

# Centro de investigación en Alimentación Y Desarrollo, AC.

IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES ECTOPARÁSITAS DEL  
GÉNERO TRICHODINA (CILIOPHORA: PERITRICHIDA)  
EN TILAPIA NILOTICA MEDIANTE CORRELACIÓN  
INVARIANTE CON FILTROS COMPUESTOS.

POR

---

María Amparo Rodríguez Santiago

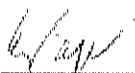
**TESIS APROBADA POR LA  
UNIDAD MAZATLÁN  
EN ACUICULTURA Y MANEJO AMBIENTAL  
COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRÍA EN CIENCIAS**

MAZATLAN, SINALOA, MEXICO

SEPTIEMBRE, 2002

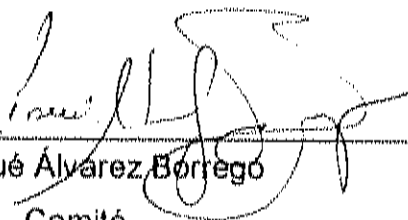
## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para revisar la tesis de la B. A. María Amparo Rodríguez Santiago, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias, con especialidad en Parasitología.



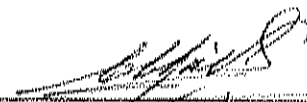
\_\_\_\_\_  
Dra. Emma Josefina Fajer Avila

Director de tesis



\_\_\_\_\_  
Dr. Josué Álvarez Borrego

Comité



\_\_\_\_\_  
Dra. María Cristina Chávez Sánchez

Comité

## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

Se permiten y agradecen citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor, siempre y cuando se de el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos se deberá contar con la autorización escrita del director general del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Apartado postal 711, Sábalo Cerritos S/N Estero del Yugo, Mazatlán, Sinaloa, México. La divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar crédito al CIAD, previa aprobación escrita del manuscrito en cuestión, del director de la tesis.

-----  
Dr. Inocencio Higuera Ciapara

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico brindado durante la Maestría y al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A. C.), por permitirme llevar a cabo los estudios de Maestría, así como también al proyecto CIAD-CICESE "Empleo de la correlación digital en la identificación de parásitos" a cargo de la Dra. Emma Josefina Fajer Ávila y el Dr. Josué Álvarez Borrego.

Se agradece al CICESE, División de Física Aplicada, Departamento de Óptica, Proyecto interno: "Procesamiento de imágenes de partículas biogénicas y de superficies marinas" a cargo del Dr. Josué Álvarez Borrego por el apoyo económico para las estancias y las asesorías brindadas.

Se agradece al Proyecto externo apoyado por (CONACyT) con título: "Procesamiento Automático de Partículas Biogénicas", con referencia 36075-B a cargo del Dr. Josué Álvarez Borrego.

Se agradece a mi director de tesis, la Dra. Emma Josefina Fajer Ávila, por su paciencia, dedicación, por el apoyo incondicional, por ser mi guía, por los consejos, por la disponibilidad, por ser mi maestra y amiga; y por todo lo que me ayudó durante el desarrollo de todo el trabajo, hoy y siempre mil gracias "emita".

Se agradece al Dr. Josué Álvarez Borrego de manera muy especial por su increíble paciencia y disponibilidad durante todo el trabajo, práctico y teórico, por la información facilitada, por la enseñanza, por la atención, por darme un poco de su experiencia y conocimiento laboral así como su invaluable apoyo.

Se agradece a la Dra. Cristina Chávez Sánchez por formar parte en el comité de tesis y por el tiempo brindado en la revisión de la tesis así como también sus consejos y apoyo.

Se agradece al M. en C. Roberto Cortés Altamirano por la disponibilidad que tuvo siempre y por su dedicación durante las revisiones y correcciones del trabajo de tesis.

Se agradece al personal de la SAGARPA por la ayuda brindada durante los muestreos y por la donación de peces al Laboratorio de Parasitología de la Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental CIAD, A. C. en especial al Director de la Unidad Piscícola de Chamentla al M. en C. Álvaro Mendibil Félix así como también al B. P. Ramón Chan, M. C. Jonás Efraín Barranco Ramírez y M. en C. Adán Bojorquez Leyva.

Se le agradece al Dr. Albert van der Heiden Director de la Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental CIAD, A. C. por el apoyo brindado en estos dos años.

Se agradece a mis compañeros del laboratorio por su compañerismo y amistad en especial a Roberto, Manuel y Adriana "tocha".

Se le agradece a todos los alumnos y maestros; y al personal del CIAD por sus críticas tan constructivas; las cuales me fueron de mucha ayuda pues es lo que impulsa al camino del éxito, a todos un sincero agradecimiento.

# DEDICATORIA

A DIOS.

A MIS PADRES POR SU AMOR Y APOYO.

A MIS HERMANOS.

A MI ESPOSO POR AMARME.

A MI HERMOSO HIJO.

## CONTENIDO

	Página
INDICE DE TABLAS.....	IX
INDICE DE FIGURAS.....	X
RESUMEN.....	XVI
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	7
3. HIPÓTESIS .....	18
4. OBJETIVOS.....	19
Objetivo General.....	19
Objetivos Particulares.....	19
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	20
5.1. Área de estudio.....	20
5.2 Procedimiento biológico.....	21
5.3 Muestreo de peces.....	21
5.4 Colecta y fijación de parásitos.....	22
5.5 Técnicas de tinción.....	23
5.5.1 Impregnación argéntica de Klein.....	23
5.5.2 Hematoxilina de Harris.....	23
5.5.3 Procedimiento de la técnica.....	24
5.6 Observación microscópica.....	25
5.7 Morfometrías e identificación taxonómica tradicional.....	27
5.8 Toma y procesamiento de imágenes.....	29
5.8.1. Reconocimiento de tricodínidos en imágenes a color con filtros compuestos de fase con invariancias. ....	29

5.8.2. Análisis de las variantes morfológicas.....	40
6. RESULTADOS.....	42
6.1 Taxonomía .....	42
6.2 Correlación digital de imágenes.....	61
7.DISCUSIÓN.....	72
8.CONCLUSIONES.....	80
9.REFERENCIAS CITADAS.....	82



## INDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Datos merísticos para <i>Trichodina pediculus</i> .....	45
Tabla 2. Datos merísticos para <i>Trichodina centrostrigata</i> .....	49
Tabla 3. Datos merísticos para <i>Trichodina magna</i> .....	54
Tabla 4. Datos merísticos para <i>Trichodina nigra</i> .....	59

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Localización de la zona de muestreo.	<b>20</b>
<b>Figura 2.</b>	Frotis de la piel del pez.	<b>22</b>
<b>Figura 3.</b>	Diagrama establecido por Van As y Basson (1989) para ilustrar las variaciones precisas de los elementos denticulares. <i>ab</i> , ápice de la cuchilla; <i>am</i> , margen anterior de la cuchilla; <i>ba</i> , apófisis del rayo; <i>ca</i> , centro del disco adhesivo; <i>cb</i> , sección que conecta cuchilla y parte central; <i>cc</i> , sección que conecta la parte central y el rayo; <i>cp</i> , parte cónica central; <i>cr</i> , centro de la cresta; <i>cs</i> , círculo central; <i>dc</i> , punto de altura de la curva; <i>dp</i> , punto distal de la cuchilla; <i>ds</i> , superficie distal de la cuchilla; <i>tp</i> , punto tangente; <i>pm</i> , margen posterior (describe la curva) de la cuchilla; <i>pp</i> , proyección posterior; <i>pr</i> , punto del rayo; <i>s</i> , parte central; <i>sa</i> , sección del centro de la parte de arriba eje de las <i>x</i> ; <i>sb</i> , sección de la parte central de la parte de abajo eje de la <i>x</i> ; <i>y</i> , rayo; <i>x</i> , cuchilla.	<b>26</b>
<b>Figura 4.</b>	Mediciones del esqueleto del disco adhesivo propuestas por Lom (1958). <i>s</i> : borde de la membrana, <i>r</i> : espinas radiales, <i>nu</i> : número de espinas radiales por denticulo, <i>d</i> : denticulo, <i>dd</i> : diámetro del anillo denticular, <i>da</i> : diámetro del disco adhesivo (Tomado de Lom y Dykova, 1992).	<b>27</b>
<b>Figura 5.</b>	Morfometrías de un denticulo. <i>M</i> : denticulo de una <i>Trichodina</i> , <i>t</i> : longitud del rayo, <i>c</i> : ancho de la parte central, <i>b</i> : longitud de la cuchilla, <i>l</i> : longitud del denticulo. (Tomada de Lom y Dyková, 1992).	<b>28</b>

- Figura 6.** Núcleo de un representante del género *Trichodina*, forma de herradura de caballo con tres posibles posiciones, d: diámetro del macronúcleo (Tomado de Lom y Dyková, 1992). **28**
- Figura 7.** Diagrama de bloques para obtener el filtro compuesto invariante solo de fase. **31**
- Figura 8.** Diagrama de bloques para obtener la correlación digital invariante. **32**
- Figura 9.** Configuración gráfica del proceso para obtener el patrón de difracción compuesto de 10 imágenes. El resultado se muestra aplicando el logaritmo base 10 para una mejor visualización del mismo. **39**
- Figura 10** Disco adhesivo *Trichodina pediculus* (600 X): a) rayos rectos y finos, b) cuchillas en forma de hoz. **44**
- Figura 11.** Macronúcleo de *Trichodina pediculus* (1000 X). **44**
- Figura 12.** Comparación diagramática de la morfología de los denticulos de: a) *Trichodina pediculus* hallados en *Tilapia nilotica* variedad egipcia, b) *Trichodina pediculus* de *Tilapia aurea* en el Sur de África (Van As y Basson, 1989). **46**
- Figura 13.** Vista superior de *Trichodina centrostrigata* (1000 X): a) varillas centrales b) rayos curvados posteriormente. **47**
- Figura 14.** Macronúcleo de *Trichodina centrostrigata* (1000 X). **48**

- Figura 15.** Comparación diagramática de la morfología de los denticulos 50  
de: a) *Trichodina centrostrigata* halladas en *Tilapia nilotica*  
variedad egipcia, b) *Trichodina centrostrigata* hallada en  
*Oreochromis nilotica* del Sur de Africa (Van As y Basson,  
1994).
- Figura 16.** Disco adhesivo *Trichodina magna* (600 X): a) rayos curvados, 51  
largos y finos, b) cuchillas en forma semilunar.
- Figura 17.** Disco adhesivo de *Trichodina magna* (600 X): a) rayos 52  
curvados, largos y menos finos; b) cuchillas en forma  
semilunar.
- Figura 18.** Macronúcleo de *Trichodina magna* (600 X). 52
- Figura 19.** Macronúcleo de *Trichodina magna* (1000 X). 53
- Figura 20.** Comparación diagramática de la morfología de los denticulos 56  
finos y mas gruesos de: a) *Trichodina magna* hallada en *Tilapia*  
*nilotica* variedad egipcia; b) *T. magna* hallada en *Tilapia rendalli*  
del Sur de África (Van As y Basson, 1989).
- Figura 21.** Vista superior de *Trichodina nigra* (600X) con extremos de las 57  
cuchillas ligeramente más redondeadas y los rayos ligeramente  
más cortos.
- Figura 22.** Vista superior de *Trichodina nigra* (600X) caracterizada por 58  
rayos finos.
- Figura 23.** Macronúcleo de *Trichodina nigra* (1000 X). 58

- Figura 24.** Comparación diagramática de la morfología de los denticulos de: a) *Trichodina nigra* hallados en *Tilapia nilotica* variedad egipcia y b) *Trichodina nigra* de *Cyprinus carpio* (Van As y Basson,1989). **60**
- Figura 25.** Correlación, en el canal rojo, de las imágenes de *Trichodina pediculus* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 97.22%. **62**
- Figura 26.** Correlación, en el canal verde, de las imágenes de *Trichodina pediculus* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 83.33%. **62**
- Figura 27.** Correlación, en el canal azul, de las imágenes de *Trichodina pediculus* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 75.67%. **63**
- Figura 28.** Resultado de la multiplicación de los valores de correlación para cada canal (RGB) de las imágenes de *Trichodina pediculus* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 100%. **63**
- Figura 29.** Correlación, en el canal rojo, de las imágenes de *Trichodina centrostrigata* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 93.33%. **64**
- Figura 30.** Correlación, en el canal verde, de las imágenes de *Trichodina centrostrigata* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 84.84%. **65**

- Figura 31.** Correlación, en el canal azul de las imágenes de *Trichodina centrostrigata* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 75.67%. **66**
- Figura 32.** Resultado de la multiplicación de los valores de correlación para cada canal (RGB) de las imágenes de *Trichodina centrostrigata* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 100%. **66**
- Figura 33.** Correlación, en el canal rojo, de las imágenes de *Trichodina magna* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 85.7%. **67**
- Figura 34** Correlación, en el canal verde, de las imágenes de *Trichodina magna* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 77.00%. **67**
- Figura 35** Correlación, en el canal azul, de las imágenes de *Trichodina magna* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 82.85%. **68**
- Figura 36** Resultado de la multiplicación de los valores de correlación para cada canal (RGB) de las imágenes de *Trichodina magna* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 100%. **68**
- Figura 37** Correlación, en el canal rojo, de las imágenes de *Trichodina nigra* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 90.9%. **69**

- Figura 38** Correlación, en el canal verde, de las imágenes de *Trichodina nigra* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 82.85%. 70
- Figura 39** Correlación, en el canal azul, de las imágenes de *Trichodina nigra* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 77.14%. 70
- Figura 40** Resultado de la multiplicación de los valores de correlación para cada canal (RGB) de las imágenes de *Trichodina nigra* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 100%. 71

## RESUMEN

Las técnicas tradicionales para la identificación de parásitos son lentas y laboriosas, requiriéndose de especialistas por grupo taxonómico para lograr una correcta identificación específica. Los ciliados ectoparásitos abundan en los peces en cultivo y dentro de estos los tricodínidos predominan en las tilapias ocasionando mortalidades en sus primeros estadios de vida. Su identificación genérica es relativamente fácil mientras que la diagnosis específica es laboriosa debido a la alta variabilidad intraespecífica que poseen algunas especies. Mediante taxonomía tradicional y el uso de correlación digital invariante a posición, rotación y escala que utiliza filtros compuestos se identificaron cuatro especies del género *Trichodina* procedente de la piel y aletas de *Tilapia nilotica* variedad egipcia. Se realizaron 300 frotis de la piel y aletas de los peces objeto de estudio, los cuales se tiñeron con nitrato de plata de acuerdo a la técnica de impregnación argéntica de Klein para la observación detallada de las estructuras del disco de fijación y con la tinción de Harris para la observación del aparato nuclear. Los criterios taxonómicos usados fueron los ilustrados por Lom y Dyková (1992). Se capturaron las imágenes de los organismos identificados por medio de una video cámara (Sony CCD IRIS) de alta resolución conectada al microscopio. Las especies halladas fueron *Trichodina pediculus*, *T. centrostrigata*, *T. magna* y *T. nigra*; las cuales constituyen nuevos registros de hospedero y localidad geográfica; con excepción de *T. centrostrigata* que ya había sido registrada para *T. nilotica*; aunque no para México. La identificación automática de las cuatro especies bajo estudio se llevó a cabo mediante el desarrollo y aplicación de un algoritmo matemático dentro de un proceso de reconocimiento de objetos (correlación digital invariante) basado en los patrones de difracción de las especies parásitas. Este algoritmo tiene como característica esencial el poder reconocer al objeto a pesar de que en el plano de localización del mismo este tuviera cambios de posición, rotación o de escala. Se confeccionaron filtros compuestos seleccionando algunas variaciones morfológicas para las diferentes especies de tricodínidos. La identificación mediante el procesado digital de las imágenes es efectiva y rápida en la discriminación de estas especies al obtener un 100% de probabilidad de confianza en el reconocimiento, después de realizarse la multiplicación de los tres canales monocromáticos.



# 1. INTRODUCCIÓN

La producción acuícola de peces está dominada por tres grupos de especies: carpas, tilapias y ciprínidos. La tilapia y otros cíclidos son el tercer grupo de mayor importancia con una producción anual de 1'264,719 toneladas en 2000 (FAO).

Las tilapias han sido introducidas para la acuicultura y con propósitos pesqueros en la mayoría de los países tropicales alrededor del mundo. El cultivo de tilapia se inició en México desde 1964 y en la actualidad se ha convertido en un importante recurso en un tiempo relativamente corto. Además, con el transcurso de los años se corroboró su gran resistencia y adaptabilidad al medio, que ha hecho que este recurso sea considerado como uno de los más importantes de la piscicultura mexicana (Sosa-Lima, 2000).

De acuerdo con la FAO (2000), México tiene el quinto lugar en la producción de tilapia en América. Sin embargo, las cifras de la SEMARNAP (2000) que incluyen la producción pesquera derivada de la acuicultura muestran a México como el mayor productor de tilapia en América (Fitzsimmons, 2000).

En su ambiente natural los peces presentan poca susceptibilidad a las enfermedades. Sin embargo, bajo cultivo estas especies se ven afectadas debido a que los organismos están sometidos a cambios repentinos en la calidad del agua y estrés causados por el manejo (Kabata, 1985).

El estudio de los parásitos como agentes patógenos para los peces hospederos es importante en el proceso productivo, en particular en las condiciones de los cultivos. Las infestaciones en los peces aumentan cuando

se cultivan intensivamente, ya que la elevada densidad provoca un incremento en las poblaciones de los parásitos, lo que puede ocasionar epizootias, principalmente en el caso de los parásitos de ciclo directo como ciertos protozoos (Woo, 1999).

Los estadios larvarios de los peces son los más susceptibles al desarrollo de enfermedades protozoarias; dentro de las cuales se pueden señalar a la tricodiniasis por su frecuencia y efecto negativo en la gran mayoría de los cultivos de peces. Se han encontrado tricodínidos parasitando especialmente a peces débiles en poblaciones superpobladas en estanques de aprovisionamiento cuyos ambientes son bajos en oxígeno (Snieszko y Axelrod, 1971). Los cultivos de cíclidos y carpas son comúnmente afectados por tricodínidos causantes de brotes epizooticos y pérdidas económicas importantes en el cultivo (Paperna, 1996).

La identificación de parásitos se considera de gran importancia, aunque es problemática en gran medida, particularmente en organismos que están estrechamente relacionados y cuyos efectos patológicos son variables. La identificación genérica de ectoprotzoos es relativamente fácil mientras que la diagnosis específica es lenta, laboriosa y requiere del empleo de tinciones especiales y consultas con expertos del grupo taxonómico a identificar. En un frotis de la superficie de la piel o branquias de un pez es posible encontrar varios géneros y especies de ciliados parásitos, así como estadios de desarrollo de protozoos que requieren de un especialista para su determinación específica. Existen varios géneros de ciliados que se reportan colectivamente como tricodínidos. Estos incluyen los géneros *Trichodina*, *Trichodinella*, *Tripartiella* y *Vauchonia* (Lom y Dykova, 1992).

Casi todas las especies de tricodínidos clínicamente importantes infestan la piel y/o las branquias de los peces. Algunas infectan la vejiga urinaria,

oviductos o tracto gastrointestinal, pero no se consideran como patógenos probados (Post, 1983). En general, los tricodínidos de mayores tallas son considerados organismos oportunistas, infestan la piel y habitan un intervalo amplio de hospederos; mientras que las especies menores, infestan las branquias y sólo a una o pocas especies de peces (Noga, 1996). Dentro de estos últimos se puede señalar a *Trichodina centrostrigata* que parasita también la piel y provoca altas pérdidas en las poblaciones de juveniles de peces (Van As y Basson, 1987).

Los taxónomos han desarrollado diversas técnicas que consisten de tinciones especiales y han aplicado distintos métodos para la identificación de los tricodínidos (Lom, 1958). Van As y Basson (1989) adicionaron un método específico y constante que complementa el sistema de Lom (1958), pero no lo sustituyen. En la actualidad estos parásitos se identifican mediante estos métodos tradicionales al utilizar la impregnación argéntica de Klein para la observación detallada de las estructuras del disco de fijación y la tinción de Hematoxilina de Harris y Giemsa para la observación del aparato nuclear como información adicional (Lom y Dyková, 1992).

Las técnicas de tinción mencionadas anteriormente son sólo una herramienta para la identificación de estos organismos microscópicos. Para la determinación taxonómica son necesarias además las mediciones de las estructuras esqueléticas, nucleares y ciliares. El énfasis puesto sobre varias características anatómicas han variado con el tiempo y los trabajos recientes se refieren solamente a la estructura del disco de adhesión (Gaze y Wootten, 1998).

Las muestras procesadas deben ser evaluadas por un observador con experiencia cuya capacidad depende del gran número de muestras que tenga que analizar. La observación de la lámina es una actividad aburrida y las

mediciones de las estructuras son muy laboriosas, ya que consume mucho tiempo y produce cansancio, esto repercute en la validez de las observaciones conforme el número de muestras se incrementa. La utilización de métodos automatizados puede ser la respuesta a este problema. Si se logra hacer una lectura de las láminas en forma automática, los investigadores se verán relevados de la tediosa actividad de identificar y medir organismos y esto redundará en mayor eficiencia para esta tarea. En este sentido, los sistemas ópticos y digitales de reconocimiento empiezan a ser de interés para los taxónomos y biólogos, ya que permite más fácilmente hacer mejores observaciones sobre la presencia de algún microorganismo en el ambiente.

Desde la introducción de las técnicas de filtraje por Vander Lugh (1964), los métodos de correlación óptica basados en la forma de los objetos se han venido utilizando con éxito en el reconocimiento de patrones, por lo cual, se han desarrollado diferentes tipos de filtros con el propósito de reconocer diversos objetos. Sin embargo, el reconocimiento de un protozoario es un problema complejo. La gran variabilidad morfométrica y merística de los protozoos dificulta su identificación, además de ser organismos complejos muchas especies dentro del mismo género comparten la misma forma y tamaño en sus denticulos (Basson, Van As y Paperna, 1983). El género *Trichodina* tiene el cuerpo presionado, en forma de disco, con superficie oral levemente convexa, presenta como característica principal un anillo de dientes que puede variar en número y forma. Tiene una serie de cilios en el borde extremo de la membrana celular, ciliatura entre el anillo denticulado, macronúcleo en forma de salchicha o de herradura y micronúcleo redondeado poco visible, mide aproximadamente de 30-100 micrómetros y su tono es claro casi transparente, estas características son muy parecidas en las distintas especies de tricodínidos, lo cual hace difícil la identificación.

Para resolver este problema, al frotis del muco de la superficie de la piel conteniendo tricotínidos se le aplica nitrato de plata, esta sustancia es muy oxidante y al contacto con la luz UV o los rayos solares reacciona y se torna marrón, el tono varía dependiendo de la concentración o como las estructuras argentófilas sean reducidas. Esto permite la observación de las estructuras esqueléticas del disco de fijación, haciendo visible todas las estructuras de quitina de este organismo. Por otro lado la correlación digital a color incrementa la capacidad de los filtros para el reconocimiento de patrones. El análisis de la información tanto de la forma como del número de denticulos sería la variante metodológica que da la posibilidad de identificar al protozoario con eficiencia.

El color del parásito depende de la tinción utilizada al preparar la muestra, así que el color introduce información adicional para la efectividad del reconocimiento. La descomposición de un objeto policromático en tres canales monocromáticos rojo, verde y azul (RGB) permite realizar un reconocimiento independiente en cada uno de ellos, la suma de estos resultados produce un alto nivel de certeza en la identificación del organismo. Los cambios de morfología, orientación y tamaño de este parásito son un problema que se tiene que resolver, para esto se necesita un sistema invariante a posición, escala y rotación. La transformada de escala, así como la transformada de Mellin y la transformada de Fourier se utilizan para poder tener un reconocimiento independiente de estas características.

La mayor información sobre los estudios de parásitos de peces en México está restringida a los helmintos (Lamothe-Argumedo *et al.*, 1996; Moravec y Fajer, 2000); sin embargo, los registros sobre protozoarios parásitos y en específico sobre ciliados parásitos están limitados al reporte de *Trichodina symmetrica* en *Sarotherodon hornorum* y *O. mossambicus* en cultivo en México (Lázaro-Chávez, 1985), y para *T. wellborni* en peces de la familia

## 2. ANTECEDENTES

El género *Trichodina* habita en un amplio espectro de invertebrados acuáticos y vertebrados e infecta indistintamente tanto peces marinos como peces de agua dulce, ocasionando la enfermedad conocida como tricodiniasis (Post, 1983). Los efectos negativos de esta enfermedad son variables dependiendo de la edad de los peces y su estado fisiológico. Los estadios larvarios son los más afectados cuyos signos clínicos consisten en incremento de la cantidad de moco de color blanquecino, deshílachamiento de las aletas, letargia, anorexia, pérdida de escamas y tendencia a agruparse cerca de las entradas de agua. Los peces presentan hiperemia de la piel y cuando están involucradas las branquias puede causar asfixia, el problema es más complicado cuando hay infecciones secundarias, trayendo como consecuencia enfermedades bacterianas; las cuales constituyen un conjunto de procesos considerables en la patología de los peces. Pero su importancia no viene dada solamente por las pérdidas económicas que ocasione, en cualquiera que sea el tipo de producción piscícola que se considere, sino también por su impacto sobre poblaciones silvestres y por la amenaza sanitaria que directamente representan algunos gérmenes bacterianos. La liberación de bacterias por los peces enfermos puede producirse a través de lesiones ulcerativas cutáneas o por diversas secreciones o excreciones ocasionadas por tricodínidos. Tal enfermedad al igual que otras enfermedades representan para la actividad acuícola un grave y persistente problema debido a que las especies afectadas son las más consumidas y de buen precio en el mercado, esto a su vez disminuye el rendimiento de la producción de granjas y centros piscícolas (Snieszko y Axelrod, 1971).

