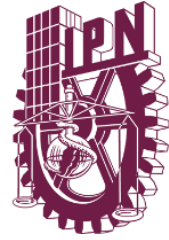




**INSTITUTO POLITÉCNICO  
NACIONAL**



**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS  
MARINAS**

**TAXONOMÍA MORFOLÓGICA Y  
MOLECULAR DE DINOFLAGELADOS  
EPIBENTÓNICOS DEL GOLFO DE  
CALIFORNIA**

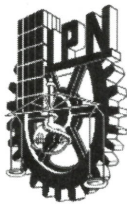
**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

**PRESENTA**

**ANA EMILIA RAMOS SANTIAGO ([aramoss2100@alumno.ipn.mx](mailto:aramoss2100@alumno.ipn.mx))**

**LA PAZ, B.C.S., JULIO DE 2023**



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

La Paz, B.C.S., a 28 de ABR del 2023

El Colegio de Profesores de Posgrado de CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS en su Sesión  
(Unidad Académica)

Ordinaria No. 0-367-23 celebrada el día 28 del mes ABRIL de 2023 conoció la solicitud presentada por el (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	RAMOS	Apellido Materno:	SANTIAGO	Nombre (s):	ANA EMILIA
-------------------	-------	-------------------	----------	-------------	------------

Número de registro:

B 2 1 0 3 6 5

del Programa Académico de Posgrado: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

**"TAXONOMÍA MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE DINOFLAGELADOS EPIBENTÓNICOS DEL GOLFO DE CALIFORNIA"**

Objetivo general del trabajo de tesis:

**Identificar morfológica y molecularmente especies de dinoflagelados epibentónicos del Golfo de California**

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director: DR. IGNACIO LEYVA VALENCIA

2° Director: DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT

No aplica:

3.- El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

EL CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS - IPN

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director(a) de Tesis

  
DR. IGNACIO LEYVA VALENCIA

2° Director de Tesis (en su caso)

  
DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT

Aspirante

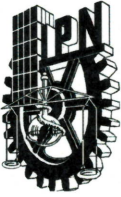
  
BM. ANA EMILIA RAMOS SANTIAGO

Presidente del Colegio

  
DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO



I.P.N.  
CICIMAR  
DIRECCIÓN



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

## ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S. siendo las 12:00 horas del día 19 del mes de Mayo del 2023 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de: CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS para examinar la tesis titulada: "TAXONOMÍA MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE DINOFLAGELADOS EPIBENTÓNICOS DEL GOLFO DE CALIFORNIA" del (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	RAMOS	Apellido Materno:	SANTIAGO	Nombre (s):	ANA EMILIA
-------------------	-------	-------------------	----------	-------------	------------

Número de registro: B 2 1 0 3 6 5

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 4% de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo **SI  NO  SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**


**JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:** *(Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original)*  
 El análisis mediante Turnitin, indicó un porcentaje de similitud general del 4%; la similitud se encontró principalmente en bases de datos de internet y en la base de datos de publicaciones.

**\*\*Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente y posterior a la lectura, revisión individual así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR  SUSPENDER  NO APROBAR**  la tesis por **UNANIMIDAD  o MAYORÍA**  en virtud de los motivos siguientes: **"SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES"**

### COMISIÓN REVISORA DE TESIS

  
**DR. IGNACIO LEYVA VALENCIA**  
 Director de Tesis  
 Nombre completo y firma

  
**DR. MAURICIO MUÑOZ OCHOA**  
 Nombre completo y firma

  
**DRA. RUTH NOEMÍ ÁGUILA RAMÍREZ**  
 Nombre completo y firma

  
**DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT**  
 Nombre completo y firma

  
**DRA. IVONNE SANDRA SANTIAGO MORALES**  
 Nombre completo y firma

  
**DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO**  
 Nombre completo y firma  
**PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES**



NOMBRE DEL TRABAJO

TAXONOMÍA MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE DINOFLAGELADOS EPIBENTÓNICOS DEL GOLFO DE CALIFORNIA

AUTOR

ANA EMILIA RAMOS SANTIAGO

RECUENTO DE PALABRAS

**45656 Words**

RECUENTO DE CARACTERES

**241761 Characters**

RECUENTO DE PÁGINAS

**199 Pages**

TAMAÑO DEL ARCHIVO

**4.1MB**

FECHA DE ENTREGA

**May 16, 2023 10:34 AM GMT-7**

FECHA DEL INFORME

**May 16, 2023 10:38 AM GMT-7****● 4% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 3% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 1% Base de datos de trabajos entregados
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

**● Excluir del Reporte de Similitud**

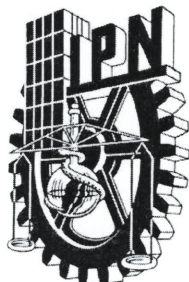
- Material bibliográfico
- Material citado
- Fuentes excluidas manualmente
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)



DR. IGNACIO LEYVA VALENCIA



DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

*CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN*

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 05 del mes de Junio del año 2023

El (la) que suscribe BM. ANA EMILIA RAMOS SANTIAGO Alumno (a) del Programa  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro B210365 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DR. IGNACIO LEYVA VALENCIA y DRA. CHRISTINE JOHANNA BAND SCHMIDT

y cede los derechos del trabajo titulado:

"TAXONOMÍA MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE DINOFLAGELADOS EPIBENTÓNICOS  
DEL GOLFO DE CALIFORNIA"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expresado del autor y/o director(es) del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las

siguientes dirección(es) de correo: aramoss2100@alumno.ipn.mx- ileyvav@ipn.mx - cbands@ipn.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.

**BM. ANA EMILIA RAMOS SANTIAGO**

*Nombre completo y firma autógrafa del (de la) estudiante*

## CONFORMACIÓN DEL COMITÉ

### Dirección

Dra. Christine Johanna Band Schmidt	IPN- Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas
Dr. Ignacio Leyva Valencia	CONACyT, IPN- Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas

### Comité tutorial y revisor

Dr. Mauricio Muñoz Ochoa	IPN- Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas
Dra. Ruth Noemí Águila Ramírez	IPN- Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas
Dra. Ivonne Sandra Santiago Morales	Universidad del Mar- Campus Puerto Ángel

## AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

**Dr. Ignacio Leyva Valencia**, por su dirección y ayuda en las técnicas moleculares.

**Dra. Christine Johanna Band Schmidt**, por su apoyo en los aislamientos y los cultivos de los dinoflagelados, por el conocimiento transmitido.

**Dr. Yuri B. Okolodkov**, por los tips de microscopía y por resolver mis dudas sobre taxonomía.

**M. en C. Delia Irene Rojas Posadas**, por el apoyo en mejorar las técnicas moleculares.

**A Manuel Victoria Huerta** por su apoyo en la estancia realizada en el Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías.

**A L.E. Gómez-Lizárraga** del servicio de microscopía electrónica de barrido de la UNAM, por sus recomendaciones para procesar muestras.

**Al Dr. Leyberth José Fernández-Herrera**, por su ayuda en el cultivo de los dinoflagelados epibentónicos y por su apoyo en los muestreos de campo.

**A los proyectos** que hicieron posible este estudio: **CONACyT A1-S-14968**, **CONACyT PRONAH**, **proyecto PRONACES SSyS 319104**, **SIP-2023-1019**. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (**CONACyT- 1151607**) y al Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (**BEIFI- B210365**) por las becas otorgadas.

**A G. González Gómez**, del laboratorio de mejoramiento genético en acuicultura, por su apoyo para la obtención de agua de mar.

**Al comité tutorial** por sus revisiones para mejorar el escrito.

## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

**A mis compañeros de laboratorio** MSc. M.F. Encinas-Yáñez, MSc. N.V. Herrera-Herrera y MSc. R.A. García-Castillo por su apoyo en el procesamiento de muestras para microscopía electrónica de barrido.

**A mis amigos** Roy, Martín, Raquel, Salo, Yisel, Ceci, Beto y Luis por hacer amena mi estancia en La Paz.

**A mi amor**, mi Hobbit, gracias por acompañarme en esta travesía de realizar una maestría.

**A mis hijos**, Chispa y Sócrates por su compañía mientras escribía esta tesis.

**Agradezco a mi familia** por su amor y por confiar en mí. Madre, una disculpa por no ir cada vacación mientras me esperabas, espero que leas esto en algún momento “TE AMO”.

## **DEDICATORIA**

**A las personas que confían y confiaron en mí.**

Murió porque sabía o quería saber demasiado. Es posible que me espere un fin semejante,  
pues yo también he aprendido mucho...

*The call of Cthulhu-1926. H. P. Lovecraft*



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	9
ÍNDICE DE ANEXOS	10
RESUMEN	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. ANTECEDENTES	29
3. JUSTIFICACIÓN	33
4. HIPÓTESIS	34
5. OBJETIVOS	34
6. METODOLOGÍA	35
6.1 Área de estudio	35
6.2 Trabajo de campo	36
6.3 Aislamiento y condiciones de cultivo	37
6.4 Información de cepas	38
6.5 Identificación morfológica	39
6.5.1 Microscopía electrónica de barrido	39
6.6 Identificación molecular	41
6.6.1 Extracción de ADN y amplificación por PCR	41
6.6.2 Análisis filogenéticos	41
7. RESULTADOS	42
7.1 Taxonomía morfológica	42
7.1.1 <i>Amphidinium carterae</i> <b>Hulburt</b>	43
7.1.2 <i>Amphidinium</i> cf. <i>operculatum</i>	46
7.1.3 <i>Coolia malayensis</i> <b>Leaw, Lim &amp; Usup</b>	52
7.1.4 <i>Gambierdiscus carpenteri</i> <b>Kibler, Litaker, Faust, Holland, Vandersea &amp; Tester</b>	57
7.1.5 Morfotipo de células grandes- <i>Ostreopsis lenticularis</i> <b>Y. Fukuyo</b>	65
7.1.6 Morfotipo de células pequeñas- <i>Ostreopsis ovata</i> <b>Y. Fukuyo</b>	72

7.1.7	<i>Prorocentrum koreanum</i> M.-S. Han, S.Y. Cho & P. Wang	78
7.1.8	<i>Prorocentrum norrisianum</i> Faust & Morton	84
7.1.9	<i>Prorocentrum triestinum</i> J. Schiller	88
7.1.10	<i>Prorocentrum concavum</i> Y. Fukuyo	91
7.1.11	<i>Prorocentrum rhathymum</i> Loeblich III, Sherley & Schmidt	95
7.1.12	<i>Symbiodinium natans</i> (Clado A) Gert Hansen & Daugbjerg	101
7.1.13	<i>Vulcanodinium rugosum</i> Nézan & Chomérat	106
7.2	Taxonomía molecular	110
7.2.1	<i>Amphidinium</i>	110
7.2.2	<i>Coolia</i>	113
7.2.3	<i>Gambierdiscus</i>	118
7.2.4	<i>Ostreopsis</i>	122
7.2.5	<i>Prorocentrum</i>	126
7.2.6	<i>Symbiodinium</i>	131
8.	DISCUSIÓN	133
8.1	Taxonomía morfológica y molecular	133
8.1.1	<i>Amphidinium carterae</i>	133
8.1.2	<i>Amphidinium</i> cf. <i>operculatum</i>	133
8.1.3	<i>Coolia malayensis</i>	134
8.1.4	<i>Gambierdiscus carpenteri</i>	137
8.1.5	<i>Ostreopsis lenticularis</i>	138
8.1.6	<i>Ostreopsis ovata</i>	139
8.1.7	<i>Prorocentrum koreanum</i>	141
8.1.8	<i>Prorocentrum norrisianum</i>	143
8.1.9	<i>Prorocentrum triestinum</i>	146
8.1.10	<i>Prorocentrum concavum</i>	147
8.1.11	<i>Prorocentrum rhathymum</i>	149
8.1.12	<i>Symbiodinium natans</i> (Clado A)	150
8.1.13	<i>Vulcanodinium rugosum</i>	151
8.2	Observaciones en cultivo	152

<b>9. CONCLUSIONES</b>	154
<b>10. REFERENCIAS</b>	155
<b>11. ANEXOS</b>	175

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfología general de los dinoflagelados	13
<b>Figura 2.</b> Variación en tamaño y forma en especies de <i>Amphidinium</i>	18
<b>Figura 3.</b> Morfología general de <i>Coolia malayensis</i>	19
<b>Figura 4.</b> Disposición de placas de <i>Gambierdiscus carpenteri</i>	21
<b>Figura 5.</b> Placas tecales en <i>Ostreopsis lenticularis</i> (A y B) y <i>Ostreopsis ovata</i> (a y b)	23
<b>Figura 6.</b> Especies de <i>Prorocentrum</i> en vista valvar derecha	25
<b>Figura 7.</b> Placas de <i>Symbiodinium natans</i>	27
<b>Figura 8.</b> Disposición de placas en <i>Vulcanodinium rugosum</i>	29
<b>Figura 9.</b> Sitios de muestreo del Golfo de California, E= estaciones	36
<b>Figura 10.</b> Macroalgas recolectadas en el Golfo de California para el aislamiento de dinoflagelados epibentónicos	37
<b>Figura 11.</b> Cultivos de dinoflagelados epibentónicos del CICIMAR-IPN	43
<b>Figura 12.</b> Micrografías de células vegetativas de <i>Amphidinium carterae</i>	45
<b>Figura 13.</b> Microscopía electrónica de barrido de células <i>Amphidinium carterae</i>	46
<b>Figura 14.</b> Microscopía fotónica de <i>Amphidinium cf. operculatum</i>	48
<b>Figura 15.</b> Estados reproductivos de <i>Amphidinium cf. operculatum</i>	49
<b>Figura 16.</b> Estados reproductivos de <i>Amphidinium cf. operculatum</i>	50
<b>Figura 17.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Amphidinium cf. operculatum</i>	51
<b>Figura 18.</b> Micrografías de <i>Coolia malayensis</i>	54
<b>Figura 19.</b> Microscopía fotónica de <i>Coolia malayensis</i>	55
<b>Figura 20.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Coolia malayensis</i>	56
<b>Figura 21.</b> Microscopía de luz de <i>Gambierdiscus carpenteri</i> (cepa Gamb-1)	59
<b>Figura 22.</b> Microscopía fotónica de células de <i>Gambierdiscus carpenteri</i> (cepa Gamb-1)	60
<b>Figura 23.</b> Microscopía electrónica de barrido de células de <i>Gambierdiscus carpenteri</i> (cepa Gamb-1)	61
<b>Figura 24.</b> Micrografías de <i>Gambierdiscus carpenteri</i> (Gamb-3)	62

<b>Figura 25.</b> Micrografías de <i>Gambierdiscus carpenteri</i> (cepa Gamb-3)	63
<b>Figura 26.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Gambierdiscus carpenteri</i> (Gamb-3)	64
<b>Figura 27.</b> Microscopía fotónica de <i>Ostreopsis lenticularis</i> (cepas SO1 y SO4)	67
<b>Figura 28.</b> Microscopía fotónica de <i>Ostreopsis lenticularis</i> (cepas SO1 y SO4)	68
<b>Figura 29.</b> Quistes de <i>Ostreopsis lenticularis</i> (cepas SO1 y SO4)	69
<b>Figura 30.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Ostreopsis lenticularis</i> (SO1 y SO4)	70
<b>Figura 31.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Ostreopsis lenticularis</i> (cepas SO1 y SO4)	71
<b>Figura 32.</b> Microscopía de luz de <i>Ostreopsis ovata</i> (cepas SO2 y SO3)	74
<b>Figura 33.</b> Microscopía de luz de <i>Ostreopsis ovata</i> (cepas SO2 y SO3)	75
<b>Figura 34.</b> Quistes de <i>Ostreopsis ovata</i> (cepas SO2 y SO3)	76
<b>Figura 35.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Ostreopsis ovata</i> (cepas SO2 y SO3)	77
<b>Figura 36.</b> Microscopía fotónica de la cepa s/i 21	80
<b>Figura 37.</b> Microscopía electrónica de barrido de células de la cepa s/i 21	81
<b>Figura 38.</b> Microscopía fotónica de células de las cepas N, 35 y RP1	82
<b>Figura 39.</b> Microscopía electrónica de barrido de cepas identificadas morfológicamente como <i>Prorocentrum koreanum</i> (cepas 35, RP1 y N)	83
<b>Figura 40.</b> Microscopía fotónica de la cepa BAPAZ identificada como <i>Prorocentrum norrisianum</i>	85
<b>Figura 41.</b> Microscopía fotónica de la cepa BAPAZ ( <i>Prorocentrum norrisianum</i> )	86
<b>Figura 42.</b> Microscopía electrónica de barrido de la cepa BAPAZ ( <i>Prorocentrum norrisianum</i> )	87
<b>Figura 43.</b> Microscopía fotónica de <i>Prorocentrum triestinum</i>	89
<b>Figura 44.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Prorocentrum triestinum</i>	90
<b>Figura 45.</b> Microscopía fotónica de <i>Prorocentrum concavum</i>	92
<b>Figura 46.</b> Microscopía fotónica de <i>Prorocentrum concavum</i>	93
<b>Figura 47.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Prorocentrum concavum</i>	94
<b>Figura 48.</b> Micrografías de células identificadas como <i>Prorocentrum rhathymum</i>	97
<b>Figura 49.</b> Microscopía fotónica de estados reproductivos observados en <i>Prorocentrum rhathymum</i>	98
<b>Figura 50.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Prorocentrum rhathymum</i>	99

<b>Figura 51.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Prorocentrum rhathymum</i> _____	100
<b>Figura 52.</b> <i>Symbiodinium natans</i> y la anémona hospedera_____	102
<b>Figura 53.</b> Células vegetativas de <i>Symbiodinium natans</i> (cepas s/i 50 y s/i 53)_____	103
<b>Figura 54.</b> Quistes de <i>Symbiodinium natans</i> _____	104
<b>Figura 55.</b> Microscopía electrónica de barrido de células vegetativas de <i>Symbiodinium natans</i> (cepas s/i 50 y s/i 53)_____	105
<b>Figura 56.</b> Microscopía fotónica de <i>Vulcanodinium rugosum</i> (cepas B2)_____	107
<b>Figura 57.</b> Quistes de <i>Vulcanodinium rugosum</i> _____	108
<b>Figura 58.</b> Microscopía electrónica de barrido de <i>Vulcanodinium rugosum</i> _____	109
<b>Figura 59.</b> Árbol filogénico de la región 5.8S del ADNr de <i>Amphidinium</i> _____	111
<b>Figura 60.</b> Árbol filogénico de la región 28S del ADNr de <i>Amphidinium</i> _____	112
<b>Figura 61.</b> Árbol filogénico de <i>Coolia</i> de la región 5.8S del ADNr_____	114
<b>Figura 62.</b> Árbol filogénico de <i>Coolia</i> de la región 28S del ADNr_____	116
<b>Figura 63.</b> Árbol filogénico de la región ITS del ADNr_____	117
<b>Figura 64.</b> Árbol filogénico de <i>Gambierdiscus</i> de la región 5.8S del ADNr_____	119
<b>Figura 65.</b> Árbol filogénico de <i>Gambierdiscus</i> de la región 28S del ADNr_____	120
<b>Figura 66.</b> Árbol filogénico de <i>Gambierdiscus</i> de la región ITS del ADNr_____	121
<b>Figura 67.</b> Árbol filogénico de <i>Ostreopsis</i> de la región 5.8S del ADNr_____	123
<b>Figura 68.</b> Árbol filogénico de <i>Ostreopsis</i> de la región 28S del ADNr_____	125
<b>Figura 69.</b> Árbol filogénico de <i>Ostreopsis</i> de la región ITS del ADNr_____	128
<b>Figura 70.</b> Árbol filogénico de <i>Prorocentrum</i> de la región 5.8S del ADNr_____	129
<b>Figura 71.</b> Árbol filogénico de <i>Prorocentrum</i> de la región 28S del ADNr_____	130
<b>Figura 72.</b> Árbol filogénico de <i>Prorocentrum</i> de la región ITS del ADNr_____	131
<b>Figura 73.</b> Árbol filogénico de <i>Symbiodinium</i> de la región 28S del ADNr_____	132

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Condiciones de cultivo reportados para seis géneros de dinoflagelados epibentónicos _____	15
<b>Tabla II.</b> Condiciones de cultivo de <i>Vulcanodinium rugosum</i> _____	28
<b>Tabla III.</b> Información de cepas de dinoflagelados epibentónicos aislados del Golfo de California_____	38

<b>Tabla IV.</b> Iniciadores 5.8S, 28S e ITS del ADN ribosómico_____	41
<b>Tabla V.</b> Cambios en las bases nucleotídicas de <i>C. malayensis</i> incluidas en el análisis filogenético de la región 5.8S del ADNr_____	115
<b>Tabla VI.</b> Morfometría de <i>Coolia malayensis</i> de diferentes áreas geográficas_____	136
<b>Tabla VII.</b> Diferencias morfológicas y morfométricas entre <i>O. lenticularis</i> y <i>O. ovata</i> / <i>O. cf. ovata</i> _____	141
<b>Tabla VIII.</b> Características morfológicas de <i>P. micans</i> y <i>P. koreanum</i> _____	143
<b>Tabla IX.</b> Morfometría de <i>P. cassubicum</i> y <i>P. norrisianum</i> de distintas áreas geográficas_____	145
<b>Tabla X.</b> Morfometría del complejo <i>P. rathymum</i> / <i>P. mexicanum</i> _____	148
<b>Tabla XI.</b> Morfometría de aislados de <i>Vulcanodinium rugosum</i> _____	152

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo I.</b> Tratamientos (T) para el procesamiento de muestras de microscopía electrónica de barrido _____	175
<b>Anexo II.</b> Micrografías de microscopía electrónica de barrido_____	176
<b>Anexo III.</b> Láminas de microfotografías de epifluorescencia_____	177
<b>Anexo IV.</b> Tipo de hábitat, distribución, ecología y toxicidad de las especies reportadas en este estudio_____	186
<b>Anexo V.</b> Secuencias cortas no incluidas en los análisis filogenéticos, en las que se realizó edición y el análisis BLAST_____	196

## RESUMEN

Los dinoflagelados epibentónicos son microorganismos eucariotas, biflagelados, asociados al fondo marino. La importancia de este grupo en los ecosistemas someros se debe a que participan en la transferencia de materia y energía entre el fondo marino y la columna de agua. El objetivo del presente estudio fue la identificación morfológica y molecular de dinoflagelados epibentónicos del Golfo de California. Se realizaron muestreos en Bahía Concepción (playa El Requesón), Bahía de La Paz (Isla La Gaviota, El Sauzoso, Las Parcelas y El Tecolote) y en tres estaciones de la Ensenada de La Paz. Las células fueron aisladas de muestras de macroalgas de profundidades < 10 m. También se realizaron arrastres horizontales de la columna de agua en zonas someras (< 2 m). Actualmente, en el IPN-CICIMAR se mantienen 34 cepas de dinoflagelados epibentónicos que fueron aislados entre 2015 y 2022 y cultivados en condiciones variables. Las cepas fueron identificadas por medio de microscopía fotónica y electrónica de barrido y la secuenciación de las regiones 5.8S, 28S e ITS del ADN ribosomal. La combinación de estas herramientas permitió identificar 13 especies, pertenecientes a los géneros *Amphidinium*, *Coolia*, *Ostreopsis*, *Gambierdiscus*, *Prorocentrum*, *Symbiodinium* y *Vulcanodinium*. *Amphidinium operculatum* y *Vulcanodinium rugosum* fueron identificadas por su morfología y procesos reproductivos. Se observó que las diferencias morfológicas interespecíficas (por ej., entre *Prorocentrum cassubicum* y *P. norrisianum*) son sutiles, complicando la identificación incluso al complementar herramientas morfológicas y moleculares. Los resultados de este estudio incluyen las primeras secuencias de *Ostreopsis lenticularis*, *Gambierdiscus carpenteri*, *Prorocentrum concavum* y *Prorocentrum norrisianum* para México.

**Palabras clave:** análisis molecular; análisis morfológico; ciclo de vida; cultivos; dinoflagelados epibentónicos.

## ABSTRACT

Epibenthic dinoflagellates are eukaryotic, biflagellate microorganisms, associated with the seafloor. The importance of this group in shallow ecosystems is due to their participation on matter and energy transfer between the seafloor and the water column. The objective of the study was morphological and molecular identification of epibenthic dinoflagellates from the Gulf of California. Samples were collected in Bahía Concepción (el Requesón beach), Bahía de La Paz (la Gaviota Island, el Sauzoso beach, las Parcelas and el Tecolote) and in three stations of Ensenada de La Paz. The dinoflagellates were isolated from macroalgae samples collected at depths of < 10 m. Horizontal trawls were also carried out in shallow areas (<2 m) were also carried out. Currently, in IPN-CICIMAR, 34 strains of epibenthic dinoflagellates isolated between 2015 and 2022 are maintained and cultured under varying conditions. The strains were identified by light and scanning electron microscopy, and sequencing of the 5.8S, 28S and ITS regions of ribosomal DNA was performed. The combination of these tools allowed the identification of 13 species, belonging to the genera *Amphidinium*, *Coolia*, *Ostreopsis*, *Gambierdiscus*, *Prorocentrum*, *Symbiodinium* and *Vulcanodinium*. *Amphidinium operculatum* and *Vulcanodinium rugosum* were identified by means of their morphology and reproductive processes, respectively. Morphological interspecific differences (e.g., between *Prorocentrum cassubicum* and *Prorocentrum norrisianum*) are subtle, complicating identification even when combining morphological and molecular tools. The results of this study include the first sequences of *Ostreopsis lenticularis*, *Gambierdiscus carpenteri*, *Prorocentrum concavum* and *Prorocentrum norrisianum* for Mexico.

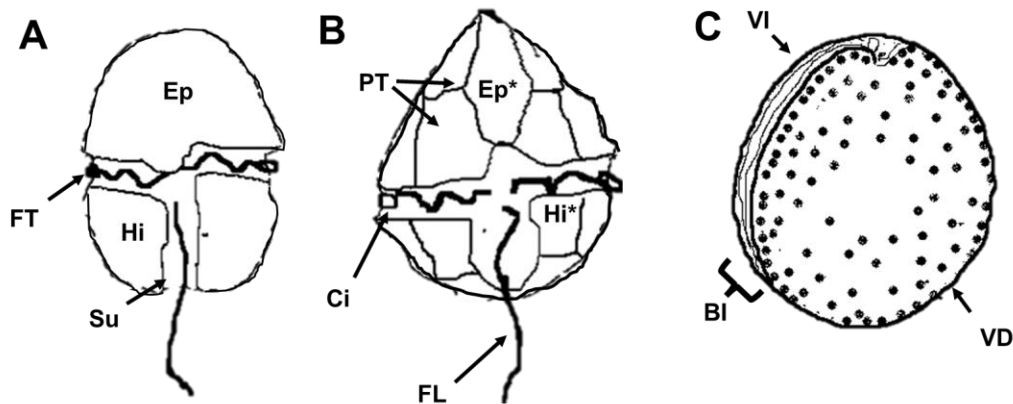
**Key words:** cultures; epibenthic dinoflagellates; life cycle; molecular analysis; morphological analysis.



## 1. INTRODUCCIÓN

Los dinoflagelados epibentónicos son un grupo de eucariotas, flagelados; asociados al fondo marino o piso oceánico. Los dinoflagelados en general se ubican en el reino Chromista Cavalier-Smith, filo Miozoa Cavalier-Smith & Chao, y clase Dinophyceae Fritsch (Guiry & Guiry, 2022). Se ha estimado que del total de dinoflagelados marinos reportados (aprox. 2000 especies), solo el 10% se consideran especies bentónicas, o adaptadas a los dos tipos de hábitats (bentónico y planctónico) (Hoppenrath *et al.*, 2014). Se han reportado alrededor de 189 especies de dinoflagelados epibentónicos, repartidas en 45 géneros (Hoppenrath *et al.*, 2014).

El grupo de dinoflagelados epibentónicos incluye organismos atecados (desnudos) y tecados (armados). Los dinoflagelados tecados tienen una epiteca (área superior) y una hipoteca (área inferior), un surco transversal llamado cingulum que rodea a la célula y un surco longitudinal denominado sulcus, a excepción de las células Procentrales que carecen de un sulcus y cingulum (Hoppenrath *et al.*, 2013; Fig. 1). Por otro lado, en los dinoflagelados desnudos la parte superior de la célula se denomina epicono y la inferior hipocono (Fig. 1).



**Figura 1.** Morfología general de los dinoflagelados. A) dinoflagelados desnudos o atecados. B) dinoflagelados armados o tecados. C) dinoflagelados prorocentrales. Ep= epicono, Hi= hipocono, Ep\*= epiteca, Hi\*= hipoteca, PT= placas tecales, FT= flagelo transversal, FL= flagelo longitudinal, Ci= cingulum, Su= sulcus, VI= valva izquierda, VD= valva derecha, BI= banda intercalar. Dibujos realizados a partir de diagramas de Hoppenrath *et al.* (2014).

Los dinoflagelados epibentónicos son considerados productores primarios moduladores de los ecosistemas (aportan biomasa y producen oxígeno), con modos de nutrición por fototrofia, heterotrofia y mixotrofia (Jørgensen *et al.*, 2004; Semary *et al.*, 2016), además, existen especies simbiotas y parásitas (Burki *et al.*, 2014; Hoppenrath *et al.*, 2014). Por lo anterior, participan en la transferencia de materia y energía entre el bentos y la columna de agua (Barranguet, 1997; Aguilar *et al.*, 2014; Hoppenrath *et al.*, 2014). Además, presentan asociaciones microbianas por lo que son importantes en las redes tróficas de estos microorganismos (Pérez-Guzmán *et al.*, 2008; Almazán-Becerril *et al.*, 2015).

### **1.1 Hábitat**

Los dinoflagelados epibentónicos son un componente importante en los ecosistemas someros (playas, lagunas costeras y barreras de coral), donde forman asociaciones con macroalgas, pastos marinos, arrecifes de coral; además, se han reportado habitando sobre arena, detritos o fango (Hernández-Becerril & Almazán, 2004; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2007; Hoppenrath *et al.*, 2014; Marchan-Álvarez *et al.*, 2017; Almazán-Becerril, 2021). La preferencia de sustrato de estos organismos ha sido poco estudiada, sin embargo, se ha hipotetizado que dicha preferencia puede deberse a la morfología de las macroalgas (áreas de exposición), o sustancias que producen que pueden beneficiar su crecimiento (Accoroni *et al.*, 2015; Mohammad-Noor *et al.*, 2019).

Estudios donde han empleado dinoflagelados epibentónicos como modelos biológicos, encontraron que las macroalgas producen compuestos que favorecen o inhiben el asentamiento y crecimiento de estos dinoflagelados (Accoroni *et al.*, 2015; Ternon *et al.*, 2020; Ataka *et al.*, 2021). Se ha propuesto que algunos metabolitos producidos por las macroalgas contribuyen en el asentamiento, crecimiento y producción de toxinas en los dinoflagelados epibentónicos (Blanfuné *et al.*, 2015; Gémin *et al.*, 2020). Por ejemplo, se ha reportado que durante el verano los extractos de tejidos sólidos y frescos de la macroalga *Dictyota dichotoma* pueden carecer de actividad antimicrobiana o algún compuesto inhibitorio, lo que favorece el asentamiento de los dinoflagelados epifíticos en su medio natural (Salvador *et al.*, 2007; Ramos-Santiago *et al.*, 2022). Estos estudios son necesarios debido a que las macroalgas son un vector importante en la transmisión de toxinas como las

ciguatoxinas. Se han propuesto dos factores que propician la transferencia de estas toxinas, el crecimiento y fijación de las células del dinoflagelado productor de toxinas en el hospedero (macroalga) y la palatabilidad del huésped por los herbívoros (consumidor) (Rains & Parsons, 2015).

### 1.2 Condiciones de cultivo de dinoflagelados epibentónicos

Los dinoflagelados epibentónicos han sido cultivados en diferentes condiciones de laboratorio, utilizando diversos medios de cultivo (véase Tabla I). Las condiciones fisicoquímicas también varían, generalmente dependiendo de las condiciones ambientales de la zona de aislamiento. Los materiales en los que se han cultivado especies de dinoflagelados epibentónicos son: matraces Erlenmeyer de policarbonato y borosilicato (Garret *et al.*, 2014; Ramos-Santiago *et al.*, 2023), matraces Fernbach (Vacarizas *et al.*, 2018), frascos de poliestireno (Gómez *et al.*, 2017) y placas de cultivo de tejidos de 24 pocillos (Smith *et al.*, 2011; Laza-Martínez *et al.*, 2011).

**Tabla I.** Condiciones de cultivo reportados para seis géneros de dinoflagelados epibentónicos. SD= Sin dato.

Género	Medio	Temperatura (°C)	Salinidad	Irradiancia (μmolE m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	Referencia
<i>Amphidinium</i>	f/2 y GSe	19	SD	SD	Murray <i>et al.</i> (2012)
	f/2	18 ± 2	SD	70	Seoane <i>et al.</i> (2018)
<i>Coolia</i>	GSe con extracto de lombricomposta	24 ± 1	34	120-150	Ramos-Santiago <i>et al.</i> (2022)
	GSe, f/2 y L1	20 ± 2 y 25 ± 2	37 y 39	40	Morquecho <i>et al.</i> (2022)
<i>Gambierdiscus</i>	Keller modificado	23–24	35	75	Rains & Parsons (2015)
	K sin tampón Tris y silicatos	23	32	100	Xu <i>et al.</i> (2016)
	IMK	17, 19, 21, 23, 27, 29, 31 y 33	23, 26, 29, 35, 38, 41 y 44	10, 40, 70, 100, 130, 160, 190 y 300	Vacarizas <i>et al.</i> (2018)
<i>Ostreopsis</i>	L2/2 diluido	24 ± 2	34-37	60	Nascimento <i>et al.</i> (2012)

	f/4 Guillard	20	SD	80	David <i>et al.</i> (2013)
	f/4 modificado	21	SD	90-100	Accoroni <i>et al.</i> (2014)
	L1 + K/2	25	32	180	Bravo <i>et al.</i> (2022)
	L1	17	35	160	Chomerát <i>et al.</i> (2022)
<i>Prorocentrum</i>	f/2 y L1	25	SD	90	Luo <i>et al.</i> (2017)
	f/2	19	35	60-80	Verma <i>et al.</i> (2019)
	L1 sin silicatos	25	30-31	120	Zou <i>et al.</i> (2022)
<i>Vulcanodinium</i>	f/2-Si	20	SD	90	Zeng <i>et al.</i> (2012)
	ENSW	15, 20, 25, 30 y 35	20, 25, 30, 35 y 40	100	Abadie <i>et al.</i> (2016)

### 1.3 Florecimientos Algaes Nocivos bentónicos (FANb)

La información sobre biogeografía, ecología y fisiología de dinoflagelados epibentónicos es limitada, por lo que ha despertado el interés de los científicos debido a su capacidad de formar Florecimientos Algaes Nocivos bentónicos (FANb). Los FANb pueden pasar desapercibidos al no ser visibles desde la superficie de la columna de agua. Estos eventos ocurren cuando las variables de temperatura, salinidad, nutrientes, turbulencia, luz, oleaje, sedimentos y condiciones biológicas favorecen la reproducción masiva de las microalgas. Los eventos de FANb pueden tener impactos negativos en los ecosistemas acuáticos (*ej.* mortandad de organismos marinos), en la economía (pesca, acuicultura y actividades recreativas), y efectos nocivos en la salud humana (desde intoxicaciones leves a mortales) (*ej.* Moreira-González *et al.*, 2021).

Los géneros de dinoflagelados que destacan por tener especies epibentónicas nocivas o tóxicas son: *Amphidinium* Claperède & Lachmann, *Gambierdiscus* R. Adachi & Y. Fukuyo, *Coolia* Meunier, *Prorocentrum* Ehrenberg y *Ostreopsis* J. Schmidt (Momigliano *et al.*, 2013; Shah *et al.*, 2013; Moreira-González *et al.*, 2019). Siendo el género *Prorocentrum* uno de los más diversos, con un total de 80 especies, aproximadamente 30 especies bentónicas (Gul & Saifullah, 2011a; Hoppenrath *et al.*, 2014).

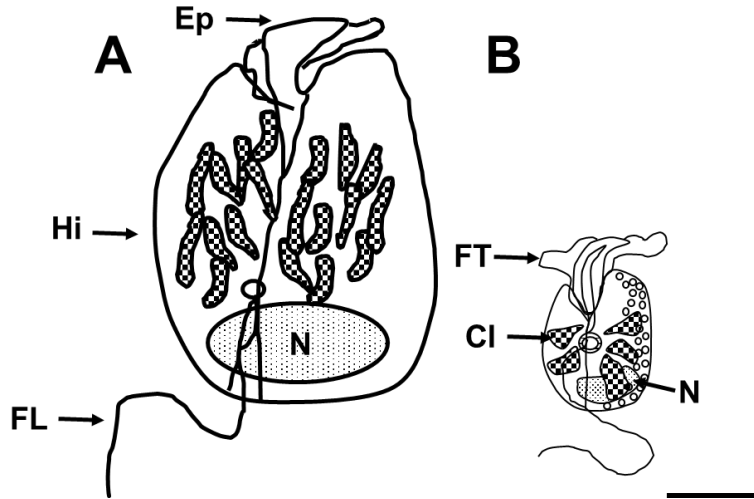
## 1.4 Generalidades de los taxones estudiados

### 1.4.1 *Amphidinium* Claperède & Lachmann

El género *Amphidinium* es un grupo de dinoflagelados atecados (desnudos). La especie tipo es *Amphidinium operculatum* Claparède & Lachmann encontrada en las costas de Noruega (Guiry & Guiry, 2022). El género fue transferido a la familia Amphidiniaceae Moestrup & Calado, debido a que presentaban características morfológicas y moleculares distintas a otros grupos desnudos como Gymnodiniaceae (Murray *et al.*, 2004; Karafas *et al.*, 2017). Actualmente, el grupo lo integran 97 especies, que incluye 21 especies *sensu strictu* epibentónicas (Hoppenrath *et al.*, 2014).

Las células de las especies de *Amphidinium* pueden medir de 6 a 100 µm de largo (Hoppenrath *et al.*, 2014; Karafas *et al.*, 2017; Guiry & Guiry, 2022). Las células son dorsoventral o lateralmente aplanadas (Hoppenrath *et al.*, 2014; Guiry & Guiry, 2022). Presentan un hipocono grande en comparación con el epicono que es pequeño, este último puede ser triangular, semilunar, diminuto y desviado a la izquierda (Jørgensen *et al.*, 2004; Hoppenrath *et al.*, 2014) (Fig. 2). El tamaño del epicono, la forma y la orientación de éste, combinado con estudios moleculares, son importantes para definir especies dentro del grupo (Jørgensen *et al.*, 2004). Otras características importantes son la presencia y forma de los cloroplastos (Jørgensen *et al.*, 2004).

El género es cosmopolita, con distribución en zonas templadas, tropicales y subtropicales (Hoppenrath *et al.*, 2014; Durán-Riveroll *et al.*, 2019; Mejía-Camacho *et al.*, 2021). El grupo no solo es muy diverso en su morfología, también presenta diferentes tipos de nutrición como la autótrofa, mixótrofa y heterótrofa (Jørgensen *et al.*, 2004). El hábitat de especies de *Amphidinium* puede ser planctónica, bentónica (abundantes en sustratos arenosos) y endosimbiótica, ocurren en ambientes marinos y dulceacuícolas (Jørgensen *et al.*, 2004). Especies de *Amphidinium* producen anfidinole y compuestos anti-fúngicos, una de las especies más estudiada es *Amphidinium carterae* (Karafas *et al.*, 2017; Moreira-González *et al.*, 2019; Wellkamp *et al.*, 2020).



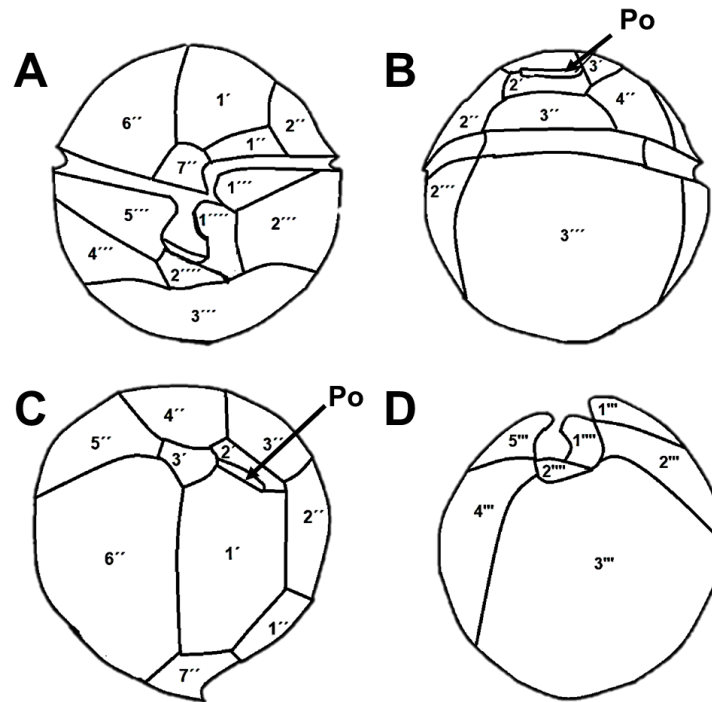
**Figura 2.** Variación en tamaño y forma en especies de *Amphidinium*. A) *A. operculatum*. B) *A. carterae*. Ep= epicono, Hi= hipocono, FT= flagelo transversal, FL= flagelo longitudinal, Ci= cloroplastos, N= núcleo. Barra de escala de 10  $\mu$ m. Dibujos realizados a partir de la publicación de Murray *et al.* (2004).

#### 1.4.2 *Coolia* A. Meunier

El género *Coolia* pertenece al orden Gonyaulacales, familia Pyrocystaceae (Guiry & Guiry, 2022). El primer taxón descrito del género fue *Coolia monotis* Meunier (especie tipo), encontrado en muestras de las costas de Bélgica (Meunier, 1919). Actualmente, en el género se integran ocho especies: *Coolia monotis*, *C. tropicalis* Faust, *C. areolata* Ten-Hage, *C. canariensis* Fraga, *C. malayensis* Leaw, Lim & Usup, *C. palmyrensis* Karafas, Tomas & York, *C. santacroce* Karafas, Tomas & York y *C. guanchica* David, Laza-Martínez, Rodríguez & Fraga.

Las células de las especies del género miden de 20 a 50  $\mu$ m de largo (Hoppenrath *et al.*, 2014; Guiry & Guiry, 2022; Morquecho *et al.*, 2022; Ramos-Santiago *et al.*, 2022). Las células están comprimidas anteroposteriormente, con un cingulum y sulcus profundos (Hoppenrath *et al.*, 2014). Se presentan escasos cloroplastos discoideos de color dorado a marrón (Hoppenrath *et al.*, 2014; Guiry & Guiry, 2022). Para la identificación del grupo se emplea el arreglo tecal: Po, 3', 7'', 7c, 8(?)s, 5''', 2''' (Fig. 3). Mientras que para una identificación específica se han utilizado caracteres morfológicos como: la superficie de la teca, el tamaño celular, tamaño y forma de las placas tecales. Las placas de importancia taxonómica son la primera apical (1'), la séptima placa precingular (7'') y la relación entre el ancho y largo de esta; así como la tercera placa postcingular (3'''). Las características de la placa 3''' ayuda a diferenciar entre especies similares como *C. monotis* y *C. malayensis* (Leaw

*et al.*, 2010, 2016; Morquecho *et al.*, 2022; Ramos-Santiago *et al.*, 2022). Recientemente se ha propuesto usar la ornamentación, forma y tamaño del complejo del poro apical.



**Figura 3.** Morfología general de *Coolia malayensis*. A) Vista ventral, placas pre-cingulares 1'', 2'', 6'' y 7'', y post-cingulares 1''' a la 5'''. B) Vista dorso-apical, Placa del poro apical (Po), apicales 2' y 3' y precingulares 2'', 3'' y 4''. C) Vista ventro-apical, placas apicales 1', 2' y 3' y precingulares 1'' a la 7''. D) Vista antapical mostrando las placas antapicales 1'''' y 2'''' y serie postcingulares 1''' a la 5'''. Imagen modificada de Leaw *et al.* (2010).

El género *Coolia* es considerado un taxón cosmopolita, se distribuye en zonas templadas, aguas tropicales y subtropicales (Leaw *et al.*, 2016). Anteriormente se consideraba que uno de los taxones que se distribuía globalmente era *C. monotis*, sin embargo, esto se debía a errores en la identificación debido a su similitud con las especies *C. malayensis*, *C. santacroce* y *C. palmyrensis* (Leaw *et al.*, 2016; Morquecho *et al.*, 2022; Ramos-Santiago *et al.*, 2022). Actualmente, se considera que la distribución de *C. monotis* está restringida al Atlántico nororiental y hay escasos registros en el pacífico subtropical que deben ser evaluados.

Se ha reportado que este género produce cooliatoxina, que fue la primera toxina identificada en “*C. monotis*” (Holmes *et al.*, 1995) y la cooliatina (Liang *et al.*, 2009). Además, se han reportado análogos de la yesotoxina, gambierona, ácido okadaico y azaspirácido (Wakeman *et al.*, 2015; Leung *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2020; Tibiriçá *et al.*, 2020). Sin embargo, aún faltan estudios para esclarecer los compuestos tóxicos producidos por *Coolia* como el caso de la cooliatoxina, que aún no se tiene su estructura química.

El estudio sobre toxicidad del género *Coolia* inicia con Yasumoto *et al.* (1987), quienes documentaron que la cepa identificada como *C. monotis* presentaba actividad hemolítica en células sanguíneas de ratones y peces. Experimentos de actividad hemolítica en eritrocitos humanos y bioensayos con células de rhabdomiosarcoma mostraron una ausencia de dicha actividad en cepas de *C. monotis* de Malasia (Penna *et al.*, 2005; Karafas *et al.*, 2015).

Posterior a ello se siguieron realizando bioensayos citotóxicos, hemolíticos y análisis químicos para evaluar la toxicidad en especies de *Coolia*. Estos estudios revelaron toxicidad en cepas de *C. palmyrensis*, *C. canariensis*, *C. tropicalis*, *C. santacroce* y *C. malayensis* de Hong Kong, Nueva Zelanda, Océano Pacífico, Islas Vírgenes de EUA y República Dominicana (Rhodes *et al.*, 2014; Karafas *et al.*, 2015; Leung *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2020). Los resultados sugieren que *C. malayensis* podría ser la especie más tóxica (Rhodes *et al.*, 2014; Karafas *et al.*, 2015; Leung *et al.*, 2017). Por otro lado, se ha probado que cepas de *C. monotis* aisladas de Dorset, sur de Inglaterra, además de tener actividad hemolítica, causan mortalidad en el copépodo *Tigriopus californicus* (Aquino-Cruz & Okolodkov, 2016). Lo anterior, contradice estudios previos donde se considera a esta especie como no tóxica (Penna *et al.*, 2005; Karafas *et al.*, 2015), aunque es probable se debe a un error en la identificación de esa cepa.

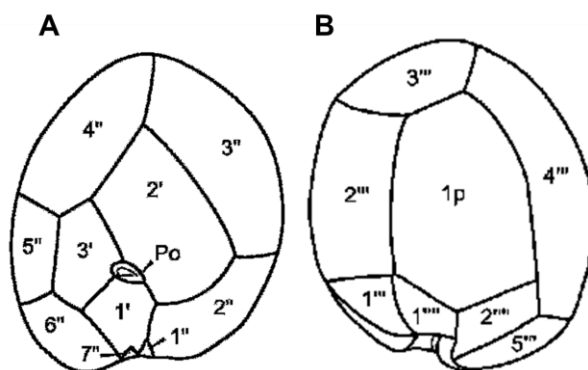
#### **1.4.3 Gambierdiscus R. Adachi & Y. Fukuyo**

*Gambierdiscus* (Gonyaulacales, Dinophyceae) es un taxón estrictamente epibentónico, con especies tecadas (cubierta de celulosa). El holotipo es *Gambierdiscus toxicus* R. Adachi & Y. Fukuyo, descrito por Adachi y Fukuyo en 1979 a partir de muestras vivas de la isla Gambier de la Polinesia Francesa. Actualmente, son 18 especies las aceptadas



taxonómicamente, las cuales presentan una distribución pantropical (Litaker *et al.*, 2009; Guiry & Guiry, 2022).

Son células de gran tamaño, con un transdiámetro que puede medir de 31 a 140  $\mu\text{m}$  (Hoppenrath *et al.*, 2014; Guiry & Guiry, 2022). Presentan un cingulum ascendente con un extremo curvado que se puede observar en vista ventral. Las células vivas presentan varios cloroplastos de color verde a marrón (Hoppenrath *et al.*, 2014). Las células son comprimidas anteroposteriormente (lenticulares) o lateralmente (globulares). Siguiendo el sistema de Kofoid, la fórmula teical es Po, 3', 7'', 6c, 6-8s, 5''', 1p, 2'''' (Fig. 4). Los caracteres taxonómicos importantes son la forma y tamaño de las placas: 2' (forma de hacha o cuadrangular), 4'' (simétrica o asimétrica) y 1p o 2'''' con extremo dorsal terminando en punta u oblicua (Litaker *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2022). También considera si la pared celular es lisa u ornamentada (Wang *et al.*, 2022). La placa del poro apical (Po) generalmente se observa en forma de gancho o anzuelo (Hoppenrath *et al.*, 2014). Para la identificación a nivel de especie es necesario la combinación de técnicas moleculares y morfológicas, esto debido a la similitud morfológica (posición y forma de las placas) entre especies, por ejemplo: *Gambierdiscus carpenteri* comparte características morfológicas con *G. toxicus* y *G. excentricus*.



**Figura 4.** Disposición de placas de *Gambierdiscus carpenteri*. A) Vista apical, placas apicales (1'- 3'), placa del poro apical (Po) y placas precingulares (1''-7''). B) Vista antapical, arreglo de placas postcingulares (1'''-5'''), placa central 1p y placas antapicales (1''''- 2'''). Imagen tomada de Litaker *et al.* (2009).

Existe interés en el estudio de especies de *Gambierdiscus* debido a su producción de ácidos gambiericos, gambieróxido, gambierona, análogos de la gambierona, gambierol, ciguatoxinas (CTX) y maitotoxinas-1,3 y 4 (MTX) entre otros análogos (Nagai *et al.*, 1992;

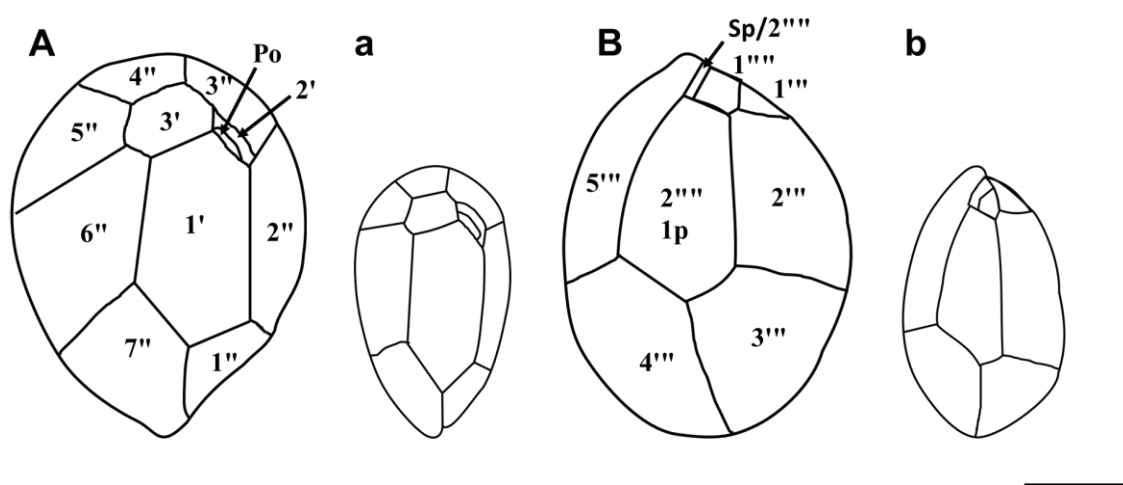
Cagide *et al.*, 2011; Hoppenrath *et al.*, 2014; Longo *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2022). Es un grupo común en las zonas arrecifales tropicales y se asocian con la presencia de ciguatoxinas (Kohli *et al.*, 2014). Dicha toxina se acumula en los peces tropicales, que al ser consumidos por el ser humano causan intoxicación por ciguatera (Kohli *et al.*, 2014). La presencia, abundancia y estacionalidad de especies del grupo están relacionadas con la aparición de la intoxicación por ciguatera (Kohli *et al.*, 2014).

Los factores ambientales como la temperatura, salinidad e irradiación pueden limitar el crecimiento de especies de *Gambierdiscus*. Las especies del género suelen alcanzar su máximo crecimiento en un rango de salinidad de 22 a 36 (Yoshimatsu *et al.*, 2014), sin embargo, pueden mantenerse en un rango más amplio de salinidad que va 15 a 45 (Xu *et al.*, 2016). Toleran temperaturas de 15 a 32 °C, no obstante, un crecimiento óptimo va de los 28 a 32 °C (Kibler *et al.*, 2012; Yoshimatsu *et al.*, 2014). Algunas especies como *G. caribaeus* y *G. carpenteri* toleran temperaturas extremas, pudiendo sobrevivir de los 33 a 35 °C (Xu *et al.*, 2016).

#### **1.4.4 *Ostreopsis* Johs. Schmidt**

Las especies del género *Ostreopsis* son estrictamente epibentónicas, unicelulares y biflageladas. *Ostreopsis* pertenece al orden Gonyaulacales F. J. R. Taylor, familia Pyrocystaceae y subfamilia Ostreopsidoideae Gottschling, Tillmann & Elbrächter (Guiry & Guiry, 2022). La especie que reúne las características que definen el género es *Ostreopsis siamensis* Johs. Schmidt (Guiry & Guiry, 2022). Esta especie se consideraba sinónima de *O. ovata* y *O. lenticularis*, esto debido a errores en la interpretación de los dibujos originales (Accoroni & Totti, 2016). Por lo anterior, se establecieron nuevos caracteres para definir especies dentro del género, por ejemplo, características básicas como la forma y tamaño de las células. Hasta la fecha se han descrito un total de 11 especies: *Ostreopsis siamensis*, *Ostreopsis lenticularis* Y. Fukuyo, *Ostreopsis ovata* Fukuyo, *Ostreopsis heptagona* D.R. Norris, J.W. Bomber & Balech, *Ostreopsis mascarenensis* Quod, *Ostreopsis labens* M.A. Faust & S.L. Morton, *Ostreopsis belizeana* M.A. Faust, *Ostreopsis caribbeana* M.A. Faust, *Ostreopsis marina* M.A. Faust, *Ostreopsis fattorussoi* Accoroni, Romagnoli & Totti y *Ostreopsis rhodesiae* Verma, Hoppenrath & S.A. Murray.

Morfológicamente, las células en vista apical se observan aplanadas desde la zona apical-antapical, ovals, en forma de gota, con el área dorsal oval y terminado en punta en la zona ventral. Los cloroplastos son de color marrón a dorado. El núcleo se localiza en la zona posterior y es redondo. El tamaño de las células es de 50 a 195  $\mu\text{m}$  (Hoppenrath *et al.*, 2014; Guiry & Guiry, 2022). La fórmula tecal es Po, 3', 7'', 6c, 7(8?)s, 5''', 2'''' (Hoppenrath *et al.*, 2014; Fig. 5). La placa del poro apical (Po) se observa en vista dorsal, generalmente es angosta y curvada. El sulcus en especies de *Ostreopsis* es pequeño y difícil de ver debido a la forma celular.



**Figura 5.** Placas tecales en *Ostreopsis lenticularis* (A y B) y *Ostreopsis ovata* (a y b). A y a) Vista apical, placas apicales (1'- 3'), placa del poro apical (Po) y precingulares (1''-7''). B y b) Vista antapical, placas postcingulares (1'''- 5'''), placa central 1p o 2'''' (dependerá del sistema de placas empleado) y placas antapicales (1''''- 2''''/ Sp). Sp= posterior sulcal. Barra de escala de 20  $\mu\text{m}$ . Dibujos realizados a través de las micrografías de Gómez *et al.* (2017), Zhang *et al.* (2017) y Chomérat *et al.* (2019).

Debido a la importancia de este grupo por su capacidad de producir toxinas y florecimientos algales epibentónicos, y por la problemática que se presenta con su morfología, los estudios actuales integran diferentes herramientas para la identificación de las especies. Actualmente se emplea la secuenciación de las regiones de la subunidad larga (D1-D3), 5.8S e ITS del ADNr para identificar y definir especies (Accoroni & Totti, 2016; Carnicer *et al.*, 2020). Se ha observado que en la especie *O. ovata* existen diferencias moleculares (haplotipos) con respecto a las áreas geográficas, por lo que comúnmente en los estudios las cepas son identificadas como *O. cf. ovata* (Accoroni & Totti, 2016; Zhang *et al.*, 2018; Carnicer *et al.*, 2020).

El género *Ostreopsis* se distribuye en zonas templadas y tropicales, donde se han documentado problemas debido a FANb que generalmente ocurren entre verano y otoño (Lenoir *et al.*, 2004; Accoroni & Totti, 2016). Las especies de *Ostreopsis* pueden producir paliotoxinas, ovatoxinas, mascarenotoxinas y sus análogos, siendo las especies más estudiadas en estos temas *O. ovata* y *O. cf. ovata* (Lenoir *et al.*, 2004; García-Altres *et al.*, 2015; Accoroni & Totti, 2016). Aunado a lo anterior, se ha demostrado toxicidad en otras especies como: *O. siamensis*, *O. mascarenensis*, *O. heptagona* y *O. lenticularis* (Lenoir *et al.*, 2004; García-Altres *et al.*, 2015; Carnicer *et al.*, 2020; Lundholm *et al.*, 2023).

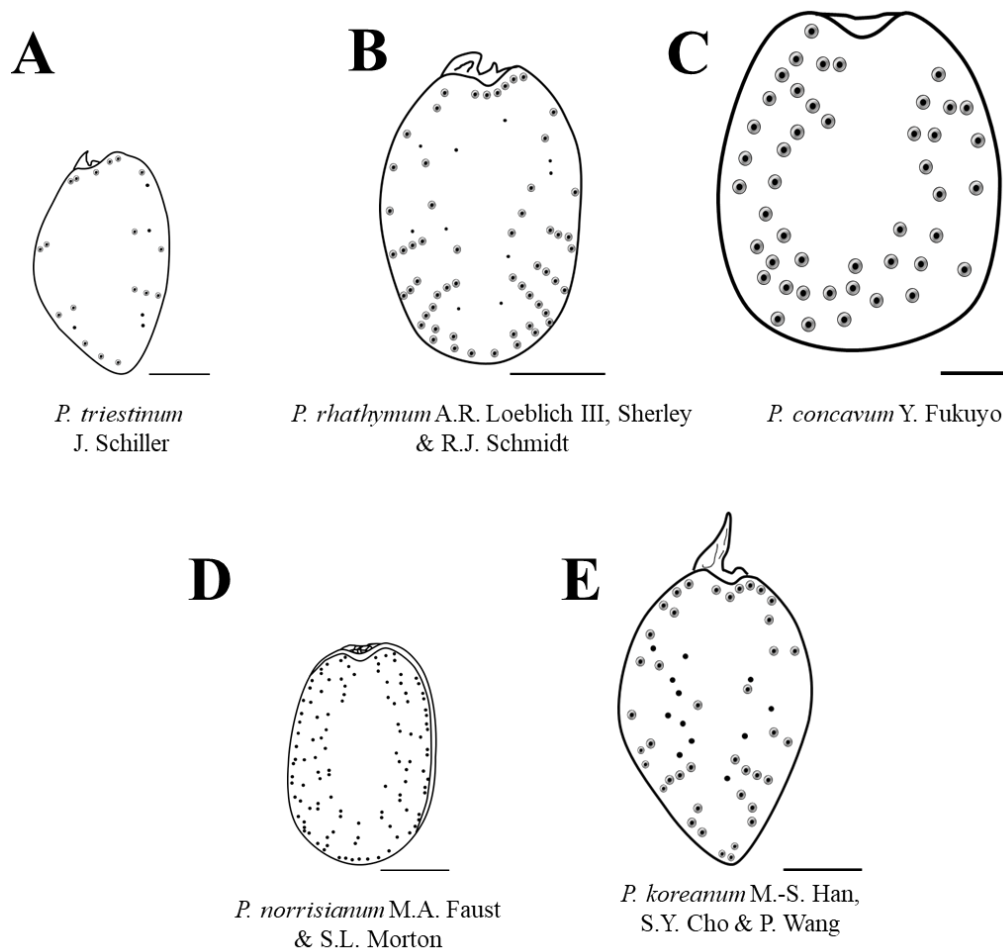
#### 1.4.5 *Prorocentrum* Ehrenberg

El género *Prorocentrum* es uno de los taxones más diversos, es cosmopolita y contiene especies que habitan en ambientes planctónicos y bentónicos (Hoppenrath *et al.*, 2014; Chomérat *et al.*, 2019). El grupo cuenta con alrededor de 80 especies que incluyen ~30 especies epibentónicas (Hoppenrath *et al.*, 2014; Guiry & Guiry, 2022).

Las células de *Prorocentrum* miden de 10 a 100  $\mu\text{m}$  de largo (Hoppenrath *et al.*, 2014; Morquecho *et al.*, 2016; Guiry & Guiry, 2022). Se caracterizan por ser comprimidas lateralmente, y por presentar dos valvas (derecha e izquierda) separadas por una sutura sagital (SS). A diferencia de otros dinoflagelados que presentan un cingulum y sulcus (dinoconte; Figs. 1 A y B) los Prorocentrales muestran una morfología tipo desmoconte (Fig. 1 C). El área periflagelar se compone de una espina apical desarrollada, otra espina poco desarrollada, y de 7 a 8 placas que presentan características morfológicas únicas, que ayudan a la identificación de especies. No obstante, el área periflagelar es difícil de observar por lo que no ha sido caracterizada en todas las especies actualmente aceptadas (Hoppenrath *et al.*, 2014; Han *et al.*, 2016; Chomérat *et al.*, 2019). Aunado a lo anterior, la zona periflagelar dispone de dos poros, un poro flagelar donde emergen los dos flagelos y un poro accesorio que está relacionado con la producción de mucus (Hoppenrath *et al.*, 2014). Otra característica diagnóstica para diferenciar especies de *Prorocentrum* es el tipo, número, tamaño y disposición de poros de la superficie valvar (Verma *et al.*, 2019; Fig. 6). A pesar de que el grupo presenta una morfología simple, esto ha causado que la identificación de especies se complique debido a que las características se comparten entre diversos taxones.

Por lo anterior, los estudios taxonómicos actuales deben ir acompañados de herramientas moleculares.

Algunas especies de *Prorocentrum* producen ácido okadaico, macrólidos, prorocontrolidos, iminas cíclicas y espiro-prorocentriminas (Pearce *et al.*, 2005; Hoppenrath *et al.*, 2014). En el listado de especies formadoras de florecimientos algales de la IOC-UNESCO se reportan 17 especies de este género, incluyendo especies epibentónicas-ticoplanctónicas: *Prorocentrum concavum*, *Prorocentrum emarginatum*, *Prorocentrum hoffmannianum*, *Prorocentrum cassubicum*, *Prorocentrum lima*, *Prorocentrum leve* y *Prorocentrum rhathymum* (Lundholm *et al.*, 2023).



**Figura 6.** Especies de *Prorocentrum* en vista valvar derecha. Se observa la forma celular, disposición de poros pequeños y de tricocistos, y la espina apical. Dibujos realizados a partir de imágenes de microscopía electrónica de barrido publicadas por: Mohammad-Noor *et al.* (2004); Han *et al.* (2016); Chomérat *et al.*, (2019); Wu *et al.* (2022). Barras de escala: A= 5  $\mu$ m, B-E= 10  $\mu$ m.

#### 1.4.6 *Symbiodinium* Freudenthal, 1962

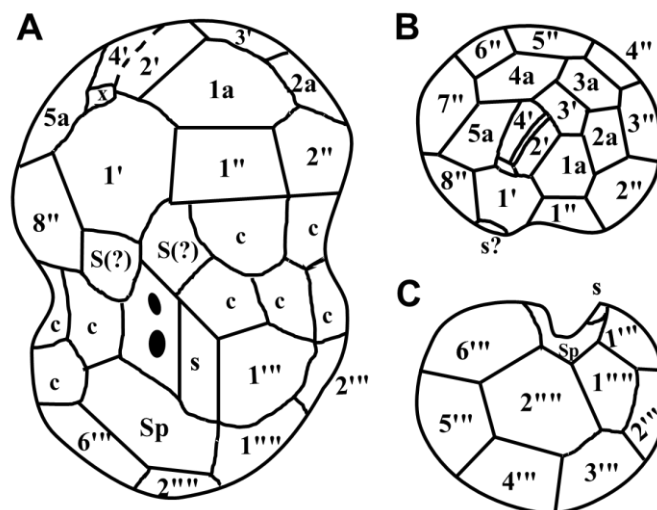
Las especies del género *Symbiodinium* son simbioses oportunistas y de vida libre. El nombre actualmente es sinónimo de *Zooxanthella* K. Brandt (Guiry & Guiry, 2022). Las reconstrucciones filogenéticas con genes ribosomales (28S y 23S) y de cloroplastos (psbA) han revelado clados evolutivamente divergentes, actualmente se reconocen alrededor de nueve clados principales (clados del A al I) de *Symbiodinium* (Hansen & Daugbjerg, 2009; Pochon & Gates, 2010; Yamashita & Koike, 2013; LaJeunesse *et al.*, 2018). Se han propuesto nuevos géneros con respecto a estas agrupaciones: *Symbiodinium* Gert Hansen & Daugbjerg (clado A), *Breviolum* J.E. Parkinson & LaJeunesse (clado B), *Cladocopium* LaJeunesse & H.J. Jeong (clado C), *Durusdinium* LaJeunesse (clado D), *Effrenium* LaJeunesse & H.J. Jeong (clado E), *Fugacium* LaJeunesse (clado F) y *Gerakladium* LaJeunesse (clado G; LaJeunesse *et al.*, 2018).

