson and Van As 1994, Ogut and Altuntas 2011). The relevance of these factors must be verified with further studies, including other tools used for taxonomic validation such as molecular taxonomy.

In this study we attempted to verify whether the current distribution range of the populations of *T. centrostrigeata* has induced a morphological variation that can be measured. Even though there are statistically significant differences in most of the analysed populations, the method itself does not allow one to determine when populations are so far from each other to consider that they might actually represent different species. In this sense, we consider that the immediate future in the taxonomy of this ciliate group must be based on a meticulous morphological analysis such as the descriptive method proposed by Van As and Basson (1989), including tools of geometric morphometry, especially in species where taxonomic differentiation is problematic and also in species that present a wide distribution or a wide range of hosts, to begin a study of a possible relationships of morphological variation with factors such as the host or the environment should be performed, complemented with molecular characterisations where possible. This is crucial for the species delimitation of slightly differing populations that belong to the same species (i.e. Islas-Ortega et al. 2018). If the differences observed coincide with a high value of genetic divergence, then the suggestion of new species is justified (Marcotegui et al. 2018).

Authors' contribution. A.G.I.O. and P.M. performed the analysis of geometric morphometric. A.G.I.O., L.B., G.J. and R.A.A. performed the measurements and denticle descriptions. A.G.I.O. and P.M. captured the micrographs. A.G.I.O. and G.J. edited the figures. R.A.A. supervised the study. All authors have contributed to the data analysis and the discussion. A.G.I.O., L.B., G.J. and R.A.A. wrote the manuscript.

Acknowledgements. The first author received a scholarship from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) to complete her PhD program; the financial support from the Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP), and the Programa de Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, is greatly appreciated. We want to thank the members of the Laboratorio de Parásitos y Patógenos de peces, moluscos y crustáceos (CEPAVE) for support during the research.

REFERENCES

- ABDEL-BAKI A.-A.S., GHAMDI A.A., AL-QURAIISHY S. 2017: First record of three African trichodinids (Ciliophora: Peritrichida) in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Saudi Arabia with re-evaluation of their host specificity. *Parasitol. Res.* 116: 1285–1291.
- BASSON L., VAN AS J.G. 1994: Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of wild and cultured freshwater fishes in Taiwan, with notes on their origin. *Syst. Parasitol.* 28: 197–222.

- BASSON L., VAN AS J.G., PAPERNA I. 1983: Trichodinid ectoparasites of cichlid and cyprinid fishes in South Africa and Israel. *Syst. Parasitol.* 5: 245–257.
- BONHOMME V., PICQ S., GAUCHEREL C., CLAUDE J. 2014: Momics: outline analysis using R. *J. Stat. Softw.* 56: 1–24.
- BONHOMME V., PRASAD S., GAUCHEREL C. 2013: Intraspecific variability of pollen morphology as revealed by elliptical Fourier analysis. *Plant Syst. Evol.* 299: 811–816.
- CLAUDE J. 2008: *Morphometrics with R*. Springer, Seattle, 311 pp.
- GARCÍA M.L., CUELLO M., SOLARI A., MILESSI A.C., CORTÉS F., BRUNO I.M., ZAPATA M.F. 2010: Is *Oreochromis niloticus* invading the Samborombón Bay, Río de la Plata, Argentina? *Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat.* 12: 117–120.
- ISLAS-ORTEGA A.G., AGUILAR-AGUILAR R., MARCOTEGUI P., MARTORELLI S., HERNÁNDEZ-MENA D., PÉREZ-PONCE DE LEÓN G. 2018: Morphology and sequence data of Mexican populations of the ciliate parasite of marine fishes *Trichodina rectuncinata* (Ciliophora: Trichodinidae). *Acta Protozool.* 57: 145–151.
- ISLAS-ORTEGA A.G., MARCOTEGUI P.S., BASSON L., AGUILAR-AGUILAR R. 2020: A checklist of trichodinid species (Ciliophora: Trichodinidae) on tilapia fishes (Cichlidae), with new records from Mexico and the first data from Argentina. *Zootaxa* 4896: 451–484.
- DE JAGER G.P., BASSON L. 2019: Taxonomic assessment of three North American trichodinids by re-evaluating the taxon validity of *Trichodina heterodontata* Duncan, 1977 (Peritrichia). *Acta Protozool.* 58: 125–139.
- KAZUBSKI S.L., MIGALA K. 1967: The seasonal variability in *Trichodina*. *J. Protozool.* 14: 35–36.
- KUHL F.P., GIARDINA C.R. 1982: Elliptic Fourier features of a closed contour. *Comput. Gr. Image Process* 18: 236–258.
- LESTREL P.E. 1997: Introduction and overview of Fourier descriptors. In: P.E. Lestrel (Ed.), *Fourier Descriptors and Their Applications in Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 22–44.
- LOM J. 1958: A contribution to the systematics and morphology of endoparasitic trichodinids from amphibians, with a proposal of uniform specific characteristics. *J. Eukaryot. Microbiol.* 5: 251–263.
- MARCOTEGUI P.S., MONTES M.M., BARNECHE J., FERRARI W., MARTORELLI S. 2018: Geometric morphometric on a new species of Trichodinidae. A tool to discriminate trichodinid species combined with traditional morphology and molecular analysis. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 7: 228–236.
- MITRA A.K., BANDYOPADHYAY P.K. 2006: First record of ectoparasitic African trichodinids (Ciliophora: Peritrichida) in a cichlid fish *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) from the Churni River system, West Bengal, India. *Anim. Biol.* 56: 323–333.
- NOGA E.J. 2010: *Fish Disease: Diagnosis and Treatment*. Iowa State University Press, Iowa, 536 pp.
- OGUT H., ALTUNTAS C. 2011: Monthly variation in the morphological characteristics of *Trichodina* sp. (Ciliophora: Peritrichida) found on whiting *Merlangius merlangus euxinus*. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 46: 269–274.
- PAPERNA I. 1991: Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm water fish. *Annu. Rev. Fish Dis.* 1: 155–194.
- RSTUDIO TEAM. 2020: RStudio: Integrate Development for R. Studio, PBC, Boston, <http://www.rstudio.com/>
- TANG F., ZHANG Y., ZHAO Y. 2017: Morphological and molecular identification of the new species, *Trichodina pseudoheterodontata* sp. n. (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) from the channel catfish, *Ictalurus punctatus*, in Chongqing China. *J. Eukaryot. Microbiol.* 64: 45–55.
- TOMASZEWSKI D., GÓRZKOWSKA A. 2016: Is shape of a fresh and dried leaf the same? *PLoS ONE* 11: e0153071.
- TRACEY S.R., LYLE J.M., DUHAMEL G. 2006: Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock discrimination. *Fish. Res.* 77: 138–147.
- TREWAVAS E. 1982: Tilapias: taxonomy and speciation. In R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnell (Eds.), *The Biology and Culture of tilapias*. ICLARM Conf. Proc. 7, pp. 3–13.
- VALLADÃO G.M.R., ALVES L.O., PILARSKI F. 2016: Trichodiniasis in Nile tilapia hatcheries: Diagnosis, parasite: host-stage relationship and treatment. *Aquaculture* 451: 444–450.
- VALLADÃO G.M.R., GALLANI S.U., PÁDUA S.B., MARTINS M.L., PILARSKI F. 2014: *Trichodina heterodontata* (Ciliophora) infestation on *Prochilodus lineatus* larvae: a host-parasite relationship study. *Parasitology* 141: 662–669.
- VALLADÃO G.M.R., PÁDUA S.B., GALLANI S.U., MENEZES-FILHO R.N., DIAS-NETO J., MARTINS M.L., ISHIKAWA M.M., PILARSKI F. 2013: *Paratrichodina africana* (Ciliophora): a pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia. *Vet. Parasitol.* 197: 705–710.
- VAN AS J.G., BASSON L. 1987: Host specificity of trichodinid ectoparasites of freshwater fish. *Parasitol. Today* 3: 88–90.
- 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. *Syst. Parasitol.* 14: 157–179.
- WANG S., ZHAO Y., DU Y., TANG F. 2019: Morphological redescription and molecular identification of *Trichodina reticulata* Hirschmann & Partsch, 1955 (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) with the supplemental new data of SSU rDNA and ITS-5.8S rDNA. *J. Eukaryot. Microbiol.* 66: 44–459.
- WELCOMME R.L. 1988: International introductions of inland aquatic species. *FAO Fish. Tech. Pap.* 294–318.
- WHITTAKER R.H., LEVIN S.A., ROOT R.B. 1973: Niche, habitat, and ecotope. *Am. Nat.* 107: 321–338.

Received 23 November 2021

Accepted 4 July 2022

Published online 13 October 2022

Cite this article as: Islas-Ortega A.G., Marcotegui P.S., Basson L., de Jager G.P., Aguilar-Aguilar R. 2022: Comparative exploration of the morphological plasticity of *Trichodina centrostrigeata* (Peritrichia: Mobilida), ectoparasite from the gills of two tilapia species (*Oreochromis niloticus* and *O. mossambicus*) in a global context. *Folia Parasitol.* 69: 022.

CAPITULO III

Morfometría geométrica de *Paratrichodina africana* en localidades de Argentina y México

En este último capítulo se presenta la caracterización morfológica y morfométrica de *Paratrichodina africana* asociada a *Oreochromis niloticus* de dos granjas acuícolas de Argentina y México.

Paratrichodina africana, perteneciente a la familia Trichodinidae, fue descrita por primera vez como ectoparásito de tilapia africana del género *Oreochromis* (Kazubski y El-Tantawy, 1986), y desde entonces se ha registrado en África, Asia y en diferentes localidades de Brasil, Argentina y México (Islas-Ortega et al., 2020). El hallazgo de este parásito en el continente americano esta asociado a la introducción antropogénica de las tilapias a través de la acuicultura, lo que ha promovido la co-introducción de estos ciliados a nuevas localidades (van As y Basson, 1989, Valladão et al., 2016).

Dos poblaciones de este ciliado recolectadas en las branquias de *Oreochromis niloticus* de granjas acuícolas de Argentina y México fueron caracterizadas con morfología tradicional y con morfometría geométrica, especialmente usando el análisis elíptico de Fourier. El análisis mostró que los dentículos de *P. africana* poseen uniformidad morfológica. Este estudio apoya la validez de la morfometría geométrica como una técnica adicional para caracterizar cuantitativamente y comparar aquellas estructuras en las que se basa la determinación taxonómica de los tricodínidos.

La información se presenta a manera de artículo enviado a la revista Journal of Parasitology con el título: **“Morphological characterization of two Latin American populations of the tilapia’s ectoparasitic ciliate *Paratrichodina africana* (Peritrichia: Mobilida), trough the elliptical Fourier analysis”**.

Journal of Parasitology

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO LATIN AMERICAN POPULATIONS OF THE TILAPIA'S ECTOPARASITIC CILIATE PARATRICHODINA AFRICANA (PERITRICHIA: MOBILIDA), THROUGH THE ELLIPTICAL FOURIER ANALYSIS

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Full Title:	MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO LATIN AMERICAN POPULATIONS OF THE TILAPIA'S ECTOPARASITIC CILIATE PARATRICHODINA AFRICANA (PERITRICHIA: MOBILIDA), THROUGH THE ELLIPTICAL FOURIER ANALYSIS
Short Title:	ISLAS-ORTEGA ET AL.- CHARACTERIZATION OF P. AFRICANA
Article Type:	Regular Article
Corresponding Author:	ROGELIO AGUILAR-AGUILAR, Ph.D. Universidad Nacional Autónoma de México Coyoacan, Distrito Federal MEXICO
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidad Nacional Autónoma de México
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	ALMA GABRIELA ISLAS-ORTEGA, MSc
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	ALMA GABRIELA ISLAS-ORTEGA, MSc PAULA MARCOTEGUI, Dr. ROGELIO AGUILAR-AGUILAR, Ph.D.
Order of Authors Secondary Information:	
Abstract:	<p>Taxonomy of ectoparasitic ciliates of the family Trichodinidae is mainly based on the dimensions and shape of denticles in the adhesive disc. In this study, a morphological analysis of denticles from two populations of the species <i>Paratrichodina africana</i>, collected from the gills of tilapia <i>Oreochromis niloticus</i> from Argentina and Mexico, was performed and complemented with geometric morphometry, specifically using the elliptical Fourier analysis, in order to provide a characterization of the denticle. By applying this technique, it was found that denticles of <i>P. africana</i> possess a morphological uniformity, exhibiting minimal variations in the shape of the central part of the denticle and the blade apophysis. This study supports the validity of geometric morphometry as an additional technique to quantitatively characterize and to compare those structures on which the taxonomical determination is based.</p>

1 ISLAS-ORTEGA ET AL.- MORPHOMETRICAL CHARACTERIZATION OF *P. AFRICANA*
2 **MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO LATIN**
3 **AMERICAN POPULATIONS OF THE TILAPIA'S ECTOPARASITIC**
4 **CILIATE *PARATRICHODINA AFRICANA* (PERITRICHIA: MOBILIDA),**
5 **THROUGH THE ELLIPTICAL FOURIER ANALYSIS**

6 **Alma Gabriela Islas-Ortega^{1,2}, Paula S. Marcotegui³, and Rogelio Aguilar-Aguilar¹**

7 ¹Departamento de Biología Comparada, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma
8 de México, Circuito Exterior s/n, C. P. 04510, Ciudad Universitaria, Mexico.

9 ²Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

10 ³Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Mar del Plata, Argentina.

11 Correspondence should be sent to Rogelio Aguilar-Aguilar ([https://orcid.org/0000-0002-2414-](https://orcid.org/0000-0002-2414-6384)
12 6384) at: raguilar@ciencias.unam.mx

13 **ABSTRACT**

14 Taxonomy of ectoparasitic ciliates of the family Trichodinidae is mainly based on the
15 dimensions and shape of denticles in the adhesive disc. In this study, a morphological analysis of
16 denticles from two populations of the species *Paratrichodina africana*, collected from the gills of
17 tilapia *Oreochromis niloticus* from Argentina and Mexico, was performed and complemented
18 with geometric morphometry, specifically using the elliptical Fourier analysis, in order to
19 provide a characterization of the denticle. By applying this technique, it was found that denticles
20 of *P. africana* possess a morphological uniformity, exhibiting minimal variations in the shape of

21 the central part of the denticle and the blade apophysis. This study supports the validity of
22 geometric morphometry as an additional technique to quantitatively characterize and to compare
23 those structures on which the taxonomical determination is based.