La mayoría de los trabajos científicos sobre estos ciliados están enfocados principalmente a su taxonomía, la cual se inició con el trabajo de

Ehrenberg (1838) para *Trichodina pediculus* de la *Hydra*. El género *Trichodina* es el más grande dentro de la familia Trichodinidae (Raabe, 1959). Más de 100 especies han sido descritas para peces, la mayoría mediante el empleo de la impregnación argéntica de Klein y otras 69 especies han sido inadecuadamente descritas (Lom y Dyková, 1992).

En contraste con su importancia económica y abundancia en el ambiente acuático, la exacta identificación de ciliados tricodinidos con frecuencia permanece incierta o es realizada inadecuadamente, alrededor de 200 especies representantes de 10 géneros están descritos dentro de la familia Trichodinidae, la cual está caracterizada por la longitud de su espiral ciliar adoral y la forma de los denticulos del disco adhesivo. El género más abundante es *Trichodina* y comprende más de 170 especies (Dobberstein y Palm, 2000).

Los estudios más intensos se han realizado para la fauna africana sureña principalmente en cíclidos (tilapias), donde la especie más importante es el ciclido indígena *Oreochromis mossambicus*, pero este estudio se ha extendido más allá de estas fronteras para incluir las descripciones en su mayoría de peces de agua dulce basado sobre material de Israel y Taiwán (Basson *et al.*, 1983).

En el sur de África algunas de las especies de carpas provenientes del Este, como la carpa común *Cyprinus carpio*, la carpa plateada *Hypophthalmichthys molitrix* y la carpa herbívora *Ctenopharyngodon idella* fueron introducidas para el propósito de cultivarlos (Cortés y Arredondo, 1976). Estas introducciones de ciprínidos exóticos fueron responsables de la introducción de varios parásitos al sur de África y se cree que algunos tricodinidos de alguna manera llegaron al continente africano por esta vía (Du

Plessis, 1952; Lombard, 1968; Sarig, 1971; Hine, 1977; Jackson, 1978; Paperna, 1980).

El movimiento intercontinental de peces de agua dulce para varios propósitos ha sido un proceso continuo por muchos años. Varios parásitos de peces fueron distribuidos con sus hospederos y establecidos en diferentes partes del mundo. Casos confirmados de la introducción de tricodínidos incluye *Trichodina reticulata* Hirschmann y Partsch, 1955, originalmente de Asia y ahora establecida en Europa (Lom, 1960), en el Este medio (Basson, Van As y Paperna, 1983), en los Estados Unidos (Hirschmann y Partsch, 1955; Lom y Hoffman, 1964; Welborn, 1967) y recientemente en el Sur de África (Basson y Van As, 1993). Tricodínidos africanos ahora establecidos en otra parte incluye *T. centrostrigata* (Basson, Van As y Paperna, 1983) y *T. heterodentata* (Duncan 1977), ambos asociados con cíclidos en Africa (Basson *et al.*, 1983; Van As y Basson, 1989, 1992); los cuales están ahora establecidos en Taiwán (Van As y Basson, 1986), las Filipinas (Natividad, Bondad-Reantaso y Arthur, 1986; Bondad y Arthur, 1989) e Israel (Van As y Basson, 1986).

La introducción de parásitos vía hospederos de peces ha tenido implicaciones en algunas evaluaciones de taxonomía de tricodínidos, esto se refiere principalmente a la especie de *O. mossambicus* por ser un hospedero portador de diferentes especies de tricodínidos (*Trichodina acuta*, *T. nigra*, *T. pediculus*, *T. mutabilis* y *T. heterodentata*) registradas en las Filipinas por Duncan en 1977, posteriormente encontradas en África del Sur e Israel (Basson *et al.*, 1983), así como en Taiwán (Van As y Basson, 1989, 1992) en este mismo hospedero. Esto cuestionó la validez de algunas de las identificaciones relacionadas con las especies de tricodínidos mencionados (El-Tantawy y Kazubski, 1986, Kazubski, 1968 y Kazubski, 1981).



Muchas de las descripciones para la identificación de las especies realizadas previas al empleo de la impregnación argéntica de Klein y al establecimiento del criterio uniforme descrito por Lom en 1958 fueron inadecuadas. Esto se debió a la dificultad para observar claramente la morfología de los denticulos mediante el empleo de otras técnicas de tinción y a la inexistencia de un procedimiento uniforme para realizar las mediciones necesarias. Sin embargo, varios autores persistieron todavía en describir tricodínidos sin tener en cuenta esta metodología (Basson y Van As, 1994).

Lom (1958) detalló las características específicas que se han usado como base para la taxonomía de tricodínidos y las mediciones a realizar de las estructuras esqueléticas, nucleares y ciliares.

Kazubski (1967) utilizó los criterios de Lom (1958) para aumentar el conocimiento de la impregnación del disco adhesivo como una estructura taxonómica, primeramente con un estudio sobre el crecimiento de los elementos esqueléticos en *T. pediculus* y posteriormente con una sucesión de trabajos de investigación sobre las variaciones morfológicas del disco adhesivo (Kazubski, 1965, 1967, 1968 y 1974), lo cual dió lugar a la revisión del estatus taxonómico de estas especies revisando la información anterior e introduciendo las características de estas especies en varias localidades, incluyendo áreas de Sudáfrica que sufre de la influencia de la introducción de especies de peces foráneos (Van As y Basson, 1989).

Un factor importante a considerar es que el crecimiento de los elementos esqueléticos es importante para determinar la madurez de los especímenes individualmente. Los tricodínidos se reproducen por fisión binaria, por lo tanto los individuos que se encuentran en esta fase de reproducción presentan por lo general la mitad del número de los componentes esqueléticos, los cuales deben de ser excluidos de los análisis taxonómicos (Kasubski, 1968).

Aunque los trabajos de Lom (1958) señalan la forma de denticulos como una característica de diagnóstico, no proporciona un método específico y constante de describir y comparar la forma del denticulo. Las características propuestas por este autor son suficientes al diferenciar entre especies ampliamente diferentes, pero esto no es suficiente para diferenciar entre especies de tricodínidos donde la forma de los denticulos exhiben solamente diferencias menores (Paperna, 1983).

Los intentos más recientes para mejorar el criterio para la descripción del disco adhesivo fueron los de Van As y Basson (1989). Ellos propusieron "un método para describir la forma de los denticulos mediante la construcción de líneas desde el centro del disco adhesivo al extremo de los denticulos, el cual provee los puntos de fijación de referencia que pueden ayudar en una descripción precisa de los elementos denticulares". Este método requiere una fotografía aumentada o un dibujo y ha sido aplicado en la revisión de especímenes ilustrados en la literatura. Este sistema permite indudablemente descripciones precisas de los organismos; pero se dirige más a comparaciones entre individuos que a poblaciones.

Basson *et al.* (1993), sugirieron que el diámetro del cuerpo debe ser excluido de las descripciones debido al alto grado de variabilidad y deformación. El término diámetro del cuerpo para representar el diámetro del disco adhesivo más el borde de la membrana parece ambiguo y está separado del criterio de Lom.

Por otro lado, Lom y Dyková (1992) refieren que la morfología del disco adhesivo es conclusivo para la taxonomía. Su estatus taxonómico está basado sobre la estructura de la ciliatura bucal, las características del disco

adhesivo y el número de sus constituyentes. Datos suplementarios se proveen sobre la configuración del núcleo.

Este criterio introduce características adicionales; las cuales habilitan y proporcionan una mejor comprensión en las diferentes formas que pueden presentar los denticulos. Su empleo debe ser complementario al sistema de Lom (1958) y no una sustitución de éste (Basson y Van As, 1994).

## 2.1 El patrón de difracción como punto de partida para la identificación automática

Una de las alternativas a los métodos tradicionales pueden ser los sistemas ópticos coherentes que se han desarrollado para la identificación de diversos objetos a partir de su patrón de difracción o transformada de Fourier (TF). El patrón de difracción contiene toda la información de las frecuencias de los objetos a detectar.

Basados en la transformada de Fourier o patrón de difracción se han desarrollado diversas técnicas para el reconocimiento óptico de patrones. Los primeros experimentos de filtraje de imágenes fueron realizados a fines del siglo antepasado por Abbe (1893) y retomados por Poter (1906). En estos primeros trabajos se establecieron las bases para el tratamiento óptico de imágenes a través de su espectro de frecuencias.

Maréchal (1952) introdujo lo que se conoce como correlacionador óptico, utilizando la transformada de Fourier para mejorar la calidad de fotografías mediante filtraje de luz coherente.

Vander Lugt (1964) inició con el uso de técnicas coherentes el reconocimiento de patrones mediante filtrados acoplados o "clásicos" a través de correlaciones matemáticas de la imagen de entrada con la imagen grabada en el filtro, reconociendo los efectos sin importar su posición en el plano de entrada gracias al patrón de difracción que coloca la información en el centro de las coordenadas del plano de referencia.

Posteriormente se han desarrollado diversas técnicas de filtraje espacial que han sido utilizadas ampliamente para el reconocimiento de diversos objetos. En un principio esta aplicación se centraba en la industria militar (Caufield y Maloney, 1969; Casasent y Psaltis, 1976; Leclerc *et al.*, 1989, 1991). A partir de los años 70 se han incluido para reconocimiento óptico imágenes cada vez más complejas con objetos movidos, rotados, escalados, degradados o fuera de foco. Esto ha dado lugar al desarrollo de técnicas invariantes, es decir, técnicas que reconocen como idénticos a objetos iguales a pesar de tener cambios de posición, escala, rotación, etc. Sin embargo, el procesamiento invariante es una tarea difícil y es por eso que hay múltiples técnicas encaminadas a resolver este problema (Cairns *et al.*, 1972; Almeida *et al.*, 1972, 1976, 1978; Jeffries *et al.*, 1980, 1984; Wood, 1996; Zavala-Hamz y Álvarez-Borrego, 1997; Pech Pacheco y Álvarez-Borrego, 1998; Álvarez-Borrego *et al.*, 2002; Pech-Pacheco *et al.*, 2002).

En este sentido las técnicas híbridas óptico-digitales permiten un procesamiento rápido y eficiente de imágenes y facilitan el reconocimiento invariante al realizar un procesamiento digital de la imagen de entrada del sistema óptico (Jeffries *et al.*, 1980, 1984; Arsenault, 1986; Pech-Pacheco y Álvarez-Borrego, 1998).

En general los sistemas de correlación óptica coherente son capaces de analizar, en tiempo real, grandes cantidades de información (Trimble *et*

*al.*,1980) e identificar objetos y discriminar incluso entre objetos similares (Hester y Casasent, 1980; Arsenault *et al.*, 1986, 1997). Muchas de estas estrategias ópticas se desarrollaron en función exclusivamente de la forma del objeto a reconocer. Sin embargo, para enfrentar el problema de identificar objetos que difieren solo en la distribución del color, se diseñó la estrategia basada en la información de forma y color para el reconocimiento de imágenes policromáticas a través de un sistema multicanal que se basa en la descomposición tricromática RGB, filtros holográficos y correlación. Esta técnica se ha utilizado con éxito para el reconocimiento de diversos objetos, tales como caracteres, figuras geométricas pero no para organismos (Yu y Chao, 1983; Bradiqué *et al.*, 1987, 1988; Millán *et al.*, 1989, 1992).

En general para objetos policromáticos la información del color depende de la longitud de onda de la iluminación. Por consecuencia, objetos con una distribución espacial de color diferente pueden parecer similares bajo una iluminación a cierta longitud de onda (Millán *et al.*, 1989, 1992). El proceso de reconocimiento multicanal para la identificación de objetos policromáticos está basado en la descomposición de la información de la forma y el color de las imágenes en tres canales monocromáticos donde el objeto es identificado separadamente. Tres longitudes de onda  $\lambda_1$ ,  $\lambda_2$  y  $\lambda_3$  que cubren el espectro de la luz visible son seleccionadas para iluminar cada canal. Para cada uno se efectúa el procedimiento de reconocimiento con la técnica de filtraje y sus respectivos resultados se obtienen sucesivamente en un correlacionador 4F clásico. De esta manera se obtienen las tres correlaciones de la imagen de entrada con el filtro bajo diferentes longitudes de onda y la información de distribución de color de los objetos se puede considerar (Ferreira *et al.*, 1992; Corbalán, 1993; Millán *et al.*, 1989, 1991, 1992, 1995).

Zavala-Hamz *et al.* (1996), estudiaron los diferentes patrones de difracción de algunas especies de copépodos (*Calanus pacificus*, *Acartia californiensis*, *Acartia tonsa*, hembra y macho para cada caso) para comenzar a utilizarlos en un proceso de reconocimiento automático. Ellos utilizaron imágenes binarias enteras y fragmentadas y concluyeron que el patrón de difracción es fundamental en el proceso de reconocimiento de esas especies.

Se realizó un análisis de conglomerado tanto de las imágenes como de sus patrones de difracción para determinar cuál conjunto de imágenes discrimina mejor el género, especie y sexo de los organismos. Los dendrogramas de las imágenes de los patrones de difracción tuvieron un mayor poder de discriminación que las demás y 50% de menos variabilidad. Más tarde, mediante la utilización de filtros armónicos circulares (Zavala-Hamz y Álvarez-Borrego, 1997) fue posible el reconocimiento de diferentes especies de copépodos (géneros *Acartia* y *Calanus*), inclusive a nivel sexo en algunos casos (para el género *Acartia*). Pech-Pacheco y Álvarez Borrego, (1998) utilizaron filtros clásicos para la identificación de 5 especies de *Ceratium*. Ellos utilizaron un sistema óptico-digital donde implementaron la transformada de Mellin óptica a través de la transformada de Fourier, de esta manera su sistema fue invariante a posición, escala y rotación.

La invariancia a rotación fue lograda al introducir en su sistema un cambio de coordenadas cartesianas a coordenadas polares. Pech-Pacheco y Álvarez Borrego (1998) analizaron patrones de difracción de algunas especies de fitoplancton para determinar su utilidad en el procesamiento aún con imágenes fragmentadas o imágenes con basura inorgánica. Los resultados mostraron que los patrones de difracción pueden ser utilizados para la identificación de estas especies. Pech-Pacheco *et al.* (2000) identificaron algunas especies de diatomeas a partir del logaritmo del patrón de difracción

de las mismas obteniendo de esta manera lo que se llama una correlación mediante filtraje cepstral.

El hecho de utilizar el logaritmo del patrón de difracción conduce a una mayor visualización de las altas frecuencias sin perder la información de las bajas frecuencias. Forero-Vargas *et al.* (2001) mostraron dos técnicas digitales para identificar bacterias de tuberculosis en muestras de esputo. Ellos observaron que la forma o morfología de la bacteria no es determinante en la identificación de las mismas debido a que muchas bacterias distintas tienen la misma morfología. Así, ellos utilizan información del color sumado a la información de la forma de la bacteria. Álvarez-Borrego y Chávez-Sánchez (2001) reconocieron cuerpos de inclusión del virus IHHN en tejido nervioso de camarón mediante la correlación digital a color utilizando un proceso llamado correlación de fase extrema.

Castro-Longoria *et al.* (2001) reconocieron algunas especies de copépodos (*Calanus pacificus*, *Rhincalanus nasutus*, *Pleuromamma gracilis*, *Temora discaudata* y *Acartia tonsa*) a nivel sexo al utilizar un nuevo algoritmo invariante a posición y a la rotación. Ellos partieron del módulo al cuadrado de la transformada de Fourier de la imagen (equivalente a la intensidad del patrón de difracción obtenido mediante un sistema óptico). Ellos utilizaron sólo filtros de fase con la información correspondiente a las invariencias antes mencionadas. Álvarez-Borrego y Castro-Longoria (2001) utilizaron un nuevo algoritmo matemático de correlación utilizando filtros compuestos; pero sólo invariante a posición y a rotación para detectar especies de copépodos (*Acartia discaudata*, *A. clausi*, *A. margalefi* y *A. tonsa*) del mismo género. Sus resultados fueron positivos al identificar las especies y el sexo de los organismos.

Castro-Longoria *et al.* (2002) compararon tres distintas metodologías (taxonómica, sonda genética y correlaciones invariantes) para determinar la identificación de tres especies harpacticoidas crípticas, las cuales son muy difíciles de identificar. Ellos lograron el 93.3%, 86.6% y el 77.86% de confiabilidad en el reconocimiento para cada una de las especies mediante correlaciones invariantes de fase extrema con filtros compuestos.

Álvarez-Borrego *et al.* (2002) obtuvieron el reconocimiento de la bacteria de *Vibrio cholerae* 01, bacteria que produce el cólera, mediante correlaciones invariantes utilizando muestras de cultivo. Mouriffo-Pérez y Álvarez-Borrego (2002) obtuvieron también el reconocimiento de la bacteria en muestras de agua de mar y en muestras de cultivo. Pech-Pacheco *et al.* (2003) muestran mediante una teoría rigurosa el funcionamiento de la correlación invariante al utilizar la transformada de escala. Ellos determinan que básicamente el problema de falta de reconocimiento en algunas imágenes es debido a la resolución de las mismas y no a que el algoritmo matemático esté fallando al identificar.

Álvarez-Borrego y Fajer-Ávila (2001) analizan algunas imágenes de parásitos de peces (*Heterobothrium ecuadori*, *Neobenedenia melleni*, *Lintonium vibex*, *Homalometron longisinosum*, *Bianium plicatum* y *Phyllodistomum miranda*), ellos encuentran posible la identificación rápida de estos parásitos con un 100% de efectividad para cada caso al multiplicar el resultado de las correlaciones para los tres canales (rojo, verde y azul). Pech-Pacheco *et al.* (2002) presentan una metodología automática que permite la toma de imágenes de especies fitoplanctónicas utilizando algoritmos de autoenfoco y fusión. Esto es un inicio del desarrollo de nuevas plataformas computacionales que en el futuro servirán para realizar de manera automática y rápida el reconocimiento de las diferentes especies de microorganismos marinos.



### 3. HIPÓTESIS

Si un parásito puede ser identificado por el hombre mediante la observación microscópica de sus estructuras de valor taxonómico, es posible realizar un procesado digital de la imagen que involucren a estas morfologías para que mediante una correlación digital invariante a escala, rotación y posición se puedan identificar los parásitos con mayor rapidez.

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo general

Identificar cuatro especies de protozoos del género *Trichodina* (Ciliophora: Peritrichida) a partir de la técnica taxonómica tradicional y mediante correlación invariante de filtros compuestos.

#### 4.1.1. Objetivos particulares

1.- Identificar los tricodínidos a nivel específico mediante la técnica tradicional establecida.

2.- Desarrollar y valorar un nuevo algoritmo de correlación invariante de filtros compuestos en la identificación de tricodínidos.

3.- Determinar la confiabilidad de identificación de tricodínidos mediante la metodología de correlación invariante.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.1. Área de estudio

La captura de los peces (hospederos) se efectuó en el centro piscícola de la SAGARPA, ubicado en Chametla en las coordenadas (401170 , 2,530.250) UTM-12N, perteneciente al municipio de Rosario en el Estado de Sinaloa (Fig. 1).

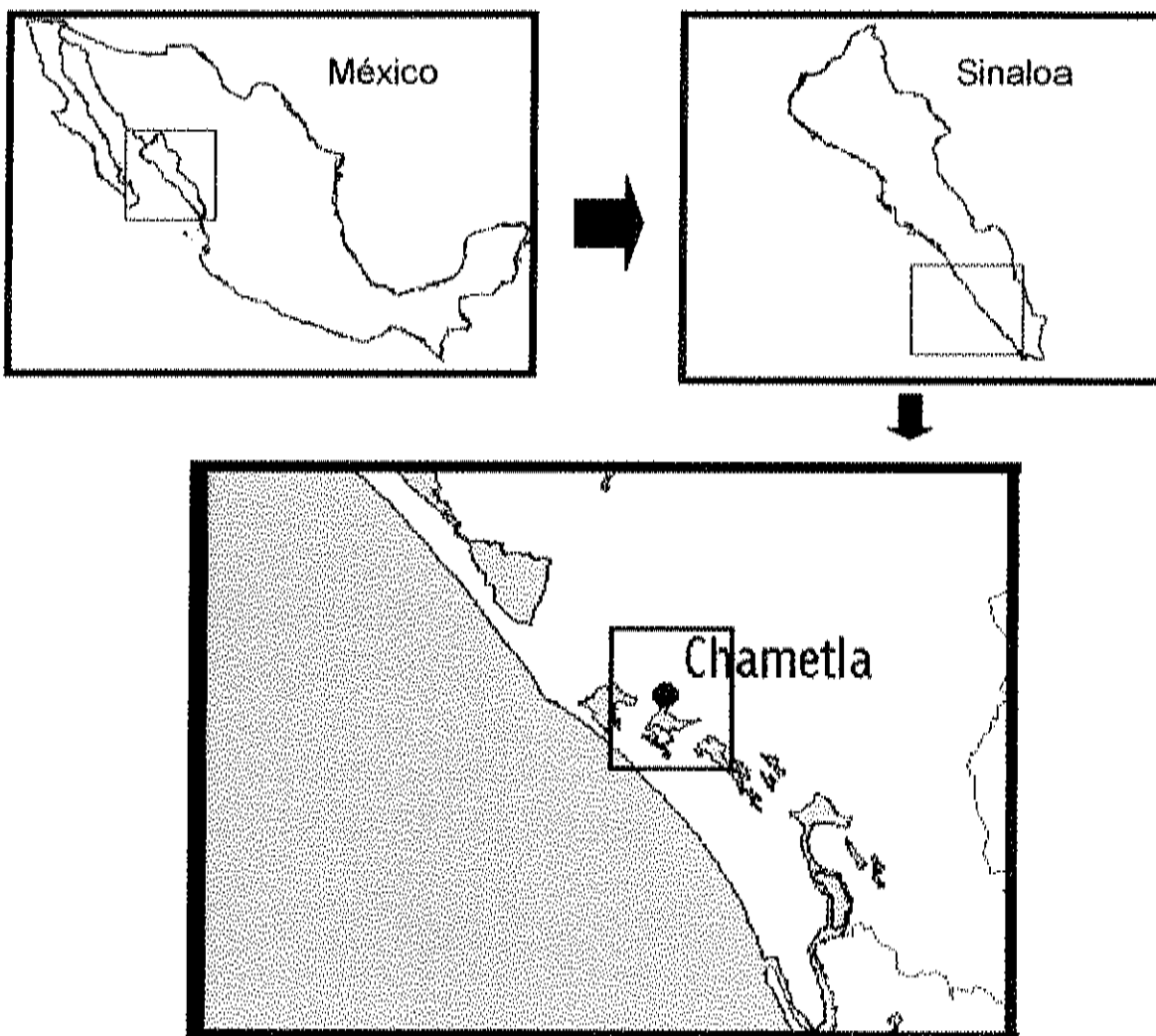


Fig. 1. Localización de la zona de muestreo.

## 5.2. Procedimiento biológico.

El presente trabajo consta de dos etapas. En la primera etapa se llevó a cabo la colecta de peces y ciliados parásitos, el procesamiento biológico del material y su determinación taxonómica tradicional. En la segunda etapa se realizó la toma de las imágenes de los parásitos identificados, su pre-procesamiento digital para la descomposición de las escenas en canales rojo, verde y azul (RGB) la selección de imágenes para elaborar los filtros y hacer las correlaciones de cada imagen problema con los filtros de fase con invariencias de las imágenes de los organismos identificados y su análisis.

Para la realización de este trabajo se utilizaron tres lotes de 250, 200 y 100 alevines de *Tilapia nilotica* variedad negra egipcia de 20 días de edad; los cuales fueron capturados durante los meses de febrero y marzo del 2002. Se pescaron con cucharas de malla fina. Los peces fueron transportados a la Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental, CIAD, A. C. en bolsas de plástico (0.5 x 0.7 cm) con agua dulce oxigenada.

## 5.3. Muestreo de peces.

Al llegar los alevines de tilapia al Laboratorio de Parasitología, se sacaron de las bolsas plásticas y sin hacer recambio de agua se depositaron en 4 peceras de 20 litros de capacidad, con aeración constante. Del primer lote de 250 peces se tomaron 150 organismos, del segundo lote de 200 se tomaron 100 y del tercer lote de 150 se tomaron 50 organismos; en total se revisaron 300 organismos seleccionados aleatoriamente.

#### 5. 4 . Colecta y fijación de parásitos.

Los peces se anestesiaron con 2 Phenoxy-ethanol 0.75 ml/l y de cada uno de los individuos se realizó con un escarpelo, un raspado de la superficie de la piel y aletas como se muestra en la figura 2; el cual se depositó en un portaobjetos limpio al que previamente se le había adicionado una gota de agua destilada. Se observaron al microscopio estereoscópico Stemi SV 11 Zeiss para la extracción de escamas y material de desecho. Las muestras se dejaron secar al aire para su posterior tinción.