Las cepas analizadas en este estudio se agrupan dentro del clado A, que está integrado por: *Symbiodinium microadriaticum*, *Symbiodinium necroappetens*, *Symbiodinium tridacnidarum*, *Symbiodinium natans* y *Symbiodinium linuchae* (Hansen & Daugbjerg, 2009; LaJeunesse *et al.*, 2018). El clado A, incluye especies de vida libre como *Symbiodinium pilosum* y *S. natans* (Yamashita & Koike, 2013; LaJeunesse *et al.*, 2015), otro grupo con formas transitorias, de vida libre y simbioses (zooxantelas) que se pueden encontrar asociados al hospedador invertebrado o protista.

La simbiosis mutualista dentro del grupo ha sido de los procesos biológicos más estudiados, dicho proceso se observa entre especies de *Symbiodinium* y corales pétreos. Esto es trascendental para comprender la salud de los arrecifes de coral tropicales y subtropicales ante los cambios ambientales actuales (Yamashita & Koike, 2013). Siendo los arrecifes coralinos de vital importancia debido a que son zonas de refugio y de alimentación de una gran variedad de vertebrados e invertebrados marinos.

La morfología del grupo puede variar dependiendo de la fase en la que se encuentre, pudiendo observar su fase cocoide típica de la reproducción asexual, formas elipsoidales a formas de hongo (fase móvil). Las células cocoides pueden medir de 8 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro (LaJeunesse *et al.*, 2018). Mientras que las células móviles pueden tener un tamaño promedio que va de 6 a 12  $\mu\text{m}$  de largo (Hansen & Daugbjerg, 2009; LaJeunesse *et al.*, 2018). El género *Symbiodinium* presenta placas anfiesmáticas, el número, forma y posición de las placas son

caracteres descriptivos (Fig. 7). Lo anterior, debido a que no proporcionan información relevante para la identificación de especies o clados (Lee *et al.*, 2015; LaJeunesse *et al.*, 2018).



**Figura 7.** Placas de *Symbiodinium natans*. A) Vista ventral. B) Vista apical. C) Vista antapical. La línea discontinua hace referencia a la vesícula apical; c= placas cingulares, s= placas sulcales, círculos negros indican= zonas de inserción de los flagelos. Imagen realizada a partir de los estudios de Hansen & Daugbjerg (2009) y LaJeunesse *et al.* (2018).

#### 1.4.7 *Vulcanodinium* E. Nézan & N. Chomérat

El género *Vulcanodinium* se ubica en el orden Peridiniales Macalister, actualmente lo integra la especie *Vulcanodinium rugosum* Nézan & Chomérat (Guiry & Guiry, 2022). La especie fue descrita por primera vez en el 2011, siendo la localidad tipo del género una laguna de la costa Mediterránea Francesa (Nézan & Chomérat, 2011). El género es muy similar a *Bysmatrum* y *Scrippsiella*, y comparte características morfológicas con géneros como *Azadinium* y *Amphidoma*. Las observaciones de cultivo (ciclo reproductivo y crecimiento) combinado con herramientas de microscopía electrónica de barrido y moleculares ayudaron a concluir que se trataba de un género distinto (Nézan & Chomérat, 2011; Zeng *et al.*, 2012; Garrett *et al.*, 2014).

Las células móviles de *Vulcanodinium* oscilan entre 22 y 37.5  $\mu\text{m}$  de longitud y de 20 a 30  $\mu\text{m}$  de ancho (Nézan & Chomérat, 2011; Rhodes *et al.*, 2011; Zeng *et al.*, 2012; Garrett *et al.*, 2014; Hoppenrath *et al.*, 2014). Mientras que las células no móviles miden de

22 a 50  $\mu\text{m}$  de diámetro (Rhodes *et al.*, 2011; Garrett *et al.*, 2014). Las células vegetativas presentan núcleo central grande y numerosos cloroplastos pequeños de color verde-marrón (Hernández-Becerril *et al.*, 2013; Garrett *et al.*, 2014). Las células son bicónicas, con la epitoca cónica y ápice truncado. La hipoteca es trapezoidal, siendo esta más redondeada en vista ventral. El cíngulo es excavado y está desplazado hacia el antapex de 1.5 a 2 veces su ancho (Hoppenrath *et al.*, 2014). El sulcus es sigmoide (Hoppenrath *et al.*, 2014). Las tecas llenas de estrías longitudinales (Nézan & Chomérat, 2011). De acuerdo con el sistema de Kofoid esta especie presenta formula tecal Po, X, 4', 3a, 7'', 6c (5c+T), 6s, 5''', 2'''' (Fig. 8). La primera placa apical (1') es estrecha y profunda. Las placas 1' y 2' son pentagonales, mientras que la 3' es hexagonal (Nézan & Chomérat, 2011; Zeng *et al.*, 2012).

Las condiciones a las que se han cultivado cepas de *V. rugosum* son diversas (Tabla II). Se ha observado que las temperaturas óptimas de crecimiento en dicha especie son de 25 a 30 °C; y salinidades de 25 y 40, con estas condiciones combinadas se han alcanzado abundancias hasta de 4252 cel mL<sup>-1</sup> con tasas de crecimiento de 0.39 div d<sup>-1</sup> (Abadie *et al.*, 2016). Por lo anterior, se considera que la especie puede preferir aguas cálidas y marinas (Hernández-Becerril *et al.*, 2013; Abadie *et al.*, 2016).

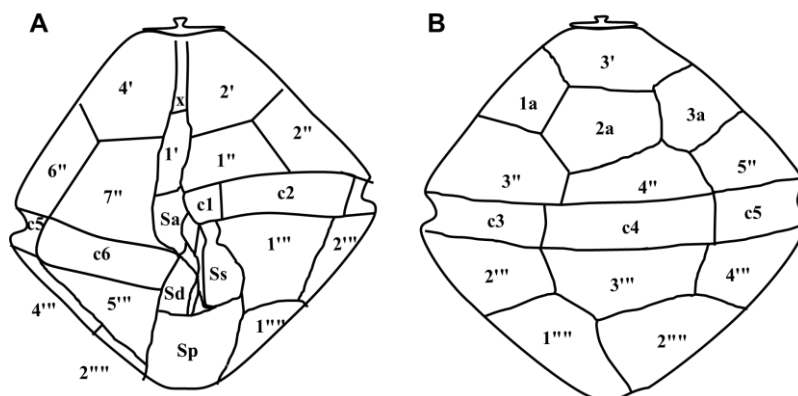
**Tabla II.** Condiciones de cultivo de *Vulcanodinium rugosum*. SD= Sin dato.

Referencia	Medio	Temperatura (°C)	Salinidad	Irradiancia ( $\mu\text{molE m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	Lugar
Rhodes <i>et al.</i> (2011)	K	25	SD	SD	Australia, Nueva Zelanda y Japón
Zeng <i>et al.</i> (2012)	f/2 con silicatos	20	SD	90	China
Hernández-Becerril <i>et al.</i> (2013)	L1SE	18 y 20	SD	90 y 167	Costas de Michoacán, México
Garrett <i>et al.</i> (2014)	GSe	25	25	100	Florida, EUA
Abadie <i>et al.</i> (2016)	ENSW	20 a 30	20 a 40	100	Laguna Mediterránea Francesa
Bouquet <i>et al.</i> (2023)	ENSW	22 a 25	35	100	Laguna Mediterránea Francesa

Se han reportado trabajos sobre morfología en el Pacífico tropical mexicano por Hernández-Becerril *et al.* (2013) y en Baja California Sur por Morquecho *et al.* (2016). Sin



embargo, falta información con respecto a la toxicidad, filogenia, crecimiento y fisiología de esta especie en México.



**Figura 8.** Disposición de placas en *Vulcanodinium rugosum*. A) Vista ventral. B) Vista dorsal, placas apicales ('), precingulares ("), sulcales (s), cingulares (c), post-cingulares (""') y antapicales (""'). X= placa del canal, Sa= placa sulcal anterior, Sd= placa sulcal derecha, Ss= placa sulcal izquierda, Sp= placa sulcal posterior. Dibujos realizados a partir de los estudios morfológicos de Nézan & Chomérat (2011), Rhodes *et al.*, (2011) y Zeng *et al.*, (2012).

## 2. ANTECEDENTES

Existen pocos estudios enfocados en los dinoflagelados epibentónicos del Golfo de California, entre los cuales se encuentra el estudio de Gárate-Lizárraga & Martínez-López (1997) quienes reportaron un FAN de *Prorocentrum mexicanum* Osorio-Tafall (dinoflagelado tecado y bentónico-detrítico) en la Bahía de La Paz. Siendo el primer registro de una “marea roja” de esta especie en el Golfo de California. Este evento tuvo 20 m de longitud, presentó un color amarillento y una abundancia de 3,135, 200 cel L<sup>-1</sup>. En este evento también registraron dos especies ticoplanctónicas: *Prorocentrum micans* Ehrenberg y *Prorocentrum gracile* F. Schütt.

Un evento de FAN de *A. carterae* Hulburt ocurrido en 2011, fue reportado por Gárate-Lizárraga (2012) en la Bahía de La Paz. Las abundancias fueron de 28.2 a 64.8 × 10<sup>3</sup> cel L<sup>-1</sup>. A pesar de ser una especie bentónica, se detectó el evento en la superficie, esto se atribuyó a los vientos del noroeste de diciembre que pueden provocar surgencias. Además, utilizando caracteres morfológicos identificaron a *Coolia monotis*, con abundancias de 200 a 400 cel L<sup>-1</sup>.

En la Bahía de La Paz en el periodo de 2006 a 2007, Muciño-Márquez *et al.* (2014) realizaron un estudio sobre la variación de *Prorocentrum* spp. en granjas atuneras. Reportaron un total de 12 especies de este género, de ellas ocho son formadoras de FAN y cinco productoras de toxinas. De las especies epibentónicas tóxicas que registraron se enlistaron a *Prorocentrum emarginatum* Y. Fukuyo, *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) F. Stein, *Prorocentrum minimum* (Pavillard) J. Schiller y *P. rathymum* Loeblich, Sherley y Schmidt. Posteriormente, Morquecho *et al.* (2016), reportaron a *C. monotis*, *Ostreopsis* cf. *ovata* y ocho especies del género *Prorocentrum* en el sur del Golfo de California.

Se han realizado revisiones bibliográficas sobre microalgas formadoras de FAN en México, incluyendo el Golfo de California (Band-Schmidt *et al.*, 2011; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2016). Tomando en cuenta estas revisiones, en el Golfo de California se reconoce la presencia de cinco géneros de dinoflagelados epibentónicos nocivos: *Amphidinium*, *Coolia*, *Gambierdiscus*, *Prorocentrum* y *Ostreopsis*, siendo el más representativo el género *Prorocentrum*. Además, se concluyó que una de las líneas de investigación poco abordadas era el uso de las herramientas moleculares en la identificación de especies.

Una de las revisiones más recientes y dirigida a las especies epibentónicas fue realizada por Durán-Riveroll *et al.* (2019). Dicha revisión se enfoca en la biodiversidad y biogeografía de los dinoflagelados bentónicos de las costas de América Latina, donde se enlistan al menos 45 especies de dinoflagelados epibentónicos, agrupados en 15 géneros de aguas costeras mexicanas (Pacífico y Atlántico). Los estudios incluidos en este listado se centran en especies de aguas subtropicales y tropicales, principalmente de los géneros *Prorocentrum*, *Gambierdiscus/Fukuyoa*, *Coolia*, *Ostreopsis* y *Amphidinium*.

Los primeros estudios moleculares en el Golfo de California incluyeron especies bentónicas y planctónicas. Cohen-Fernández *et al.* (2010) realizaron un análisis filogenético de 19 cepas del género *Prorocentrum*, de las cuales cinco fueron obtenidas de las costas de Baja California Sur. En este estudio se reportaron *Prorocentrum gracile*, *P. micans* y *P. mexicanum*, siendo las dos primeras especies picoplánctónicas. Por otro lado, Herrera-Sepúlveda *et al.* (2013) realizaron pruebas de huellas dactilares por electroforesis capilar, empleando fragmentos de los genes 28S y 18S del ADNr. Lo anterior, con el propósito de realizar una identificación rápida de especies formadoras de FAN. Como productos de estas

pruebas secuenciaron ambas regiones del ADNr para *P. rhathymum* y *P. minimum*, las cuales están disponibles en las bases de datos de secuencias genéticas del National Center for Biotechnology (NCBI).

Los estudios más recientes sobre dinoflagelados epibentónicos, incluyen análisis integrativos sobre la morfología, análisis moleculares, toxicidad y crecimiento en los géneros *Prorocentrum* y *Coolia* (Cembella *et al.*, 2021; Morquecho *et al.*, 2022; Ramos-Santiago *et al.*, 2022). Cembella *et al.* (2021) incluyen las relaciones inter e intraespecíficas del complejo *P. lima* y *Prorocentrum hoffmannianum*, apoyándose en la morfotaxonomía, filogenia molecular y quimiodiversidad. Los aislados que se analizaron provienen de muestras de Baja California Sur, el Mar Caribe y el Golfo de México. Para la parte de filogenia molecular emplearon el análisis de secuencias del ADNr de las regiones de la subunidad grande (28S) e ITS que incluye las regiones ITS1, 5.8S e ITS2. Los autores concluyeron que existen lagunas en la filogeografía de estas especies bentónicas de *Prorocentrum*, pocos registros confirmados de toxicidad celular y composición de toxinas, así como una escasez de la confirmación molecular de las identidades de las especies y las relaciones filogenéticas.

Morquecho *et al.* (2022) y Ramos-Santiago *et al.* (2022) realizaron análisis detallados sobre la morfología, análisis moleculares y de crecimiento de *C. malayensis*, siendo los primeros reportes concluyentes de la presencia de esta especie para la Bahía de La Paz. Aunado a lo anterior, Morquecho y colaboradores también realizaron los primeros reportes de *Coolia palmyrensis*, *Coolia tropicalis* y *Coolia* cf. *canariensis* para la zona, empleando características morfológicas y secuencias de tres regiones del ADNr (5.8S, 28S e ITS).

En trabajos de tesis se han reportado especies epibentónicas en la Bahía de La Paz de los géneros *Coolia*, *Prorocentrum* y *Amphidinium* (Sepúlveda-Villarraga, 2013; Hernández-Castro, 2017; Villa-Arce, 2021; Herrera-Herrera, 2022; Ramos-Santiago *et al.*, 2022). Para la descripción de estos taxones, emplearon distintos métodos como la combinación de análisis morfológicos, moleculares (secuencias de la región 28S, 18S y 5.8S de ADNr) y curvas de crecimiento. Sepúlveda-Villarraga (2013) reportó a las especies *Ostreopsis* cf. *lenticularis*, *C. malayensis* y *Prorocentrum* cf. *rhathymum*. Por su parte, Villa-Arce (2021) reportó por primera vez la presencia del dinoflagelado epibentónico *Prorocentrum cassubicum* para la Bahía de La Paz, México. Mientras que Herrera-Herrera (2022) estudió

la interacción alelopática entre *A. thermaeum* y *C. malayensis*, mostrando efectos en la morfología y el crecimiento en esta última especie.

Leyva-Valencia *et al.* (2021) realizaron un monitoreo de toxinas lipofílicas de 2015 al 2017 en la Bahía de La Paz, incluyendo la Ensenada de La Paz. Los autores relacionaron la presencia de toxinas lipofílicas (ácido okadaico, pectentoxinas y yesotoxinas) con especies de dinoflagelados encontradas: *Prorocentrum* spp., *Protoceratium reticulatum* y *Dinophysis caudata*. Además, mencionan que del grupo de las iminas cíclicas como las gymnodiminas (GYMs) y las pinnatoxinas (PnTX) podrían estar relacionadas con la presencia de dinoflagelados epibentónicos. No lograron identificar al organismo productor de las GYMs, sin embargo, la presencia de las PnTX detectadas en tejidos de *A. maura* fueron indicadoras de la presencia de *V. rugosum* en la Ensenada de La Paz. De otras toxinas presentes en los tejidos de los moluscos, como los espirólidos y azaspirácidos no lograron identificar a las especies que las producen.

Estos antecedentes, evidencian la necesidad de realizar estudios que aporten información morfológica y molecular de los dinoflagelados epibentónicos presentes en el Golfo de California. Por lo que en el presente estudio se plantean las siguientes preguntas de investigación: ¿Qué especies de dinoflagelados epibentónicos se distribuyen en el Golfo de California? ¿Existirá concordancia entre la taxonomía tradicional (análisis de los caracteres morfológicos) y la taxonomía molecular (ADN ribosomal), de los dinoflagelados epibentónicos que se han reportado en el Golfo de California?

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Existen estudios previos donde se identificaron dinoflagelados epibentónicos con base en caracteres morfológicos y microscopía convencional. No obstante, algunas especies no pueden ser identificadas utilizando solo estos criterios, debido a que su plasticidad fenotípica dificulta identificarlos a nivel de especie. Es necesario utilizar técnicas de microscopía especializada (*ej.* microscopía electrónica de barrido y epifluorescencia) e incluir análisis moleculares que permitan cotejarlos con secuencias de ADN de sus conespecíficos de otras regiones geográficas, las cuales están disponibles en bases de datos de acceso público como el GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Este estudio pretende contribuir a la correcta identificación de cultivos de dinoflagelados epibentónicos del Golfo de California, complementando el análisis de caracteres morfológicos con el uso de herramientas moleculares, para obtener secuencias de ADN ribosomal que aporten nueva información al inventario molecular que se está elaborando en el cepario de dinoflagelados del IPN-CICIMAR.

#### **4. HIPÓTESIS**

Al combinar técnicas de microscopía con análisis de marcadores moleculares, se corroborará la ocurrencia de especies de dinoflagelados epibentónicos previamente descritas en el Golfo de California, y permitirá la reclasificación de las que se han identificado solo a nivel de género.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **5.1 *Objetivo general***

- Identificar morfológica y molecularmente especies de dinoflagelados epibentónicos del Golfo de California.

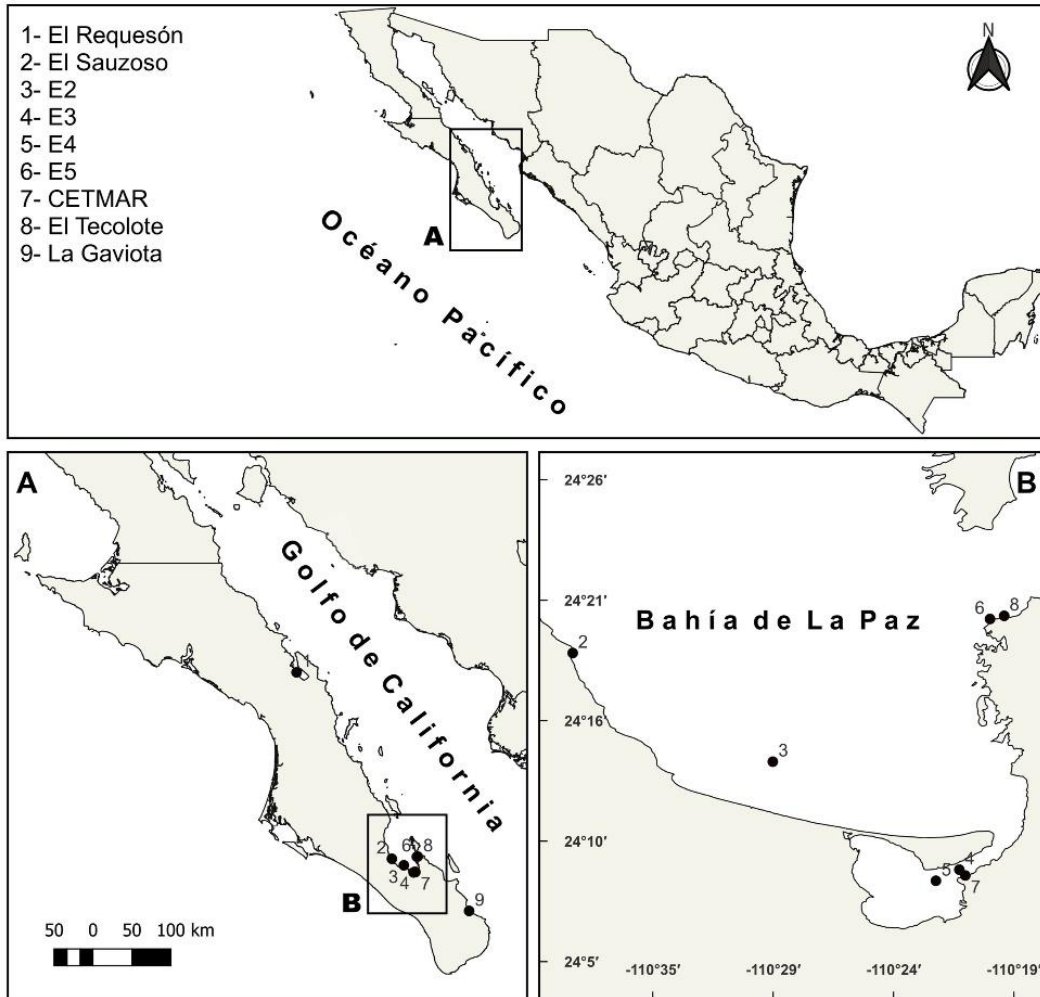
##### **5.1 *Objetivos particulares***

- Aislar, cultivar y describir morfológicamente dinoflagelados epibentónicos del Golfo de California.
- Documentar estados reproductivos que faciliten la identificación de especies de dinoflagelados epibentónicos.
- Identificar por medio de las regiones ITS, 5.8S y 28S del ADNr los dinoflagelados epibentónicos cultivables en laboratorio.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Área de estudio

El área de estudio comprende nueve puntos de muestreo: Bahía Concepción (playa el Requesón), Bahía de La Paz (Isla la Gaviota, playa el Sauzoso, Las Parcelas-E2, Pichilingue-E5 y el Tecolote) y en tres estaciones de la Ensenada de La Paz (Fig. 9). Uno de los sitios donde se realizaron mayor número de muestreos es el sur de la Bahía de La Paz, que presenta profundidades que van de los 10 a los 450 m, catalogándolo como el cuerpo de agua más grande y profundo de Baja California Sur (Obeso-Nieblas *et al.*, 2008, 2014). Los procesos de meso-escala (remolinos ciclónicos y las surgencias estacionales de invierno y primavera) que ocurren en el Golfo de California influyen en las condiciones hidrográficas de la Bahía La Paz. Las condiciones oceanográficas cercanas a la época de muestreo (noviembre-diciembre) que pueden repercutir en la presencia y abundancia de los dinoflagelados epibentónicos son: presencia de capa de mezcla cercana a los 100 m; temperaturas de los 17 a 27 °C (CICESE, 2023); vientos del norte y noroeste que suceden en otoño e invierno con velocidades de 10 a 12 m s<sup>-1</sup> (Obeso-Nieblas *et al.*, 2008). Estos últimos, pueden provocar una resuspensión de las células de estos dinoflagelados epibentónicos a la columna de agua (Gárate-Lizárraga, 2012).

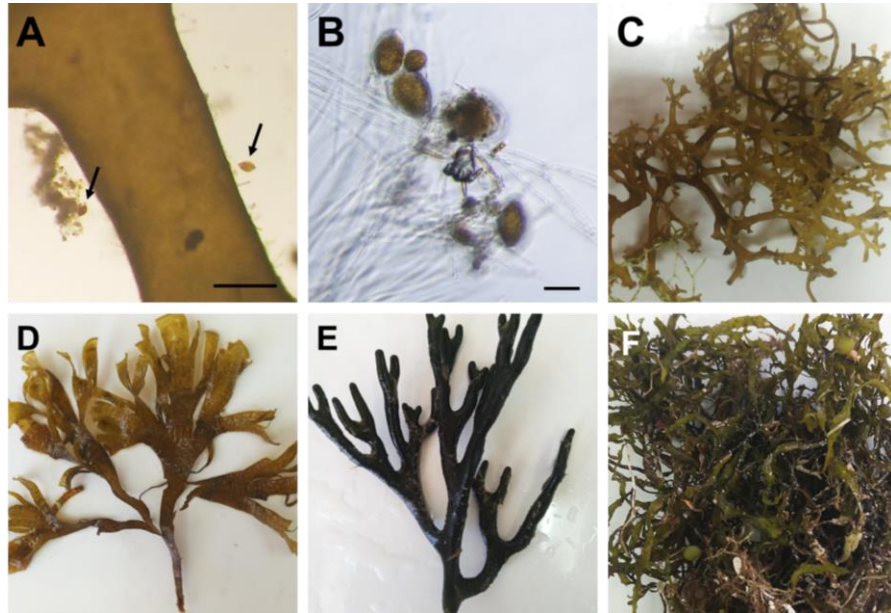


**Figura 9.** Sitios de muestreo del Golfo de California, E= estaciones. A) Se muestran nueve sitios de muestreo. B) Detalle de las estaciones de muestreo en la Ensenada La Paz y al sur de la Bahía La Paz.

## 6.2 Trabajo de campo

Los muestreos más recientes fueron llevados a cabo en noviembre del 2021, abril, junio y agosto del 2022 en las playas de El Requesón, El Sauzoso, El Tecolote y en la playa del CETMAR en la Ensenada de La Paz. Por la abundancia de algunos géneros de macroalgas en el área de estudio, el aislamiento se realizó de géneros de: *Padina* Adanson, 1763; *Laurencia* J.V. Lamouroux, 1813; *Halimeda* J.V. Lamouroux, 1812; *Dictyota* spp.; *Codium* spp.; *Acanthophora* spp. y *Sargassum horridum* Setchell & N.L. Gardner. Los grupos de macroalgas fueron seleccionados de acuerdo con la presencia y abundancia de éstas en los sitios de muestreo (Fig. 10).





**Figura 10.** Macroalgas recolectadas en el Golfo de California para el aislamiento de dinoflagelados epibentónicos. A y B) Células de *Ostreopsis* adheridas a *Acanthophora* spp. C) *Acanthophora* spp. D) *Dictyota* spp. E) *Codium* spp. F) *Sargassum horridum*. Barras de escala: A= 200 µm y B= 50 µm.

Los diferentes sustratos de macroalgas, arena y fango fueron obtenidos por buceo libre o SCUBA a profundidades < 10 m. Sobre los sustratos se colocaron bolsas plásticas o botes para evitar la pérdida de material. Las muestras se colocaron en hieleras a ~22 °C hasta su transportación al laboratorio. Por otro lado, en zonas someras (< 2 m) se realizaron muestreos con red de fitoplancton (de 10 y de 20 µm de luz de malla), realizando arrastres horizontales superficiales.

### 6.3 Aislamiento y condiciones de cultivo

Las muestras de macroalgas se agitaron vigorosamente para desprender los dinoflagelados epibentónicos. Posteriormente se retiró el sustrato y se tomaron alícuotas de 0.5 mL, estas fueron puestas sobre láminas portaobjetos diagnósticas (Neolab). Las células vegetativas fueron aisladas en un microscopio invertido Zeiss AXIO Vert A1, con ayuda de capilares con punta reducida. Por capilaridad se separaron los dinoflagelados en pequeñas gotas de medio GSe (Blackburn *et al.*, 2001) y medio K, realizando lavados de las células. El lavado o transferencia consistió en pasar las células de 3 a 5 veces en gotas de los medios GSe y K

para evitar una posible contaminación. Posteriormente, se pasaron las células a placas de 96 pozos con medio de cultivo, y se realizó un escalamiento progresivo hasta tener cultivos en tubos con volumen de 20 mL de cultivo, y en algunos casos las cepas fueron escaladas volúmenes de 1.5 L de cultivo. Las cepas se mantienen en medio GSe modificado, medio K, a salinidades de 32, 34 y 36, temperaturas de  $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , con iluminación continua de  $150\text{ }\mu\text{molE m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ , y ciclo de 12 h luz: 12 h oscuridad.

#### 6.4 Información de cepas

Se trabajó en la identificación de 34 cepas de dinoflagelados epibentónicos (Tabla III), de las cuales 15 cepas fueron proporcionadas del cepario de dinoflagelados del CICIMAR-IPN, a cargo de la Dra. Christine J. Band Schmidt. El resto de las cepas fueron obtenidas en muestreos llevados a cabo en noviembre del 2021, abril, junio y agosto del 2022.

**Tabla III.** Información de cepas de dinoflagelados epibentónicos aislados del Golfo de California. SD= Sin dato.

Cepa	Especie	Lugar de aislamiento	Aislador	Fecha
<b>S/I 51</b>	<i>A. carterae</i>	CETMAR	C.J. Band	09/08/2018
<b>S/I 52</b>	<i>A. carterae</i>	CETMAR	C.J. Band	09/08/2018
<b>AS22</b>	<i>Amphidinium cf. operculatum</i>	El Sauzoso	A.E. Ramos	22/06/2022
<b>CT1</b>	<i>C. malayensis</i>	El Tecolote	A.E. Ramos	12/06/2022
<b>CT2</b>	<i>C. malayensis</i>	El Tecolote	A.E. Ramos	12/06/2022
<b>CT3</b>	<i>C. malayensis</i>	El Tecolote	A.E. Ramos	12/06/2022
<b>CT4</b>	<i>C. malayensis</i>	El Tecolote	A.E. Ramos	12/06/2022
<b>G 7</b>	<i>C. malayensis</i>	El Requesón	A.E. Ramos	08/04/2022
<b>TC12</b>	<i>C. malayensis</i>	El Tecolote	A.E. Ramos	12/06/2022
<b>SO1</b>	<i>O. lenticularis</i>	El Sauzoso	A.E. Ramos	22/06/2022
<b>SO2</b>	<i>O. ovata</i>	El Sauzoso	A.E. Ramos	04/08/2022
<b>SO3</b>	<i>O. ovata</i>	El Sauzoso	A.E. Ramos	04/08/2022
<b>SO4</b>	<i>O. lenticularis</i>	El Sauzoso	A.E. Ramos	04/08/2022
<b>Gamb-1</b>	<i>G. carpenteri</i>	La Gaviota	L. Fernández	23/04/2020
<b>Gamb-3</b>	<i>G. carpenteri</i>	La Gaviota	L. Fernández	23/04/2020
<b>BAPAZ</b>	<i>Prorocentrum norrisianum</i>	CETMAR	SD	01/07/2019
<b>Proro 1</b>	<i>P. rhathymum</i>	CETMAR	SD	16/08/2018
<b>S/I 27</b>	<i>P. rhathymum</i>	Estación 5	C.J. Band	03/11/2017
<b>S/I 54</b>	<i>P. rhathymum</i>	Estación 2	R. Flores	10/07/2018
<b>S/I 57</b>	<i>P. rhathymum</i>	Estación 4	A.E. Ramos	10/07/2018
<b>S/I 59</b>	<i>P. rhathymum</i>	Estación 3	R. Flores	10/07/2018
<b>PT22A</b>	<i>P. rhathymum</i>	El Tecolote	A.E. Ramos	12/06/2022
<b>PT22B</b>	<i>P. rhathymum</i>	El Tecolote	A.E. Ramos	12/06/2022
<b>PS22</b>	<i>P. rhathymum</i>	El Sauzoso	A.E. Ramos	22/06/2022

<b>RP3</b>	<i>P. concavum</i>	El Requesón	A.E. Ramos	08/04/2022
<b>B7</b>	<i>P. concavum</i>	El Requesón	A.E. Ramos	08/04/2022
<b>S/I 21</b>	<i>P. koreanum</i>	Estación 2	C.J. Band	03/11/2017
<b>S/I 35</b>	<i>P. koreanum</i>	Estación 2	C.J. Band	30/11/2017
<b>N</b>	<i>P. koreanum</i>	El Requesón	A.E. Ramos	08/04/2022
<b>RP1</b>	<i>P. koreanum</i>	El Requesón	A.E. Ramos	08/04/2022
<b>Predfield</b>	<i>Prorocentrum triestinum</i>	Estación 5	M. Zumaya	13/06/2015
<b>S/I 50</b>	<i>Symbiodinium natans</i>	CETMAR	C.J. Band	09/08/2018
<b>s/i 53</b>	<i>S. natans</i>	CETMAR	C.J. Band	09/08/2019
<b>Vr-B2</b>	<i>Vulcanodinium cf. rugosum</i>	CETMAR	I. Leyva	09/11/2021

## 6.5 Identificación morfológica

La identificación de las especies epibentónicas se realizó con ayuda de literatura especializada (ej. Hoppenrath *et al.*, 2014). Para la identificación morfológica en general (dinoflagelados tecados y atecados) se consideraron la forma y el tamaño celular. Además, para los dinoflagelados tecados se describió la forma, arreglo, y tamaño de las placas, forma y número de las espinas apicales, así como tamaños de poros que componen a las tecas. Para observar estas características se tomaron fotografías de microscopía de luz para células vivas (Microscopio invertido Axio Vert A1, Carl Zeiss). Se utilizó microscopía de epifluorescencia (Microscopio Zeiss Axio Scope A.1, cámara AxioCam 506 color) con tinciones de calcoflúor (White stain) para la teca, y DAPI (sigma; 4, 6- Diamidino- 2- Phenylindole) para visualizar la posición y tamaño del núcleo. Además, se realizaron tinciones de tecas vacías con Trypan blue al 0.2%.

### 6.5.1 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Para realizar el procesamiento de muestras de MEB se revisaron y combinaron metodologías empleadas por diversos autores con dinoflagelados atecados y tecados (Jørgensen *et al.*, 2004; Gómez-Lizárraga *et al.*, 2019; Pérez-López *et al.*, 2020). Volúmenes de un mL de las diferentes cepas de dinoflagelados epibentónicos se prefijaron con 0.5 mL de glutaraldehído al 4%; dejándolos en oscuridad por 90 min. Posteriormente, se realizó una postfijación con tetróxido de osmio (OsO<sub>4</sub>) al 2%, las muestras se dejaron en oscuridad por aproximadamente dos horas hasta que las células se tornaron de color negro (indicativo de una fijación completa). Transcurridos los tiempos de fijación, se realizaron lavados por centrifugación

(Thermo Scientific™ Sorvall™ Legend™ XTR), con agua destilada estéril fría (evita la formación de cristales) para eliminar los residuos de fijadores. Se realizaron deshidrataciones graduales con etanol (EtOH) al 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100%. En cada paso de deshidratación se resuspendieron las células suavemente por aproximadamente 1 min y se centrifugaron a 800 x g a 4 °C durante 5 min. A las muestras decantadas se les agregó de 100 a 200 µL de Hexametildisilazano (HMDS) y se colocaron en portamuestras metálicas donde se dejaron secar durante 12 h.

También se realizaron tratamientos en el género *Amphidinium* que consistieron en la fijación directa con OsO<sub>4</sub>, para después realizar los procedimientos antes mencionados. Para algunos géneros tecados como *Prorocentrum* y *Gambierdiscus* se llevaron a cabo procesos de eliminación de materia orgánica con peróxido de hidrógeno al 37%, las muestras se dejaron con este reactivo por cinco días. Una vez limpias las células se procedió a realizar la deshidratación con alcohol. Las diferencias de las metodologías empleadas y los resultados de estas se encuentran en los Anexos I y II.

Las muestras se mantuvieron en un desecador con sílica gel para evitar la humedad hasta su envío al Servicio Académico de Microscopía Electrónica de Barrido (SAMEB) del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICML), UNAM. Como parte del proceso, las muestras fueron recubiertas con oro en un ionizador (Ion Sputter JEOL-JFC-1100, Japón) durante 5 min y examinadas en un microscopio electrónico de barrido tipo JEOL JMS-6360-LV. Las microfotografías fueron editadas con el programa Photoshop CS6 Portable® (v. 13.1.2).

## **6.6 Identificación molecular**

### **6.6.1 Extracción de ADN y amplificación por PCR**

Se realizó la extracción de ADN de 34 aislados, utilizando el kit Quick-ADN™ Miniprep plus universal (Zymo research). Para la amplificación se empleó una mezcla de 4 µL de PCR Master mix 5X (Gene And Cell Technologies, EUA), 14.8 µL de H<sub>2</sub>O milli-Q, 2 µL de iniciadores y 2 µL de ADN. Para amplificar el ADN de ciertas muestras se emplearon diluciones de 1:100 y 1:500 µL (ADN: H<sub>2</sub>O milli-Q). Se usaron iniciadores de las regiones 5.8S, 28S e ITS del ADNr ya publicados (véase Tabla IV). El programa de amplificación

para las regiones 28S (gen D1-D2) y 5.8S del ADNr consistió en un paso de desnaturalización a 95 °C durante 5 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C durante 1 min, temperatura de alineamiento de 52 °C durante 1 min, 72 °C durante 2 min, y finalmente una extensión a 72 °C por 7 min. Por otro lado, el programa para la región ITS consistió en una desnaturalización a 94 °C durante 3.5 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C durante 50 s, temperatura de alineamiento de 47 °C durante 1 min y a 72 °C por 1.20 min, finalizando con una extensión a 72 °C durante 10 min.

Los productos del PCR se purificaron empleando Quick-DNA™ Miniprep kit (Zymo research). Las muestras de PCR se verificaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% con Buffer TBE 1X. Se digitalizó la imagen bajo el sistema ChemiDoc XRS+ de Bio-Rad. Los productos de PCR se enviaron para su secuenciación a la compañía de MCLAB, (San Francisco California, EUA).

**Tabla IV.** Iniciadores 5.8S, 28S e ITS del ADN ribosómico.

oligonucleótidos	<i>forward</i>	<i>reverse</i>	Referencia
5.8S	TATGCTTAAATTC AGCGGGT	GTGAACCTGCA GAAGGTCA	Hosoi-Tanabe <i>et al.</i> (2006)
28S	ACCCGCTGAATT TAAGCATA	TGGTCCGTGTT TCAAGAGACT	
ITS	CCTCGTAACAAG GHTCCGTAGGT	CAGATGCTTAA RTTCAGCRGG	Adachi <i>et al.</i> (1996)

### 6.6.2 Análisis filogenéticos

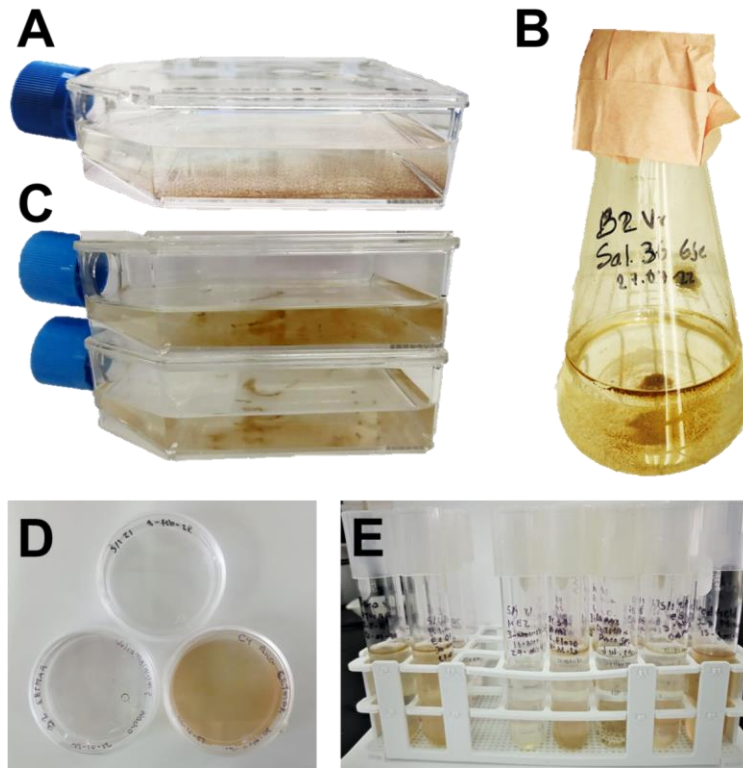
Las secuencias se editaron con el programa Sequencher v.4.1.4. Se realizaron análisis BLAST de la secuencia consenso (obtenida con la fusión de las secuencias *Forward* + *Reverse*), con secuencias de la base de datos del GenBank. De esta base de datos, se seleccionaron secuencias de las regiones correspondientes para la reconstrucción de los árboles filogenéticos, y se eligieron secuencias para utilizarlas como grupos externos. La alineación de las secuencias se realizó con el programa MEGA 10.0.5, usando el algoritmo de alineamiento MUSCLE. Para los análisis filogenéticos se seleccionaron los modelos que

mejor describieron las tasas de sustitución nucleotídica de las secuencias, utilizando el programa JModel test v2.1.10. Se utilizó el programa Mega 10.0.5 para el algoritmo de máxima verosimilitud (ML) y Máxima Parsimonia (MP), y Mr. Bayes v. 3.2.7a para el algoritmo de Inferencia Bayesiana (IB). La construcción de los árboles se realizó con un *bootstrap* de 1000 réplicas para ML y  $3 \times 10^6$  generaciones para IB. Los árboles fueron editados con el programa Photoshop®.

## **7. RESULTADOS**

### **7.1 Taxonomía morfológica**

Se describió la morfología y estados reproductivos de 34 cepas de dinoflagelados epibentónicos, se identificaron 13 especies, repartidas en siete géneros (*Amphidinium*, *Coolia*, *Gambierdiscus*, *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Symbiodinium* y *Vulcanodinium*). Para evidenciar las estructuras observadas y descritas en este apartado, las láminas de epifluorescencia y tinción de Trypan blue se encuentran en el Anexo III. En el anexo IV, se incluye información sobre el hábitat, distribución, ecología y toxicidad de las especies aquí reportadas. Las cepas identificadas se mantienen en diferentes condiciones de cultivo debido a los distintos requerimientos de estas (Fig. 11).



**Figura 11.** Cultivos de dinoflagelados epibentónicos del CICIMAR-IPN. A y C) *Ostreopsis* y *Gambierdiscus* en medio K, en frascos de cultivo celular de 250 mL. B) *Vulcanodinium* en medio GSe modificado en matraces de vidrio de 1 L. D) *Coolia* y *Prorocentrum* en cajas Petri de plástico de 90x15 mm. E) *Amphidinium*, *Coolia*, *Prorocentrum* y *Symbiodinium* en tubos de vidrio de 50 mL. Barras de escala de 3 cm.

### 7.1.1 *Amphidinium carterae* Hulburt

#### Cepas y tamaños celulares:

<sup>1</sup>s/i 51:  $12.97 \pm 1.65 \mu\text{m}$  de largo,  $9.54 \pm 1.11 \mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DE; n= 30).

<sup>2</sup>s/i 52:  $13.15 \pm 1.28 \mu\text{m}$  de largo,  $9.86 \pm 1.01 \mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DE; n= 33).

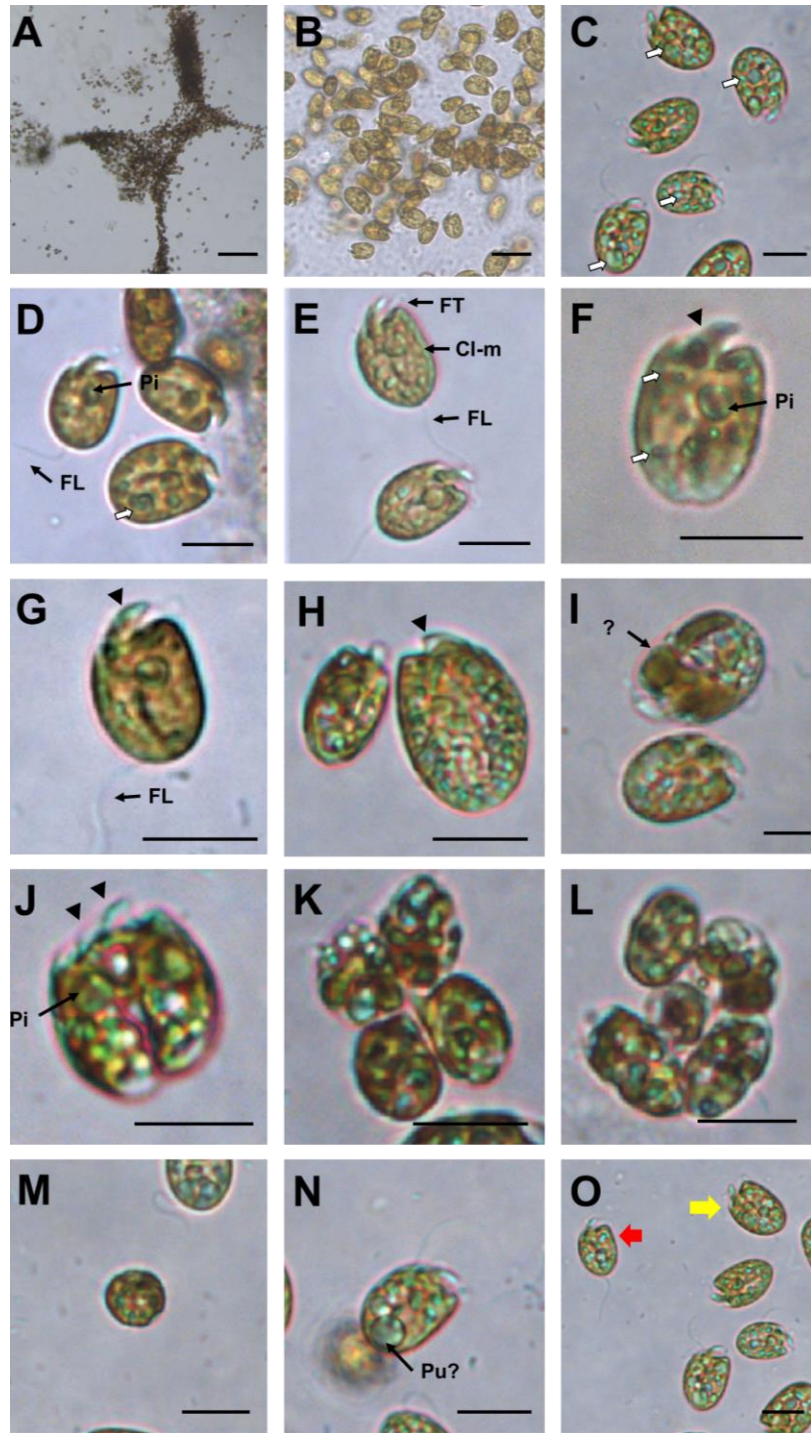
**Localidades de muestreo:** Playa del CETMAR, <sup>1,2</sup>Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México.

**Cultivo:** las células presentaron nado activo, se agrupaban por medio de filamentos de mucílago en el fondo del tubo de cultivo y la columna del medio (Fig. 12A).

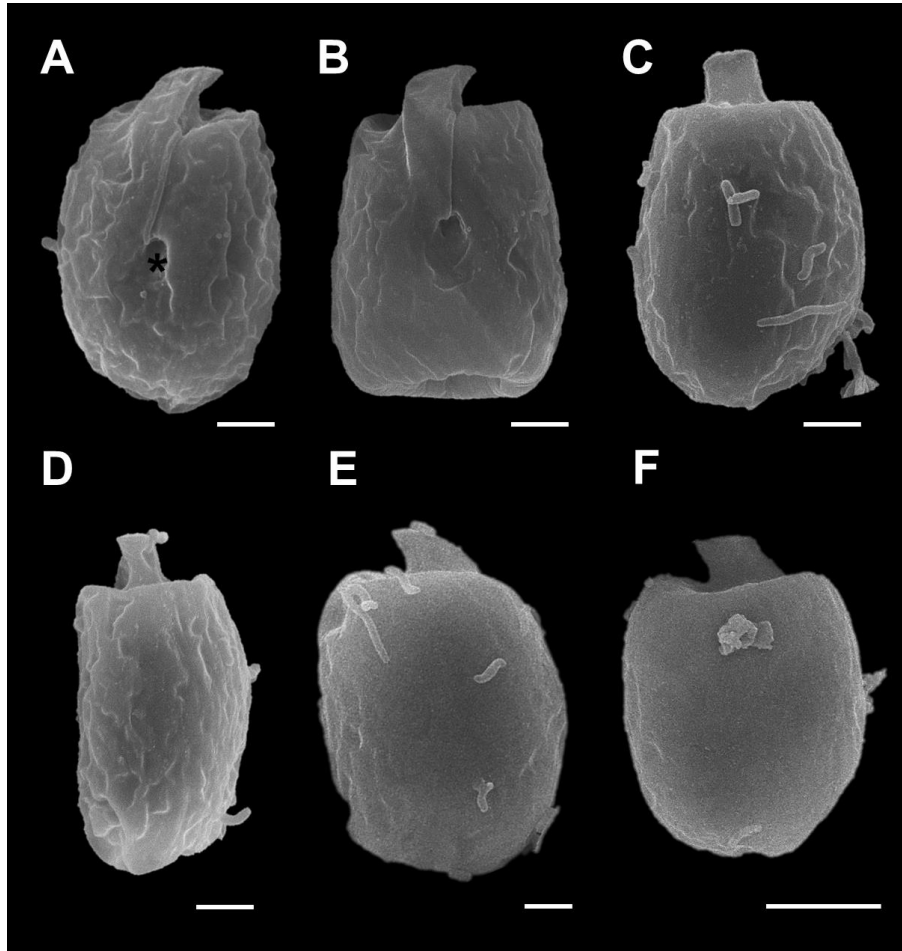
**Descripción:** Células desnudas, asimétricas, ovaladas ventralmente y comprimidas dorsoventralmente (Figs. 12 B-G). El epicono asimétrico en forma de medialuna, en vista ventral se observa desviado a la izquierda y pequeño en comparación con el hipocono (Figs. 12 D-G). Hipocono convexo y redondeado en parte más posterior. El núcleo se ubica en el área más posterior de las células. Las células presentaron cloroplastos de color verde-amarillo, lobulados y radiados. Pirenoide central en forma de anillo con un diámetro que va de 2.4 a 3  $\mu\text{m}$  (n=10; Fig. 12F). Las células incoloras, granuladas presentaron cuerpos de color verde a café, los cuales podrían ser de reserva de lípidos (Fig. 12 I y N). En los cultivos se observaron cuatro morfotipos, células que presentaron la típica forma de la especie *A. carterae*, células más alargadas que anchas (Fig. 12 D), células grandes y chicas (Fig. 12 H y O). No se observaron púsculas, pero sí cuerpos traslucidos parecidos a estas (Fig. 12 N). La inserción del flagelo posterior se observó en vista dorsal, en la zona media de la célula (Fig. 13 A). Las diferentes vistas celulares se documentaron con microscopía fotónica (Fig. 12) y microscopía electrónica de barrido (Fig. 13).

**Estados reproductivos observados:** Se observaron células móviles de mayor tamaño dividiéndose por fisión binaria (Fig. 12 J). Comúnmente se observa este estado reproductivo con la presencia de dos epiconos, se ven los pirenoides centrales y posteriormente se da la separación de las células hijas por movimientos vibratorios (Fig. 12 J). Por otro lado, se documentaron estados reproductivos de cigotos no móviles formando agrupaciones de cuatro a cinco células (Figs. 12 K y L). En el fondo de los tubos de cultivo se observan células redondas parecidas a quistes temporales con una membrana delgada (Fig. 12 M).





**Figura 12.** Micrografías de células vegetativas de *Amphidinium carterae*. A y B) Células vegetativas agrupadas por medio de mucílago formando una red. C-G) Células vivas en vista ventral mostrando los cloroplastos bilobulados (flecha blanca con margen negro), cloroplastos marginales (CI-m), flagelo longitudinal y transversal (FL y FT, respectivamente), el pirenoide central (Pi) y el epicono (triángulo). H) Vista lateral. I) Células vivas mostrando estructuras de reservas (signo de interrogación). J) Células móviles en división que conservan el pirenoide y muestran el epicono e hipocono. K y L) Células no móviles formando agrupaciones de más de cuatro células. M) Células redondas parecidos a quistes temporales. N) Cuerpos transparentes (Pu?). O) Morfotipos celulares, la flecha roja muestra el morfotipo pequeño y la flecha amarilla el morfotipo grande. Barras de escala: A= 100  $\mu$ m, B-O= 10  $\mu$ m.



**Figura 13.** Microscopía electrónica de barrido de células *Amphidinium carterae*. A y B) vista ventral de las células mostrando la zona de inserción del flagelo (\*). C y F) Vista dorsal. D) Morfotipo de células alargadas. E) Vista lateral. Barra de escala: A-E= 2  $\mu$ m, F) 5  $\mu$ m.

### 7.1.2 *Amphidinium cf. operculatum*

#### **Cepas y tamaños celulares:**

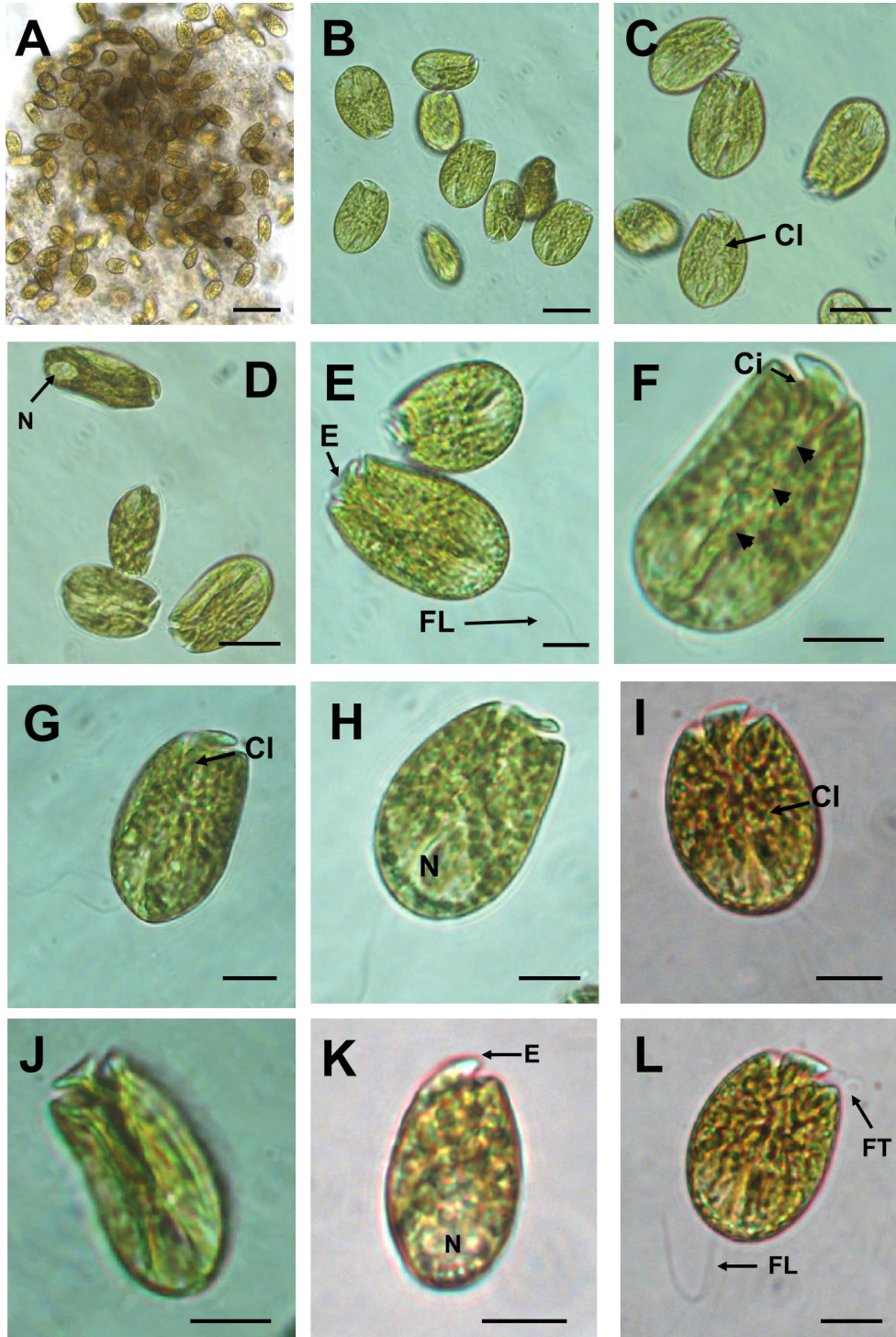
<sup>1</sup>AS22:  $33.21 \pm 3.72$   $\mu$ m de largo,  $23.32 \pm 2.05$   $\mu$ m de ancho (n= 40).

**Localidades de muestreo:** El Sauzoso, Bahía de La Paz, B.C.S., México.

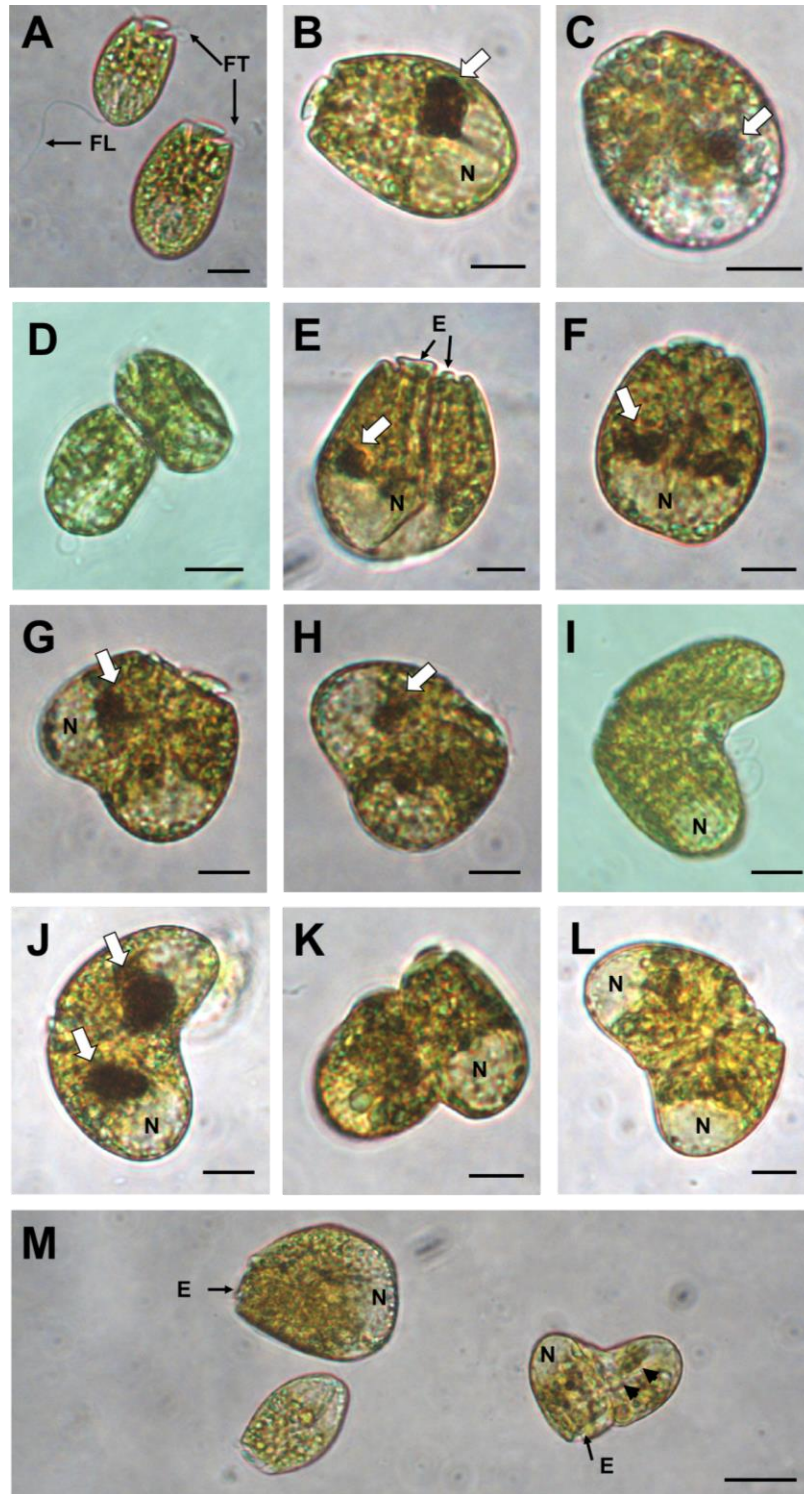
**Cultivo:** células con nado activo. Presentan mucílago que les permite adherirse en las paredes del tubo de cultivo y formar agrupaciones en forma de parches (Figs. 14A y 16 K).

**Descripción:** Células desnudas, solitarias, biflageladas, fotosintéticas y comprimidas dorsoventralmente. En vista ventral, ovaladas con la zona media más ancha que los extremos (Figs. 14 B - C). Epicono asimétrico, plano en la zona más anterior, proporcionándole forma triangular en vista ventral, se encuentra desviado hacia la izquierda y es pequeño en comparación con el hipocono (Figs. 14 D y E). El epicono en la zona más posterior mide  $7.69 \pm 1.03 \mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DE; n=16). El hipocono convexo de lado derecho, recto de lado izquierdo y redondeado en parte más posterior (Figs. 14 F y H). El cingulum se encuentra desplazado descendentemente (Fig. 14 F). Los cloroplastos son alargados de color verde-amarillo (Figs. 14 G y I). El núcleo está en posición posterior (Figs. 14 H y K). Se observaron células más alargadas que anchas con formas elipsoidales (Fig. 14 J). La inserción del flagelo posterior se observó en vista dorsal y a la mitad de la célula. No se observaron púsculas.

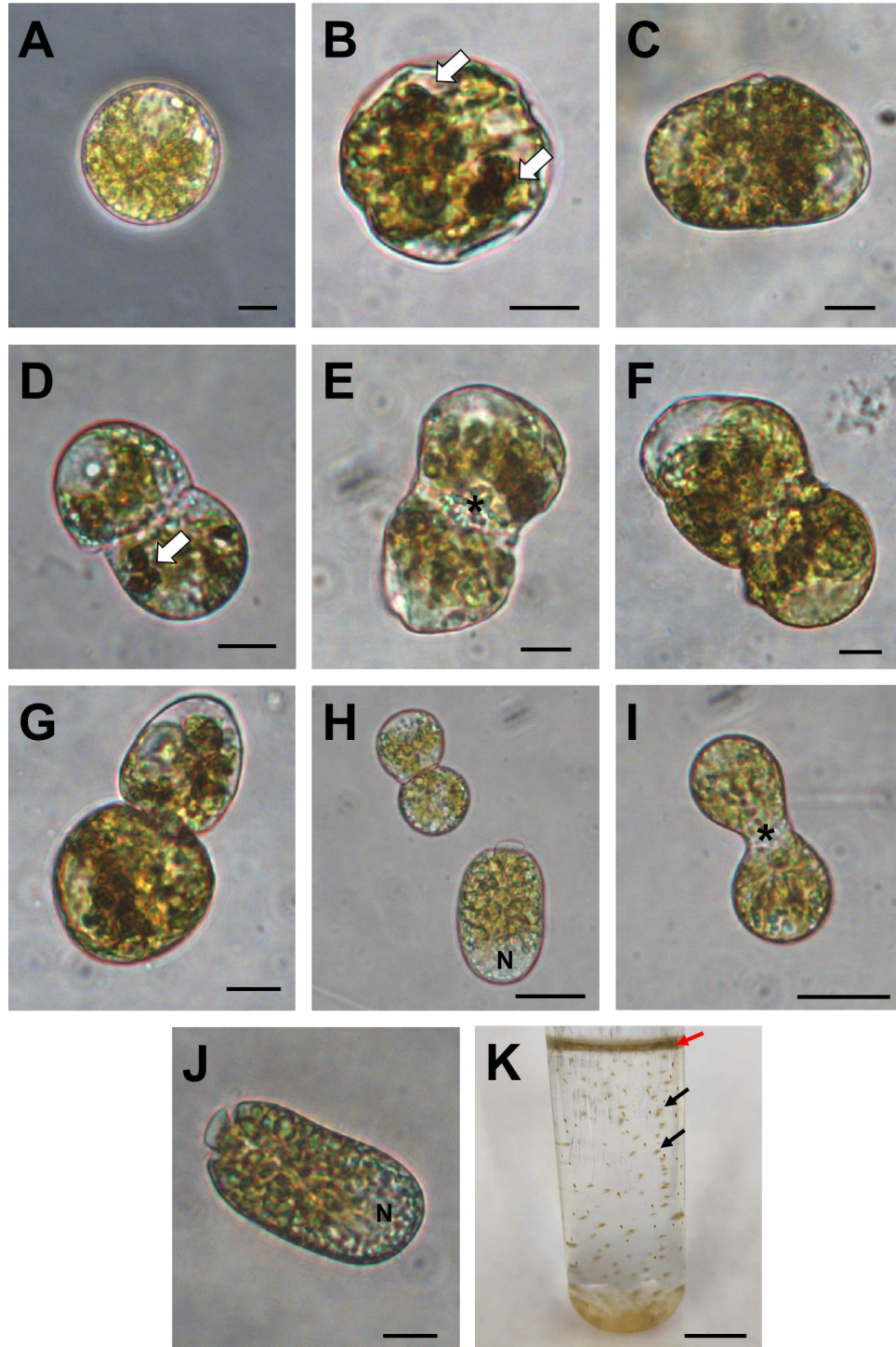
**Estados reproductivos observados:** Se observaron células en vista ventral con movimiento activo dividiéndose por medio de fisión binaria (Fig. 15 E). Las células inician dividiéndose desde la zona antapical, se conjuga el núcleo y finalmente se separan (Figs. 15 E-L). Durante el proceso de división las células presentaron un cuerpo color rojo que parece ser un estigma o una estructura de reserva de lípidos (Figs. 15 E-L). Las células reproductivas pueden presentar diferentes tamaños en comparación con las células vegetativas (Fig. 15 M). También se observaron células redondeadas parecidas a quistes reproductivos (Figs. 16 A y B) y células ameboides reproduciéndose por conjugación sexual (Figs. 16 C-G).