24 **KEY WORDS**

25 Ciliates, Geometric morphometry, Elliptical Fourier Analysis

26 The ciliate species *Paratrichodina africana*, belonging to the family Trichodinidae, was
27 described by Kazubski and El-Tantawy (1986) as ectoparasite of African tilapia fishes (genus
28 *Oreochromis*), and since recorded from Africa (El-Din and Naeim, 1998), Asia (Mitra and
29 Bandyopadhyay, 2006), and from different localities of Brazil, Argentina, and Mexico (Pantoja
30 et al., 2012; Tavares-Dias et al., 2013, Valladão et al., 2013; Pádua et al., 2015; Rodrigues et al.,
31 2019; Islas-Ortega et al., 2020). Finding of this species in the Americas is associated to tilapia
32 fishes anthropogenically introduced through the fish aquaculture, which have promoted the co-
33 introduction of these ciliates into new areas (van As and Basson, 1989, Valladão et al., 2016).

34 Taxonomic study of this group of ciliates is mainly based on the dimensions and shape of
35 denticles in the adhesive disc (van As and Basson, 1989), however, some authors have
36 considered these as insufficient, and probable cause of still unsolved taxonomic issues, such as
37 the overlapping of morphological features among different species, or *vice versa*; an
38 overestimation of the diversity caused by the misinterpretation of small differences in shape or
39 size (Tang et al., 2017; Islas-Ortega et al., 2018; Marcotegui et al., 2018; Wang et al., 2019).
40 Recent advent of DNA-based taxonomy has helped to distinguish between remarkably similar
41 species, exhibiting some cases of genetic uniformity associated with a wide morphological
42 variation. However, application of molecular methods in trichodinid ectoparasites is hampered

43 by the size of these organisms, which hinder the collection, preservation, and subsequent
44 analysis, along with the difficulty of recognise among diverse morphologically similar species
45 involved on multiple infestations occurring on the same host. In this sense, the use of the
46 geometric morphometry arises as an alternative method to provide information regarding
47 changes in the shape of the anatomical structures, independently of the size of the analyzed
48 individual, or the availability of specimens for molecular studies; even, this method can be used
49 in cases with multiple infections (Marcotegui et al., 2018). Then, geometric morphometry seems
50 to be a promising alternative to address taxonomic conflicts where samples for molecular
51 biology are not available. In this study we analyse two populations of the species *Paratrichodina*
52 *africana* from two geographically separated localities in the Americas (one from Argentina, and
53 another from Mexico), through the approach of the elliptical Fourier analysis (EFA), in order to
54 characterize the shape and dimensions of denticles in the adhesive disc of this species.

55 Marcotegui et al. (2018) differentiated between trichodinid ciliates for the first time using
56 geometric morphometry through elliptical Fourier analysis (EFA), which quantitatively describes
57 the variation of denticle shapes by using a Fourier transformation of a denticle outline to obtain a
58 set of quantitative variables (called harmonics), each described by four coefficients (Bonhomme
59 et al., 2014). The foundation of the EFA is to separate the x and y coordinates of the denticle
60 outline and calculate a discrete Fourier series based on these two periodic functions using the
61 number (n) of harmonics high enough to capture the satisfactory geometry of the described shape
62 (Bonhomme et al., 2013). These coefficients may then be subjected to multivariate statistical
63 methods, primarily principal component analysis (PCA), which is a statistical method that
64 reduces the number of variables (dimensions) without much loss of information. Moreover, EFA
65 combined with PCA allows visualization and reconstruction of shapes via inverse Fourier

66 transformation, a powerful tool when considering the potential taxonomic significance of the
67 shape (Tomaszewski and Górkowska, 2016).

68 MATERIALS AND METHODS

69 Two populations of *Paratrichodina africana* were collected from the gills of
70 *Oreochromis niloticus* from Argentina (San Vicente aquaculture facility, 35°04'00''S,
71 58°31'01''W) and Mexico (Huandacareo aquaculture facility, 19°56'24''N, 101°18'36''W).
72 Specimens were measured using the uniform characteristics initially proposed by Lom (1958)
73 and later adapted by van As and Basson (1989), both based on silver-impregnated specimens.
74 Micrographs of *P. africana* specimens were obtained using Leica DM500® photomicroscope
75 equipment, with Leica ICC50 HD® capture imaging system. The measurements of the
76 populations were acquired from the micrographs, using the Image-Pro Plus® 7.0 software. All
77 morphometric measurements are provided in μm and represented as minimum to maximum
78 (mean \pm standard deviation), for the number of denticles and number of radial pins per denticle
79 the mode was used rather than the arithmetic mean. Body diameter is determined as the adhesive
80 disc plus the border membrane. Denticles were described using the method devised by van As
81 and Basson (1989).

82 Morphometric analyses were based on the outlines (silhouettes) of 30 randomly selected
83 *P. africana* denticles per population for each locality (Table 1). One denticle per individual
84 trichodinid was used for the analyses and the silhouette of the denticle was then drawn from
85 micrographs using GIMP (2.10.2) editing software. The elliptical Fourier analysis was done
86 through RStudio (1.3.1056) (RStudio Team) using the Momocs package (version 0.2-01),
87 dedicated to shape analysis (Bonhomme et al., 2014). Silhouettes were imported into RStudio
88 and denticle outlines were extracted into a “Coo” class object as a list of x; y pixel coordinates.

89 The pixel coordinates were obtained using an algorithm by Claude (2008) extracted from a black
90 denticle silhouette on a white background. An EFA was performed on 60 denticle outlines.
91 Before performing elliptical Fourier descriptor analysis, an estimation of the number of
92 harmonics to perform was calculated using the *hquant* function. The optimal number of
93 harmonics to reach approximately 99% of the maximum calculated Fourier power was
94 determined from the relationship between the harmonic numbers and their cumulated power
95 (Fourier power spectrum). Qualitative analysis of the ability for different numbers of harmonics
96 to recapitulate the original shape outline was performed using the *hqual* function. Fourier
97 analysis was performed using the *eFourier* function, parameters of the first harmonic were used
98 to normalize coefficients so that they were invariant to size, rotation, and starting point of the
99 outline trace. Harmonic coefficients from the resulting “Coe” object were used for subsequent
100 statistical analyses. All statistical analyses were performed using RStudio (1.3.1056). Principal
101 Component Analyses (PCA) and multivariate analyses of variance (MANOVA) were used to
102 discriminate between shape variations and to test for differences. Linear Discriminant Analysis
103 (LDA) on the harmonic coefficient was performed using the *LDA* function.

104 RESULTS

105 ***Paratrichodina africana*, denticle description collectively for all two populations (Figure 1,** 106 **Table 1).**

107 Blade shape resembles an equilateral triangle where majority of specimens have broad
108 and flattened head blades (distal part of blade) tapering towards central part, filling the space
109 between the y and $y+1$ axes. Distal surface ranges from flattened to slightly rounded, very few
110 with rounded distal edge (21%). Distal surface mostly parallel to border membrane in some
111 specimens. The border membrane surrounding the adhesive disc is wide. Contact surface of

112 tangent point varies, in the majority forms short line rather than point, tangent point located the
113 same level or just below the distal point. Anterior margin convex with an apex that in most cases
114 touches the y+1 axis but never trespassed. Prominent blade apophysis always present, the tip of
115 the rounded blade apophysis trespassed the y+1 in most individuals (71.9%). Posterior margin
116 varies from straight to slightly concave. Blade connection elongated and thin in most cases.
117 Posterior projection not visible. Central part delicate, triangular, some longer and narrower than
118 others that are wider and squatter, with rounded tips. Central part fits tightly into preceding
119 denticle. Section above and below x axis similar in shape. Central part extends less than halfway
120 to y - 1 axis in majority. Ray connection short. Rays shorter than blade, straight in vast majority
121 of cases, narrow, finger-shaped, with no apophysis. The bases of the blade and the ray are in a
122 visibly shifted position. Rays presents variations in its orientation, some run parallel to and
123 between y axes (47.3%), other rays directed in anterior direction with tips extending past y + 1
124 axis (26.3%). And some rays directed in posterior direction with tips extending past y - 1 axis
125 (26.3%).

126 **Analysis of geometric morphometry (EFA)**

127 Silhouettes of 60 denticles of *P. africana* from the two analyzed populations (30
128 silhouettes per population) are presented in Figure 2. Nine harmonics were found to be sufficient
129 to reach approximately 99% of the maximum cumulated Fourier power for the denticles of *P.*
130 *africana* (Figure 3). Results of the PCA analysis indicate that over 99% of the observed outline
131 shape variation of *P. africana* can be represented on 17 orthogonal principal component axes. To
132 further assess the morphological uniformity between the populations, we performed a linear
133 discriminant analysis (LDA), to detect variations distinguished quantitatively based on PCA axes
134 1 to 17. As result, the generalized silhouette of each population was obtained, which are almost

135 overlapped, showing minimal variations, mainly in the shape of the central part of the denticle
136 and the blade apophysis (Figure 4). We suggest that these silhouettes be considered as the
137 morphological limits of a representative shape for *Paratrichodina africana* from the Americas,
138 which could be used as a basis for taxonomically distinguish this species respect other present on
139 the tilapia around the world.

140 **DISCUSSION**

141 The species *Paratrichodina africana* is found associated with a wide variety of tilapia
142 hosts within a large geographical range (Islas-Ortega et al., 2020). This species exhibits a similar
143 morphology throughout its native and introduced distribution (see Kazubski and El-Tantawy,
144 1986; Mitra and Bandyopadhyay, 2006; Tavares-Dias et al., 2013, Valladão et al., 2013). This
145 morphological uniformity was evident when the measurements of the organisms of the two
146 analyzed populations were confronted, displaying minimal variations in the blade length, and in
147 the shape of the central part of the denticle and the blade apophysis (Figure 4).

148 Most of taxonomical studies of trichodinids around the world are focused on morphology,
149 therefore, the species identification is mainly based on the morphological techniques, especially
150 the silver-impregnation (Tang et al., 2017) proposed as standard procedure by Lom (1958) as
151 well as the use of uniform specific characters. Since within the genus *Trichodina*, the main
152 differentiating characteristics are associated with the shape and dimensions of the denticles in the
153 adhesive disc, van As and Basson (1989) propose an additional system to that of Lom (1958) that
154 allows a more complete description and measurement to the denticles.

155 Some trichodinids are morphologically very similar, which easily leads to taxonomic confusions
156 within intraspecific (i.e., *T. rectuncinata*) and interspecific groups (i.e., *T. koloti* and *T.*

157 *hypsilipsis*) (Tang et al., 2017; Islas-Ortega et al., 2018; de Jager et al., 2019). Despite universally
158 accepted taxonomic criteria, proposed as an effective way to identify, and distinguish
159 trichodinids, it is still difficult to discriminate between morphologically similar species partly
160 due to the high variation in host species, morphometric data, and some morphological characters
161 (Lom, 1958; Tang et al., 2017; Islas-Ortega et al., 2018; Marcotegui et al., 2018; Wang et al.,
162 2019). While traditional morphometry use lengths, wide, and angles, geometric morphometrics
163 considers shape as a whole, considering all the geometrical relationships of the input data
164 (Bonhomme et al., 2014). Geometric morphometric data have the advantage of providing a
165 consistent set of shape variables for hypothesis testing and provide graphic analyses that quantify
166 and visualize morphometric variation within and between organisms (Tracey et al., 2006).
167 Elliptical Fourier functions represent a precise method for describing and characterizing outlines,
168 efficiently capturing shape information in a quantifiable manner (Kuhl and Giardina, 1982;
169 Lestrel, 1997; Marcotegui et al., 2018).

170 In this paper, we used EFA to characterize the shape of the denticles of *P. africana* associated
171 with tilapia from geographically separate populations, confirming that this ciliate species exhibits
172 remarkable morphological similarities in those structures where the taxonomical work is based.
173 Thus, the populations from Argentina and Mexico constituted a single morphological group, by
174 possessing a close quantitative similarity in the shape of the denticles. In this sense, EFA seems
175 to be a useful quantitative method to reliably associate selected morphological features with the
176 taxonomical work, providing information about the generalized shape of these structures, and
177 recognizing problematic areas where the greatest variation is found. For this reason, we consider
178 that the immediate future on the taxonomy of this ciliate group must be based on a meticulous
179 morphological analysis such as the descriptive method proposed by van As and Basson (1989),

180 including tools of geometric morphometry, complemented with molecular characterizations
181 where possible, all contributing to taking a position about the species characterization and
182 delimitation.

183 **ACKNOWLEDGEMENTS**

184 The first author received a scholarship from the Consejo Nacional de Ciencia y
185 Tecnología (CONACYT) to complete her PhD program; the financial support from the Programa
186 de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP), and the Programa de Posgrado en Ciencias
187 Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México is greatly appreciated.

188 **LITERATURE CITED**

- 189 Bonhomme, V., S. Prasad, and C. Gaucherel. 2013. Intraspecific variability of pollen
190 morphology as revealed by elliptical Fourier analysis. *Plant Systematics and Evolution* 299:
191 811–816.
- 192 Bonhomme V., S. Picq, C. Gaucherel, and J. Claude J. 2014. Momocs: Outline analysis using R.
193 *Journal of Statistical Software* 56: 1–24.
- 194 Claude, J. 2008. *Morphometrics with R*. Springer. Seattle, USA, 311 pp.
- 195 de Jager, G. P., L. Basson, and J. van Marwijk. 2019. A new *Trichodina* species (Peritrichia:
196 Mobilida) from anuran tadpole hosts, *Sclerophrys* spp. In the Okavango Panhandle,
197 Botswana, with comments on this taxon. *Acta Protozoologica* 58: 141–153.
- 198 El-Din, N. S., and E. S. Naiem. 1998. Ciliates of the genera *Trichodina*, *Tripartiella* and
199 *Paratrichodina* invading the Nile fish *Clarias lazera* and *Oreochromis niloticus*. *Egyptian*
200 *Journal of Aquatic Biology and Fisheries* 2: 35–49.

201 Islas-Ortega A.G., R. Aguilar-Aguilar, P. Marcotegui, S. Martorelli, D. Hernández-Mena, and G.
202 Pérez-Ponce de León. 2018. Morphology and sequence data of Mexican populations of the
203 ciliate parasite of marine fishes *Trichodina rectuncinata* (Ciliophora: Trichodinidae). *Acta*
204 *Protozoologica* 57: 145–151.