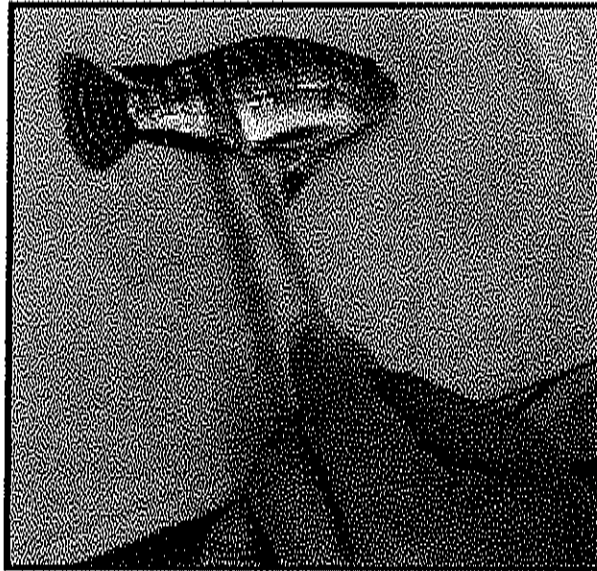


Fig. 2. Frotis de la piel del pez.

## 5.5. Técnicas de tinción.

Se utilizó la tinción argéntica de Klein para la observación detallada de las estructuras de los denticulos, características del disco de fijación y número de sus constituyentes y la tinción de Hematoxilina de Harris para la observación del aparato nuclear como información adicional. Se siguió la metodología reportada por Lom (1958) y Wellborn (1967); las cuales se describen a continuación:

### 5.5.1. a) Impregnación argéntica de Klein.

Las extensiones secadas al aire se cubrieron con Nitrato de Plata al 2 % (2.0 g de Nitrato de Plata en 100 ml de agua destilada) durante 10 minutos, inmediatamente después se enjuagaron con agua destilada, se colocaron sobre una caja Petri con fondo blanco con la muestra hacia arriba y se dejaron secar al sol durante 6 horas.

Por último se limpiaron los extremos y se montaron con un cubreobjetos en Bálsamo de Canadá para ser observadas al microscopio compuesto Leica DMLB10.

### 5.5.2. b) Hematoxilina de Harris.

#### **Preparación de la Hematoxilina de Harris**

Hematoxilina-Merck	3.0 g
Oxido rojo de Mercurio	1.5 g
Sulfato de Aluminio y Potasio (o amorio) alumbre	60.0 g
Alcohol Etilico Absoluto	30ml
Agua destilada	600 ml

Se disuelve la hematoxilina en alcohol absoluto, calentando y tapando a baño María. En otro recipiente se disuelve el alumbre en 300 ml de agua destilada; se mezclan las soluciones y se añaden los 300 ml restantes de agua destilada. Se hierve la mezcla lo más rápido posible y se agrega cuidadosamente el Óxido Rojo de Mercurio (puede explotar) hasta que tome un color rojo púrpura.

Enseguida se enfría con hielo a baño María y se filtra diez veces. Se le agrega de tres a cinco gotas de ácido acético por cada 10 ml de solución. Debe filtrarse cada vez que se vaya usar y guardarse en frasco de color ámbar.

### 5.5.3. Procedimiento de la Técnica.

Las muestras ya montadas en el portaobjetos se dejan 5 minutos en hematoxilina de Harris, pasado el tiempo se remueven los excesos con agua corriente por tres minutos, posteriormente se le agrega nitrato de plata (2.0 g de nitrato de plata en 100 ml de agua destilada) por 10 minutos y se lava con agua destilada. Posteriormente se deshidrata en una serie de alcoholes en orden ascendente: el primero es alcohol al 50% durante 3 minutos, el segundo alcohol al 70% por 3 minutos también y el último es alcohol al 95% por 3 minutos. Después se sumerge en xileno por 3 minutos; se deja secar a la luz UV por 45 minutos o al sol de 4 a 6 horas y se monta en Bálsamo de Canadá.

## 5.6. Observación microscópica.

Una vez montadas las láminas teñidas por la técnica de Klein se procede a observarlas detenidamente al microscopio compuesto en busca de tricodínidos y se seleccionan aquellos que estén completamente maduros y bien formados con todos los constituyentes del disco adhesivo que se vean nítidos y bien teñidos.

A un aumento de 1000 X se observa cuidadosamente la morfología de los denticulos de cada uno de los organismos: cuchilla y rayo, el grado de impregnación argéntica del centro del disco adhesivo y la presencia o ausencia de estructuras de quitina, etc. También se observa el ángulo descrito por la espiral adoral. Todas estas características se comparan con las descripciones de Lom y Dyková (1992) para ubicarlas taxonómicamente de forma tentativa y se procede a la revisión de los trabajos originales para la determinación de las especies, para lo cual también se realizan las mediciones correspondientes.

A continuación se procede a la observación de las láminas teñidas con hematoxilina de Harris y se buscan aquellos organismos que poseen las mismas características de los denticulos y se observa la forma y posición del macronúcleo y micronúcleo de cada especie.

Para los tricodínidos de mayor variabilidad intraespecífica se aplicó también la metodología de Van As y Basson (1989).

Para ello se aumentó el tamaño de las imágenes y se construyeron líneas desde el centro del disco adhesivo al extremo de los denticulos, para contar con los puntos de fijación de referencia que permitan una descripción precisa



de los elementos denticulares. Esto permitió describir los ejes *x* y *y* que se ilustran y hacen posible su comparación con las especies revisadas y/o descritas por estos autores (Fig. 3).

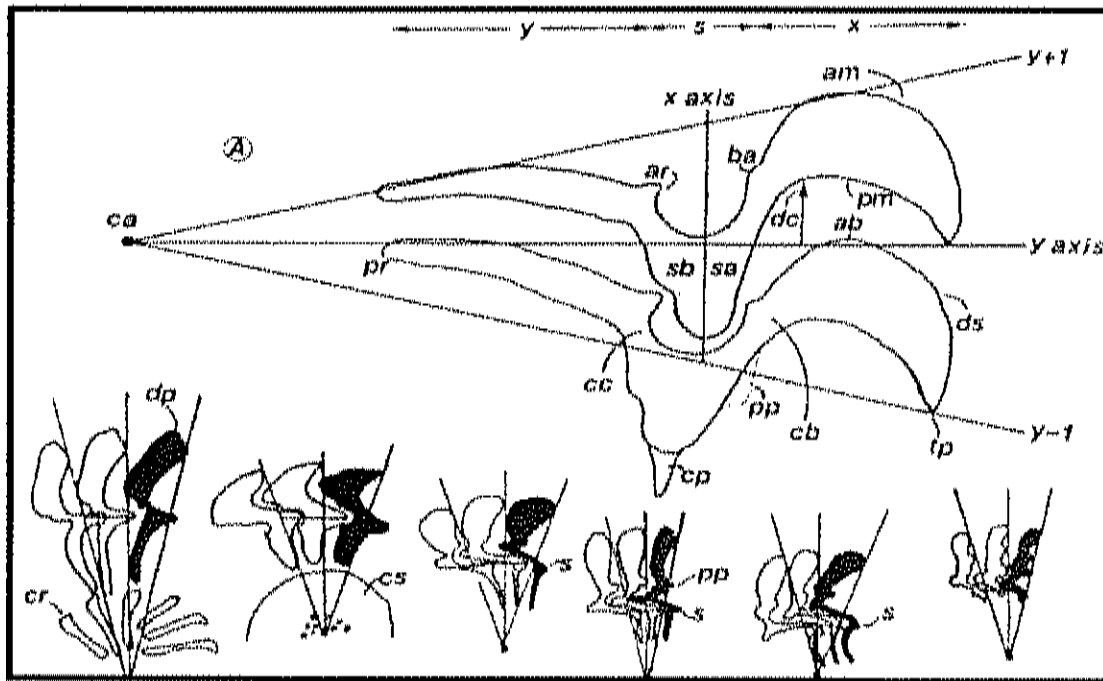


Fig. 3. Diagrama establecido por Van As y Basson (1989) para ilustrar las variaciones precisas de los elementos denticulares. *ab*, ápice de la cuchilla; *am*, margen anterior de la cuchilla; *ba*, apófisis del rayo; *ca*, centro del disco adhesivo; *cb*, sección que conecta cuchilla y parte central; *cc*, sección que conecta la parte central y el rayo; *cp*, parte cónica central; *cr*, centro de la cresta; *cs*, círculo central; *dc*, punto de altura de la curva; *dp*, punto distal de la cuchilla; *ds*, superficie distal de la cuchilla; *tp*, punto tangente; *pm*, margen posterior (describe la curva) de la cuchilla; *pp*, proyección posterior; *pr*, punto del rayo; *s*, parte central; *sa*, sección del centro de la parte de arriba eje de las *x*; *sb*, sección de la parte central de la parte de abajo eje de las *x*; *y*, rayo; *x*, cuchilla.

### 5.7. Morfometrías e identificación taxonómica tradicional.

A continuación (Fig.4) se ilustran las mediciones realizadas a las estructuras de valor taxonómico de acuerdo al procedimiento uniforme de Lom (1958).

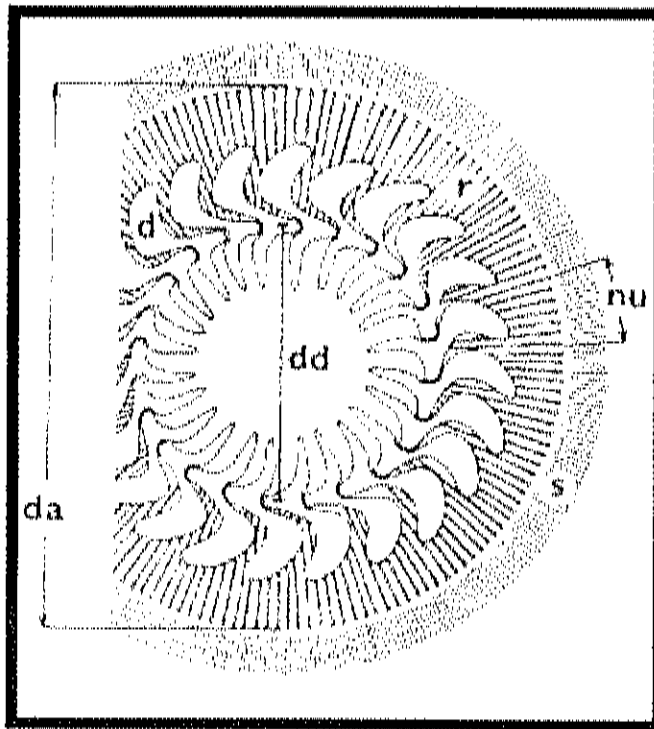


Fig. 4. Mediciones del esqueleto del disco adhesivo propuestas por Lom (1958). s: borde de la membrana, r: espinas radiales, nu: número de espinas radiales por denticulo, d: denticulo, dd: diámetro del anillo denticular, da: diámetro del disco adhesivo (Tomadas de Lom y Dykova, 1992).

Las mediciones realizadas a los denticulos se ilustran en la figura 5.

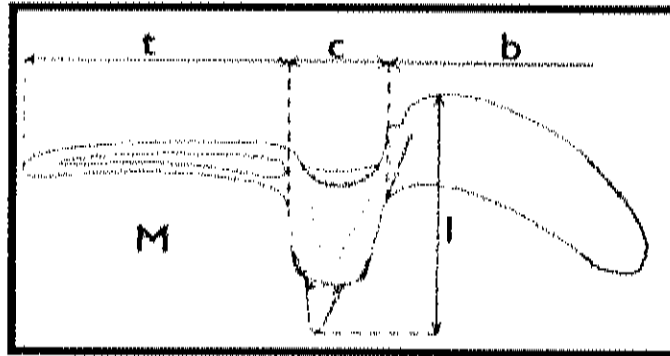


Fig. 5. Morfometrías de un denticulo. M: denticulo de una *Trichodina*, t: longitud del rayo, c: ancho de la parte central, b: longitud de la cuchilla, l: longitud del denticulo. (Tomado de Lom y Dyková, 1992)

Las mediciones realizadas al aparato nuclear se observan en la figura 6.

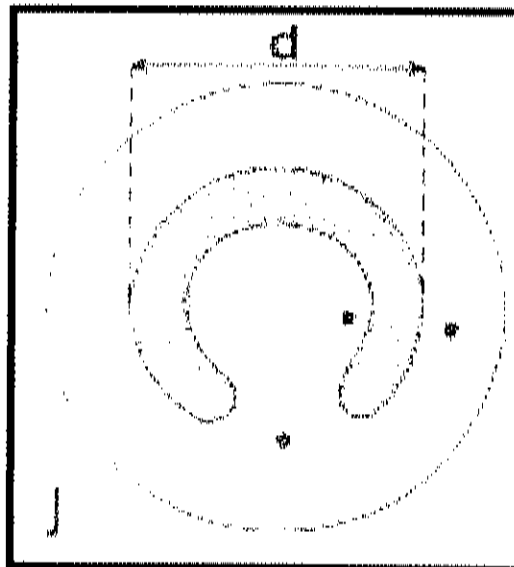


Fig. 6. Núcleo de un representante del género *Trichodina*, forma de herradura de caballo con tres posibles posiciones, d: diámetro del macronúcleo (Tomado de Lom y Dyková, 1992).

Todas las medidas fueron realizadas en preparaciones teñidas a un aumento de 1000 X y están dadas en micrones ( $\mu\text{m}$ ), se hallaron los estadísticos de variabilidad de cada uno de los caracteres medidos por especie de parásito: rango, media y desviación estándar. El número de especímenes medidos se expresa entre paréntesis.

### 5.8. Toma y procesamiento de imágenes para cada especie de tricodínido.

Por medio de una cámara de alta resolución (Sony CCDIRIS) conectada a un microscopio (LEICA DMLB10) y utilizando el programa llamado Pixel View instalado en una computadora (Dell Dimensión 4100) se obtuvieron las imágenes de los parásitos,  $f(x, y)$ , las cuales fueron tomadas utilizando un objetivo de 100 X. Las imágenes tuvieron un tamaño de 256 X 256 pixeles.

#### 5.8.1. Reconocimiento de tricodínidos en imágenes a color con filtros compuestos de fase con invariancias.

Se llevó a cabo una simulación numérica para correlacionar los patrones de difracción de las especies de parásitos con filtros solo de fase (Horner y Gianino, 1984). Un filtro solo de fase se define como

$$G(u, v) = \exp(j\phi(u, v)) \quad , \quad (1)$$

donde  $G(u, v)$  es el patrón de difracción de  $f(x, y)$  en coordenadas cartesianas. Todos los pasos fueron desarrollados numéricamente. La

aproximación utilizada en este trabajo emplea la transformada de Fourier y la transformada de escala. Las figuras 7 y 8 muestran los pasos para obtener el filtro compuesto invariante solo de fase y la correlación invariante a posición, rotación y escala respectivamente. La transformada de escala  $S(u_x, v_y)$  se utiliza en esta tesis porque es invariante a la escala de la imagen. Su definición está dada en dos dimensiones (Cohen, 1993, 1995):

$$S(u_x, v_y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_0^{\infty} \int_0^{\infty} f(x, y) \frac{\exp(-ju_x \ln x - jv_y \ln y)}{\sqrt{xy}} dx dy, \quad (2)$$

donde  $(u_x, v_y)$  son las nuevas coordenadas de la imagen obtenidas por esta ecuación y  $j$  es el numero imaginario  $\sqrt{-1}$ ,

o en una dimensión;

$$S(u_x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_0^{\infty} f(x) \frac{\exp(-ju_x \ln x)}{\sqrt{x}} dx, \quad (3)$$

donde  $(u_x)$  es la nueva coordenada de la imagen. Debido a que la operación principal realizada por una lente en un sistema óptico es la transformada de Fourier (Goodman, 1968) y digitalmente es más fácil el uso de la transformada rápida de Fourier (FFT), es necesario combinar la transformada de escala a través de la transformada de Fourier que es invariante a la posición del organismo vía la transformada de Mellin. Esto es plausible, porque cualquier operación matemática lineal puede ser escrita en forma general como:

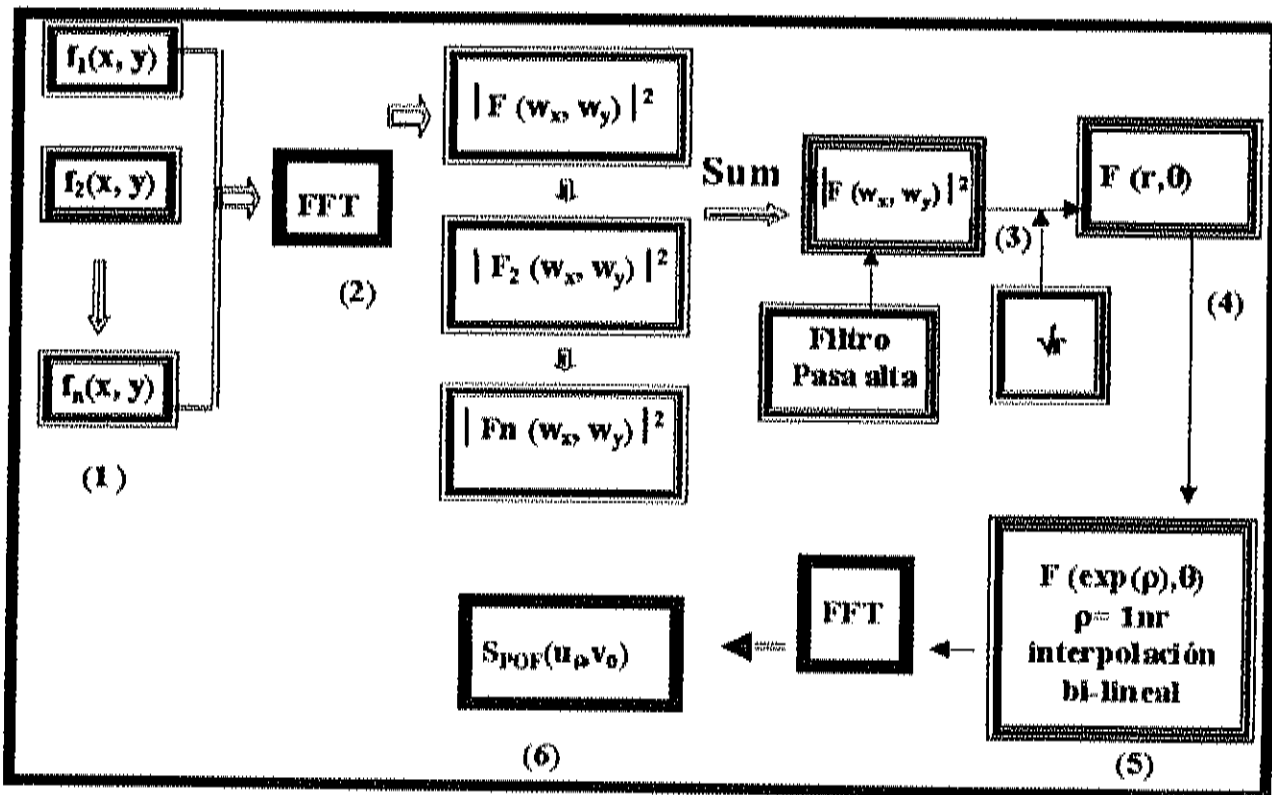


Fig. 7. Diagrama de bloques para obtener el filtro compuesto invariante solo de fase.

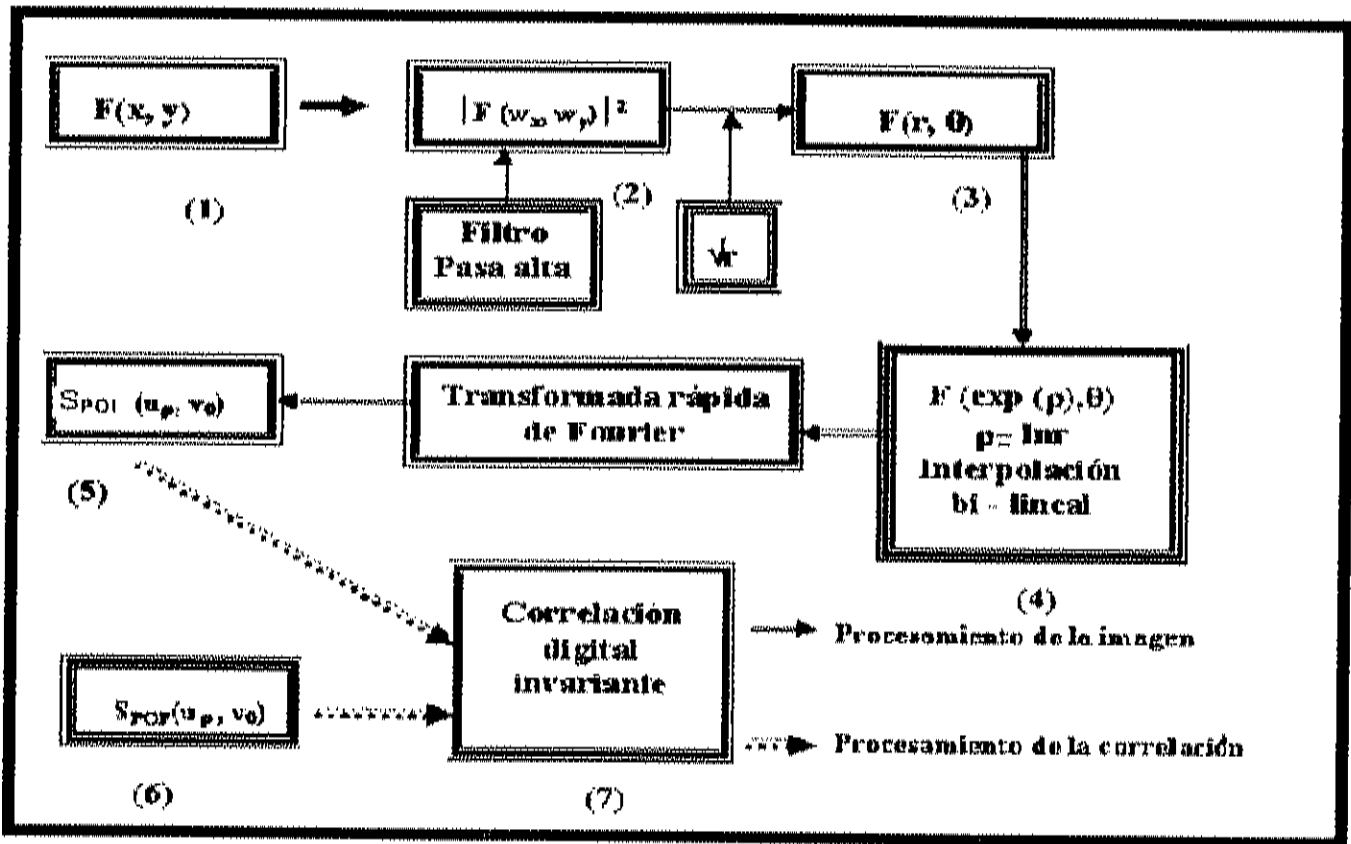


Fig. 8. Diagrama de bloques para obtener la correlación digital invariante.

$$g(\alpha) = \int_{x_1}^{x_2} f(x)K(\alpha, x)dx, \quad (4)$$

donde  $g(\alpha)$  es la integral del producto de la función  $f(x)$  con el kernel  $K(\alpha, x)$  (Arken, 1981) y  $\alpha$  es cualquier variable. La única diferencia entre las dos transformadas es su kernel  $K(\alpha, x)$ .

Por ejemplo, la transformada de Fourier es:

$$g(\alpha) = \int_{x_1}^{x_2} f(x) \exp(-j\alpha x) dx, \quad (5)$$

donde:  $\exp(-j\alpha x)$  es el kernel de la transformación;

Y la transformada de Mellin es:

$$g(\alpha) = \int_{x_1}^{x_2} f(x) x^{\alpha-1} dx, \quad (6)$$

donde  $x^{\alpha-1}$  es el kernel de la transformación.

Entonces es posible proceder de la transformada de escala a la transformada de Fourier vía la transformada de Mellin. La relación de las transformadas de Mellin y Fourier puede ser revisada en Casasent y Psaltis (1976). En esta sección se escribirá la relación entre la transformada de escala y la de Mellin únicamente.

Esto es importante porque de esta manera la ecuación (2) puede ser fácilmente manipulada vía la transformada de Fourier a través de la transformada de Mellin.

La transformada de escala de la función  $g(x, y) = \frac{f(x, y)}{\sqrt{xy}}$  puede ser escrita

como:

$$S(u_x, v_y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_0^{\infty} \int_0^{\infty} g(x, y) \frac{\exp(-ju_x \ln x - jv_y \ln y)}{\sqrt{xy}} dx dy, \quad (7)$$



$$= \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_0^{\infty} \int_0^{\infty} f(x, y) \frac{\exp(-ju_x \ln x - jv_y \ln y)}{xy} dx dy, \quad (8)$$

y empleando un cambio de variables  $x = \exp(p)$ ;  $y = \exp(q)$ , se obtiene:

$$S(u_x, v_y) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(\exp(p), \exp(q)) \frac{\exp(-ju_x p - jv_y q)}{\exp(p+q)} \exp(p+q) dp dq, \quad (9)$$

$$= \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} f(\exp(p), \exp(q)) \exp(-ju_x p - jv_y q) dp dq, \quad (10)$$

$$= F[f(\exp(p), \exp(q))], \quad (11)$$

donde  $F$  es la transformada de Fourier.