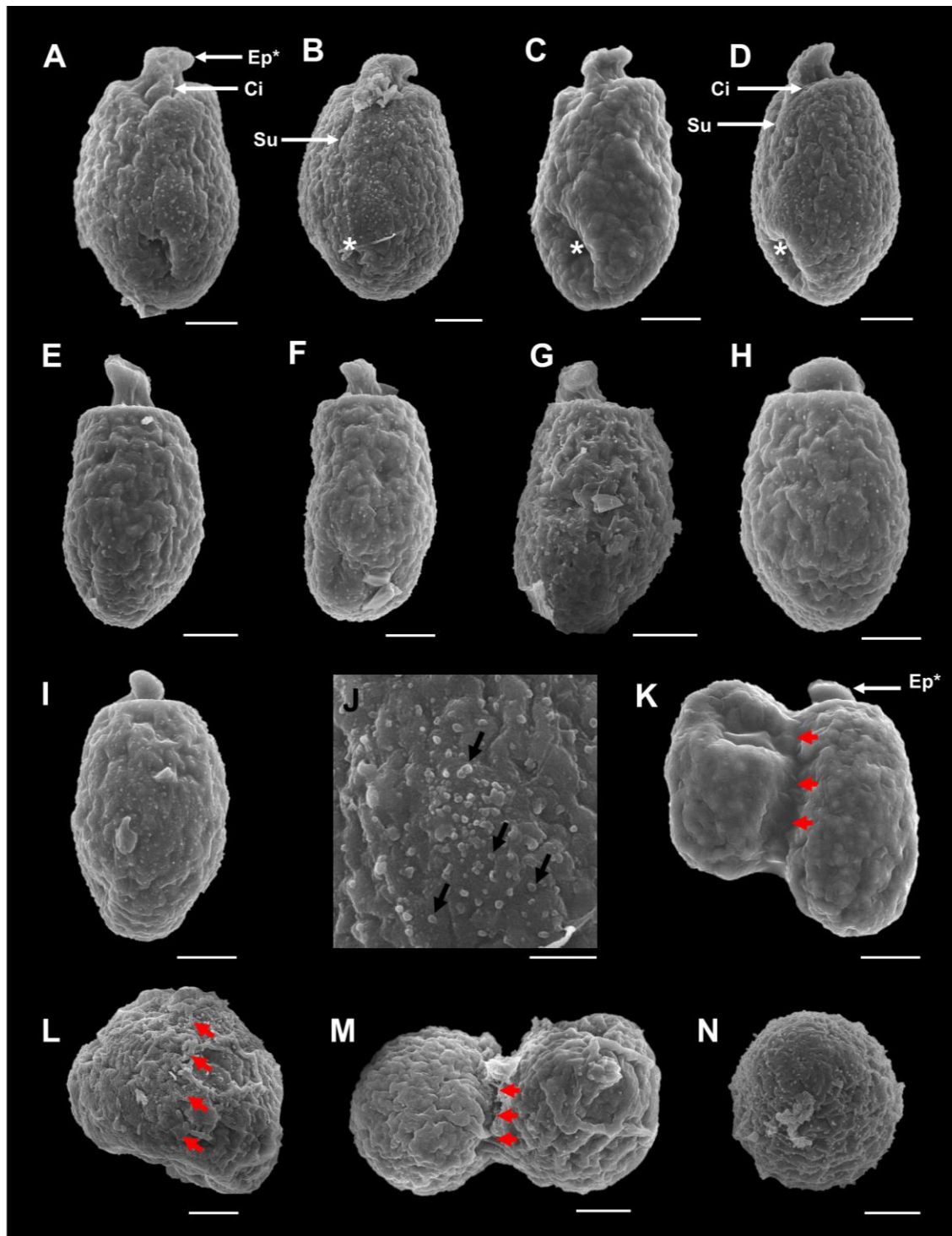
**Figura 14.** Microscopía fotónica de *Amphidinium* cf. *operculatum*. A y B) Células vegetativas individuales rodeadas por mucílago. C) Células móviles, se observan los cloroplastos y la morfología típica de *A. operculatum*. D) Células en vista ventral y lateral, en vista lateral se observa el núcleo. E) Epicono y el flagelo longitudinal. F) Vista ventral, se observa el cingulum (Ci) y el sulcus (triángulos negros). G-I) Vista ventral, se muestra el epicono, núcleo y forma de los cloroplastos. J) Vista lateral. K) Vista dorsal. L) Vista ventral, se observan el flagelo longitudinal (FL) y el flagelo transversal (FT). CI= cloroplastos, N= núcleo, FL= flagelo longitudinal, FT= flagelo transversal, E= epicono. Barras de escala: A= 50  $\mu$ m, B-D= 20  $\mu$ m, E-L= 10  $\mu$ m.



**Figura 15.** Estados reproductivos de *Amphidinium* cf. *operculatum*. A) Vista ventral, flagelo longitudinal y flagelo transversal. B y C) Células granuladas mostrando cuerpos de color rojo (flecha blanca). D) Movimiento metabólico. E-L) División por fisión binaria. M) Células en división y de tamaños diferentes; triángulos negros muestran el sulcus. Cl= cloroplastos, N= núcleo, FL= flagelo longitudinal, FT= flagelo transversal, E= epicono. Barras de escala= A-L: 10  $\mu$ m, M: 20  $\mu$ m.



**Figura 16.** Estados reproductivos de *Amphidinium* cf. *operculatum*. A) Quistes temporales. C-I) Células ameboides reproduciéndose por conjugación sexual. J) Variación morfológica de *A. cf. operculatum*. K) Cultivo de *A. cf. operculatum* en medio K, las flechas señalan agrupaciones celulares en la pared del tubo de cultivo. N= núcleo, flechas blancas= cuerpos de reserva, \*= extensión del epicono. Barras de escala: A-G, J= 10  $\mu$ m; H y I=20  $\mu$ m; K= 1 cm.



**Figura 17.** Microscopía electrónica de barrido de *Amphidinium* cf. *operculatum*. A-B) Vista ventral, mostrando la zona de inserción del flagelo (\*). C y D) Vista ventral-lateral. E, F y H) Vista dorsal. G y I) Vista lateral izquierda. J) Superficie celular granulada; flechas negras señalan los gránulos. K) Células en proceso de división. L y M) Células ameboides en proceso de división. N) Quiste de reposo cocoide. Las flechas rojas indican los planos de división. Ep\*= epicono, Ci= cingulum, Su= sulcus. Barras de escala: A-I, K-N= 5  $\mu$ m; J= 2  $\mu$ m.

### 7.1.3 *Coolia malayensis* Leaw, P.-T. Lim & Usup

#### **Cepas y tamaños celulares:**

<sup>1</sup>G7: 30.04 ± 3.39 μm de largo, 28.64 ± 2.62 μm de ancho (Media ± DE; n= 30).

<sup>2</sup>TC12: 29.15 ± 3.51 μm de largo, 27.63 ± 2.67 μm de ancho (Media ± DE; n= 30).

<sup>3</sup>CT1: 26.97 ± 2.07 μm de largo, 26.01 ± 1.45 μm de ancho (Media ± DE; n= 30).

<sup>4</sup>CT2: 31.43 ± 3.48 μm de largo, 28.76 ± 2.21 μm de ancho (Media ± DE; n= 12).

<sup>5</sup>CT3: 34.44 ± 3.61 μm de largo, 30.65 ± 3.02 μm de ancho (n= 18).

<sup>6</sup>CT4: 31.21 ± 2.45 μm de largo, 29.12 ± 3.29 μm de ancho (n= 15).

<sup>7</sup>CS22: 27.29 ± 2.52 μm de largo, 25.85 ± 2.53 μm de ancho (Media ± DE; n= 34).

<sup>8</sup>CTD: 24.99 ± 0.66 μm de largo, 21.64 ± 0.22 μm de ancho (Media ± DE; n= 5).

**Localidades de muestreo:** playa El Requesón<sup>1</sup>, El Tecolote<sup>2,3,4,5,6,8</sup>, El Sauzoso<sup>7</sup>, Baja California Sur, México.

**Cultivo:** Células con nado activo y movimientos de rotación en sentido de las agujas del reloj. Agrupamientos celulares en parches (Fig. 18 A). Producción de mucílago abundante que los mantiene unidos formando tapetes en el fondo del matraz de cultivo y filamentos que flotan en la columna (Fig. 18 M).

**Descripción:** Células individuales, redondeadas, anteroposteriormente comprimidas (Figs. 18 B-D y 20 A). La epiteca de menor tamaño comparada con la hipoteca (Figs. 18 B y C). Presentan un cingulum profundo, descendente y desplazado una anchura de este (Fig. 18 D). En vista antapical se observan las prolongaciones de las membranas sulcales (Figs. 18 E y 20 K). El núcleo es esférico y se localiza en la zona antapical (Fig. 19 H y I). Los cloroplastos son semicirculares y de color verde-dorado. No presentan pirenoide.

Las placas son lisas, con dos tipos de poros (poros de tricostios y poros más pequeños) distribuidos de manera casi homogénea, redondos en su mayoría (Figs. 20 L, 1 y 2). El poro apical (Po) presenta una ligera curvatura, con una longitud de 5.46 ± 0.85 μm (Media ± DE; n= 9) y 1.35 ± 0.17 μm de ancho (Media ± DE; n= 9). La placa del poro apical (Po) está rodeada de las placas apicales 1', 2' y 3' (Figs. 20 I y i). La placa apical 1' es estrecha,

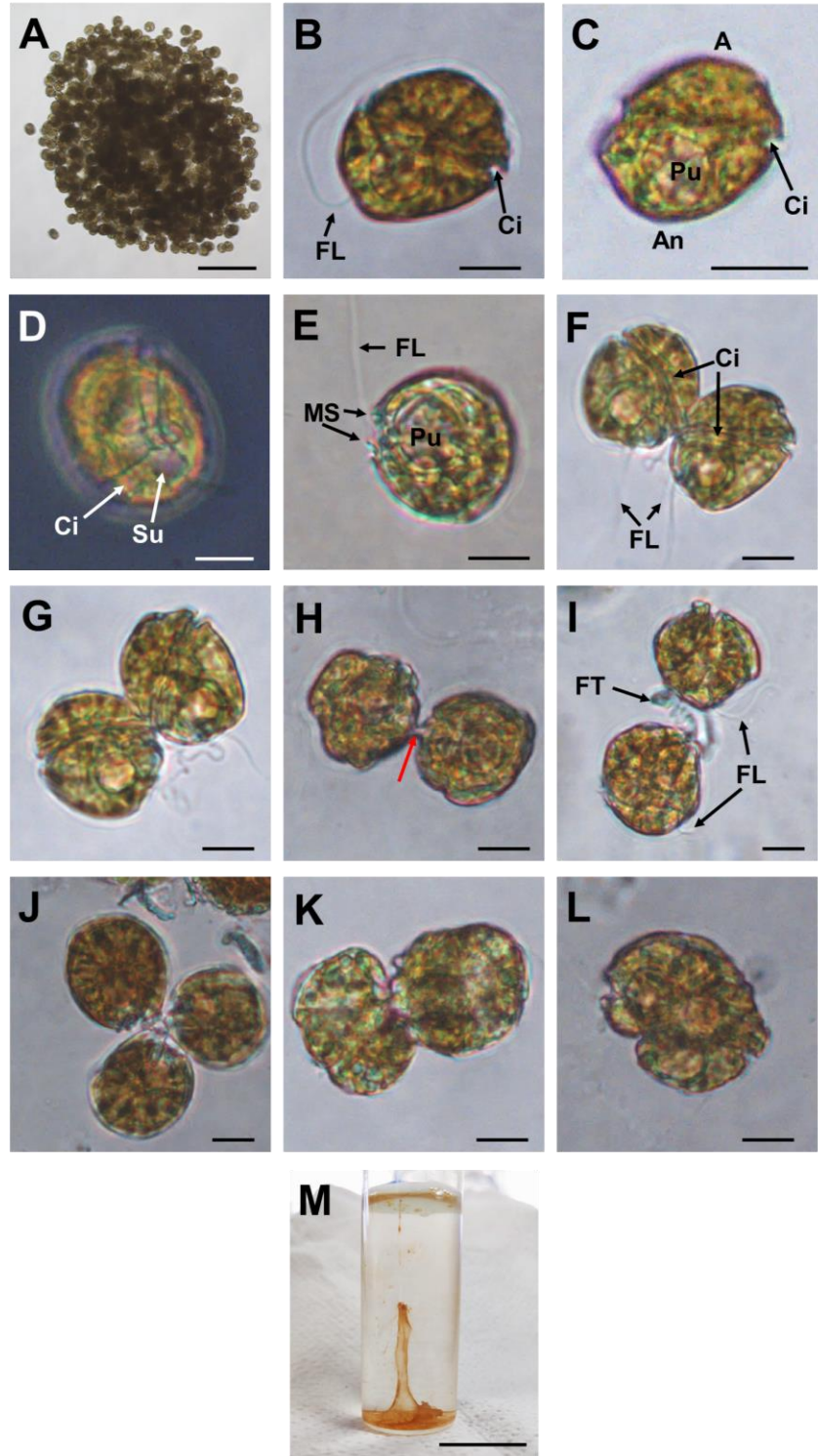


alargada y hexagonal, y está en contacto con las placas 6'', 7'', 1'', 2'', 2', Po y 3' (Figs. 20 E y G). La placa 2' es pentagonal, alberga el Po y se encuentra adyacente a las placas 2'', 3'', 4'' y 3' (Figs. 20 H, I y i). La placa 3' tiene forma de cuña y pentagonal, y está en contacto con las placas 1', Po, 2', 4'', 5'' y 6'' (Fig. 20 H). La placa 1'' es cuadrangular y está conectada a las placas 7'', 1' y 2'' (Fig. 19 L). Placa 4'' está conectada a las placas 3'', 2' y 3' (Fig. 20 H). La placa 6'' es la más ancha y grande de la epiteca (Figs. 20 A, B, D, E, G y H). La placa 7'' es pentagonal, con 7 a 8 poros, y la relación de largo a ancho es de ca. 1.05, estando rodeado de las placas 6'', 1' y 1'' (Figs. 20 A, B, D, E, G y H).

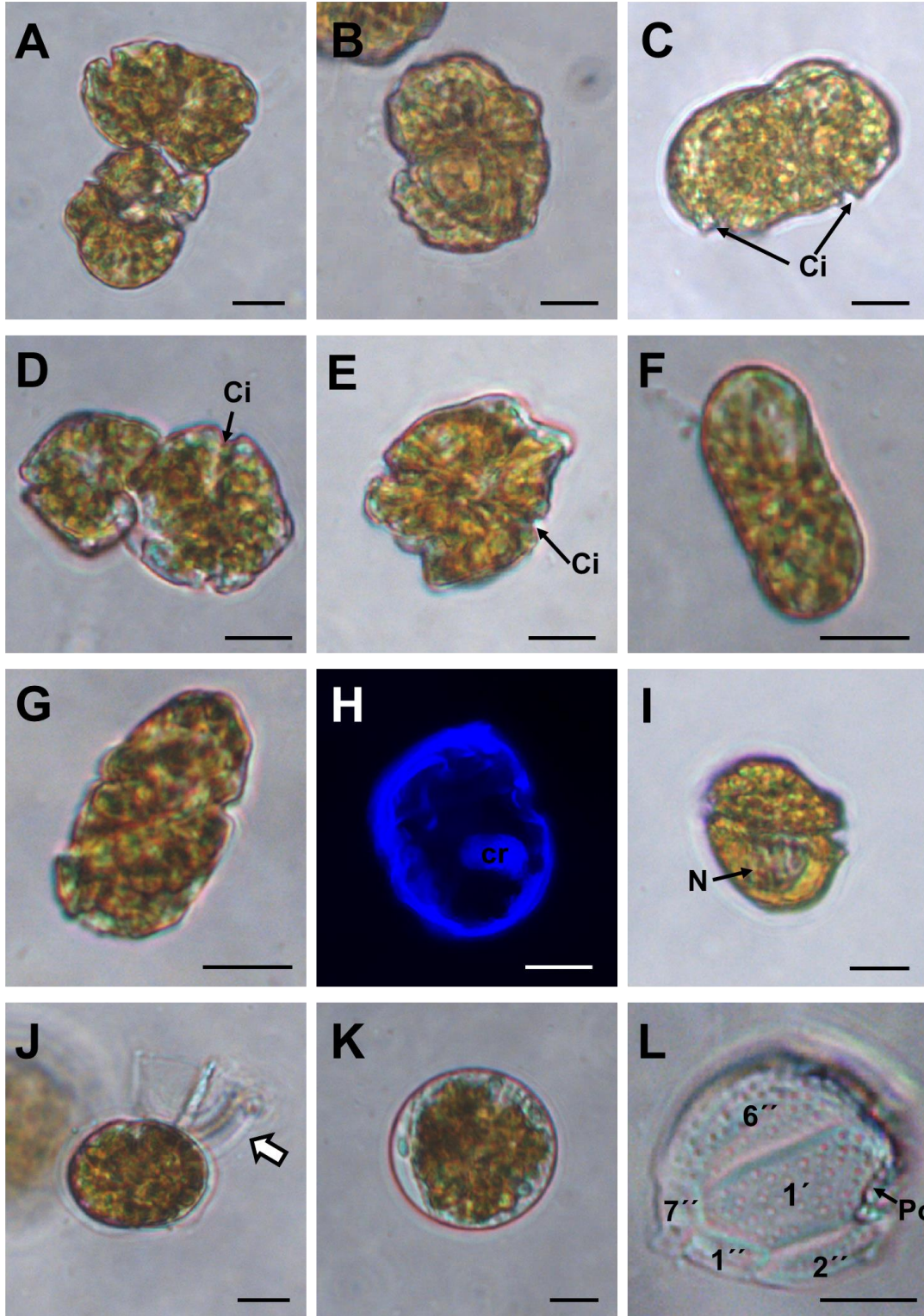
En la zona antapical la placa 1'''' es pequeña, en forma de una aleta, que también se le denomina aleta sulcal (AS), y está en contacto con las placas 2'''' y 1'''' (Fig. 20 A). La placa antapical 2'''' es pequeña, cuadrangular con 3 a 7 poros, y está en contacto con las placas postcingulares (3''', 4''' y 5''') y la placa antapical 1'''' (Fig. 20 J). En la hipoteca la placa más ancha y grande es la tercera placa postcingular 3''', la cual ocupa casi la mitad de la hipoteca (Fig. 20 K).

**Fórmula tecal:** Po, 3', 7'', 6c, 6(?)s, 5''', 2''''.

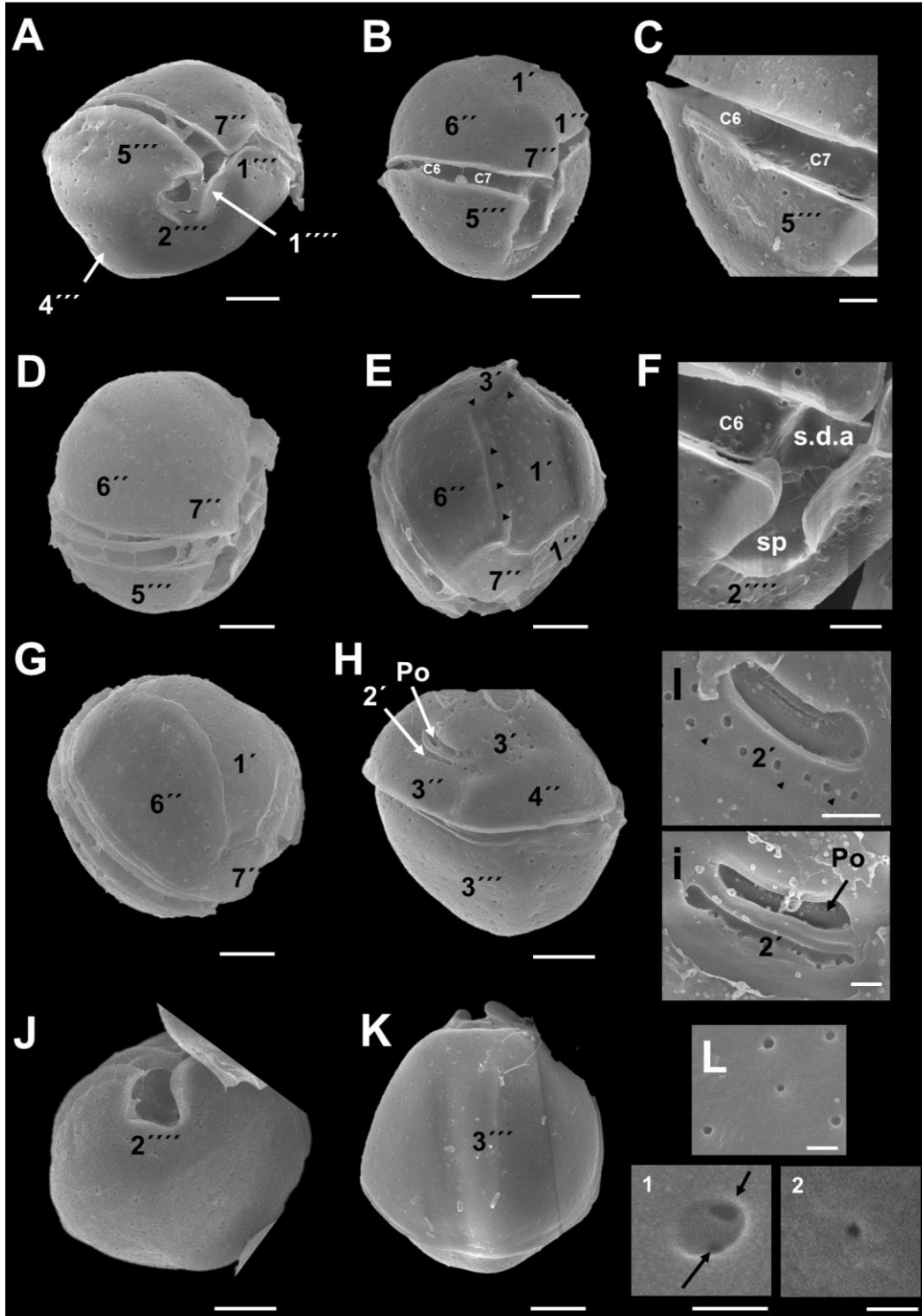
**Reproducción:** Los estados reproductivos observados incluye el proceso de reproducción por conjugación sexual (Fig. 18 F-I). Se observó la fisión binaria en planocigotos biflagelados grandes, en comparación con las células vegetativas (Fig. 19 B-C). Las células se reproducen formando tríadas (Fig. 18 J). Se documentaron células deformadas en proceso de reproducción (Figs. 19 A, D-G). Se observaron células redondas parecidas a quistes temporales, y procesos de enquistamiento por medio del desprendimiento de la teca (ecdisis) (Figs. 19 J-K). Aunado a lo anterior, se observaron cuerpos más largos que anchos que podrían ser quistes cigóticos (Figs. 19 F y G).



**Figura 18.** Micrografías de *Coolia malayensis*. A) Células agregadas. B-D) Vista ventral. E) Vista antapical. F y G) Isogametos fusionados lateralmente. H-I) Proceso de conjugación sexual; flecha roja indica el tubo de fertilización. J) Formación de tríadas celulares para la reproducción. K-L) Proceso de fisión binaria. M) Cultivo de *C. malayensis* en medio K. A= ápice, An= antapice, Pu= púsula, Ci= cingulum, MS= prolongaciones de las membranas sulcales, FL= flagelo longitudinal, FT= flagelo transversal. Barras de escala: A= 150  $\mu$ m; B-L= 10  $\mu$ m; M= 2 cm.



**Figura 19.** Microscopía fotónica de *Coolia malayensis*. A-E) Deformaciones celulares durante procesos de reproducción, donde se conserva el cingulum. F-G) Células alargadas inmóviles. H-I) Vista dorsal, tinción DAPI, se muestran los cromosomas condensados (cr) y el núcleo (N). J) Flecha blanca muestra el desprendimiento de la teca (ecdysis). K) Quiste temporal. L) Vista apical, se muestran placas apicales (') y preangulares (''). Ci= cingulum, Po= placa del poro apical. Barras de escala de 10  $\mu$ m.



**Figura 20.** Microscopía electrónica de barrido de *Coolia malayensis*. A) Vista ventral. B) Vista ventral lateral. C) Vista cingular. D, E y G) Vista apical. F) Vista sulcal. H) Vista apical dorsal. I y i) Placa del poro apical (Po); triángulos muestran los límites de la placa apical 2 ('). J-K) Vista antapical. L, 1 y 2) Superficie tecal; flechas indican perforaciones dentro de los poros. Sp= placa sulcal posterior, S.d.a.= placa sulcal anterior derecha, C6-C7= placas cingulares. Barras de escala: A-E, G, H, J, K= 5  $\mu$ m; C, F y I= 2  $\mu$ m; i y L= 1  $\mu$ m; 1 y 2= 0.5  $\mu$ m.

**7.1.4 *Gambierdiscus carpenteri* Kibler, Litaker, M.A. Faust, W.C. Holland, Vandersea & P.A. Tester**

**Cepas y tamaños celulares:**

<sup>1</sup>*Gamb-1*:  $74 \pm 15.99$   $\mu\text{m}$  de largo,  $81.29 \pm 5.79$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 5).

<sup>2</sup>*Gamb-3*:  $88.27 \pm 6.95$   $\mu\text{m}$  de largo,  $84.79 \pm 6.19$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 42).

<sup>2</sup>*Largo de las células en vista anteroposterior*:  $55.87 \pm 6.82$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 10).

<sup>2</sup>*Ancho de las células en vista anteroposterior*:  $85.48 \pm 8.49$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 8).

<sup>1,2</sup>*Placa del poro apical*:  $9.44 \pm 1.53$   $\mu\text{m}$  de largo,  $6.18 \pm 1.2$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 10).

<sup>2</sup>*Diametro de poros de la superficie tecal*:  $0.41 \pm 0.04$   $\mu\text{m}$  (n= 14).

**Localidad de muestreo:** Isla La Gaviota, Baja California Sur, México.

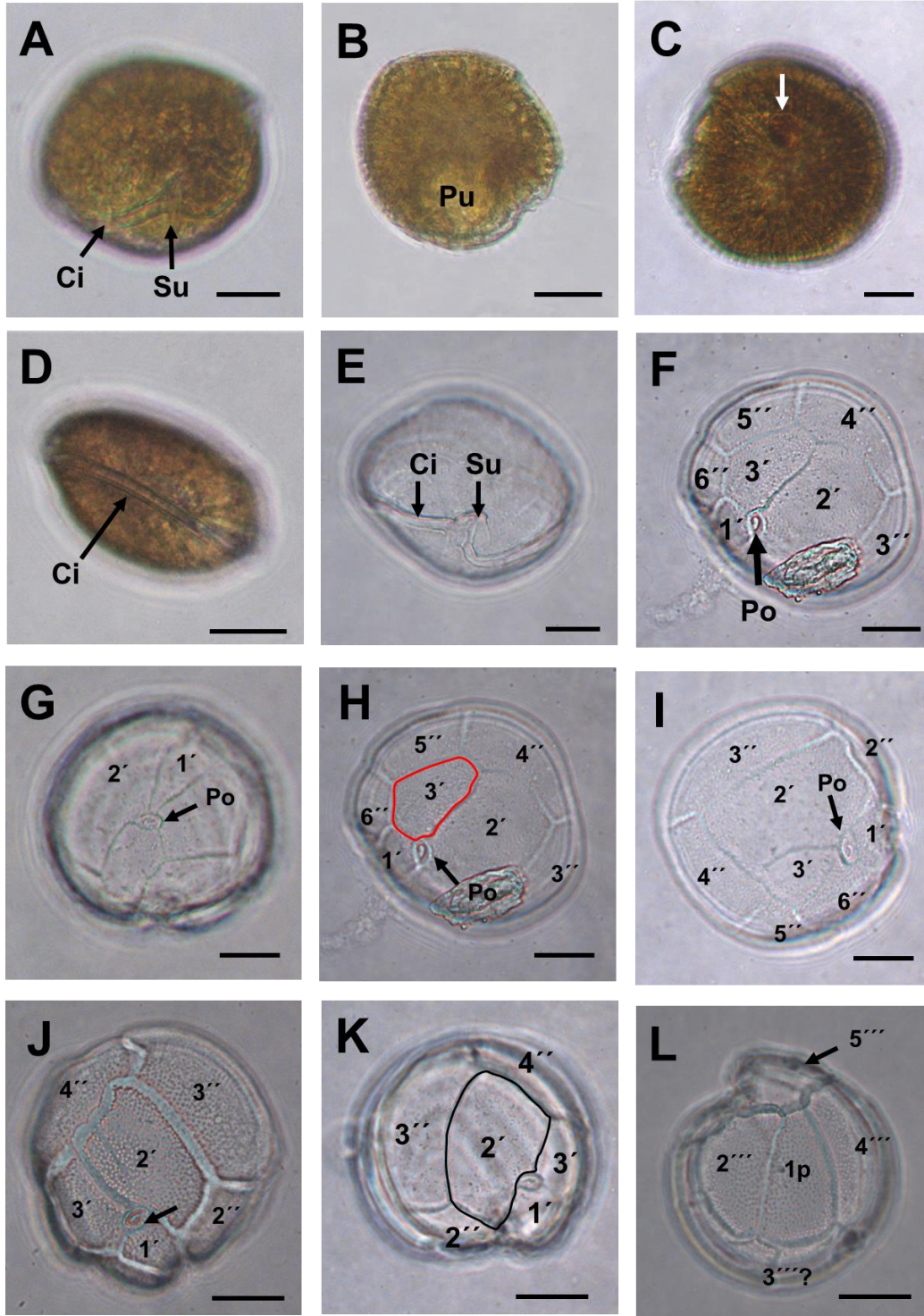
**Cultivo:** Células con movimiento activo, unidas por filamentos de mucílago que permiten la fijación de éstas en el fondo del tubo de cultivo (Figs. 24 A-B y 26 E).

**Descripción:** Células solitarias, comprimidas anteroposteriormente, presentan forma ovalada en las vistas apicales y antapicales (Figs. 20 A-C). Las áreas de la epiteca e hipoteca se remarcan en la figura 24 D con la finalidad de definir sus límites. El cingulum se observa angosto, ascendente y desplazado aproximadamente dos veces la anchura de éste (Figs. 21 y 24 D y E). Los cloroplastos son de color café-verde (Fig. 22 A). La superficie de la teca se observó con una gran densidad de poros o perforaciones medianos distribuidos homogéneamente, y otros poros de menor tamaño (Figs. 23 A, B y 26 F). La placa del poro apical es ovalada con poros que forman un anzuelo en su interior (Figs. 23 c1-c3 y 24 L). La placa apical 1' se observa hexagonal, conectada a la placa de poro apical (Po) y las placas 2', 3', 1'', 2'', 6'' y 7'' (Figs. 23 B, E y 24 G-K). La placa diagnostica apical 2' la más grande de la epiteca, es larga, rectangular, y conectada a las placas apicales 1', 2', la placa del poro

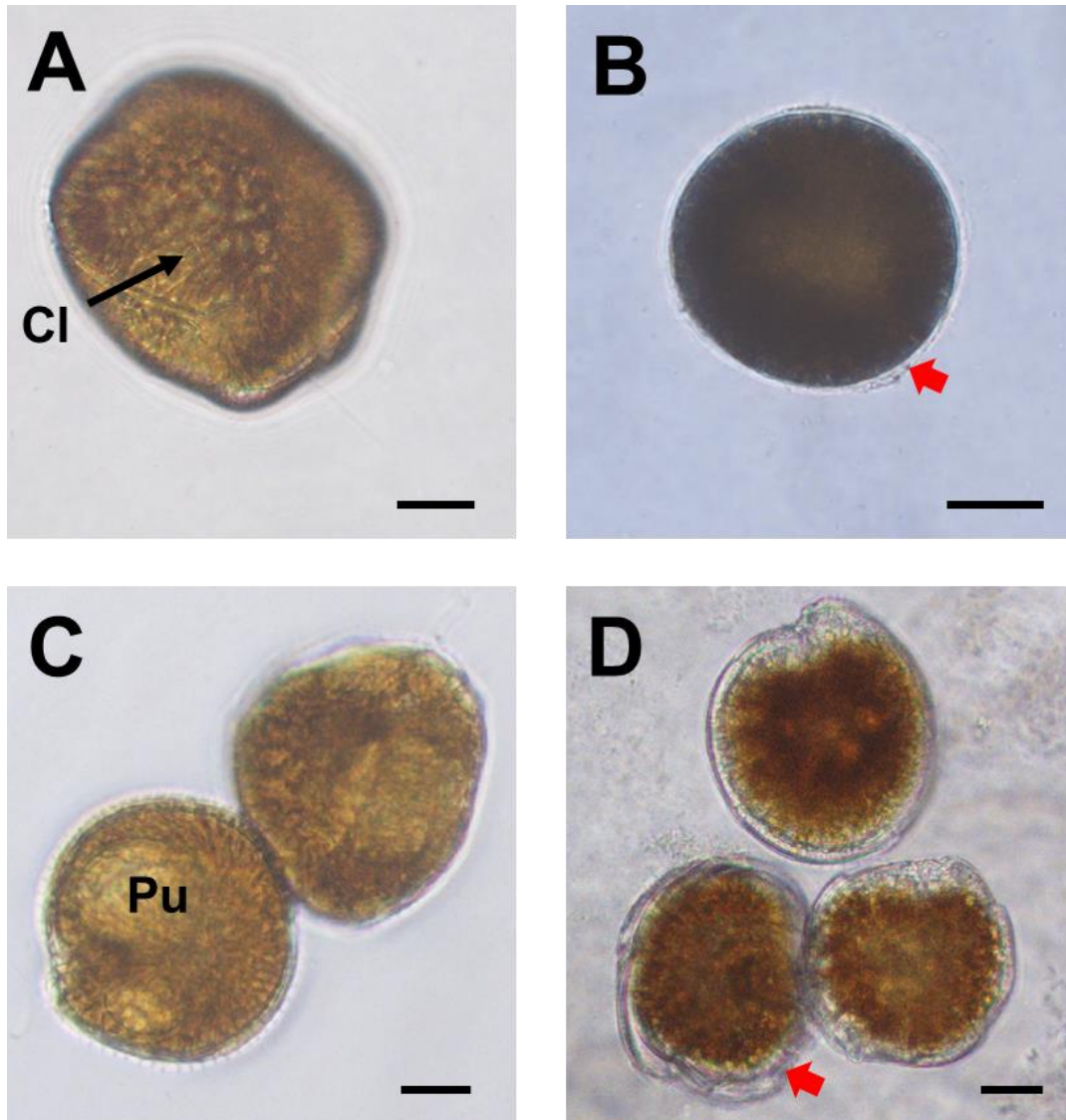
apical (Po), las precingulares 2'', 3'' y 4'' (Figs. 24 G-K, 25 A y 26 A). Se observó un morfotipo de células donde la placa apical 2' parecía tener tres divisiones, dicho arreglo de placas apicales no concuerda con lo que actualmente se reporta para el género *Gambierdiscus* (Fig. 23 A). Las placas precingulares 2'', 3'' y 4'' son alargadas (Figs. 23 A, B, 24 J, K y 25 A). La placa 4'' es cuadrangular y asimétrica (Fig. 25 A). La placa antapical 2'''' (1P) es asimétrica y está conectada a las placas 2''', 3''', 4''', 1'''' y sp (Figs. 25 C-I y 26 B). Algunas placas diagnosticas se remarcan en las láminas con la finalidad de facilitar la visualización de sus límites y formas.

**Fórmula tecal:** Po, 3', 7'', 6c?, 6-7s?, 5''', 1p y 2'''' (Litaker *et al.*, 2009; Hoppenrath *et al.*, 2014).

**Reproducción:** La formación quistes en el género *Gambierdiscus* forma parte del ciclo de vida de las especies de dicho género. En ambas cepas, se lograron observar quistes temporales y de resistencia (Fig. 24).

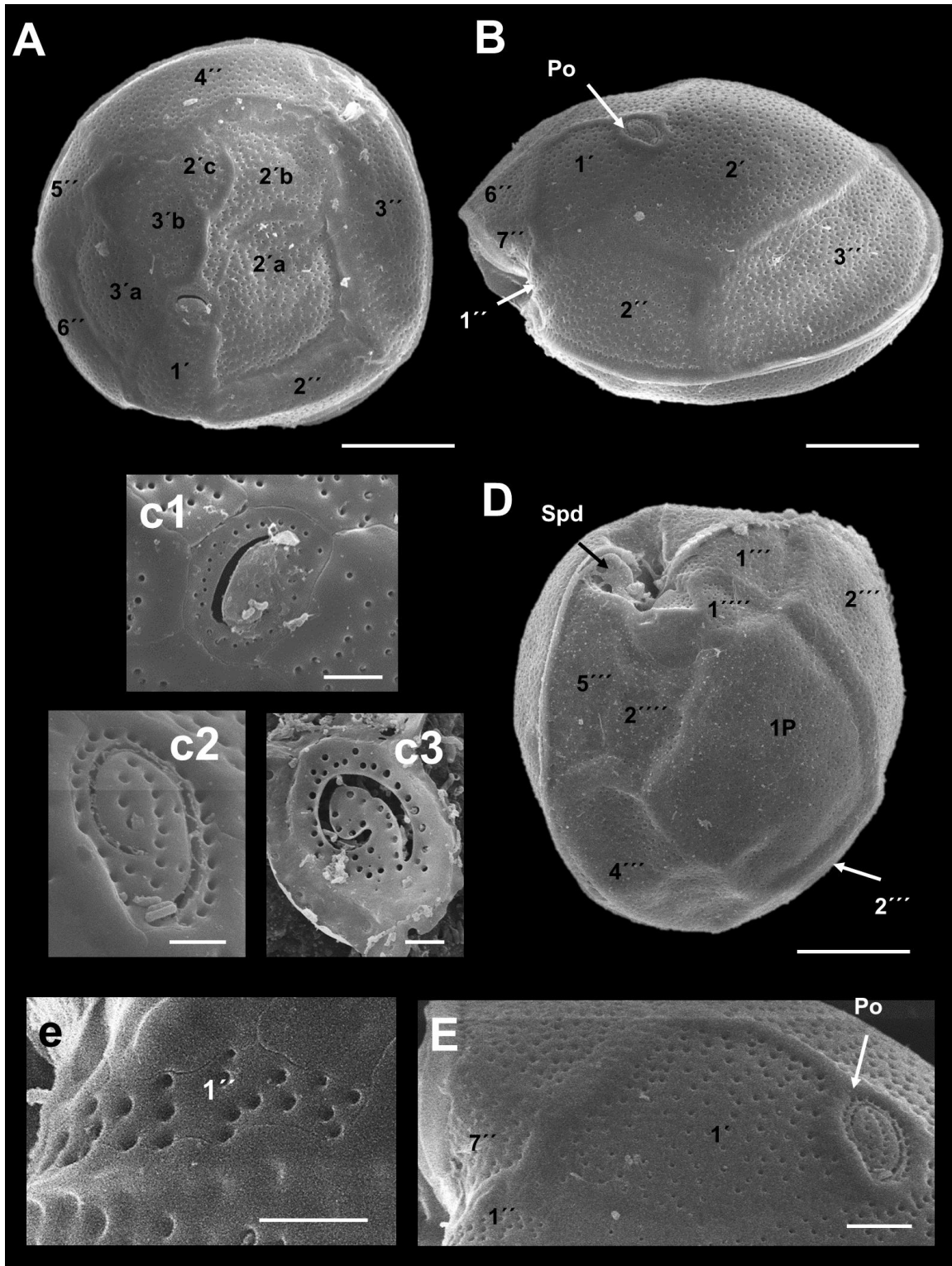


**Figura 21.** Microscopía de luz de *Gambierdiscus carpenteri* (cepa Gamb-1). A y E) Vista ventro-apical. B) Vista antapical. C) Vista apical; flecha blanca muestra mancha ocular. D) Vista dorsal. E-K) Vista apical, se muestran placas apicales ('), precingulares (') y la placa del poro apical (Po). L) Vista antapical, se muestran las placas postcingulares ('). Ci= cingulum, Su= sulcus, Pu= púsula. Barras de escala: A, C, E-I= 20  $\mu$ m; B, D, J-L= 25  $\mu$ m.

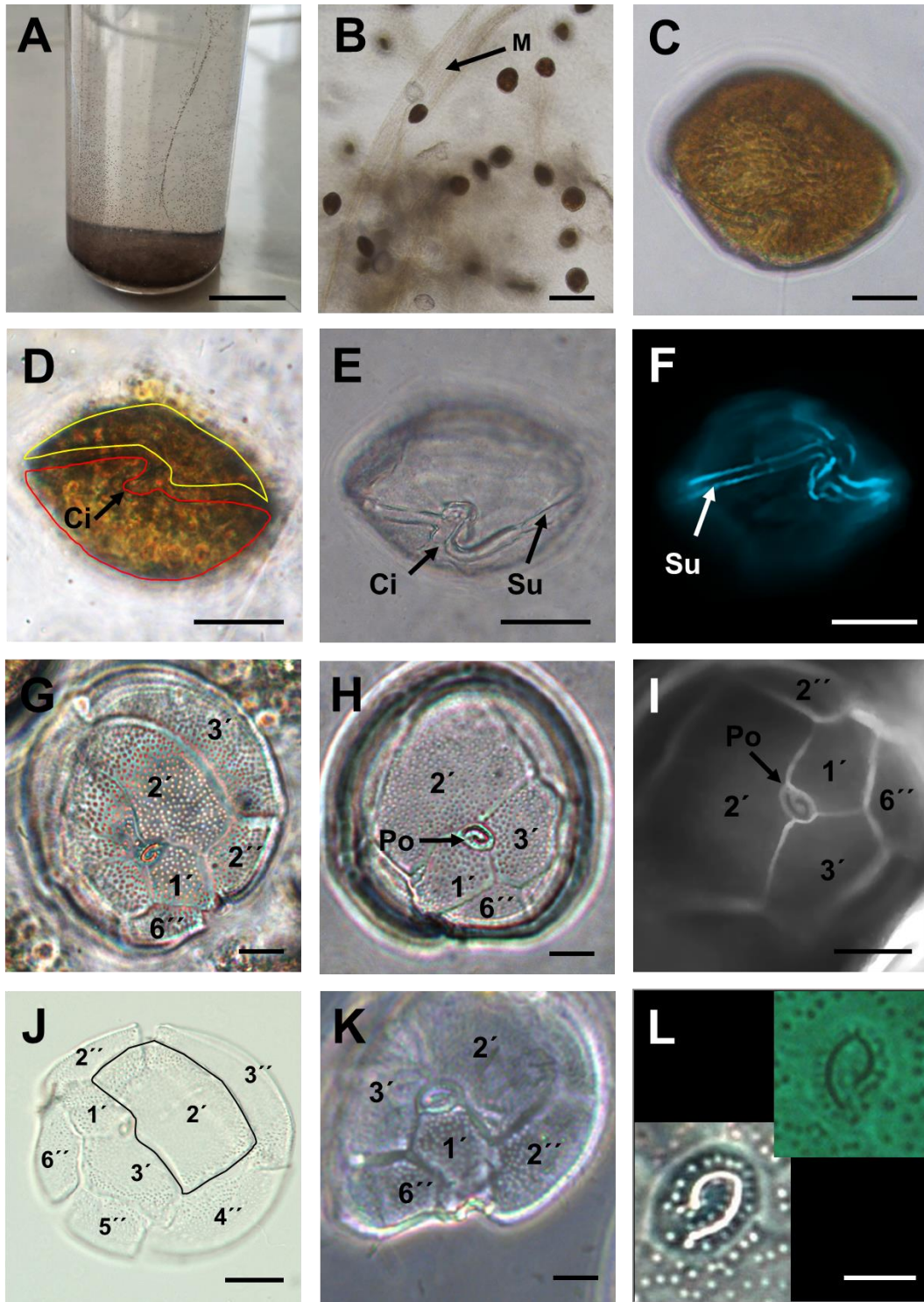


**Figura 22.** Microscopía fotónica de células de *Gambierdiscus carpenteri* (cepa Gamb-1). A) Vista apical. B) Quiste temporal. C) Células unidas a través del poro apical. D) Células no flageladas con pared celular gruesa, que muestra el proceso de enquistamiento. Flecha roja muestra la pared o membrana que recubre la célula. Barra de escala: A, C y D= 20  $\mu\text{m}$ ; B= 25  $\mu\text{m}$ .

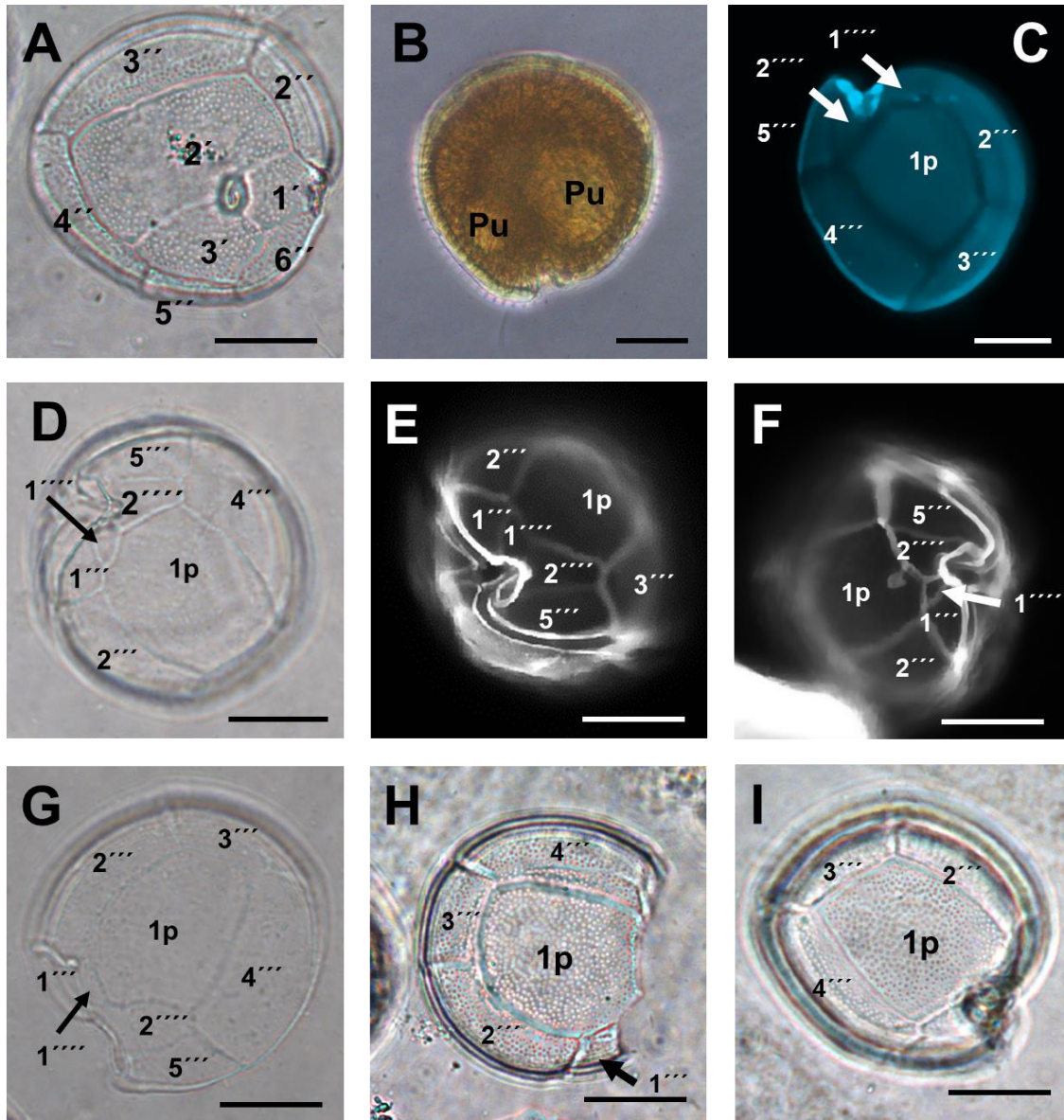




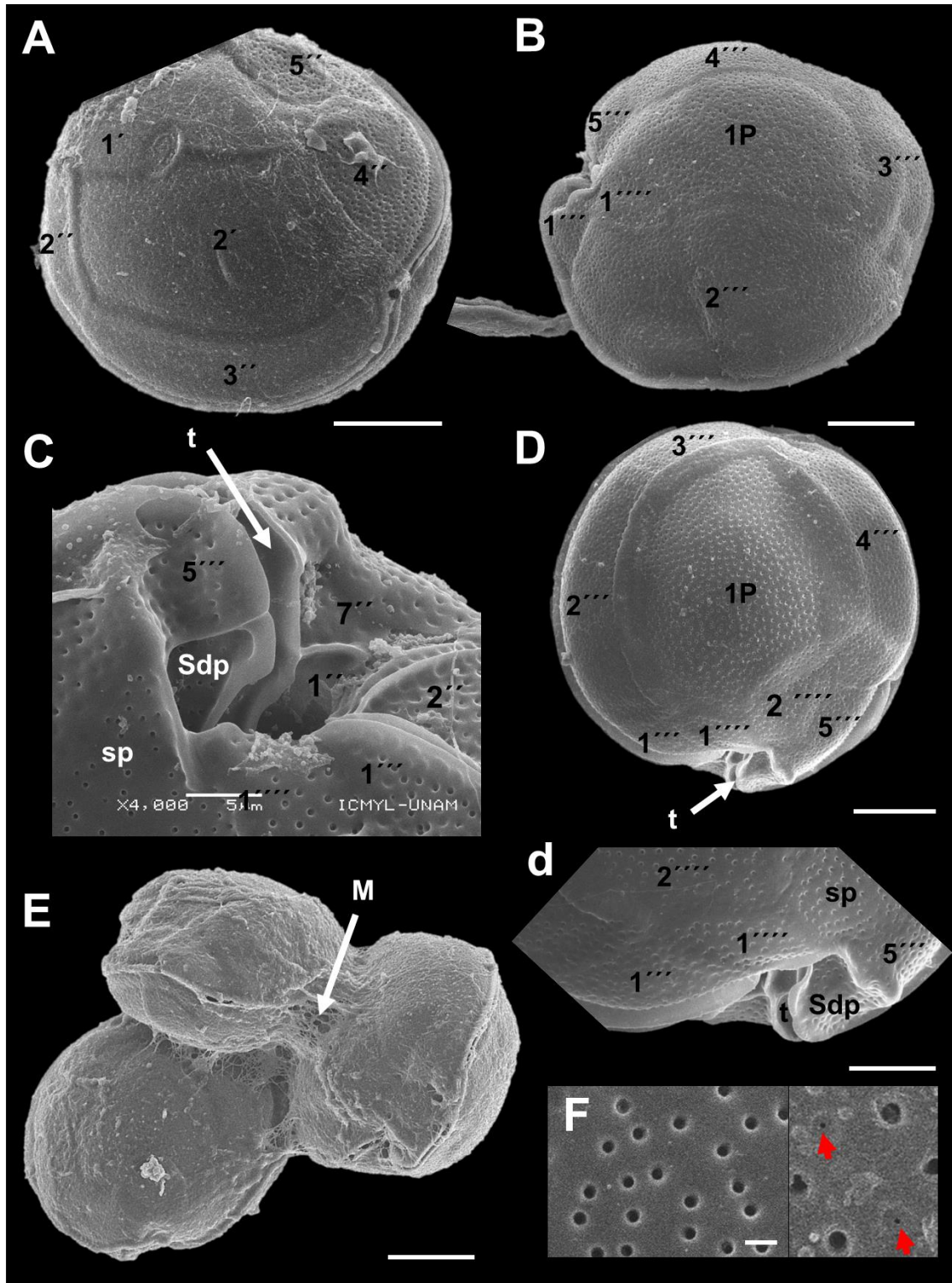
**Figura 23.** Microscopía electrónica de barrido de células de *Gambierdiscus carpenteri* (cepa Gamb-1). A) Vista apical, mostrando placas precingulares (') y apicales ('). B) Vista lateral-apical, mostrando placas precingulares 1'', 2'' y 3''. c1-c3) placa del poro apical. D) Vista ventral-antapical, placas 1''', 2''', 1p y placa sulcal posterior derecha (Spd). E-e) Vista apical, placa precingular 1''. Barras de escala: A, B, D= 20  $\mu$ m; c1= 3  $\mu$ m; c2 y c3= 2  $\mu$ m; E= 5  $\mu$ m; e= 2.5  $\mu$ m.



**Figura 24.** Micrografías de *Gambierdiscus carpenteri* (Gamb-3). A) Cultivo en medio K. B) Células móviles unidas por mucílago. C y E) Vista ventro-apical. D) Vista ventral, epiteca (contorno amarillo), hipoteca (contorno rojo), cingulum (Ci) y sulcus (Su). F) Microscopía de epifluorescencia (tinción con calcoflúor) mostrando el desplazamiento del cingulum, vista ventro-lateral. G-K) Vista apical, placas apicales diagnósticas (1', 2' y 3') y siete placas precingulares. L) Placa del poro apical. Barra de escala: A= 2.5 cm, B= 160  $\mu$ m, C-F= 25  $\mu$ m, G-I, J y K= 20  $\mu$ m, L= 5  $\mu$ m.



**Figura 25.** Micrografías de *Gambierdiscus carpenteri* (cepa Gamb-3). A) Vista apical. B, C y G-H) Vista antapical, placas postcingulares (''), antapicales ('''') y la placa 1p. D-F) Vista ventro-antapical, placas 1''', 5''''', 1'''''' y 2'''''''. C, E y F) Tinción con calcoflúor. Barras de escala: A y G= 30  $\mu$ m; B-C, I= 25  $\mu$ m; E y F= 20  $\mu$ m; H= 22  $\mu$ m.



**Figura 26.** Microscopía electrónica de barrido de *Gambierdiscus carpenteri* (Gamb-3). A) Vista apical. B, D y d) Vista antapical, placas postcingulares ('''), antapicales ('''') y placa 1p. C) Vista ventro-antapical, placa de transición (t), placa sulcal posterior derecha (Sdp) y placa sulcal posterior (sp). E) Células unidas por mucílago (M). F) Superficie tecal, flechas rojas indican poros más pequeños. Barras de escala: A, B, D= 20  $\mu$ m; d= 10  $\mu$ m; E= 30  $\mu$ m, F= 1  $\mu$ m.

### 7.1.5 Morfotipo de células grandes- *Ostreopsis lenticularis* Y. Fukuyo

#### Cepas y tamaños celulares:

<sup>1</sup>SO1:  $66.41 \pm 9.56$   $\mu\text{m}$  de largo (dorsoventralmente),  $55.07 \pm 8.60$   $\mu\text{m}$  de ancho-transdiámetro (Media  $\pm$  DE; n= 37).

<sup>2</sup>SO4:  $74.28 \pm 8.97$   $\mu\text{m}$  de largo,  $57.51 \pm 9.72$   $\mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DE; n= 32).

<sup>1,2</sup>Ancho de la zona apical-antapical:  $39.101 \pm 12.07$   $\mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DE; n= 5).

<sup>1,2</sup>Largo del poro apical: 11.18 a 20.94  $\mu\text{m}$  (Mín.-Máx.; n= 11).

<sup>1,2</sup>Ancho del poro apical: 1.75 a 2.47  $\mu\text{m}$  (Mín.-Máx.; n= 5).

**Localidad de muestreo:** El Sauzoso, Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

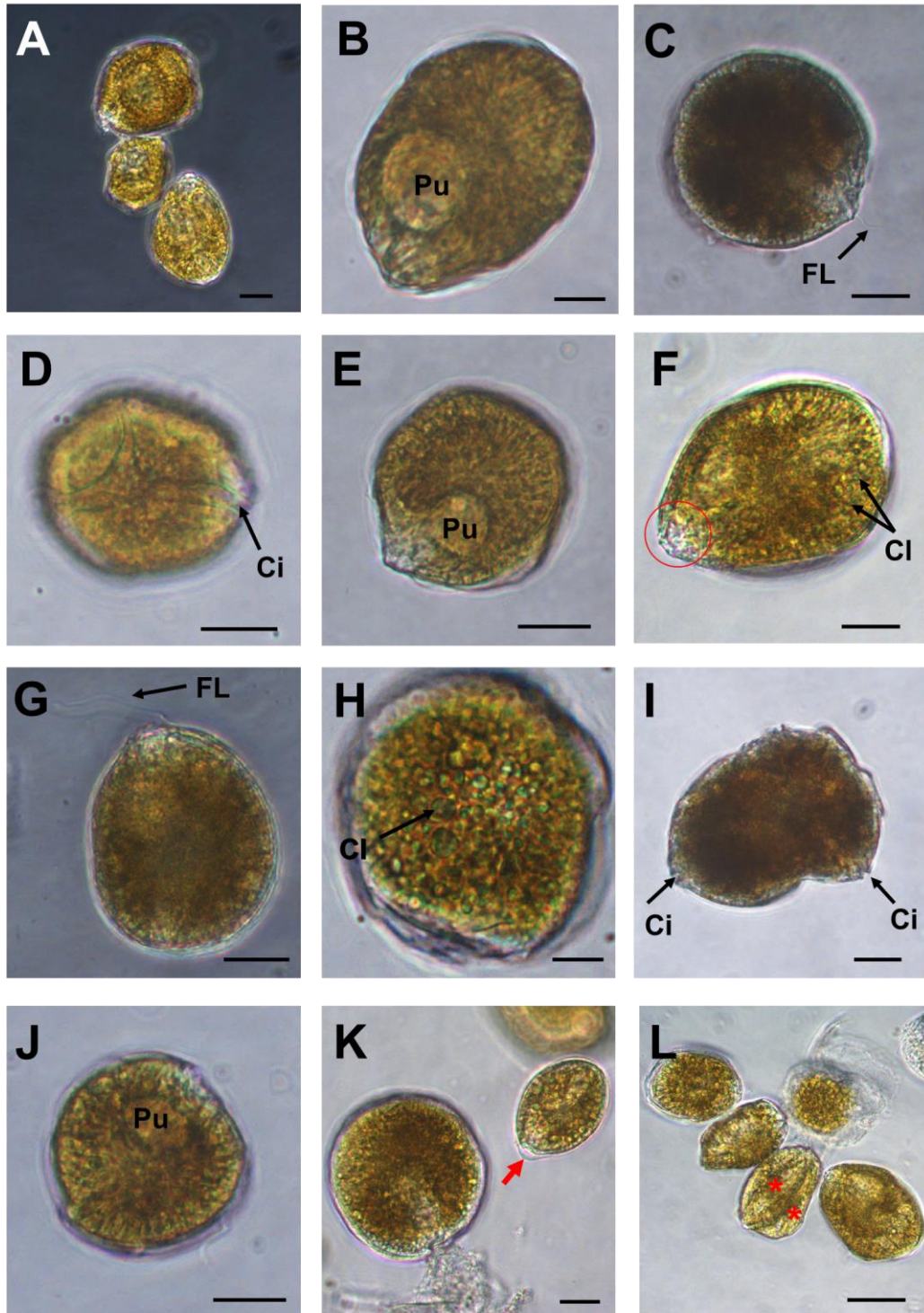
**Cultivo:** Las células crecieron en el fondo de las botellas de cultivo, formando tapetes de células con mucílago.

**Descripción:** Células individuales, lenticuladas, ventralmente puntiagudas (zona incolora) y dorsalmente ovaladas (Figs. 27 A-G). Presencia de una a dos púsculas en la zona más anterior en vista apical o antapical (Figs. 27 B, E). Cloroplastos abundantes de color verde-marrón (Fig. 27 F y H). La epiteca e hipoteca son del mismo tamaño (Fig. 30 C). El cingulum es profundo y estrecho (Fig. 30 C, F). La superficie tecal era lisa con múltiples poros en toda la teca, los poros presentan de 3 a 4 perforaciones en su interior (Figs. 31, G, g-1). La primera placa apical (1') está situada aproximadamente en el centro de la epiteca, es alargada, hexagonal y está conectada con las placas del Po, 2', 3', 1'', 2'' 6'' y 7'' (Figs. 28 A-E, 30 A, B, b). La segunda placa apical (2') es la más pequeña y estrecha de la epiteca, es alargada y situada por debajo del Po. La tercera placa apical (3') es pequeña y hexagonal, se encuentra en contacto con las placas del Po, 1', 2', 3'', 4'', 5'' y 6'' (Figs. 28 C, D). La placa 1'' es la más

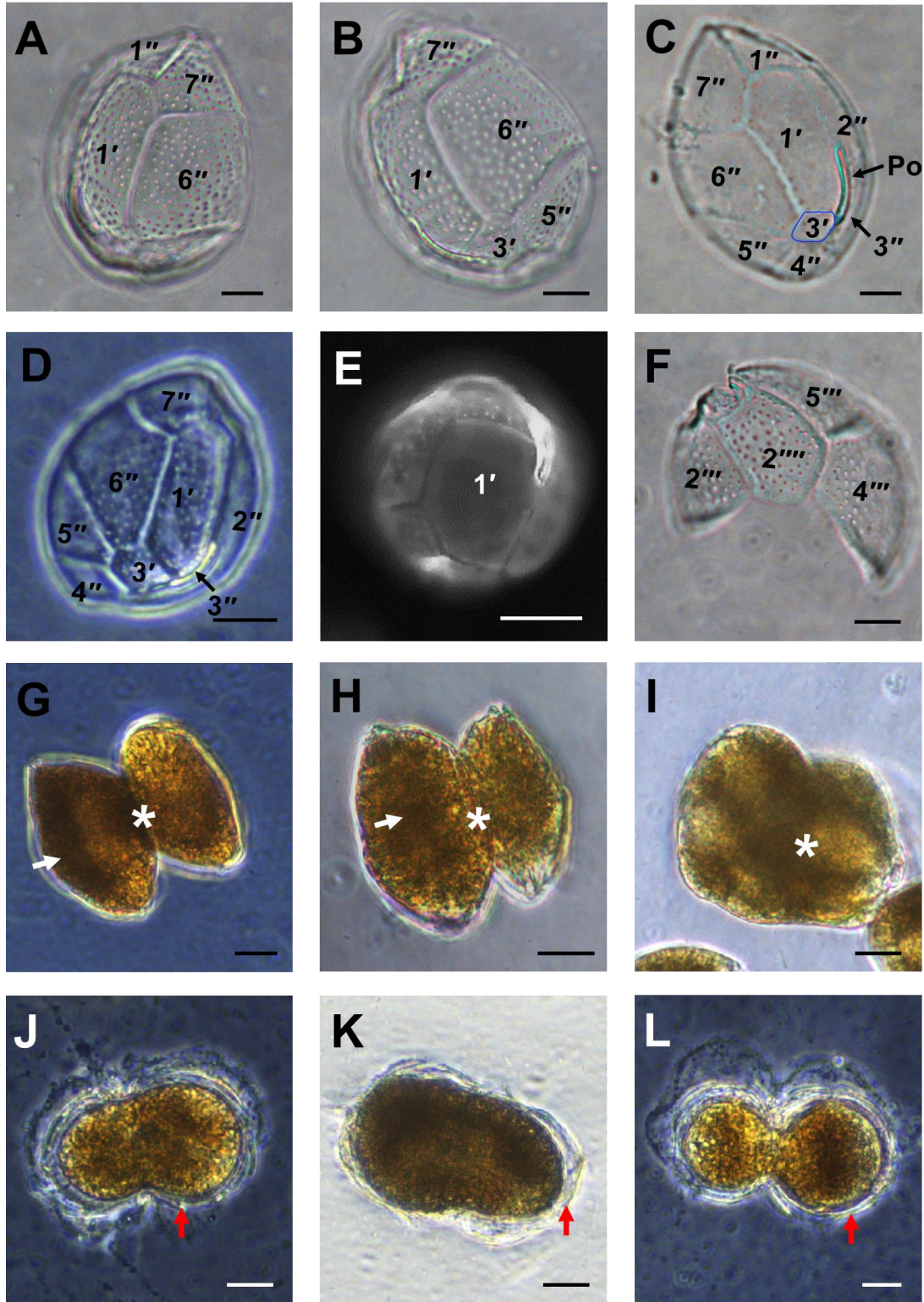
pequeña de la epiteca, mientras que la placa 6'' es la más grande de la serie precingular (Figs. 28 A-D, 30 A). De la serie precingular la mayoría de estas placas son cuadrangulares mientras que la placa 6'' es pentagonal y está conectada a las placas 1', 3', 5'' y 7'' (Figs. 28 A-D). De las placas postcingulares la 1''' es trilateral, 2''' tiene cinco lados y las placas 3''', 4''' y 5''' con cuatro lados (Figs. 28 F, 30 D-G, 31 A y C). La placa antapical 2'''' tiene un lado convexo, y está conectada a las placas postcingulares 1''', 2''', 3''', 4''' y 5''' (Figs. 30 D, E).