205 Islas-Ortega, A. G., P. S. Marcotegui, L. Basson, and R. Aguilar-Aguilar. 2020. A checklist of
206 trichodinid species (Ciliophora: Trichodinidae) on tilapia fishes (Cichlidae), with new
207 records from Mexico and the first data from Argentina. *Zootaxa* 4896: 451–484.

208 Kazubski, S. L., and S. A. M. El-Tantawy. 1986. The ciliate *Paratrichodina africana* sp. n.
209 (Peritricha, Trichodinidae) from Tilapia fish (Cichlidae) from Africa. *Acta Protozoologica*
210 25, 433–438.

211 Kuhl, F. P., and C. R. Giardina. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer*
212 *Graphics and Image Process* 18: 236–258.

213 Lestrel, P.E. 1997. Introduction and overview of Fourier descriptors. *In* *Fourier Descriptors and*
214 *Their Applications in Biology*, P.E. Lestrel (ed.). Cambridge University Press, Cambridge,
215 p. 22–44.

216 Lom, J. 1958. A contribution to the systematics and morphology of endoparasitic trichodinids
217 from amphibians, with a proposal of uniform specific characteristics. *Journal of Eukaryotic*
218 *Microbiology* 5: 251–263.

219 Marcotegui P. S., M. M. Montes, J. Barneche, W. Ferrari, and S. S. Martorelli. 2018. Geometric
220 morphometric on a new species of Trichodinidae. A tool to discriminate trichodinid species
221 combined with traditional morphology and molecular analysis. *International Journal for*
222 *Parasitology: Parasites and Wildlife* 7: 228–236.

223 Mitra, A. K., P. K. Bandyopadhyay. 2006. First record of ectoparasitic African trichodinids
224 (Ciliophora: Peritrichida) in a cichlid fish *Oreochromis mossambicus* (Peters 1852) from the
225 Churni River system, West Bengal, India. *Animal Biology* 56: 323–333.

226 Pádua, S. B., R. N. Menezes-Filho, M. L. Martins, M. A. A. Belo, M. M. Ishikawa, C. A.
227 Nascimento, K. C. Saturnino, and J. R. Carrijo-Maud. 2015. A survey of epitheliocystis
228 disease in farmed Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linnaeus, 1758) in Brazil. *Journal of*
229 *Applied Ichthyology* 31: 927–930.

230 Pantoja, W. M. F., L. R. Neves, M. R. D. Dias, R. G. B. Marinho, D. Montagner, and M.
231 Tavares-Dias. 2012. Protozoan and metazoan parasites of Nile tilapia *Oreochromis niloticus*
232 cultured in Brazil. *Revista MVZ Córdoba* 17: 2812–2819.

233 Rodrigues, F.S., I. M. Assane, G. M. R. Valladão, F. G. Paula, C. L. Andrade, A. P. Moraes, M.
234 Dall’Agnol, and L. M. Pascoal. 2019. First report of *Trichodinella* and new geographical
235 records of trichodinids in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) farmed in Brazil. *Brazilian*
236 *Journal of Veterinary Parasitology*, 28, 229–237.

237 RStudio Team. 2020: RStudio: Integrate Development for R. Studio, PBC, Boston,
238 <http://www.rstudio.com/>

239 Tang, F., Y. Zhang, and Y. Zhao. 2017. Morphological and molecular identification of the new
240 species, *Trichodina pseudoheterodentata* sp. n. (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) from
241 the channel catfish, *Ictalurus punctatus*, in Chongqing China. *Journal of Eukaryotic*
242 *Microbiology* 64: 45–55.

243 Tavares-Dias, M., N. C. Marchiori, and M. L. Martins. 2013. *Paratrichodina africana*
244 (Ciliophora: Trichodinidae) of wild and cultured Nile tilapia in the Northern Brazil. *Revista*
245 *Brasileira de Parasitologia Veterinária* 22: 248–252.

246 Tomaszewski, D., and A. Górkowska. 2016. Is shape of a fresh and dried leaf the same? *PLoS*
247 *One* 11: e0153071.

248 Tracey S. R., J. M. Lyle, and G. Duhamel. 2006. Application of elliptical Fourier analysis of
249 otolith form as a tool for stock discrimination. *Fisheries Research* 77: 138–147.

250 Valladão, G. M. R., L. O. Alves, and F. Pilarski. 2016. Trichodiniasis in Nile tilapia hatcheries:
251 Diagnosis, parasite: host-stage relationship and treatment. *Aquaculture* 451: 444–450.

252 Valladão, G. M. R., S. B. Padúa, S. U. Gallani, R. N. Menezes-Filho, J. Dias-Neto, M. L.
253 Martins, M. M. Ishikawa, and F. Pilarski. 2013. *Paratrichodina africana* (Ciliophora): A
254 pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia. *Veterinary Parasitology* 197: 705–710.

255 van As, J. G., and L. Basson. 1989. A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae
256 (Ciliophora: Peritrichia) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic
257 trichodinids. *Systematic Parasitology* 14: 157–179.

258 Wang S., Y. Zhao, Y. Du, and F. Tang. 2019. Morphological redescription and molecular
259 identification of *Trichodina reticulata* Hirschmann & Partsch, 1955 (Ciliophora, Mobilida,
260 Trichodinidae) with the supplemental new data of SSU rDNA and ITS-5.8S rDNA. *Journal*
261 *of Eukaryotic Microbiology* 66: 44–459.

262

263 **FIGURE 1.** Micrographs of *Paratrichodina africana* from Huandacareo, Mexico (**A**), and from
264 San Vicente, Argentina (**B**). Diagrammatic drawings of the denticles of *P. africana* from
265 Huandacareo, Mexico (**C**), and from San Vicente, Argentina (**D**).

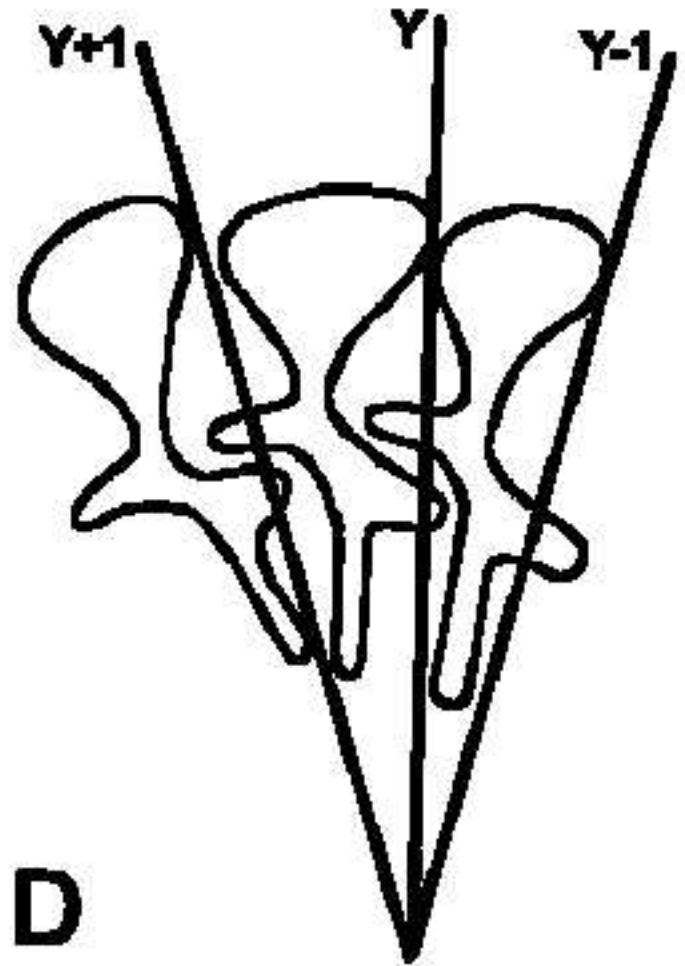
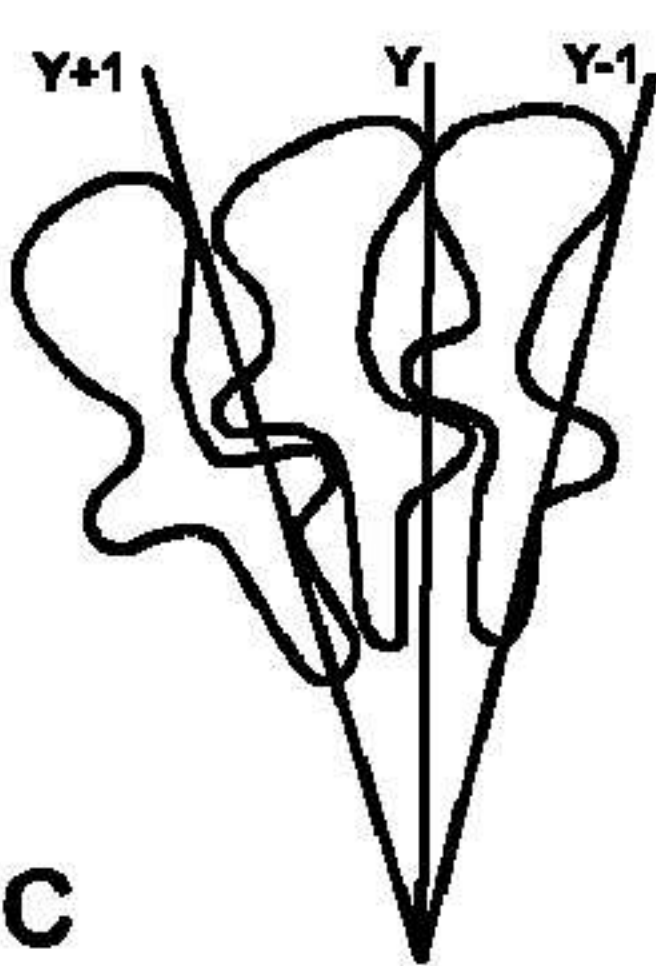
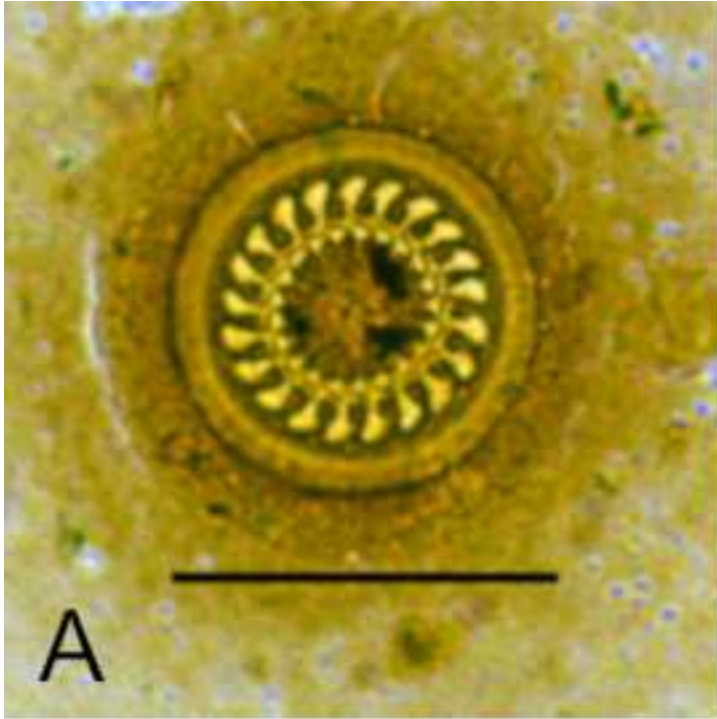
266 **FIGURE 2.** Denticles silhouettes utilized with elliptical Fourier analysis. form Argentinian
267 (white) and Mexican (black) populations.

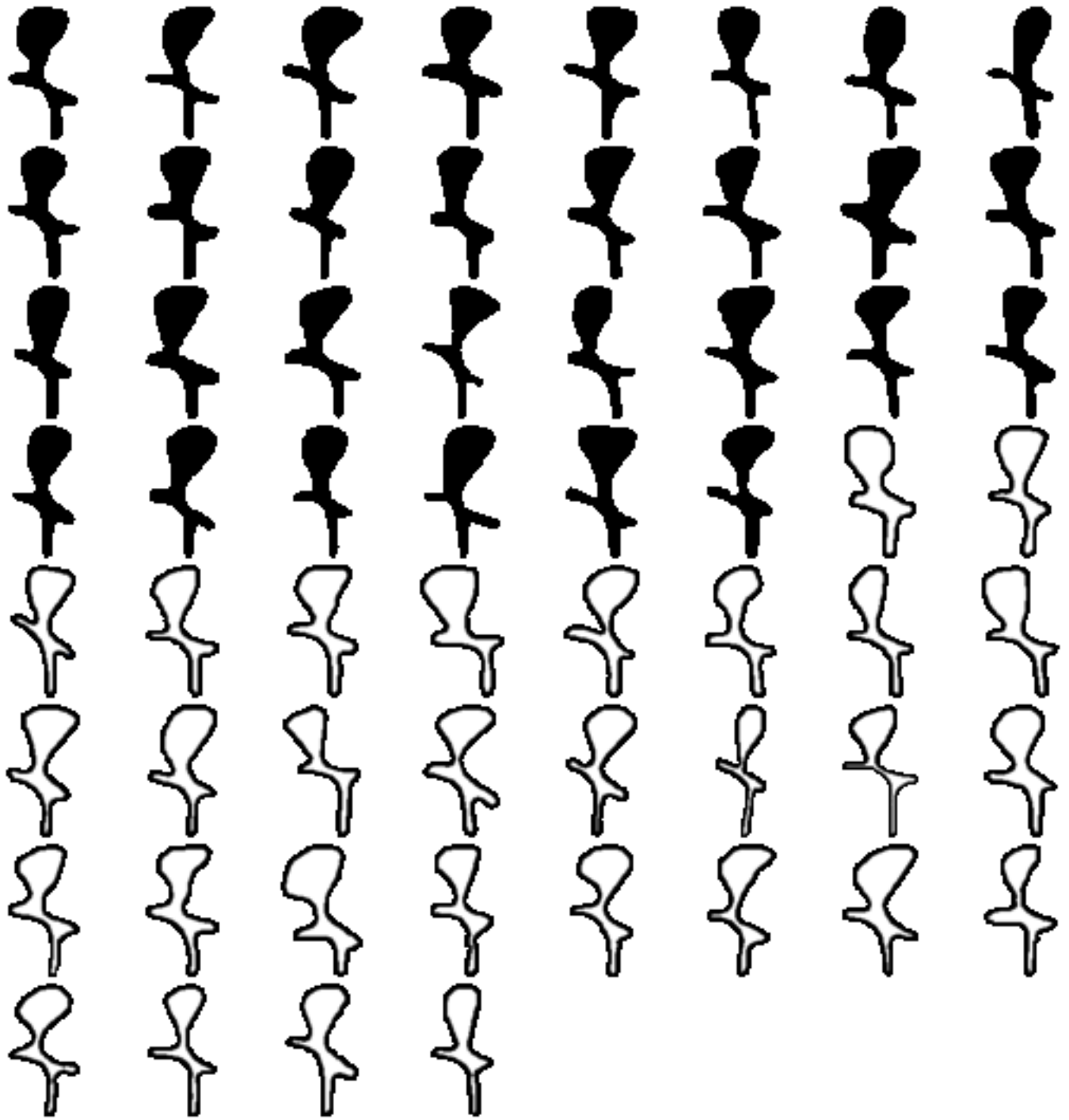
268 **FIGURE 3.** Fourier harmonic power spectrum based on elliptical Fourier analysis for the species
269 *Paratrichodina africana*. Nine harmonics are sufficient to reach approximately 99% of the
270 maximum cumulated.