Entonces, la relación entre las transformadas de escala y Mellin en dos dimensiones en uno como en otro sentido son:

$$\text{Transformada de escala } \left[ g(x, y) = \frac{f(x, y)}{\sqrt{xy}} \right] \Leftrightarrow \text{Transformada de Mellin } [f(x, y)], \quad (12)$$

$$\text{Transformada de Mellin } [\sqrt{xy} f(x, y)] \Leftrightarrow \text{Transformada de escala } [f(x, y)], \quad (13)$$

(Cuesta Merino, 1999). Via la transformada de Mellin se puede calcular la transformada de escala y viceversa.

En este método la introducción del factor de escala  $\sqrt{r}$  (donde  $r$  es la frecuencia espacial radial, el origen del cual parte de la frecuencia cero en la representación óptica en el espectro de Fourier) (Pech-Pacheco, *et al.*, 2002) está asociada con el módulo de la transformada de Fourier de las imágenes candidatas con el propósito de obtener la transformada de escala obtenida por Cohen (1993, 1995), (ec. 12).

La introducción de este factor de escala convierte a la transformada de Mellin en una transformada de escala. Las características de las altas frecuencias en el módulo se compensa aplicando una máscara proporcional a  $1/r$ . Como resultado se obtiene un realce del módulo en las altas frecuencias efecto del filtro pasa alta aplicando una función parabólica, (de esta forma las altas frecuencias se realzan y las frecuencias bajas se atenúan en proporción de  $w_x^2, w_y^2$ ).

Por consecuencia, la efectividad de la ventana aplicada es  $\sqrt{r}$  y al utilizar esto tenemos la máxima confiabilidad en el procedimiento de clasificación.

En la figura 7 el método para la obtención de los filtros compuestos se presentan en bloques. Debido a que algunos parásitos presentan diferentes morfologías, es necesario incluir esta información en los filtros. En el primer paso (Paso 1) se seleccionan todas las diferentes morfologías  $f_1(x, y), f_2(x, y), \dots, f_n(x, y)$ , y se obtienen los módulos al cuadrado de la transformada de Fourier de cada uno  $|F(w_x, w_y)|^2, |F(w_x, w_y)|^2, \dots, |F(w_x, w_y)|^2$  (Paso 2) después de esto se suman todos los módulos para obtener una imagen (Paso 3).

Entonces, las bajas frecuencias son atenuadas utilizando un filtro pasa alta. De esta forma, las altas frecuencias se observan con mas detalle. Esta mejor definición de las altas frecuencias ayudará, por consecuencia, a obtener una buena identificación de los objetos a ser reconocidos. Entonces se aplica el factor de escala  $\sqrt{r}$  como se mencionó anteriormente, este proceso es el que diferencia a la transformada de escala de la transformada de Mellin. Después de estos pasos, las coordenadas cartesianas fueron mapeadas a coordenadas polares (Paso 4). En el Paso 5 se lleva a cabo una interpolación bilineal de los datos que están en coordenadas polares (Pech-Pacheco *et al.*, 2002). Esto se hace para minimizar los errores de muestreo; los cuales de una forma u otra afectan la identificación de los objetos. La imagen resultante (Paso 6) es el filtro compuesto; el cual será utilizado en la correlación invariante (filtros que tienen información acerca de las especies que deben ser reconocidas).

Los pasos 3, 4, 5 y 6 de la figura 7 son necesarios para asegurar que la información contenida en los patrones de difracción son invariantes a rotación, escala y posición obteniéndose así una correlación invariante de los patrones de difracción.

Para discriminar entre especies parásitas, todas las imágenes a ser reconocidas fueron transformadas como la figura 8 la cual es similar a la figura 7 excepto que en el Paso 1 se tiene solamente una imagen en la entrada. En el Paso 6 se pueden ver los resultados obtenidos utilizando los pasos de la figura 7. En el Paso de la 7 de la figura 8 se realiza la correlación invariante.

El reconocimiento de una especie particular de parásitos es complejo. La información de colores llega a ser un factor importante a considerar, el cual

se necesita incluir en el proceso de identificación. En general un objeto policromático presenta diferente distribución en forma y amplitud  $A_{\lambda}(x, y)$  cuando se ilumina con diferentes longitudes de onda  $\lambda$ . Sin embargo, dos objetos diferentes pueden presentar una distribución de amplitud similar cuando son iluminados con determinada longitud de onda  $\lambda_0$ . Así en un proceso de reconocimiento óptico de patrones utilizando un iluminador de correlación con una longitud de onda  $\lambda_0$ , estos objetos darán una distribución de amplitud similar y aparecerán algunas falsas alarmas. Para solucionar este problema es necesario utilizar la información acerca de las distribuciones de la amplitud de los objetos sobre longitudes de onda (Campos *et al.*, 1991).

Muchos de los colores naturales pueden ser obtenidos con una combinación de colores (llamados colores primarios) si ellos están bien seleccionados. Cada uno de ellos, rojo (R), verde(G) y azul(B), son regiones del espectro visible. Cuando el objeto es una transparencia, la transmitancia de amplitud obtenida con la iluminación de cada uno de estos colores primarios serán llamados componentes rojo, verde y azul del objeto.

El reconocimiento del objeto en una escena es lograda por la descomposición de la información en los tres canales monocromáticos y por identificar el objeto en cada canal independientemente. En otras palabras, la correlación  $C_{\lambda_i}(x, y)$  entre la escena a ser analizada  $f_{\lambda_i}(x, y)$  y el parásito que será detectado, en este caso, se obtiene iluminando un sistema óptico con tres longitudes de onda  $\lambda_i = R, G, B$  los cuales cubren el espectro visible.

$$C_{\lambda_i}(x, y) = f_{\lambda_i}(x, y) \otimes P_{\lambda_i}(x, y) \quad (14)$$

Por lo tanto, el proceso que se muestra en la figura 8 se repetirá para cada canal (R,G y B). En cada canal el filtro compuesto a ser utilizado es unido al componente correspondiente del objeto a identificar. En general los objetos; los cuales tienen una componente determinada  $A_{\lambda_i}(x,y)$  similar a una componente del objeto a identificar  $P_{\lambda_i}(x,y)$  darán un máximo de correlación en este canal ( $\lambda_i$ ). Pero solamente el objeto a reconocer simultáneamente dará un máximo de correlación en cada canal. Así un objeto es detectado como el objeto a reconocer si simultáneamente produce una correlación en los tres canales. Los filtros compuestos fueron hechos seleccionando algunas morfologías presentes en las diferentes especies, por ejemplo, para discriminar *Trichodina pediculus* se seleccionaron 10 imágenes. Estas 10 imágenes diferentes son solo una muestra tomada de un universo de imágenes y el patrón de difracción resultante de estas diez imágenes muestra que la información de frecuencias cubre todos los ángulos posibles por eso se llega a la conclusión de que diez imágenes son suficientes (Fig. 9).

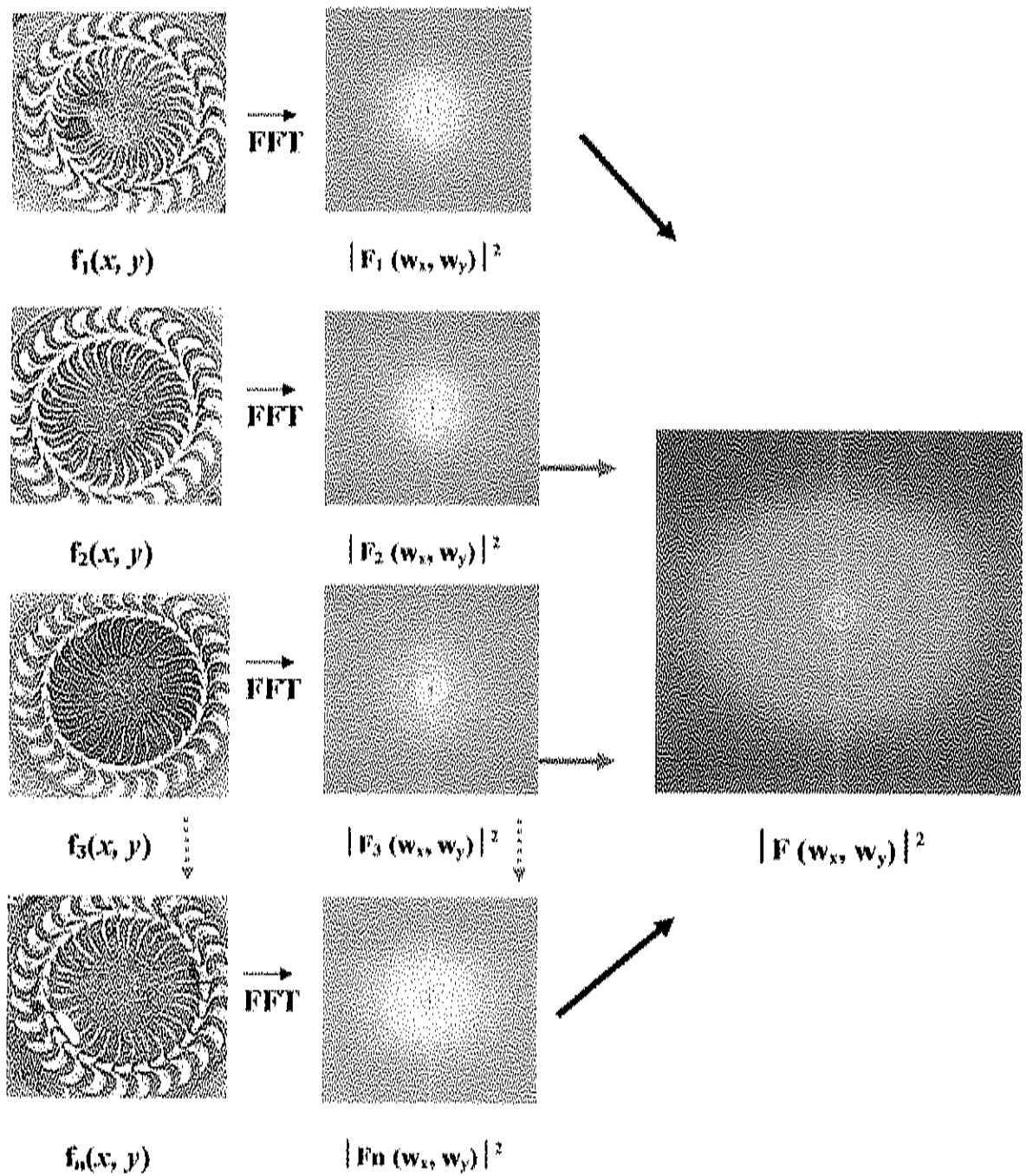


Fig. 9. Configuración gráfica del proceso para obtener el patrón de difracción compuesto de 10 imágenes. El resultado se muestra aplicando el logaritmo base 10 para una mejor visualización del mismo.

### 5.8.2. Análisis de las variantes morfológicas

En ciertas especies del género *Trichodina* se pueden encontrar ciertas diferencias dentro de una misma especie que pueden no ser vistas a no ser por un experto. Esto da a lugar a tener varias morfologías. Para poder realizar la identificación automática de las cuatro especies bajo estudio se llevó a cabo el desarrollo y aplicación de un algoritmo matemático dentro de un proceso de reconocimiento de objetos (correlación). Este algoritmo tiene como característica esencial; el poder reconocer el objeto en el proceso de reconocimiento, a pesar de que en el plano de localización del mismo, éste tuviera cambios de posición, rotación o de escala.

Además, para que el algoritmo tome en cuenta las variaciones morfológicas de las especies, éste contiene el cálculo de un filtro compuesto que posee la información de más de diez variaciones morfológicas de la especie que se desee identificar.

Se utilizaron un total de 134 imágenes digitales a color de 256 X 256 pixeles que involucran a las cuatro especies bajo estudio. Cada imagen se descompuso en sus tres canales básicos (rojo, verde y azul) que cubren el espectro visible. El reconocimiento para cada especie se llevó a cabo para cada canal. Los resultados fueron presentados en un diagrama de cajas donde los límites fueron determinados, a partir del promedio, a uno y dos errores estándar.

Para obtener una probabilidad de certeza (o de confianza) en la identificación, para cada especie, se tomó en cuenta el número de veces en que la especie tuvo un traslape. A este valor obtenido se le dividió entre el número total de organismos de la especie a identificar. El resultado de esta división se le restó al uno (100%). En algunos casos más complicados, por

ejemplo en aquellos en los cuales se encontró traslape en los resultados de correlación de dos o más de las cuatro especies, se contaron todos los organismos involucrados en el traslape (con la especie a identificar) y este valor se le dividió entre el número total de organismos de la especie a identificar más los que están traslapándose, este resultado se le resta a uno (100%). Esto es similar a encontrar una probabilidad complementaria. Pero se realiza así para que el cálculo sea más simple.



## 6. RESULTADOS

### 6.1 Taxonomía

Se registraron 4 especies del género Trichodina: *T. pediculus*, *T. centrostrigata*, *T. magna* y *T. nigra* parasitando la piel y aletas de la *Tilapia nilotica* variedad egipcia (negra). A continuación se describen los caracteres del género y la morfología de cada una de las especies:

Phylum Ciliophora Doflein, 1901

Clase Oligohymenophorea de Puytorac *et. al.*, 1974

Orden Mobilina Kahl, 1933

Familia Trichodinidae Claus, 1974

Género *Trichodina* Raabe, 1959

Organismos ciliados en forma de disco, que en su movimiento constante pueden adherirse temporalmente a un sustrato por medio de un disco adhesivo ligeramente cóncavo reforzado por un sistema de elementos esqueléticos proteicos. El disco puede contraerse y su función es semejante al de una ventosa. Sobre este disco hay tres coronas de cilios: dos locomotoras y una compuesta de cilios táctiles inmóviles, conocidos como cilios marginales.

El citoesqueleto proteico del disco adhesivo está compuesto por un anillo de elementos cónicos huecos con proyecciones laterales planas conocidas como denticulos. Las proyecciones centrifugales de los denticulos mayormente semi-circulares, se les llama cuchillas o apófisis externas y las proyecciones centripetas semejantes a espinas son llamadas rayos o apófisis interna. El disco esta rodeado por una membrana móvil que la bordea reforzada por los rayos esqueléticos finos que aparecen como finas

estriaciones. Las cuchillas son rectas o encorvadas mientras que los rayos tienen forma de bastón, espinas o agujas de diferente longitud. El aparato nuclear está compuesto por un macronúcleo bandiforme y un micronúcleo redondeado u oval situado cerca de él. Son parásitos de agua dulce y salada, vertebrados e invertebrados acuáticos y de algunos anfibios (Shulman, 1984; Lom y Dyková, 1992).

*Trichodina pediculus* Ehrenberg, 1838.

Sinonimia: *T. orientalis*; *T. davisi*; *T. funduli*; *T. hypsilepsi*; *T. salmincola* y *T. vallata*.

Descripción: Tricodínido de talla mediana, centro del disco adhesivo grande. Cuchillas grandes y curvadas formando una hoz típica con una extremidad puntiaguda y una muesca en el margen proximal anterior del rayo. Rayos afilados y rectos generalmente más grandes que las cuchillas. El centro del disco adhesivo se ve granular sin el círculo central visible. Cuchillas más largas que ancha con el extremo puntiagudo. Rayos ligeramente curvados posteriormente de igual longitud no son muy gruesos en la base y terminan gradualmente en una punta fina (Figura 10). Macronúcleo en forma de U (Fig11). Esta especie varía en forma y número de denticulos. La morfometría comparativa se encuentra en la Tabla 1.

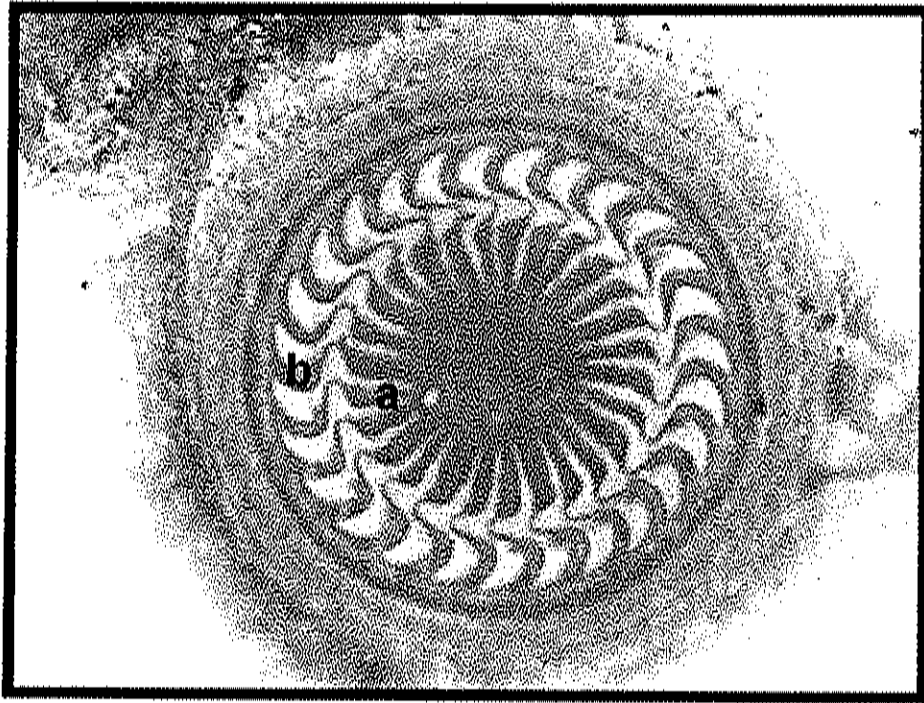


Fig. 10. Disco adhesivo *Trichodina pediculus* (600 X): a) rayos rectos y finos, b) cuchillas en forma de hoz.

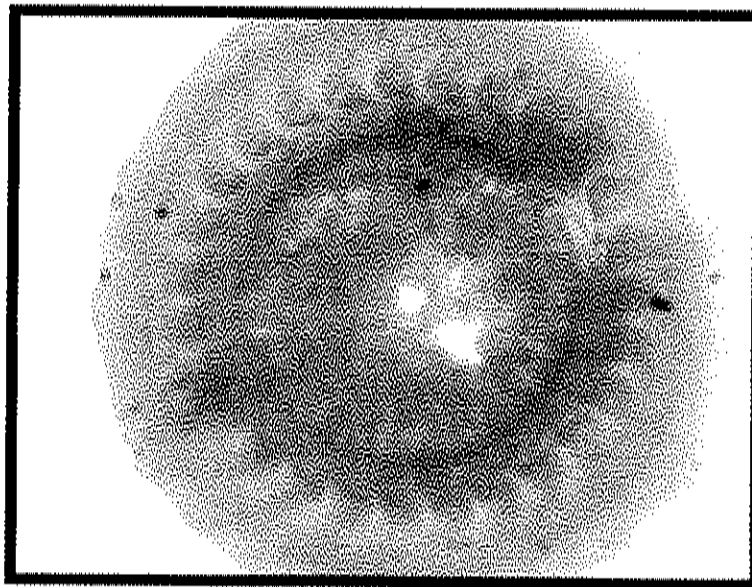


Fig. 11. Macronúcleo de *Trichodina pediculus* (1000 X).

Tabla. 1. Datos merísticos para *Trichodina pediculus* Ehrenberg, 1838

<b>Autor</b>	<b>Basson et al (1983)</b>	<b>Basson et al (1983)</b>	<b>Fajer-Avila (1987)</b>	<b>Presente trabajo (2002)</b>
<b>Hospedero</b>	<i>Tilapia rendalli</i>	<i>Tilapia aurea</i> y <i>H. mollitrix</i>	<i>Oreochromis aureus</i>	<i>Tilapia nilotica</i> variedad egipcia
<b>Localización</b>	Piel y aletas	Piel y aletas	Piel y aletas	Piel y aletas
<b>Localidad</b>	África del Sur	Israel	Habana, Cuba	Sinaloa, México
<b>Diámetro del disco adhesivo</b>	59.7 - 94.8 (81.7 ± 8.2, 22)	43.1-60.0 (55.2 ± 4.5, 10)	40-51 (47 ± 4, 18)	43-75 (60.7 ± 5.22, 35)
<b>Diámetro del anillo denticular</b>	35.6 - 57.5 (50.0 ± 4.8, 22)	---	35-44 (41 ± 3, 18)	34-53 (39.26 ± 5.3, 35)
<b>No. de denticulos</b>	24-27 (25, 22)	22-29 (25, 10)	21-33 (23, 18)	22-32 (30, 35)
<b>Estrías radiales/ denticulo</b>	10-13 (11, 22)	---	11-17 (14, 18)	8 -12 (10, 35)
<b>Longitud del denticulo</b>	7.4-13.6 (10.9 ± 1.4, 22)	6.2-10.4 (8.2 ± 1.1, 10)	12-17 (15 ± 1, 18)	7.8-13 (9.81 ± 0.98, 35)
<b>Longitud de la cuchilla</b>	6.0-10.9 (8.6 ± 0.9, 22)	3.9-5.7 (5.1, 10)	4-8 (5 ± 0.8, 18)	3-8 (5.77 ± 0.93, 35)
<b>Ancho de la parte central del denticulo</b>	3.7-7.4 (5.6 ± 0.9, 22)	2.4-3.6 (3.1 ± 0.4, 10)	2-4 (3 ± 0.7, 18)	3-6 (4.30 ± 0.51, 35)
<b>Longitud del rayo</b>	7.7-16.0 (13.0 ± 1.7, 22)	6.2-9.8 (8.3 ± 1.0, 10)	4-8 (6 ± 1, 20)	4-12 (7.85 ± 1.2, 35)
<b>Diámetro externo del macronúcleo</b>	47.2-82.1 (62.2 ± 9.2, 12)	---	---	33.3-50 (42.18 ± 5.43, 12)

## Morfología del denticulo.

Cuchilla en forma de hoz. Superficie distal curvada. Punto tangente un poco más abajo que el punto distal. Margen anterior redondeado con el ápice ligeramente aplanado poco prominente, situado más bajo que el punto del margen posterior. Conexión entre la cuchilla y la parte central. Parte central robusta, extendiéndose más allá de la mitad del eje y. El punto de la parte central en estrecha asociación con el siguiente denticulo. Conexión delgada entre la parte central y el rayo. La apófisis del rayo no es prominente, es puntiaguda en dirección distal. Rayo rectos, delgado, paralelo al eje y, ligeramente afilado, variando a punta redondeada. Rayo no dirigido anteriormente, no se extiende después del eje y +1. Punto del eje y +1 no cruza a la mitad de la longitud del rayo. No existe una uniformidad en el grosor de los rayos (Fig.12).

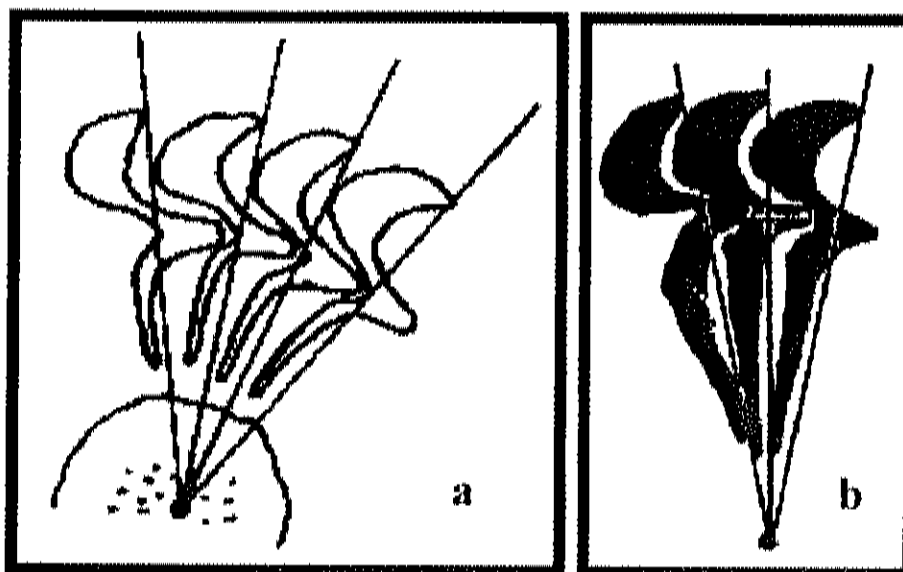


Fig. 12. Comparación diagramática de la morfología de los denticulos de: a) *Trichodina pediculus* hallados en *Tilapia nilotica* variedad egipcia, b) *Trichodina pediculus* de *Tilapia aurea* en el Sur de África (Van As y Basson, 1989).

*Trichodina centrostrigata* Basson, Van As y Paperna, 1983.

Descripción: Tricodínido en forma de disco de talla pequeña. Su característica distintiva es que presenta en la parte central del disco adhesivo, una estructura clara en forma de roseta que posee espinas en forma de varillas distribuidas de manera radial en la parte central del disco, curvadas significativamente hacia atrás con relación a las cuchillas. Las cuchillas son truncadas con márgenes laterales a veces paralelos. Rayo largo significativamente curvado posteriormente reduciéndose hasta el punto de unión en la parte central. La parte interna del rayo es relativamente derecha, inclinada y se afila gradualmente hacia la punta, estas estructuras suman casi la mitad del número de denticulos que se encuentran en el anillo denticular (Fig. 13). Macronúcleo en forma de herradura (Fig. 14). Los datos merísticos y su análisis comparativo se encuentran en la Tabla 2.