**Arreglo tecal:** Po, 3', 7'', 6c?, 4s?, 5''' y 2''''.

**Estados reproductivos:** Las células en cultivo pueden presentar diferentes tamaños de acuerdo con los procesos de reproducción y enquistamiento. En este último proceso, las células pueden mantener la típica forma de gota con una membrana extra (probablemente quistes temporales) o mostrarse completamente redondas (Fig. 27 K). Se observaron gametos fusionados donde se mostraba el cingulum de estos (Fig. 27 I). Células en proceso de división en par (Fig. 27 L). El apareamiento de células vegetativas observó a través de la zona apical (Figs. 28 G, H). Este proceso se ha observado en células oscuras, lo cual también se observó en los gametos fusionados (Fig. 28 G; flechas blancas). Los quistes en reposo y temporales se observaron en el fondo del matraz generalmente adheridos y rodeados por un tipo de mucus. Los quistes son redondos a ovoides, con una membrada delgada o de pared doble (Figs. 29 A, B, D-H; Anexo III, lámina 4: I, K, M). Los quistes ovoides con membrana delgada eran reproductivos, ya que se observaron desprendimientos de células hijas de estos (Fig. 28 J-L). En el proceso de enquistamiento se desprenden la teca y los flagelos (Fig. 29 A, E).

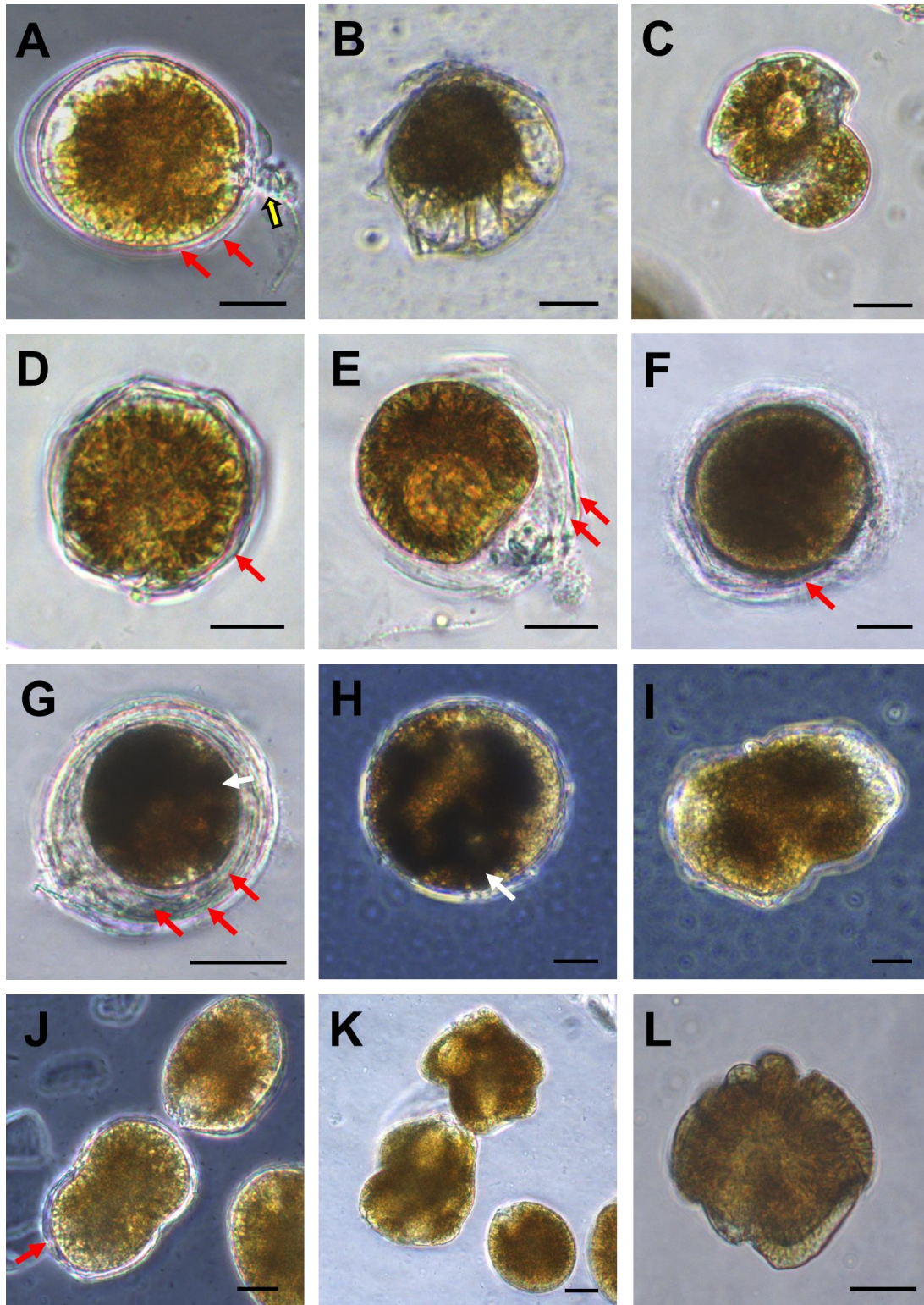


**Figura 27.** Microscopía fotónica de *Ostreopsis lenticularis* (cepas SO1 y SO4). A, B y F) Vista apical de células vivas; círculo rojo muestra la zona apical translúcida. C-E) Vista ventroapical. D) Vista dorsal. G, H y J) Vista antapical. I) Flechas muestran el cingulum de gametos apareados. K y L) Células redondeadas de diferente tamaño; flecha roja indica la presencia de una membrana y los asteriscos (∗) muestran un gameto en división. Ci= cingulum, Cl= cloroplastos, FL= flagelo longitudinal, Pu= púsula. Barras de escala: A, C-G, I, J y K= 20  $\mu\text{m}$ ; B y H= 10  $\mu\text{m}$  y L= 40  $\mu\text{m}$ .

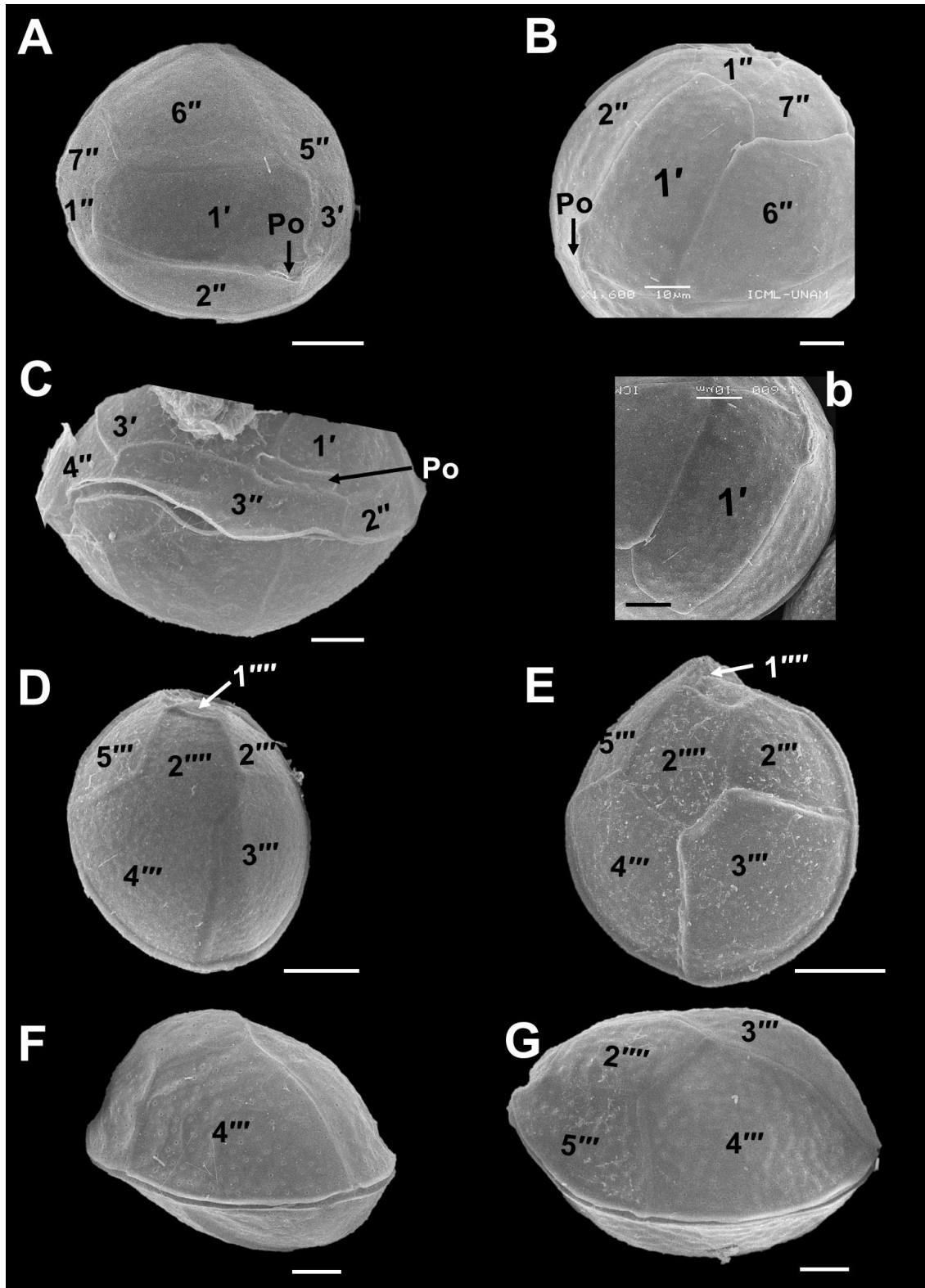


**Figura 28.** Microscopía fotónica de *Ostreopsis lenticularis* (cepas SO1 y SO4). A-E) Tecas vacías en vista apical, placas apicales ('), precingulares (") y placa del poro apical (Po). F) Vista antapical. G-I) Unión de células vegetativas a través del área apical. J-L) Pares de células redondas, oscuras, con doble pared (flechas rojas) y embebidas en una película. Flecha blanca: indica zonas oscuras de las células; asteriscos muestran zonas de unión. Barras de escala: A-C, F= 10  $\mu$ m; D, E, G-L= 20  $\mu$ m.

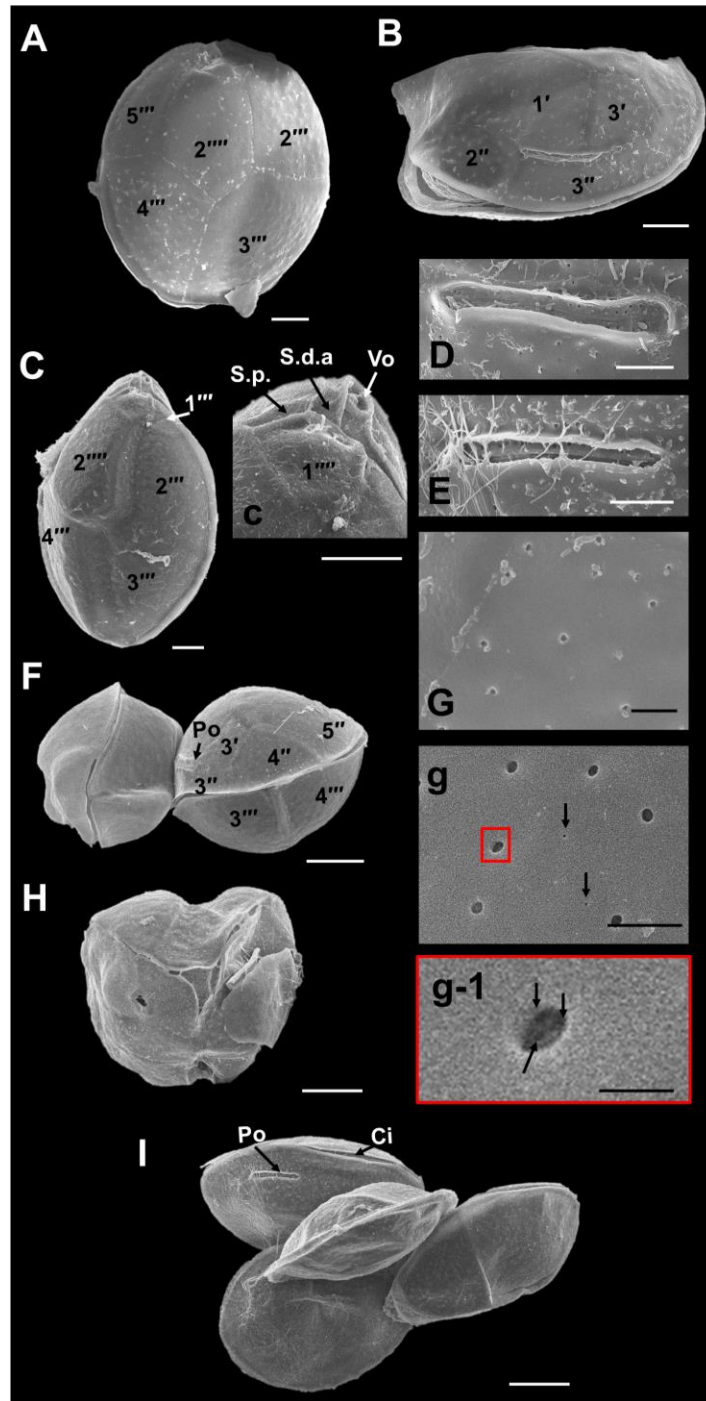




**Figura 29.** Quistes de *Ostreopsis lenticularis* (cepas SO1 y SO4). A) Proceso de enquistamiento por desprendimiento de la pared celular y flagelos (flecha amarilla). B-H) Quistes temporales (membrana delgada) y de resistencia (doble membrana); flecha blanca indica zonas oscuras. J-K) Morfología de células en proceso de reproducción; flechas rojas: indican número de membranas en quistes. Barras de escala: A-E= 10  $\mu$ m; F-L= 20  $\mu$ m.



**Figura 30.** Microscopía electrónica de barrido de *Ostreopsis lenticularis* (SO1 y SO4). A, B y b) Vista apical, mostrando placas apicales (') y precingulares ("). C) Vista lateral. D y E) Vista antapical, placas antapicales (''') y postcingulares ('''). F y G) Vista lateral-apical. Po: placa del poro apical. Barras de escala: A, D y E= 20  $\mu$ m; b, B, C y F= 10  $\mu$ m.



**Figura 31.** Microscopía electrónica de barrido de *Ostreopsis lenticularis* (cepas SO1 y SO4). A) Vista antapical. B) Vista apical. C) Vista apical-lateral. D-E) Placa del poro apical. F) Células unidas a través del poro apical. G, g, g-1) Superficie tecal; flechas indican los tipos de poros. H) Células en división mostrando el cingulum. I) Células de *O. lenticularis*, se destaca el cingulum, placa del poro apical y se observa la profundidad de las células. Po= placa del poro apical, Vo= abertura ventral, S.p.= placa sulcal posterior, S.d.a= placa sulcal derecha. Barras de escala: A, C, c y B= 10  $\mu$ m; F, H y I= 20  $\mu$ m; D y E= 5  $\mu$ m; G y g= 2  $\mu$ m; g-1= 0.5  $\mu$ m.

### 7.1.6 Morfotipo de células pequeñas- *Ostreopsis ovata* Y. Fukuyo

#### Cepas y tamaños celulares:

<sup>1</sup>SO2:  $49.40 \pm 10.17$   $\mu\text{m}$  de largo (dorso-ventralmente),  $36.79 \pm 7.19$   $\mu\text{m}$  de ancho-transdiámetro (n= 37).

<sup>2</sup>SO3:  $46.89 \pm 3.5$   $\mu\text{m}$  de largo,  $32.20 \pm 3.78$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 30).

<sup>1,2</sup>Largo del poro apical: 8.38 a 11.19  $\mu\text{m}$  (Mín.-Máx.; n= 9).

**Localidad de muestreo:** El Sauzoso, Bahía de La Paz, Baja California Sur, México.

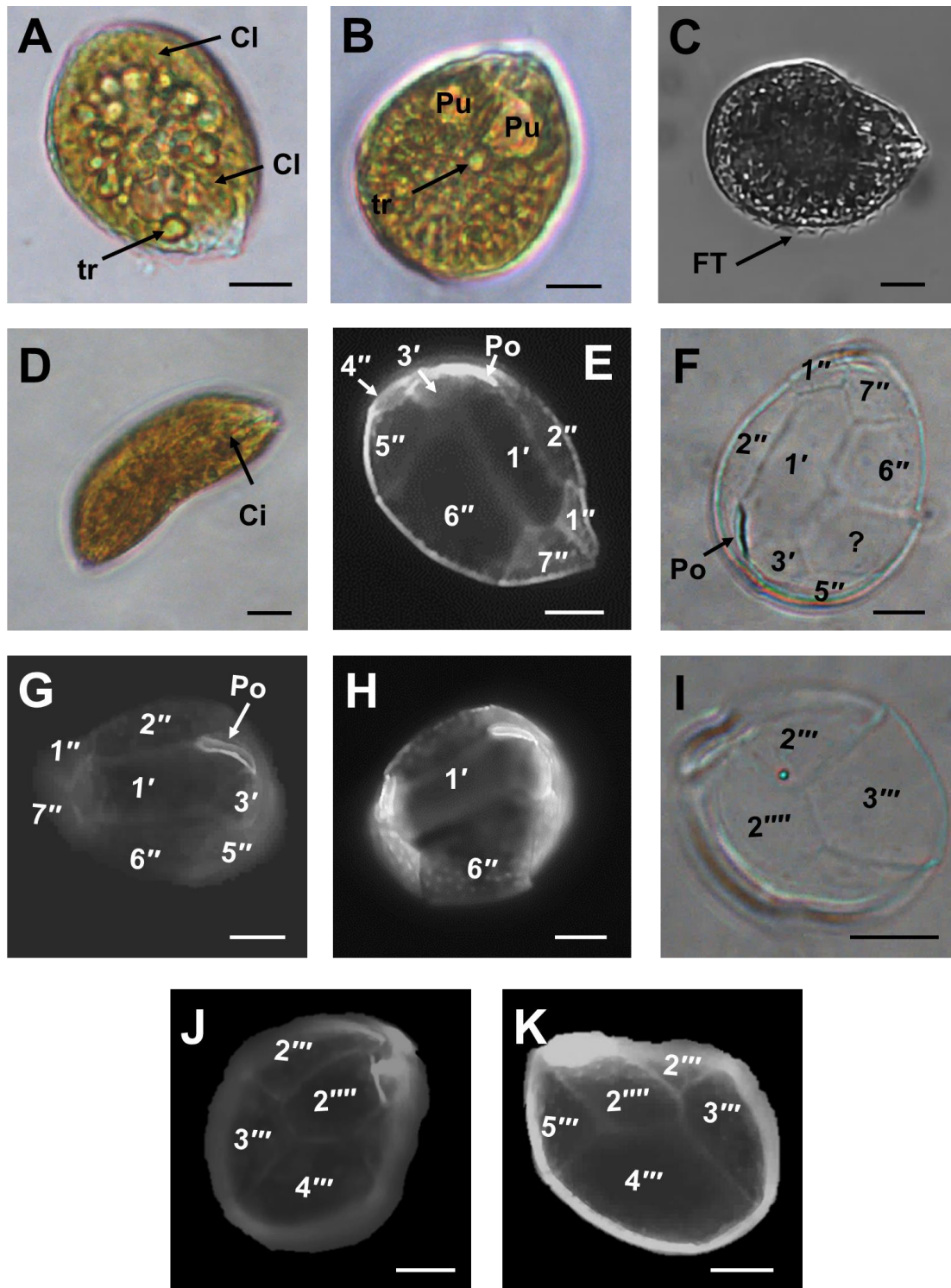
**Cultivo:** Las células crecen en el fondo de los recipientes de cultivo y se encuentran rodeadas por mucílago.

**Descripción:** Células individuales, pequeñas en comparación con *Ostreopsis lenticularis*, lenticuladas, ventralmente puntiagudas y dorsalmente ancha-ovaladas. Las células presentan la típica forma del género *Ostreopsis*, células en forma de gota o lagrima. El área ventral es menos pigmentada en comparación con el resto de la célula. Presentan numerosos cloroplastos de color amarillo a café. En vista apical cerca del área ventral se observaron de una a dos púsculas (Figs. 32 A, B). En el citoplasma se distribuyen cuerpos redondeados translucidos, probablemente de reserva de lípidos (Figs. 32 A, B). El flagelo transversal que rodea la célula se puede observar en vista apical (Fig. 32 C). En vista lateral las células muestran una curvatura (Fig. 32 D). La superficie de la teca es lisa y está perforada por poros, que presentan de 3 a 4 perforaciones en su interior. La placa del poro apical muestra una curvatura, muy característica del género, y es más larga que ancha (Figs. 32 F, G; 35 B, C). La primera placa apical 1' está situada en el centro de la epiteca, es larga, hexagonal y está conectada con las placas del Po, 2', 3', 1'', 2'' 6'' y 7'' (Figs. 31 E-H). La segunda placa apical (2') es la más pequeña de la epiteca y estrecha, conectada a las placas: Po, 3'' y 2'' (Fig. 35

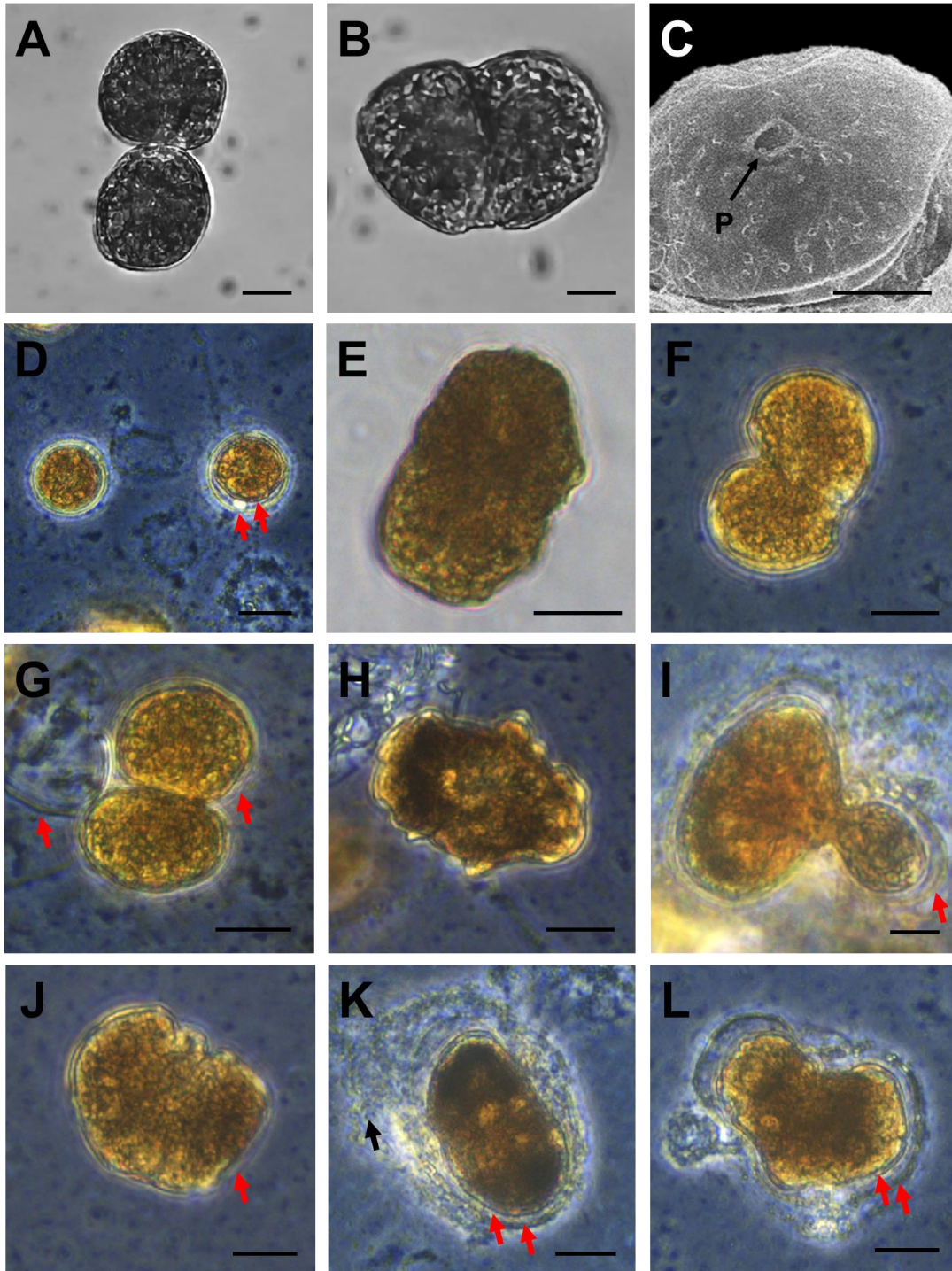
A). La tercera placa apical (3') es pequeña, localizada en el área dorsal- apical, y es hexagonal (Figs. 32 E-G). La placa precingular 1'' es cuadrangular conectada a las placas 1' 2'' y 7'' (Figs. 32 E, G). La placa precingular 6'' es pentagonal, conectada a las placas 1', 3', 5'' y 7'' (Figs. 32 E-H). En la hipoteca las placas que ocupan la mayor área son las postcingulares 2''', 3''', 4''' y la antapical 1'''' (Figs. 35 D, F). Las placas 2''', 3''', y 4''' cuadrangulares (Fig. 35 D). La placa 5''' es irregular a triangular.

**Estados reproductivos:** Se documentaron estados de procesos reproductivos sexuales y asexuales. Se observaron células vegetativas y ameboides apareadas que se conjugaban a través de la epiteca (Figs. 33 B, C). Se observó un proceso en la parte superior de la epiteca que representa una estructura de fecundación (Fig. 33 C). También se observaron células unidades lateral y ventralmente que se desprendían con rapidez (Figs. 33 A, B). Los estados de reproducción asexual se observaron en células ameboides que se dividieron por fisión binaria, mostrando de dos a tres líneas de división (Figs. 33 F; 34 A-D).

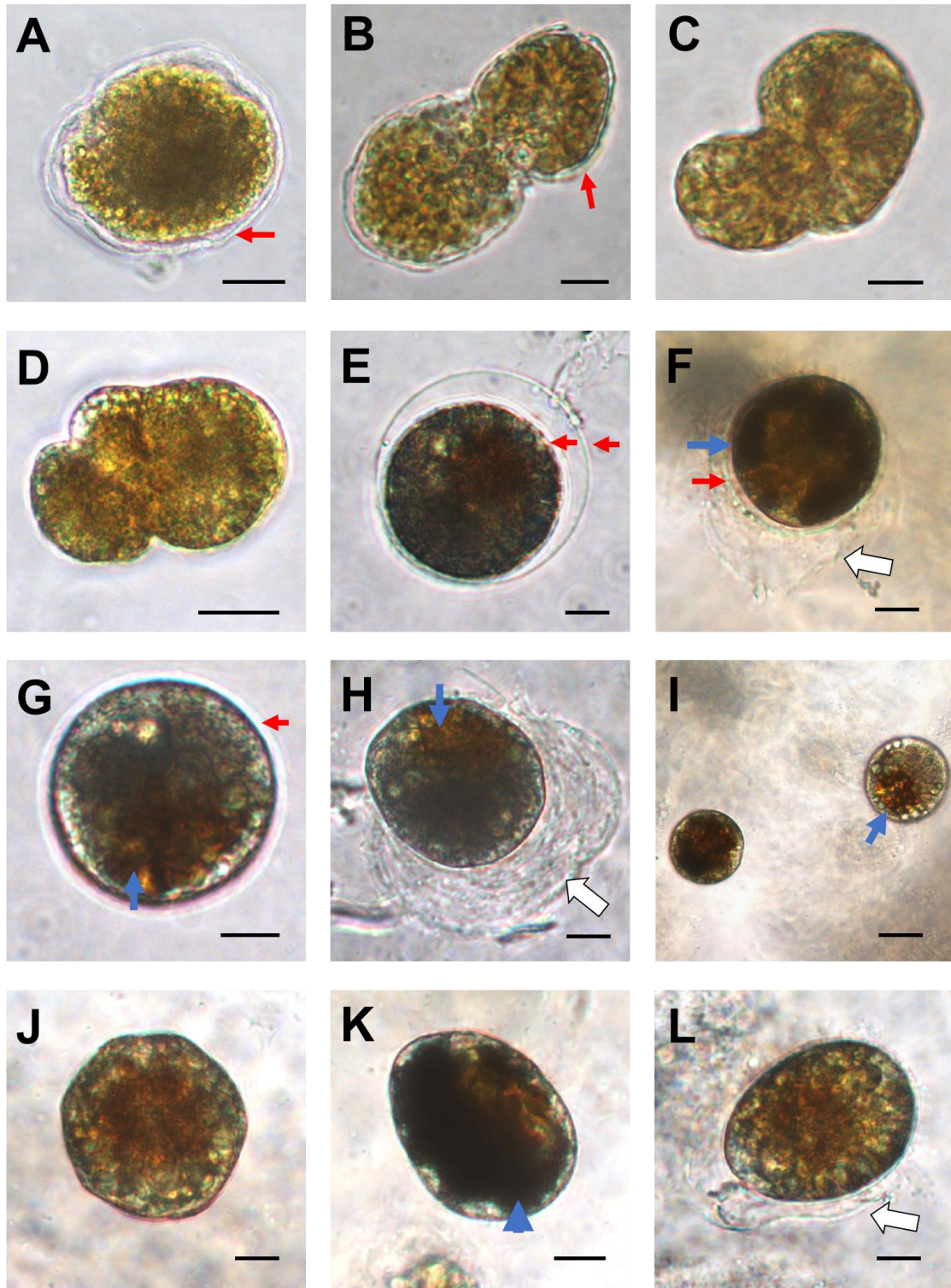
Se documentaron quistes formados por ecdisis celular (con una membrana delgada), con formas cocoides y ameboides con zonas oscuras (Figs. 34 E-L). Aunado a los anterior, se observaron cuerpos de acumulación de color naranja (Figs. 34 G-L). Se presentaron quistes temporales y de resistencia con membranas hialinas delgadas y dobles, respectivamente (Figs. 34 E-L). Quistes encerrados en membranas delgadas muestran una división del protoplasma, y están embebidos en una especie de mucus (Figs. 33 G-L; 34 E).



**Figura 32.** Microscopía de luz de *Ostreopsis ovata* (cepas SO2 y SO3). A-C y E-H) Vista apical. D) Vista lateral. I-K) Vista antapical. Cl= cloroplastos, Ci= cingulum, Pu= púsula, FT= flagelo transversal, tr= cuerpos redondeados traslucidos, Po= placa del poro apical. Barras de escala: A-H, J-K= 10  $\mu$ m; I= 20  $\mu$ m.

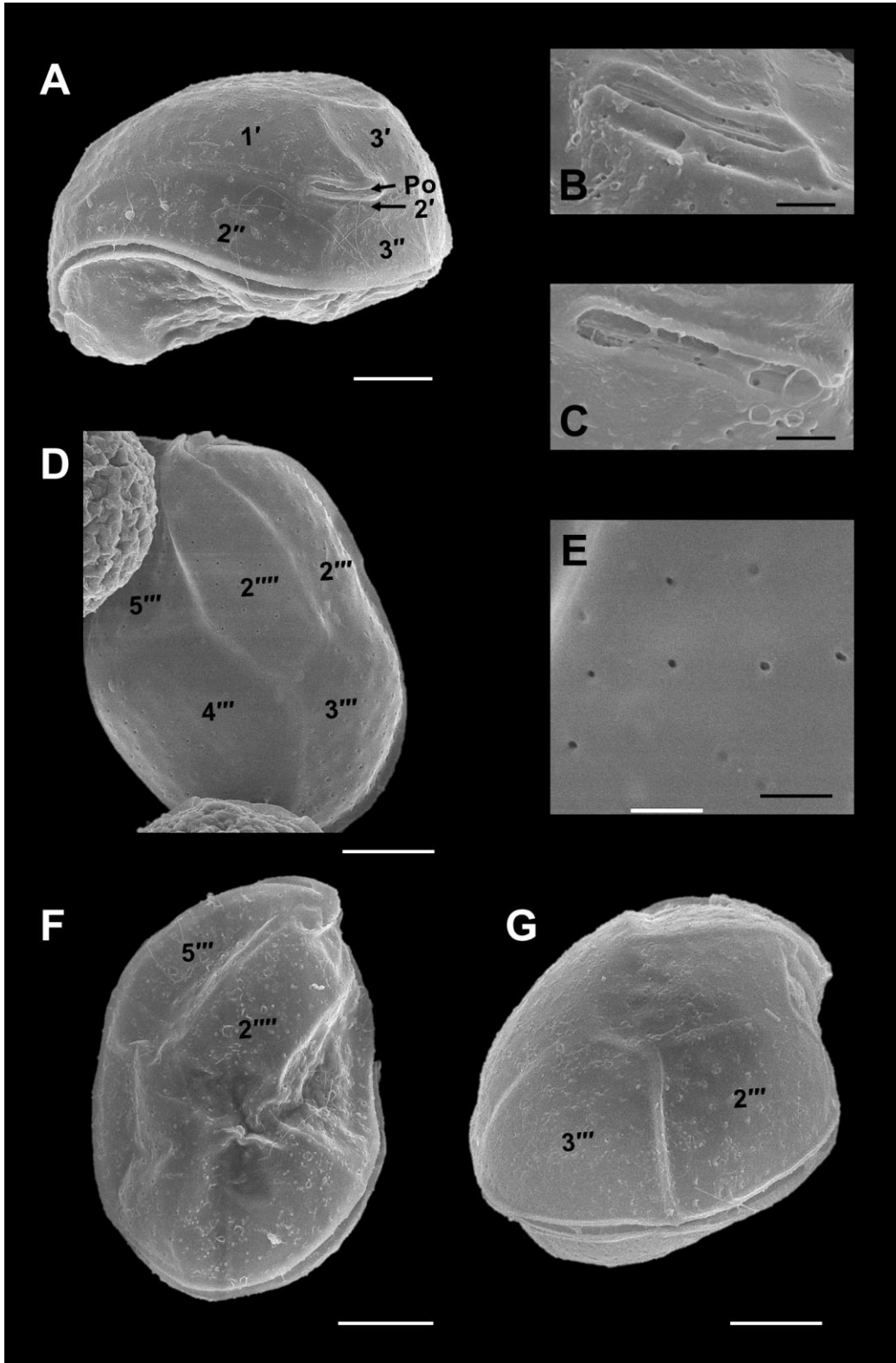


**Figura 33.** Microscopía de luz de *Ostreopsis ovata* (cepas SO2 y SO3). A) Emparejamiento ventral. B) Emparejamiento lateral. C) Proceso circular de fecundación (P) en área apical. C) Quistes de doble membrana (flechas rojas). E-H) Células en proceso de reproducción. F y G) Células ameboides emparejadas ventralmente. I-L) Quistes reproductivos embebidos en mucílago (flecha negra). Barras de escala: A, D, E-H, J-L= 20  $\mu$ m; B, C, I= 10  $\mu$ m.



**Figura 34.** Quistes de *Ostreopsis ovata* (cepas SO2 y SO3). A, E, F, H) Quistes de doble pared. B-C) Células ameboides reproduciéndose por fisión binaria. G, I y J) Quistes de pared fina. K y L) Quistes ameboides con una membrana delgada. Flecha azul= indica las zonas oscuras y cuerpos de color naranja del citoplasma, flecha roja indica membrana o pared del quiste, flecha blanca muestra mucílago y el desprendimiento de la teca. Barras de escala: A, D, I= 20  $\mu$ m; B, C, E-H, J-L= 10  $\mu$ m.





**Figura 35.** Microscopía electrónica de barrido de *Ostreopsis ovata* (cepas SO2 y SO3). A) Vista dorsal-apical. B-C) Placa del poro apical. D y F) Vista antapical. E) Superficie tecal. G) Vista dorsal antapical. Barras de escala: A, B, F y G= 10  $\mu$ m; B, C y E= 2  $\mu$ m.

### 7.1.7 *Prorocentrum koreanum* M.-S. Han, S.Y. Cho & P. Wang

#### Cepas y tamaños celulares:

<sup>1</sup>s/i N:  $38.12 \pm 2.75$   $\mu\text{m}$  de largo,  $22.28 \pm 1.40$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 10).

<sup>2</sup>s/i 21:  $40.29 \pm 2.20$   $\mu\text{m}$  de largo,  $27.39 \pm 3.17$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 36).

<sup>3</sup>s/i 35:  $37.77 \pm 1.80$   $\mu\text{m}$  de largo,  $20.56 \pm 2.25$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 30).

<sup>4</sup>RPI:  $37.52 \pm 2.08$   $\mu\text{m}$  de largo,  $24.59 \pm 1.24$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 31).

**Localidades de muestreo:** <sup>1,4</sup>El Requesón, <sup>2,3</sup>Estación 2, Ensenada de La Paz, Bahía de La Paz, México.

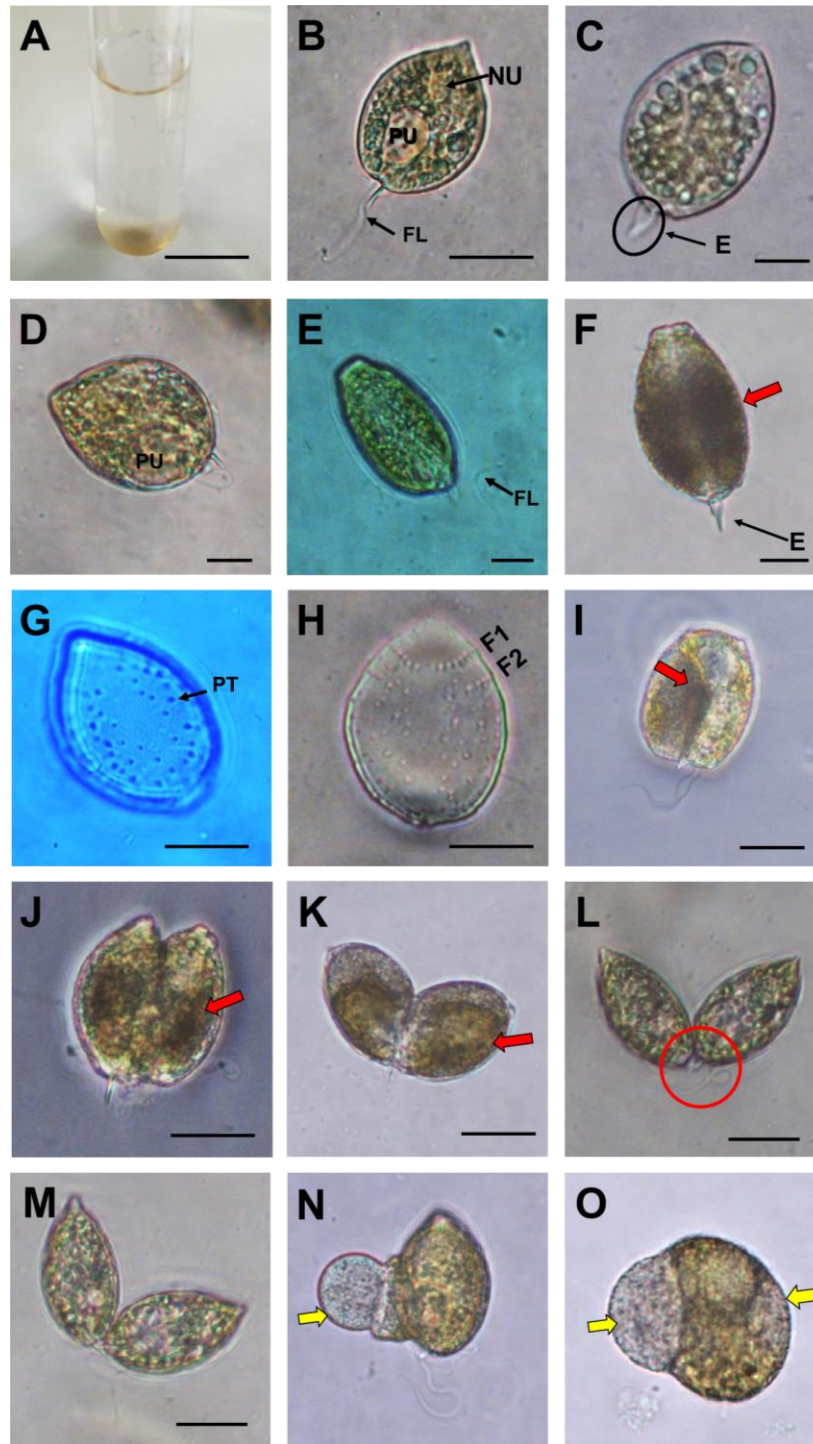
**Cultivo:** Células con nado activo y producción de mucus en el fondo y superficie del tubo de cultivo. La columna de cultivo se puede presentar incolora o con un color café tenue (Figs. 36 A; 38 A).

**Descripción:** Las cepas estudiadas presentaron células ovaladas a oblongas, asimétricas, en forma de gotas y solitarias (Fig. 38 B-E). Mientras que la cepa s/i 21 presentó dos morfotipos de células, en forma de corazón en el área anterior (forma típica de *P. micans*), y otro tipo de células piriformes que es la morfología típica de *Prorocentrum koreanum* (Fig. 36 B y C; 37 A y B).

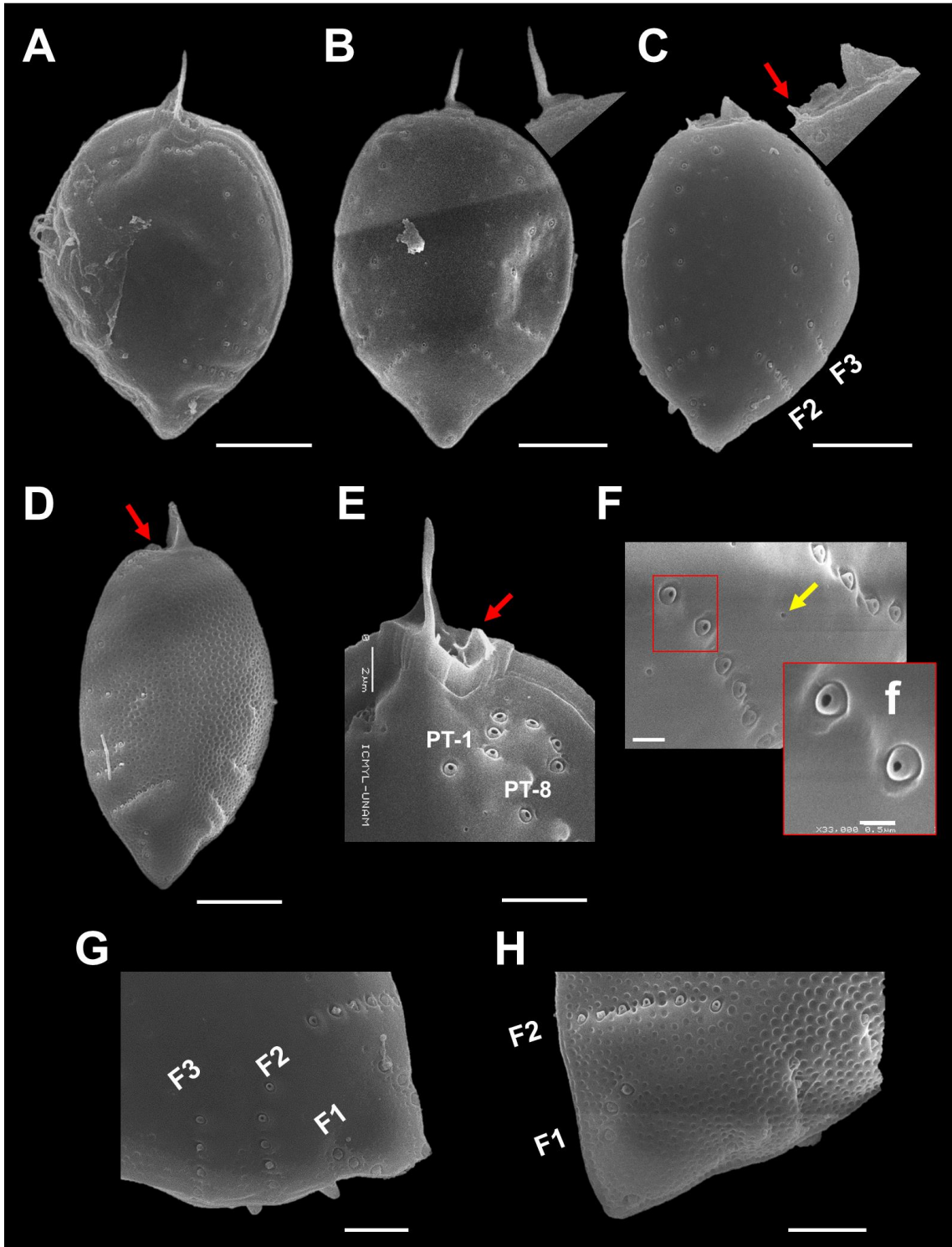
Las células piriformes de las cepas N, 35 y RP1, presentaron bordes cóncavos (Figs. 39 A, B). En zona anterior se observó la presencia de 1 a 3 púsculas que abarcan casi la mitad de la célula. En la zona posterior se observa el núcleo en forma de corazón (Figs. 38 B-E). Los cloroplastos son de color verde-marrón. No presentan pirenoide. El área posterior termina en una pequeña punta no prolongada (Figs. 38 C; 39 B, D). En la valva lateral derecha se observa una espina apical alada, recta con un tamaño de  $5.64 \pm 1.04$   $\mu\text{m}$  de largo (n= 27). La zona periflagelar es amplia, poco profunda, con una segunda espina de menor tamaño, y presentan de 5 a 6 poros de tricocistos en el margen de esta (Figs. 39 f1, f2, G). Las valvas presentan un patrón de depresiones homogéneas en forma de panal (Fig. 39 A). La valva derecha presenta una depresión o excavación en forma de U (Fig. 39 G). Presentan de 2 a 4 líneas de 4 a 5 poros de tricocistos en cada lado de la teca en forma de V invertida, y otra fila

de 3 a 4 poros en la parte más posterior en dirección de V (Figs. 39 H, I). No se observaron poros de tricocistos en el área central de las valvas.

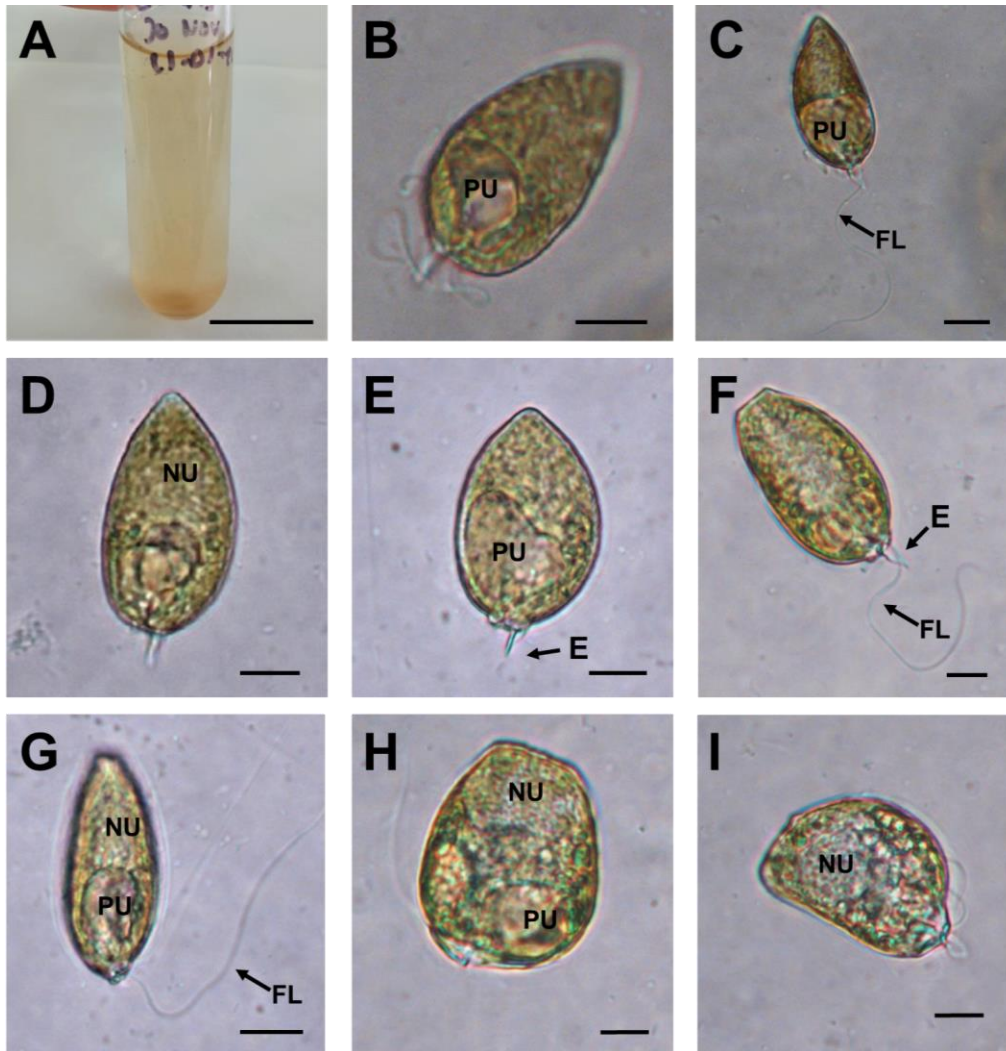
**Estados reproductivos:** En cultivo se pudo observar el emparejamiento de células vegetativas en el área periflagelar (Figs. 36 K-M). Se documentaron células en anafase, telofase y la etapa 4 de la división sexual (Figs. 36 I-M). Se observó un proceso de la fase vegetativa que forma parte del ciclo de vida sexual del género *Prorocentrum*, las células vegetativas haploides se unieron a través del área valvar, mostrando flagelos operativos (Fig. 38 I). En cultivo, algunas células mostraron cuerpos redondeados incoloros en la periferia, que podrían corresponder a parásitos extracelulares del grupo *Dinomyces* (Figs. 36 N, O).



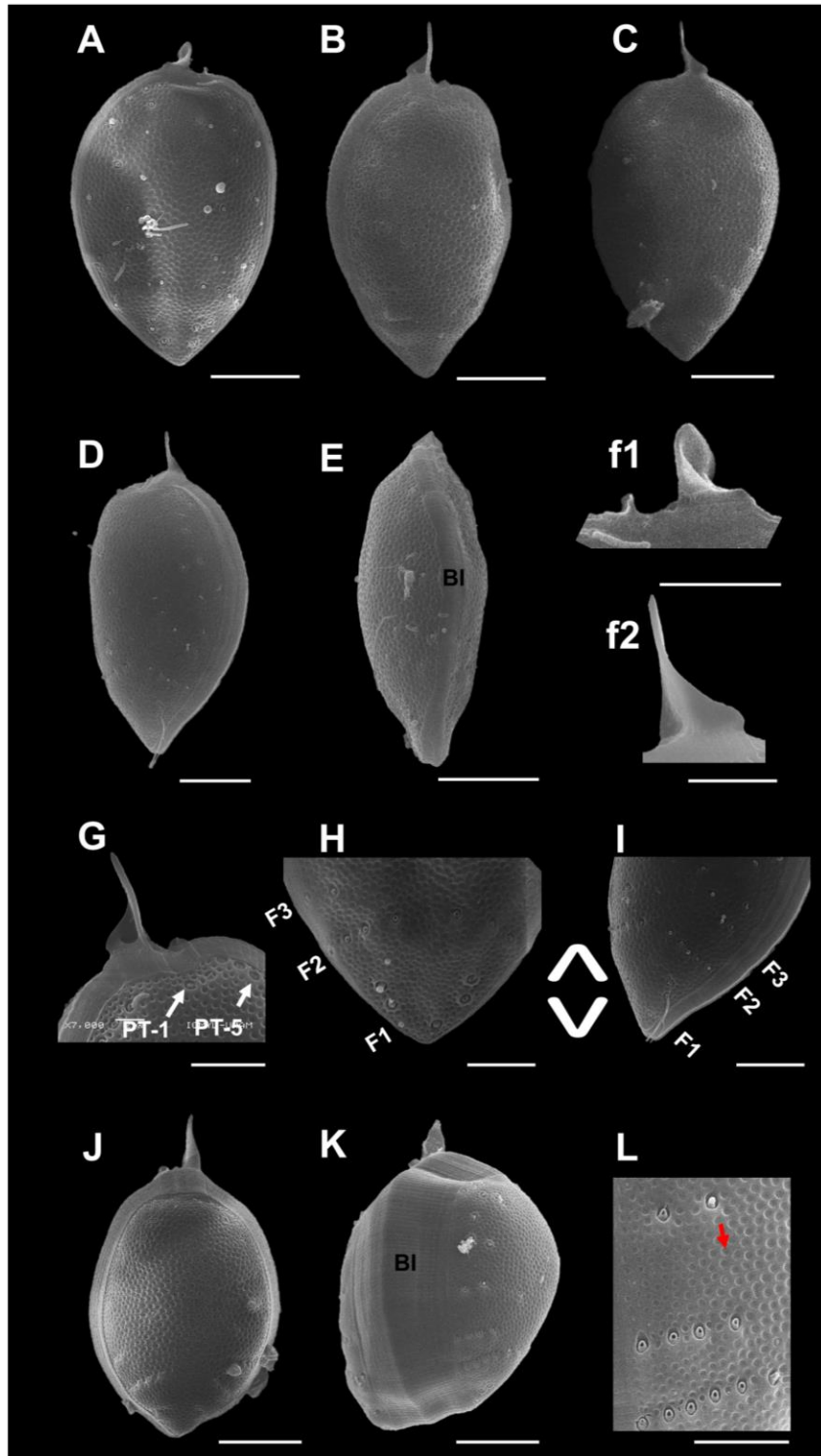
**Figura 36.** Microscopía fotónica de la cepa s/i 21. A) Cepa s/i 21 en medio GSe. B-C) Células acorazonadas en la zona anterior. D) Vista valvar posterior con terminación en punta o V. E y F) Vista lateral, se observa el antapex truncado, siendo del ancho de la banda intercalar. G-H) Se resalta la superficie de las valvas derecha e izquierda, mostrando filas de poros de tricocistos (F1 y F2). I-J) Anafase tardía. L y M) Emparejamiento de isogametos (telofase tardía). N y O) Flechas amarillas señalan un parásito extracelular. E= espina apical, FL= flagelo longitudinal, Pu= púsculas, NU= núcleo, flechas rojas indican zonas oscuras que son clave para identificar el estado reproductivo de las células; F1-F2 indican filas de poros de tricocistos. Barras de escala: A= 2 cm; B, G-L= 20  $\mu$ m; C, D, E y F= 10  $\mu$ m.



**Figura 37.** Microscopía electrónica de barrido de células de la cepa s/i 21. A-C) Morfotipos de células similares a *P. micans*. D) Morfotipo de células piriformes. E) Zona periflagelar mostrando poros de tricocistos marginales (PT1-PT8). F-H) Filas de poros de tricocistos del área posterior (F1-F3 y f). Barras de escala: A-D= 10  $\mu\text{m}$ ; E, G y H= 4  $\mu\text{m}$ ; F= 1  $\mu\text{m}$ ; f= 0.5  $\mu\text{m}$ .



**Figura 38.** Microscopía fotónica de células de las cepas N, 35 y RP1. A) Cepa 35 en medio GSe. B-D) Vista general-valvar. E) Valva derecha. F-H) Vista dorsal, área posterior truncada haciendo referencia a la anchura de la banda intercalar. I) Células vegetativas haploides con flagelos operativos. NU= núcleo, PU= púsulas, E= espina apical, FL= flagelo longitudinal. Barras de escala: A= 2 cm; B-I= 10  $\mu$ m.



**Figura 39.** Microscopía electrónica de barrido de cepas identificadas morfológicamente como *Prorocentrum koreanum* (cepas 35, RP1 y N). A-B) Valva derecha. C) Valva izquierda. D-E) Vista dorsal. f1-f2) Espinas apicales, vista valvar derecha e izquierda. G) Área periflagelar, se muestra el número de poros de tricocistos (PT1-PT5). H-I) Vista posterior de la valva derecha; símbolos blancos muestran la dirección de las filas de poros de tricocistos (F1-F3). J) Morfotipo de célula ancha que muestra en vista valvar la banda intercalalar (BI). K) Banda intercalalar estriada. L) Superficie valvar con depresiones distribuidas homogéneamente. Barras de escala: A-E, G, H-K= 10  $\mu\text{m}$ ; f1= 5  $\mu\text{m}$ ; f2, L= 4  $\mu\text{m}$ .

### 7.1.8 *Prorocentrum norrisianum* Faust & Morton

#### **Cepas y tamaños celulares:**

BAPAZ:  $18.47 \pm 1.53$   $\mu\text{m}$  de largo,  $11.83 \pm 1.05$   $\mu\text{m}$  de ancho (n= 38).

**Localidad de muestreo:** Playa del CETMAR, Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México.

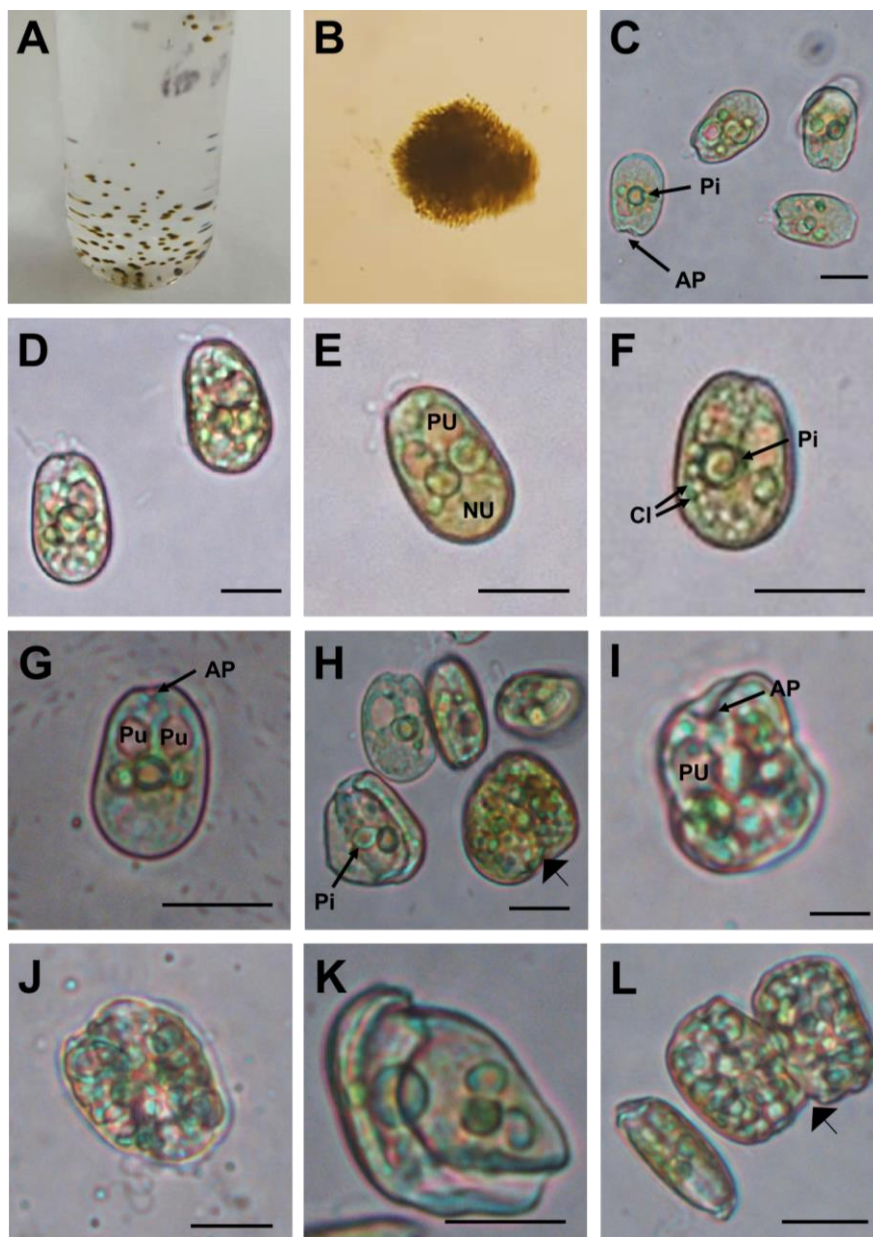
**Cultivo:** Células individuales que crecen formando agrupaciones en la pared del tubo de cultivo (Figs. 40 A, B).

**Descripción:** Células individuales, ovaladas a oblongas y asimétricas con respecto a su eje longitudinal (Figs. 40 C-G). Cloroplastos marginales, circulares y alargados de color verde a amarillo (Figs. 40 F; 41 A). Se observa un pirenoide circular que se ubica en el centro de las células (Figs. 40 C, F). El núcleo se localiza en la zona posterior de las células (Fig. 40 E). Las células vegetativas presentan de una a tres púsculas que abarcan el área posterior (Figs. 40 E, G, I). La zona periflagelar es en forma de V (Figs. 40 C, G, I). Las valvas no presentan un patrón de distribución de poros, tampoco se observan poros de tricocistos (Figs. 42 E, I). La especie no presenta una espina apical desarrollada. La banda intercalar es delgada. Se observaron células incoloras, granuladas y con cuerpos redondos de color verde (Fig. 41 A).