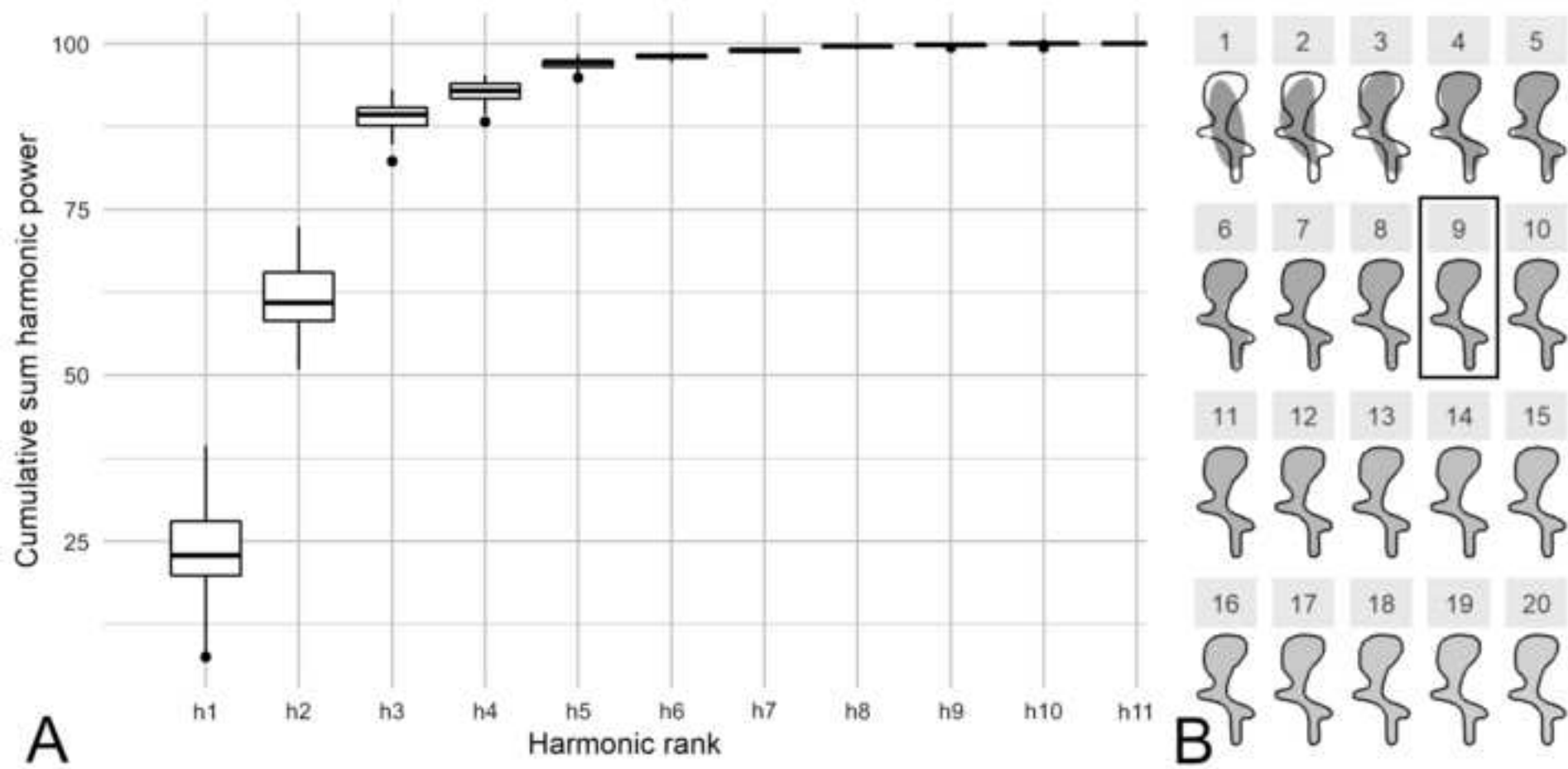
271 **FIGURE 4.** Isodeformation lines for denticles of analyzed populations of *Paratrichodina*
272 *africana*. Areas tending to red color indicate high variation in the shape.

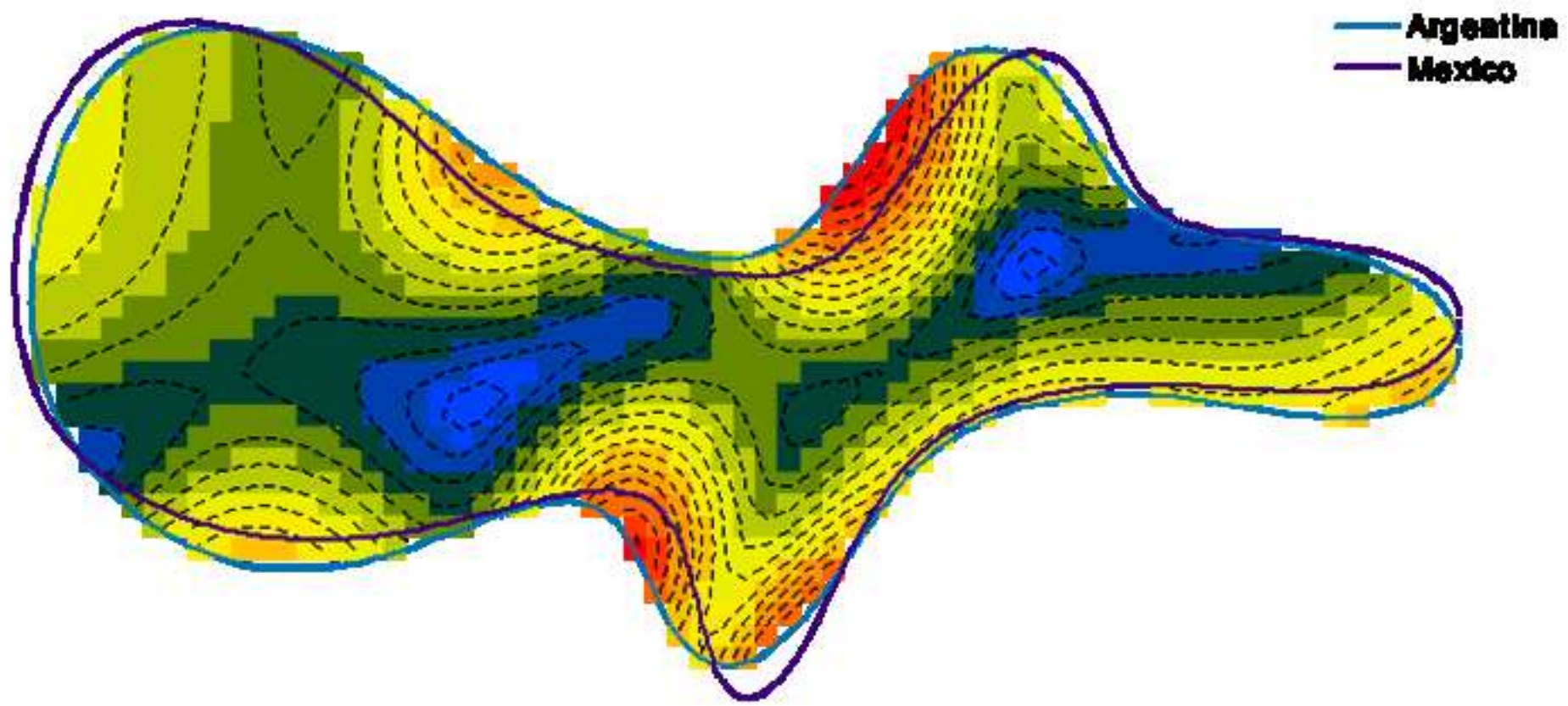
Table 1. Morphometric measurements of *Paratrichodina africana* from tilapia *Oreochromis niloticus* from Argentina and Mexico

Structure	Argentina	Mexico	Both
Body diameter	18.5-25.7 (22.3±4.4, 30)	18.6-35.1 (23.8±3.5, 23)	18.5-35.1 (23.1±4.2, 53)
Adhesive disc	15.2-21.3 (18.0±3.8, 30)	15.5-20.4 (18.4±1.2, 30)	15.3-21.4 (18.3±2.9, 60)
Denticle ring diameter	8.4-13.0 (10.5±2.2, 30)	8.8-12.6 (10.7±1.1, 30)	8.4-13.0 (10.7±1.8, 60)
Border membrane	1.3-2.6 (1.9±0.3, 31)	1.1-4.7 (1.8±0.6, 30)	1.1-4.7 (1.9±0.5, 61)
Blade length	1.9-3.7 (2.9±0.4, 31)	2.2-3.3 (2.7±0.2, 30)	1.9-3.7 (2.8±0.4, 61)
Central width	0.4-1.0 (0.7±0.1, 31)	0.4-1.2 (0.8±0.1, 30)	0.4-1.2 (0.8±0.2, 61)
Ray length	0.7-1.9 (1.4±0.3, 31)	0.8-1.8 (1.4±0.3, 30)	0.7-1.9 (1.4±0.3, 61)
Denticle span	4.4-6.6 (5.3±0.6, 31)	4.4-6.1 (5.1±0.4, 30)	4-6.6 (5.2±0.6, 61)









Discusión y conclusiones

Los retos actuales del conocimiento de la biodiversidad implican que el trabajo taxonómico se realice de la mejor manera posible. Hasta recientemente el trabajo taxonómico reconocía, denominaba, clasificaba y cuantificaba la biodiversidad bajo un enfoque eminentemente descriptivo (Noriega et al., 2015), desligado de otros aspectos de la biología de los taxones, y que, al depender de la habilidad de cada especialista, frecuentemente propiciaba confusiones taxonómicas que a lo largo del tiempo se acumularon y dificultaron un conocimiento preciso de la diversidad biológica. Como una manera de dar mayor certidumbre al trabajo taxonómico, en las últimas décadas diversos autores han manifestado la conveniencia de incorporar fuentes de evidencias complementarias al trabajo descriptivo (Dayrat, 2005; Padial et al., 2010; Schlick-Steiner et al., 2010). Tales evidencias pueden provenir de fuentes variadas y requieren la integración de varias disciplinas; entre las fuentes de información que son más frecuentemente utilizadas, esta la información derivada del análisis de secuencias de fragmentos de diversos genes nucleares y mitocondriales (Coleman y Radulovici, 2020) que cada vez con mayor frecuencia acompañan a los trabajos descriptivos, sin embargo, otras fuentes de información evidencias morfométricas, ecológicas, biogeográficas, fisiológicas, químicas, de ultraestructura e incluso comportamentales han cobrado una gran importancia (Martínez-López, 2015; Dupérré, 2020).

La familia Trichodinidae, objeto de este estudio es uno de los grupos biológicos que presentan confusiones taxonómicas. Actualmente, existen especies que presentan variación morfológica intraespecífica, por ejemplo: *T. rectuncinata* (Islas-Ortega et al., 2018), o

interespecífica como *T. kolotti*, *T. hypsilepis* (de Jager et al., 2019), *T. belloti*, *T. pseudoheterodontata* y *T. paraheterodontata* (Marcotegui et al., 2018). También existen casos en los cuales la morfología de algunas especies de tricotínidos se considera estable a pesar de tener múltiples hospederos y/o haberse registrado en muchas partes del mundo, como es el caso de las especies estudiadas en el presente trabajo, *Paratrichodina africana* y *T. centrostrigeata* (Islas-Ortega et al., 2020). En todo caso, es deseable una unificación de criterios para validar las hipótesis taxonómicas vigentes, que corresponda con los preceptos del trabajo taxonómico contemporáneo al incorporar información de fuentes múltiples.

En este estudio se analizaron dos especies de la familia Trichodinidae asociadas a tilapias de localidades geográficamente muy distantes. El análisis confirmó que los dentículos de *Paratrichodina africana* de las poblaciones argentinas y mexicanas poseen una uniformidad morfológica cuantitativamente detectable y estadísticamente significativa, lo que sugiere que existe una uniformidad en los caracteres en los que se basan las descripciones de las poblaciones, siempre considerando que no fue posible incorporar en el estudio aquellas poblaciones provenientes de lo que se considera su área de distribución natural, localizada en el norte de África (Kazubski y El-Tantawy, 1986). A partir de la información generada de este estudio aquellas variaciones detectadas en futuros análisis de tricotínidos nominalmente adjudicados a *P. africana* deberán de ser comparados con evidencia múltiple para probar una eventual variabilidad en el taxón, o establecer los límites entre distintas especies.

El análisis de Fourier arrojó conclusiones diferentes al analizar a la especie nominal *Trichodina centrostrigeata*, cuyas poblaciones fueron agrupadas en dos morfotipos que representan la variabilidad morfológica de esta especie. El análisis no permite establecer el

origen de la variabilidad morfológica. Podemos especular que la variación morfológica está relacionada con alguna de tres posibles causas: a) la situación geográfica, que se ha identificado como fuente de variación en estructura corporales de otros grupos biológicos, como en el monito del monte, *Dromiciops gliroides* (Valladares-Gómez et al., 2017), que exhibe variabilidad en el cráneo a lo largo de su distribución geográfica, que va del centro al sur de Chile; b) la especificidad hospedatoria, en donde los morfotipos estarían fuertemente asociados a un huésped particular, como en el caso de los trematodos de la especie *Bivesicula sheni*, que tienden a adoptar un cuerpo un poco más esférico cuando parasita a peces de la familia Holocentridae que cuando se encuentran en la familia Serranidae (Cribb et al., 2022), o el trematodo *Saccocoelioides lamothei*, que muestra una plasticidad fenotípica inducida por su huésped, que provoca que los organismos encontrados en la familia de peces Eleotridae presenten un cuerpo más ancho que aquellos que parasitan a la familia Mugilidae, con un cuerpo más largo, y los que parasitan a la familia Gobiidae, que presentan testículos más pequeños (González-García et al., 2020); c) la tercer posibilidad implica la combinación de los factores mencionados, es decir, que la variabilidad esté en función de la adaptación de los ciliados a huéspedes y localidades diferentes.