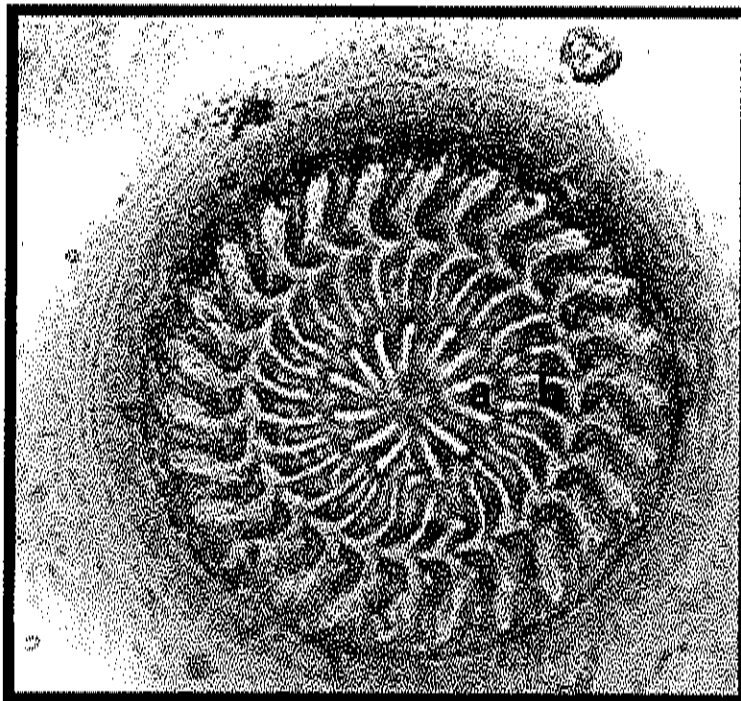


Fig. 13. Vista superior de *Trichodina centrostrigata* (1000 X): a) varillas centrales  
b) rayos curvados posteriormente.

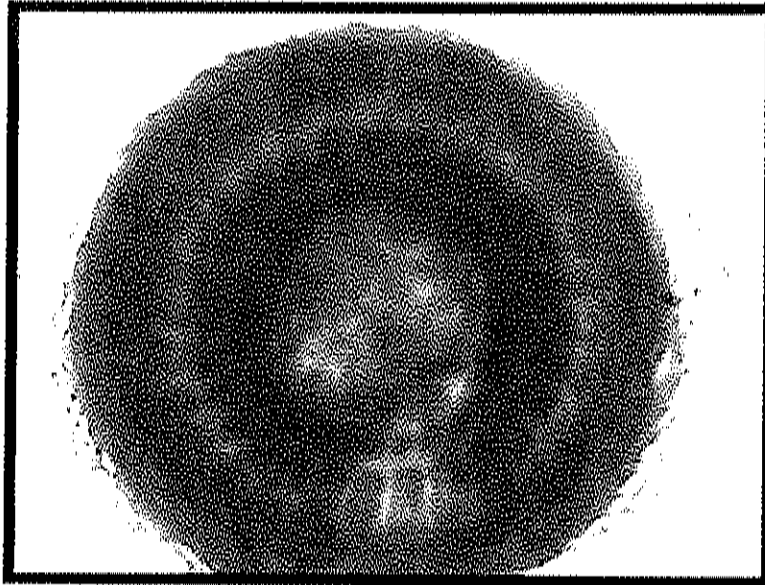


Fig.14. Macronúcleo de *Trichodina centrostrigata* (1000 X).

Tabla. 2. Datos merísticos para *Trichodina centrostrigata* Basson, Van As y Paperna, 1983.

Autor	Basson et al (1983)	Basson y Van As (1994)	Fajer, et al. (1997)	Presente Trabajo
Hospedero	<i>O. mossambicus</i> , <i>Tilapia rendalli</i> , <i>Pseudocrenilabrus philander</i> y <i>T. sparrmanii</i>	<i>O. mossambicus</i> <i>Tilapia sp.</i>	<i>O. aureus</i>	<i>Tilapia nilotica</i> variedad egipcia
Localización	Piel y aletas	Piel y aletas	Piel y aletas	Piel y aletas
Localidad	África del Sur	Sur de África Filipinas	Habana, Cuba	Sinaloa, México
Diámetro disco adhesivo	31.2-45.8 (37.6 ± 3.6, 100)	30.0-45.0 (36.0 ± 4.2, 16)	24-35 (30 ± 3.17, 20)	30-44 (37.51 ± 3.9, 31)
Diámetro del anillo denticular	18.7-33.3 (23.2 ± 2.5, 100)	18.5-26.0 (21.7 ± 2.4, 16)	17-23 (20.6 ± 0.40, 20)	18-38 (19.64 ± 2.1, 31)
Varillas centrales	12-16 (14, 100)	13-16 (14, 12)	11-12 (11, 20)	12-15 (13, 31)
No. de denticulos	26-30 (28, 100)	24-29 (26, 16)	19-25 (24, 20)	23-29 (26, 31)
Estriaciones radiales/ denticulo	6-7 (7, 100)	7-8 (8, 7)	6-8 (6, 20)	6-8 (6, 31)
Longitud del denticulo	2.0-6.2 (4.1 ± 0.6, 100)	3.0-5.0 (4.3 ± 0.6, 13)	6-8 (7 ± 0.58, 17)	3.3-5.6 (4.29 ± 0.74, 31)
Longitud de la cuchilla	2.8-6.4 (5.2 ± 0.7, 100)	5.0-6.0 (5.5 ± 0.5, 15)	3-4 (3.5 ± 0.55, 17)	3.3-6.7 (4.55 ± 0.77, 31)
Ancho de la parte central del denticulo	1.13.0 (1.9 ± 0.3, 100)	1.0-1.5 (1.1 ± 0.2, 15)	---	2.22-6.7 (2.73 ± 0.89, 31)
Longitud del rayo	3.2-6.0 (4.5 ± 0.6, 100)	3.5-5.0 (4.3 ± 0.6, 15)	2-3 (2.5 ± 0.29, 17)	3.3-7.8 (5.29 ± 0.97, 31)
Diámetro externo del macronucleo	20.9-49.7 (37.6 ± 6.9, 23)	---	---	19-37 (32 ± 7.4, 7)



## Morfología del denticulo

Punto tangente al nivel del punto distal. Margen anterior recto con el ápice aplanado y no prominente, situado más abajo que el punto del margen posterior. Parte central delgada. Conexión delgada entre la parte central del rayo. Número de espinas radiales por denticulo de 6 a 7. Macronúcleo en forma de herradura de caballo, micronúcleo oval ubicado en la posición -y ocasionalmente en la posición -y<sup>1</sup> (Fig. 15).

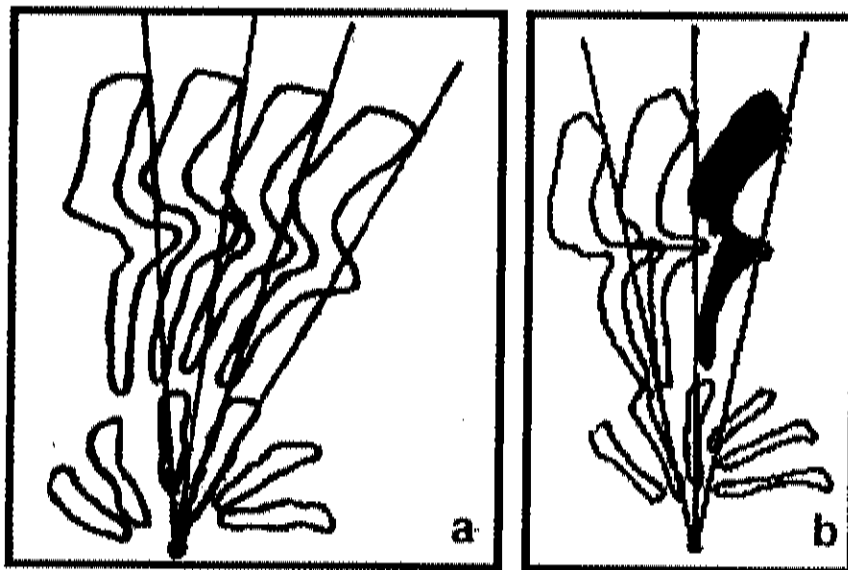


Fig. 15. Comparación diagramática de la morfología de los denticulos de: a) *Trichodina centrostrigata* halladas en *Tilapia nilotica* variedad egipcia, b) *Trichodina centrostrigata* hallada en *Oreochromis nilotica* del Sur de Africa (Van As y Basson, 1994).

*Trichodina magna* Van As y Basson, 1989.

Descripción: Es un tricotínido de gran tamaño, el disco adhesivo es cóncavo, rodeado por el borde de la membrana finamente estriada. La cuchilla es más larga que ancha, redondeada y lisa en la parte posterior del borde. Rayos significativamente curvados posteriormente de longitud variable. Los rayos no son muy gruesos en la base y se afinan gradualmente hasta terminar en punta. Un área redondeada y lisa está presente anteriormente al punto de unión de la parte central. Las puntas de los rayos son casi de un espesor constante, pero rematan levemente hasta un punto agudo. La parte posterior de la cuchilla es semilunar. Se encontraron variaciones morfológicas con relación al grosor de las espinas que se muestran en las Figuras 16 y 17. El aparato nuclear consiste de un macronúcleo en forma de herradura (Figura 18 y 19). Los datos merísticos se observan en la Tabla 3.

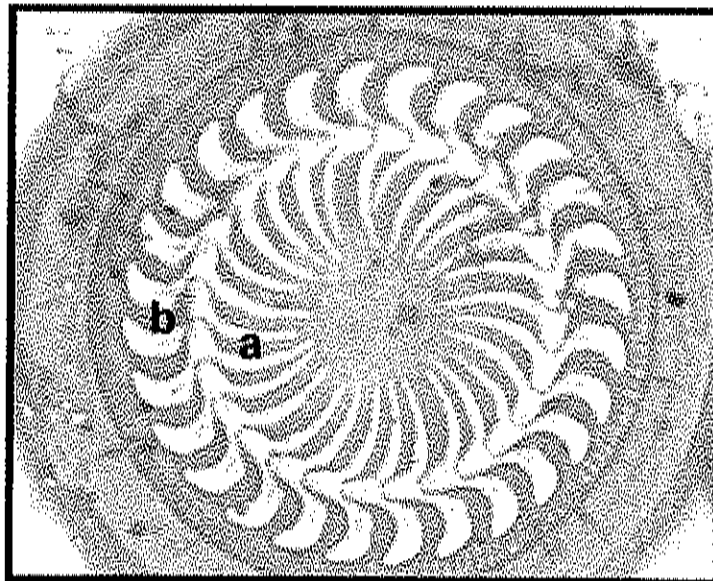


Fig.16. Disco adhesivo *Trichodina magna* (600 X); a) rayos curvados, largos y finos, b) cuchillas en forma semilunar.

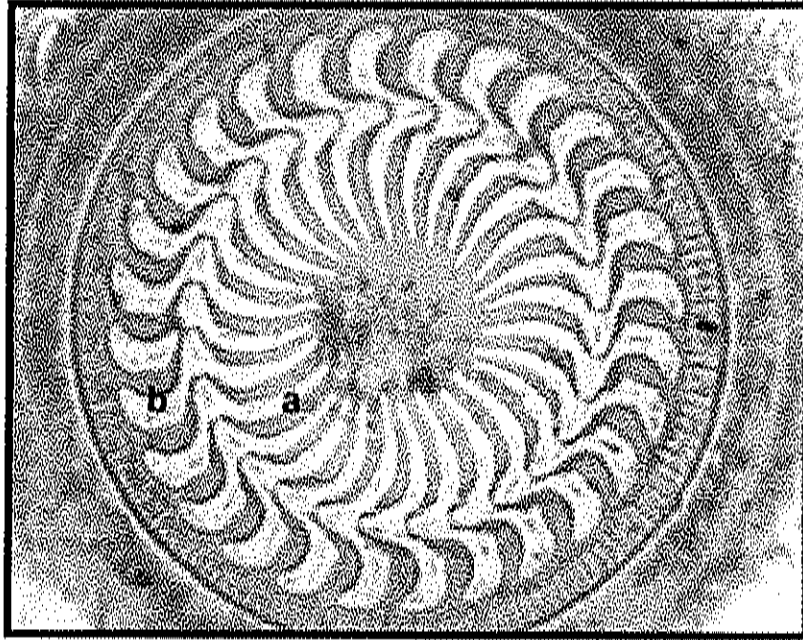


Fig. 17. Disco adhesivo de *Trichodina magna* (600 X): a) rayos curvados, largos y menos finos; b) cuchillas en forma semilunar.

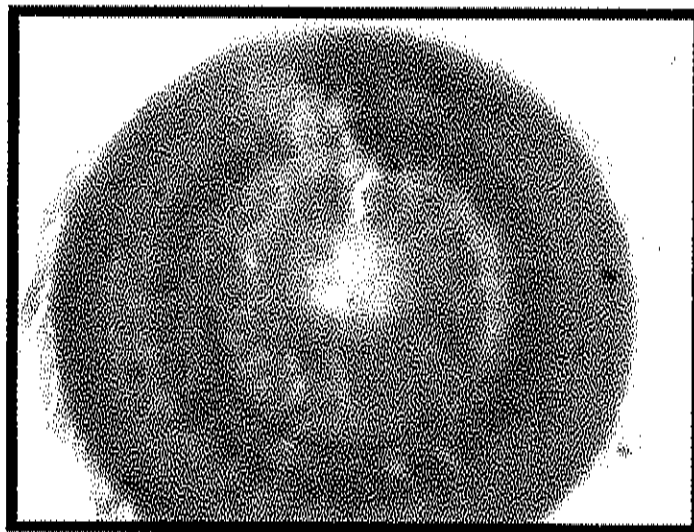


Fig. 18. Macronúcleo de *Trichodina magna* (600 X).

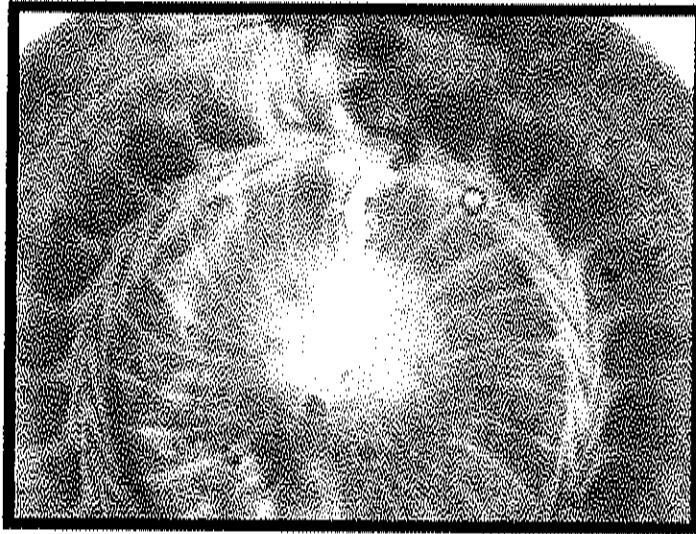


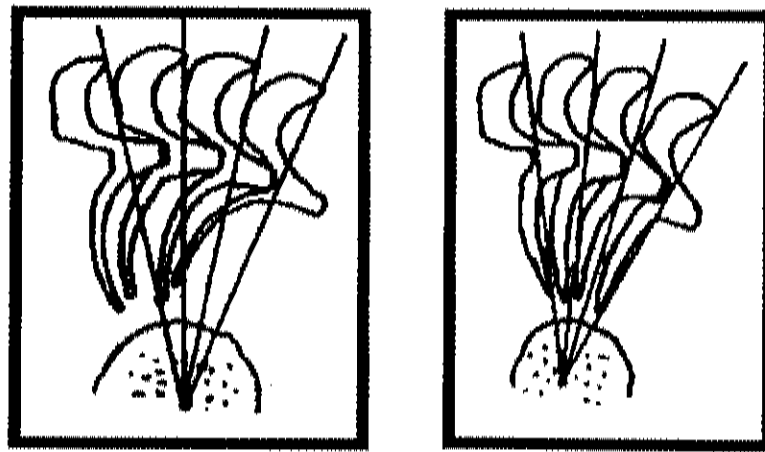
Fig.19. Macronúcleo de *Trichodina magna* (1000 X).

Tabla. 3. Datos merísticos para *Trichodina magna* Van As y Basson, 1989.

<b>Autor</b>	<b>Van As y Basson (1989)</b>	<b>Presente trabajo (2002)</b>
<b>Hospedero</b>	<i>T. rendalli swierstrae</i>	<i>Tilapia nilotica</i> variedad egipcia
<b>Localización</b>	Piel y aletas	Piel y aletas
<b>Localidad</b>	Sur de África	Sinaloa, México
<b>Diámetro del disco adhesivo</b>	59.7-94.8 (81.7 ± 8.2, 22)	73-95 (87.43 ± 4.51, 35)
<b>Diámetro del anillo denticular</b>	35.6-57.5 (50.0 ± 4.8, 22)	43-56.6 (49.60 ± 3.72, 35)
<b>No. de denticulos</b>	24-27 (25, 22)	24-28 (26, 35)
<b>Estriaciones radiales/ denticulo</b>	10-13 (11, 22)	9-14 (11, 35)
<b>Longitud del denticulo</b>	7.4-13.6 (10.9 ± 1.4, 22)	9.8 - 15.5 (12.9 ± 1.4, 35)
<b>Longitud de la cuchilla</b>	6.0-10.9 (8.6 ± 0.8, 22)	6.7-10 (8.56 ± 0.82, 35)
<b>Longitud del rayo</b>	7.7-16.0 (13 ± 1.7, 22)	10-17 (13.25 ± 1.72, 35)
<b>Ancho de la parte central del denticulo</b>	3.7-7.4 (5.6 ± 0.9, 22)	4.5-6.7 (4.82 ± 0.89, 35)
<b>Diámetro exterior del macronucleo</b>	47.2-82.1 (62.2 ± 9.2, 12)	52-74 (63.9 ± 4.8, 11)

## Morfología del denticulo

Cuchilla estrecha, en forma de hoz. Superficie distal encorvada. Punto tangente un poco más abajo que el punto distal. Parte dentada del margen posterior formando una curva semilunar profunda con un punto más hondo en medio de la curva. Margen anterior redondeado con el ápice ligeramente aplanado situado más bajo que el punto más profundo del margen posterior. Conexión delicada entre la cuchilla y la parte central. Parte central robusta, extendiéndose más allá de la mitad del eje  $y$ . El punto de la parte central en estrecha asociación con el siguiente denticulo. Conexión delgada entre la parte central y el rayo. Apófisis del rayo no prominente. Pequeña indentación de la parte central del denticulo precediendo a la apófisis del rayo. Forma de la parte central arriba del eje  $x$  similar a la sección de abajo. Rayo delgado, anteriormente afilado a punta redondeada. Rayo dirigido anteriormente, extendiéndose después del eje  $y+1$ . Punto del eje  $y+1$  cruzando aproximadamente a la mitad de la longitud del rayo (Fig. 20).



a



b

Fig. 20. Comparación diagramática de la morfología de los denticulos finos y mas gruesos de: a) *Trichodina magna* hallada en *Tilapia nilotica* variedad egipcia; b) *T. magna* hallada en *Tilapia rendalli* del Sur de África (Van As y Basson, 1989).

*Trichodina nigra* Lom, 1961.

**Descripción:** Especie de talla mediana. Su disco adhesivo es cóncavo y de gran tamaño. Se observa una fuerte impregnación argéntica de la zona central cuyo centro es finamente granular. Las cuchillas son truncadas y los rayos grandes y distinguibles más largos que las cuchillas. Las cuchillas son encorvadas con el extremo redondeado y más largas que anchas, terminando en punta redondeada. Los rayos son finos ligeramente contraídos y con terminación lisa, no afilada y se dirigen geométricamente al centro formando un eje central visible. Se encontraron variaciones en el grosor de los rayos (Fig. 21 y 22); El aparato nuclear se observa en la Figura 23. Los datos merísticos se registran en la Tabla 4.

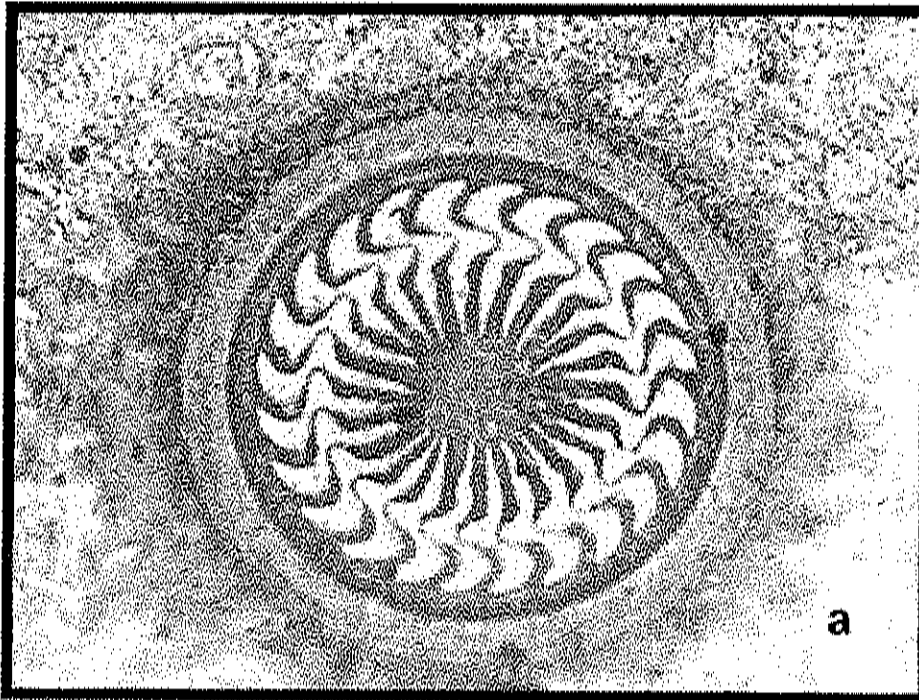


Fig.21. Vista superior de *Trichodina nigra* (600 X) con extremos de las cuchillas ligeramente más redondeadas y los rayos ligeramente más cortos.



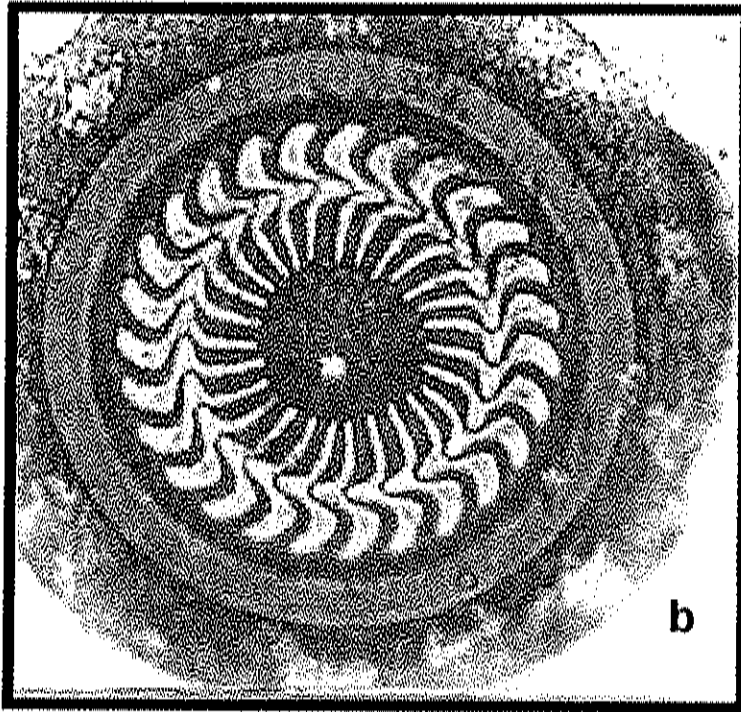


Fig. 22. Vista superior de *Trichodina nigra* (600X) caracterizada por rayos finos.

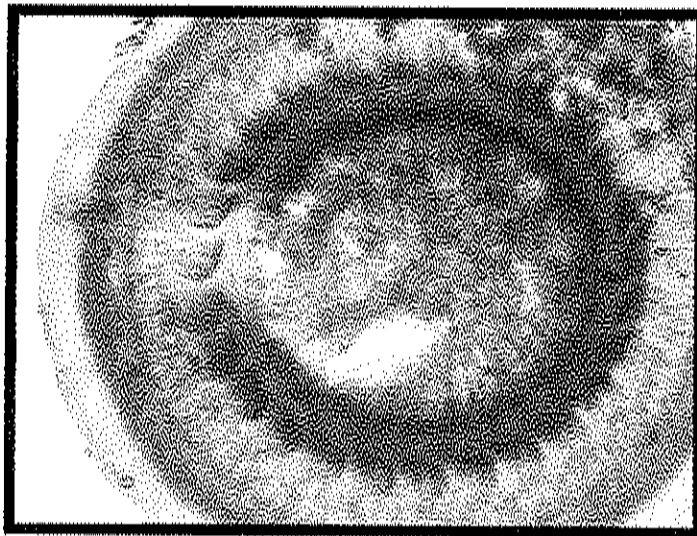


Fig. 23. Macronúcleo de *Trichodina nigra* (1000 X).

Tabla 4. Datos merísticos de *Trichodina nigra* Lom, 1961.