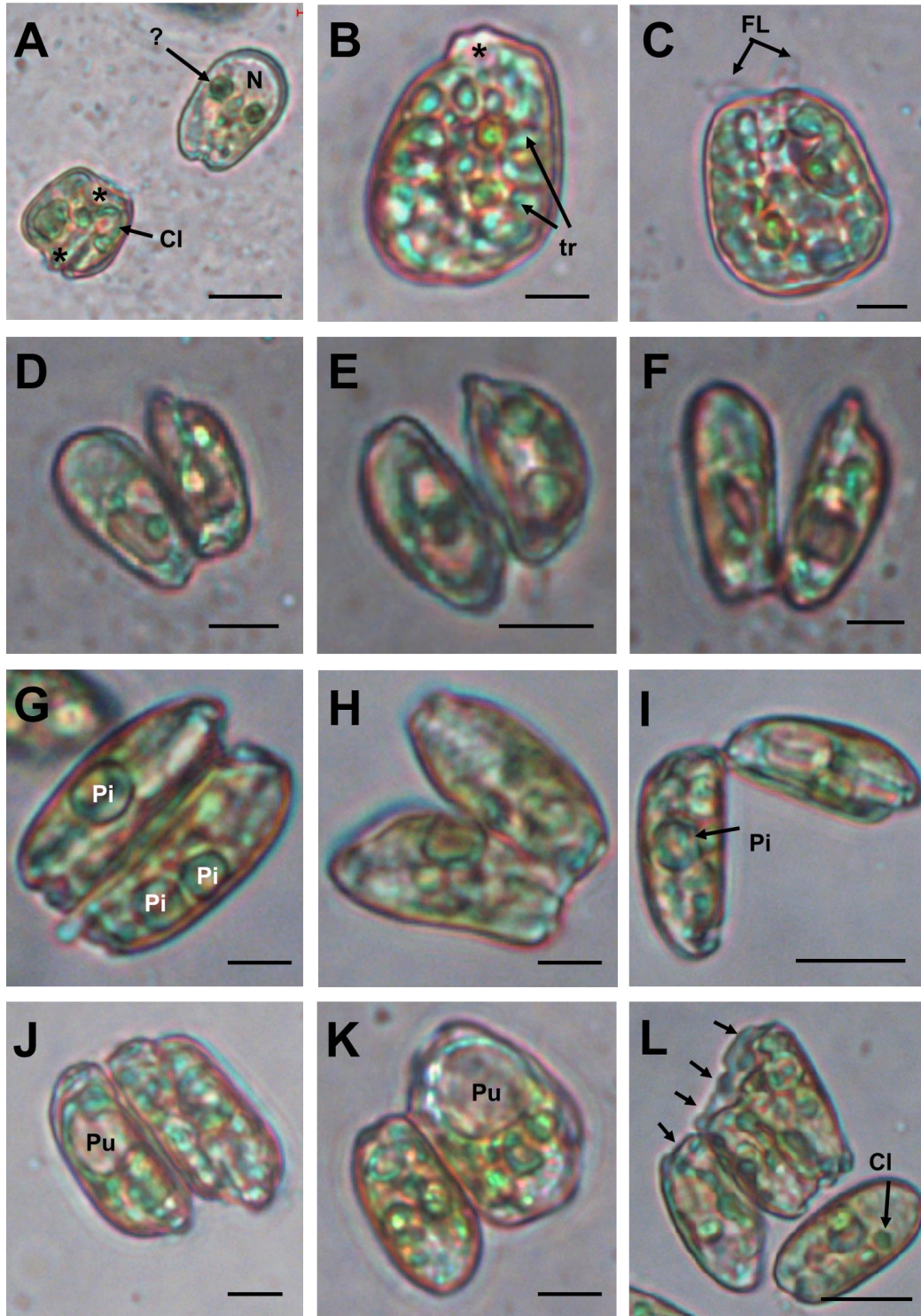
**Estado reproductivo:** Se documentaron diferentes estados de la reproducción sexual. Las células móviles deformadas, granuladas con cuerpos circulares incoloros, que generalmente marcaban el inicio de los procesos de reproducción (Figs. 40 I, J). La división sexual por fisión se observó en células que conservaban los flagelos longitudinales y otras inmóviles, mostrando las líneas de división (Figs. 41 A-C). También se observó la unión de gametos en el área de la banda intercalar, presentando cambios en la morfología en dicha zona de contacto (Fig. 40 L). Otro tipo de unión se llevó a cabo en la zona central (valva-valva), posterior a esto ocurría la separación de estos gametos desde la zona posterior finalizando en



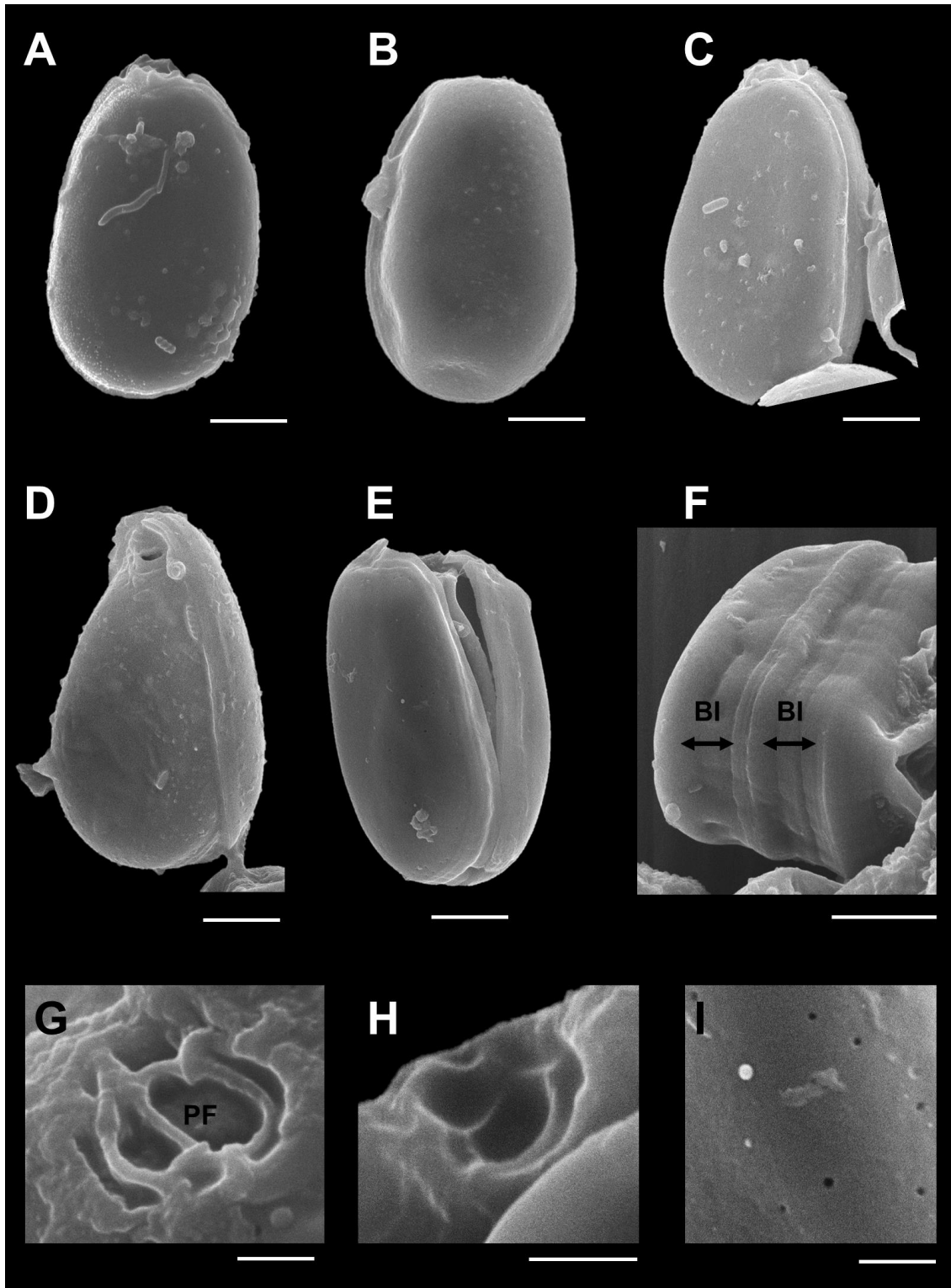
el área periflagelar (Figs. 41 D-I). La división sexual se observó en agrupaciones de hasta cuatro planocigotos inmóviles (Figs. 41 J-L). Las púsulas se observaron tanto en células vegetativas como en células en reproducción, siendo de mayor tamaño en estas últimas (Figs. 41 J, K).



**Figura 40.** Microscopía fotónica de la cepa BPAZ identificada como *Prorocentrum norrisianum*. A-B) Agrupamientos celulares en medio K. C-G) Vista general, mostrando el área periflagelar, flagelos, pirenoide, púsulas, cloroplastos y núcleo. H-I) Células granuladas en proceso de división (flecha negra). J-K) Planocigotos irregulares. L) Fusión de gametos con la zona de contacto modificada (flecha negra). Pi= pirenoide, AP= área periflagelar, PU= Púsula, NU= núcleo, Cl: cloroplasto. Barras de escala: C-H, J-L= 10  $\mu$ m; I= 5  $\mu$ m.



**Figura 41.** Microscopía fotónica de la cepa BAPAZ (*Prorocentrum norrisianum*). A-C) Planocigotos iniciando la división celular sexual, los planos de división se indican con asteriscos (∩). D-I) Gametos fusionados en la zona central valvar, finalizando la división en la zona periflagelar. J-L) Agrupaciones de planocigotos antes y después de la división celular (las flechas indican el número de planocigotos). FL= flagelos longitudinales, Pi= pirenoide, Pu= púsulas, tr= cuerpos redondeados traslucidos, NU= núcleo, CI= cloroplastos. Barras de escala: A, D, E, I y L= 10 µm; B, C, F, G, H, J y K= 5 µm.



**Figura 42.** Microscopía electrónica de barrido de la cepa BAPAZ (*Prorocentrum norrisianum*). A-C) Vista valvar derecha. D) Célula redondeada con la prolongación de la zona periflagelar. E) Vista valvar lateral. F) Vista antapical de una célula con una Banda Intercalar (BI) ancha. G-H) Detalle de la zona periflagelar. I) Detalle de la superficie tecal. Barras de escala: A-F= 4  $\mu$ m; G-I= 1  $\mu$ m.

### 7.1.9 *Prorocentrum triestinum* J. Schiller

#### **Cepas y tamaños celulares:**

Predfieldi:  $20.79 \pm 1.05$   $\mu\text{m}$  de largo,  $10.99 \pm 0.95$   $\mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DS; n= 35).

**Localidades de muestreo:** Estación 5 y Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México.

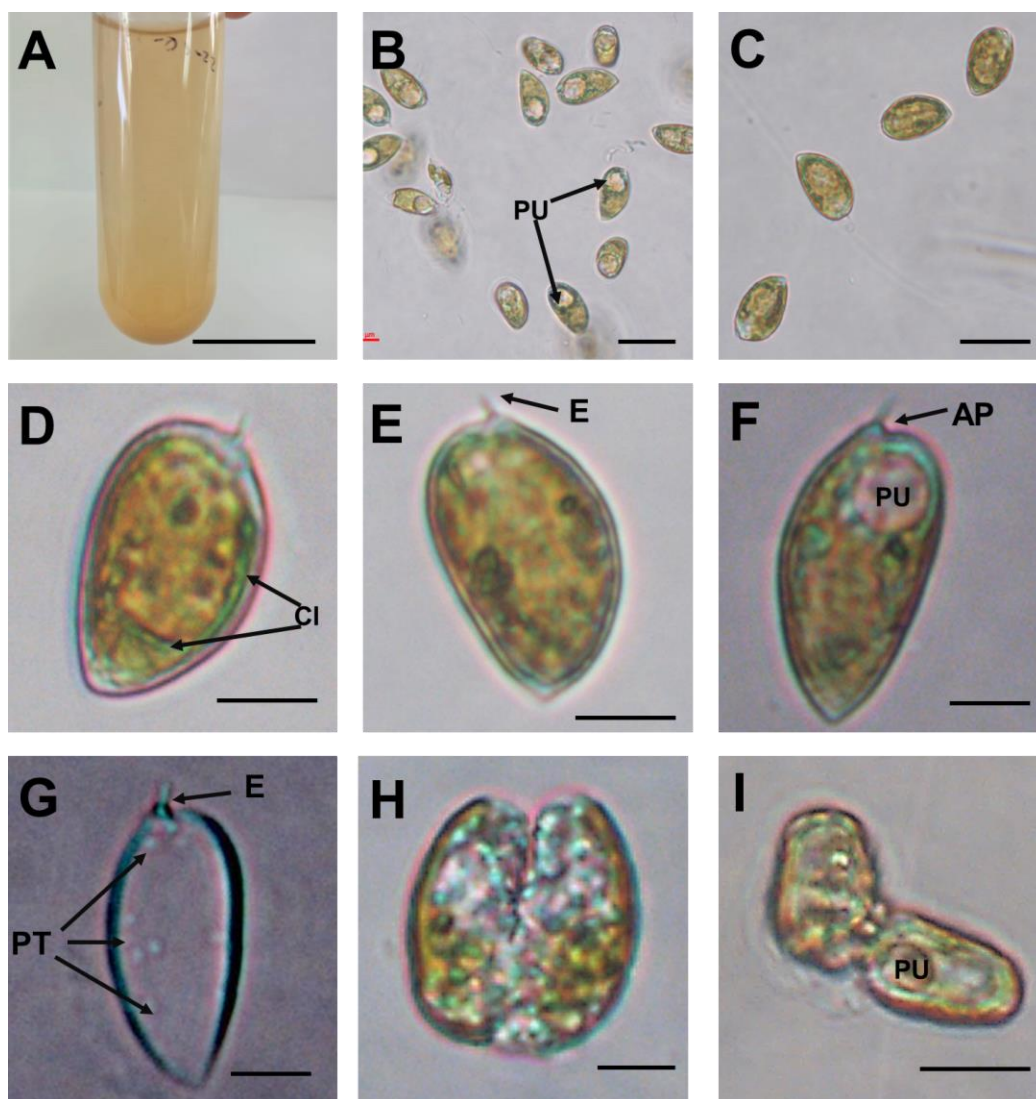
**Cultivo:** En los tubos de cultivo las células se distribuyen en el fondo y en la columna del medio de cultivo. No produce mucus abundante (Fig. 43 A).

**Descripción:** Células asimétricas, con la zona anterior ancha y con terminación en punta (Figs. 43 C-F). El núcleo se observó en la zona posterior. En el margen de las células se observaron cloroplastos de color verde-amarillo-marrón, alargados con múltiples lóbulos (Fig. 43 D). No se observó pirenoide. Las células tenían un tamaño máximo de 22.84  $\mu\text{m}$  y un mínimo de 17.79  $\mu\text{m}$ . La zona media a la anterior estuvo ocupada por una púsula (Fig. 43 F). La espina apical es corta y se localiza en la valva izquierda, midiendo de 0.98 a 2.84  $\mu\text{m}$  de largo (Min. -Máx.; n=12). Se observaron pocos poros de tricocistos en la periferia, estando concentrados en el ápice y antapice (Figs. 43 G; 44 A). El área periflagelar es excavada en forma de U (Fig. 43 F).

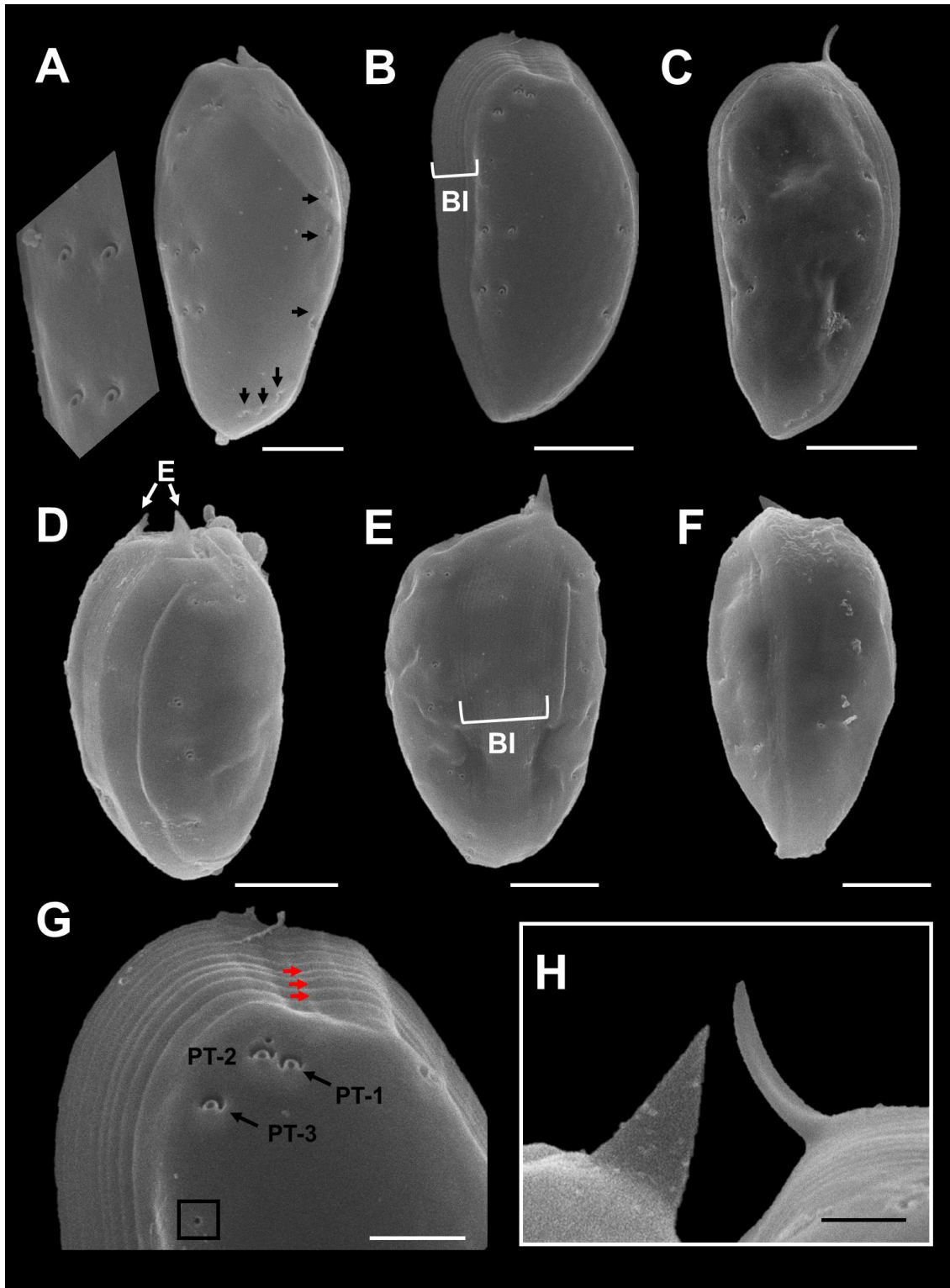
Con microscopía electrónica de barrido se observó a detalle la superficie valvar y los poros. Se observaron dos tipos de poros, los poros de tricocistos que son más grandes y poros pequeños (Fig. 44 G). Los poros de tricocistos presentan una estructura tubular con una depresión y se distribuyeron en los márgenes de las valvas; los poros pequeños no presentan una hendidura o depresión (Figs. 44 A, G). Tres poros de tricocistos se localizaron en el margen inferior de la zona periflagelar, el mismo número de poros de tricocistos se localizó en el área más posterior de ambas valvas (Fig. 44 A). En las zonas intermedias de las células se localizaron cinco filas de dos poros de tricocistos (Fig. 44 A). En total, se contabilizaron 16 poros de tricocistos en cada valva, mientras que se visualizaron de 4 a 6 poros pequeños.

Las células maduras presentaron una banda intercalar con grosores diferentes y estrías horizontales (Figs. 44 D-G). Se dificultó observar las placas periflagelares debido al material orgánico en las muestras.

**Estados reproductivos observados:** La unión de gametos se dio por medio de la banda intercalar-dorsal, con la zona de contacto deformada (Fig. 43 H). La conjugación sexual se dio mediante un tubo de fertilización en el área periflagelar (Fig. 43 I).



**Figura 43.** Microscopía fotónica de *Prorocentrum triestinum*. A) Células en medio GSe. B-F) Vista valvar general. G) Valva derecha mostrando la distribución de poros de tricocistos. H) Gametos fusionados a través de la banda intercalar. I) Fecundación a través de tubos de fertilización. AP= Área periflagelar, E= Espina apical, PT= Poros de tricocistos, PU= Púsula, CI= Cloroplasto. Barra de escala: A= 2 cm; B= 20  $\mu$ m; C y I= 10  $\mu$ m; D y E-H= 5  $\mu$ m.



**Figura 44.** Microscopía electrónica de barrido de *Prorocentrum triestinum*. A y C) Células en vista valvar izquierda. B) Células en vista valvar derecha. D) Vista dorsal. E y F) Vista ventral. G) Vista valvar derecha apical. H) Espinas apicales. PT= Poros de tricostios (PT1-PT3), BI= Banda intercalar, E= Espina apical, flechas rojas muestran las estrías de la banda intercalar. Barras de escala= A y G= 2  $\mu$ m, B-F= 5  $\mu$ m, H= 1  $\mu$ m.

### 7.1.10 *Prorocentrum concavum* Y. Fukuyo

#### **Cepas y tamaños celulares:**

<sup>1</sup>B7:  $44.17 \pm 1.36$   $\mu\text{m}$  de largo,  $36.03 \pm 5.80$   $\mu\text{m}$  de ancho (M  $\pm$  DE; n= 33).

<sup>2</sup>RP3:  $43.47 \pm 1.50$   $\mu\text{m}$  de largo,  $35.60 \pm 1.37$   $\mu\text{m}$  de ancho (M  $\pm$  DE; n= 44).

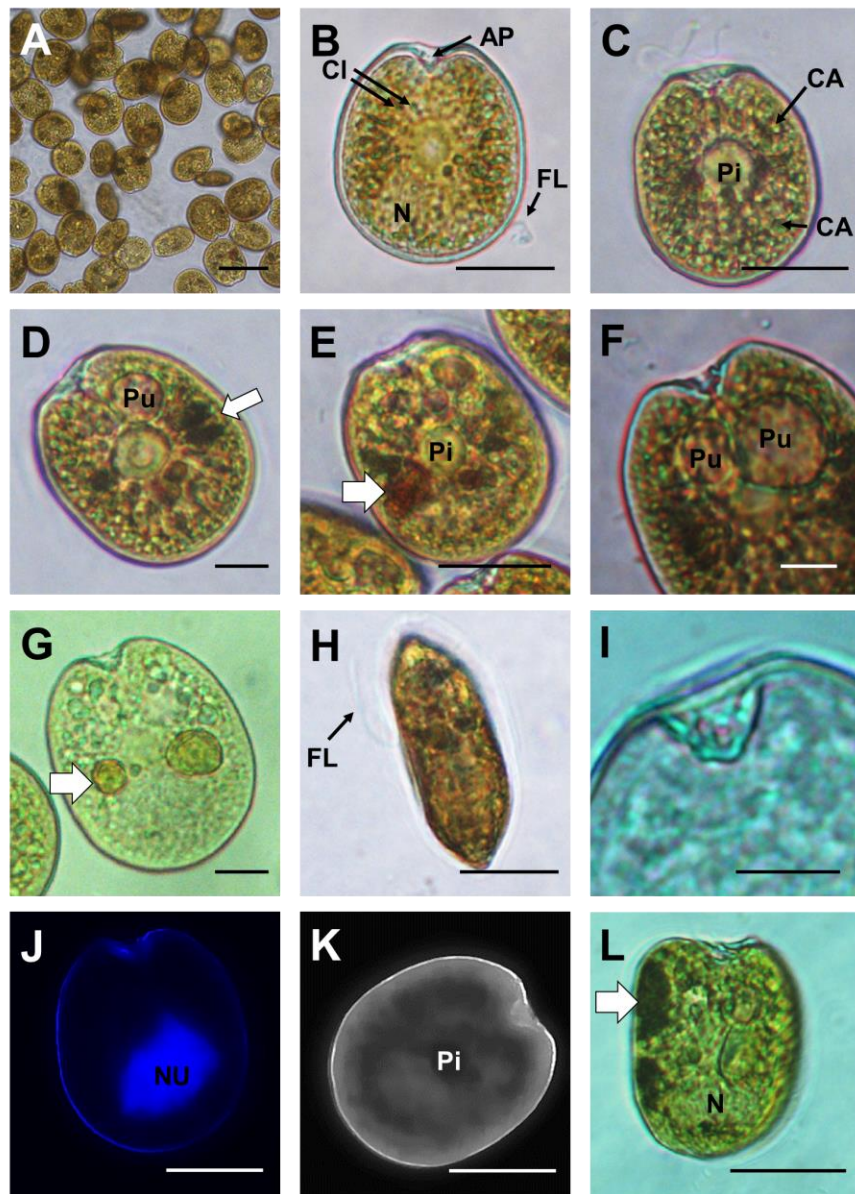
**Localidad de muestreo:** <sup>1,2</sup>El Requesón, Baja California Sur, México.

**Cultivo:** Las células se acumulan en el fondo del tubo de cultivo y en la superficie del medio, a través de la producción de mucílago.

**Descripción:** Las células son anchas y ovaladas, simétricas y aplanadas dorsoventralmente (Figs. 45 A-H). El núcleo es casi circular y se localiza en la parte posterior de la célula (Figs. 45 B, J). Se pueden presentar de dos a tres púsculas en la posición anterior de las células (Fig. 45 F). Los cloroplastos se distribuyen de la periferia hacia el centro de la célula (cloroplastos radiados), y son de color dorado a café (Fig. 45 B). El pirenoide es central, en forma de anillo con un diámetro de  $9.44 \pm 1.13$   $\mu\text{m}$  de diámetro (n= 10; Figs. 45 B-E). Se observó una depresión en el centro de la valva derecha, mientras que la valva izquierda es redondeada o convexa (Figs. 47 A, D). La superficie de las células tiene depresiones circulares con perforaciones en su interior, a estas valvas se les denomina “reticuladas- foveadas” (Figs. 47 I, J). Las perforaciones o poros no se observan en la zona central, tampoco hay patrón de poros en el margen de las células. La zona periflagelar es ancha en forma de V, con nueve placas periflagelares (1a, 1b, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) y la zona o placa donde se inserta el flagelo (Figs. 47 G, H). En vista lateral se observaron las bandas intercalares lisas y angostas.

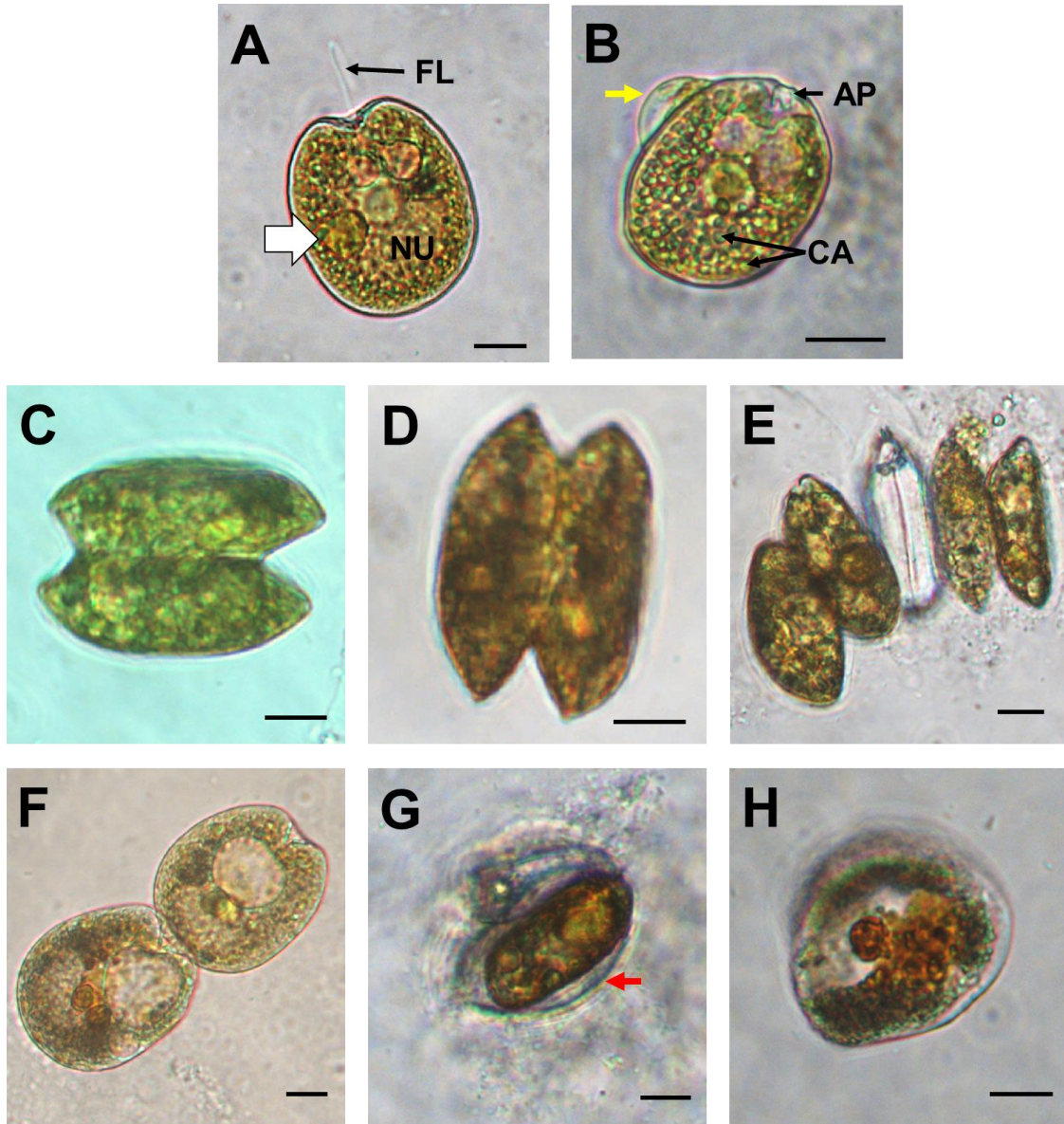
**Estados reproductivos observados:** Las células formaron cadenas agrupadas valva a valva que posiblemente les permita mantenerse en la columna o el fondo del cultivo, además de ser un comportamiento para la reproducción asexual (Figs. 46 E, F). También se documentaron

células unidas a través del área periflagelar (Fig. 46 F), y células en proceso de reproducción por fisión binaria envueltas en una membrana hialina (Fig. 46 G). En el fondo del matraz se encontraron quistes redondeados embebidos en mucílago, con cuerpos de acumulación de lípidos de color rojo (Fig. 46 H).

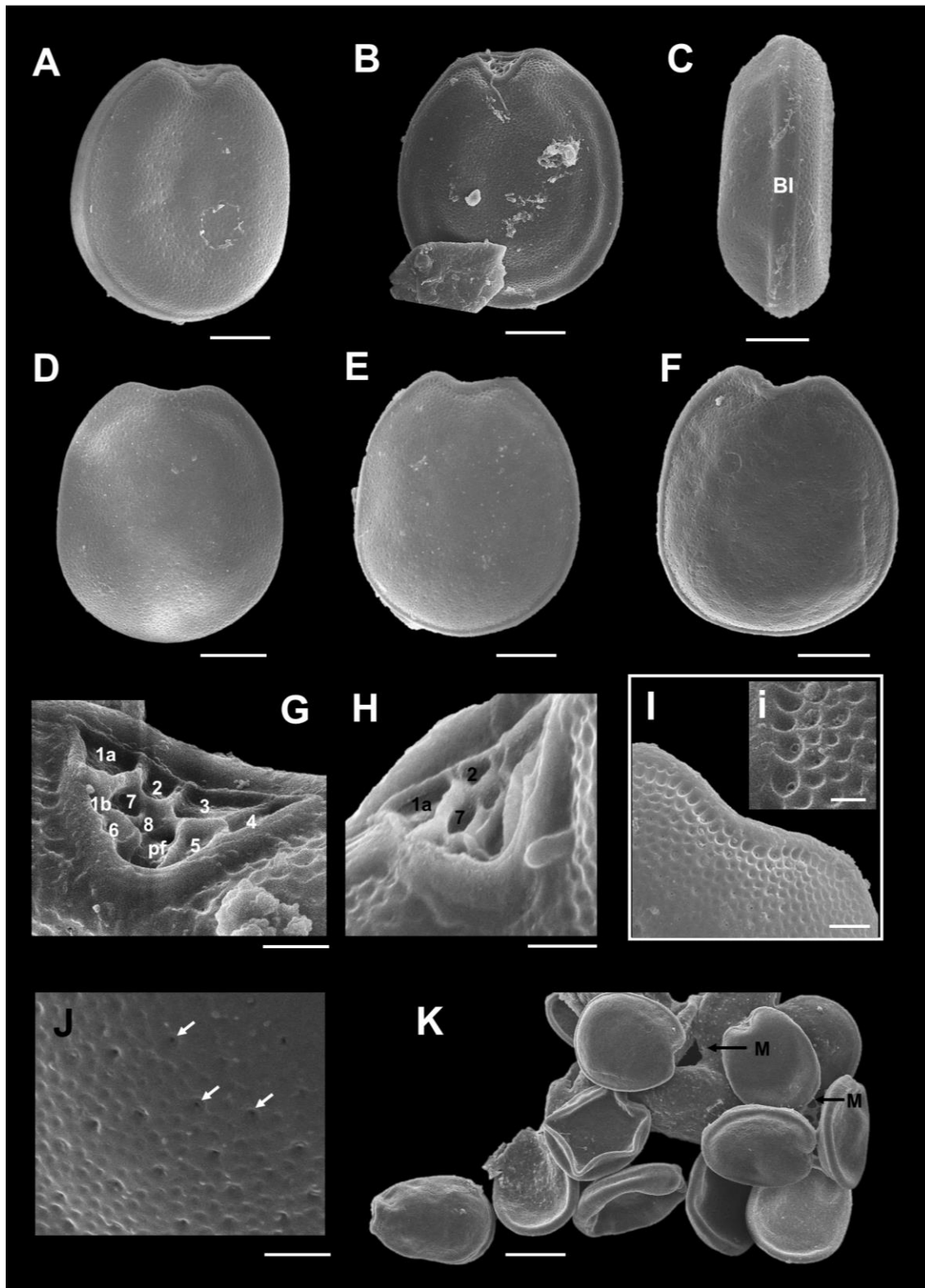


**Figura 45.** Microscopía fotónica de *Prorocentrum concavum*. A) Células en medio K. B-E) Vista valvar derecha mostrando pirenoide central, flagelos, el núcleo posterior, púsulas y cuerpos de almidón incoloros. F y I) Área periflagelar en forma de U. G) Células incoloras con cuerpos de reserva de color verde-amarillo. H) Vista lateral. J y K) Micrografías de epifluorescencia mostrando el núcleo y pirenoide. L) Célula deforme con zonas oscuras que indican el inicio de la reproducción. FL= flagelo longitudinal, AP= área periflagelar, PU= Púsula, Pi= pirenoide, NU= núcleo, Cl: cloroplasto, flecha blanca con contorno= cuerpo de reserva de almidón, CA= cuerpo de almidón. Barras de escala: A= 50  $\mu$ m; B, C, E, J-L= 20  $\mu$ m; D, F, G, I= 10  $\mu$ m; H= 15  $\mu$ m.





**Figura 46.** Microscopía fotónica de *Prorocentrum concavum*. A) Vista valvar derecha mostrando el flagelo longitudinal. B) Célula infectada y deformada mostrando el área periflagelar. C-E) Proceso de reproducción asexual, cadenas de células adheridas valva a valva. F) Células granuladas unidas a través del área periflagelar. G) Quiste en división en mucílago hialino. H) Quistes redondeados con cuerpos de acumulación de lípidos y cloroplastos distribuidos en la periferia. FL= flagelo longitudinal, AP= área periflagelar, NU= núcleo, flecha blanca con contorno= cuerpo de reserva de almidón, CA= cuerpo de almidón, flecha roja= pared celular, flecha amarilla= posible parásito. Barras de escala= 10  $\mu$ m.



**Figura 47.** Microscopía electrónica de barrido de *Prorocentrum concavum*. A-B) Vista valvar derecha. C) Vista lateral, se muestra el grosor de la Banda Intercalar (BI). D- F) Vista valvar izquierda. G y H) Vista periflagelar, número de placas periflagelares. I, i y J) Superficie celular. K) Células aglomeradas con mucílago (M). Barras de escala: A-F= 10  $\mu$ m; G, H y J= 2  $\mu$ m; I= 2.5  $\mu$ m; i= 1  $\mu$ m; K= 20  $\mu$ m.

### 7.1.11 *Prorocentrum rhathymum* Loeblich III, Sherley & Schmidt

#### **Cepas y tamaños de células vegetativas:**

<sup>1</sup>Prorol:  $30.79 \pm 1.97$   $\mu\text{m}$  de largo,  $21.59 \pm 1.86$   $\mu\text{m}$  de ancho (M  $\pm$  DE; n= 30).

<sup>2</sup>s/i 27:  $27.49 \pm 1.71$   $\mu\text{m}$  de largo,  $20.53 \pm 1.39$   $\mu\text{m}$  de ancho (M  $\pm$  DE; n= 33).

<sup>3</sup>s/i 54:  $28.07 \pm 1.38$   $\mu\text{m}$  de largo,  $20.96 \pm 1.12$   $\mu\text{m}$  de ancho (M  $\pm$  DE; n= 30).

<sup>4</sup>s/i 57:  $30.53 \pm 1.67$   $\mu\text{m}$  de largo,  $21.35 \pm 2.03$   $\mu\text{m}$  de ancho (M  $\pm$  DE; n= 30).

<sup>5</sup>s/i 59:  $30.39 \pm 0.93$   $\mu\text{m}$  de largo,  $22.10 \pm 1.21$   $\mu\text{m}$  de ancho (M  $\pm$  DE; n= 30).

<sup>6</sup>PT22-A:  $29.33 \pm 1.22$   $\mu\text{m}$  de largo,  $20.04 \pm 1.32$   $\mu\text{m}$  de ancho (M  $\pm$  DE; n= 36).

**Localidades de muestreo:** <sup>1</sup> Playa del CETMAR, <sup>2</sup> Estación 5 (E5), <sup>3</sup> Estación 2 (E2), <sup>4</sup> Estación 4 (E4), <sup>5</sup> Estación 3 (E3), <sup>6</sup> El Tecolote, Bahía de La Paz (véase Fig. 9), México.

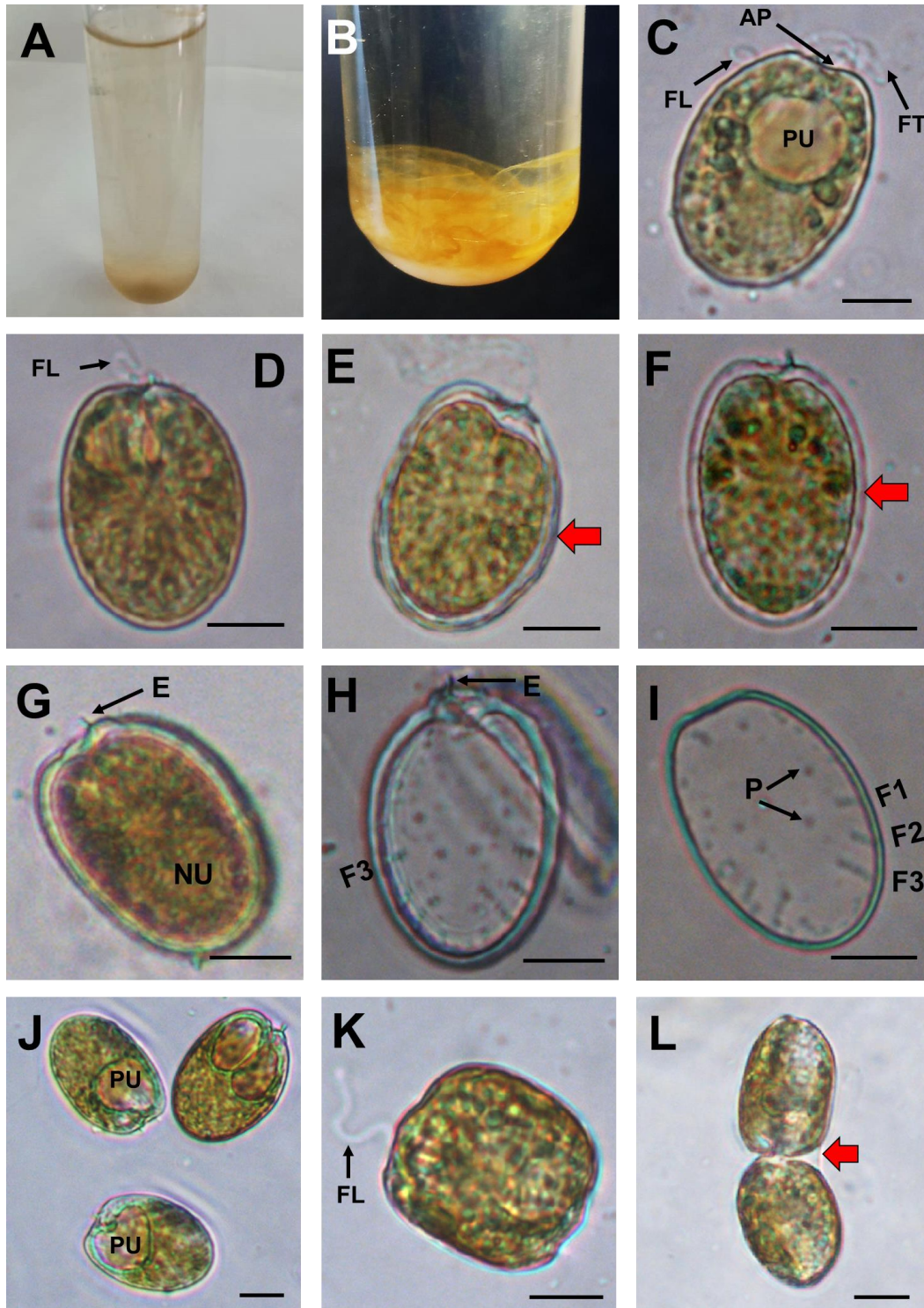
**Cultivo:** células solitarias, presentaron nado activo y también permanecieron adheridas a halos de mucus en el fondo del tubo de cultivo (Figs. 48 A, B).

**Descripción:** células asimétricas, ovaladas a oblongas con los márgenes redondeados (Figs. 48 C-F). Presencia de una a dos púsculas en la zona anterior (Figs. 48 C, J). El núcleo se encuentra en el área posterior (Fig. 48 G). Cloroplastos numerosos, de color verde a marrón, dispuestos del centro hacía la periferia, en ocasiones estos se observaron alargados y lobulados (Figs. 48 C, D; 49 C). Espina apical poco desarrollada, con un largo de  $1.95 \pm 0.24$   $\mu\text{m}$  (Media  $\pm$  DE; n= 12). Zona periflagelar ancha en forma de V con seis poros de tricocistos en el margen, pudiendo observarse estas características en la valva derecha o vista ventral (Figs. 48 C; 50 A). La superficie de la teca es lisa, con poros distribuidos heterogéneamente (Fig. 50 C). No se lograron identificar las placas periflagelares debido a basura orgánica (Fig. 50 A). En la zona posterior se observaron tres filas radiales de poros de tricocistos en dirección de V invertida (Figs. 50 C-E), además, agrupaciones de 3 a 4 miniporos en el margen posterior (Fig. 50 F). Presentan una banda intercalar relativamente ancha, lisa y con estrías horizontales (Figs. 50 B; 51 D).

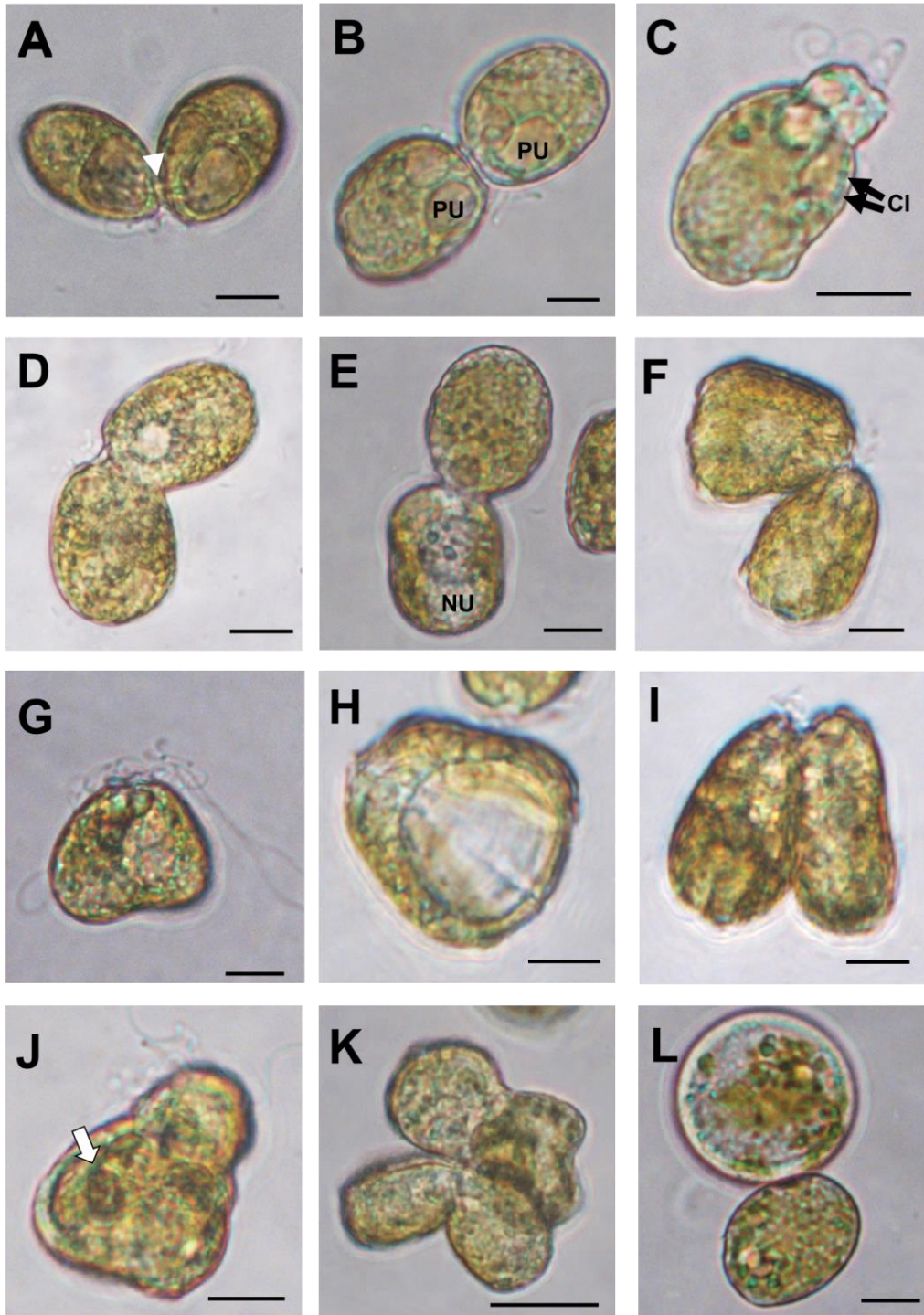
Con microscopía electrónica de barrido se observó la cara interna de la banda intercalar, la cual presentó estructuras digitiformes con dirección hacía el interior de la célula

(Figs. 50 B, b). En el centro de las valvas no se logró observar la presencia de poros (Figs. 48 H-I; 50 C, E). En general, las valvas presentaron tres tipos de poros: poros de tricocistos con arreglo radial, poros de tricocistos distribuidos de manera heterogénea en el margen de las valvas y miniporos (Figs. 50 E y F).

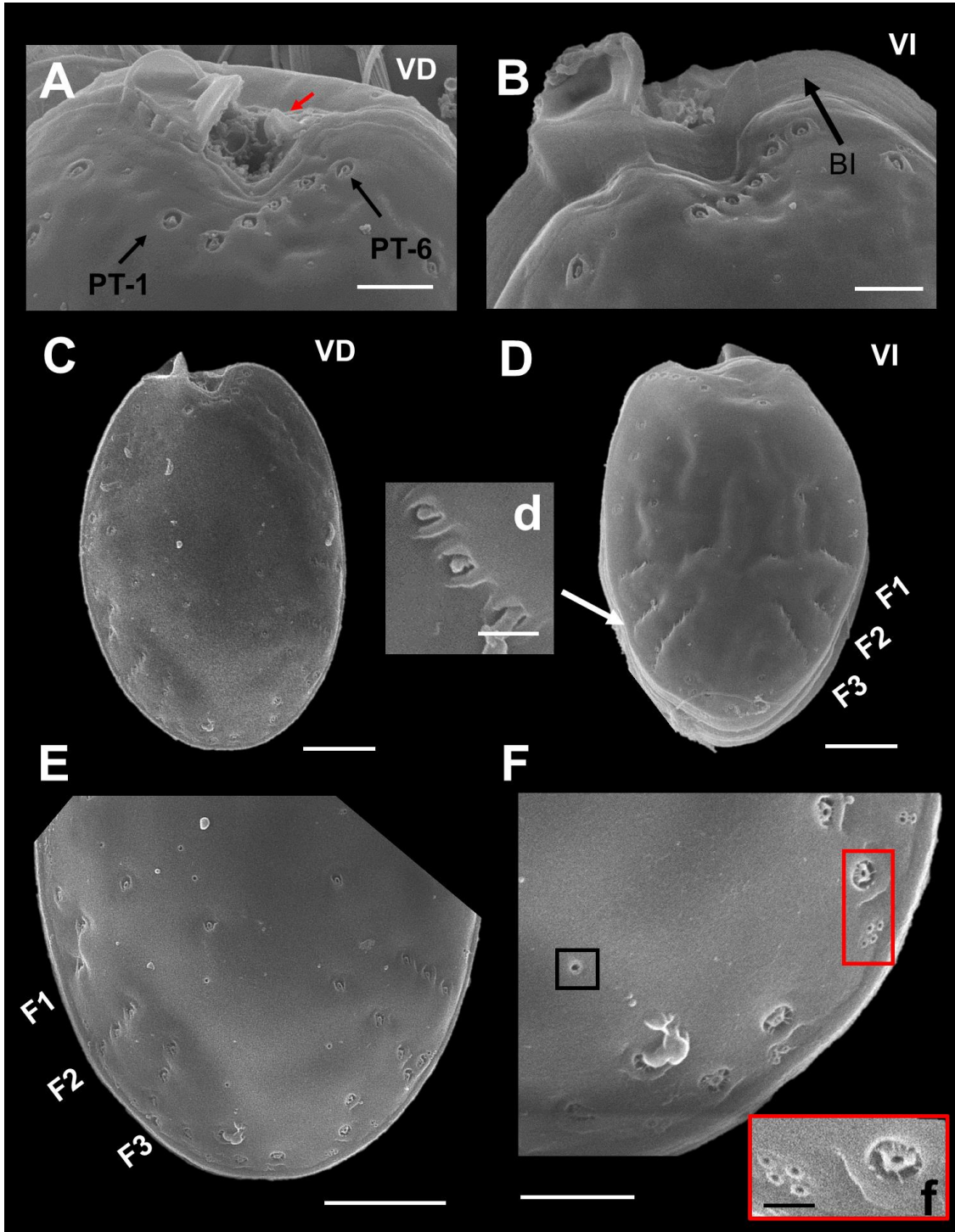
**Estados reproductivos observados:** Reproducción por fisión binaria, se observó un estado reproductivo que podría ser la inyección de un núcleo de la célula donante en el receptor (Figs. 49 A, B). Los gametos se emparejaron con la parte anterior, de frente contra sus espinas apicales, estando los núcleos dispuestos distalmente. Dichas agrupaciones se dieron en par hasta formar racimos de hasta cinco gametos (Figs. 49 D-F, J-K). Otro tipo de agrupación se observó con el empalme valva a valva de los gametos (Figs. 49 G-H).



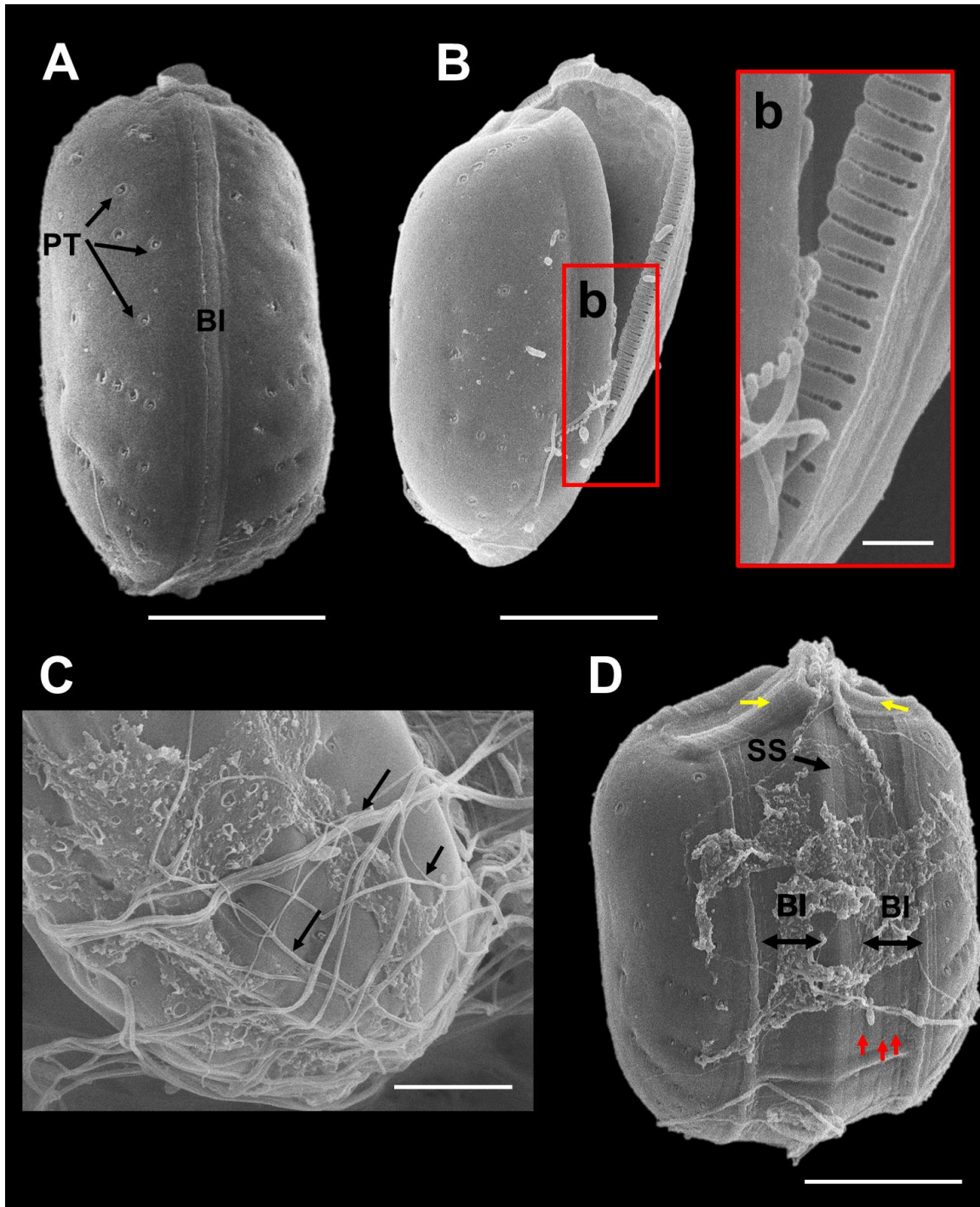
**Figura 48.** Micrografías de células identificadas como *Prorocentrum rhathymum*. A) Cepa s/i 59. B) Cepa s/i 54. C-E) Vista tecal derecha mostrando forma de la célula. F y G) Vista tecal izquierda mostrando espina apical. H-I) Tecas vacías mostrando filas de poros de tricostios en la zona posterior (F1-F2). J) Vista valvar derecha, mostrando número y posición de las púslas. K) Vista lateral, banda intercalar desarrollada. L) Unión de gametos a través del área periflagelar; flecha roja indica membrana hialina. FL= flagelo longitudinal, FT= flagelo transversal, AP= área periflagelar, PU= púsula, NU= núcleo, flecha roja con contorno= pared celular. Barras de escala: 10  $\mu$ m.



**Figura 49.** Microscopía fotónica de estados reproductivos observados en *Prorocentrum rhathymum*. A y B) Células unidas a través de la zona periflagelar formando un tubo de fertilización. C) Célula mostrando un alargamiento de la zona periflagelar, común en células en división (megacítica). D-E) Células ameboides unidas en la zona del ápice. G-I) Unión lateral de gametos. J-K) Agrupamientos celulares resultado de la división celular. L) Célula infectada por un parásito extracelular. NU= núcleo, CI= cloroplastos, PU= púsula. Barras de escala: 10  $\mu$ m.



**Figura 50.** Microscopía electrónica de barrido de *Prorocentrum rhathymum*. A-B) Vista del área periflagelar, mostrando poros de tricocistos marginales (PT1-PT6). C) Valva derecha. D y d) Valva izquierda mostrando la forma de los poros de tricocistos. E y F) Zona antapical mostrando las filas de poros de tricocistos (F1-F3). f) Tipos de poros y agrupaciones de estos. BI= banda intercalar, PT= poros de tricocistos. Barras de escala: A, B, F= 2  $\mu$ m; C, D y E= 5  $\mu$ m, d= 1  $\mu$ m, f= 0.5  $\mu$ m.



**Figura 51.** Microscopía electrónica de barrido de *Prorocentrum rhathymum*. A) Banda intercalar. B y b) Cara interna de la sutura sagital. C) Filamentos de mucílago. D) Banda intercalar de célula en división; flechas rojas indican las estrías de esta; flechas amarillas indican la prolongación del área periflagelar. BI= banda intercalar, SS= sutura sagital, PT= poros de tricocistos. Barras de escala: A, B, D= 10  $\mu\text{m}$ ; b= 1  $\mu\text{m}$ , C= 4  $\mu\text{m}$ .



### 7.1.12 Clado A- *Symbiodinium natans* Gert Hansen & Daugbjerg

#### **Cepas y tamaños de células vegetativas:**

<sup>1</sup>s/i 50:  $10.88 \pm 1.09$   $\mu\text{m}$  de largo,  $7.58 \pm 0.99$   $\mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DE; n= 30).

<sup>2</sup>s/i 53:  $11.36 \pm 0.79$   $\mu\text{m}$  de largo,  $7.65 \pm 1.41$   $\mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DE; n= 30).

**Localidad de muestreo:** Playa del CETMAR, Ensenada de La Paz, México.

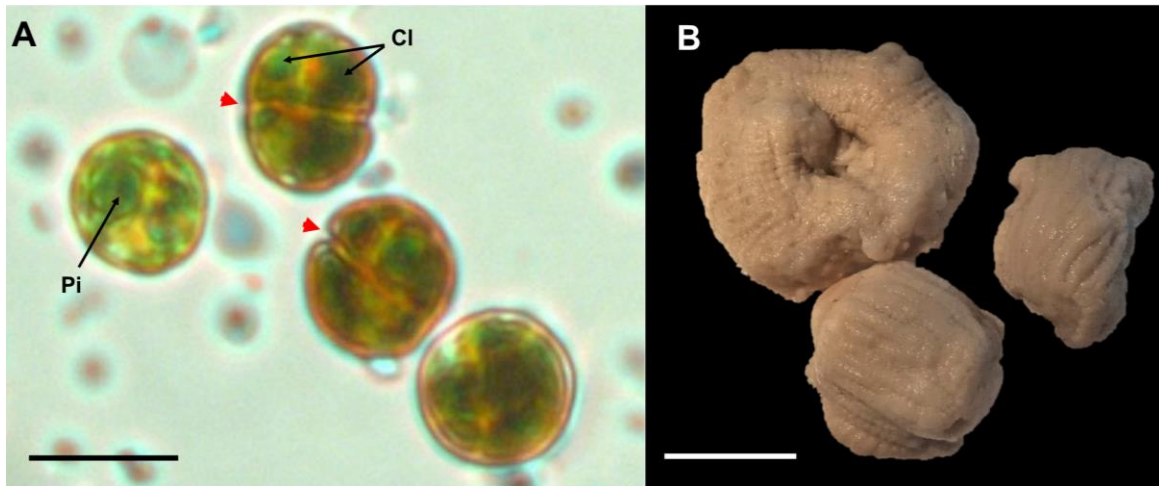
**Cultivo:** Las células se distribuyen en el fondo y paredes del tubo de cultivo, con una coloración rojiza (Fig. 53 A). Presentan movimiento giratorio.

**Descripción:** Células mastigote (móviles) en forma de hongo y solitarias (Fig. 53 D). El epicono ligeramente más grande que el hipocono (Figs. 55 B, C). Núcleo localizado en la parte anterior de la célula. Cloroplastos reticulados parduzcos situados en la periferia de las células (Fig. 53 D) El pirenoide generalmente se encuentra en la zona central de la célula, con un tamaño aproximado de  $2.42 \pm 0.21$   $\mu\text{m}$  de diámetro (Figs. 53 D, E, G). El cingulum descendente desplazado una anchura de este (Fig. 55 B). Otro morfotipo observado fueron células no móviles cocoides (Fig. 54). El morfotipo no móvil carece de rasgos morfológicos típicos de un dinoflagelado.

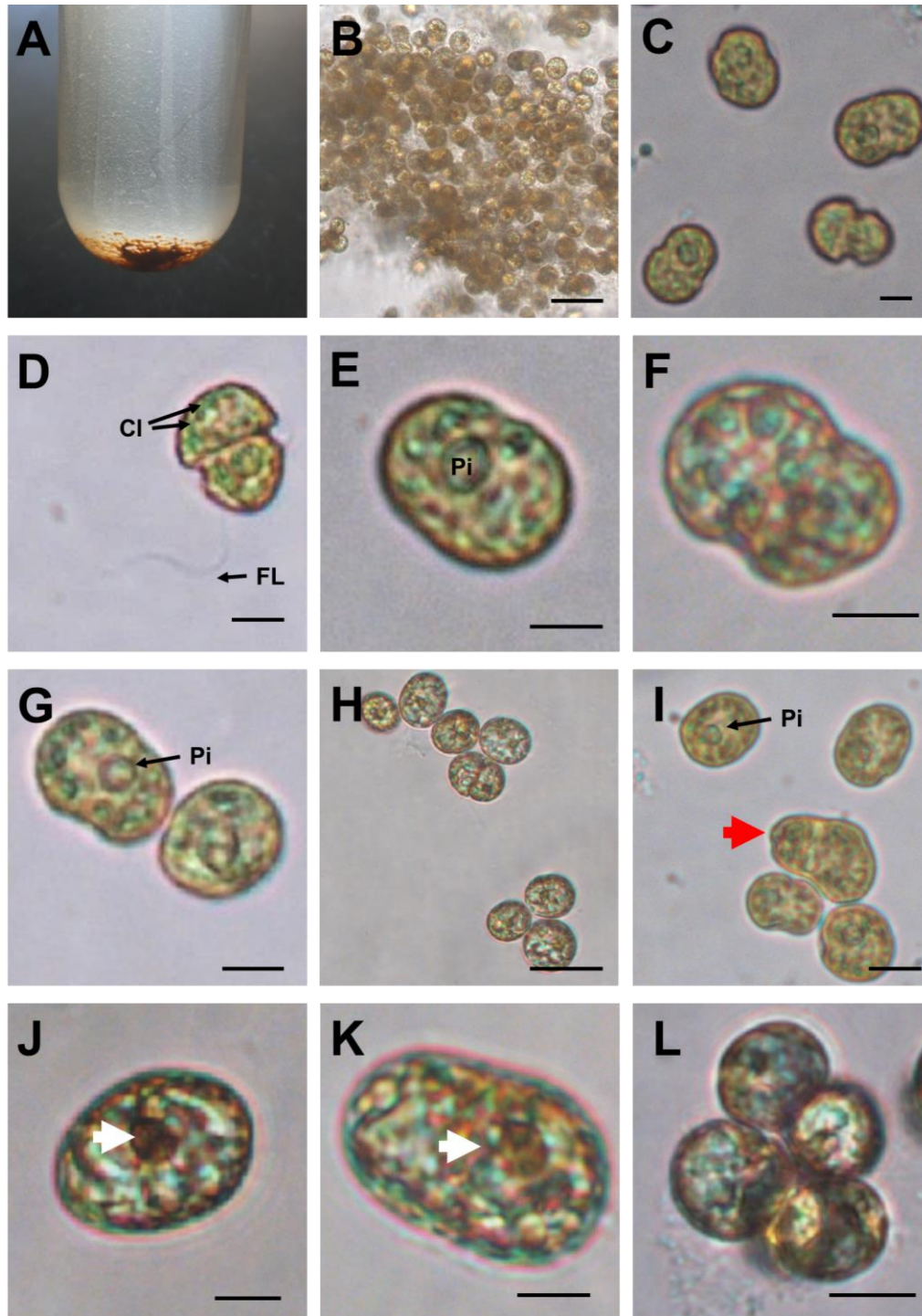
**Fórmula tecal:** El arreglo de placas del anfrisma no se logró observar con las herramientas de microscopía.

**Estados reproductivos observados:** Se documentaron dos formas de vida en ambas cepas de *Symbiodinium*, células móviles y células inmóviles o quistes, siendo esta última la fase dominante. Se observaron quistes de predivisión inmóviles en estado cocoide (Figs. 54 A-C). Se documentaron diferentes fases del proceso de reproducción por fisión binaria con la duplicación de los pirenoides y presencia de cuerpos de acumulación de color naranja (Figs. 54 D-I). También se observaron células formando agrupaciones en tríadas y tétradas (Figs.