Los análisis geométricos, utilizan la forma como un todo y consideran todas las relaciones geométricas de los datos (Bonhomme et al., 2014), comúnmente complementan el enfoque morfométrico en la zoología y la botánica (Karahhan et al., 2014; Tomaszewski y Górzowska, 2016; Neto et al., 2019; Kryštufek et al., 2021). Existen dos enfoques en la morfometría moderna: el estudio de *landmarks* o puntos homólogos y el análisis de contornos y superficies (Bonhomme et al., 2014). Dado que no es posible identificar puntos homólogos en los tricodínidos, el método más conveniente para su estudio morfométrico y usado en el presente trabajo es el análisis

elíptico de Fourier, el cual es un método muy poderoso e informativo para la cuantificación objetiva de la forma a través de su contorno (Tomaszewski y Górzowska, 2016). De acuerdo con los resultados de ese estudio la aplicación de técnicas avanzadas del análisis morfométrico proporciona herramientas útiles y poderosas para identificar las diferencias entre las poblaciones de ciliados, detectar diferencias entre grupos y diferenciar entre las mismas especies, por lo que su empleo como complemento a la herramientas taxonómicas tradicionales se propone como una alternativa cuantitativa, que es capaz de solventar las eventuales subjetividades del trabajo taxonómico meramente descriptivo.

No obstante, el representar un método muy útil en términos taxonómicos, a la fecha existen pocos trabajos de morfometría geométrica en protozoos ciliados. Los análisis de la forma han sido raramente usados en el estudio de este grupo (Pecina y Vd'ačný, 2020). La primera vez que el método fue empleado utilizando como modelo de estudio a los ciliados, se buscó dividir al género *Vorticella* en subgrupos morfológicos que pudieran utilizarse como un medio de clasificación de tipos ecológicos (Roberts et al., 1983), sin embargo, sus resultados fueron limitados ya que la variación de la forma parecía ser mayor dentro de cada uno de los grupos nominales que entre ellos, y evidentemente su tratamiento no influyó de ninguna manera en la clasificación taxonómica del grupo, la cual sigue siendo complicada, por lo que algunos autores han evidenciado la variación morfológica que existe dentro de las especies de este género (Sun et al., 2006; Sun et al., 2013; Liang et al., 2019), sin que hasta el momento, alguno de ellos haya utilizado el análisis de morfometría geométrica para analizar esta variación. Como es de esperarse, sugerimos enfáticamente la adición de la morfometría geométrica, preferentemente en conjunto con procedimientos moleculares, como la vía más adecuada para elucidar la

situación taxonómica de cada especie dentro del género. Por otra parte, el método fue utilizado por Pecina y Vd'áčný (2020) para evaluar la consistencia de la delimitación de las especies de la familia Clevelandellidae, simbiontes del intestino de cucarachas. Este trabajo se enmarca por completo dentro del contexto de la taxonomía integrativa, pues además de contrastar las observaciones morfológicas con morfometría, incorpora datos provenientes de la biología molecular, mostrando que en esta familia hay una variación molecular mayor que la detectada con caracteres morfológicos (Pecina y Vd'áčný, 2020). El enfoque de la taxonomía integrativa para resolver situaciones taxonómicas en ciliados también fue utilizado con éxito por Marcotegui et al (2018), en la descripción de la especie *Trichodina belloti* mediante morfología descriptiva, análisis de secuencias y análisis morfométrico de Fourier. Este trabajo junto con dos mencionados anteriormente muestran que el método proporciona una fuente de evidencia cuantitativa y estadísticamente determinable que debe ser tomada en cuenta como evidencia complementaria para soportar las propuestas taxonómicas en un grupo de difícil resolución como el phylum Ciliophora. Se espera que, a partir de la difusión de los resultados de este trabajo, se incrementen los estudios que incorporen métodos cuantitativos.

Reiterando, el empleo de la morfometría geométrica en ciliados de la familia Trichodinidae es muy deseable porque complementa los estudios morfológicos tradicionales al proporcionar información sobre los cambios de la forma en el dentículo, independientemente del tamaño del individuo, y por otra parte, también puede utilizarse en casos de múltiples infecciones, lo que se ha detectado como obstáculo a la hora de realizar análisis moleculares, ya que a menudo las diferentes especies no pueden distinguirse entre sí para un aislamiento adecuado (Marcotegui et al., 2018). Las funciones dentro del análisis elíptico de Fourier

representan un método preciso para describir y caracterizar los contornos de los dentículos, capturando eficientemente la información de la forma de manera cuantificable (Kuhl y Giardina, 1982; Lestrel, 1997; Marcotegui et al., 2018).

Los obstáculos en la taxonomía de diversos grupos biológicos se han debatido ampliamente en la literatura científica en las últimas dos décadas (Karanovic et al., 2018). Las soluciones propuestas e iniciativas prácticas van desde ligeras modificaciones al método descriptivo tradicional, hasta la inclusión de novedades tecnológicas como los avances en la secuenciación del ADN o el uso de softwares para el procesamiento de datos morfológicos (Warren et al., 2017, Abraham et al., 2019; Gómez-Diaglo y Dawson, 2019). Actualmente, en la mayor parte de los grupos biológicos las filogenias moleculares desempeñan un papel central en la investigación destinada a la delimitación de especies (Padial y de la Riva, 2007; Davis et al., 2016; Gómez-Diaglo y Dawson, 2019) y es innegable la importante contribución de los datos moleculares en la elucidación de múltiples propuestas taxonómicas. Sin embargo, es recomendable evitar la tentación de confiar en los datos moleculares para resolver la totalidad de problemas taxonómicos, lo que ha conducido al extremo de postular el empleo de exclusivamente datos moleculares para delimitar miles de especies que permanecen aún sin una descripción formal (Brower, 2010; Johnson et al., 2015; Karanovic et al., 2018). En el contexto de la taxonomía integrativa, la relevancia de una sola fuente de información es desalentada, para fomentar una resolución a los problemas taxonómicos a través de distintas herramientas; ante esto, existe la propuesta de reexaminar con morfometría geométrica aquellas especies conflictivas y describirlas formalmente (Karanovic et al., 2016).

Comprender la evolución de la forma de los organismos es un objetivo primordial de la biología comparada, por lo que inferir la historia filogenética del cambio de forma es, por tanto, una preocupación central (Klingenberg y Gidaszewski, 2010). La morfología geométrica constituye una herramienta gráfica para la visualización y cuantificación de la variación morfológica en diferentes contextos ecológicos y evolutivos (Adams y Rohlf, 2000; Alibert et al., 2001; Benítez y Püschel, 2014). Los datos de la morfometría geométrica tienen la ventaja de proporcionar un conjunto consistente de variables de la forma (Tracey et al., 2006; Benítez y Püschel, 2014), y de la caracterización de la diversidad fenotípica en especies estrechamente emparentadas, lo que es esencial para comprender su interacción con el medio ambiente (que los datos moleculares no proporcionan por sí solos) y la razón de la divergencia de las especies (Viacara et al., 2021). Estudios recientes demuestran que los análisis de morfometría geométrica de los fenotipos pueden proporcionar tanta resolución (o más) como los datos moleculares (Karanovic et al., 2016, 2018), por lo que podemos considerarla como una excelente fuente de información biológica. Por otro lado, otra ventaja del uso de la morfometría geométrica en estudios taxonómicos es el costo, que es más bajo en comparación con los que implican procedimientos moleculares. Los marcadores morfológicos siguen siendo menos costosos, más fáciles de usar, no requieren instrumentos sofisticados, ni un alto nivel de experiencia técnica (Gómez, 2014; Henriques et al., 2020). Dadas estas ventajas, cuando los rasgos morfológicos ofrecen una resolución taxonómica que va más allá del nivel de la especie, permitiendo la detección de una estructura genética fina, podrían utilizarse para identificar poblaciones que puedan estudiarse posteriormente con marcadores moleculares (Henriques et al., 2020).

El enfoque taxonómico actual pretende aprovechar al máximo los avances tecnológicos combinándolos con los enfoques tradicionales (Andjúr et al., 2014; Warren et al., 2017; Abraham et al., 2019). Este enfoque ha sido útil en varios grupos de organismos, entre ellos algunos grupos de ciliados como los heterotrichios, euplotidos o peritrichios (Gentekaki y Lynn, 2010; Boscaro et al., 2014; Przboś et al., 2015; Shazib et al., 2016; Zhao et al., 2018), sin embargo, existen organismos en donde hasta el momento no ha sido posible tener un enfoque integrador. Este sería el caso de los ciliados de la clase Karyorelictea, organismos con una gran importancia como consumidores en los ambientes intersticiales de las costas arenosas marinas. Estos organismos han sido poco estudiados, en gran parte por los problemas metodológicos que los rodean, por ser células muy frágiles y tener una predisposición a contraerse muy rápido, hasta hace relativamente poco se estableció un protocolo efectivo para su estudio morfológico basado en la impregnación con Protargol (Foissner, 1995; Andreoli et al., 2009). Otro problema importante es que son incultivables, a excepción de la especie de vida libre *Loxodes*. Esto no supone un obstáculo para estudios de taxonomía tradicional, pero sí para los análisis moleculares, ya que muchas técnicas suelen necesitar poblaciones clonales para caracterizar el marcador molecular de interés (Andreoli et al., 2009), por todo esto, es poco lo que se conoce de esta clase a nivel molecular. Un enfoque para abordar la caracterización molecular de estos organismos ha sido trabajar con células aisladas, o con un número pequeño de ellas (Dyal et al., 1995; Yuasa et al., 2006; Carpenter y Keeling, 2007; Andreoli et al., 2009), como consecuencia de esto podemos tener secuencias moleculares, pero sin estar asociadas a la morfología de los organismos. En síntesis, el empleo de enfoques moleculares se dificulta en aquellos organismos que presentan infestaciones mixtas y son difíciles de aislar. Tal es el caso del ciliados de la familia

Trichodinidae objeto de este estudio, A la fecha existen muy pocos trabajos moleculares en relación con la gran diversidad de especies (Fariya et al., 2017; Tang et al., 2017; Abdelkhalek et al., 2018; Wang et al., 2019, 2020; Wiroonpan y Purivirojkul, 2019), lo que cual probablemente se debe a la dificultad de aislamiento sin comprometer su correcta descripción morfológica. Al respecto, se reitera la ventaja actual que sobre los análisis moleculares tienen los análisis de morfometría geométrica, que permiten tener una descripción precisa de los organismos, evaluar similitudes y diferencias de carácter morfológico y ecológico entre poblaciones y/o especies, delimitar especies y/o hacer estudios de variaciones intraespecíficas entre tricodínidos.

En conclusión, para reducir la incertidumbre taxonómica que acompaña a los tricodínidos, se debe realizar una revisión exhaustiva de los taxones insuficientemente descritos mediante un enfoque integrador, es decir, utilizando una combinación de observaciones morfológicas detalladas, información ecológica y métodos moleculares modernos (Rataj y Vďačný, 2021). Este proyecto propone el uso de la morfometría geométrica, en especial el análisis elíptico de Fourier, como un análisis adicional para caracterizar cuantitativamente y comparar aquellas estructuras en las que se basa la determinación taxonómica de la familia Trichodinidae, así como para abordar los conflictos morfológicos que surgen al comparar diferentes poblaciones y especies con conflictos taxonómicos.

Referencias bibliográficas

Abdelkhalek, N.K., El-Adl, M.A., Salama, M.F., Elmishmishy, B., Ali, M.O., El-Ashram, A., Hamed, M.F. y Al-Araby, M.A. 2018. Molecular identification of *Trichodina compacta* van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Peritrichia) from cultured *Oreochromis niloticus* in Egypt and its impact on immune responses and tissue pathology. *Parasitology Research* 117: 1907 – 1941.

Abraham, J.S., Sripoorna, S., Maurya, S., Makhija, S., Gupta, R. y Toteja, R. 2019. Techniques and tools for species identification in ciliates: a review. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 69: 877 – 894.

Adams, D.C. y Funk, D.J. 1997. Morphometric inferences on sibling species and sexual dimorphism in *Neochlamisus bebbianae* leaf beetles: Multivariate applications of the thin-plate spline. *Systematic Biology* 46: 180 – 194.

Adams, D.C. y Rohlf, F.J. 2000. Ecological character displacement in Plethodon: biomechanical differences found from a geometric morphometric study. *Biological Science* 97(8): 4106 – 4111.

Adl, S.M., Bass, D., Lane, C.E., Lukeš, J., Schoch, C.L., Smirnov, A., Agatha, A., Berney, C., Brown, M.W., Burki, F., Cárdenas, P., Čepička, I., Chistyakova, L., del Campo, J., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Eglit, Y., Guillou, L., Hampl, V., Heiss, A.A., Hoppenrath, M., James, T.Y., Karnkowska, A., Karpov, S., Kim, E., Kolisko, M., Kudryavtsev, A., Lahr, D.J.G., Lara, E., Gall, L.L., Lynn, D.H., Mann, D.G., Massana, R., Mitchell, E.A.D., Morrow, C., Park, J.S., Pawlowski, J.W., Powell, M.J., Richter, D.J., Rueckert, S., Shadwick, L., Shimano, S., Spiegel, F.W., Torruella, G., Youssef, N., Zlatogursky, V. y Zhang, Q. 2019. Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 66: 4 – 119.

Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Farmer, M.A., Andersen, R.A., Anderson, O.R., Barta, J.R., Bowser, S.S., Brugererolle, G., Fensome, R.A., Fredericq, S., James, T.Y., Karpov, S., Kugrens, P., Krug, J., Lane, C.E., Lewis, L.A., Lodge, J., Lynn, D.H., Mann, D.G., Mccourt, R.M., Mendoza, L., Moestrup, O., Mozley-Standridge, S.E., Nerad, T.A., Shearer, C.A., Smirnov, A.V., Spiegel, F.W. y

Taylor, M.F.J.R. 2005. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protist. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52(5): 399 – 451.