### Morfología del denticulo.

Cuchilla ancha en forma de hoz, curvada bajo la superficie distal no distinguible desde el margen anterior. Punto tangente desde afilado a redondeado situado más abajo que la superficie distal. Margen anterior desbordado hacia abajo a afiladamente redondeado, extendiéndose más allá del eje y +1. Proyección anterior presente; pero no es claramente distinguible. Margen posterior formando una curva muy pronunciada con el punto más pronunciado en la parte media bajo la mitad de la curva en algún nivel del ápice. La conexión de la cuchilla es delgada. Proyección posterior presente; pero no prominente. Parte central robusta, terminando en punta afilada fuertemente en el denticulo anterior, muesca opuesta a la apófisis del rayo. Parte central menos extendida que a la mitad del eje y. Sección arriba y abajo del eje x similares en forma. Conexión del rayo corta y gruesa. Apófisis del rayo corta y ancha dirigida anteriormente. La base del rayo ancha con la punta del rayo afiladamente redondeada. Rayos derechos siguiendo al eje y (Fig. 24).

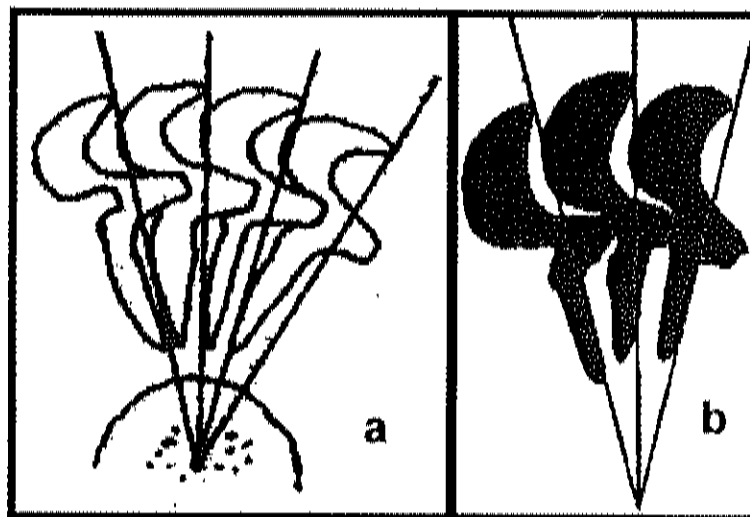


Fig. 24. Comparación diagramática de la morfología de los denticulos de: a) *Trichodina nigra* hallados en *Tilapia nilotica* variedad egipcia y b) *Trichodina nigra* de *Cyprinus carpio* (Van As y Basson, 1989).

### 6.1.1. Correlación digital de imágenes.

Con las cuatro diferentes especies de tricodinidos identificados se formó una colección de 350 láminas y mediante un CCD, conectado al microscopio, se obtuvieron 134 imágenes a color para formar el banco de datos, de 256 X 256 píxeles y se almacenaron para su posterior análisis. Cada imagen se descompuso en tres canales (rojo, verde y azul, RGB).

El proceso de correlación digital se llevó a cabo para cada una de las imágenes, con filtros de fase, repitiéndose esta operación para cada canal. En las siguientes gráficas se muestra el resultado del promedio de los valores de correlación de las 134 imágenes procesadas para cada canal R, G, B, y la multiplicación de ellos.

En la figura 25 el valor de correlación para *Trichodina pediculus* en el canal rojo fue  $0.077 \pm 0.03$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro de 97.22 %; en el canal verde (Fig. 26) el valor de correlación fue de  $0.108 \pm 0.025$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro de 83.33%; en el canal azul (Fig. 27) el valor de correlación fue de  $0.132 \pm 0.025$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro de 75.67%. En la multiplicación de los tres canales (Fig. 28), el valor de correlación fue de  $0.0032 \pm 0.0022$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro de 100%.

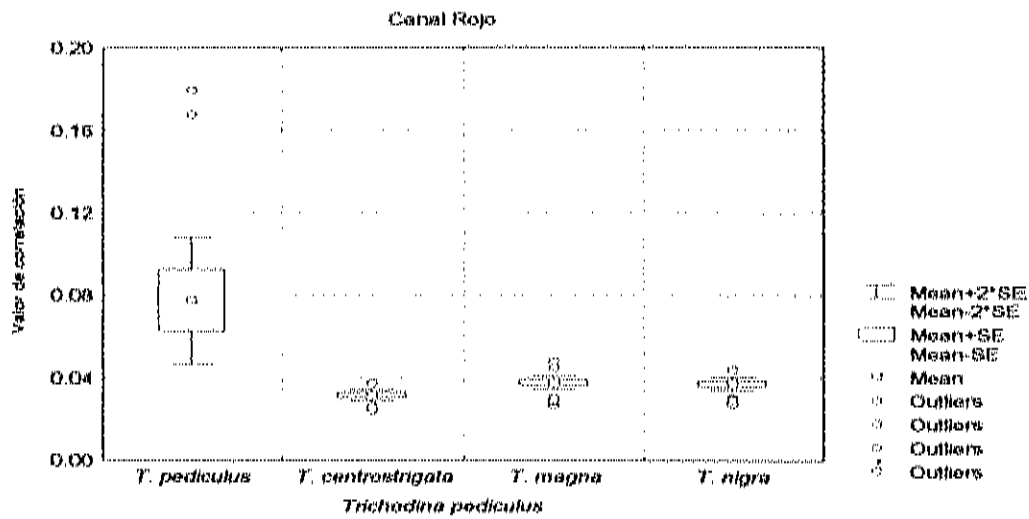


Fig. 25. Correlación, en el canal rojo, de las imágenes de *Trichodina pediculus* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 97.22%.

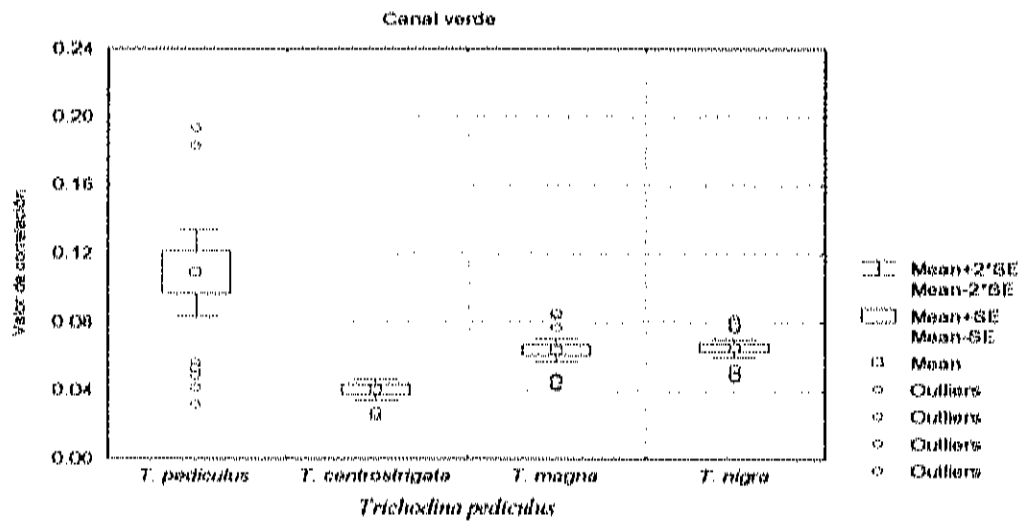


Fig. 26. Correlación, en el canal verde, de las imágenes de *Trichodina pediculus* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 83.33%.

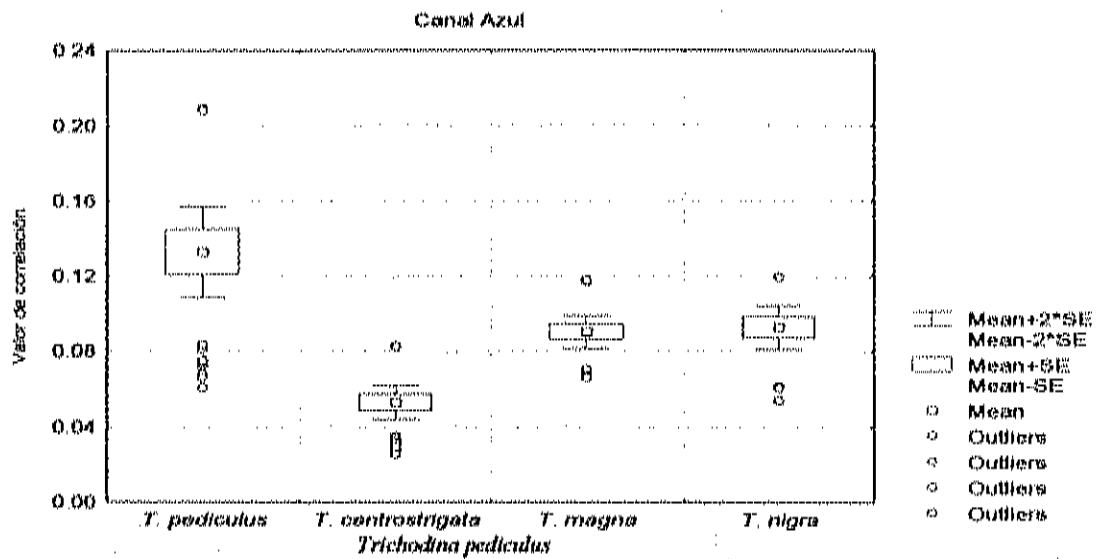


Fig. 27. Correlación, en el canal azul, de las imágenes de *Trichodina pediculus* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 75.67%.

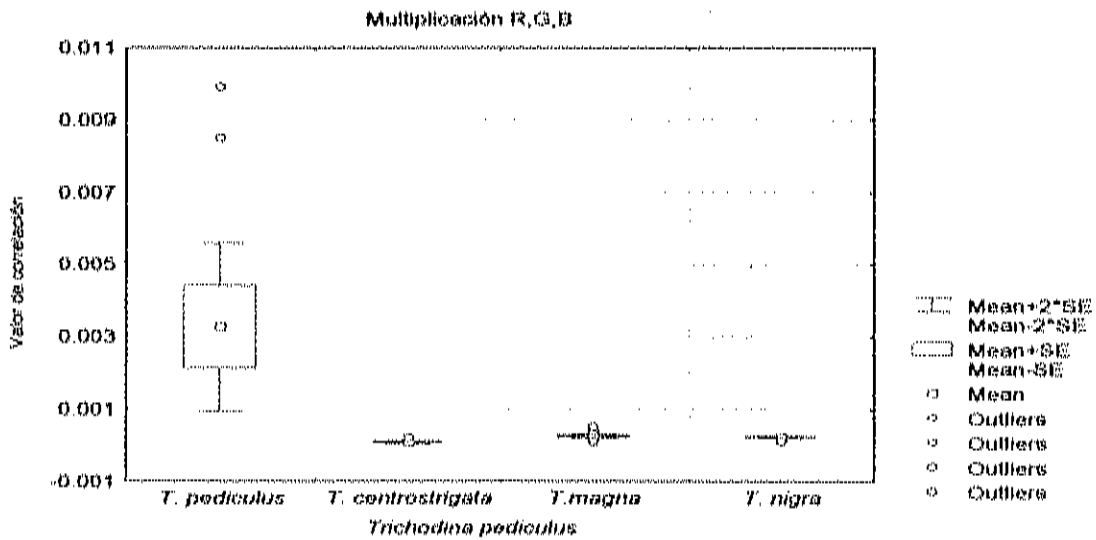


Fig. 28. Resultado de la multiplicación de los valores de correlación para cada canal (RGB) de las imágenes de *Trichodina pediculus* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 100%.

En la figura 29 el valor de correlación para *Trichodina centrostrigata* fue de  $0.089 \pm 0.035$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro de 93.33%, para el canal rojo; en el canal verde (Fig. 30) el valor de correlación fue de  $0.09 \pm 0.003$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro de 84.84%; en el canal azul (Fig. 31) el valor de correlación fue de  $0.10 \pm 0.03$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro 75.67%. En la multiplicación de los tres canales (Fig. 32) el valor de correlación fue de  $0.0003 \pm 0.0025$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 100 %.

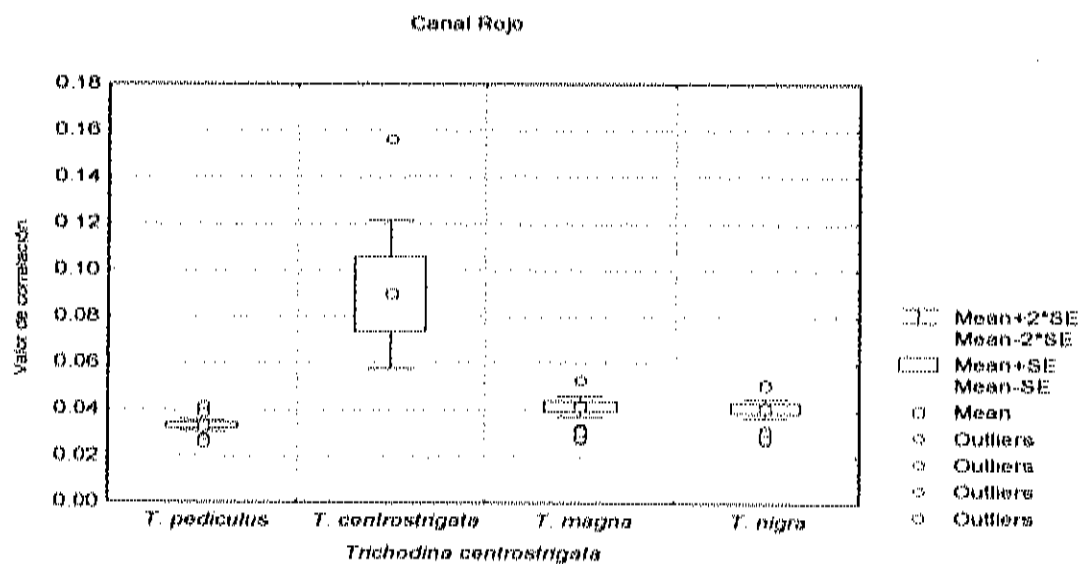


Fig. 29. Correlación, en el canal rojo, de las imágenes de *Trichodina centrostrigata* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 93.33%.

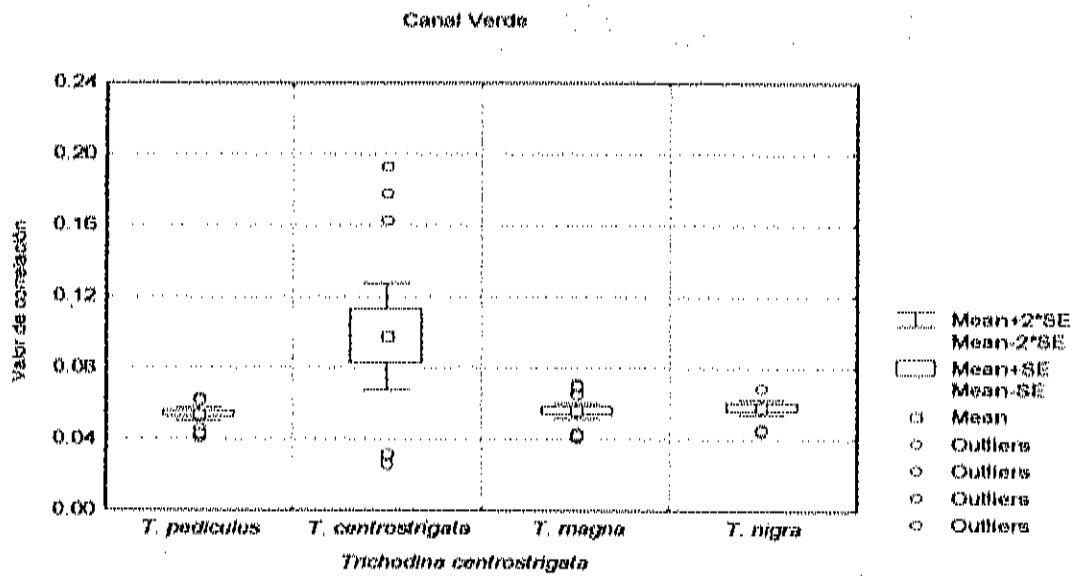


Fig. 30. Correlación, en el canal verde, de las imágenes de *Trichodina centrostrigata* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 84.84%.

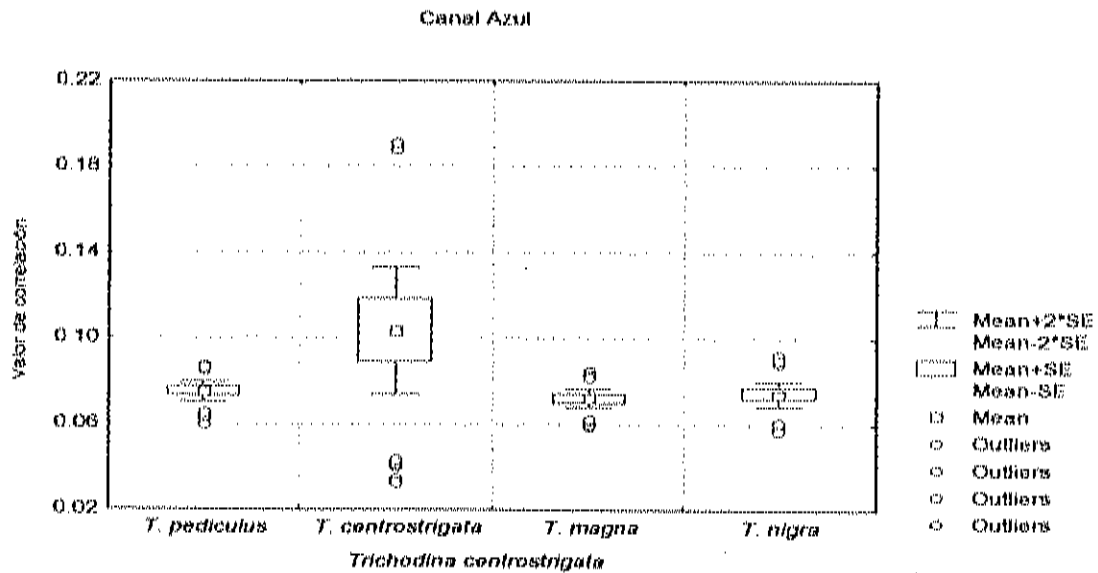


Fig. 31. Correlación, en el canal azul, de las imágenes de *Trichodina centrostrigata* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 75.67%.



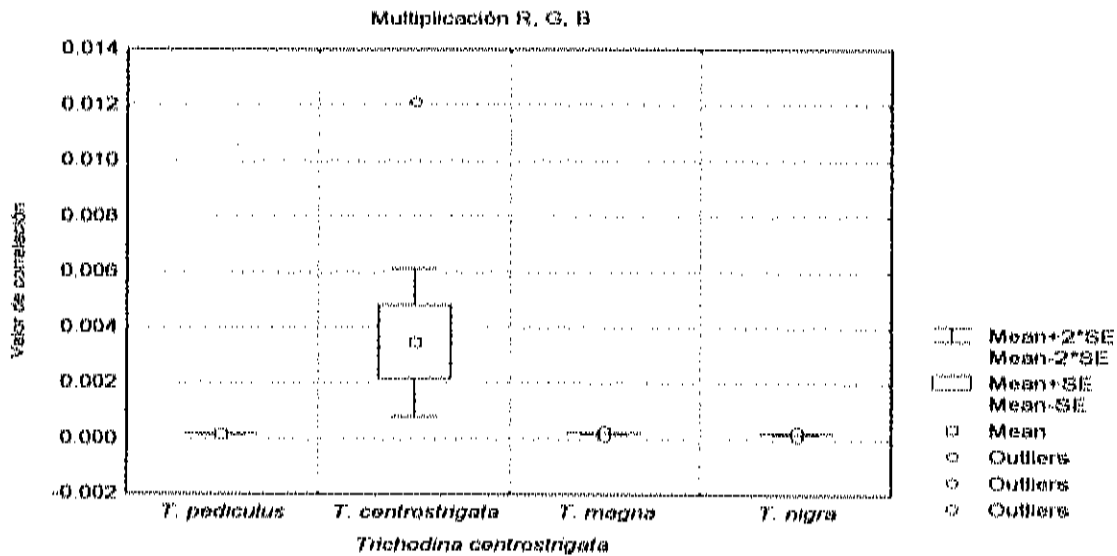


Fig. 32. Resultado de la multiplicación de los valores de correlación para cada canal (RGB) de las imágenes de *Trichodina centrostrigata* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 100%.

En la figura 33 para *Trichodina magna* el valor de correlación fue de  $0.095 \pm 0.03$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 85.7% para el canal rojo; en el canal verde (Fig. 34), el valor de correlación fue de  $0.121 \pm 0.025$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 77.00%; en el canal azul (Fig. 35), el valor de correlación fue de  $0.121 \pm 0.025$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 82.85%. En la multiplicación de los tres canales (Fig. 36) el valor de correlación fue de  $0.003 \pm 0.002$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 100%.

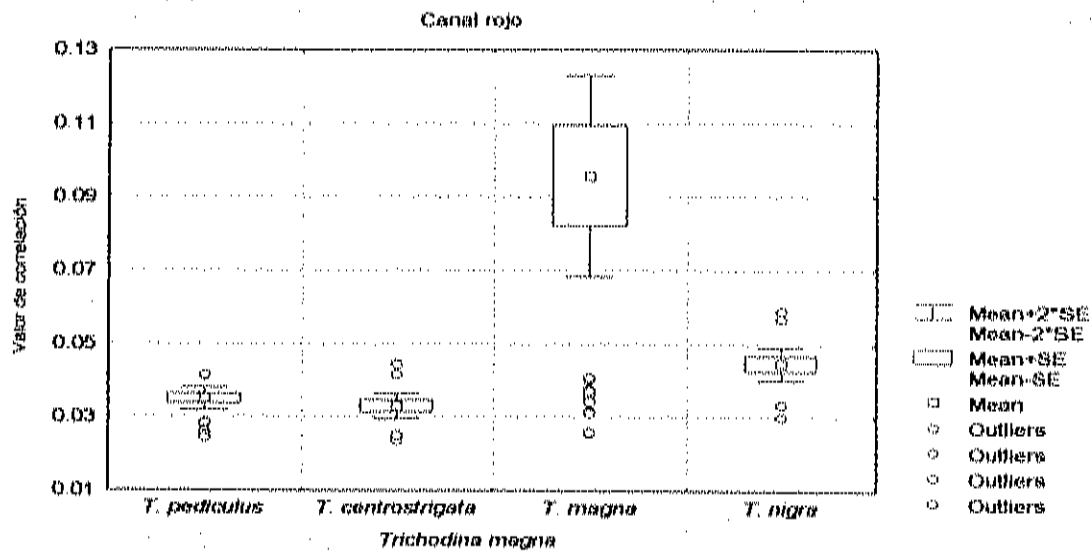


Fig. 33. Correlación, en el canal rojo, de las imágenes de *Trichodina magna* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 85.7%.

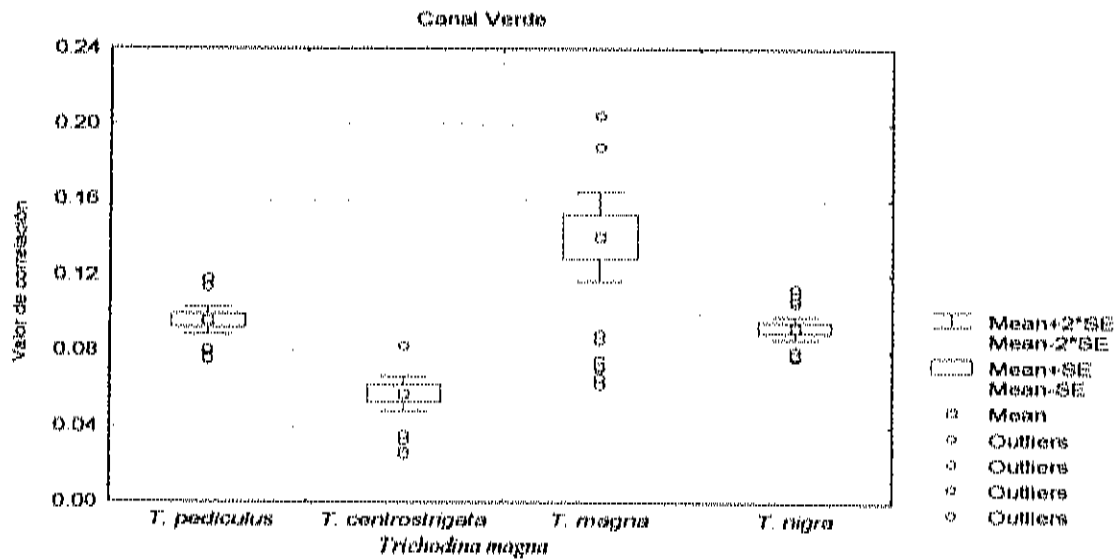


Fig. 34. Correlación, en el canal verde, de las imágenes de *Trichodina magna* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 77.00%.