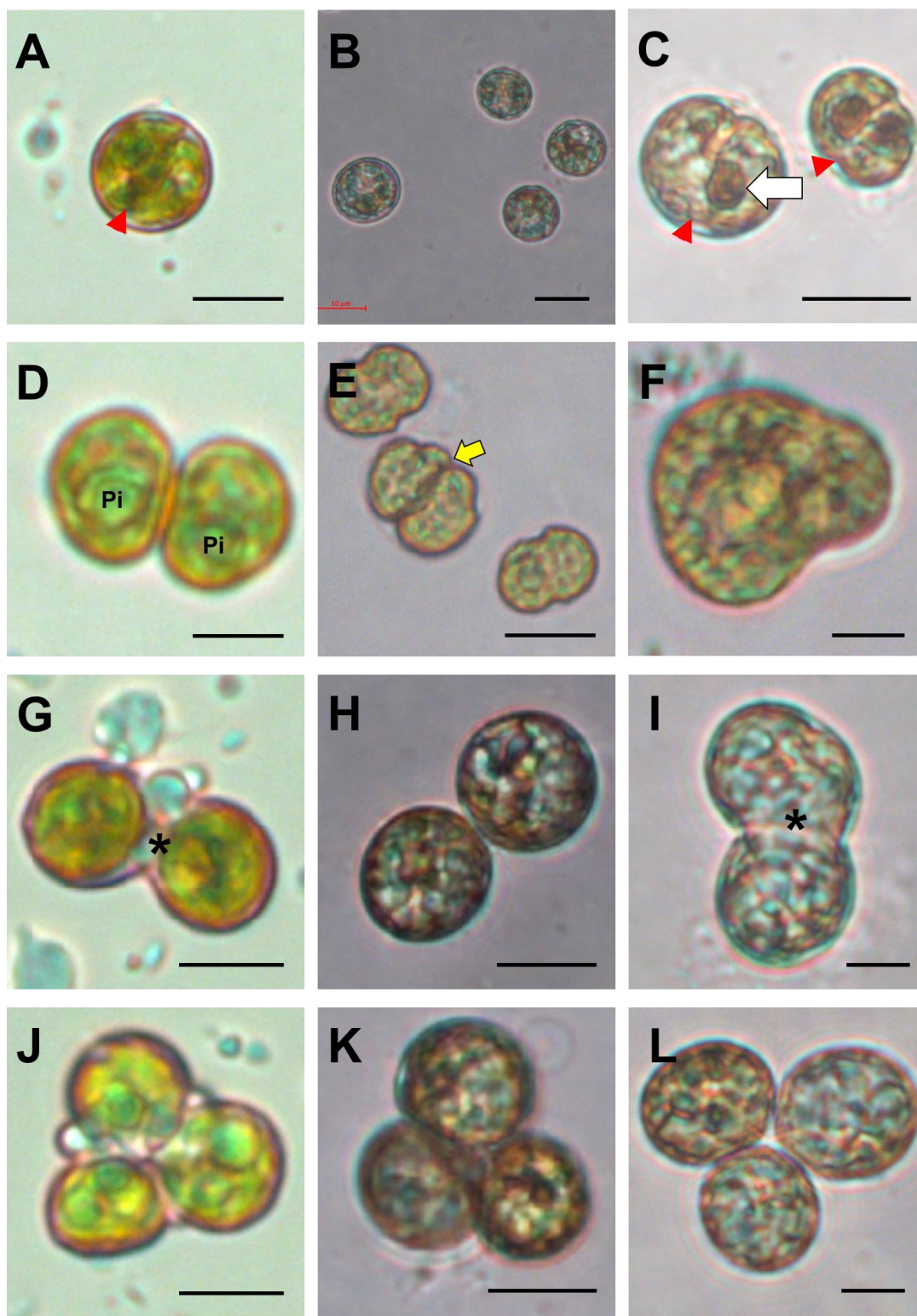
53 L; 54 J-L; 55 H-J). En células ovoides en proceso de reproducción se observaron cuerpos de color rojo, probablemente lípidos como sustancias de reserva (Figs. 53 J-K).



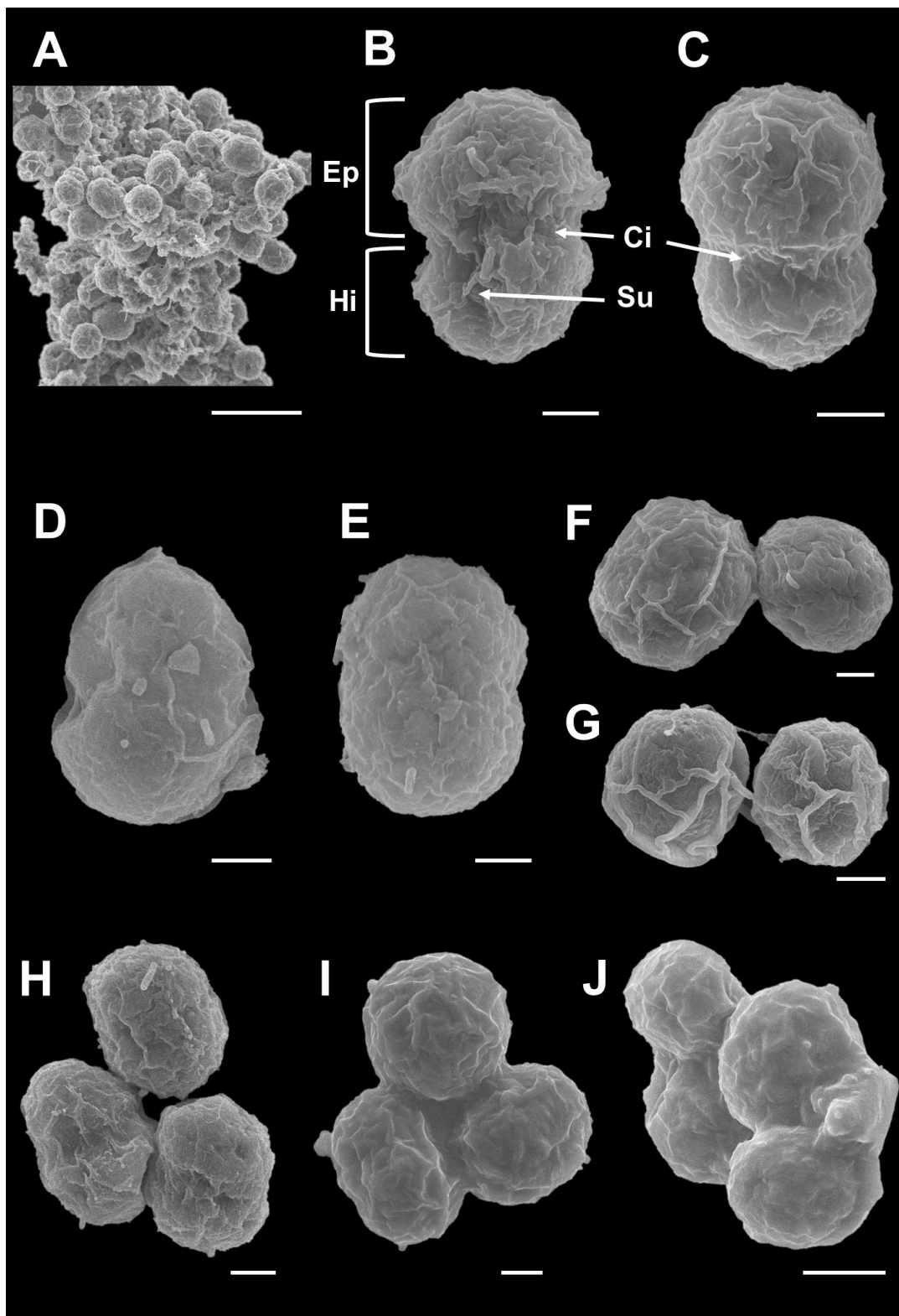
**Figura 52.** *Symbiodinium natans* y anémona hospedera. A) Células recién aisladas, con cloroplastos verde-amarillo (Cl), se observan células vegetativas en división (flechas rojas) y algunos pirenoides (Pi). B) Anémona solitaria *Actinostella* sp. preservada con formol. Barra de escala: A= 10  $\mu$ m y B= 1 cm.



**Figura 53.** Células vegetativas de *Symbiodinium natans* (cepas s/i 50 y s/i 53). A) Cultivo en medio GSe. B) Células cocoides, no móviles agrupadas por medio de mucílago. C-E) Vista ventral, células vegetativas móviles, con la forma típica de hongo. F) Célula en vista dorsal. G) Vista ventral, células redondeadas y sin flagelos. H) Células no móviles en reproducción. J y K) Quistes redondeados, alargados que presentan sustancias de reserva (flechas blancas). L) Cuatro células hijas haploides que representan el estado reproductivo de la meiosis II. Cl= cloroplastos, Pi= pirenoide, FL= flagelo longitudinal. Barra de escala: B= 40  $\mu\text{m}$ , C, D, E, F, G, J= 5  $\mu\text{m}$ , H= 20  $\mu\text{m}$ , I, K, L= 10  $\mu\text{m}$ .



**Figura 54.** Quistes de *Symbiodinium natans*. A) Zoosporangium con dos zoosporas. B) Células cocoides no móviles. C) Células redondeadas no móviles. D-I) Proceso de fisión binaria. J-L) Meiosis I. Flecha roja= planos de división, flecha amarilla= unión de gametos (anisogamia), flecha blanca con margen= sustancias de reserva, asterisco (\*) = proceso de fisión binaria. Barras de escala: A-E, G, H, J y K= 10 μm; F, I y L= 5 μm.



**Figura 55.** Microscopía electrónica de barrido de células vegetativas de *Symbiodinium natans* (cepas s/i 50 y s/i 53). A) Quistes vegetativos, fase dominante de *Symbiodinium*. B) Vista ventral. C y E) Vista dorsal. D) Zoosporangio que muestra el cingulum donde se coloca el flagelo transversal. F-G) Proceso de fisión binaria. H-I) Meiosis I. J) Meiosis II. Ci= cingulum, Su= sulcus, Ep= epicono, Hi= hipoteca. Barras de escala: A= 20  $\mu$ m; B-F= 2  $\mu$ m; G-I= 2.5  $\mu$ m; J= 5  $\mu$ m.

### 7.1.13 *Vulcanodinium rugosum* Nézan & Chomérat

#### **Cepas y tamaños celulares:**

cepa Vr-B2:

Células móviles:  $23.7 \pm 2.76$   $\mu\text{m}$  de longitud, y de  $20.50 \pm 2.46$   $\mu\text{m}$  de ancho (Media  $\pm$  DE; n= 33). Células no móviles cocoides:  $30.05 \pm 7.77$   $\mu\text{m}$  de diámetro (Media  $\pm$  DE; n= 35).

Células no móviles largas:  $32.72 \pm 4.02$   $\mu\text{m}$  (Media  $\pm$  DE; n= 4).

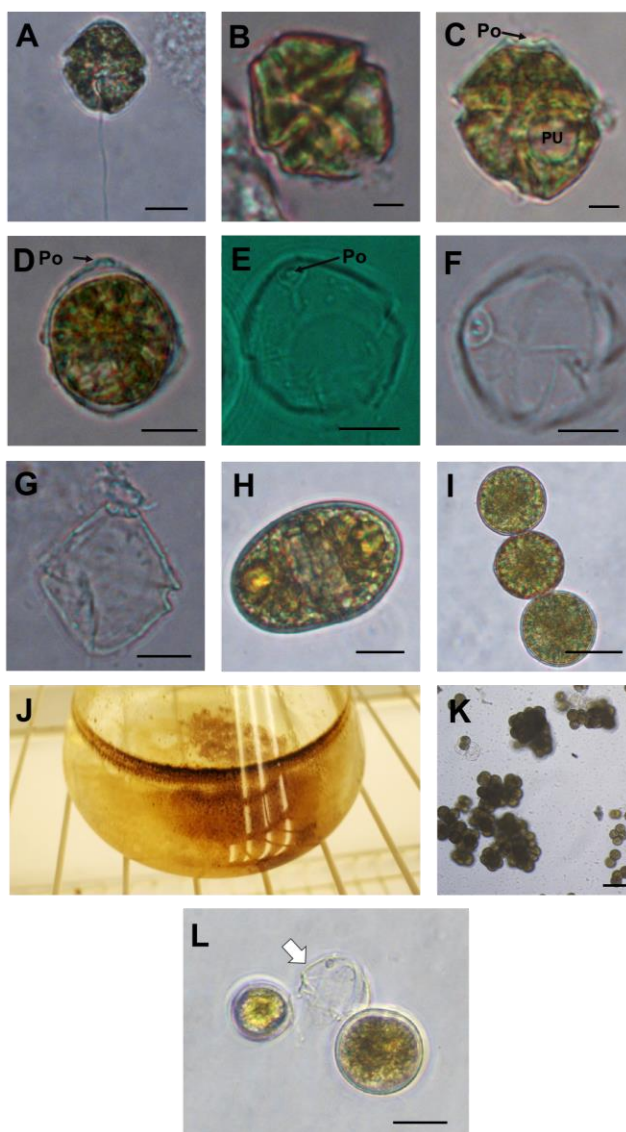
**Localidad de muestreo:** Playa del CETMAR, Ensenada de La Paz, México.

**Cultivo:** Células vegetativas individuales, sin formación de mucílago. Las células no móviles forman agrupaciones de más de dos células que se adhieren a las paredes del matraz (Fig. 56 J).

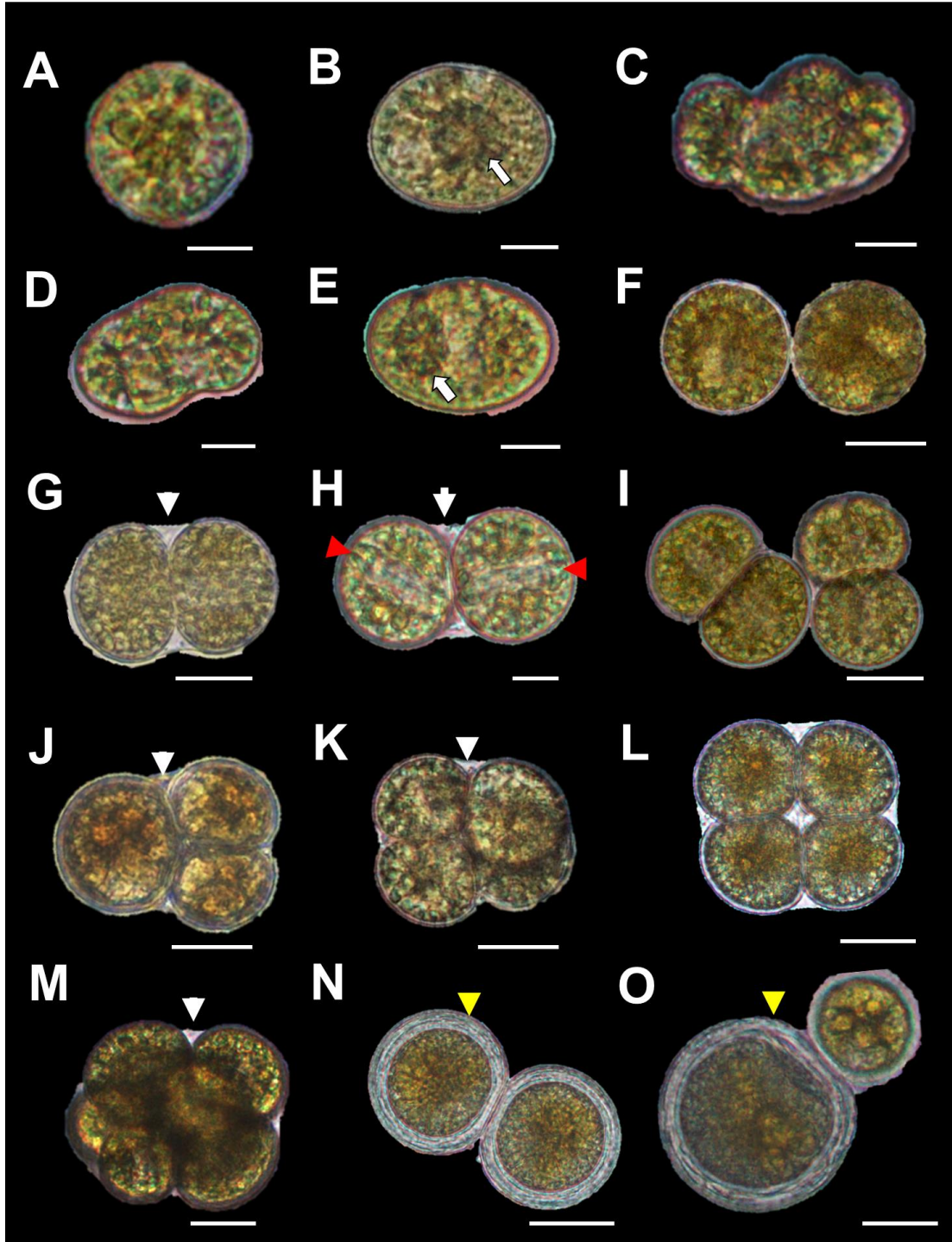
**Descripción:** Las células de *V. rugosum* se pueden observar solitarias o agrupadas en racimos. Las células vegetativas presentan núcleo central grande. Numerosos cloroplastos pequeños de color verde-marrón. Las células son bicónicas, con la epiteca cónica y ápice truncado (Figs. 56 A-C; 58 I). La hipoteca es trapezoidal, siendo esta más redondeada en vista ventral (Fig. 56 A). El cingulo es excavado y está desplazado hacia el antapex de 1.5 a 2 veces su ancho (Figs. 56 A; 58 H). El sulcus es sigmoide, estrecho en el área anterior y posteriormente se ensancha y llega hasta al antapex (Figs. 56 B; 58 J). Las tecas están llenas de estrías longitudinales, con poros marginales irregulares (Fig. 58 L). En vista ventro-apical se aprecia una elevación con una matriz mucosa (Fig. 58 K). La forma de la primera placa apical (1') es un carácter diagnóstico para identificar la especie, esta se observa estrecha y profunda (Fig. 58 J).

**Forma de vida y ciclo reproductivo:** *Vulcanodinium rugosum* presenta dos etapas en su ciclo reproductivo, una fase móvil efímera y otra fase no móvil. La primera se trata de una fase planctónica mientras que la segunda es una fase bentónica. Su ciclo de vida es dominado por una fase no móvil (quistes de reposo) de células esféricas encerradas en una matriz gelatinosa (Fig. 57). Esta fase no presenta ornamentaciones (*ej.* cuernos, espinas). La fase no

móvil presenta un estadio de células cocoides a discoideas, la división celular tiene lugar en este estadio (Fig. 57). Se observó el desprendimiento de células móviles de quistes temporales (Figs. 58 E, F). En cultivo estas células no móviles permanecen adheridas fuertemente en el recipiente de cultivo (Figs. 56 J, K). Se dio el seguimiento de células móviles durante cinco días, periodo en el que se observó el desprendimiento de las tecas y la formación de quistes en reposo (células inmóviles).

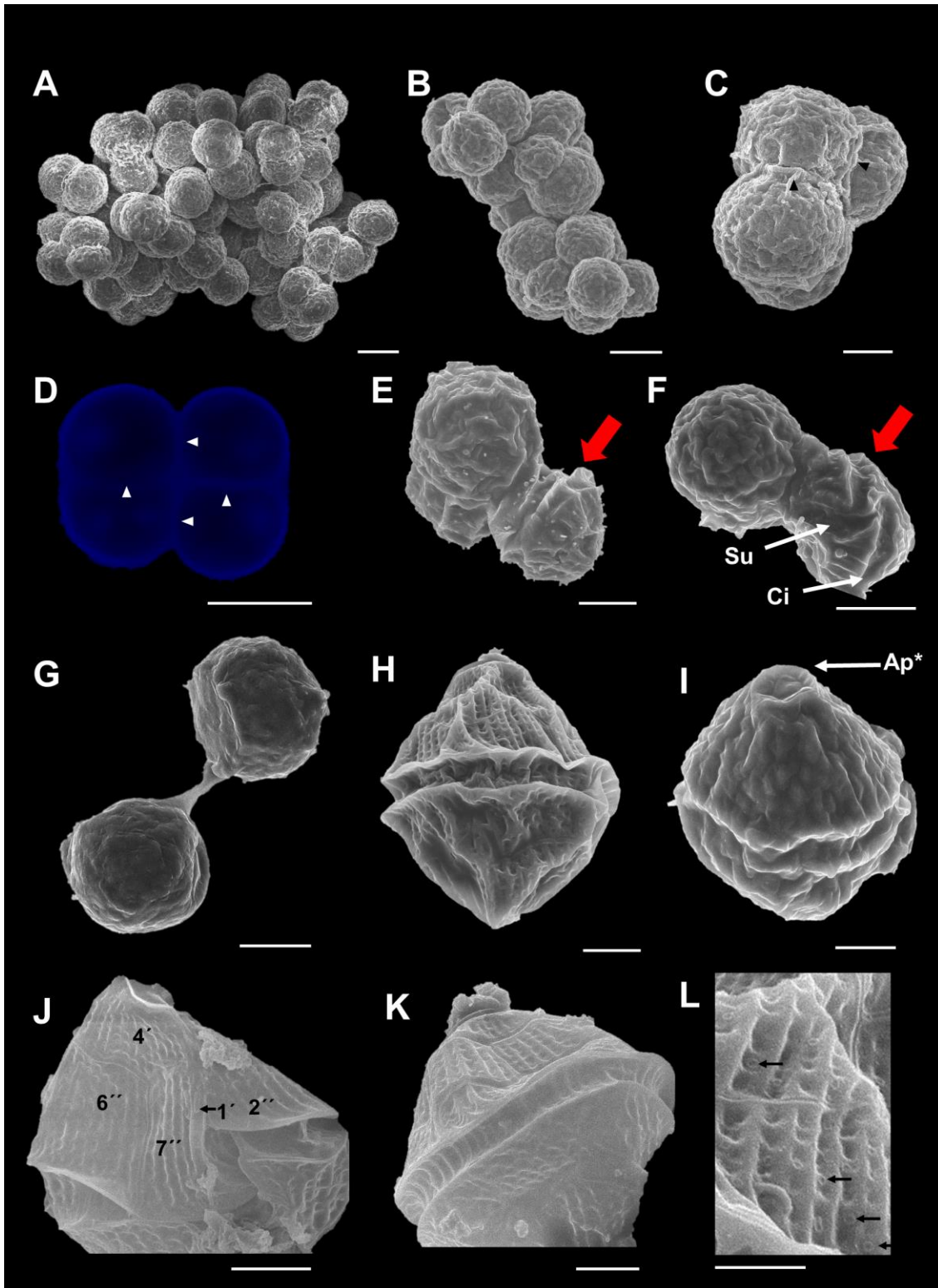


**Figura 56.** Microscopía fotónica de *Vulcanodinium rugosum* (cepas B2). A-C) Vista ventral. D) Vista dorsal. E-G) Tecas vacías de células móviles mostrando la forma celular, el ápice truncado y poro apical (Po). H) Célula en división. J-K) Cultivo de *V. rugosum*, en las paredes del matraz se observa la aglomeración de células no móviles adheridas por mucílago. L) Proceso de enquistamientos de la célula móvil pasado cinco días del cultivo; flecha blanca indica el desprendimiento de la teca. Barras de escala: A, D, E, F, G y H= 10  $\mu$ m; B y C= 5  $\mu$ m; H) 10  $\mu$ m; I, L= 20  $\mu$ m, K= 60  $\mu$ m.



**Figura 57.** Quistes de *Vulcanodinium rugosum*. A) Células cocoides. B-E) Células en división dentro de la pared parental. F-I) Célula no móvil en proceso de separación, en algunos casos se conserva la pared de la célula madre. J-M) Células hijas dentro de la célula madre. N-O) Quistes de resistencia con pared desarrollada. Flechas rojas mostrando planos de división; flechas blancas pared de la célula madre; flecha amarilla pared celular gruesa de quistes en reposo; flechas blancas con margen negro cromosomas condensados. Barras de escala: A-E, H= 10  $\mu\text{m}$ ; F, G, I-M, O= 20  $\mu\text{m}$ ; N= 30  $\mu\text{m}$ .





**Figura 58.** Microscopía electrónica de barrido de *Vulcanodinium rugosum*. A-D) Quistes no móviles en división; flechas blancas y negras indican planos de división. E-F) Quistes liberando células móviles (flechas rojas). G) Quistes en proceso de separación. H, J y K) Morfotipo de células móviles. I) Vista apical, Ap\*= ápice. L) Superficie tecal estriada, con poros marginales (flechas negras). Barras de escala: A y D= 25  $\mu$ m; B= 20  $\mu$ m; C, E y G= 10  $\mu$ m; F, H, J y K= 5  $\mu$ m; L= 2.5  $\mu$ m.

## 7.2 Taxonomía molecular

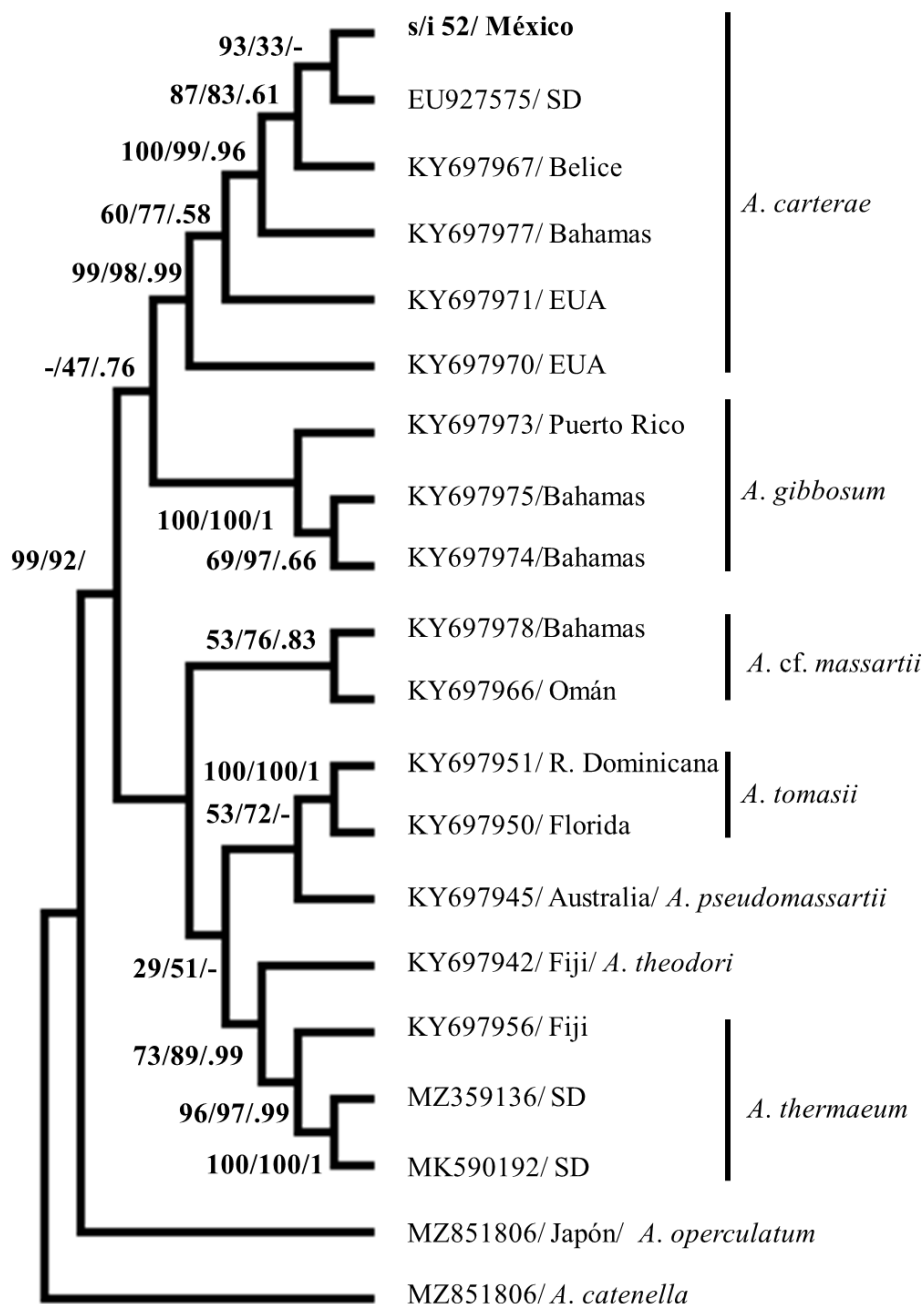
Se obtuvieron un total de 50 secuencias derivadas de 34 cepas de dinoflagelados epibentónicos. Sin embargo, para los análisis filogenéticos se consideraron 44 secuencias, otras seis se incluyen en el Anexo V debido al tamaño de éstas. Las secuencias provienen de tres regiones de ADN ribosomal (5.8S, 28S e ITS). Las reconstrucciones filogenéticas se realizaron mediante los métodos de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB). En general, los modelos seleccionados por el programa jmodelTest fueron: General de Tiempo Reversible y Kimura 2 parámetros. El modelo de Kimura 2 parámetros fue empleado en seis de los análisis, para la región 28S en *Amphidinium*, *Coolia*, *Gambierdiscus* y *Symbiodinium*; para la región 5.8S e ITS en *Gambierdiscus* (Figs. 60, 62, 64-66 y 73).

Es importante mencionar que no se cuentan con secuencias de las tres regiones para todas las cepas estudiadas, esto debido a la dificultad para amplificar ciertas regiones en grupos específicos como lo son *Symbiodinium* y *Vulcanodinium*. No obstante, las revisiones morfológicas fueron realizadas en todas las cepas, por lo que aquellas con morfología similar a las cepas que se confirmó su identidad taxonómica con análisis moleculares, se dedujo eran la misma especie.

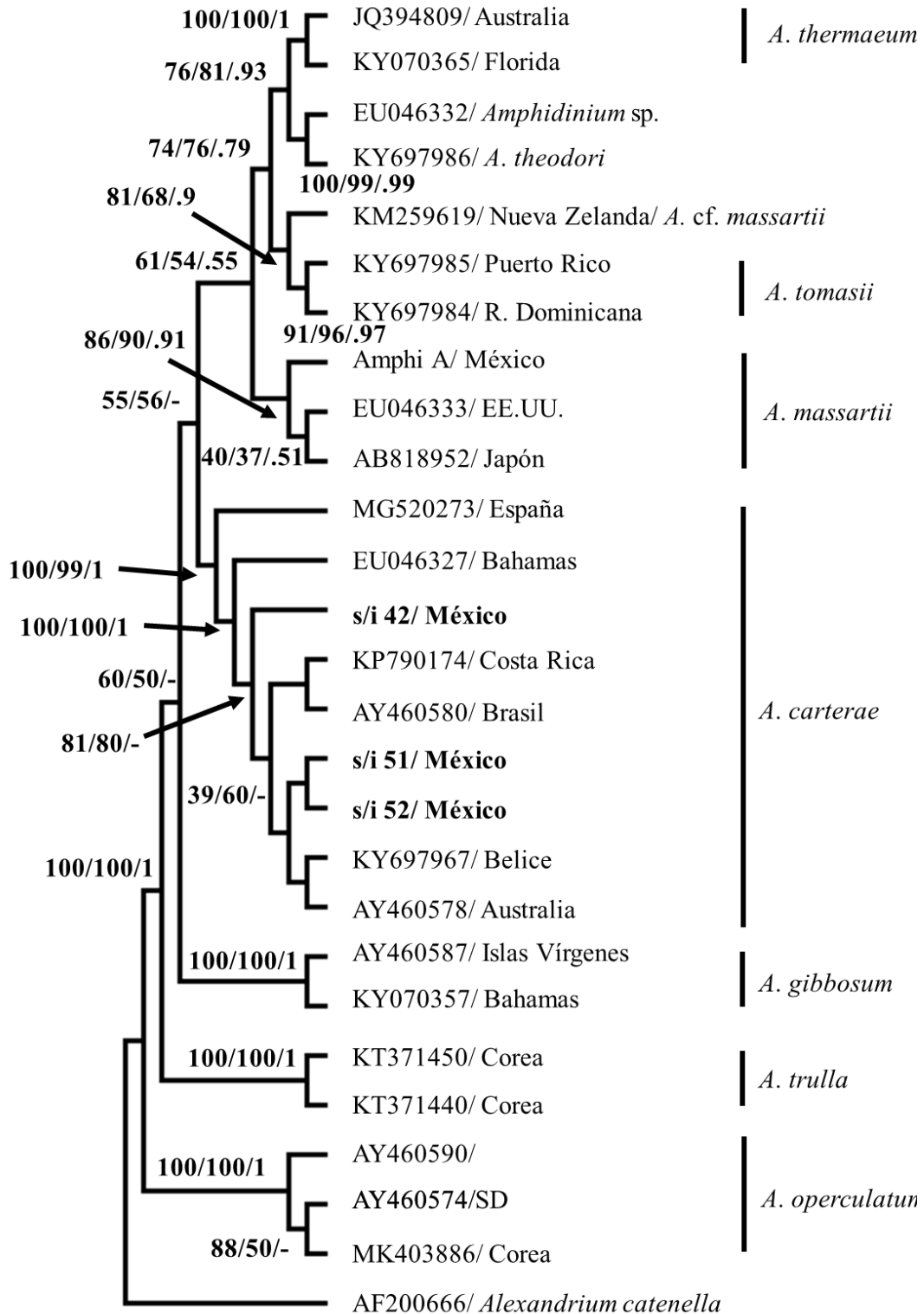
### 7.2.1 *Amphidinium*

Para los análisis moleculares del género se consideró como grupo externo a *Alexandrium catenella* (AF200666). El árbol filogenético generado con secuencias de la región 5.8S del ADNr, muestra un clado de *Amphidinium carterae* que incluye la secuencia s/i 52 con soportes de *bootstrap* superiores al 97% con los tres métodos de probabilidad ejecutados (Fig. 59). En la reconstrucción filogenética de la región 28S del ADNr, las secuencias de las cepas s/i 51 y s/i 52 también se agruparon dentro del clado de *A. carterae*, con secuencias de distintas regiones geográficas, y soportes de *bootstrap* del 100 para MP, de 99 para MV y probabilidad posterior 1 para IB (Fig. 60). Soportes de *bootstrap* de 100 se obtuvieron en el agrupamiento de secuencias de *A. carterae* de las Bahamas, Costa Rica, Brasil, Belice y Australia (Fig. 60). Las cepas s/i 51 y s/i 52 se agruparon dentro de un subclado, separadas de la secuencia de cepa s/i 42 que proviene del mismo sitio de muestreo (Fig. 60). La cepa s/i 42 presenta una transición (A por G) en el sitio 15 y una deleción (eliminación de una G)

en el sitio 16, dando como resultado distancias evolutivas por pares de 0.0021 con las secuencias s/i 51 y s/i 52. Estos resultados indican que existen dos haplotipos de *A. carterae* con dos cambios en los sitios nucleotídicos para la Ensenada de La Paz, Baja California Sur.



**Figura 59.** Árbol filogenético de la región 5.8S del ADN<sub>r</sub> del género *Amphidinium*. El análisis se dedujo utilizando el método de MP, MV e IB. En los nodos se muestran los valores de *Bootstrap* en los que los taxones se agruparon (MP/ MV/ IB). El análisis incluyó 20 secuencias, con un total de 365 posiciones. SD= Sin dato.

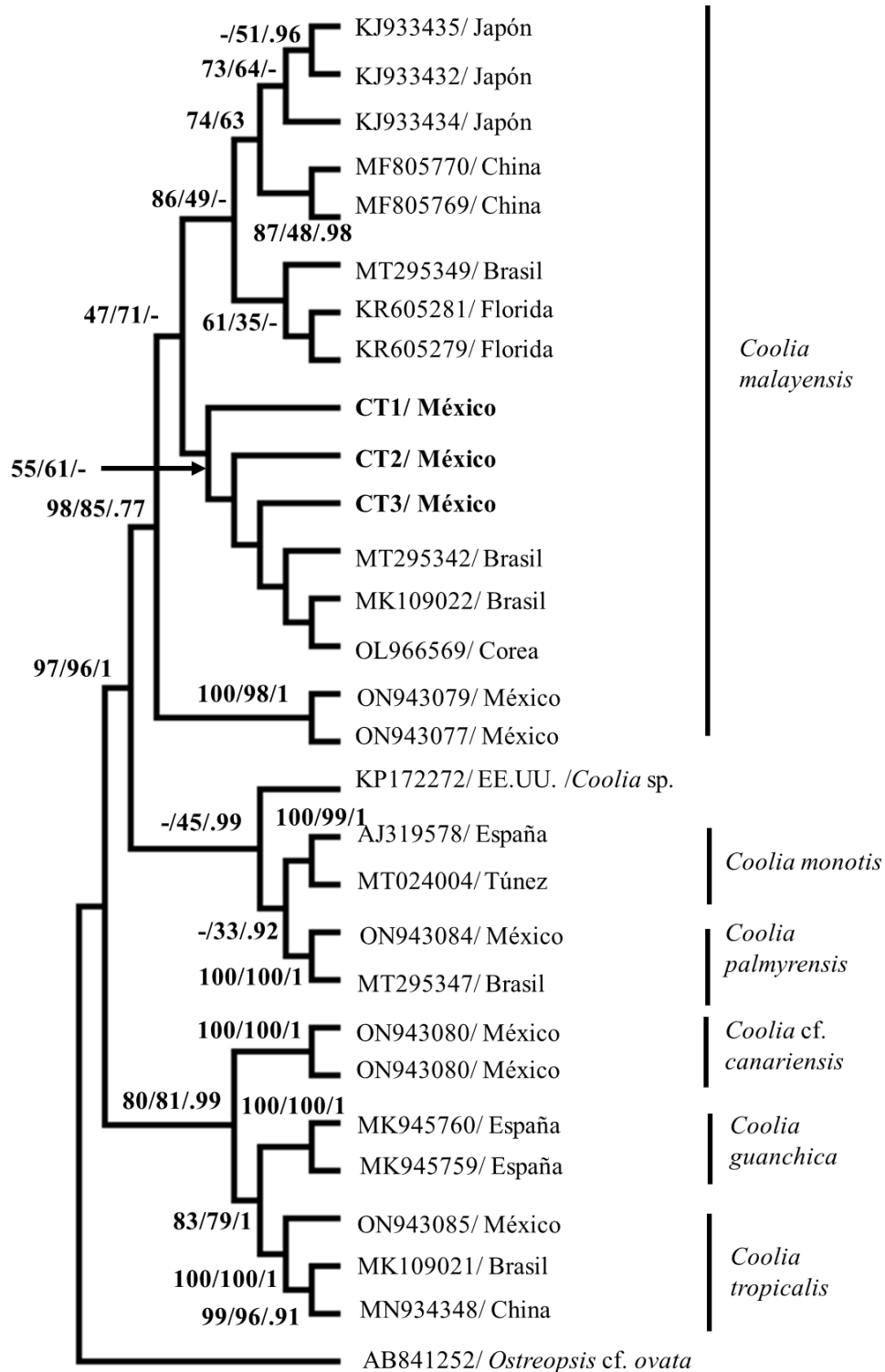


**Figura 60.** Árbol filogénico de la región 28S del ADNr de *Amphidinium*. El análisis se dedujo utilizando los métodos de MP, MV e IB. En los nodos se muestran los valores de *Bootstrap* en los que los taxones se agruparon (MP/ MV/ IB). El análisis incluyó 27 secuencias, con un total de 564 posiciones. SD= sin dato.

### 7.2.2 *Coolia*

Las reconstrucciones filogenéticas de las cepas *Coolia* de este estudio, dieron como resultado su agrupamiento con secuencias de *Coolia malayensis* de diferentes regiones geográficas. El grupo externo empleado fue *Ostreopsis cf. ovata*, quedando siempre separado de las especies de *Coolia*. Los valores de *bootstrap* de los clados donde se agruparon las secuencias de este estudio fueron relativamente bajos, con valores de 73 a 98 para MP y de 59 a 93 para MV, mientras que los valores de probabilidad posterior fueron de 0.61 a 0.77 (Figs. 61-63). Los valores bajos de *bootstrap* se pueden deber a que en el análisis filogenético de la región 28S se incluyeron secuencias cortas de 253 pb. A pesar de lo anterior, permitió una clara separación de especies morfológicamente similares como es el caso de *Coolia monotis*, descartando que los aislados se trataran de esta especie (Figs. 61-63).

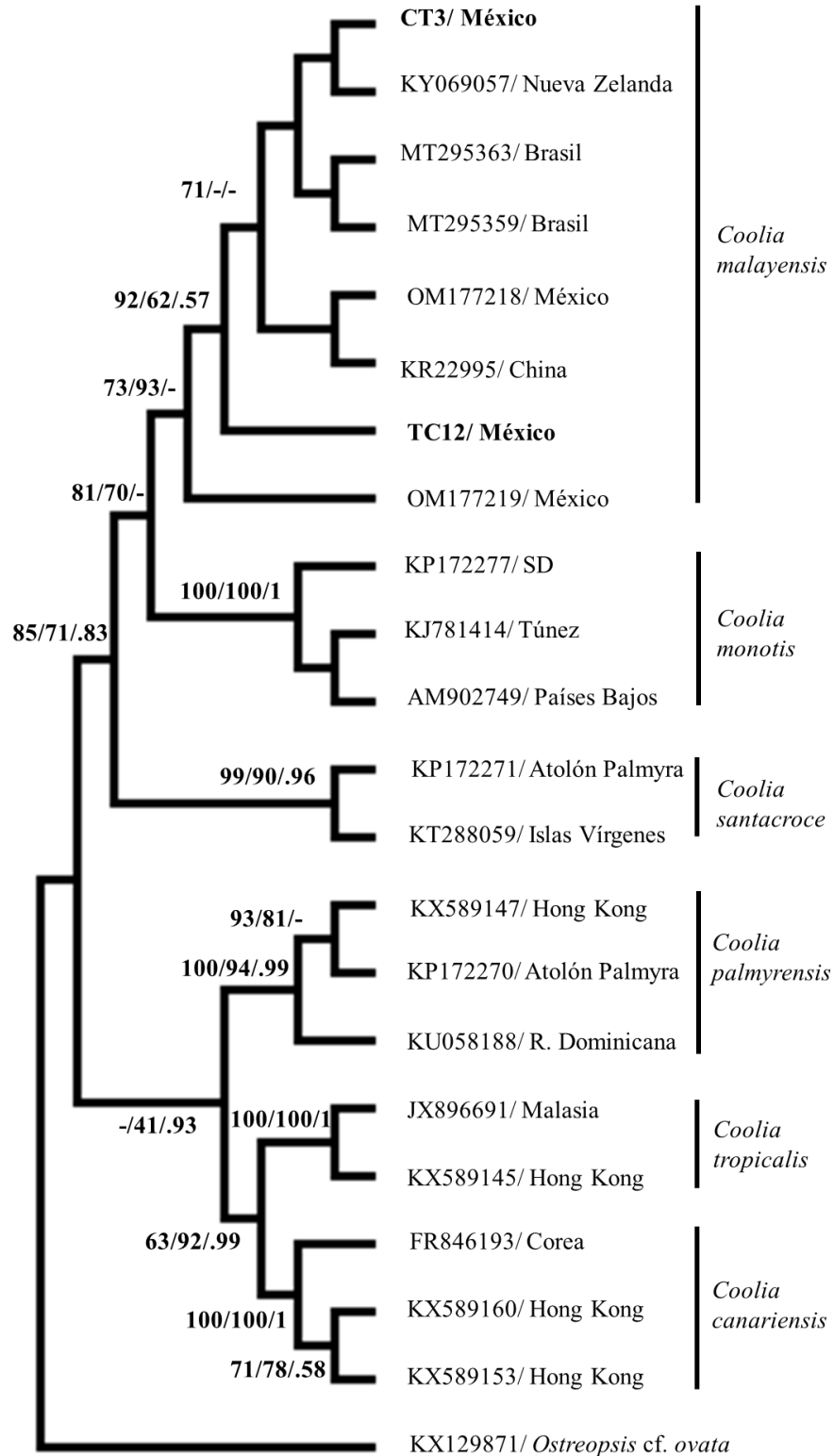
Para las reconstrucciones filogenéticas de las regiones 5.8S e ITS del ADNr se incluyeron secuencias de *Coolia malayensis* previamente publicadas para la Bahía de La Paz (ON943079 y ON943077). El análisis de la región 5.8S incluyó 29 secuencias de nucleótidos, con un total de 286 posiciones. Las secuencias ON943079 y ON943077 se separaron en un subclado con valores de *bootstrap* del 100. Esto puede deberse a la presencia de diferentes haplotipos de *C. malayensis* en La Paz, Baja California Sur. Las dos secuencias agrupadas presentan 31 cambios en los sitios nucleotídicos comparadas con las secuencias de este estudio y secuencias de Brasil y Japón (véase tabla V). Para el análisis filogenético de la región 5.8S del ADNr se descartaron dos secuencias obtenidas en este estudio, las secuencias TC12 y CT4. Lo anterior debido al tamaño de ambas secuencias, las cuales representaban un sesgo en los análisis filogenéticos (278 y 299 pb), no obstante, en los análisis BLAST sus porcentajes de identidad fueron de 96 al 99 con secuencias de *Coolia malayensis* (Anexo V).



**Figura 61.** Árbol filogenético de *Coolia* de la región 5.8S del ADNr. El análisis se dedujo utilizando el método de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB), empleando el modelo General de tiempo reversible y *Bootstrap* de 1000 réplicas. En los nodos se muestran los valores de *Bootstrap* y probabilidad posterior, respectivamente (MP/ MV/ IB).

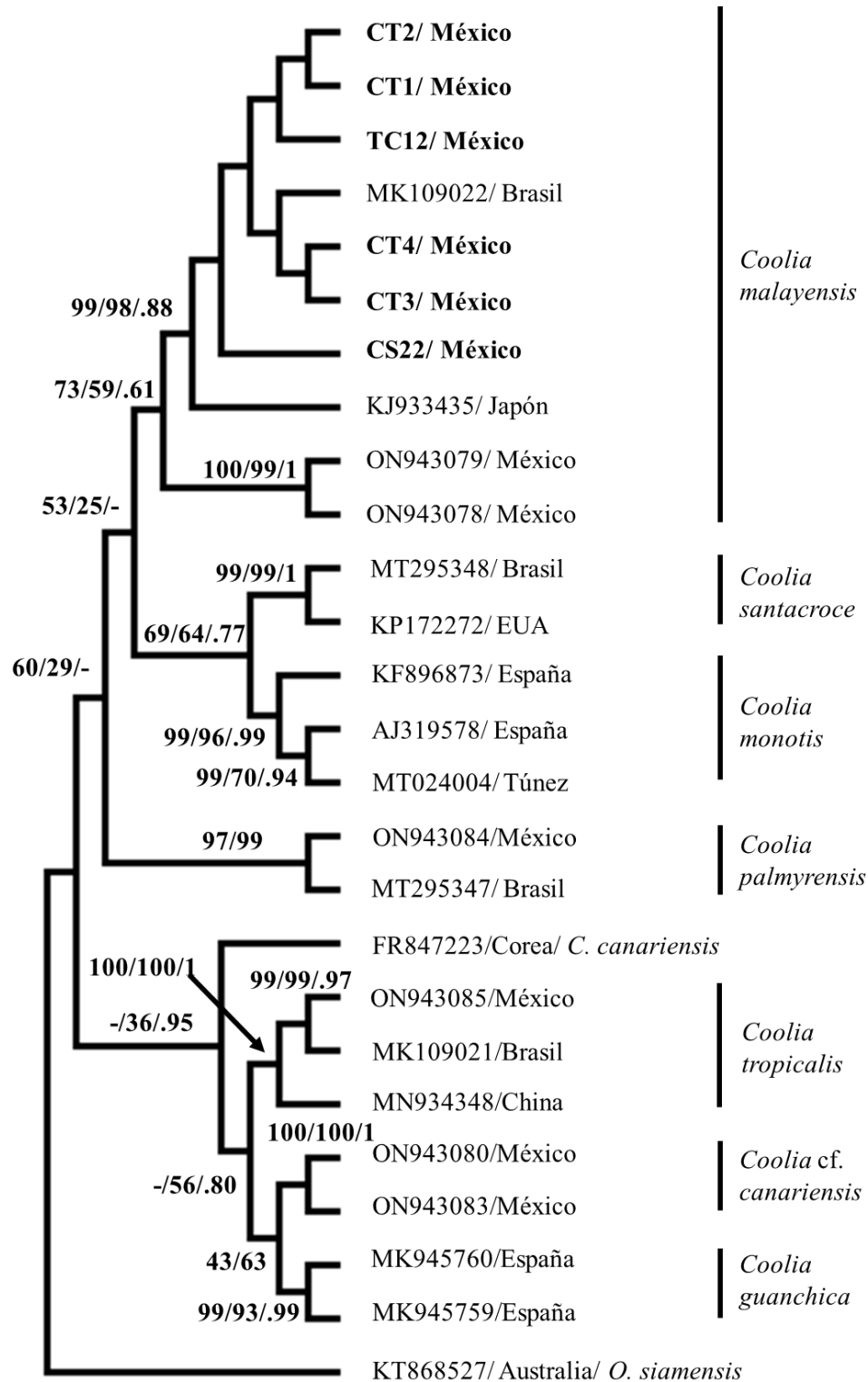
**Tabla V.** Cambios en las bases nucleotídicas de *Coolia malayensis* incluidas en el análisis filogenético de la región 5.8S del ADNr. Se marcan en color los cambios entre los haplotipos 1, 2 y 3. La secuencia ON943079 presentó 31 mutaciones a lo largo de 286 sitios nucleotídicos (letras en azul).

Sitio	CT3-México	MK109022-Brasil	TC12-México	KJ933432-Japón	ON943079-México
4	T	T	T	C	T
7	G	G	G	G	A
9	A	A	A	A	T
24	A	A	G	A	G
25	C	C	C	C	T
36	T	T	T	T	-
37	A	A	A	A	-
38	C	C	C	C	-
40	A	A	A	A	C
41	G	G	G	G	A
46	G	G	G	G	A
47	C	C	C	C	T
53	T	T	T	T	G
58	T	T	-	-	A
59	-	-	-	-	C
65	C	C	C	C	T
69	A	A	A	A	C
70	G	G	G	G	A
71	C	C	C	C	T
72	C	C	C	C	T
73	A	A	A	A	T
74	T	T	T	T	C
75	A	A	A	A	T
76	C	C	C	C	T
80	A	A	A	A	T
85	T	T	T	T	C
90	C	C	C	C	T
94	A	A	A	A	C
96	T	T	T	T	C
97	G	G	G	G	A
106	-	-	-	-	G



**Figura 62.** Árbol filogenético de *Coolia* de la región 28S del ADNr. El análisis se dedujo utilizando el método de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV), e Inferencia Bayesiana (IB). En los nodos se muestran los valores de *Bootstrap* y probabilidad posterior (MP/ MV/IB). SD= sin dato.



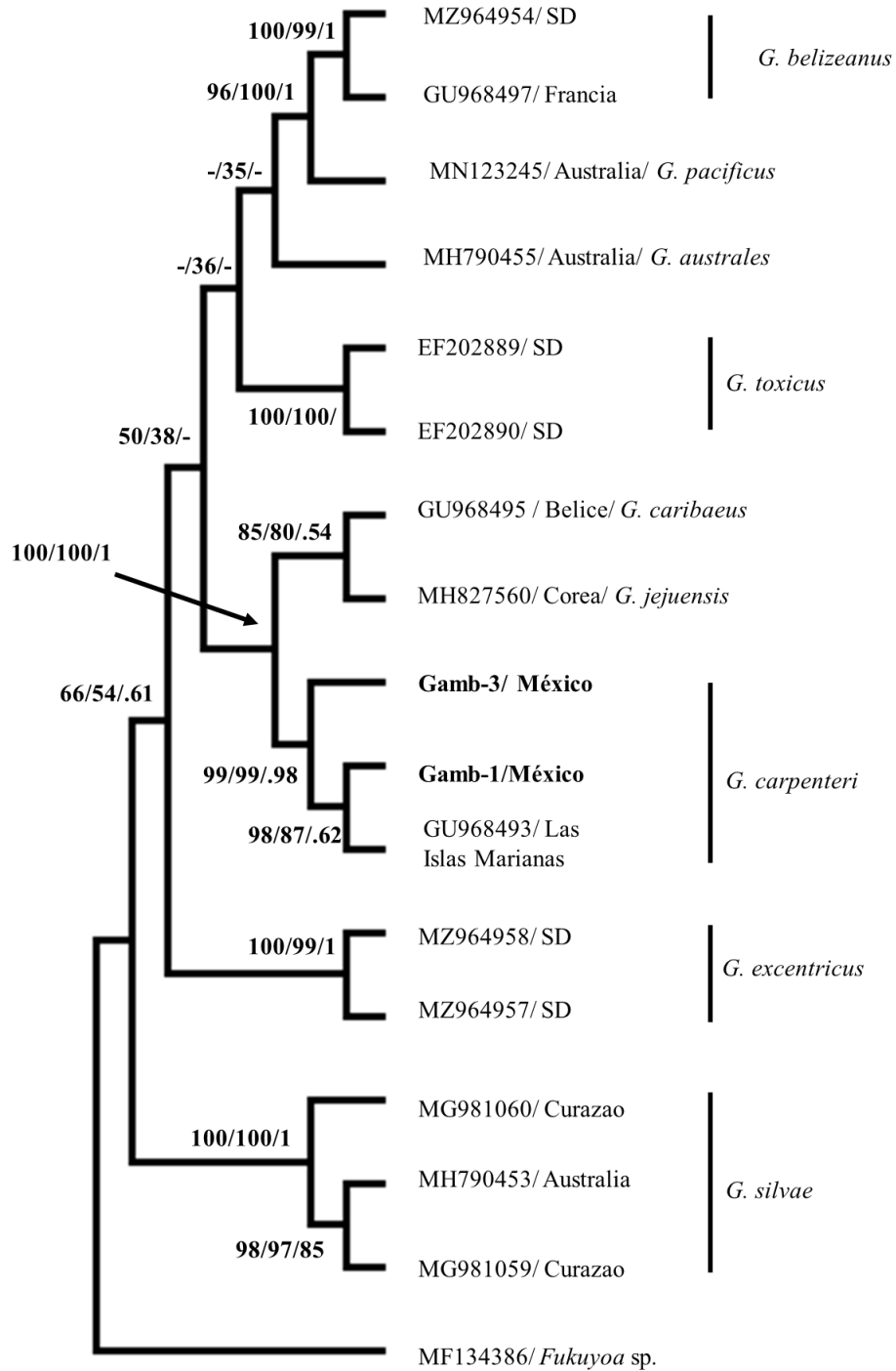


**Figura 63.** Árbol filogenético de la región ITS del ADNr. El análisis se realizó empleando los métodos de MP, MV e IB, empleando el modelo general de tiempo reversible, con *Bootstrap* de 1000 réplicas para MP y MV, y 1000000 de generaciones para IB. El análisis incluyó 26 secuencias, con un total de 425 pb. En los nodos se muestran los valores de *Bootstrap* y probabilidad posterior (MP/ MV/ IB).

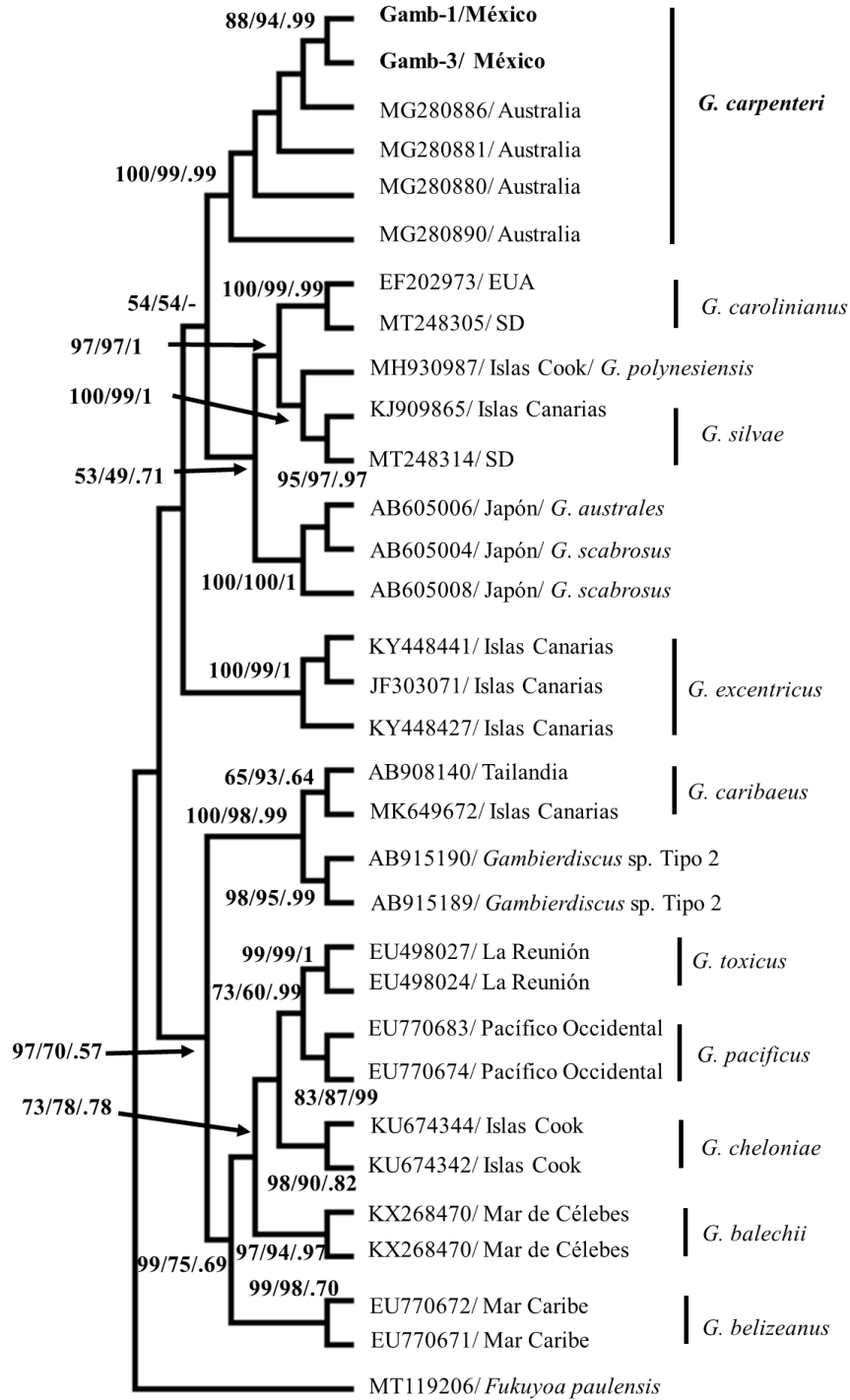
### 7.2.3 *Gambierdiscus*

Los árboles filogenéticos con secuencias del GenBank y las cepas Gamb-1 y Gamb-3, incluyen a ambas cepas en el clado de *Gambierdiscus carpenteri*, con las tres regiones del ADNr. Por lo que ambas cepas fueron identificadas como *G. carpenteri*, con valores de *bootstrap* del 99 al 100 con MP y MV, y valores de probabilidad posterior de 0.98 a 1 para IB.

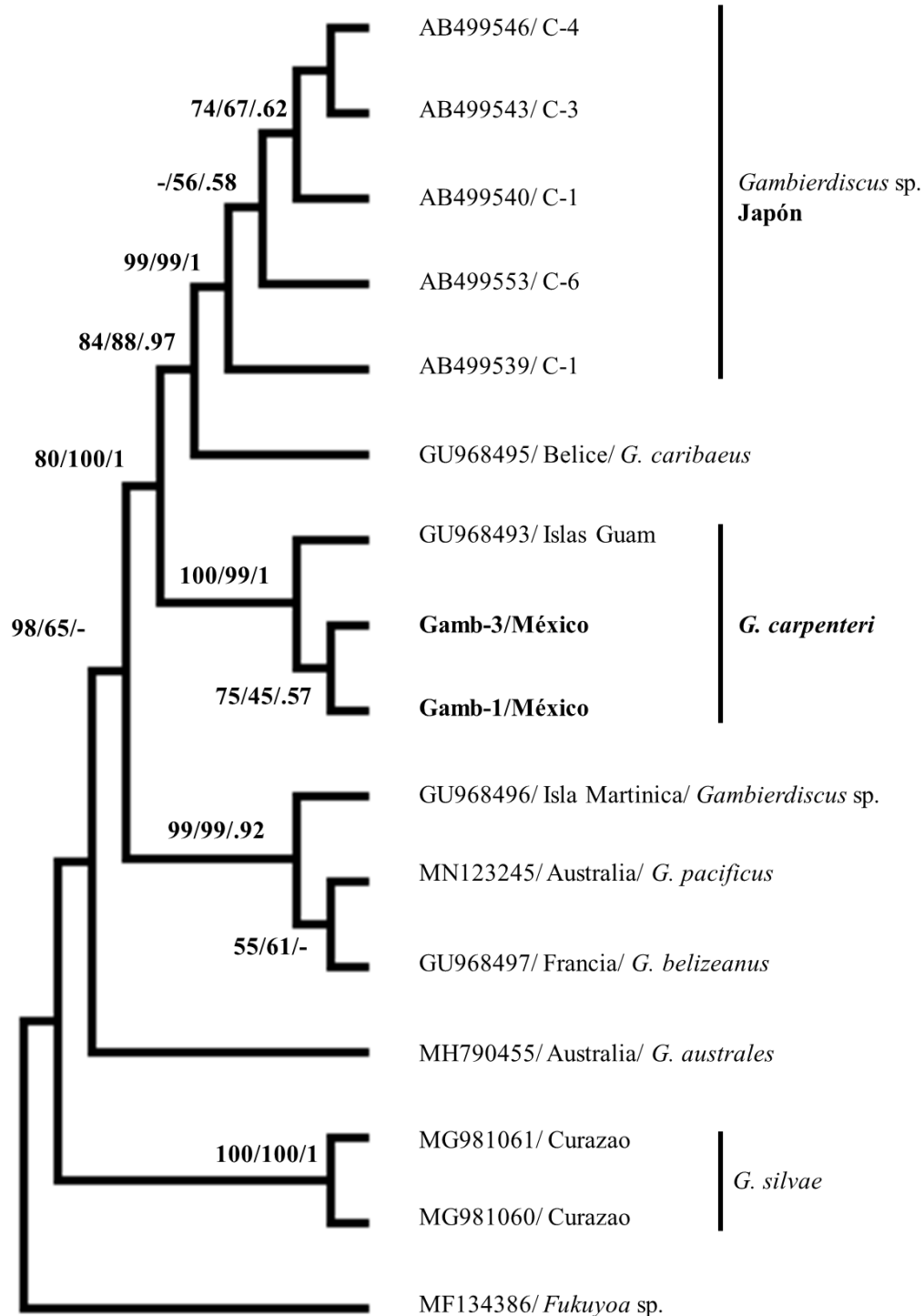
El árbol filogenético obtenido con secuencias de la región 5.8S formó un subclado bien soportado (99/99/.98) que agrupó a las dos secuencias de este estudio con una secuencia de *G. carpenteri* proveniente de Las Islas Marianas. La reconstrucción filogenética llevada a cabo con secuencias de la región 28S del ADNr mostró una clara separación de *G. carpenteri* y *G. excentricus*, presentando estas dos especies una morfología similar (Fig. 65). Las secuencias de la región ITS para *Gambierdiscus* es escasa y no existe información molecular para todos los taxones actualmente aceptados, no obstante, las secuencias analizadas en este estudio formaron un clado bien soportado (100/99/1) con una secuencia identificada como *G. carpenteri* de la Isla Guam (Fig. 66).



**Figura 64.** Árbol filogenético de *Gambierdiscus* de la región 5.8S del ADNr. El análisis se dedujo utilizando los métodos de MP, MV e IB. En los nodos muestra el porcentaje de *bootstrap* y probabilidad (MP/ MV/ IB). El análisis incluyó 17 secuencias, con un total de 712 pb. SD= sin dato.



**Figura 65.** Árbol filogenético de *Gambierdiscus* de la región 28S del ADNr. El análisis se dedujo utilizando los métodos de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB). En los nodos muestra el porcentaje de *bootstrap* y probabilidad posterior (MP/MV/IB). El análisis incluyó 32 secuencias, con un total de 358 pb.



**Figura 66.** Árbol filogenético de *Gambierdiscus* de la región ITS del ADNr. El análisis se dedujo utilizando los métodos de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB). En los nodos muestra el porcentaje de *bootstrap* y probabilidad posterior (MP/MV/IB). El análisis incluyó 16 secuencias, con un total de 339 pb.