Adl, S.M., Simpson, A.G.B., Lane, C.E., Lukeš, J., Bass, D., Bowser, S.S., Brown, M.W., Burki, F., Dunthorn, M., Hampl, V., Heiss, A., Hoppenrath, M., Lara, E., Gall, L.L., Lynn, D.H., Mcmanus, H., Mitchell, E.A.D., Mozley-Standridge, S.E., Parfrey, L.W., Pawlowski, J., Rueckert, S., Shadwick, L., Schoch, C.L., Smirnov, A. y Spiegel, F.W. 2012. The revised classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 59(5): 429 – 493.

Agatha, S. 2011. Global diversity of aloricate Oligotrichea (Protista, Ciliophora, Spirotricha) in marine and brackish sea water. *PLoS ONE* 6(8): e22466.

Alibert, P., Moureau, B., Dommergues, J.L. y David, B. 2001. Differentiation at a microgeographical scale within two species of ground beetle, *Carabus auronitens* and *C. nemoralis* (Coleoptera, Carabidae): a geometrical morphometric approach. *Zoologica Scripta* 30(4): 299 – 311.

Andreoli, I., Mangini, L., Ferrantini, F., Santagelo, G., Verni, F. y Petroni, G. 2009. Molecular phylogeny of unculturable Karyorelictea (Alveolata, Ciliophora). *Zoologica scripta* 38(6): 651 – 662.

Andújar, C., Arribas, P., Ruiz, C., Serrano, J. y Gómez-Zurita, J. 2014. Integration of conflict into integrative taxonomy: Fitting hybridization in species delimitation of *Mesocarabus* (Coleoptera: Carabidae). *Molecular Ecology* 23(17): 4344 – 4361.

Bai, Y., Wang, R., Song, W., Suzuki, T. y Hu, X. 2020. Redescription of five tintinnine ciliates (Alveolata: Ciliophora: Oligotrichea) from coastal waters of Qingdao, China. *Marine Life Science & Technology* 2: 209 – 221.

Barão, K.R., Gonçalves, G.L., Mielke, O.H.H., Kronforst, M.R. y Moreira, G.R.P. 2014. Species boundaries in *Philaethria* butterflies: An integrative taxonomic analysis based on genitalia ultrastructure, wing geometric morphometrics, DNA sequences, and amplified fragment length polymorphisms. *Zoological Journal of the Linnean Society* 170(4): 690 – 709.

Barth, D., Krenke, S., Fokin, S.I. y Berendonk, T.U. 2006. Intraspecific Genetic Variation in *Paramecium* Revealed by Mitochondrial Cytochrome c Oxidase I Sequences. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 53(1): 20 – 25.

Bass, D., Richards, T.A., Matthai, L., Marsh, V. y Cavalier-Smith, T. 2007. DNA evidence for global dispersal and probable endemism of protozoa. *BMC Evolutionary Biology* 7: 162 – 175.

Basson, L. y van As, J.G. 2006. Trichodinidae and other ciliophorans (Phylum Ciliophora). En: Woo P.T.K. (Ed.). *Fish diseases and disorders*, vol. 1. Wallingford, CAB International, 154 – 182.

Bastos-Gomes, G., Jerry, D.R., Miller, T.L. y Hutson, K.S. 2017. Current status of parasitic ciliates *Chilodonella* spp. (Phyllopharyngea: Chilodonellidae) in freshwater fish aquaculture. *Journal of Fish Diseases* 40: 703 – 715.

Baylac, M., Villemant, C. y Simbolotti, G. 2003. Combining geometric morphometrics with pattern recognition for the investigation of species complexes. *Biological Journal of the Linnean Society* 80: 89 – 98.

Bellec, L. y Katz, L.A. 2012. Analyses of chromosome copy number and expression level of four genes in the ciliate *Chilodonella uncinata* reveal a complex pattern that suggests epigenetic regulation. *Gene* 504(2): 303 – 308.

Benítez, H.A. y Püschel, T.A. 2014. Modelando la varianza de la forma: morfometría geométrica aplicaciones en Biología Evolutiva. *International Journal of Morphology* 32(3): 998 – 1008.

Bonhomme, V., Picq, S., Gaucherel, C. y Claude J. 2014. Momocs: Outline analysis using R. *Journal of Statistical Software* 56: 1 – 24.

Boscaro, V., Carducci, D., Barbieri, G., Senra, M.V.X., Andreoli, I., Erra, F., Petroni, G. Verni, F. y Fokin, S.I. 2014. Focusing on genera to improve species identification: Revised systematics of the ciliate *Spirostomum*. *Protist* 165: 527 – 541.

Boscaro, V., Fokin, S.I., Verni, F. y Petroni, G. 2012. Survey of *Paramecium duboscqui* using three markers and assessment of the molecular variability in the genus *Paramecium*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65: 1004 – 1013.

Bradford, T., Adams, M., Humphreys, W.F., Austin, A.D. y Cooper, S.J.B. 2010. DNA barcoding of stygofauna uncovers cryptic amphipod diversity in a calcrete aquifer in Western Australia's arid zone. *Molecular Ecology Resources* 10: 41 – 50.

Britz, R., Hundsdörfer, A. y Fritz, U. 2020. Funding, training, permits – the three big challenges of taxonomy. *Megataxa* 1: 049 – 052.

Brower, A.Z. 2010. Alleviating the taxonomic impediment of DNA barcoding and setting a bad precedent: names for ten species of 'Astraptus fulgerator' (Lepidoptera: Hesperidae: Eudaminae) with DNA based diagnoses. *Systematics and Biodiversity* 8(4): 485 – 491.

Burki, F., Sandin, M.M. y Jamy, M. 2021. Diversity and ecology of protist revealed by metabarcoding. *Current Biology* 31: R1267 – R1280.

Caron, D.A., Alexander, H., Allen, A.E., Archibald, J.M., Armbrust, E.A., Bachy, C., Bell, C.J., Bharti, A., Dyhrman, S.T., Guida, S.M., Heidelberg, K.B., Kaye, J.Z., Metzner, J., Smith, S.R. y Worden, A.Z. 2017. Probing the evolution, ecology and physiology of marine protists using transcriptomics. *Nature Reviews* 15: 6 – 20.

Carpenter, K.J. y Keeling, P.J. 2007. Morphology and phylogenetic position of *Eucomonympha imla* (Parabasalida: Hypermastigida). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 54(4): 325 – 332.

Cavalier-Smith, T. 2010. Kingdoms Protozoa and Chromista and the eozoan root of the eukaryotic tree. *Biology Letters* 6: 342 – 345.

Chantangsi, C. y Lynn, D.H. 2008. Phylogenetic relationships within the genus *Tetrahymena* inferred from the cytochrome c oxidase subunit 1 and the small subunit ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49: 979 – 987.

Chantangsi, C., Lynn, D.H., Brandl, M.T., Cole, J.C., Hetrick, N. y Ikononi, P. 2007. Barcoding ciliates: a comprehensive study of 75 isolates of the genus *Tetrahymena*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 57(10): 2412 – 2425.

Charles, H. y Godfray, J. 2002. Challenges for taxonomy. The discipline will have to reinvent if it is to survive and flourish. *Nature* 417: 17 – 19.

Chatton, E. y Lwoff, A. 1930. Imprégnation, par diffusion argentine, de l'infuciliature des ciliés marins et d'eau douce, après fixation cytologique et sans dessiccation. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie et de ses Filiales* 104: 834 – 836.

Coleman, C.O. y Radulovici, A.E. 2020. Challenges for the future of the taxonomy: talents, databases and knowledge growth. *Megataxa* 001: 028 – 034.

Corliss, J.O. 1974. The changing world of ciliate systematics: Historical analysis of past efforts and a newly proposed phylogenetic scheme of classification for the protistan Phylum Ciliophora. *Systematic Zoology* 23: 91 – 138.

Corliss, J.O. 2002. A salute to Anthony van Leeuwenhoek of Delft, most versatile 17th Century founding father of Protistology. *Protist* 153: 177 – 190.

Cribb, T.H., Bray, R.A., Justine, J-L., Reimer, J., Sasal, P., Shirakashi, S. y Cutmore, S.C. 2022. A world of taxonomic pain: cryptic species, inexplicable host-specificity, and host-induced morphological variation among species of *Bivesicula* Yamaguti, 1934 (Trematoda: Bivesiculidae) from Indo-Pacific Holocentridae, Muraenidae and Serranidae. *Parasitology* 149: 831 – 853.

Darling, K.F., Kucera, M. y Wade, C.M. 2007. Global molecular phylogeography reveals persistent Arctic circumpolar isolation in a marine planktonic protist. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.* 104: 5002 – 5007.

Davis, M.A., Douglas, M.R., Collyer, M.L. y Douglas, M.E. 2016. Deconstructing a Species-Complex: Geometric morphometric and molecular analyses define species in the Western Rattlesnake (*Crotalus viridis*). *PLoS ONE* 11(1): e0146166.

Dayrat, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 407 – 415.

de Jager, G.P., Basson, L. y van Marwijk, J. 2019. A new *Trichodina* species (Peritrichia: Mobilida) from anura tadpole hosts, *Sclerophrys* spp. in the Okavango Panhandle, Botswana, with comments on this taxon. *Acta Protozoologica* 58: 141 – 153.

de Souza, B.A., Días, R.J.P. y Serna, M.V.X. 2020. Intrageneric evolutionary timing and hidden genetic diversity of *Paramecium* lineages (Ciliophora: Oligohymenophorea). *Systematic and Biodiversity* 18(7): 662 – 674.

Di Giuseppe G., Barbieri, M., Vallesi, A., Luporini, P. y Dini, F. 2013. Phylogeographical pattern of *Euplotes nobilii*, a protist ciliate with a bipolar biogeographical distribution. *Molecular Ecology* 22: 4029 – 4037.

Dupérré, N. 2020. Old and new challenges in taxonomy: what are taxonomists up against? *Megataxa* 1: 059 – 062.

Dyal, P.L., Hope, S., Roberts, D.M. y Embley, T.M. 1995. Use of the PCR and fluorescent probes to recover SSU rRNA gene sequences from single cells of the ciliate protozoon *Spathidium*. *Molecular Ecology* 4(4): 499 – 504.

Ebach, M.C. 2011. Taxonomy and the DNA barcoding enterprise. *Zootaxa* 2742: 67 – 68.

Evenhuis, N.L. 2007. Helping solve the “other” taxonomic impediment: completing the *Eight steps to total enlightenment and taxonomic nirvana*. *Zootaxa* 1407: 3 – 12.

Francuski, L., Ludoški, J., Vujić, A. y Milankov, V. 2011. Phenotypic evidence for hidden biodiversity in the *Merodon aureus* group (Diptera, Syrphidae) on the Balkan Peninsula: Conservation implication. *Journal of Insect Conservation* 15: 379 – 388.

Fariya, N., Abidi, R. y Chauhan, U.K. 2017. Molecular description of a new species, *Trichodina cirhinii* sp. nov. (Ciliophora: Trichodinidae), infesting native freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. *Journal of Biological Sciences and Medicine* 3: 10 – 17.

Fauré-Fremiet, E. 1950. Morphologie comparée et systématique des ciliés. Bulletin Société de Zoologie de France 75: 109 – 122.

Fenchel, T., Finlay, B.J. y Esteban, G.F. 2019. Cosmopolitan metapopulations? Protist 170: 314 – 318.

Finlay, B.J. 2004. Protist taxonomy: an ecology perspective. Philosophical Transactions of The Royal Society B 359: 599 – 610.

Finlay, B.J., Corliss, J.O., Esteban, G. y Fenchel, T. 1996. Biodiversity at the microbial level: the number of free-living ciliates in the biosphere. The Quarterly Review of Biology 71(2): 221 – 237.

Finlay, B.J., Esteban, G.F., Brown, S., Fenchel, T. y Hoef-Emden, K. 2006. Multiple cosmopolitan ecotypes within a microbial eukaryote morphospecies. Protist 157: 377 – 390.

Finlay, B.J., Esteban, G.F. y Fenchel, T. 2004. Protist diversity is different? Protist 155: 15 – 22.

Finston, T.L. Johnson, S., Humphreys, W.F., Emberhard, M. y Halse, S.A. 2007. Cryptic speciation in two widespread subterranean amphipod genera reflects historical drainage patterns in an ancient landscape. Molecular Ecology 16: 355 – 365.

Foissner, W. 1995. *Kentrophoros* (Ciliophora, Karyorelictea) has oral vestiges: a reinvestigation of *K. fistulosus* (FAURE-FREMIET, 1950) using protargol impregnation. Archiv für Protisten Kunde 146: 165 – 179.

Foissner, W. 2014. An update of “basic light and scanning electron microscopic methods for taxonomic studies of ciliated protozoa”. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 64: 271 – 292.

Foissner, W., Chao, A. y Katz, L.A. 2008. Diversity and geographic distribution of ciliates (Protista: Ciliophora). Biodiversity and Conservation 17: 345 – 363.

Ganser, M.H., Forster, D., Liu, W., Lin, X., Stoeck, T. y Agatha, S. 2021. Genetic diversity in marine planktonic ciliates (Alveolata, Ciliophora) suggests distinct geographical patterns – data from Chinese and European coastal waters. *Frontiers in Marine Sciences* 8: 643822.

Gentekaki, E. y Lynn, D.H. 2009. High-level genetic diversity but no population structure inferred from nuclear and mitochondrial markers of the peritrichous ciliate *Carchesium polypinum* in the Grand River Basin (North America). *Applied and Environmental Microbiology* 75(10): 3187 – 3195.

Gentekaki, E. y Lynn, D.H. 2010. Evidence of cryptic speciation in *Carchesium polypinum* Linnaeus, 1758 (Ciliophora: Peritrichia) inferred from mitochondrial, nuclear, and morphological markers. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 57(6): 508 – 519.

Gentekaki, E. y Lynn, D.H. 2012. Spatial variation, phylogeography and barcoding of the peritrichous ciliate *Carchesium polypinum*. *European Journal of Protistology* 48(4): 305 – 313.

Gómez, D. 2014. Morfometría: las ventajas de ver de cerca. *Revista Experimenta* 1: 27 – 31.

Gómez-Diaglo, L. y Dawson, M.N. 2019. Integrative taxonomy: ghost of past, present and future. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom* 99: 1237 – 1246.