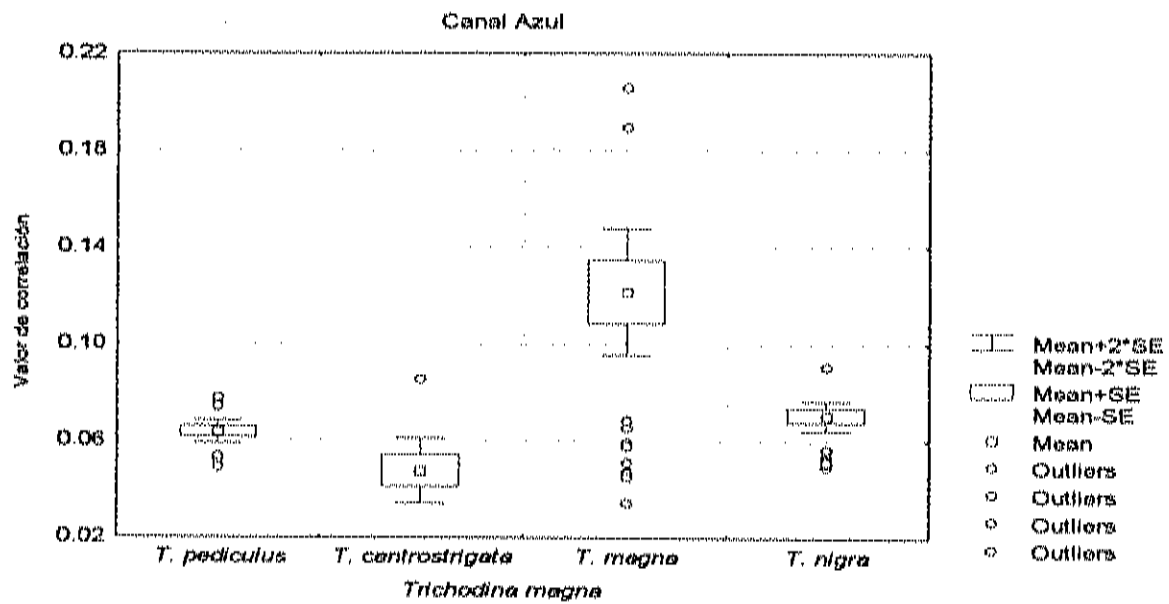


Fig. 35. Correlación, en el canal azul, de las imágenes de *Trichodina magna* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 82.85%

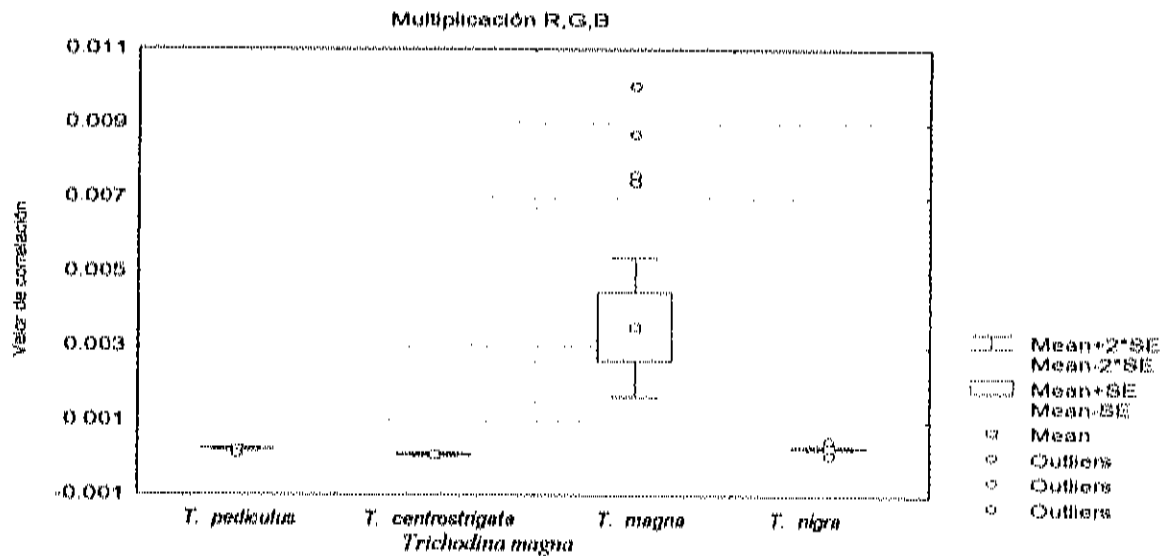


Fig. 36. Resultado de la multiplicación de los valores de correlación para cada canal (RGB) de las imágenes de *Trichodina magna* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 100%.

En la figuras 37 para *Trichodina nigra* el valor de correlación fue de  $0.09 \pm 0.03$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 90.9% para el canal rojo; en el canal verde (Fig. 38) el valor de correlación fue de  $0.117 \pm 0.03$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 82.85%; en el canal azul (Fig. 39), el valor de correlación fue de  $0.141 \pm 0.025$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 77.14%. En la multiplicación de los tres canales (Fig. 40) el valor de correlación fue de  $0.003 \pm 0.002$ , con una probabilidad de reconocimiento del filtro del 100%.

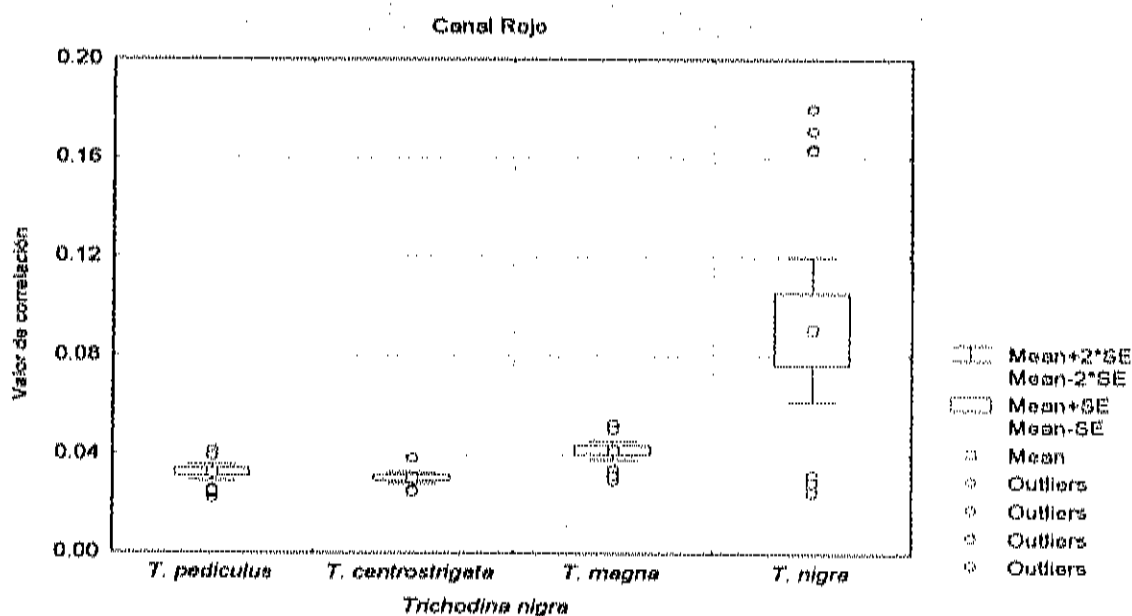


Fig. 37. Correlación, en el canal rojo, de las imágenes de *Trichodina nigra* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 90.9%.

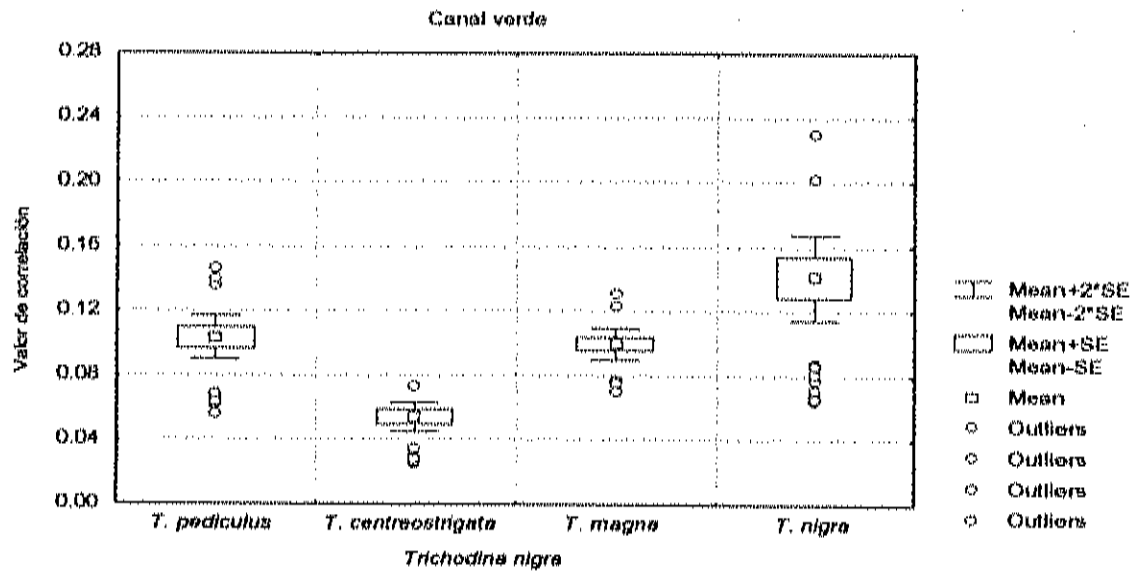


Fig. 38. Correlación, en el canal verde, de las imágenes de *Trichodina nigra* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 82.85%.

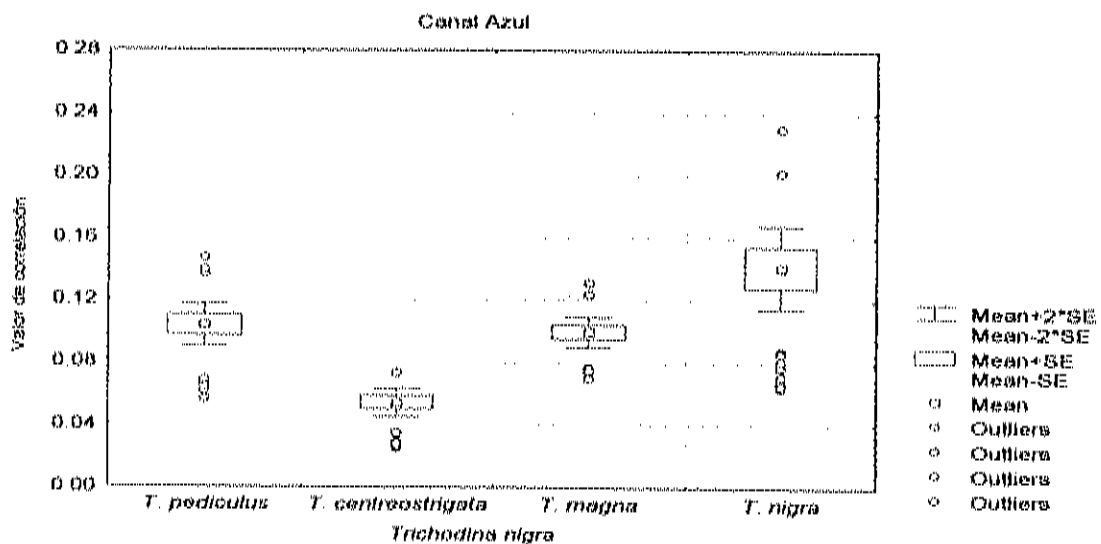


Fig. 39. Correlación, en el canal azul, de las imágenes de *Trichodina nigra* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 77.14%.

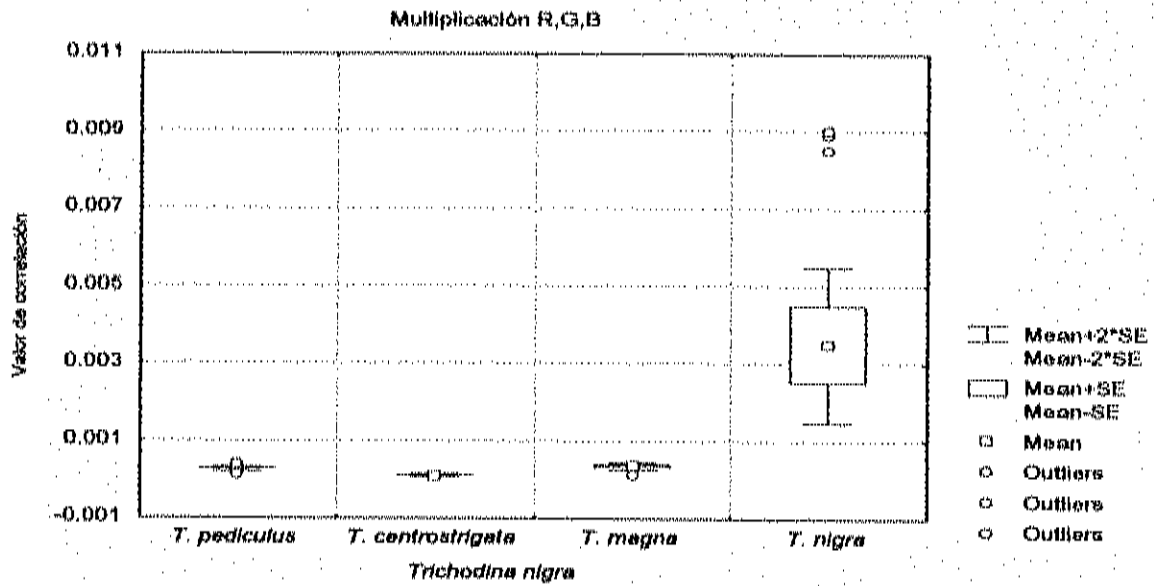


Fig. 40. Resultado de la multiplicación de los valores de correlación para cada canal (RGB) de las imágenes de *Trichodina nigra* donde la probabilidad de reconocimiento del filtro para esta especie es de 100%.

## 7. DISCUSIÓN

*Trichodina pediculus* fue descrita como *Cyclidium pediculus* Mueller, 1786 para una especie de *Hydra* (Raabe, 1959); redescrita para el mismo hospedero por Ehrenberg (1838) y examinada en mayor detalle para *Hydra fusca* y *H. viridus* por Clark (1866); mientras que (Quennerstedt, 1869) y Wallengren (1897) la encontraron en diferentes especies de peces no identificados.

Este ectocomensal de la *Hydra* de agua dulce de Europa, Asia y Norte de América; invade comúnmente larvas y adultos de muchas especies de ciprinidos (Kazubski, 1965; Kulemina, 1968; Lom, 1970); y otras especies de agua dulce Wellborn, 1967; Kazubski y Migala 1968; Ergens y Lom, 1970; Basson *et al.*, 1983 y Arthur y Lom 1984). Sin embargo, su determinación taxonómica creó una gran confusión referente a si esta especie de tricodinido hallado en peces era la misma *T. pediculus* originalmente descrita para *Hydra*. También Kazubski (1981) dudó de la validez de las identificaciones de *T. pediculus* hallada en peces de sur de África y señaló los peligros de igualar la fauna de África con las especies de Europa; por lo cual Van As y Basson (1989) hacen una revisión del material colectado del sur de África, Israel y Taiwán; confirman algunas especies y describen nuevas.

En el presente estudio se halló gran número de *T. pediculus* parasitando la piel y aletas de *Tilapia nilotica* variedad egipcia; cuya comparación morfológica del esqueleto del disco adhesivo con otros autores coincide en la morfología de los denticulos, su número e impregnación argéntica del área central. Las variaciones precisas de los elementos denticulares (Van As y Basson, 1989) de *T. pediculus* aislada de *T. nilotica* variedad egipcia no presentan los rayos dirigidos anteriormente y no se extienden más allá del eje y + 1 a diferencia de las observaciones de Basson *et al.* (1983). Sin embargo

muestran los rayos orientados posteriormente correspondiéndose con la descripción de Arthur y Lom (1984).

El análisis merístico comparativo del esqueleto del disco adhesivo (Tabla1) muestra la semejanza de *T. pediculus* procedente de *T. nilotica* variedad egipcia con los organismos reportados por Basson *et al.* (1983) para *Tilapia aurea* en *Hypophthalmichthys molitrix* de Israel y por Fajer (1987) para *Oreochromis aureus* de Cuba; con ligeras variaciones en el número de denticulos y dimensiones menores en la longitud del rayo. Organismos de tallas superiores a nuestros hallazgos se observaron para *T. pediculus* de *T. rendalli* procedente del sur de África, cuyos denticulos tienen cuchillas y rayos menores. Estas observaciones se corresponden con las diferencias detectadas por Basson *et al.* (1983) para el material identificado como *T. pediculus* en África e Israel.

Diversas investigaciones revelaron diferencias (Basson *et al.* 1983; Van As y Basson, 1994; Gaze y Wootten, 1998) visibles y claras entre *T. pediculus* de otras áreas geográficas y hospederos para esta especie. En la preparación con Hematoxilina de Harris de nuestro material los rayos teñidos aparecen muy delgados y delicados. En las preparaciones impregnadas de nitrato de plata, se observa ancho en la base, ligeramente más ancho encima de la base y posteriormente termina en una punta aguda, como estilete. Las diferencias en los efectos obtenidos en los dos métodos son muy evidentes debido a que las puntas son poco anchas en el plano del disco adhesivo y muy delgados en la dirección del cuerpo dorsal ventral y con la tinción de Hematoxilina de Harris impregnan la parte mas gruesa axial de la punta. La morfología de los denticulos es notable por lo corto, ancho y curvado de sus cuchillas, casi formando una curva al ápice del margen anterior, característica distintiva de *T. pediculus*: rayos estrechos y más largos que la cuchilla. No existen registros de *T. pediculus* para *Tilapia nilotica*; luego su



identificación se convierte en un nuevo registro de hospedero y localidad geográfica.

*T. centrostrigata* posee una característica muy vistosa en el centro del disco adhesivo; consistente en unas espinas denominadas varillas que facilitan su identificación, su tamaño es mediano y sus cuchillas tienen forma triangular. Es originaria del sur de África e Israel, y fue descrita por Basson *et al.* (1983) en ciclidos y ciprinidos. También fue hallada en *Oreochromis niloticus* en el Delta del Nilo por El-Tantawy y Kazubsky (1986) y en el este del Caprivi por Van As y Basson (1992); lo cual confirma su naturaleza endémica de África. Esta especie parásita fue introducida en Taiwán mediante el traslado de peces (Basson y Van As, 1994). *T. centrostrigata* también ha sido registrada para *O. niloticus* en las Filipinas por Natividad *et al.* (1986) y por Fajer *et al.* (1997) en Cuba para *O. aureus*. La morfología de los especímenes hallados en este estudio coinciden con el material de Basson *et al.* (1983) y muestran rasgos similares en talla a las registradas por Basson y Van As (1994) para *O. mossambicus* procedente de Taiwán y superiores a los reportados por Fajer *et al.*, (1997) para *O. aureus* (Tabla 2).

*Trichodina magna* es un tricodínido que se distingue por grandes denticulos, rayos curvados y diámetro del disco adhesivo superior a 80 micrones (Van As y Basson, 1989). Estos parásitos han sido registrados principalmente en ciclidos africanos y otros peces indígenas de varias localidades, incluido el Caprivi del este; localidad que no ha sido muy influenciada por alguna introducción de peces del exterior de África. Las características de los denticulos de *T. magna* en *T. nilotica* variedad egipcia tales como forma del rayo, conexión del rayo y la cuchilla con la parte central, y orientaciones del rayo, se corresponden con las descripciones de Basson *et al.* (1989); pero difieren en la menor prominencia observada en el ápice del rayo. El análisis merístico comparativo muestra organismos de talla superiores; pero con

diámetro del anillo denticular y dimensiones de los denticulos semejantes. Su presencia en *Tilapia nilotica* en México constituye un nuevo registro de hospedero y localidad geográfica (Tabla 3).

*Tricodina nigra* es probablemente el tricodínido más reportado contando con al menos 36 registros en la literatura (Basson y Van As, 1994). Este parásito fue descrito para varios ciprínidos, *Perca fluviatilis* y varias especies indeterminadas de renacuajos en Checoslovaquia (Lom, 1961; Hoffman, 1974). Arthur y Lom (1984) la encontraron en las branquias de *Lepomis macrochirus* en el este de los Estados Unidos, aunque concluyeron que es un tricodínido típico de la piel, lo encontraron en escaso número sobre las branquias de ciprínidos.

La variabilidad en la morfología de los denticulos y en las dimensiones de *T. nigra* dió lugar a la designación inicial de varias subespecies; lo cual fue considerado posteriormente obsoleto y se estableció el taxón *T. nigra* sensu stricto para *T. nigra nigra* Lom, 1961 y el resto de las subespecies fueron elevadas a la categoría de especie por Arthur y Lom (1984). Siete poblaciones de la especie *Trichodina nigra* fueron encontradas en la piel de *Cyprinus carpio*, *Salmo trutta* y *Orcorhynchus mykiss* mostrando considerables variaciones inter e intrapoblacionales (Gaze y Wooten, 1998).

La morfología de los especímenes observados en este estudio coinciden con las descripciones de Basson y Van As (1994) y Gaze y Wooten (1998) para *Carassius auratus* y *Cyprinus carpio*; detectándose en algunos organismos rayos finos y en otros más gruesos, aspecto característico de los individuos más viejos según los criterios de Kasubski y Migala (1968). Las cuchillas de los especímenes estudiados son siempre mayores que los rayos a diferencia de la igualdad referida por Wellborn (1967) para *T. nigra* de los Estados Unidos y con las observaciones de Basson *et al* (1983).

Los organismos hallados en este estudio están caracterizados por denticulos masivos con cuchillas anchas curvadas, otras son más redondeadas, algunos especímenes despliegan una curva continua en su interior y otros una superficie distal bien definida. Los rayos de los denticulos son generalmente más grandes que las cuchillas y terminan en punta redondeada.

*T. nigra* hallada en el presente estudio posee características similares a las descritas por Basson y Van As (1994) para esta especie de tricodínido. Este autor en la descripción de los denticulos de *Tricodina nigra* refiere la presencia de una cuchilla ancha en forma de hoz, una base del rayo gruesa y ancha que termina en punta afiladamente redondeada y rayos derechos siguiendo el eje y; coincidiendo con nuestras observaciones. La morfometría comparativa muestra organismos con diámetro del disco adhesivo semejantes a *T. nigra* hallada en *C. carpio* por los autores previamente citados; pero los rayos poseen longitudes menores. Sin embargo esta característica coincide con las referidas por Gaze y Wootten (1998) para *Salmo trutta* (Tabla 4).

El estudio realizado por Gaze y Wootten (1998) en *Cyprinus carpio*, *Salmo trutta* y *Oncorhynchus mykiss*, muestra que las diferentes variaciones morfológicas para *T. nigra* en la primer especie de pez son más significativas en las puntas redondeadas, mientras que las cuchillas y radios denticulares son idénticos y los rayos son más cortos. En *Salmo trutta* son similares; pero puede haber una variación leve en el número medio de denticulos, los cuales son más cortos, a veces en forma de codos en el margen bajo anterior. Estos especímenes son muy grandes; pero fueron muestreados en noviembre donde la temperatura del agua es muy baja, algunos presentan semejanza. *T. nigra* descrita en este estudio tiene un alto gradiente de variabilidad

morfológica, razón por la cual, es uno de los especímenes más difíciles para identificar dentro del género. Los resultados permitieron consignar por primera vez en México a *Trichodina nigra* para la piel y aletas de *Oreochromis nilotica* variedad egipcia.

Basados en esta evidencia taxonómica para las cuatro especies, el algoritmo de decisión sobre la presencia del tricodínido se hizo considerando como positivas aquellas muestras que en la gráfica no muestran traslape en la especie a identificar. De acuerdo a este algoritmo se evaluaron todas las escenas. En los trabajos realizados (Millán *et al.* , 1989, 1991, 1992, 1995; Kober *et al.*, 1997) por el grupo de la Universidad Autónoma de Barcelona, el algoritmo de reconocimiento de un objeto de color se realiza mediante la suma aritmética o lógica de los máximos en cada canal. Es decir, que se consideró identificado un objeto cuando los máximos valores de correlación coincidieron en los tres canales y se destacaron aquellos objetos que sólo presentaban picos de correlación en cada uno de ellos.

Las diferencias del algoritmo propuesto en este trabajo, con los realizados antes se debe a que la correlación invariante se realiza con filtros compuestos que tienen la información de la invariancia a posición, rotación y escala; y por otro lado a que se está llevando a cabo una correlación invariante de fase extrema, la cual consiste en una correlación con filtros compuestos sólo de fase con únicamente la fase de la imagen del parásito a reconocer. El algoritmo desarrollado en este trabajo no ha sido utilizado en otros trabajos.

El reconocimiento de un objeto depende de analizar cada uno de los componentes monocromáticos en los tres canales RGB, multiplicándose la información de los componentes monocromáticos en los tres canales y obteniéndose un solo resultado. Por lo tanto, para establecer el algoritmo

idóneo primero se debe hacer un análisis del contenido de los canales del objeto a identificar. En este trabajo los tres canales brindaron información para la discriminación entre objetos.

En las figuras 26-30 los valores de correlación en los tres canales presentan un pequeño porcentaje de traslape. Sin embargo en la multiplicación de los tres canales se obtiene la identificación con un 100% de confiabilidad. Así que la eficiencia del sistema de correlación mediante filtros compuestos para el reconocimiento de tricodínidos se basa en la multiplicación del resultado de la correlación invariante de los tres canales. Esto es debido a que los valores que coinciden en los tres canales (los cuales dan lugar al reconocimiento de una especie) al multiplicar serán valores más altos que los demás y los valores pequeños al multiplicarse darán valores más pequeños.