#### 7.2.4 *Ostreopsis*

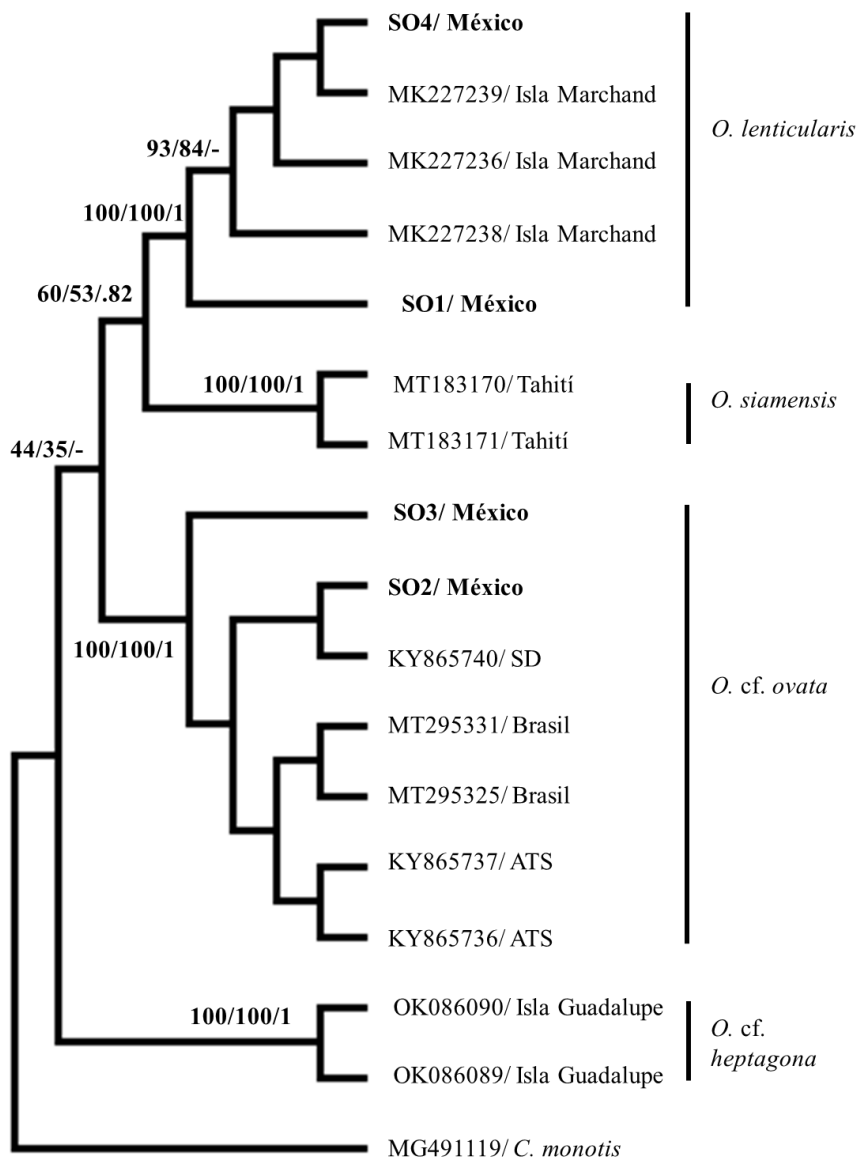
Se obtuvieron secuencias de cuatro cepas del género *Ostreopsis*, los árboles filogenéticos de las tres regiones del ADNr ayudaron a identificar dos especies. El árbol filogenético con la región 5.8S del ADNr mostró un clado que incluía las secuencias SO1, SO4 y secuencias de *O. lenticularis* del GenBank, con soportes de *bootstrap* del 100% para MP y MV, y probabilidad posterior de 1 para IB (Fig. 67). Dichas secuencias se separaron de las secuencias SO2 y SO3, las cuales se agruparon con secuencias de *Ostreopsis* cf. *ovata* de Belice y Brasil con valores de *bootstrap* del 100% para MP y MV, y probabilidad posterior de 1 para IB (Fig. 67). La distancia evolutiva entre las secuencias SO1 (*O. lenticularis*) y SO2 (*O. cf. ovata*) fue de 0.51, mientras que la distancia evolutiva entre las secuencias identificadas como *O. lenticularis* (SO1 vs SO4) fue de 0.01. Las dos secuencias identificadas como *O. lenticularis* (SO1 y SO4) presentaron cinco mutaciones: una transición (T por C) en el sitio 84, una transversión (T por A) en el sitio 301 y tres deleciones en los sitios 111, 125 y 173. Por otro lado, las secuencias SO2 y SO3 no presentaron cambios en los 361 nucleótidos analizados.

El árbol filogenético de la región 28S del ADNr mostró seis clados, uno de los clados incluyó las secuencias SO2 y SO3 con secuencias de *O. ovata* y *O. cf. ovata* (Fig. 68). El soporte de *bootstrap* de dicho clado fue del 100% para MP y MV, con probabilidad posterior de 1 para IB. Dentro de este clado se formaron tres subclados bien soportados que podrían indicar tres haplotipos (Fig. 68). Las secuencias SO2 y SO3 formaron un clado con soportes de *bootstrap* de 99% (MP y MV) y 0.98 (IB), estas presentaron una transversión (T por G) en el sitio 385. El valor de distancia evolutiva fue de 0.59 entre secuencias de *O. cf. ovata* con secuencias de *O. lenticularis* de la región 28S del ADNr para 625 pb.

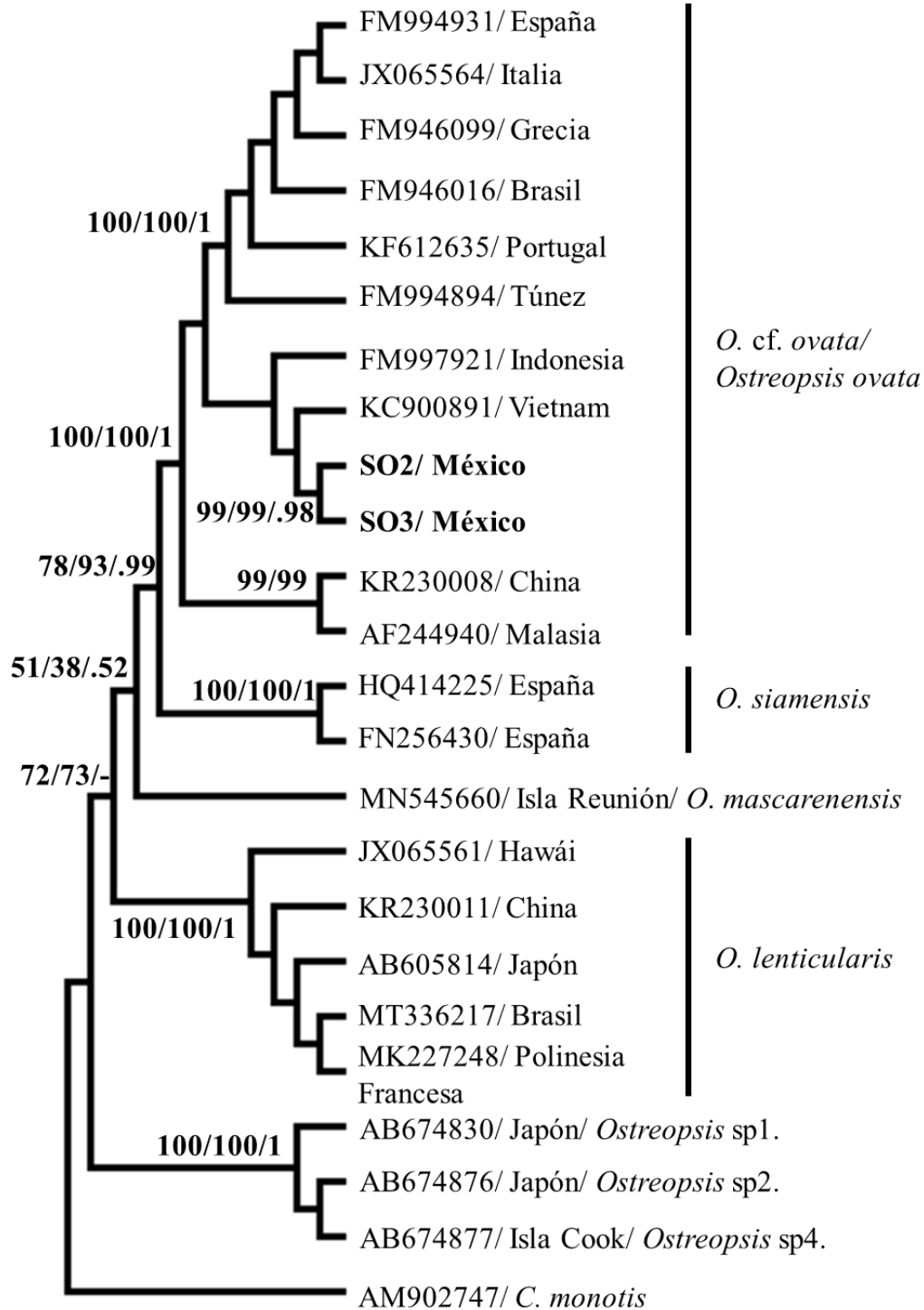
Se obtuvieron dos secuencias de la región ITS del ADNr. En la reconstrucción filogenética, la secuencia de la cepa SO2 se agrupó con secuencias de *O. cf. ovata* con valores de *bootstrap* 86 a 99% (Fig. 69). Mientras que la secuencia de la cepa SO4 se agrupó dentro del clado *O. lenticularis* con soportes del *bootstrap* 100%.

Tomando en cuenta los resultados anteriores, se cuenta con secuencias de las tres regiones del ADNr para la cepa SO2, las cuales se agruparon en los clados de *O. ovata/O. cf. ovata* concordando con la identificación morfológica de dicha cepa como *O. ovata*. Otras de

las cepas de las que se pudo obtener secuencias de más de una región del ADNr fueron las cepas SO3 y SO4, identificadas como *O. ovata*/*O. cf. ovata* y *O. lenticularis*, respectivamente.

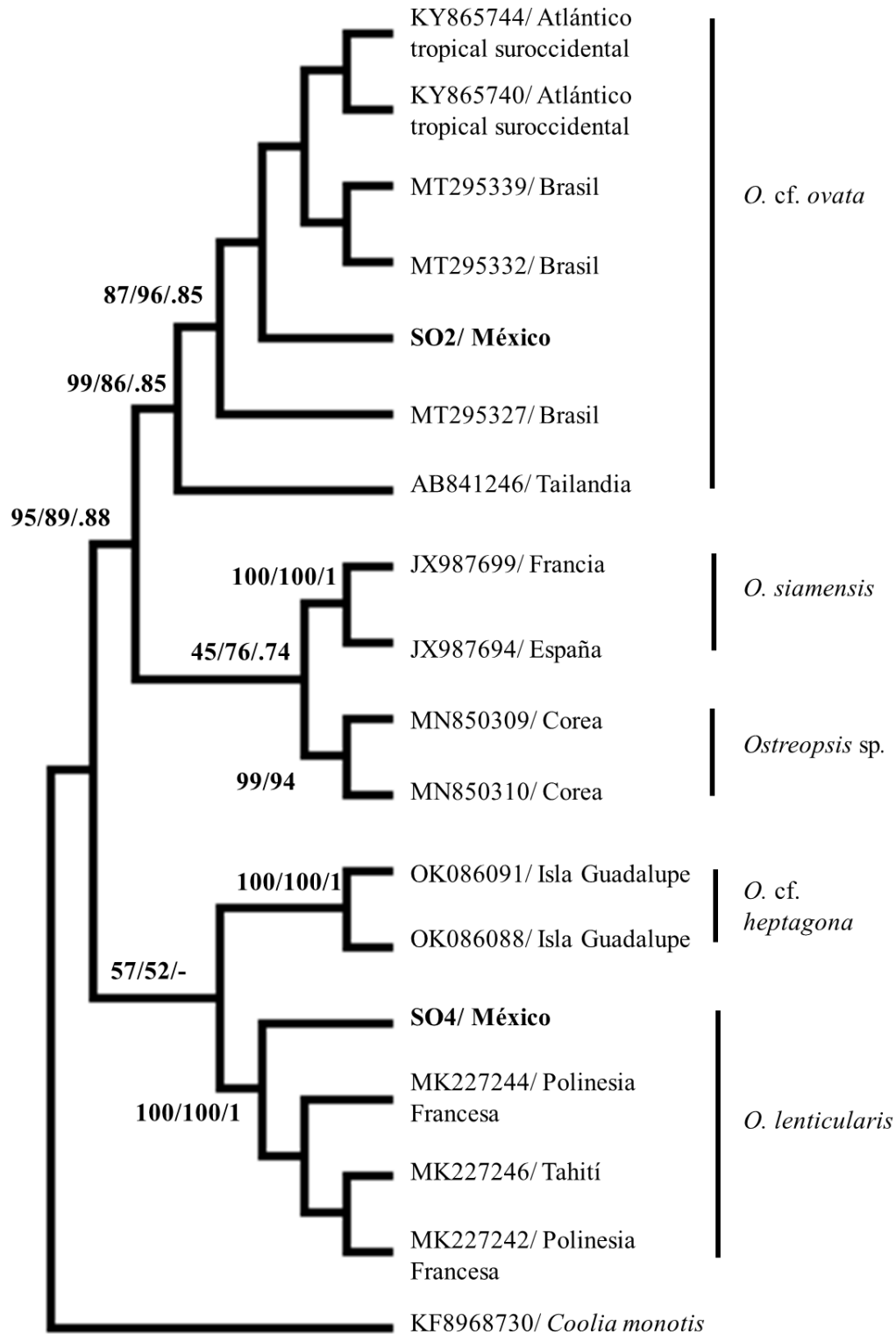


**Figura 67.** Árbol filogenético de *Coolia* de la región 5.8S del ADNr. El análisis se dedujo utilizando los métodos de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB). En los nodos muestra el porcentaje de *bootstrap* y probabilidad posterior (MP/ MV/ IB). El análisis incluyó 17 secuencias, con un total de 361 pb. ATS= Atlántico Tropical Suroccidental.



**Figura 68.** Árbol filogenético de *Ostreopsis* de la región 28S del ADNr. El análisis se dedujo utilizando los métodos de MP, MV e IB. *Bootstrap* de 1000 réplicas (MP/ MV) y 1000000 de generaciones para IB. En los nodos muestra el porcentaje de *bootstrap* y probabilidad posterior (MP/ MV/ IB). El análisis incluyó 24 secuencias, con un total de 625 pb.





**Figura 69.** Árbol filogenético de *Ostreopsis* de la región ITS del ADNr. El análisis se dedujo utilizando los métodos de MP, MV e IB. *Bootstrap* de 1000 réplicas (MP/ MV) y 1000000 de generaciones para IB. En los nodos muestra el porcentaje de *bootstrap* y probabilidad posterior (MP/ MV/ IB). El análisis incluyó 18 secuencias, con un total de 331 pb.

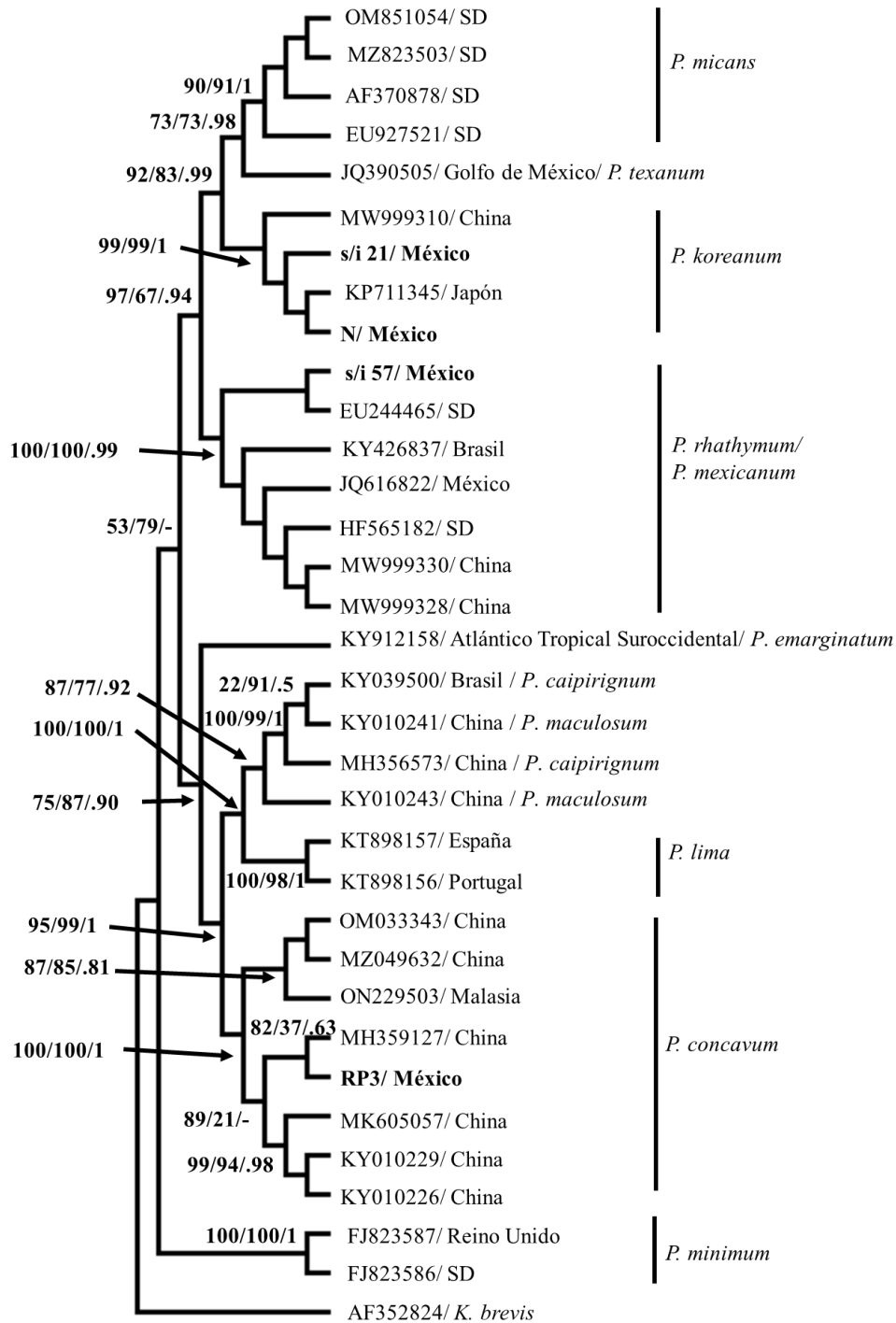
### 7.2.5 *Prorocentrum*

Los análisis moleculares contribuyeron en la identificación de cinco especies del género *Prorocentrum*. El análisis filogenético de la región 5.8S incluyó cuatro secuencias de este estudio. La secuencia de la cepa 57 se agrupó en un clado con el complejo *P. rhathymum/P. mexicanum* con valores de *bootstrap* del 100% (Fig. 70). Por otro lado, las secuencias de las cepas s/i 21 y N se agruparon dentro del clado *P. koreanum* con soportes de *bootstrap* del 99% (Fig. 70). Mientras que la secuencia de la cepa RP3 formó un clado bien soportado (*bootstrap*= 99) con secuencias de *P. concavum* de Malasia y China (Fig. 70).

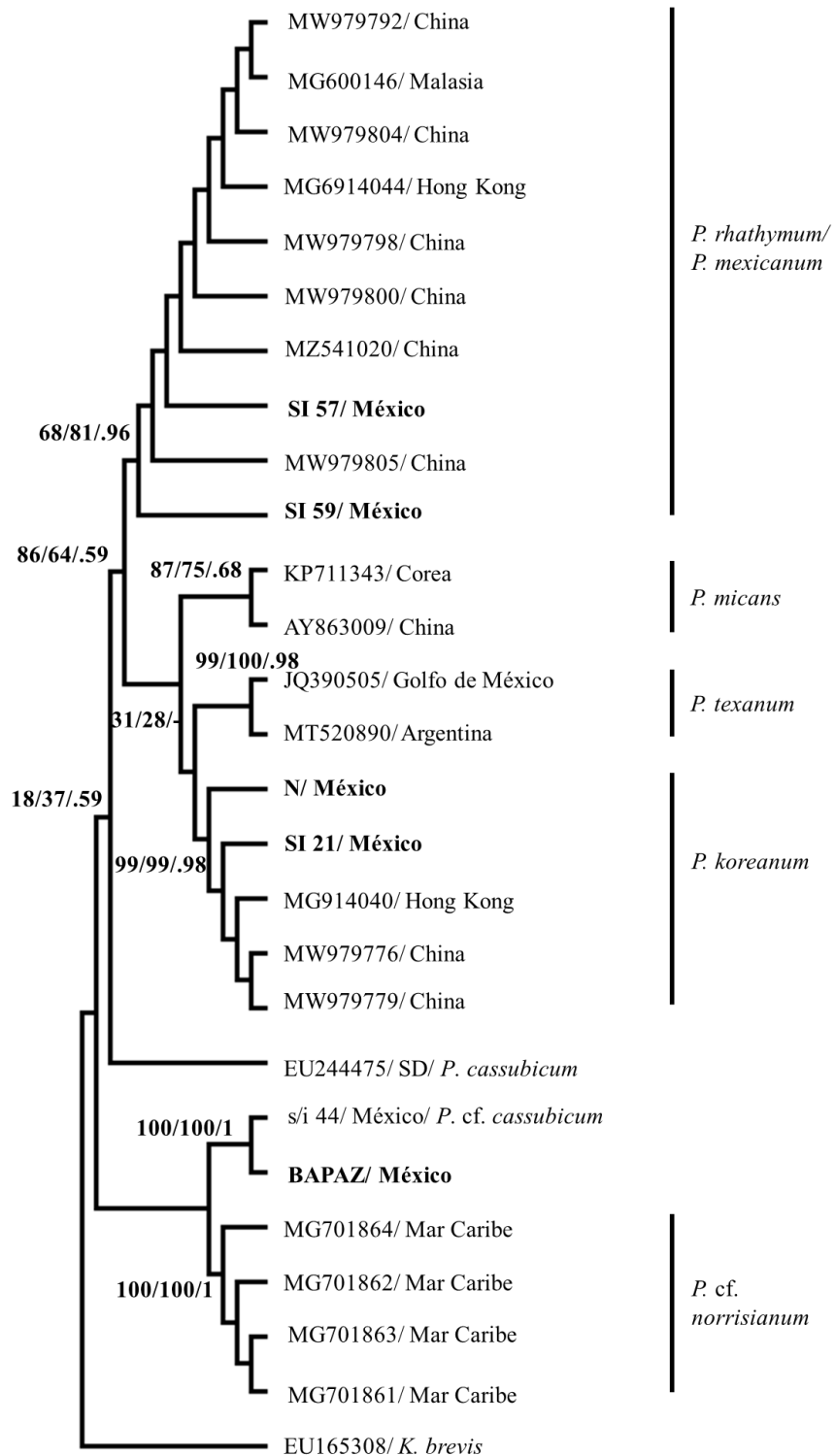
La reconstrucción filogenética con secuencias de la región 28S del ADNr mostró cinco clados donde se incluyeron secuencias obtenidas en este estudio. Las secuencias de las cepas 57 y 59 identificadas morfológicamente como *P. rhathymum*, se agruparon en un clado con secuencias del complejo *P. rhathymum/P. mexicanum* con valores de *bootstrap* de 68 y 81 (MP y MV) y probabilidad posterior de 0.96 (Fig. 71). Las cepas 21 y N se agruparon con secuencias de *P. koreanum* con soportes de 99% y probabilidad posterior de 0.98 (Fig. 71). Por otro lado, la secuencia BAPAZ se agrupó en un clado bien soportado (*bootstrap*= 100) con una secuencia de la Bahía de La Paz previamente identificada como *Prorocentrum* cf. *cassubicum*, cepa s/i 44 (Fig. 71). Estas dos secuencias presentaron tres cambios en los sitios nucleotídicos, una transversión (G por C) en el sitio 183 y dos deleciones en los sitios 235 y 242. Sin embargo, estas dos secuencias se separaron de secuencias identificadas como *P. cassubicum/P. cf. norrisianum*. Es importante mencionar que en la base de datos del NCBI las secuencias de este complejo son escasas, existen siete secuencias identificadas como *P. cf. norrisianum* para la región 28S del ADNr y solo dos secuencias de *P. cassubicum* para la misma región del ADNr.

Finalmente, la reconstrucción filogenética con secuencias de la región ITS incluyó seis secuencias de este estudio. Las secuencias de las cepas s/i 21, 35 y RP1 se agruparon dentro del clado de *P. koreanum* con soportes del 79 y 99% para MV y MP, y probabilidad posterior de 0.99 para IB (Fig. 72). Dentro de este clado principal, las secuencias de las cepas s/i 21 y RP1 formaron un subclado con soportes del 98% para MP y probabilidad posterior de 1 para IB, separándose de la secuencia s/i 35 que presenta afinidad con una secuencia de China (Fig. 72). *Prorocentrum koreanum* y *P. micans* tienen una morfología muy similar, no obstante,

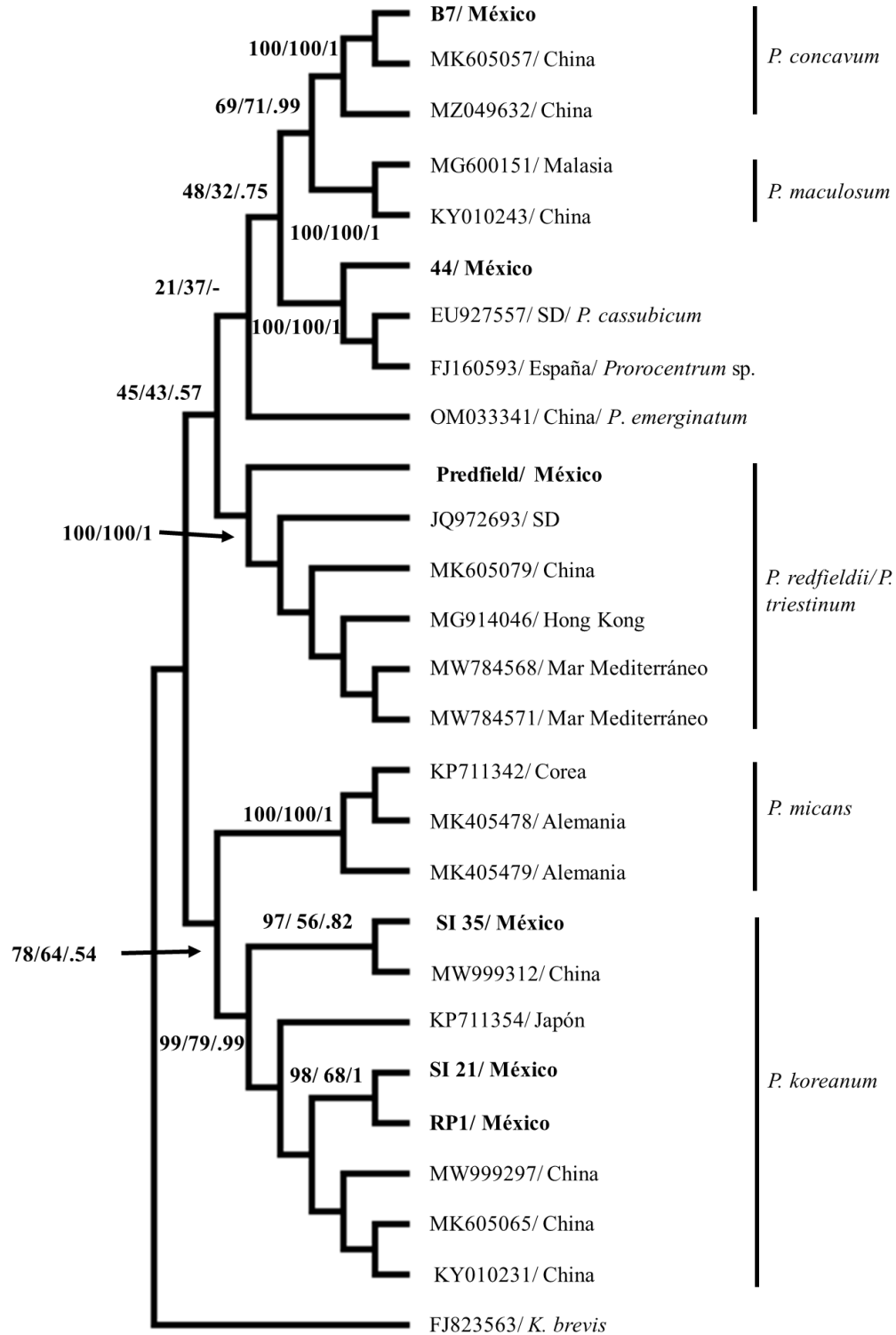
las secuencias de ambas especies presentaron diferencias significativas, donde las secuencias de *P. micans* se agruparon en un clado con soporte del 100% (Fig. 72). La secuencia proveniente de la cepa Predfield se agrupó con secuencias de *P. redfieldii* y *P. triestinum* con soportes de *bootstrap* del 100% y probabilidad posterior de 1 (Fig. 72). Por otro lado, la secuencia de la cepa B7 se agrupó con secuencias de *P. concavum* de China con soportes de *bootstrap* del 100% y probabilidad posterior de 1. Además, se logró amplificar la región de la cepa s/i 44, la secuencia se agrupó con *P. cassubicum/Prorocentrum* sp. Tres cepas fueron identificadas con más de una región del ADNr, las cepas s/i 21 y N identificadas como *P. koreanum*, y secuencias de la cepa s/i 57 que fueron incluidas dentro del complejo *P. rhathymum/P. mexicanum* (Figs. 70-72).



**Figura 70.** Árbol filogenético de *Prorocentrum* de la región 5.8S del ADNr. El árbol filogenético se obtuvo empleando los métodos de MP, MV e IB. En los nodos muestra el porcentaje de *Bootstrap* y probabilidad posterior (MP/ MV/ IB). El análisis incluyó 34 secuencias, con un total de 572 pb.



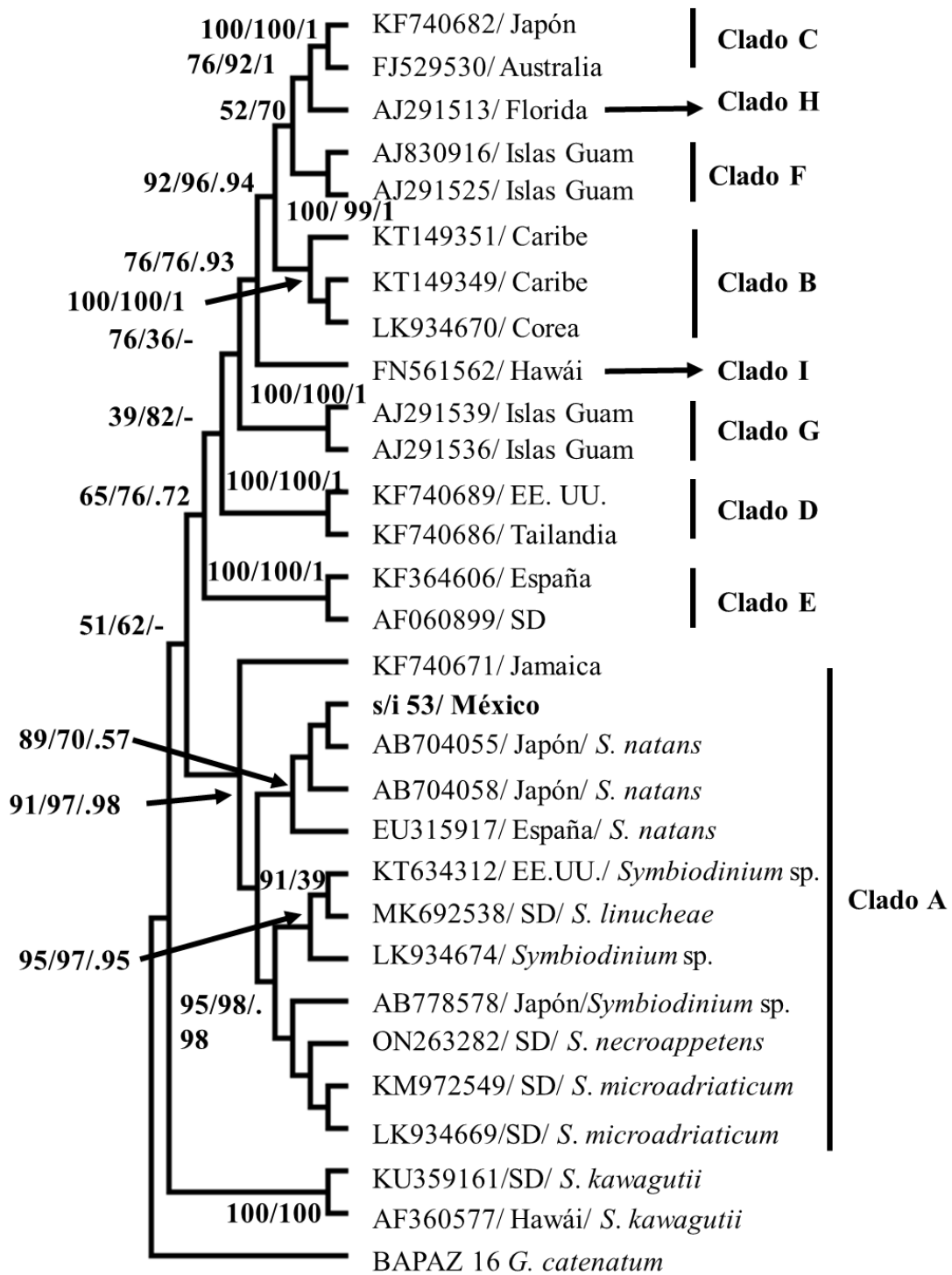
**Figura 71.** Árbol filogenético de *Prorocentrum* de la región 28S del ADNr. El árbol filogenético se obtuvo empleando los métodos de MP, MV e IB. El análisis incluyó 27 secuencias, con un total de 572 pb.



**Figura 72.** Árbol filogenético de *Prorocentrum* de la región ITS del ADNr. El análisis incluyó 27 secuencias, con un total de 556 pb. El árbol filogenético se llevó a cabo empleando los métodos de MP, MV e IB. En los nodos muestra el porcentaje de *bootstrap* y probabilidad posterior (MP/ MV/ IB). SD= sin dato.

### 7.2.6 *Symbiodinium*

Se estudiaron dos cepas pertenecientes al género *Symbiodinium* (s/i 50 y s/i 53), actualmente se cuenta con una secuencia de la región 28S del ADNr de la cepa s/i 53. Para la reconstrucción filogenética de este grupo se incluyeron secuencias adecuadamente identificadas de los nueve clados que se aceptan para el género *Symbiodinium*. La secuencia de este estudio se agrupó dentro del clado A con soportes de *bootstrap* del 91 y 97 para MP y MV, y probabilidad posterior de 0.98 (Fig. 73 clado A). La secuencia de la cepa s/i 53 formó un subclado con secuencias de *S. natans* con valores de *bootstrap* del 70 al 89 (Fig. 73). Se compararon dos secuencias de *S. natans* (AB704055 y AB704058) con la secuencia s/i 53, en la secuencia AB704055 hay una transición (C por T) en la posición 416, mientras que la secuencia AB704058 presentó una transición (A por una G) en la posición 461.



**Figura 73.** Árbol filogenético de *Symbiodinium* de la región 28S del ADNr. El análisis se dedujo utilizando el método de Máxima Parsimonia (MP), Máxima Verosimilitud (MV) e Inferencia Bayesiana (IB). En los nodos muestra el porcentaje de *bootstrap* y probabilidad posterior en los que los taxones se agruparon. El análisis se incluyó 30 secuencias, con un total de 558 pb. SD= sin dato.



## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Taxonomía morfológica y molecular

#### 8.1.1 *Amphidinium carterae*

Las células de este estudio concuerdan con los tamaños celulares reportados para *A. carterae*, dicha especie presenta tamaños de 10 a 22  $\mu\text{m}$  de largo y de 6 a los 13 de ancho (Al-Qassab *et al.*, 2002; Murray *et al.*, 2004; Shah, An & Lee, 2013; Hoppenrath *et al.*, 2014; Morquecho *et al.*, 2016; Karafas *et al.*, 2017; Seoane *et al.*, 2018; Luo *et al.*, 2021). La morfología sigue siendo de gran ayuda para separar especies similares como *A. carterae* y *A. massartii*. Las diferencias morfológicas entre estas especies son sutiles, no obstante, *A. carterae* y *A. massartii* presentan diferencias en el tamaño del hipocono y la forma de la célula. El hipocono en *A. massartii* es ligeramente más grande y estrecho comparado con el de *A. carterae* (Jørgensen *et al.*, 2004; Moreira-González *et al.*, 2019). Además, las células de *A. massartii* son relativamente más anchas, con tamaños que van de 6-21  $\mu\text{m}$  de largo y de 5 a 17  $\mu\text{m}$  de ancho (Karafas *et al.*, 2017). Una de las características para diferenciar entre estas especies es la forma de los plástidos, en *A. massartii* son reticulados y distribuidos en toda la célula, mientras que en *A. carterae* son lobulados y dispersos (Murray *et al.*, 2012a).

A pesar de que la morfología de *A. carterae* es similar a *A. massartii*, al emplear secuencias de las regiones de la subunidad larga 28S e ITS, se agrupan en clados distintos (Murray *et al.*, 2012a; Karafas *et al.*, 2017). Algo similar ocurre al analizar las distancias evolutivas entre secuencias de la región 28S de *A. massartii* del GenBank y las de *A. carterae* de este estudio, presentando distancias evolutivas de 0.108 (cepa s/i 51) y 0.130 (cepa s/i 52).

#### 8.1.2 *Amphidinium operculatum*

Los tamaños que se reportan para la especie son de 20-50  $\mu\text{m}$  de largo y 15-26.8  $\mu\text{m}$  de ancho (Al-Qassab *et al.*, 2002; Shah *et al.*, 2013; Luo *et al.*, 2021; Mejía-Camacho *et al.*, 2021), concordando con lo que se reporta en este estudio (de 22 a 40  $\mu\text{m}$  de largo y 21 a 27  $\mu\text{m}$  de ancho). Especies que han sido empleadas como sinónimas han sido *A. carterae* y *A. elegans* Grell & Wohlfarth-Bottermann (Al-Qassab *et al.*, 2002; Guiry & Guiry, 2022). Las revisiones realizadas entre las dos especies dieron como resultado que se trataba de la misma

especie, debido a que las características morfológicas eran idénticas: el tamaño celular, el contorno periforme con el lado derecho convexo y el izquierdo recto y epicono (Claparède & Lachmann, 1859; Grell & Wohlfarth-Bottermann, 1957; Jørgensen *et al.*, 2004). Por lo anterior, *A. elegans* se considera sinónimo de *A. operculatum* (Guiry & Guiry, 2022). *Amphidinium carterae* presenta características morfométricas y moleculares contundentes que las separan de *A. operculatum*, ya que es más pequeña, con un tamaño máximo de 22 µm de largo. En células en proceso de reproducción se observaron cuerpos de color rojo, estos cuerpos de color han sido reportados en *Amphidinium pseudomassartii* (Karafas *et al.*, 2017) y se tratan de pirenoides de almidón de color rojo.

Por otro lado, las distancias genéticas con la región de la subunidad larga de las especies cercanas *A. operculatum*, *Amphidinium massartii* y *A. carterae* son de 0.05, 0.04 y 0.05, respectivamente. Teniendo mayor diversidad genética intraespecífica comparado con otras especies del género, por ejemplo, *A. pseudomassartii* que su distancia es 0 (Karafas *et al.*, 2017). A pesar de que en este estudio no se ha podido obtener la secuencia de la cepa AS22, las características morfológicas y morfométricas concuerdan con lo que se reporta para *A. operculatum*.

### 8.1.3 *Coolia malayensis*

Las células de *Coolia malayensis* de este estudio presentaron tamaños de 18 a 42 µm de largo y de 17 a 36 µm de ancho (n=175). Los rangos mencionados concuerdan con los que se ha reportado para *C. malayensis* en condiciones de cultivo, ya que la especie presentan un rango de 16.6 a 33 µm de largo y 19 a 38 µm de ancho (Rahman Shah *et al.*, 2014; Karafas, York & Tomas, 2015; Wakeman *et al.*, 2015; Gómez *et al.*, 2016; Nascimento *et al.*, 2019a; Tibiriçá *et al.*, 2020). En estudios previos, en la Bahía de La Paz se reportaron células de *C. malayensis* de 25 a 42 µm largo y de 24 a 38 µm de ancho (Sepúlveda Villarraga, 2013; Hernández-Castro, 2017; Herrera-Herrera, 2022; Ramos-Santiago *et al.*, 2022).

A pesar de que en este estudio el rango de tamaño para la especie es mayor de 35 µm de largo, solo la cepa CT3 presentó valores arriba de 35 µm en ocho de las 15 células medidas. De la cepa CT3 se tienen secuencias de las tres regiones de ADNr estudiadas, todas fueron incluidas en el clado de *C. malayensis*, descartando que se trate de otra especie. Otro

estudio que reporta tamaños más grandes en *C. malayensis* a nivel global es el trabajo de (Herrera-Herrera, 2022), con tamaños que van de 28 a 42  $\mu\text{m}$  de largo y de 27 a 38  $\mu\text{m}$  de ancho. Lo anterior, podría deberse a que en el estudio uno de sus objetivos fue documentar los efectos entre las interacciones de *C. malayensis* y *A. therrmaeum*, lo que puede ocasionar cambios en los tamaños celulares y sería necesario aclarar si las medidas provienen de células no estresadas (células no sometidas a los experimentos) ya que en el estudio no se especifica. Otras explicaciones podrían ser las condiciones de cultivo, medio, temperatura y tiempos de cultivo. Cepas relativamente más grandes han sido aisladas de Corea con tamaños de 32.2-34.3  $\mu\text{m}$  de largo y 34.8-38.3  $\mu\text{m}$  de ancho; las cepas fueron mantenidas en medios MK y f/2, a 20 °C y salinidad de 30 (Rahman Shah *et al.*, 2014). Tomando en cuenta la información anterior, el rango de tamaños de *C. malayensis* en diferentes condiciones de cultivo varía de 16 a 42  $\mu\text{m}$  de largo y de 17 a 38  $\mu\text{m}$  de ancho.

Las características diagnósticas propuestas para identificar a *C. malayensis* son la forma y tamaño de las placas del poro apical (Po), la primera placa apical (1'), la tercera placa apical (3'), la séptima placa precingular (7'') y la tercera placa postcingular (3''') (Leaw *et al.*, 2010; Hoppenrath *et al.*, 2014; Nascimento *et al.*, 2019b; Tibiriçá *et al.*, 2020; Ramos-Santiago *et al.*, 2022). Es importante aclarar que esto se puede seguir una vez que se hayan descartado especies de *Coolia*, como por ejemplo *C. canariensis* o *C. tropicalis*, las cuales presentan depresiones y características particulares en los poros de las tecas que permite diferenciarlas de *C. malayensis* y *C. monotis* (Nascimento *et al.*, 2019b, 2019a; Tibiriçá *et al.*, 2020).

En este estudio el largo de la placa del poro apical (Po) de células cae dentro del rango de tamaños que se reporta en la bibliografía para *C. malayensis* (Leaw *et al.*, 2010; Karafas, York & Tomas, 2015; Tibiriçá *et al.*, 2020; Tabla VI). El tamaño de la placa del poro apical es diferente al de su especie hermana *C. monotis*, en la que se reportan tamaños de Po mayores con un rango de 7 a 12  $\mu\text{m}$  (Faust, 1995; Laza-Martínez *et al.*, 2011; Karafas *et al.*, 2015). La primera placa apical (1') la cual es hexagonal, con posición izquierda y siendo la placa más larga de la epiteca, concuerda con los diferentes reportes para la especie *C. malayensis* (Jeong *et al.*, 2012; Gómez *et al.*, 2016; Tibiriçá *et al.*, 2020). La forma de la placa apical 3' es una de las características diagnósticas para identificar especies del género *Coolia*. En las células de este estudio, esta placa se observó en forma de cuña y pentagonal,

coincidiendo con lo reportado y observado de las ilustraciones de varios autores para *C. malayensis* (Jeong *et al.*, 2012; Karafas, York & Tomas, 2015; Wakeman *et al.*, 2015; Gómez *et al.*, 2016; Nascimento *et al.*, 2019b). Otras características en *C. malayensis* son la séptima placa precingular (7<sup>''</sup>) que es cuadrangular, y la tercera placa postcingular (3<sup>'''</sup>) que también es cuadrangular, siendo la más grande de la hipoteca (Leaw *et al.*, 2010; Jeong *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2019a; Tibiriçá *et al.*, 2020).

**Tabla VI.** Morfometría de *Coolia malayensis* de diferentes áreas geográficas.

	Largo (µm)	Ancho (µm)	Largo de Po (µm)	Lugar
<b>Este estudio</b>	29.4 ± 2.7 (Media ± DE; n= 177)	27.2 ± 2.2 (Media ± DE; n= 177)	5.7 ± 0.9 (Media ± DE; n=10)	El Tecolote, El Requesón, B.C.S., México.
Leaw <i>et al.</i> (2010)	28–33	27–32	~ 5	Malasia
Karafas <i>et al.</i> (2015)	24.5 ± 2.7 (Media ± DE)	25.7 ± 2.4 (Media ± DE)	5.89 ± 0.5 (Media ± DE)	República Dominicana, Santa Cruz, Islas Vírgenes y Offshore Carolina del Norte.
Gómez <i>et al.</i> (2016)	22 a 33	19 a 33	6 a 9	Brasil y Puerto Rico
Sepúlveda-Villarraga (2017)				
Hernández-Castro (2017)	23.4 a 31	25 a 28	5.6	El Sauzoso, B.C.S.
de Azevedo Tibiriçá <i>et al.</i> (2020)	16.6 a 25.3	19.6 a 29.3	6.3 ± 0.5 (Media ± DE)	Brasil
Herrera-Herrera (2022)	28 a 42	27 a 38	3 a 5	Bahía de La Paz, B.C. S.
Ramos-Santiago <i>et al.</i> (2022)	25 a 28.5	23 a 25.7	5.5 a 6.6	Bahía de La Paz, B.C.S.
Morquecho <i>et al.</i> (2022)	23 a 44	23 a 39	5 a 11	Balandra, Ensenada La Paz, B.C.S.

Los árboles filogenéticos de las regiones 5.8S e ITS del ADNr mostraron dos subclados de *C. malayensis*, un subclado que incluye secuencias del GenBank con las secuencias de este estudio. En el segundo subclado se agrupan dos secuencias previamente publicadas en La Bahía de La Paz (ON943077 y ON943079) por Morquecho *et al.* (2022). Esto podría deberse a la presencia de diferentes haplotipos de *C. malayensis* en La Paz, B.C.S. Estando esto reportado en los estudios de Herrera-Herrera (2022) y Ramos-Santiago *et al.* (2022). Sin embargo, los cambios nucleotídicos entre los haplotipos de *C. malayensis*

varía en dos a seis sitios. No obstante, comparando las secuencias de la región 5.8S, las secuencias ON943077 y ON943079 presentaron 31 cambios en los sitios nucleotídicos con respecto a secuencias del GenBank de este estudio. Lo que pudiera deberse a una especie distinta a lo que se reportó por Morquecho *et al.* (2022). Debido a que en su estudio también observaron diferentes subclados de *C. malayensis*, donde las mismas secuencias se separan en un subclado con soportes de bootstrap del 100% para MV y probabilidad posterior de 1 para IB. Otra explicación podría ser un evento de divergencia, lo que estaría conduciendo a una especiación.

En los cultivos se observó la fisión binaria, proceso que fue descrito por primera vez en *Coolia monotis* (Faust, 1992). Esta fisión binaria suele liberar planocigotos biflagelados, generalmente más grandes que las células vegetativas, las cuales pueden tener un tamaño que va de los 70-75  $\mu\text{m}$  de diámetro (Faust, 1992). Se observaron cuerpos más largos que anchos que podrían ser quistes cigóticos o quistes temporales, resultado de la reproducción asexual o sexual, respectivamente.

#### **8.1.4 *Gambierdiscus carpenteri***

Las células de este estudio se observaron anteroposteriormente comprimidas, por lo que se descartaron especies como *Gambierdiscus ruetzleri* y *G. yasumotoi* (Litaker *et al.*, 2009). La segunda placa apical (2') se observó casi rectangular, con una pequeña protuberancia hacia el complejo del poro apical, descartando inicialmente a *G. carpenteri* y *G. caribaeus* (Litaker *et al.*, 2009). Sin embargo, se ha descrito en cepas de *G. carpenteri* de Australia que dicha placa se puede observar en forma de hacha o rectangular, siendo morfológicamente más similares a *G. toxicus* (Kohli *et al.*, 2014). Lo anterior, difiere de las descripciones de Litaker *et al.* (2009) para cepas de Belice. La segunda placa apical observada en las cepas Gamb-1 y Gamb-3 concuerda con los reportes de Kohli *et al.* (2014) para cepas de Australia.

El tamaño celular de *G. carpenteri* en este estudio tuvo un promedio de 88.2  $\mu\text{m}$  de profundidad y 84.7  $\mu\text{m}$  de ancho. Lo anterior, coincide con lo que se ha reportado para la especie, ya que hasta la fecha se han reportado tamaños de 66 a 92  $\mu\text{m}$  de profundidad, y 65 a 85  $\mu\text{m}$  de ancho (Litaker *et al.*, 2009; Hoppenrath *et al.*, 2014; Vacarizas *et al.*, 2018). Los tamaños de la placa del poro apical (8  $\mu\text{m}$  de largo, 4.9  $\mu\text{m}$  de ancho) de este estudio concuerdan con lo que se ha reportado en la literatura para *G. carpenteri* (Litaker *et al.*,

2009). La posición y conexión de placas diagnosticas 2' y 4'' corresponden a lo reportado para *G. carpenteri* (Litaker *et al.*, 2009; Kohli *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2022).

En los cultivos se lograron observar quistes temporales. En especies de *Gambierdiscus* ya se han reportado estos quistes, y se ha documentado que pueden tardar desde tres días hasta cinco meses para germinar cuando las condiciones son adecuadas (Assunção & Portillo, 2018).

Especies similares a *G. carpenteri* son *G. toxicus* y *G. caribaeus*, no solo morfológicamente, las distancias genéticas entre estas especies también suelen ser similares empleando secuencias de la subunidad larga (D8-D10) (Rodríguez *et al.*, 2017). Se ha reportado que la región D8-D10 de la subunidad larga (28S) es la más adecuada y empleada para la identificación del género *Gambierdiscus* (Vacarizas *et al.*, 2018), sin embargo, dicha región no separa a *G. excentricus* de *G. carpenteri*. Contrario a la región D1-D3 que separa a estas dos especies colocando en un clado a secuencias de *G. carpenteri*, *G. caribaeus* y *G. jejuensis*, y en un subclado a *G. carpenteri* (Wang *et al.*, 2022). La distancia genética entre las especies cercanas de *G. carpenteri*, es mayor con el gen D1-D3 (0.052) comparado con la región D8-D10 (0.005) de *G. caribaeus* (Fraga & Rodríguez, 2014). Lo anterior, también se pudo observar en este estudio, ya que las secuencias de las regiones 5.8S y 28S se separan de los clados de *G. carpenteri* son *G. toxicus* y *G. caribaeus*. En contraste, con el gen ITS esto no pudo ser aclarado, debido a que la información de secuencias para las tres especies afines es nula.

Actualmente, los estudios sobre la taxonomía morfológica en *G. carpenteri* es escasa, solo cuatro estudios a nivel global incluyen dicho análisis (Litaker *et al.*, 2009; Kohli *et al.*, 2014; Vacarizas *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2022). Por lo anterior, fue necesario integrar herramientas morfológicas y moleculares (secuencias de los genes 5.8S, 28S e ITS del ADNr) para corroborar que las dos cepas de La Gaviota, B.C.S. son de *G. carpenteri*.

### **8.1.5 *Ostreopsis lenticularis***

El tamaño de las células de este estudio corresponde a lo reportado para *O. lenticularis*, dorsoventralmente las células pueden medir de 60 a 121  $\mu\text{m}$  y en transdiámetro de 45-98  $\mu\text{m}$  (Hoppenrath *et al.*, 2014; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018; Chomérat *et al.*, 2019a, 2019b; Borsato *et al.*, 2020; Carnicer *et al.*, 2020). El largo de la placa del poro apical

(16.2- 19.3  $\mu\text{m}$ ) está dentro de lo reportado en la literatura (Chomérat *et al.*, 2019; Tabla VII). *Ostreopsis lenticularis* comparte características morfológicas como la forma y tamaño de las células con *O. siamensis*. No obstante, *O. lenticularis* se diferencia de *O. siamensis* por la presencia de dos a tres tipos de poros, los cuales presentan tamaños distintos y por la ausencia de una curvatura celular en *O. siamensis* (Chomérat *et al.*, 2019b; Borsato *et al.*, 2020). Actualmente, las características morfológicas como el tamaño de poros en especies como *O. lenticularis*, *O. siamensis*, *O. marina* y *O. labens* es discutida y se recomienda tomar este carácter con cuidado, ya que estas especies presentan variación en el tamaño y morfología debido a su plasticidad ante cambios ambientales (Chomérat *et al.*, 2019b). La forma celular, el tamaño del surco y el patrón de placas definen el género, no obstante, entre especies dichas características se comparten.

Por lo anterior, en este estudio la identificación molecular fue determinante para discriminar entre especies. Las secuencias de *O. lenticularis* del Océano Pacífico, el Océano Índico y el Mar de China Meridional están genéticamente relacionadas (distancia  $p$  dentro del clado 0,001) pero son ligeramente divergentes de secuencias de Japón (distancia  $p$  entre los subclados de 0,068) (Chomérat *et al.*, 2019b). En este estudio las secuencias de los genes ITS y 5.8S del ADNr se relacionaron estrechamente con secuencias de la Polinesia Francesa.

#### **8.1.6 *Ostreopsis ovata***

Los tamaños celulares que se reportan en este estudio concuerdan con los tamaños *O. ovata* reportado en la literatura (Tabla V), que presentan de 35 a 65  $\mu\text{m}$  de largo y de 20 a 41.2  $\mu\text{m}$  de ancho (Accoroni *et al.*, 2014; González, 2014; Hoppenrath *et al.*, 2014; Gómez *et al.*, 2017; Carnicer *et al.*, 2020). En algunos estudios se reporta variabilidad morfométrica, células con tamaños celulares que van de 55 a 84  $\mu\text{m}$  de largo y de 20 a 88.75  $\mu\text{m}$  de ancho (David *et al.*, 2013; Accoroni *et al.*, 2014). Esto también se observó en ambos cultivos de *O. ovata* ya que las desviaciones estándar en este estudio presentan valores arriba de 10. Lo anterior también se refleja en la forma de las células, la mayoría de las células se observan en forma de lágrimas grandes y pequeñas, en otras ocasiones se observaron más redondeadas. El complejo *O. cf. ovata/O. ovata* no presenta una diferencia con respecto al tamaño de las células y las regiones geográficas de origen de los aislados (véase Tabla VII). Los rangos de tamaño se traslapan complicando concluir si se trata de dos especies distintas, o se debería

referir a estos reportes como *O. ovata*. Esto ya ha sido discutido por Zhang *et al.* (2017), corroborando que para diferenciar especies de *Ostreopsis* la morfometría no es fiable.

Uno de los procesos reproductivos documentados fue una estructura circular y central en la epiteca. La existencia de este proceso en la epiteca donde los gametos se unen se ha descrito y observado por Bravo *et al.* (2012) y Accoroni *et al.* (2014). Estos últimos autores reportaron que en *O. cf. ovata* la conjugación ocurre sin plasmogamia con fusión nuclear. Por lo observado en este estudio y lo que se reporta en la bibliografía esta estructura está implicada en el mecanismo de unión entre gametos.

Por otro lado, en los quistes se observaron cuerpos de color naranja los cuales pueden corresponder a una fase concreta del ciclo biológico en los dinoflagelados (Accoroni *et al.*, 2014). Las formas y tipos de quistes observados (quistes reproductivos, quistes con una membrana y quistes tecados) en este estudio concuerdan con lo reportado para *O. cf. ovata* en el estudio de Bravo *et al.* (2012), quienes se dieron a la tarea de germinar y estudiar estos quistes provenientes de diferentes sitios de muestreo del Mar Mediterráneo noroccidental. Encontraron que quistes latentes y quistes de membranas finas tardaban 24 h en germinar, después de su aislamiento, mientras que los quistes embebidos en mucílago tardaban de dos a seis meses en germinar.



**Tabla VII.** Diferencias morfológicas y morfométricas entre *Ostreopsis lenticularis* y *O. ovata*/*O. cf. ovata*. SD= Sin dato.

Especie	Diámetro dorsoventral (µm)	Ancho (µm)	Largo del Po (µm)	Sitio	Referencias
<i>Ostreopsis lenticularis</i>	52 a 92	40 a 77	11 a 21	Bahía de La Paz, México.	<b>Este estudio</b>
	68 a 113.5	56.5–97.3	SD	China	Zhang <i>et al.</i> (2018)
	65–100	50–80	SD	Archipiélago Revillagigedo, México	Gárate-Lizárraga <i>et al.</i> (2018)
	88.49 ± 7.22 (Media ± DE)	67.29 ± 6.11 (Media ± DE)	SD	Galápagos	Carnicer <i>et al.</i> (2020)
	60.5–89.3	56.1–73.4	16.2-19.3	Tahití	Chomérat <i>et al.</i> (2019)
	66.0–117.5	50.0–92.5	SD	Fernando de Noronha, Brasil	Borsato <i>et al.</i> (2020)
<i>O. ovata</i>	41 a 57	21 a 41	8 a 11	Bahía de La Paz, México.	<b>Este estudio</b>
<i>O. cf. ovata</i>	27 a 85	17 a 65	SD	Mar Mediterráneo	Bravo <i>et al.</i> (2012)
	33 a 68	18 a 48	SD	Brasil	Nascimento <i>et al.</i> (2012)
<i>O. ovata</i>	55 a 84	30 a 62	9.6 a 13	Portugal	David <i>et al.</i> (2013)
<i>O. cf. ovata</i>	52.5 ± 8.2 (Media ± DE)	41.2 ± 8.1 (Media ± DE)	SD	Mar Mediterráneo	Accoroni <i>et al.</i> (2014)
<i>O. ovata</i>	35 a 65	20 a 40	8	Brasil	Gómez <i>et al.</i> 2017
<i>O. cf. ovata</i>	40 a 63.7	21.2 a 31.8	6.72 a 10.05	Mar Adriático	Ninčević-Gladan <i>et al.</i> (2019)
	44.73 ± 5.62 (Media ± DE)	32.32 ± 5.35 (Media ± DE)	SD	Galápagos	Carnicer <i>et al.</i> (2020)
	55-72	35-50		Golfo de Vizcaya	Chomérat <i>et al.</i> 2022

### 8.1.7 *Prorocentrum koreanum*

La mayoría de las cepas analizadas en este estudio tuvieron un gran parecido a *P. koreanum*, no obstante, con los análisis morfológicos la cepa s/i 21 se identificó como *Prorocentrum cf. micans*. Al realizar los análisis moleculares la secuencia de dicha cepa se agrupó con secuencias de *P. koreanum* proveniente de las bases de datos del GenBank (véase apartado de “Taxonomía molecular”). Los estudios sobre *P. koreanum* son escasos, y solo Han *et al.* (2016) han realizado una descripción detallada para diferenciar estas dos especies. Inicialmente, las características que definían a *P. koreanum* era su forma celular piriforme o de gota, una espina apical desarrollada que va de los 4.9 a 9.4 µm, el patrón de distribución de poros, la posición y forma del núcleo (Han *et al.*, 2016; Villa-Arce, 2021). Aunado a lo

anterior, en este estudio se observó que en células con la típica forma de *P. koreanum* las valvas presentaban depresiones que en ocasiones contenían poros en su interior, en el caso de las células con gran parecido a *P. micans* las valvas eran lisas.

Una característica particular de *P. micans* es el área anterior, que es de forma acorazonada, con la zona posterior angosta con terminación en punta. No obstante, en este estudio se observó que dichas características se pueden compartir, ya que la morfología sugería que la cepa s/i 21 era *P. micans*, sin embargo, los análisis moleculares mostraron que se trataba de *P. koreanum*. Estos dos morfotipos (células piriformes y acorazonadas) también se observan en las fotografías de Morquecho *et al.* (2016), quienes identificaron células como *P. micans*, dada la alta similitud observada en la cepa S/i 21 con *P. micans*, es recomendable que los autores realicen análisis moleculares para descartar que tengan una cepa de *P. koreanum*.

Uno de los caracteres que se consideraba más importante para diferenciar entre las dos especies era el patrón de poros, sin embargo, este no es consistente siendo muy similar a los reportes de Tillman *et al.* (2019) para *P. micans*. Esto también incluye el tamaño celular y la espina apical, ya que en la mayoría de los reportes dichos tamaños se traslapan, dificultando la identificación con caracteres morfométricos (véase la Tabla VIII). Por lo que la descripción morfológica inicial de Han *et al.* (2016) está sujeta a discusión.

Han *et al.* (2016) en sus descripciones rescata que *P. micans* presenta poros de tricocistos en el área central de la valva, contrario a *P. koreanum* quien en la zona central no presenta poros. Este podría ser una característica de importancia, debido a que en células de este estudio no se observaron dichos poros de tricocistos. Solo se observaron escasos poros medianos en el área central en la cepa s/i 21. Otras especies que se cree que tienen un parecido morfológico a *P. koreanum* son *P. gracile* y *P. texanum*, sin embargo, estas especies presentan una clara diferencia en el tamaño y forma celular (Cohen-Fernández *et al.*, 2010). Por lo que se descarta de manera contundente el parecido morfológico.

Tomando en cuenta lo antes mencionado, en este estudio se decidió dar más peso a los análisis moleculares obtenidos con las regiones 5.8S, 28S e ITS del ADNr, las cuales separan en diferentes clados a las especies *P. koreanum*, *P. texanum* y *P. micans*. Por lo que se sugiere que, en la identificación de nuevos aislados de *P. koreanum* y *P. micans* se analicen al menos secuencias 28S o ITS, para evitar falsos reportes en estas especies. Es importante

aclarar, que *P. koreanum* y *P. micans* son especies distintas y no deben tomarse como sinónimas, sino como especies crípticas. Este estudio al igual que los de Han *et al.* (2016), Tillman *et al.* (2019) y Villa-Arce (2021) disponen de la información morfológica, morfométrica y molecular necesaria para identificar de forma fiable a *P. koreanum*.

**Tabla VIII.** Características morfológicas de *Prorocentrum micans* y *Prorocentrum koreanum*.

Especie	Largo (µm)	Ancho (µm)	Espina apical (µm)	Forma celular	Sitio	Referencia
<i>P. micans</i>	38-44	20-28	4.3-6.5	piriforme a acorazonada	Bahía Concepción, México.	Morquecho <i>et al.</i> (2016)
	32.6-38.1	23.5-29.1	3.1-5.4	piriforme a acorazonada	Corea y Japón	Han <i>et al.</i> (2016)
	40.4 a 58.2	24.4 a 35.9	6.2 ± 0.6	piriforme	Mar Báltico	Tillman <i>et al.</i> (2019)
Cepa s/i 21	36 a 43.5	22 a 33	4.5 a 8.3	piriforme a acorazonada	Bahía de La Paz, México.	<b>Este estudio</b>
Cepas: s/i 35, RPI y N	35 a 41	17 a 27	4.1 a 7.2	piriforme o forma de gota	Bahía de La Paz, México.	<b>Este estudio</b>
<i>P. koreanum</i>	30.4-44.6	21.8-31.5	4.9-9.4	forma de gota	Corea y Japón	Han <i>et al.</i> (2016)
	44.2 a 55.3	28.8 - 38.8	5 a 6	Célula en forma de gota	Bahía de La Paz, México.	Villa-Arce <i>et al.</i> (2021)

### 8.1.8 *Prorocentrum norrisianum*

En *Prorocentrum norrisianum* se reportan tamaños celulares que van de 14 a 25 µm de largo y de 10 a 16 µm de ancho (Faust, 1997; Mohammad-Noor *et al.*, 2004; Hoppenrath *et al.*, 2014). Por otro lado, las cepas identificadas como *Prorocentrum cf. norrisianum* presentan células de mayor tamaño, que van de 20 a 37 µm de largo y de 20 a 26 µm de ancho (Chomérat *et al.*, 2019). Una de las características importantes para diferenciar a *P. norrisianum* de *P. cassubicum* es el tamaño celular, siendo significativamente más pequeñas las células de *P. norrisianum* (Tabla IX). La diferencia de tamaños de las células es contundente a nivel específico. No obstante, existe discrepancia entre los tamaños que reportan para *P. cf. norrisianum* ya que las medidas corresponden a las descritas para *P. cassubicum* (véase Tabla IX).

Otra característica para distinguir entre estas dos especies son las placas apicales, *P. cassubicum* presenta placas curvadas mientras que las de *P. norrisianum* son rectangulares a curvas (Faust, 1997). Otra especie que suele confundirse con *P. norrisianum* es *P. lima*, sin embargo, esta última es más grande con tamaños que van de 30 a 57  $\mu\text{m}$  de largo y de 21 a 26  $\mu\text{m}$  de ancho (Nava-Ruiz & Valadez Cruz, 2012; Hoppenrath *et al.*, 2014).

En la Bahía de La Paz, Villa-Arce (2021) reportó a *P. cassubicum*, esto con las características morfológicas y la secuencia de la región 28S del ADNr de la cepa s/i 44. La única diferencia entre la cepa de este estudio (BAPAZ) y la cepa s/i 44 fueron los tamaños celulares (véase Tabla IX). Por lo anterior, se solicitó el material biológico empleado por Villa-Arce (2021) para su revisión, dicha cepa presentó tamaños inferiores a lo que originalmente reportó la autora (Tabla IX).

Al realizar la reconstrucción filogenética con secuencias de la región 28S del ADNr, la secuencia de la cepa s/i 44 y la cepa BAPAZ (de este estudio) se agruparon dentro de un clado con soportes de *bootstrap* del 100%. Los análisis filogenéticos indican que ambas cepas pertenecen a la misma especie. Teniendo como premisa lo anterior, se logró amplificar la región ITS para la cepa s/i 44. La reconstrucción filogenética de dicha región mostró un clado que incluía dicha secuencia con secuencias de *P. cassubicum* (EU927557) y *Prorocentrum* sp. (FJ160593) con valores de *bootstrap* del 100%. Es importante remarcar que en la base de datos del GenBank no existen secuencias de *P. norrisianum* y *P. cf. norrisianum*, por lo que resultados de esta región podrían estar sesgados dado la falta de estas secuencias, por ende, deben ser tomados con medida.

Considerando lo anterior, la morfología y el análisis molecular realizado en este estudio indican que ambas cepas pertenecen a la misma especie, y siendo morfológicamente similares a *P. norrisianum*. Entre los resultados que se destacan se encuentra que ambas cepas se separan de secuencias del GenBank identificadas como *P. cf. cassubicum*, *P. cassubicum* y *P. cf. norrisianum*. La diferencia de las secuencias s/i 44 y BAPAZ de *P. cf. cassubicum*, *P. cassubicum* es congruente con lo que se observa en su morfología, por otro lado, que ambas cepas formen un subclado dentro del grupo de secuencias de *P. cf. cassubicum* podría indicar que dichas secuencias están mal identificadas y que muy probablemente pertenecen a *P. norrisianum*.