González-García, M.T., Andrade-Gómez, L., Pinacho-Pinacho, C.D., Sereno-Urbe, A.L. y García-Varela, M. 2020. Host-induced phenotypic plasticity in *Saccocoelioides lamothei* Aguirre-Macedo and Violante-González, 2008 (Digenea: Haploporidae) a parasite of freshwater, brackish and marine fishes from the middle America. *Parasitology* 148: 519 – 531.

Greczek-Stachura, M., Rautian, M. y Tarcz, S. 2021. *Paramecium bursaria*—A complex of five cryptic species: mitochondrial DNA COI haplotype variation and biogeographic distribution. *Diversity* 13: 589.

Guggiari, M. y Peck, R. 2008. The bacterivorous ciliate *Cyclidium glaucoma* isolated from a sewage treatment plant: molecular and cytological descriptions barcoding. *European Journal of Protistology* 44(3): 168 – 180.

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball S.L. y de Ward, J.R. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *The Royal Society* 270: 313 – 321.

Hebert, P.D.N., Stoeckle, M.Y., Zemplak, T.S. y Francis, C.M. 2004. Identification of birds through DNA barcodes. *PLoS Biology* 2(10): e312.

Henriques, D., Chávez-Galarza, J., Teixeira, J.S.G., Ferreira, H., Neves, C.J., Francoy, T.M. y Pinto, M.A. 2020. Wing geometric morphometrics of workers and drones and single nucleotide polymorphisms provide Similar Genetic Structure in the Iberian honeybee (*Apis mellifera iberiensis*). *Insects* 11: 89.

Hu, Y. 2011. Description of a new genus *Heterobladetrichodina* n. g. (Ciliata: Trichodinidae) with a new species from *Ictalurus punctatus* in China. *European Journal of Scientific Research* 60(3): 334 – 341.

Islas-Ortega, A.G., Aguilar-Aguilar, R., Marcotegui, P., Martorelli, S., Hernández-Mena, D. y Pérez-Ponce de León, G. 2018. Morphology and sequence data of Mexican populations of the ciliate parasite of marine fishes *Trichodina rectuncinata* (Ciliophora: Trichodinidae). *Acta Protozoologica* 57: 145 – 151.

Islas-Ortega, A.G., Marcotegui, P.S., Basson, L. y Aguilar-Aguilar R. 2020. A checklist of trichodinid species (Ciliophora: Trichodinidae) on tilapia fishes (Cichlidae), with new records from Mexico and the first data from Argentina. *Zootaxa* 4896: 451 – 484.

Johnson, S.B., Warén, A., Tunnicliffe, V., Dover, C.V., Wheat, C.G., Schultz, T.F. y Vrijenhoek, R.C. 2015. Molecular taxonomy and naming of five cryptic species of Alviniconcha snails (Gastropoda: Abysochrysoidea) from hydrothermal vents. *Systematics and Biodiversity* 13: 278 – 295.

Karahan, A., Borsa, P., Gucu, A.C., Kandemir, I., Ozkan, E., Orek, Y.A., Can S.C., Koban, E. y Togan, I. 2014. Geometric morphometrics, Fourier analysis of otolith shape, and nuclear-DNA markers distinguish two anchovy species (*Engraulis* spp.) in the Eastern Mediterranean Sea. *Fisheries Research* 159: 45 – 55.

Karanovic, T., Djurakic, M. y Emberhard, S.M. 2016. Cryptic Species or Inadequate Taxonomy? Implementation of 2D Geometric Morphometrics Based on Integumental Organs as Landmarks for Delimitation and Description of Copepod Taxa. *Systematic Biology* 65(2): 3204 – 327.

Karanovic, T., Lee, S. y Lee, W. 2018. Instant taxonomy: choosing adequate characters for species delimitation and description through congruence between molecular data and quantitative shape analysis. *Invertebrate Systematics* 32: 551 – 580.

Katz, L.A., DeBerardinis, J., Hall, M.S., Kovner, A.M., Dunthorn, M. y Muse, S.V. 2011. Heterogeneous rates of molecular evolution among cryptic species of the ciliate morphospecies *Chilodonella uncinata*. *Journal of Molecular Evolution* 73: 266 – 272.

Katz, L.A., McManus, G.B., Snoeyenbos-West, O.L.O., Griffin, A., Pirog, K., Costas, B. y Foissner, W. 2005. Reframing the ‘Everything is everywhere’ debate: evidence for high gene flow and diversity in ciliate morphospecies. *Aquatic Microbial Ecology* 41: 55 – 65.

Kaya, A., Keceli, A.S., Catal, C., Yalic, H.Y., Temucin, H. y Tekinerdogan, B. 2019. Analysis of transfer learning for deep neural network based plant classification models. *Computers and Electronics in Agriculture* 158: 20 – 29.

Kazubski, S.L. y El-Tantawy, S.A.M. 1986. The ciliate *Paratrichodina africana* sp. n. (Peritricha, Trichodinidae) from Tilapia fish (Cichlidae) from Africa. *Acta Protozoologica* 25: 433 – 438.

Keeling, P.J. 2019. Combinig morphology, behaviour and genomics to understand the evolution and ecology of microbial eukaryotes. *Philosophical Transactions Royal Society B* 374: 20190085.

Kher, C.P., Doerder, F.P., Cooper, J., Ikonomi, P., Achilles-Day, U., Küpper, F.C. y Lynn, D.H. 2011. Barcoding *Tetrahymena*: Discriminating Species and Identifying Unknowns Using the Cytochrome c Oxidase Subunit I (cox-1) Barcode. *Protist* 162: 2 – 13.

Kim, S.Y., Xu, D., Jung, J. y Choi, J.K. 2020. Phylogeny and genetic/morphological variation of *Stromidinopsis minima*-like species (Ciliophora: Choreotrichia). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 67: 115 – 124.

King, R.A., Bradford, T., Austin, A.D., Humphreys, W.F. y Cooper, S.J.B. 2012. Divergent molecular lineages and not-so-cryptic species: the first description of stygobiotic chiltoniid amphipods (Talitroidea: Chiltoniidae) from western Australia. *Journal of Crustacean Biology* 32(3): 465 – 488.

Klein, B.M. 1929. Weitere Beiträge zur Kenntnis des Silberliniensystems der Ciliaten. *Archiv für Protistenkunde* 65: 183 – 257.

Klingenberg, C.P., Barluenga, M. y Meyer, A. 2002. Shape analysis of symmetric structures: Quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution* 56(10): 1909 – 1920.

Klingenberg, C.P. y Gidaszewski, N.A. 2010. Testing and quantifying phylogenetic signals and homoplasy in morphometric data. *Systematic Biology* 59(3): 245 – 261.

Klingenberg, C.P. y McIntyre, G. S. 1998. Geometric morphometrics of developmental instability: Analyzing patterns of fluctuating asymmetry with Procrustes methods. *Evolution* 52(5): 1363 – 1375.

Krenek, S., Berendonk, T.U. y Fokin, S.I. 2015. New *Paramecium* (Ciliophora, Oligohymenophorea) congeners shape our view on its biodiversity. *Organisms, Diversity & Evolution* 15: 215 – 233.

Kryštufek, B., Shenbrot, G., Klenovšek y Janžekovic. 2021. Geometric morphometric of mandibular shape in the dwarf-tailed jerboa: relevancy for trinomial taxonomy. *Zoological Journal of the Linnean Society* 192: 1363 – 1372.

Kuhl, F.P. y Giardina, C.R. 1982. Elliptic Fourier features of a closed contour. *Computer Graphics and Image Process* 18: 236 – 258.

Küpers, G.C., Kosakyan, A., Siemensma, F., Claps, M.C., Paiva, T.dS. Fernández, L.D., Burdman, L., Krashevskaya, V., Lara, E. y Damborenea, C. 2020. Chapter 2 - Protozoa. En D.

Christopher Rogers y James H. Thorp (eds.). Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, EUA, 9 – 77.

Liang, Z., Shen, Z., Zhang, Y., Ji, D., Li, J., Warren, A. y Lin, X. 2019. Morphology and phylogeny of four new *Vorticella* species (Ciliophora: Peritrichia) from coastal waters of Southern China. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 66: 267 – 280.

Lestrel, P.E. 1997. Introduction and overview of Fourier descriptors. En: P.E. Lestrel, (Ed.), *Fourier Descriptors and Their Applications in Biology*. Cambridge University Press, Cambridge, 22 – 44.

Lom J. y Dyková, I. 1992. *Protozoan parasites of fishes*. Elsevier Science publishers, Amsterdam, 315 pp.

Lynn, D.H. 2008. *The ciliated Protozoa. Characterization, classification and guide to the literature*. Springer, Nueva York, EUA, 605 pp.

Lynn, D.H. y Kolisko, M. 2017. Molecules illuminate morphology: phylogenomics confirms convergent evolution among “oligotrichous” ciliates. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 67: 3676 – 3682.

Lynn, D.H. y Small, E.B. 1990. Phylum Ciliophora. En L. Margulis, J. O. Corliss, M. Melkonian y D. J. Chapman (Eds.). *Handbook of protozoists*, Boston: Jones & Bartlett, 498 – 523.

Marcotegui, P.S., Montes, M.M., Barneche, J., Ferrari, W. y Martorelli, S. 2018. Geometric morphometric on a new species of Trichodinidae. A tool to discriminate trichodinid species combined with traditional morphology and molecular analysis. *IJP: Parasites and Wildlife* 9: 228 – 236.

Martínez-López, O.G. 2015. La taxonomía integral y su importancia para la conservación. *Ciencia & Conservación* 06: 54 – 64.

McManus, G.B., Xu, D., Costas, B.A. y Katz, L.A. 2010. Genetic identities of cryptic species in the *Strombidium stylifer/apolatum/oculatum* cluster, including a description of *Strombidium rassoulzadegani* n. sp. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 57(4): 369 – 378.

Melekhin, M., Yakovleva, Y., Lebedeva, N., Nekrasova, I., Nikitashina, L., Castelli, M., Mayén-Estrada, R., Romanovich, A.E., Petroni, G. y Potekhin, A. 2022. Cryptic diversity in *Paramecium multimicronucleatum* revealed with a polyphasic approach. *Microorganisms* 10: 974.

Milankov, V., Ludoški, J., Ståhls, G., Stamenković, J. y Vujić, A. 2009. High molecular and phenotypic diversity in the *Merodon avidus* complex (Diptera, Syrphidae): Cryptic speciation in a diverse insect taxon. *Zoological Journal of the Linnean Society* 155(4): 819 – 833.

Mitrovski-Bogdanović, A., Tomanović, Ž., Mitrović, M., Ivanović, P.A., Žikić, V., Starý, P. y Vorburger, C. 2014. The *Praon dorsaleyomenae* s. str. complex (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae): Species discrimination using geometric morphometrics and molecular markers with description of a new species. *Zoologischer* 253(4): 270 – 282.

Modeo, L., Fokin, S.I., Boscaro, V., Andreoli, I., Ferrantini, F., Rosati, G., Verni, F. y Petroni, G. 2013. Morphology, ultrastructure, and molecular phylogeny of the ciliate *Sonderia vorax* with insights into the systematics of order Plagiopylida. *BMC Microbiology* 13: 1 – 23.

Mora, C., Tittensor, D.P., Adl, S., Simpson, A.G.B. y Worm, B. 2011. How many species are there on Earth and in the ocean? *PLoS Biology* 9(8): e1001127.

Neto, L.N., van der Berg, C. y Forzza, R.C. 2019. Linear and geometric morphometrics as tools to resolve species circumscription in the *Pseudolaelia vellozicola* complex (Orchideacea, Laeliinae). *Plant Ecology and Evolution* 152(1): 53 – 67.

Nitla, V., Serra, V., Fokin, S.I., Modeo, L., Verni, F., Sandeep, B.V., Kalavati, C. y Petroni, G. 2019. Critical revision of the family Plagiopylidae (Ciliophora: Plagiopylea), including the description of two novel species, *Plagiopyla ramani* and *Plagiopyla narasimhamurtii*, and redescription of *Plagiopyla nasuta* Stein, 1860 from India. *Zoological Journal of the Linnean Society* 186: 1 – 45.

Noriega, J.A., Santos, A.M.C., Aranda, S.C., Calatayud, J., de Castro, I., Espinoza, V.R., Hórreo, J.L., Medina, N.G., Peláez, M.L. y Hortal, J. 2015. ¿Cuál es el alcance de la crisis de la

taxonomía? Conflictos, retos y estrategias para la construcción de una taxonomía renovada. *Revista Ide@-SEA* 9: 1 – 16.

O'Malley, M.A., Simpson, A.G.B. y Roger, A.J. 2013. The other eukaryotes in light of evolutionary protistology. *Biology and Philosophy* 28: 299 – 330.

Padial, J.M. y de la Riva, I. 2007. Taxonomy, the Cinderella of science, hidden by its evolutionary stepsister. *Zootaxa* 1577: 1 – 2.

Padial, J.M., Miralles, A., de la Riva, I. y Vences, M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7(16): 1 – 14.

Pante, E., Puillandre, N., Viricel, A., Arnaud-Haond, S., Surelle, D., Castelin, M., Chenuil, A., Destombe, C., Forcioli, D., Valero, M., Viard, F. y Samadi, S. 2015. Species and hypotheses: avoid connectivity assessments based on pillars of sand. *Molecular Ecology* 24: 525 – 544.

Pecina, L. y Vd'áčny, P. 2020. Morphological versus molecular delimitation of ciliate species: a case study of the family Clevelandellidae (Protista, Ciliophora, Armophorea). *European Journal of Taxonomy* 697: 1 – 46.

Penna, A., Fraga, S., Battocchi, C., Casabianca, S., Giacobbe, M.G., Riobó, P. y Vernesi, C. 2010. A phylogeography study of the toxic benthic genus *Ostreopsis* Schmidt. *Journal of Biogeography* 37: 830 – 841.

Petroni, G., Dini, F., Verni, F. y Rosati, G. 2002. A molecular approach to the tangled intrageneric relationships underlying phylogeny in *Euplotes* (Ciliophora, Spirotrichea). *Molecular phylogenetics and Evolution* 22: 118 – 130.

Pinheiro, H.T., Moreau, C.S., Daly, M. y Rocha, L.A. 2019. Will DNA barcoding meet taxonomic needs? *Science* 365: 873 – 874.

Poulin, R. y Presswell, B. 2022. Is parasite taxonomy really in trouble? A quantitative analysis. *International Journal for Parasitology* 52: 469 – 474.