Un aspecto importante es que el sistema es confiable, si se considera esto como la capacidad que tiene una prueba o método para repetir una medición en circunstancias similares con la mínima variación. Se puede afirmar que cualquier observador por experto que sea puede obtener diferentes resultados al presentarle después de un tiempo una misma escena, esto puede ser resultado de cansancio o cualquier otra causa de carácter humano. La ventaja de la correlación con filtros compuestos es que para un mínimo conjunto de imágenes se tendrán siempre el mismo resultado y esto no variará independientemente del número de imágenes que se evalúen.

Al utilizar la correlación invariante a posición, escala y rotación en la identificación de tricodínidos el resultado siempre será el mismo aunque algunos organismos de tricodínidos varíen en tamaño o estén rotados en el plano en el que se tome la imagen. Debido a la variabilidad morfológica que representan estos organismos fue necesario la realización de filtros compuestos que tienen la capacidad de tener la información de las

diferencias morfológicas entre ellas. El reconocimiento de una imagen se realiza en alrededor de 8 segundos en una Pentium III modelo 1700. El filtro compuesto se obtuvo a través de 10 diferentes imágenes. Estas 10 son solo una muestra tomada de un universo y el patrón de difracción resultante de la suma de los patrones de difracción de cada una de ellos muestra que la información de frecuencias cubre todos los ángulos posibles, por eso se llega a la conclusión de que diez imágenes son suficientes. La morfología de las especies varía intra-específicamente y por lo tanto es muy difícil diferenciar entre ellas, sobre todo en lo que respecta a los denticulos pues aún en la misma especie varían considerablemente, ya sea por la distribución geográfica o el hospedero que parasiten. Algunos son de denticulos más delgados y otros mas gruesos, pero con los filtros compuestos solo de fase, los resultados indican que cuando los patrones de difracción de la especie a reconocer son correlacionados con los patrones de difracción que forman al filtro compuesto esta metodología trabaja satisfactoriamente. Y esto se debe, además, a que dentro del proceso se aplica un filtro parabólico que permite realzar los detalles finos de la imagen a identificar al atenuar las bajas frecuencias y realzar las altas frecuencias.

La utilización de este sistema es sencillo y tiene requerimientos mínimos de equipo de computo y de una cámara CCD a color.

El sistema de filtros compuestos es una herramienta útil para la identificación de protozoos independientemente de su forma, tamaño y posición.

## 8. CONCLUSIONES

Se identificaron 4 especies de tricodínidos ectoparásitos de piel y aletas: *Trichodina pediculus*, *Trichodina centrostrigata*, *Trichodina magna* y *Trichodina nigra*.

Se consignó un nuevo hospedero: *Tilapia nilotica* y se le asignó una nueva localidad geográfica: México a *T. pediculus*, *T. magna* y *T. nigra*.

Se le asigna una nueva localidad geográfica: México a *Trichodina centrostrigata*; ya identificada para *T. nilotica* del sur de África.

El empleo de los dibujos diagramáticos propuestos por Van As y Basson (1989) son útiles en la determinación de la morfología de los denticulos de los tricodínidos de alta variabilidad intraespecífica.

Se desarrolló un algoritmo matemático que permitió reconocer las diferentes especies de tricodínidos.

El tiempo de identificación de tricodínidos por medio de la correlación digital de imágenes fue de 8 segundos para cada imagen.

La técnica de correlación digital invariante identificó tricodínidos independientemente de la escala, rotación y posición.

La probabilidad de confianza de reconocimiento del método de correlación digital invariante, después de multiplicarse el resultado en los tres canales, fue de 100%, lo que nos indica que tiene una total probabilidad de no errar en las identificaciones.

La aplicación del método de correlación invariante utilizando filtros compuestos es una técnica novedosa en la determinación de tricodínidos.



## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbe, E. (1873). *Archiv. Mikroskopische Anat.* 9, 413 pp.
- Almeida, S. P., Del Bailizo, D., Cairns J., Dickson, K. and Lanza, G. (1972). Holographic microscopy of diatoms. *Trans. Kans. Acad. Sci.* 74: 257-260.
- Almeida, S. P., Lu, J. K. T., Lai, P. F., Cairns, Jr. J. and Dickson, K. L. (1976). Applications of holography and optical data processing. In: E. Maronm, A. A Friesem y E. Wiener-Aunear Eds. Pergamon Press, 573 pp.
- Almeida, S. P., Case, S. K., Fournier, J. M., Fujii, H., Cairns, J. Jr., Dickson, K. L. and Pryfogle, P. (1978). Analysis of algae samples using coherent optical processing. *Proceeding of ICO-11 Conference.* Madrid España, 351-54 pp.
- Álvarez-Borrego, J. and Castro-Longoria, E. (2001). "Discrimination between *Acartia* (Copepoda: Calanoida) species using their diffraction pattern in a position, rotation invariant digital correlation" (Enviada a *Journal of Plankton Research*).
- Álvarez-Borrego, J. and Fajer Ávila, E. (2001). "Identification of Helminth parasites of the wild bullseye pufferfish using an invariant digital color correlation" (En preparación).
- Álvarez-Borrego, J. and Chávez Sánchez, C. (2001). "Detection of IHNV virus in shrimp tissue by digital color correlation". *Aquaculture* 194 (1-2): 1-9.

- Álvarez-Borrego, J., Mouriño-Pérez, R. R., Cristóbal-Pérez, G. and Pech-Pacheco, J. L. (2002). "Invariant recognition of polychromatic images of *Vibrio cholerae* 01". *Optical Engineering* 41(4): 827-833.
- Arfken, G. (1981). *Mathematical methods for physicists*. 3ra. Ed. Academic Press, Inc. Harcourt Brace Jovanovich. San Diego, 200 pp.
- Arsenault, H. H. (1986). Rotation invariant composite filters. In: *Nonlinear Optics and Applications*. SPIE, Vol. 613.
- Arsenault, H. H. and Sheng, Y. (1997). Method for determining expansion centers and predicting sidelobe level for circularharmonic filters. *J. Opt. Soc. Am. A.*, 4: 1793-1797.
- Arthur, J. R. and Lom, J. (1984). "Trichodina Protozoa (Ciliophora: Peritrichida) from freshwater fishes of Rybinsk Reservoir, USSR". *Journal of Protozoology*, 31: 82-91.
- Bradiqué, E., Komiya, Y., Ohyama, N., Tsujiuchi, J. and Honda, T. (1987). Color image correlation. *Optics Communications*, 61(3): 181-186.
- Basson, L., Van As, J. G. and Paperna, I. (1983). Trichodinid ectoparasites of cichlid and cyprinid fishes in South Africa and Israel. *Systematic Parasitology*, 5: 245-257.
- Basson, L. y Van As, J. G. (1993). First record of the European trichodinids (Ciliophora: Peritrichida), *Trichodina acuta* Lom, 1961 and *T. reticulata* Hirschmann and Partsch, 1955 in South Africa. *Acta Protozoologica*, 32: 101-105.

- Basson, L. and Van As, J. G. (1994). Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of wild and cultured freshwater fishes in Taiwan, with notes on their origin. *Systematic Parasitology*, 28: 197-222.
- Bondad-Reantaso, M. G. and Arthur, J. R. (1989). Trichodinids (Protozoa: Ciliophora: Peritrichida) of Nile tilapia (*Oreochromis nilotica*) in the Philippines. *Asian Fisheries Science*, 3: 27-44.
- Cairns, Jr. J., Dickson, J. K. L., Lanza, G.R., Almeida, S. P. and Del Baizo, D. (1972). Coherent optical spatial filtering of diatoms in water pollution monitoring. *Arch. Microbiol.*, 83: 141-146.
- Campos, J., Millan, M. S., Yzuel, M. J. and Ferreira, C. (1991). Colour invariant character recognition and character-background colour identification by multichannel matched filter. *SPIE 1564, Optical Information Processing Systems and Architectures III*, 189-198.
- Casasent, D. and Psaltis, D. (1976). Scale Invariant optical correlation using Mellin transforms. *Optics Communications*, 17: 59-63.
- Castro-Longoria, E., Álvarez-Borrego, J. and Pech-Pacheco, J. L. (2001). "Identification of species of calanoid copepods using a new invariant correlation algorithm". *Crustaceana* 74 (10): 1029-1039.
- Castro-Longoria, E., Álvarez-Borrego, J., Rocha-Olivarez, A., Gómez, S. and Kober, V. (2002). "The power of a multidisciplinary approach: using morphological, molecular and digital methods in the study of harpacticoid cryptic species". *Marine Ecology* (En prensa).



- Caulfield, H. J. and Maloney, W. T. (1969). Improved discrimination in optical character recognition. *Applied Optics*, 8 (11): 2350-2356.
- Cohen, L. (1993). The scale representation. *IEEE Trans. On Signal Processing*, 41: 3275-3293.
- Cohen, L. (1995). *Time-Frequency analysis*. Prentice Hall signal processing series. Alan V. Oppenheim, Series Editor, 299 pp.
- Corbalan, M., Millán, M. S., e Yzuel, M. J. (1993). Estudio de imágenes en color captadas por cámaras CCD para el reconocimiento de objetos. *Optica Pura y Aplicada*, 26: 649-655.
- Cortés, R. y Arredondo, F. (1976). Contribución al estudio inmunobiológico de la presa El Infiernillo Michoacan-Guerrero (Noviembre 1975). *Fideicomiso para el Desarrollo de Fauna Acuática*, pp 3-20.
- Cuesta Merino, J. A. (1999). Aplicación de la transformada de escala en el análisis de imágenes. Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros en Telecomunicaciones, Proyecto de fin de carrera. 25-30.
- Dobberstein, R. C. and Palm W. (2000) Trichodinid Ciliates (Petrichia; Trichodinidae) from the bay of Kiel, with description of trichodina claviformis sp.n. *Folia Parasitologica* 47: 81-90.
- Du Plessis, S. (1952). Fish diseases in Trasvaal. *Symposium on Hydrobiology and Inland Fish*, Entebee, 37: 128-130.

Duncan, B. L. (1977). Urceolarid ciliates, including three new species, from cultured Philippine fishes. *Trans. Am. Microsc. Soc.* 96: 76-81.

Ehrenberg, C. G. (1838). *Die Infusionstierchen als vollkon. Organismen.* Leipzig. (no visto)

El Tantawy, S. M. A. and Kazubski, S.L. (1986) The trichodinid ciliates from fish, *Tilapia nilotica* from the Nile Delta (Egypt). *Acta Protozoologica*, 25, 439-444.

Ergens, R. and J. Lom. (1970) *Puvodci Parazitárních Nemocí Ryb.* Academi Praha. pp. 68-75.

Fajer Ávila, E. (1987). Ciliados parásitos presentes en *Oreochromis spp.* en cultivo y su control químico. Ministerio de Educación Superior, Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias Habana Cuba, Centro de Sanidad Agropecuaria. Tesis Doctoral, pp 54-70.

Fajer Ávila, E. , Martínez, M y Silveira R. (1997). *Trichodina centrostrigata* Basson, Van As y Paperna, 1983 (Pentrichida: Trichodinidae) from *Oreochromis aurea* Steindachner, 1864 in superintensive culture, first record to Cuba. XIII Congreso Latinoamericano de Parasitología (FLAP). La Habana, Cuba, 17 al 23 de nov. p 286.

FAO (1970-1999) Fisheries Department, Fishery information data and statistic Unit. FISHSTAT Plus: Universal Software for fishery statistical time series. Version 2.3. 2000 Dataset: Aquaculture production.

- Ferreira, C., Millán, M. S., Yzuel, M. J. and Campos, J. (1992). Experimental results in color pattern recognition by multichannel matched filtering. *Optical Engineering* 31 (10): 2231-2238.
- Fitzsimmons, K. (2000). Tilapia aquaculture in México. In: B. A. Costa-Pierce and J. E. Rakocy, eds. *Tilapia Aquaculture in The Americas*. The World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, U.S. 2: 171-183
- Forero-Vargas, M., Sierra-Ballén, E. L., Álvarez-Borrego, J., Cristóbal-Pérez, G., Pech-Pacheco, J. L., Alcalá, L. and Desco, M. (2001). "Automatic sputum color image segmentation for tuberculosis diagnosis". *SPIE, Algorithms and Systems for Optical Information Processing V.*, Baharam Javidi and Demetri Psaltis, Editors, 4471: 251-261.
- Gaze, W. and Wootten, R. (1998). Ectoparasitic species of the genus *Trichodina* (Ciliophora: Peritrichida) parasitising British freshwater fish. *Folia Parasitologica*, 45: 177-190.
- Goodman, J. W. (1968). *Introduction to Fourier optics*. McGraw-Hill, New York. pp. 24-29.
- Herroz Zamorano D. (1998). *Protozoos Ciliados ectoparásitos (piel y aletas) de peces de la familia Cyprinidae cultivados en el Centro Acuícola Morelos de Zacapu, Michoacán*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias, UNAM. 214 pp.
- Hester, C. F. and Casasent, D. (1980). Multivariant technique for multiclass pattern recognition. *Applied Optics*, 19 (11): 1758-1761.

- Hine, P. M. (1977). Final report on investigation into diseases and parasites of wild and farmed eels in South Africa. Report to J. L. B. Smith Institute of Ichthyology. pp. 59-72.
- Hirschmann, H. and Partsch, K. (1955). Ein einselliger Fischparasit von uberraschender Schonheit. Umschau, 17: 525-527.
- Hoffman, G. L. and Meyer, F. P. (1974). "Parasites of Freshwater Fishes". THF, Pub. Neptune City, N. J. pp. 65-70.
- Horner, J. L. and Gianino, P. D. (1984). Phase-only matched filtering. Applied Optics, 23 (6): 812-816.
- Jackson, P. B. N. (1978). Health and disease in Intensive Aquaculture. Journal of the South African Veterinary Association, 49: 57-59.
- Jeffries, H. P., Sherman, K., Maurer, R. and Katsinis, C. (1980). Computer processing of zooplankton samples. In: Estuarine Perspectives, V. Kennedy, Ed. Academic Press, pp. 303-316.
- Jeffries, H. P., Berman, M. S., Poularikas, A. D., Katsinis, C., Melas, I., Sherman, K. and Bivinis, L. (1984). Automates sizing, counting and identification of zooplankton by pattern recognition. Marine Biology, 78: 329-334.
- Kabata, Z. (1985). Parasites and diseases of fish cultured in the tropics. Pacific Biological Station Nanaimo, British Columbia, Canada. Taylor and Francis, London and Philadelphia, pp 62-35.



- Kazubski, S. L. (1965). The development of skeletal elements in *Trichodina*. Progress in Protozoology, Abstr Second Int. Conf. Protozool., London, Excerpta Med. Int. Congr. Ser. 91: 221-222.
- Kazubski, S. L. (1967). Study on the growth of skeletal elements in *Trichodina pediculus* Ehrenbg. Acta Protozoologica 5: 37-48.
- Kazubski, S. L. and Migala, K. (1968). Urceolaridae from breeding carp *Cyprinus carpio* in Zabieniec and remarks on the season variability of trichodinids". Acta Protozoologica 6: 137-160.
- Kasubski, S. L. and Migala, K. (1974). Studies in the distinctness of *Chilodonella cyprini* (Moroff) and *Chilodonella hexasticha* (Kiernik) *Chlamyodontidae*, *Gymnostomatida*, ciliate parasites of fishes. Acta Protozoologica 13: 9-40.
- Kasubski, S. L. , Piecka-Rapacz M., K. (1981). Morphological variability of *Trichodina nigra* Lom (Ciliata: Peritrichida), a parasite of *Lucioperca lucioperca* (L.) from Szczecin Gulf. Acta Protozool. 20: 103-107.
- Kover, V. , Moreno, I. and Campos, J. (1977). Color component transformations for optical pattern recognition. J. Opt. Soc. Am. A14: 2656-2669.
- Kulemina, I.V. (1968) Parasitic ciliates (Peritricha, Uroceolaridae) from the young of several fisheries of lake Seliger. Acta Protozool. 6: 185-206.

Lamothe-Argumedo R., García Prieto L., Osorio-Sarabia D. y Pérez-Ponce G. 1996. Catálogo de la Colección Nacional de Helmintos. Eds.UNAM,México: pp 15-65.

Lázaro-Chávez Mancilla, E. (1985). Análisis patológico de las alteraciones producidas por ectoparásitos en reproductores de tilapia *Sarotherodon homorum* (Trewavas) y *Oreochromis mossambicus* (Peters). Rev. Lat. Acuic. 25: 24-30.

Leclerc, L., Sheng, Y. and Arsenault, H. (1989). Rotation invariant phase-only and binary phase-only. Applied Optics 27 (6): 1099-1256.

Leclerc, L., Sheng, Y. and Arsenault, H. (1991). Circular harmonic covariance filters for rotation invariant object recognition and discrimination. Optics Communications 85: 299-305.

Lom, J. (1958). A contribution to the systematic and morphology of endoparasite trichodinids from amphibians, with a proposal of uniform specific characteristic. Journal of Protozoology 5: 251-263.

Lom, J. (1960). *Trichodina reticulata* Hirschman and Partsch, 1955 from crucian carp, and *T. domerguei* f. *latispina* Dogiel, 1940 from *Diaptomus*. Acta Societatis Zoologicae Bohemoslovenicae, 25: 215-228.

Lom, J. (1961). Ectoparasitic trichodinids from freshwater fish in Czechoslovakia. Vestern Cesk, Zool. 25: 215-228.

Lom, J. and Hoffman, G. L. (1964). Geographic distribution of some species of trichodinids (Ciliata: Peritrichida) parasitic on fishes. Journal of Parasitology, 50: 30-50.

- Lom, J. and Dykova, I. (1992). Protozoan Parasites of fishes, Amsterdam: Elsevier, 315 pp.
- Lombard, G. L. (1968). A survey of fish diseases and parasites encountered in Transvaal. News of the Limnological Society of Souther Africa, 11: 23-29.
- Maréchal, A. (1952). Traité doptique instrumentale: première section, laformation des images. Revue doptique théoretique et instrumentale. Pp.23-35.
- Mígala, K. (1971). Studies on natural populations of parasitic protozoa on *Cyprinus carpio* in pond culture carps in the first year of life. Acta Protozoologica, 8: 309-339.
- Millán, M. S., Campos, J., Ferreira, C., and Yzuel, M. J. (1989). Matched filter and phase only filter performance in colour image recognition. Optics Communications, 73 (4): 277-284.
- Millán, M. S., Yzuel, M. J., Campos, J. and Ferreira, C. (1991). Strategies for the color character recognition by optical multichannel correlation. Proc. SPIE, 1507: 183-197.
- Millán, M. S., Vila, N., and Yzuel, M. J. (1992). Colour reserval films in multichannel optical correlators for olychromatic image recognition. Pure Applied Optics 1: 199-218.

- Millán, M. S., Corbalán, M., Romero, J. and Yzuel, M. J. (1995). Optical pattern recognition based on color vision models. *Optics Letters* 20 (16): 1722-1724.
- Moravec, F. and Fajer-Avila E. (2000). *Hufmanela mexicana* n. sp. (Nematoda: Trichosomoididae) from the marine fish *Sphoeroides anulatus* in México. *J. Parasitol.* 86 (6) 200, p. 1229-1231.
- Mourifo-Pérez, R. R. and Álvarez-Borrego, J. (2002). "Optical color correlation for the recognition of *Vibrio cholerae* 01 in laboratory and environmental samples". *Journal of Microbiological Methods Ciencias Marinas* (Enviado)
- Natividad, J. M., Bondad-Reantaso, M. G. and Arthur, J. R. (1986). Parasites of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the Philippines. In: Maclean, J. L., Dizon, L. B. and Hosillos, L. V. (Eds) *The Fish Asian Fisheries Forum*, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 255-259.
- Noga, E.J. (1996) *Fish disease. Diagnosis and Treatment*. Mosby-Year Book, Inc, Missouri:367pp.
- Paperna, I. (1980). *Parasites infections and diseases of fish in Africa*. Technical Paper 7: 216 pp.
- Paperna, I., Van As, J. G. and Basson, L. (1983). Review of diseases affecting cultured cichlids. *International Symp. On Tilapia in Aquaculture*. Proceeding Nazareth Israel, May, 8-13, TEL AVIV Univ., 174-184.
- Paperna, I. (1996) *Parasites, infections and diseases of fishes in Africa-An Update*. CIFA Technical paper. No. 31 Rome, FAO. pp.53-54.

- Pech-Pacheco, J. L. and Álvarez-Borrego, J. (1998). "Optical-digital processing applied to the identification of five phytoplankton species". *Marine Biology*, 132 (3): 357-365.
- Pech-Pacheco, J. L., Álvarez-Borrego, J., Orellana-Cepeda, E. and Cortés-Altamirano, R. (1999). "Diffraction patterns applicability in identification of *Ceratium* species". *Journal of Plankton Research* 21 (8): 1455-1474.
- Pech-Pacheco, J. L., Cristóbal-Pérez, G., Álvarez-Borrego, J. and Cohen, L. (2000). "Power cepstral image analysis through the scale transform". *The International Symposium on Optical Science and Technology, Algorithms and Systems for Optical Information Processing IV*, B. Javidi and D. Psaltis, eds, Proc. SPIE, 4113: 68-79, San Diego, CA, USA.
- Pech-Pacheco, J. L., Cristóbal-Pérez, G., Álvarez-Borrego, J. and Cohen, L. (2002). "Automatic system for phytoplanktonic algae identification". *Limnetica*. Vol. 20 (1): 143-158.
- Pech-Pacheco, J. L., Álvarez-Borrego, J., Cristóbal-Pérez, G. and Keil, M. (2003). "Automatic object identification irrespective to geometric changes". *Optical Engineering* ( En prensa ).
- Post, G. 1983. *Textbook of fish health*, TFH, INC, LTD, 70-90 pp.

- Porter, A. B. (1906). On the diffraction theory of microscopic vision. *Phil. Mag.*, 11: 154-160.
- Raabe, Z. (1959). *Trichodina pediculus* (O. F. Müller, 1786) Ehrenberg, 1838 et *Trichodina domerguei* (Wallengren, 1897). *Acta Parasitologica Polonica* 6: 189-202.
- Quennerstedt A. (1869) *Brigad Till Sveriges Infusorie-fauna*, III. *Lunds Univ-Arsskift*, Lund, 6. pp. 54.
- Sarig, S. (1971). The prevention and treatment of diseases of warm water fishes under subtropical condition with special emphasis on intensive fish farming. T. F. H. Publication Jersey City, 129 pp.
- Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca. (2000). Estado actual de La Acuicultura en México. Instituto Nacional de la Pesca, Dirección General de Investigación en Acuicultura. México, D. F. 1-80.
- Shulman, S. (1984). Clasificador de parásitos de peces de agua dulce de la fauna de la URSS. Tomo 1, Protozoos parásitos, Ed. Nauka Leningrad. pp 58-97
- Snieszko, S. F. and Axelrod H. (1971). Book 3: The prevention and treatment of diseases of warm water fishers under subtropical conditions, with special emphasis on intensive fish farming. Laboratory for Research of Fish Diseases Nir-David, Israel. pp 40-57.

- Sosa Lima (2000). Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales y Pesca, (2000). Estado actual de La Acuicultura en México. Instituto Nacional de la Pesca, Dirección General de Investigación en Acuicultura. Capítulo X Tilapia México, D. F. pp 1-20
- Trimble, J. D., Cassent, D., Psaltis, D., Caimi, F., Carlotto, M. and Neft, D. (1980). Digital correlation by optical convolution/correlation. In: Real time signal processing III T.T. Tao Ed. Proc. SPIE, 214: 155-160.
- Van As, J. G. and Basson, L. (1984). Checklist of freshwater fish parasites from southern Africa. South African Journal of Wildlife Research, 14: 49-61.
- Van As, J. G. and Basson, L. (1986). Trichodinids (Ciliophora: Peritrichida) ectoparasites of cultured cichlids from Taiwan. Bulletin of the Institute of Zoology, Academia Sinica, 25: 135-139.
- Van As, J. G. and Basson, L. (1987). Host Specificity of Trichodinid Ectoparasites of Freshwater Fish. Parasitology Today 3 (3): 88-90.
- Van As, J. G. and Basson, L. (1989). A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichida) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids. Systematic Parasitology, 14: 157-179.
- Van As, J. G. and 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.

- Vander Lugt, A. (1964). Signal detection by complex spatial filtering. IEEE Trans. Inf. Theory IT-10, 139.
- Wallengren, H. (1897) Zuur Kentris der Gattung *Trichodina*. Biol. Zentralbl, 17. pp 67.
- Wellborn, T. L. (1967). *Trichodina* Ciliata: Urceolaritidae of freshwater fishes of the Southeastern United States. Journal of Protozoology, 14: 399-411.
- Wood, J. (1996). Invariant pattern recognition: A review. Pattern Recognition, 29 (1): 1-17.
- Woo, P. T. K. (1999) Fish Diseases and Disorders. Vol 1 Protozoan and Metazoan infections. CABI Publishing, UK., pp. 229-262.
- Yu, F. T. S., Chao, T. H. (1983). Color signal correlation detection by matched spatial filtering. Appl. Phys. B: Photophys. Laser Chem. B 32 (1).
- Zavala-Hamz, V. A., Álvarez-Borrego, J. and Trujillo-Ortiz, A. (1996). "Diffraction patterns as a tool to recognize copepods". Journal of Plankton Research 18 (8): 1471-1484.
- Zavala-Hamz, V. A. and Álvarez-Borrego, J. (1997). "CH filters for the recognition of marine microorganisms". Applied Optics 36 (29): 484-489.