Posch, T., Pitsch, G. y Bruni, E.P. 2021. Protist: Ciliates. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, Elsevier, 11 pp.

Przboś, E., Rautian, M., Beliavskaia, A. y Tarcz, S. 2019. Evaluation of the molecular variability and characteristic *Paramecium polycaryum* and *Paramecium nephridiatum*, within subgenus *Crypriostomum* (Ciliophora, Protista). *Molecular phylogenetics and Evolution* 132: 296 – 306.

Przboś, E., Tarcz, S., Rautian, M. y Sawka, N. 2015. *Paramecium jenningsi* complex: existence of three cryptic species confirmed by multi-locus analysis and strain crosses. *Systematic and Biodiversity* 14(2): 140 – 154.

Przboś, E., Tarcz, S., 2016. Delimiting species boundaries within a paraphyletic species complex: Insights from morphological, genetic, and molecular data on *Paramecium sonneborni* (*Paramecium aurelia* species complex, Ciliophora, Protozoa). *Protist* 166(4): 438 – 456.

Raposo, M.A., Kirwan, G.M., Lourenço, A.N.C., Sobral, G., Bockmann, F.A. y Stopiglia, R. 2021. On the notions of taxonomic “impediment”, “gap”, “inflation” and “anarchy”, and their effects on the field of conservation. *Systematics and Biodiversity* 19(3): 296 – 311.

Rataj, M. y Vd’ačný, P. 2021. Cryptic host-driven speciation of mobilid ciliates epibiotic on freshwater planarias. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 161: 107174.

Riley, J.L. y Katz, L.A. 2001. Widespread distribution of extensive chromosomal fragmentation in ciliates. *Molecular Biology and Evolution* 18(7): 1372 – 1377.

Roberts, D.McL., Warren, A. y Curds, C.R. 1983. Morphometric analysis of outline shape applied to the Peritrich genus *Vorticella*. *Systematic Zoology* 32(4): 377 – 388.

Rohlf, F.J. y Marcus, L.F. 1993. A revolution in morphometrics. *TREE* 8(4): 129 – 132.

Ruggiero, M.A., Gordon, D.P., Orrell, T.M., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R.C., Cavalier-Smith, T., Guiry, M.D., Kirk, P.M. 2015. A higher level classification of all living organisms. *PLoS ONE* 10(4): e0119248.

Santoferrara, L.F., Alder, V.A. y 2017. Phylogeny, classification and diversity of Choreotrichia and Oligotrichia (Ciliophora, Spirotrichea). *Molecular phylogenetics and Evolution* 112: 12 – 22.

Santoferrara, L.F., Bachy, C., Alder, V.A., Gonj, J., Kim, Y., Saccà, A., da Silva-Neto, I.D., Strüder-Kypke, M.C., Warren, A., Xu, D., Yi, Z. y Agatha, S. 2016. Updating biodiversity studies in Loricata protists: The case of the tintinnids (Alveolata, Ciliophora, Spirotrichea). *Journal of the Eukaryotic Microbiology* 63: 651 – 656.

Santoferrara, L.F., McManus, G.B. y Alder, V.A. 2013. Utility of genetic markers and morphology for species discrimination within the order Tintinnida (Ciliophora, Spirotrichea). *Protist* 164: 24 – 36.

Santoferrara, L.F., Tian, M., Alder, V.A. y McManus, G.B. 2015. Discrimination of closely related species in tintinnid ciliates: new insights on crypticity and polymorphism in the genus *Helicostomella*. *Protist* 166: 78 – 92.

Schlick-Steiner, B.C., Steiner, F.M., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E. y Crozier, R.H. 2010. Integrative taxonomy: A multisource approach to exploring biodiversity. *The Annual Review of Entomology* 55: 421 – 438.

Schwarzfeld, M.D. y Sperling, F.A.H. 2014. Species delimitation using morphology, morphometrics, and molecules: Definition of the *Ophion scutellaris* Thomson species group, with descriptions of six new species (Hymenoptera, Ichneumonidae). *Zookeys* 462: 59 – 114.

Seberg, O. Humphries, C.J., Knapp, S., Stevenson D.Wm., Petersen, G., Scharff, N. y Andersen, N.M. 2003. Shortcuts in systematics? A commentary on DNA-based taxonomy. *TRENDS in Ecology and Evolution* 18(2): 63 – 65.

Shazib, S.U.A., Vďáčný, P., Kim, J.H., Jang, S.W., Shin, M.K. 2016. Molecular phylogeny and species delimitation within the ciliate genus *Spirostomum* (Ciliophora, Postciliodesmatophora, Heterotrichea), using the internal transcribed spacer region. *Molecular phylogenetics and Evolution* 102: 128 – 144.

Simpson, A.G.B. y Roger, A.J. 2002. Eukaryotic evolution: Getting to the root of the problem. *Current Biology* 12: R691 – R693.

Šlapeta, J., López-García, P. y Moreira, D. 2006. Global dispersal and ancient cryptic species in the smallest marine eukaryotes. *Molecular Biology and Evolution* 23: 23 – 29.

Small, E.B. y Lynn, D.H. 1985. Phylum Ciliophora, Doflein, 1901. En In J. J. Lee, S. H. Hutner, y E. C. Bovee (Eds.). *An illustrated guide to the protozoa*, EUA, Society of Protozoologists, 393 – 575.

Stoeck, T. Przboś, E. y Dunthorn. 2014. The D1-D2 region of the large subunit ribosomal DNA as barcode for ciliates. *Molecular Ecology Resources* 14: 458 -468.

Strüder-Kypke, M.C. y Lynn, D.H. 2010. Comparative analysis of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene in ciliates (Alveolata, Ciliophora) and evaluation of its suitability as a biodiversity marker. *Systematics and Biodiversity* 8(1): 131 – 148.

Strüder-Kypke, M.C., Wright, A.D.G., Fokin, S.I. y Lynn, D.H. 2000. Phylogenetic relationships of the genus *Paramecium* inferred from small subunit r RNA gene sequences. *Molecular phylogenetics and Evolution* 14: 122 – 130.

Sun, P., Clamp, J.C., Xu, D., Huang, B., Shin, M.K. y Turner, F. 2013. An ITS-based phylogenetic framework for the genus *Vorticella*: finding the molecular and morphological gaps in a taxonomically difficult group. *Proceedings of The Royal Society B* 280: 2013.1177.

Sun, P., Song, W., Clamp, J. y Al-Rasheid K.A.S. 2006. Taxonomic characteriza of *Vorticella parapulchella* n. sp., two marine peritrichs (Ciliophora, Oligohymenophorea) from China. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 53(5): 348 – 357.

Tang, F., Zhang, Y. y Zhao, Y. 2017. Morphological and molecular identification of the new species, *Trichodina pseudoheterodentata* sp. n. (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) from the Channel, *Ictalurus punctatus*, in Chongqing China. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 64: 45 – 55.

Tomaszewski, D. y Górkowska, A. 2016. Is shape of a fresh and dried leaf the same? *PLoS One*. 11: e0153071.

Tracey, S.R., Lyle, J.M. y Duhamel G. 2006. Application of elliptical Fourier analysis of otolith form as a tool for stock discrimination. *Fisheries Research* 77: 138 – 147.

Valan, M., Makonyi, K., Maki, A., Vondráček, D. y Ronquist, F. 2019. Automated taxonomic identification of insects with expert-level accuracy using effective feature transfer from convolutional networks. *Systematic Biology* 68(6): 876 – 895.

Valladão, G.M.R., Alves, L.O., y Pilarski, F. 2016. Trichodiniasis in Nile tilapia hatcheries: Diagnosis, parasite: host-stage relationship and treatment. *Aquaculture* 451: 444 – 450.

Valladares-Gómez, A., Celis-Diez, J.L., Palma, R.E. y Manríquez-Soto, G. 2017. Cranial morphological variation of *Dromiciops gliroides* (Microbiotheria) along its geographical distribution in south-central Chile: a three-dimensional analysis. *Mammalian Biology* 87: 107 – 117.

van As, J.G. y 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.

Vďačný, P., Orsi, W. y Foissner, W. 2010. Molecular and morphological evidence for a sister group relationship of the classes Armophorea and Litostomatea (Ciliophora, Intramacronucleata, Lamellicorticata infraphyla. nov.), with an account on basal litostomateans. *European Journal of Protistology* 46: 298 – 309.

Viacava, P., Baker, A.M., Blomberg, S.P., Phillips, M.J. y Weisbecker, V. 2021. Using 3D geometric morphometrics to aid taxonomic and ecological understanding of a recent speciation event within a small Australian marsupial (*Antechinus*: Dasyuridae). *Zoological Journal of the Linnean Society* XX: 1 – 16.

Wang, S., Zhao, Y., Du, Y. y Tang, F. 2019. Morphological redescription and molecular identification of *Trichodina reticulata* Hirschmann & Partsch, 1995 (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) with the supplemental new data of SSU rDNA and ITS-5.8S rDNA. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 66: 447 – 459.

Wang, Z., Bourland, W.A., Zhou, T., Yang, H., Zhang, C. y Gu, Z. 2020. Morphological and molecular characterization of two *Trichodina* species from freshwater fish in China. *European Journal of Protistology* 72: 125647.

Warren, A. y Esteban, G.F. 2019. Chapter 2 – Protozoa. En D. Christopher Rogers y James H. Thorp (eds.). Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates, EUA, 7 – 42.

Warren, A., Patterson, D.J., Dunthorn, M., Clamp, J.C., Achilles-Day, U.E.M., Aescht, E., Al-Farraj, S.A., Al-Quraishy, S., Al-Rasheid, K., Carr, M., Day, J.G., Dellinger, M., El-Serehy H.A., Fan, Y., Gao, F., Gao, S., Gong, J., Gupta, R., Hu, X., Kamra, K., Langlois, G., Lin, X., Lipscomb, D., Lobban, C.S., Luporini, P., Lynn, D.H., Ma, H., Macek, M., Mackenzie-Dodds, J., Makhija, S., Mansergh, R.I., Martín-Cereceda, M., McMiller, N., Montagnes, D.J.S., Nikolaeva, S., Ong'ondo, G.O., Pérez-Uz, B., Purushothaman, J., Quintela-Alonso, P., Rotterová, J., Santoferrara, L., Shao, C., Shen, Z., Shi, X., Song, W., Stoeck, T., La Terza, A., Vallesi, A., Wang, M., Weisse, T., Wiackowski, K., Wu, L., Xu, K., Yi, Z., Zufall, R. y Agatha, S. 2017. Beyond the “Code”: A guide to the description and documentation of biodiversity in ciliated protists (Alveolata, Ciliophora). *Journal of the Eukaryotic Microbiology* 0: 1 – 16.

Wheeler, Q.D. 2004. Taxonomic triage and the poverty of phylogeny. *The Royal Society* 359: 571 – 583.

Whittaker, R.H. 1969. New concepts of kingdoms of organisms. *Science* 163(3863): 150 – 160.

Wilson, E.O. 2004. Taxonomy as a fundamental discipline. *The Royal Society* 359: 739.

Wiroonpan, P. y Purivirojkul, W. 2019. New record of *Trichodina unions* (Ciliophora, Trichodinidae) from freshwater gastropods in Bangkok, Thailand. *Parasite* 26: 47.

Yan, Y., Fan, Y., Luo, X., El-Serehy, H.A., Bourland, W. y Chen, X. 2018. New contribution to the species-rich genus *Euplotes*: Morphology, ontogeny and systematic position of two species (Ciliophora; Euplotia). *European Journal of Protistology* 64: 20 – 39.

Yu, Y., Heinrichs, J., Zhu, R-L. y Schneider, H. 2013. Empirical evidence supporting frequent cryptic speciation in epiphyllous liverworts: A case study of the *Cololejeunea lanciloba* complex. *PLoS ONE* 8(12): e84124.

Yuasa, T., Takahashi, O., Dolven, J.K., Mayama, S., Matsuoka, A., Honda, D. y Bjørklund, K.R. 2006. Phylogenetic position of the small solitary phaeodarians (Radiolaria) based on 18S rDNA sequences by single cell PCR analysis. *Marine Micropaleontology* 59(2): 104 – 114.

Zamani, A., Dal PosD., Fric Z.F., Orfinger, A.B., Scherz, M.D., Bartoňová, A.S. y Gante, H.F. 2022. The future of taxonomy is integrative, no minimalist. *Systematic and Biodiversity* 20: 1 – 14.

Zamani, A., Vahtera, V., Sä Äksjärvi, I.E. y Scherz, M.D. 2020. The omission of critical data in the pursuit of “revolutionary” methods to accelerate the description of species. *Systematic Entomology* 46: 1 – 4.

Zhang, T., Shao, C., Zhang, T., Song, W., Vďačný, P., Al-Farraj, S.A. y Wang, Y. 2022. Multi-gene phylogeny of the ciliate genus *Trachelostyla* (Ciliophora, Hypotrichia), with integrative description of two species, *Trachelostyla multinucleate* Spec. nov. and *T. pediculiformis* (Cohn, 1866). *Frontiers in microbiology* 12: 775570.

Zhang, T., Wang, C., Katz, L.A. y Gao, F. 2018. A paradox: rapid evolution rates of germline-limited sequences are associated with conserved patterns of rearrangements in cryptic species of *Chilodonella uncinata* (Protista, Ciliophora). *Science China Life Sciences* 61: 1071 – 1078.

Zhao, Y., Gentekaki, E., Yi, Z. y Lin, X. 2013. Genetic differentiation of the mitochondrial cytochrome oxidase c subunit I gene in genus *Paramecium* (Protista, Ciliophora). *PLoS ONE* 8(10): e77044.

Zhao Y., Yi Z., Warren A. y Song W.B. 2018. Species delimitation for the molecular taxonomy and ecology of the widely distributed microbial eukaryote genus *Euplotes* (Alveolata, Ciliophora). *Proceedings of the Royal Society B* 285: e20172159.

Zufall, R.A., Sturm, M. y Mahon, B.C. 2012. Evolution of germline-limited sequences in two populations of the ciliate *Chilodonella uncinata*. *Journal of Molecular Evolution* 74: 140 – 146.

Zúñiga-Reinoso, A. y Benítez, H.A. 2015. The overrated use of the morphological cryptic species concept: An example with *Nyctelia* darkbeetles (Coleoptera: Tenebrionidae) using geometric morphometrics. *Zoologischer Anzeiger* 255: 47 – 53.