**Tabla IX.** Morfometría de *Prorocentrum cassubicum* y *Prorocentrum norrisianum* de distintas áreas geográficas. Las medidas que concuerdan con lo reportado en este estudio se indican con un asterisco rojo.

Especie	Largo (µm)	Ancho (µm)	Sitio	Referencia
<i>P. norrisianum</i>	20-25	13-16	Belice	Faust (1997)
	14-18	10 a 12	Malasia	Mohammad-Noor <i>et al.</i> , (2004)*
	20-25	11 a 16	Malasia	Al-Has & Mohammad-Noor (2011)*
	14-25	10 a 16	SD	Hoppenrath <i>et al.</i> (2014)*
<i>P. cf. norrisianum</i>	31-37	20 a 26	Mar Caribe	Chomérat <i>et al.</i> (2019)
<i>P. norrisianum</i>	14.66-20.36	9.86-13.73	Bahía de La Paz, México.	<b>Este estudio</b>
<i>P. cassubicum</i>	22-25	13-16	Woods Hole, Massachusetts, EUA.	Dodge & Bibby (1973)
	21-37.5	16.8-27.5	Cancún, Quintana Roo, México.	Nava-Ruiz & Valadez Cruz (2012)
<i>P. cf. cassubicum</i> (s/i 44)	26.56 - 34.79	18.56 - 25.95	Bahía de La Paz, México.	Villa-Arce (2021)
Revisión: cepa s/i 44	16.76 - 21.42	10.92 - 14.52	Bahía de La Paz, México.	<b>Este estudio</b>

### 8.1.9 *Prorocentrum triestinum*

Desde las primeras descripciones de *Prorocentrum triestinum* y *P. redfieldii* hubo problemas para diferenciar estas dos especies. Sin embargo, Tillmann *et al.* (2022) observaron diferencias entre estas dos especies, ambas se diferencian por la forma de las células, el tamaño de estas y el largo de la espina apical. Los tamaños celulares reportados en este estudio concuerdan con lo reportado para *P. triestinum*, ya que la especie puede presentar un largo que va de 20.1 a 25.8 µm y de 10.9 a 15.6 µm de ancho (Tillmann *et al.*, 2022). Contrario a lo anterior, las células de *P. redfieldii* son más delgadas y largas, teniendo un largo de 21 a 36 µm y un ancho de 7.2 a 14 µm (Tillmann *et al.*, 2022). La espina apical de *P. triestinum* no sobrepasa las 3 µm de largo (Tillmann *et al.*, 2022), concordando con el tamaño de la espina apical de este estudio que fue 0.9 a 2.8 µm de largo. Mientras que *P. redfieldii* presenta un largo de espina apical miden de 3.1 a 6.7 µm (Tillmann *et al.*, 2022). La problemática entre estas dos especies se debió a contradicciones en las primeras descripciones de Schiller (1928), a las interpretaciones de éstas debido a la terminología empleada en esos años y a una posible variación morfológica que originó a creer que estas dos especies eran sinónimas.

Actualmente *P. redfieldii* aparece como sinónima de *P. triestinum* en la base de datos de WoRMS (por sus siglas en inglés, World Register of Marine Species). Esto podría justificar por qué en los árboles filogenéticos ambas especies no presentan una separación o que actualmente dichas secuencias se encuentren mal identificadas y que solo pertenezcan a una sola especie. En este estudio, las características morfológicas como el tamaño celular y el tamaño de la espina apical fueron determinantes para diferenciar a *P. triestinum* de *P. redfieldii*.

#### 8.1.10 *Prorocentrum concavum*

El tamaño de esta especie *Prorocentrum concavum* puede ir de 36 a 55  $\mu\text{m}$  de largo y de 31 a 48  $\mu\text{m}$  de ancho (Hoppenrath *et al.*, 2014; Morquecho *et al.*, 2016; Luo *et al.*, 2017; Lim *et al.*, 2019; Verma *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2022), estas medidas concuerdan con lo que se reporta en las cepas de este estudio. Una especie similar a *P. concavum* es *P. faustiae*, sin embargo, solo hay una secuencia publicada en el Genbank y no corresponde a las regiones del ADNr que fueron analizadas. Por otro lado, en la base de datos de Algaebase dicha especie se encuentra como sinónimo de *P. concavum* (Guiry & Guiry, 2022). Lo anterior, debido a que ambas especies presentan las mismas características respecto a la superficie de las valvas, la presencia de un pirenoide y el número de placas periflagelares (Hoppenrath *et al.*, 2014). Morton (1998) reportó un tamaño celular ligeramente más grande en *P. faustiae*, siendo la única característica que diferenciaba a estas dos especies. Sin embargo, después Mohammad-Noor *et al.* (2007) y Chomérat *et al.* (2019) ampliaron el tamaño celular en *P. concavum* concordando con reportes anteriores en especímenes de identificados como *P. faustiae*. Aunado a lo anterior, Chomérat *et al.* (2019) no encontraron diferencias significativas genéticas en secuencias de *P. concavum* y *P. faustiae*.

*Prorocentrum concavum* también se diferencia de su especie filogenéticamente más cercana *P. leve*, por tener la placa pf elíptica mientras que en *P. leve* esta placa es ovalada (Lim *et al.*, 2019). Tomando en cuenta la información anterior, en este estudio las cepas RP3 y B7 fueron identificadas como *P. concavum*, por su morfología y la información molecular. Las secuencias de las cepas RP3 y B7 de las regiones 5.8S e ITS del ADNr, respectivamente, formaron clados con secuencias de China.

Uno de los procesos de la reproducción observados fue la unión de células en el área periflagelar. Este comportamiento se ha reportado en *P. emarginatum*, *P. levis* y *P. malayensis* (Aligizaki *et al.*, 2009; Lim *et al.*, 2019; Verma *et al.*, 2019). Por otro lado, las deformaciones celulares con áreas oscuras son indicativas del inicio de la reproducción (Aligizaki *et al.*, 2009).

#### 8.1.11 *Prorocentrum rhathymum*

El tamaño de las células en este estudio fue de 27 a 42  $\mu\text{m}$  de largo y de 16 a 31  $\mu\text{m}$  de ancho, concordando con los reportado en la literatura para *Prorocentrum rhathymum* (Fukuyo, 1981; Aligizaki *et al.*, 2009; Gul & Saifullah, 2011a, 2011b; Laza-Martínez *et al.*, 2011; Morquecho *et al.*, 2017; Luo *et al.*, 2017; Chomérat *et al.*, 2019; Tabla X). La especie presenta gran similitud con *P. mexicanum*, sin embargo, algunos autores consideran que esta especie presenta cinco diferencias principales: en vista sagital las células se observan elipsoidales, espina apical desarrollada con crestas, poros de tricocistos en la zona apical en ambas valvas, presencia de pirenoide, banda intercalar angosta comprada con *P. rhathymum* y con hábitat principalmente plantónica (Cortés-Altamirano & Sierra-Beltrán, 2003; Villa-Arce, 2021). La descripción de Cortés-Altamirano & Sierra-Beltrán (2003) sobre la espina apical ramificada o crestas es cuestionable, debido a que no se ha vuelto observar algo similar en otros estudios.

Una de las características morfológicas que se reporta en la literatura son las agrupaciones de miniporos, pudiendo observar de 2 a 5 miniporos agrupados (Laza-Martínez *et al.*, 2011; Chomérat *et al.*, 2019; Villa-Arce, 2021). En este estudio se reportan de 2 a 4 agrupaciones de miniporos, corroborando que dicho carácter es variable.

Las secuencias de la región 28S del ADNr de cepas de Florida han separado a *P. mexicanum* y *P. rhathymum* en dos clados distintos (An *et al.*, 2010). Por otro lado, cepas de Corea y del Mar Caribe (Isla Martinica y Puerto Rico) no han permitido una separación entre estas dos especies con secuencias de la región de la subunidad larga e ITS del ADNr (Lim *et al.*, 2013; Gómez *et al.*, 2017; N. Chomérat *et al.*, 2019). En el estudio de Gómez *et al.*, (2017) los análisis morfológicos, filogenéticos y bibliográficos exhaustivos, permitieron encontrar incongruencias en las descripciones previas. Por ejemplo, hallaron que en la descripción de *P. mexicanum* por Cortés-Altamirano y Sierra-Beltrán (2003) corresponde a *Prorocentrum texanum* var. *cuspidatum*. Además, observaron que Cohen-Fernández *et al.*

(2010) identificaron a *P. mexicanum*, teniendo como evidencia que las imágenes de microscopía electrónica de barrido correspondían a *P. rhathymum*. Por otro lado, en los análisis filogenéticos donde incluyeron secuencias globales de *P. rhathymum* y *P. mexicanum* dichas secuencias se entremezclaban. Lo mismo ocurrió con las secuencias de las regiones 5.8S y 28S del ADNr de este estudio.

Tomando en cuenta los estudios más recientes (Lim *et al.*, 2013; Gómez *et al.*, 2017; Chomérat *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2022), donde se empieza a manejar a estas dos especies como sinónimas, y con los resultados obtenidos en este estudio se llega a la conclusión de que podría tratarse de una misma especie o un complejo. Tomando en cuenta que *P. mexicanum* fue descrito en 1942 antes que *P. rhathymum* quien fue descrito en 1979, tiene prioridad sobre este último, siendo un sinónimo menor. No obstante, es necesario que los taxónomos expertos lleguen a un acuerdo para precisar si se trata de especies distintas o de una especie que puede estar presente en los dos tipos de hábitats, bentónico y planctónico.

**Tabla X.** Morfometría del complejo *Prorocentrum rhathymum/P. mexicanum*. SD= sin dato.

Especie	Largo	Ancho	Forma celular	Pirenoide	Tipos de poros	Lugar	Referencia
<i>P. mexicanum</i>	48	32	oval	SD	SD	Golfo de California	Gárate-Lizárraga & Martínez-López (1997)
	36-42	24-31	oval	Presente, central y redondo	2	Salina Cruz, Oaxaca, México	Cortés-Altamirano & Sierra-Beltrán (2003)
	29-35	20-26	elíptica	No perceptible	2	Malasia	Lim <i>et al.</i> (2019)
	26-36	17-23	oblonga	SD	2	Tailandia	Wu <i>et al.</i> (2022)
<i>P. rhathymum</i>	24-36	17-28	oval a oblonga	Ausente	3	Ensenada La Paz y El Tecolote, La Paz, B.C.S.	<b>Este estudio</b>
	38-40	22-25	elipsoidal a oval	Ausente	2	Nueva Caledonia e islas Nansei	Fukuyo (1981)
	28-33	18-23	oval a oblonga	presente	2	Malasia	Mohammad-Noor <i>et al.</i> (2007)
	27-33	19-23	oval a oblonga	Ausente	1	Grecia	Aligizaki <i>et al.</i> (2009)
	30-40	18-24	oval	SD	1	Mar Árabe	Gul & Sailfullah (2011)
	30-38	21-26	oval	Ausente	3	Vizcaya, España	Laza-Martínez <i>et al.</i> (2011)
	28-48	18-32	oval a oblonga	Ausente	3	A nivel mundial	Hoppenrath <i>et al.</i> (2013; 2014)



<i>P. mexicanum</i> / <i>P. rhathymum</i>	29 a 38	19-24	oval a elipsoidal	No discernible	3	Puerto Rico	Gómez <i>et al.</i> (2017)
	31-34	23-27	oval a oblonga	Presente, en forma de anillo	3	Sányu, China	Luo <i>et al.</i> (2017)
<i>P. rhathymum</i>	28-35	18-25	oval a oblonga	SD	3	isla de Martinica	Chomérat <i>et al.</i> (2019)
	27-35	20-26	oval	Ausente	2	Yongxing, China	Zou <i>et al.</i> (2022)

### 8.1.12 *Symbiodinium natans* (Clado A)

El tamaño de las células vegetativas de *Symbiodinium natans* pueden ir de 9.5 a 11.5  $\mu\text{m}$  de largo, y de 7.4 a 9  $\mu\text{m}$  de ancho concordado con lo reportado en este estudio (Hansen & Daugbjerg, 2009; Lee *et al.*, 2015). La identificación morfológica y molecular actual es problemática, por lo que la diversidad del género no es clara. Las reconstrucciones filogenéticas con genes ribosomales (28S y 23S) y de cloroplastos (*psbA*) revelan clados evolutivamente divergentes, actualmente se reconocen alrededor de nueve clados principales (clado del A al I). Con el análisis de la región 28S, las cepas analizadas en este estudio se agrupan dentro del clado A, que está integrado por las especies: *S. microadriaticum*, *S. necroappetens*, *S. tridacnidarum*, *S. natans* y *S. linucheae* (Hansen & Daugbjerg, 2009; LaJeunesse *et al.*, 2018). Este clado incluye especies de vida libre como *S. pilosum* y *S. natans* (Yamashita & Koike, 2013; LaJeunesse *et al.*, 2015).

Una de las características morfológicas descriptivas para el grupo son el número, forma y posición de las placas anfiesmáticas, sin embargo, éstas no ayudan a una identificación específica ya que puede ser muy similar o diferente dentro y entre los grupos que componen los clados (Lee *et al.*, 2015; LaJeunesse *et al.*, 2018). Otros caracteres morfológicos anteriormente empleados fueron las formas y tamaños del pirenoide, cloroplastos y núcleo, sin embargo, en *Symbiodinium* estos caracteres son compartidos y no funcionan para diferenciar entre clados o subclados (Lee *et al.*, 2015). Solo existe un carácter de autapomorfía que es la reducción de una vesícula apical alargada pronunciada (acrobases o surco apical), característica presente en el clado C (LaJeunesse *et al.*, 2018). Por lo que dicha característica no es relevante en este estudio ya que la cepa pertenece al clado A, el cual carece de dicho carácter.

En cultivo se observaron células formando agrupaciones en tríadas y tétradas, lo que podría corresponder a la meiosis I y meiosis II de la reproducción sexual, respectivamente. Estos estados reproductivos ya han sido reportados por Figueroa *et al.*, (2021) (Fig. 53 L; 54 J-L; 55 H-J).

### 8.1.13 *Vulcanodinium rugosum*

Las células vegetativas observadas en este estudio presentan un tamaño ligeramente menor a lo reportado en otros estudios (véase Tabla XI). Variaciones en los tamaños celulares han sido discutidos por Hernández-Becerril *et al.* (2013), debido a que sus reportes son mayores, atribuyéndolo a la plasticidad fenotípica de los aislados a las condiciones ambientales en las áreas geográficas donde fueron recolectados los especímenes.

*Vulcanodinium rugosum* presenta similitud con otros grupos como, por ejemplo, *Bysmatrum* y *Scrippsiella*. Sin embargo, se diferencia de estos géneros por la forma de la primera placa apical (1'), la cual es estrecha y alargada, y por el poro apical que es mucilaginoso (Hernández-Becerril *et al.*, 2013; Garret *et al.*, 2014). Otras características importantes para la identificación son las formas de las placas intercalares, sin embargo, en este estudio no se pudieron obtener las suficientes células móviles para analizar dicha característica. Aunado a lo anterior, el ciclo de vida de *V. rugosum* es importante para su identificación, el cual está dominado por una fase de quistes reproductivos (Zeng *et al.*, 2012; Garret *et al.*, 2014). Otra manera de identificar a la especie es por medio del perfil de toxinas, actualmente *V. rugosum* es el único productor de pinnatoxinas y portiminas (Moreira-González *et al.*, 2021). En estudios posteriores se recomienda realizar el perfil de toxinas para corroborar su identificación.

Las células móviles se dividen por fisión binaria, pasando a un estadio no móvil después de las 24 h (Zeng *et al.*, 2012), en los cultivos de este estudio después de los 20 días se pasaba a una ausencia casi total de las células vegetativas. Las células no móviles maduran con pared lisa y no siempre liberan células móviles (Zeng *et al.*, 2012), sin embargo, con microscopía electrónica de barrido pudo observarse dicha liberación. Estas células no móviles experimentan sucesivas divisiones hasta formar racimos (Hernández-Becerril *et al.*, 2013; Morquecho *et al.*, 2016), lo cual también se observa en este estudio (Figs. 57, 58). Lo documentado en la presente investigación nos da la pauta para sugerir que la especie presenta

diferentes quistes reproductivos (células no móviles), aquellos que desarrollan una pared delgada (quistes en reposo) y quistes de resistencia que presentan una pared significativamente gruesa en los que también se da la división, pero de manera más esporádica.

La etapa no móvil podría representar una estrategia de dispersión para dicha especie, ya que estas células han sido recuperadas de tanques de lastre en buques de transporte marítimo, además, están relacionadas con florecimientos en condiciones extremas de temperatura (Garrett *et al.*, 2014; Moreira-González *et al.*, 2021). Por lo que sería importante el monitoreo de esta especie y sus posibles fuentes de distribución en los diferentes mares debido a la toxicidad que presentan (véase apartado de Toxicidad).

En este estudio, aunque se logró extraer ADN genómico de alto peso molecular, no se logró su amplificación con los marcadores utilizados en otros grupos de dinoflagelados. Esto posiblemente se debió a que la cepa B2 constantemente produce quistes reproductivos con una pared gruesa, dificultando la extracción de suficiente ADN para la amplificación. En estudios donde se ha empleado la identificación molecular, las cepas estudiadas presentan altas abundancias de células móviles, lo que facilita llevar a cabo procesos para la amplificación del ADN (Rhodes *et al.*, 2011 a, b; Zeng *et al.*, 2012; Garrett *et al.*, 2014; Moreira-González *et al.*, 2020).

Las cepas de *V. rugosum* de diferentes zonas geográficas difieren entre sí en las regiones de la subunidad larga (iniciadores: D1R y D3B; D1R y D2C), la región 5.8S, y las regiones del ITS1 e ITS2 del ADNr (iniciadores: ITSA y ITSB; ITSF2 e ITSr2) (Rhodes *et al.*, 2011 a, b; Zeng *et al.*, 2012; Garrett *et al.*, 2014; Moreira-González *et al.*, 2020). Existen algunas cepas que presentan gran similitud como las de China y Australia, por lo que es necesario el uso de marcadores con tasas evolutivas altas como el ITS para diferenciar estos complejos (Zeng *et al.*, 2012). Con estos antecedentes se seguirá trabajando con las herramientas moleculares para complementar la información morfológica actual.

**Tabla XI.** Morfometría de aislados de *Vulcanodinium rugosum*. NM= no móviles, SD= Sin dato.

Referencia	Células móviles		Células NM	Sitio
	Largo (µm)	Ancho (µm)	Diámetro (µm)	
<b>Este estudio</b>	18.8 a 31.7	16.5 a 27.5	18.1 a 47.4	Bahía de La Paz, México
Nézan & Chomérat (2011)- Primer registro	24 a 30	24 a 30	SD	Mar Mediterráneo
Smith <i>et al.</i> (2011)	20.8 a 31.9	17.2 a 28.0	21.8 a 35.9	Japón
Rhodes <i>et al.</i> (2011)	24 a 32	20 a 30	SD	Australia, Nueva Zelanda y Japón
Zeng <i>et al.</i> (2012)	22.5 a 32.5	20 a 30	25 a 35	China
Hernández-Becerril <i>et al.</i> (2013)	35 a 37.5	22.5 a 25	22.5 a 50	Michoacán, México
Garret <i>et al.</i> (2014)	25 a 31	20 a 25	25 a 37	Florida, EUA
Moreira-González <i>et al.</i> (2021)	22 a 31	18 a 27	SD	Cuba

## 8.2 Observaciones en cultivo

El proceso de ecdisis celular observado en diferentes cultivos de *Ostreopsis* y *Coolia*, puede estar relacionado con estrés en las células por deficiencia de nutrientes (Accoroni & Totti, 2016). Este estrés celular se puede revelar con la presencia de cuerpos redondeados translucidos con acumulación de lípidos y cuerpos rojizos de acumulación de clorofila, los cuales fueron observados en este estudio (Accoroni *et al.*, 2014). Por lo que se recomienda realizar estudios sobre los requerimientos de los dinoflagelados epibentónicos para poder mantener estos en cultivo. A pesar de que no fue el objetivo de este estudio, al buscar las condiciones óptimas de cultivo para sobrevivencia de los aislados se observó que el medio K proporciona un mejor crecimiento en cepas de *Ostreopsis* y *Gambierdiscus*. Así mismo, para mantener los aislados *V. rugosum* se tuvo que recurrir a cambios de salinidad (32, 34 y 36) y temperatura (24 y 30 °C) que comúnmente se emplean en el cultivo de dinoflagelados (34 y 24 °C) del laboratorio de docencia 1 del IPN-CICIMAR. Lo anterior, permitió que los quistes germinarán y así obtener células móviles, las cuales presentan características morfológicas que ayudaron a su identificación.

Otras consecuencias de condiciones no adecuadas en el cultivo suelen ser los cambios en las formas comunes de las células. En este estudio, algunas células de *Ostreopsis* y *Gambierdiscus* mostraron deformaciones, esto ya ha sido reportado para la especie *O. ovata* por Nascimento *et al.* (2012). Las variaciones en los tamaños pueden deberse a las

condiciones de cultivo como la temperatura, salinidad, luz, deficiencia de nutrientes preferencia por el medio de cultivo, por el límite espacial del recipiente en que se les mantiene y por el tipo de material de este último. Un ejemplo de lo anterior se observó en las cepas de *Ostreopsis*, las cuales crecieron mejor en frascos de cultivo celular con tapas de ventilación, disminuyendo el estrés y por lo tanto las deformaciones en las células. Las deformaciones celulares también pueden deberse a los estados reproductivos (Dolapsakis *et al.*, 2006; Herrera-Herrera, 2022).

En cultivo se observaron parásitos extracelulares en especies como *P. koreanum* y *P. concavum*. El trofozoíto observado en este estudio puede ser *Dinomyces arenysensis* (Jephcott *et al.*, 2016). Lo anterior, debido a la forma en la que parasita, ya que lo hace de manera extracelular. La forma de dicho parásito que es circular a oblonga, cuando el esporangio es maduro generalmente es del tamaño de la célula, tal como se observó en *P. koreanum*. Dicho parásito fue poco recurrente en los cultivos y no afectó la viabilidad de estos.

Este estudio contribuye al conocimiento de las especies de dinoflagelados epibentónicos toxigénicos y nocivos que ocurren en el Golfo de California. La mayoría de las especies reportadas en este estudio producen toxinas (Anexo IV), en algunas especies como *P. cf. norrisianum*, *P. koreanum* y *P. triestinum* no existen estudios sobre su toxicidad, sin embargo, en *P. triestinum* se han reportado FAN que causan la mortalidad de peces por anoxia (Anexo IV). En el caso de los dinoflagelados toxigénicos como *A. carterae*, *C. malayensis*, *G. carpenteri*, *O. ovata*, *P. rhathymum* y *V. rugosum*, es importante realizar estudios detallados en las cepas de este estudio sobre qué toxinas producen, para que se les considere dentro de los planes de monitoreo de fitoplancton tóxico.

Finalmente, con este estudio se logró esclarecer las características morfológicas de la especie *P. triestinum*, antes identificada como *P. redfieldii* y viceversa. Otro registro destacado es el reporte de *G. carpenteri*, que incluye de manera detallada su morfología y un análisis molecular completo que corrobora la presencia de esta especie en el Golfo de California. Aunado a lo anterior, se reporta por primera vez a *P. norrisianum* para la Bahía de La Paz, México.

## 9. CONCLUSIONES

La integración de las herramientas morfológicas, moleculares y las observaciones en cultivo permitieron corroborar la identificación taxonómica de 13 especies. La mayoría de estas especies ya han sido reportadas en el Golfo de California, a excepción de *Prorocentrum* cf. *norrisianum*. Con este trabajo se logró dilucidar las diferencias entre *P. micans* y *P. koreanum*, *P. triestinum* y *P. redfieldii*, y entre *P. cassubicum* y *P. norrisianum*. En algunos complejos fue difícil aclarar la problemática taxonómica, como es el caso de *Prorocentrum norrisianum*/*Prorocentrum cassubicum* y el complejo *P. mexicanum*/*P. rhathymum*. No obstante, en este estudio las cepas s/i 44 y BAPAZ fueron identificadas como *P. norrisianum* debido a las características morfométricas de las células.

El análisis de los estados reproductivos en especies poco conocidas puede ser de utilidad para su identificación, *V. rugosum* es un buen ejemplo de ello, ya que presenta características particulares en su ciclo de vida. La presencia de dos fases, una móvil y otra inmóvil. La primera fase, donde las células vegetativas presentan una placa apical (1') inconfundible. Mientras que la fase inmóvil, se identifica por quistes no ornamentados, reproductivos que se dividen hasta formar racimos celulares de múltiples células hijas.

Los marcadores moleculares de las tres regiones del ADNr permitieron confirmar la identidad taxonómica de 11 especies, concordando con los datos obtenidos con técnicas de microscopía. Se generaron las primeras secuencias de las regiones 5.8S, 28S y ITS del ADNr de *O. lenticularis*, *O. ovata*, *G. carpenteri*, *P. concavum* y *P. norrisianum* para México.

## 10. REFERENCIAS

- Abadie, E., Muguet, A., Berteaux, T., Chomérat, N., Hess, P., Roque D'OrbCastel, E., Masseret, E., & Laabir, M. (2016). Toxin and growth responses of the neurotoxic dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* to varying temperature and salinity. *Toxins*, 8(5): 136. <https://doi.org/10.3390/toxins8050136>
- Accoroni, S., & Totti, C. (2016). The toxic benthic dinoflagellates of the genus *Ostreopsis* in temperate areas: a review. *Advances in Oceanography and Limnology*, 7(1). <https://doi.org/10.4081/aiol.2016.5591>
- Accoroni, S., Percopo, I., Cerino, F., Romagnoli, T., Pichierri, S., Perrone, C., & Totti, C. (2015). Allelopathic interactions between the HAB dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* and macroalgae. *Harmful Algae*, 49: 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.08.007>
- Accoroni, S., Romagnoli, T., Pichierri, S., & Totti, C. (2014). New insights on the life cycle stages of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata*. *Harmful Algae*, 34: 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.02.003>
- Adachi, M., Sake, Y., & Ishida, Y. (1996). Analysis of *Alexandrium* (dinophyceae) species using sequences of the 5.8S ribosomal DNA and internal transcribed spacer regions. *Journal of Phycology*, 32(3): 424–432. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1996.00424.x>
- Afonso-Carrillo, J. (2014). *Lista actualizada de las algas marinas de las islas Canarias, 2014*.
- Aguilar, A., Okolodkov, Y., C., M.-V., Osorio, I., & Silveira, J. (2014). *Variación espacial de dinoflagelados bentónicos/epifíticos en aguas costeras del norte de Yucatán (agosto de 2011)* (pp. 147–160).
- Al-Has, A., & Mohammad-Noor, N. (2011). Identification of marine sand-dwelling dinoflagellates in Dinawan Island, Sabah. *Borneo Science*, 28(1): 37–45.
- Aligizaki, K., Nikolaidis, G., Katikou, P., Baxevanis, A. D., & Abatzopoulos, T. J. (2009). Potentially toxic epiphytic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species in Greek coastal waters. *Harmful Algae*, 8(2): 299–311. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2008.07.002>
- Almazán-Becerril, A. (2021). *Dinoflagelados bentónicos del Arrecife Mesoamericano: Caribe Mexicano*.
- Almazán-Becerril, A., Escobar-Morales, S., Rosiles-González, G., & Valadez, F. (2015). Benthic-epiphytic dinoflagellates from the northern portion of the Mesoamerican Reef System. *Botanica Marina*, 58(2): 115–128. <https://doi.org/10.1515/bot-2014-0093>

- Al-Qassab, S., Lee, W. J., Murray, S. A., Simpson, A. G. B., & Patterson, D. J. (2002). Flagellates from stromatolites and surrounding sediments in Shark Bay, Western Australia. *Acta Protozoologica*, 41.
- Amzil, Z., Sibat, M., Chomerat, N., Grosseil, H., Marco-Miralles, F., Lemee, R., Nezan, E., & Sechet, V. (2012). Ovatoxin-a and Palytoxin accumulation in seafood in relation to *Ostreopsis* cf. *ovata* blooms on the French Mediterranean Coast. *Marine Drugs*, 10(12): 477–496. <https://doi.org/10.3390/md10020477>
- An, T., Winshell, J., Scorzetti, G., Fell, J. W., & Rein, K. S. (2010). Identification of okadaic acid production in the marine dinoflagellate *Prorocentrum rhathymum* from Florida Bay. *Toxicon*, 55(2–3): 653–657. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.08.018>
- Aquino-Cruz, A., & Okolodkov, Y. B. (2016). Impact of increasing water temperature on growth, photosynthetic efficiency, nutrient consumption, and potential toxicity of *Amphidinium* cf. *carterae* and *Coolia monotis* (Dinoflagellata). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 51(3): 565–580. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572016000300008>
- Arbelaez M., N., Mancera Pineda, J. E., & Reguera, B. (2017). Dinoflagelados epífitos de *Thalassia testudinum* en dos sistemas costeros del Caribe colombiano. *Bulletin of Marine and Coastal Research*, 46(2). <https://doi.org/10.25268/bimc.invemar.2017.46.2.725>
- Assunção, P., & Portillo, E. (2018). Cysts, germination and other findings in *Gambierdiscus* spp.
- Ataka, T., Funaki, H., Yamaguchi, H., & Adachi, M. (2021). Effect of adding macroalgal extracts on the growth of *Gambierdiscus scabrosus* and *G. silvae* isolated from Japan.
- Band-Schmidt, C., Bustillos-Guzmán, J., López-Cortés, D., Núñez-Vázquez, E., & Hernández Sandoval, F. (2011). El estado actual del estudio de florecimientos algales nocivos en México. *Hidrobiológica*, 21: 381–413.
- Barranguet, C. 1997. (1997). The role of microphytobenthic primary production in a Mediterranean mussel culture area. *Estuarine, Coastal & Shelf Science*, 44: 753–765.
- Blackburn, S. I., Bolch, C. J. S., Haskard, K. A., & Hallegraeff, G. M. (2001). Reproductive compatibility among four global populations of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae). *Phycologia*, 40(1): 78–87. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-40-1-78.1>
- Blanfuné, A., Boudouresque, C. F., Grosseil, H., & Thibaut, T. (2015). Distribution and abundance of *Ostreopsis* spp. and associated species (Dinophyceae) in the northwestern Mediterranean: the region and the macroalgal substrate matter. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(16): 12332–12346. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4525-4>



- Borsato, G. T., Salgueiro, F., da Silva, C. G. T., Menezes-Salgueiro, A. D., & Nascimento, S. M. (2020). *Ostreopsis lenticularis* Y. Fukuyo (Dinophyceae, Gonyaulacales) from the South Atlantic Ocean: morphological and molecular characterization. *Marine Pollution Bulletin*, 158: 111441. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111441>
- Bouquet, A., Felix, C., Masseret, E., Reymond, C., Abadie, E., Laabir, M., Rolland, J.L. 2023. Artificial substrates coupled with qPCR (AS-qPCR) assay for the detection of the toxic benthopelagic dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum*. *Toxins*, 15(3): 217. <https://doi.org/10.3390/toxins15030217>
- Bravo, I., Vila, M., Casabianca, S., Rodriguez, F., Rial, P., Riobó, P., & Penna, A. (2012). Life cycle stages of the benthic palytoxin-producing dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 18, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2012.04.001>
- Brissard, C., Herrenknecht, C., Séchet, V., Hervé, F., Pisapia, F., Harcouet, J., Lémée, R., Chomérat, N., Hess, P., & Amzil, Z. (2014). Complex toxin profile of French Mediterranean *Ostreopsis* cf. *ovata* strains, seafood accumulation and ovatoxins prepurification. *Marine Drugs*, 12(5): 2851–2876. <https://doi.org/10.3390/md12052851>
- Burki, F., Imanian, B., Hehenberger, E., Hirakawa, Y., Maruyama, S. & Keeling, P.J. 2014. Endosymbiotic gene transfer in tertiary plastid-containing dinoflagellates. *Eukaryotic Cell*, 13(2): 246–255. <https://doi.org/10.1128/EC.00299-13>
- Bustillos-Guzmán, J. J., Band-Schmidt, C. J., Durán-Riveroll, L. M., Hernández-Sandoval, F. E., López-Cortés, D. J., Núñez-Vázquez, E. J., Cembella, A., & Krock, B. (2015). Paralytic toxin profile of the marine dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* Graham from the Mexican Pacific as revealed by LC-MS/MS. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1–14. <https://doi.org/10.1080/19440049.2014.1000978>
- Cagide, E., Louzao, M. C., Espiña, B., Ares, I. R., Vieytes, M. R., Sasaki, M., Fuwa, H., Tsukano, C., Konno, Y., Yotsu-Yamashita, M., Paquette, L. A., Yasumoto, T., & Botana, L. M. (2011). Comparative cytotoxicity of gambierol versus other marine eurotoxins. *Chemical Research in Toxicology*, 24(6), 835–842. <https://doi.org/10.1021/tx200038j>
- Carballeira, N. M., Emiliano, A., Sostre, A., Restituyo, J. A., González, I. M., Colon, G. M., Tosteson, C. G., & Tosteson, T. R. (1998). Fatty acid composition of bacteria associated with the toxic dinoflagellate *Ostreopsis lenticularis* and with caribbean *Palythoa* species. *Lipids*, 33(6): 627–632. <https://doi.org/10.1007/s11745-998-0249-z>
- Carnicer, O., Okolodkov, Y. B., Garcia-Altres, M., Keith, I., Andree, K. B., Diogène, J., & Fernández-Tejedor, M. (2020). *Ostreopsis* cf. *ovata* and *Ostreopsis lenticularis* (Dinophyceae: Gonyaulacales) in the Galapagos Marine Reserve. *Scientia Marina*, 84(3): 199. <https://doi.org/10.3989/scimar.05035.08A>
- Cembella, A. D., Durán-Riveroll, L. M., Tarazona-Janampa, U. I., Okolodkov, Y. B., García-Sandoval, R., Krock, B., Hörstmann, C., & John, U. (2021). Phylogeography and

- diversity among populations of the toxigenic benthic Dinoflagellate *Prorocentrum* from coastal Reef Systems in Mexico. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.716669>
- Chomérat, N., Antajan, E., Auby, I., Bilien, G., Carpentier, L., Casamajor, M.-N. de, Ganthy, F., Hervé, F., Labadie, M., Méteigner, C., Paradis, C., Perrière-Rumèbe, M., Sanchez, F., Séchet, V., & Amzil, Z. (2022). First characterization of *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyceae) and detection of ovatoxins during a multispecific and toxic *Ostreopsis* bloom on French Atlantic Coast. *Marine Drugs*, 20(7): 461. <https://doi.org/10.3390/md20070461>
- Chomérat, N., Bilien, G., & Zentz, F. (2019). A taxonomical study of benthic *Prorocentrum* species (Prorocentrales, Dinophyceae) from Anse Dufour (Martinique Island, eastern Caribbean Sea). *Marine Biodiversity*, 49(3): 1299–1319. <https://doi.org/10.1007/s12526-018-0913-6>
- Chomérat, N., Bilien, G., Derrien, A., Henry, K., Ung, A., Viallon, J., Darius, H. T., Mahana iti Gatti, C., Roué, M., Hervé, F., Réveillon, D., Amzil, Z., & Chinain, M. (2019a). *Ostreopsis lenticularis* Y. Fukuyo (Dinophyceae, Gonyaulacales) from French Polynesia (South Pacific Ocean): A revisit of its morphology, molecular phylogeny and toxicity. *Harmful Algae*, 84: 95–111. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.02.004>
- CICESE. (2023, March 6). *Monitoreo de condiciones meteorológicas en Baja California Sur*. <https://Met-Bcs.Cicese.Mx/>.
- Ciminiello, P., Dell’Aversano, C., Iacovo, E. dello, Fattorusso, E., Forino, M., Tartaglione, L., Benedettini, G., Onorari, M., Serena, F., Battocchi, C., Casabianca, S., & Penna, A. (2014). First Finding of *Ostreopsis* cf. *ovata* Toxins in Marine Aerosols. *Environmental Science and Technology*, 48(6): 3532–3540. <https://doi.org/10.1021/es405617d>
- Claparède, R.-É., & Lachmann, J. (1859). *Études sur les infusoires et les rhizopodes* (Vol. 6). Mémoires de l’Institut National Genevois. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.29753>
- Cohen-Fernández, E., F. Pedroche, F., Rodríguez Palacio, M. C., Hernández, S., & del Castillo, M. (2010). Molecular phylogeny of *Prorocentrum* (Dinoflagellata) from the Pacific Coast of Mexico based on the parsimony analysis of fragments of LSUrDNA and SSUrDNA. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 2: 29–37.
- Cortés-Altamirano, R., & Sierra-Beltrán, A. P. (2003). Morphology and taxonomy of *Prorocentrum mexicanum* and reinstatement of *Prorocentrum rhathymum* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 39(1): 221–225. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.01112.x>
- Cortés-Lara, M. C., Cortés-Altamirano, R., Cupul-Magaña, A., Rodríguez-Nava, L. V., & Vega-Villasante, F. (2012). *Guía de Florecimientos Microalgales (2000-2011) Causantes de Mareas Rojas en la Bahía de Banderas Jalisco-Nayarit*. Universidad de Guadalajara.

- Cuddihy, S. L., Drake, S., Harwood, D. T., Selwood, A. I., McNabb, P. S., & Hampton, M. B. (2016). The marine cytotoxin portimine is a potent and selective inducer of apoptosis. *Apoptosis*, 21(12): 1447–1452. <https://doi.org/10.1007/s10495-016-1302-x>
- David, H., Laza-Martínez, A., Miguel, I., & Orive, E. (2013). *Ostreopsis* cf. *siamensis* and *Ostreopsis* cf. *ovata* from the Atlantic Iberian Peninsula: Morphological and phylogenetic characterization. *Harmful Algae*, 30: 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2013.08.006>
- de Palmas, S., Denis, V., Ribas-Deulofeu, L., Loubeyres, M., Woo, S., Hwang, S. J., Song, J. I., & Chen, C. A. (2015). *Symbiodinium* spp. associated with high latitude scleractinian corals from Jeju Island, South Korea. *Coral Reefs*, 34(3): 919–925. <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1286-y>
- Dickey, R. W., Bobzin, S. C., Faulkner, D. J., Bencsath, F. A., & Andrzejewski, D. (1990). Identification of okadaic acid from a Caribbean dinoflagellate, *Prorocentrum concavum*. *Toxicon*, 28(4): 371–377. [https://doi.org/10.1016/0041-0101\(90\)90074-H](https://doi.org/10.1016/0041-0101(90)90074-H)
- Dodge, J. D., & Bibby, B. T. (1973). The Prorocentrales (Dinophyceae): I. A comparative account of fine structure in the genera *Prorocentrum* and *Exuviaella*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 67(2): 175–187. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1973.tb01737.x>
- Dodge, J. D., & Hart-Jones, B. (1982). *Marine dinoflagellates of the British Isles*.
- Dolapsakis, N. P., Kilpatrick, M. W., Economou-Amilli, A., & Tafas, T. (2006). Morphology and rDNA phylogeny of a Mediterranean *Coolia monotis* (Dinophyceae) strain from Greece. *Scientia Marina*, 70(1), 67–76. <https://doi.org/10.3989/scimar.2006.70n167>
- Durán-Riveroll, L. M., Cembella, A. D., & Okolodkov, Y. B. (2019). A review on the biodiversity and biogeography of toxigenic benthic marine dinoflagellates of the coasts of Latin America. *Frontiers in Marine Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00148>
- Faust, M. (1992). Observations on the morphology and sexual reproduction of *Coolia monotis* (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 28(1): 94–104. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1992.00094.x>
- Faust, M. A. (1995). Observation of sand-dwelling toxic dinoflagellates (Dinophyceae) from widely differing sites, including two new species. *Journal of Phycology*, 31(6): 996–1003. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1995.00996.x>
- Faust, M. A. (1997). Three new benthic species of *Prorocentrum* (dinophyceae) from Belize: *P. norrisianum* sp. nov., *P. tropicalis* sp. nov., and *P. reticulatum* sp. nov. *Journal of Phycology*, 33(5): 851–858. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1997.00851.x>

- Figuerola, R. I., Howe-Kerr, L. I., & Correa, A. M. S. (2021). Direct evidence of sex and a hypothesis about meiosis in Symbiodiniaceae. *Scientific Reports*, *11*(1): 18838. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98148-9>
- Fraga, S., & Rodríguez, F. (2014). Genus *Gambierdiscus* in the Canary Islands (NE Atlantic Ocean) with description of *Gambierdiscus silvae* sp. nov., a new potentially toxic epiphytic benthic dinoflagellate. *Protist*, *165*(6): 839–853. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2014.09.003>
- Fraga, S., Penna, A., Bianconi, I., Paz, B., & Zapata, M. (2008). *Coolia canariensis* sp. nov. (Dinophyceae), a new nontoxic epiphytic benthic dinoflagellate from the Canary Islands. *Journal of Phycology*, *44*(4): 1060–1070. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00555.x>
- Fukuyo, Y. (1981). Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. *Nippon Suisan Gakkaishi*, *47*(8): 967–978. <https://doi.org/10.2331/suisan.47.967>
- Gárate-Lizárraga, I. (2012). Proliferation of *Amphidinium carterae* (Gymnodiniales: Gymnodiniaceae) in Bahía de La Paz, Gulf of California. *CICIMAR Oceanides*, *27*(2): 37–49. <https://doi.org/10.37543/oceanides.v27i2.115>
- Gárate-Lizárraga, I., & Martínez-López, A. (1997). Primer registro de una marea roja de *Prorocentrum mexicanum* (Prorocentraceae) en el Golfo de California. *Revista de Biología Tropical*, *45*: 1263.
- Gárate-Lizárraga, I., Band-Schmidt, C., Verdugo-Díaz, G., MS, M.-G., & Felix Pico, E. (2007). *Dinoflagelados (Dinophyceae) del Sistema Lagunar Magdalena-Almejas*. (pp. 145-175).
- Gárate-Lizárraga, I., González-Armas, R., & Okolodkov, Y. B. (2018). Occurrence of *Ostreopsis lenticularis* (Dinophyceae: Gonyaulacales) from the Archipiélago de Revillagigedo, Mexican Pacific. *Marine Pollution Bulletin*, *128*: 390–395. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.01.020>
- Gárate-Lizárraga, I., González-Armas, R., Verdugo-Díaz, G., Okolodkov, Y. B., Pérez-Cruz, B., & Díaz-Ortíz, J. A. (2019). Seasonality of the dinoflagellate *Amphidinium* cf. *carterae* (Dinophyceae: Amphidinales) in Bahía de la Paz, Gulf of California. *Marine Pollution Bulletin*, *146*: 532–541. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.06.073>
- Gárate-Lizárraga, I., Okolodkov, Y., & R., C.-A. (2016). *Microalgas formadoras de florecimientos algales en el Golfo de California* (pp. 130–145).
- García-Altare, M., Tartaglione, L., Dell’Aversano, C., Carnicer, O., de la Iglesia, P., Forino, M., Diogène, J., & Ciminiello, P. (2015). The novel ovatoxin-g and isobaric palytoxin (so far referred to as putative palytoxin) from *Ostreopsis* cf. *ovata* (NW Mediterranean Sea): structural insights by LC-high resolution MS<sup>n</sup>. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, *407*(4): 1191–1204. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8338-y>

- Garrett, M. J., Puchlutegui, C., Selwood, A. I., & Wolny, J. L. (2014). Identification of the harmful dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* recovered from a ballast tank of a globally traveled ship in Port Tampa Bay, Florida, USA. *Harmful Algae*, 39: 202–209. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.07.014>
- Geiger, M., Desanglois, G., Hogeveen, K., Fessard, V., Leprêtre, T., Mondeguer, F., Guitton, Y., Hervé, F., Séchet, V., Grovel, O., Pouchus, Y.-F., & Hess, P. (2013). Cytotoxicity, fractionation and dereplication of extracts of the dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum*, a producer of pinnatoxin G. *Marine Drugs*, 11(9): 3350–3371. <https://doi.org/10.3390/md11093350>
- Gémin, M.-P., Réveillon, D., Hervé, F., Pavaux, A.-S., Tharaud, M., Séchet, V., Bertrand, S., Lemée, R., & Amzil, Z. (2020). Toxin content of *Ostreopsis* cf. *ovata* depends on bloom phases, depth and macroalgal substrate in the NW Mediterranean Sea. *Harmful Algae*, 92: 101727. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.101727>
- Gómez, F. (2003). Checklist of Mediterranean free-living dinoflagellates. *Botanica Marina*, 46(3). <https://doi.org/10.1515/BOT.2003.021>
- Gómez, F., Qiu, D., & Lin, S. (2017). The synonymy of the toxic dinoflagellates *Prorocentrum mexicanum* and *P. rhathymum* and the description of *P. steidingeriae* sp. nov. (Prorocentrales, Dinophyceae). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 64(5): 668–677. <https://doi.org/10.1111/jeu.12403>
- Gómez, F., Qiu, D., Lopes, R. M., & Lin, S. (2017). Morphological and molecular characterization of the toxic dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyta) from Brazil (South Atlantic Ocean). *Revista de Biología Tropical*, 65(3): 1022. <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i3.29436>
- Gómez, F., Qiu, D., Otero-Morales, E., Lopes, R. M., & Lin, S. (2016). Circumtropical distribution of the epiphytic dinoflagellate *Coolia malayensis* (Dinophyceae): Morphology and molecular phylogeny from Puerto Rico and Brazil. *Phycological Research*, 64(3): 194–199. <https://doi.org/10.1111/pre.12134>
- Gómez-Lizárraga, L. E., Durán-Riveroll, L. M., & Pérez-López, H. I. (2019). Scanning electron microscopy preparation method for *Coolia* sp., a delicate dinoflagellate. *Microscopy and Microanalysis*, 25(S2): 1180–1181. <https://doi.org/10.1017/S1431927619006639>
- González, A. M. (2014). *Ostreopsis ovata* Fukuyo y *O. siamensis* Schmidt, dos nuevos registros de dinoflagelados bentónicos tóxicos para Cuba. *Revista de Investigaciones Marinas*, 31: 96–100.
- Grell, K. G., & Wohlfarth-Bottermann, K. E. (1957). Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen an dem Dinoflagellaten *Amphidinium elegans* n. sp. *Zeitschrift Für Zellforschung Und Mikroskopische Anatomie*, 47(1): 7–17. <https://doi.org/10.1007/BF00340000>

- Grzebyk, D., Sako, Y., & Berland, B. (1998). Phylogenetic analysis of nine species of *Prorocentrum* (dinophyceae) inferred from 18S ribosomal DNA sequences, morphological comparisons, and description of *Prorocentrum panamensis* sp. nov. *Journal of Phycology*, 34(6): 1055–1068. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1998.341055.x>
- Guiry, M. D., & Guiry, G. M. (consultado el 15 febrero 2022). *Algaebase*.
- Gul, S., & Saifullah, S. (2011a). The dinoflagellate genus *Prorocentrum* (Prorocentrales, Prorocentraceae) from the North Arabian Sea. *Pakistan Journal of Botany*, 43: 3061–3065.
- Han, M.-S., Wang, P., Kim, J. H., Cho, S.-Y., Park, B. S., Kim, J.-H., Katano, T., & Kim, B.-H. (2016). Morphological and molecular phylogenetic position of *Prorocentrum micans sensu stricto* and description of *Prorocentrum koreanum* sp. nov. from Southern Coastal Waters in Korea and Japan. *Protist*, 167(1): 32–50. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2015.12.001>
- Hansen, G., & Daugbjerg, N. (2009). *Symbiodinium natans* sp. nov.: a “free-living” dinoflagellate from Tenerife (Northeast-Atlantic ocean). *Journal of Phycology*, 45(1): 251–263. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00621.x>
- Hernández-Becerril, D. L., & Almazán, A. (2004). Especies de dinoflagelados del género *Gambierdiscus* (Dinophyceae) del Mar Caribe mexicano. *Revista de Biología Tropical*, 52.
- Hernández-Becerril, D. U., Cortés Altamirano, R., & Alonso R., R. (2000). The dinoflagellate genus *Prorocentrum* along the coast of the Mexican Pacific. *Hydrobiologia*, 418(1): 111–121. <https://doi.org/10.1023/A:1003806719515>
- Hernández-Becerril, D. U., Rodríguez-Palacio, M. C., & Lozano-Ramírez, C. (2013). Morphology and life stages of the potentially pinnatoxin-producing thecate dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* from the tropical Mexican Pacific. *Botánica marina*, 56(5–6): 535–540. <https://doi.org/10.1515/bot-2013-0079>
- Hernández-Castro, J. E. (2017). Dinoflagelados y toxinas lipofílicas en bancos naturales de bivalvos al sur de la Bahía de La Paz, B.C.S., México. [Tesis de maestría]. IPN-CICIMAR.
- Herrera-Herrera, N. V. (2022). Interacciones alelopáticas de dinoflagelados epibentónicos de los géneros *Amphidinium* y *Coolia* (Dinophyceae) en condiciones de cultivo [Tesis de Maestría]. CICIMAR-IPN.
- Herrera-Sepúlveda, A., Hernández-Saavedra, N. Y., Medlin, L. K., & West, N. (2013). Capillary electrophoresis finger print technique (CE-SSCP): an alternative tool for the monitoring activities of HAB species in Baja California Sur Coastal. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(10): 6863–6871. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1033-7>

- Holmes, M. J., Lewis, R. J., Jones, A., & Hoy, A. W. W. (1995). Cooliatoxin, the first toxin from *Coolia monotis* (dinophyceae). *Natural Toxins*, 3(5): 355–362. <https://doi.org/10.1002/nt.2620030506>
- Honsell, G., Bonifacio, A., de Bortoli, M., Penna, A., Battocchi, C., Ciminiello, P., Dell’Aversano, C., Fattorusso, E., Sosa, S., Yasumoto, T., & Tubaro, A. (2013). New insights on cytological & metabolic features of *Ostreopsis* cf. *ovata* Fukuyo (Dinophyceae): A multidisciplinary approach. *PLoS ONE*, 8(2): e57291. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057291>
- Hoppenrath, M., Chomérat, N., Horiguchi, T., Schweikert, M., Nagahama, Y., & Murray, S. (2013). Taxonomy and phylogeny of the benthic *Prorocentrum* species (Dinophyceae)—A proposal and review. *Harmful Algae*, 27: 1–28. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2013.03.006>
- Hoppenrath, M., Murray, S. A., Chomérat, N., & Horiguchi, T. (2014). *Marine benthic dinoflagellates - unveiling their worldwide biodiversity* (Ed.: M. H. S. A. M. N. C. T. Horiguchi, Ed.). Schweizerbart Science Publishers. [http://www.schweizerbart.de/publications/detail/isbn/9783510614028/Kleine\\_Senckenberg\\_Reihe\\_Nr\\_54\\_Marine\\_b](http://www.schweizerbart.de/publications/detail/isbn/9783510614028/Kleine_Senckenberg_Reihe_Nr_54_Marine_b)
- Hosoi-Tanabe, S., Otake, I., & Sako, Y. (2006). Phylogenetic analysis of noxious red tide flagellates *Chattonella antiqua*, *C. marina*, *C. ovata*, and *C. verruculosa* (Raphidophyceae) based on the rRNA gene family. *Fisheries Science*, 72(6): 1200–1208. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2006.01277.x>
- Huang, X. C., Zhao, D., Guo, Y. W., Wu, H. M., Lin, L. P., Wang, Z. H., Ding, J., & Lin, Y. S. (2004). Lingshuiol, a novel polyhydroxyl compound with strongly cytotoxic activity from the marine dinoflagellate *Amphidinium* sp. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 14(12): 3117–3120.
- Ismael, A. A.-H., Halim, Y., & Khalil, A.-G. (1999). Optimum growth conditions for *Amphidinium carterae* Hulbert from eutrophic waters in Alexandria (Egypt) and its toxicity to the brine shrimp *Artemia salina*. *Grana*, 38(2–3): 179–185. <https://doi.org/10.1080/00173139908559226>
- Jeong, H. J., Yih, W., Kang, N. S., Lee, S. Y., Yoon, E. Y., Yoo, Y. Du, Kim, H. S., & Kim, J. H. (2012). First report of the epiphytic benthic Dinoflagellates *Coolia canariensis* and *Coolia malayensis* in the waters off Jeju Island, Korea: morphology and rDNA sequences. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 59(2): 114–133. <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2012.00610.x>
- Jephcott, T. G., Alves-de-Souza, C., Gleason, F. H., van Ogtrop, F. F., Sime-Ngando, T., Karpov, S. A., & Guillou, L. (2016). Ecological impacts of parasitic chytrids, syndiniales & perkinsids on populations of marine photosynthetic dinoflagellates. *Fungal Ecology*, 19: 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.03.007>

- Jørgensen, M. F., Murray, S., & Daugbjerg, N. (2004). *Amphidinium* revisited. I. Redefinition of *Amphidinium* (dinophyceae) based on cladistic and molecular phylogenetic analyses. *Journal of Phycology*, 40(2): 351–365. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.03131.x>
- Karafas, S., Teng, S. T., Leaw, C. P., & Alves-de-Souza, C. (2017). An evaluation of the genus *Amphidinium* (Dinophyceae) combining evidence from morphology, phylogenetics, and toxin production, with the introduction of six novel species. *Harmful Algae*, 68: 128–151. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.08.001>
- Karafas, S., York, R., & Tomas, C. (2015). Morphological and genetic analysis of the *Coolia monotis* species complex with the introduction of two new species, *Coolia santacroce* sp. nov. and *Coolia palmyrensis* sp. nov. (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 46: 18–33. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.05.002>
- Kibler, S. R., Litaker, R. W., Holland, W. C., Vandersea, M. W., & Tester, P. A. (2012). Growth of eight *Gambierdiscus* (Dinophyceae) species: Effects of temperature, salinity and irradiance. *Harmful Algae*, 19: 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2012.04.007>
- Kohli, G. S., Murray, S. A., Neilan, B. A., Rhodes, L. L., Harwood, D. T., Smith, K. F., Meyer, L., Capper, A., Brett, S., & Hallegraeff, G. M. (2014). High abundance of the potentially maitotoxic dinoflagellate *Gambierdiscus carpenteri* in temperate waters of New South Wales, Australia. *Harmful Algae*, 39: 134–145. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.07.007>
- LaJeunesse, T. C., Lee, S. Y., Gil-Agudelo, D. L., Knowlton, N., & Jeong, H. J. (2015). *Symbiodinium necroappetens* sp. nov. (Dinophyceae): an opportunist ‘zooxanthella’ found in bleached and diseased tissues of Caribbean reef corals. *European Journal of Phycology*, 50(2), 223–238. <https://doi.org/10.1080/09670262.2015.1025857>
- LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W., Jeong, H. J., Reimer, J. D., Voolstra, C. R., & Santos, S. R. (2018). Systematic revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. *Current Biology*, 28(16): 2570-2580.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.07.008>
- Larsson, M., Laczka, O., Harwood, D., Lewis, R., Himaya, S., Murray, S., & Doblin, M. (2018). Toxicology of *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae) from tropical and temperate Australian waters. *Marine Drugs*, 16(1): 7. <https://doi.org/10.3390/md16010007>
- Laza-Martínez, A., Orive, E., & Miguel, I. (2011). Morphological and genetic characterization of benthic dinoflagellates of the genera *Coolia*, *Ostreopsis* and *Prorocentrum* from the south-eastern Bay of Biscay. *European Journal of Phycology*, 46(1): 45–65. <https://doi.org/10.1080/09670262.2010.550387>
- Leaw, C.-P., Lim, P.-T., Cheng, K.-W., Ng, B.-K., & Usup, G. (2010). Morphology and molecular characterization of a new species of thecate benthic dinoflagellate, *Coolia*



- malayensis* sp. nov. (Dinophyceae). *Journal of Phycology*, 46(1): 162–171. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2009.00778.x>
- Leaw, C.-P., Tan, T. H., Lim, H. C., Teng, S. T., Yong, H. L., Smith, K. F., Rhodes, L., Wolf, M., Holland, W. C., Vandersea, M. W., Litaker, R. W., Tester, P. A., Gu, H., Usup, G., & Lim, P. T. (2016). New scenario for speciation in the benthic dinoflagellate genus *Coolia* (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 55: 137–149. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2016.02.010>
- Lee, S. Y., Jeong, H. J., Kang, N. S., Jang, T. Y., Jang, S. H., & Lajeunesse, T. C. (2015). *Symbiodinium tridacnidorum* sp. nov., a dinoflagellate common to Indo-Pacific giant clams, and a revised morphological description of *Symbiodinium microadriaticum* Freudenthal, emended Trench and Blank. *European Journal of Phycology*, 50(2): 155–172. <https://doi.org/10.1080/09670262.2015.1018336>
- Lenoir, S., Ten-Hage, L., Turquet, J., Quod, J.-P., Bernard, C., & Hennion, M.-C. (2004). First evidence of palytoxin analogues from an *Ostreopsis mascarenensis* (dinophyceae) benthic bloom in southwestern Indian Ocean. *Journal of Phycology*, 40(6): 1042–1051. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.04016.x>
- Leung, P. T. Y., Yan, M., Yiu, S. K. F., Lam, V. T. T., Ip, J. C. H., Au, M. W. Y., Chen, C.-Y., Wai, T.-C., & Lam, P. K. S. (2017). Molecular phylogeny and toxicity of harmful benthic dinoflagellates *Coolia* (Ostreopsidaceae, Dinophyceae) in a sub-tropical marine ecosystem: The first record from Hong Kong. *Marine Pollution Bulletin*, 124(2): 878–889. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.017>
- Leyva-Valencia, I., Hernández-Castro, J., Band-Schmidt, C., Turner, A., O’Neill, A., Núñez-Vázquez, E., López-Cortés, D., Bustillos-Guzmán, J., & Hernández-Sandoval, F. (2021). Lipophilic toxins in wild bivalves from the Southern Gulf of California, Mexico. *Marine Drugs*, 19(2): 99. <https://doi.org/10.3390/md19020099>
- Li, X., Yan, M., Gu, J., Lam, V. T. T., Wai, T.-C., Baker, D. M., Thompson, P. D., Yiu, S. K. F., Lam, P. K. S., & Leung, P. T. Y. (2020). The effect of temperature on physiology, toxicity and toxin content of the benthic dinoflagellate *Coolia malayensis* from a seasonal tropical region. *Water Research*, 185: 116264. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116264>
- Liang, J.-L., Long, L.-J., Zhang, S., & Wu, J. (2009). Cooliatin, an unprecedented natural Dioxocyclononane from Dinoflagellate *Coolia monotis* from South China Sea. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57(8): 888–889. <https://doi.org/10.1248/cpb.57.888>
- Lim, A. S., Jeong, H. J., Jang, T. Y., Kang, N. S., Lee, S. Y., Yoo, Y. Du, & Kim, H. S. (2013). Morphology and molecular characterization of the epiphytic dinoflagellate *Prorocentrum* cf. *rhathymum* in temperate waters off Jeju Island, Korea. *Ocean Science Journal*, 48(1): 1–17. <https://doi.org/10.1007/s12601-013-0001-6>

- Lim, Z. F., Luo, Z., Lee, L. K., Hii, K. S., Teng, S. T., Chan, L. L., Chomérat, N., Krock, B., Gu, H., Lim, P. T., & Leaw, C. P. (2019). Taxonomy and toxicity of *Prorocentrum* from Perhentian Islands (Malaysia), with a description of a non-toxicogenic species *Prorocentrum malayense* sp. nov. (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 83: 95–108. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.01.007>
- Litaker, R. W., Holland, W. C., Hardison, D. R., Pisapia, F., Hess, P., Kibler, S. R., & Tester, P. A. (2017). Ciguatotoxicity of *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* species from the Caribbean and Gulf of Mexico. *PLoS ONE*, 12(10): e0185776. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185776>
- Litaker, R. W., Vandersea, M. W., Faust, M. A., Kibler, S. R., Chinain, M., Holmes, M. J., Holland, W. C., & Tester, P. A. (2009). Taxonomy of *Gambierdiscus* including four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*, *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (Gonyaulacales, Dinophyceae). *Phycologia*, 48(5): 344–390. <https://doi.org/10.2216/07-15.1>
- Litaker, R. W., Vandersea, M. W., Faust, M. A., Kibler, S. R., Nau, A. W., Holland, W. C., Chinain, M., Holmes, M. J., & Tester, P. A. (2010). Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon*, 56(5): 711–730. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2010.05.017>
- Longo, S., Sibat, M., Viallon, J., Darius, H., Hess, P., & Chinain, M. (2019). Intraspecific variability in the toxin production and toxin profiles of *in vitro* cultures of *Gambierdiscus polynesiensis* (Dinophyceae) from French Polynesia. *Toxins*, 11(12): 735. <https://doi.org/10.3390/toxins11120735>
- Lundholm, N., Churro, C., Fraga, S., Hoppenrath, M., Iwataki, M., Larsen, J., Mertens, K., Moestrup, Ø., & Zingone, A. (2023, January 6). *IOC-UNESCO Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae*. IOC-UNESCO. <https://www.marinespecies.org/hab>
- Luo, Z., Wang, N., Mohamed, H. F., Liang, Y., Pei, L., Huang, S., & Gu, H. (2021). *Amphidinium stirisquamtum* sp. nov. (Dinophyceae), a new marine sand-dwelling dinoflagellate with a novel type of body scale. *Algae*, 36(4): 241–261. <https://doi.org/10.4490/algae.2021.36.8.27>
- Luo, Z., Zhang, H., Krock, B., Lu, S., Yang, W., & Gu, H. (2017). Morphology, molecular phylogeny and okadaic acid production of epibenthic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species from the northern South China Sea. *Algal Research*, 22: 14–30. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.11.020>
- Marchan-Alvarez, J. G., Valerio-González, L., Troccoli-Ghinaglia, L., & López-Monroy, F. (2017). Dinoflagelados bentónicos nocivos, asociados con el sedimento arenoso en dos playas de la isla de Margarita, Venezuela. *Revista Biodiversidad Neotropical*, 7(3): 156. <https://doi.org/10.18636/bioneotropical.v7i3.539>

- Mejía-Camacho, A. L., Durán-Riveroll, L. M., & Cembella, A. D. (2021). Toxicity bioassay and cytotoxic effects of the benthic marine dinoflagellate *Amphidinium operculatum*. *Journal of Xenobiotics*, *11*(2): 33–45. <https://doi.org/10.3390/jox11020003>
- Meunier, A. (1919). Mikroplankton de la mer Flamande. III. Les Péridiniens. *Mémoires Du Musée Royal d'Histoire Naturelle de Belgique*, *8*, 68–69.
- Mohammad-Noor, N., Adam, A., Saad, S., Akmal-Khodzori, F., & Muhd-Shaleh, S. R. (2019). Effects of medium and substrate preferences soil extract on growth of *Coolia* (Dinophyceae). *Journal of System Management*, *2*(14): 71–81.
- Mohammad-Noor, N., Daugbjerg, N., Moestrup, Ø., & Anton, A. (2004). Marine epibenthic dinoflagellates from Malaysia—a study of live cultures and preserved samples based on light and scanning electron microscopy. *Nordic Journal of Botany*, *24*(6): 629–690. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.2004.tb01938.x>
- Mohammad-Noor, N., Moestrup, Ø., Lundholm, N., Fraga, S., Adam, A., Holmes, M. J., & Saleh, E. (2013). Autecology and phylogeny of *Coolia tropicalis* and *Coolia malayensis* (Dinophyceae), with emphasis on taxonomy of *C. tropicalis* based on light microscopy, scanning electron microscopy and LSU rDNA. *Journal of Phycology*, *49*(3): 536–545. <https://doi.org/10.1111/jpy.12062>
- Molgó, J., Marchot, P., Aráoz, R., Benoit, E., Iorga, B. I., Zakarian, A., Taylor, P., Bourne, Y., & Servent, D. (2017). Cyclic imine toxins from dinoflagellates: a growing family of potent antagonists of the nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Neurochemistry*, *142*: 41–51. <https://doi.org/10.1111/jnc.13995>
- Momigliano, P., Sparrow, L., Blair, D., & Heimann, K. (2013). The Diversity of *Coolia* spp. (Dinophyceae Ostreopsidaceae) in the Central Great Barrier Reef Region. *PLoS ONE*, *8*(10): e79278. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079278>
- Moreira-González, A. R., Comas-González, A., Valle-Pombrol, A., Seisdedo-Losa, M., Hernández-Leyva, O., Fernández, L. F., Chomérat, N., Bilien, G., Hervé, F., Rovillon, G. A., Hess, P., Alonso-Hernández, C. M., & Mafra, L. L. (2021). Summer bloom of *Vulcanodinium rugosum* in Cienfuegos Bay (Cuba) associated to dermatitis in swimmers. *Science of the Total Environment*, *757*: 143782. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143782>
- Moreira-González, A. R., Fernández, L. F., Uchida, H., Uesugi, A., Suzuki, T., Chomérat, N., Bilien, G., & Mafra, L. L. (2019). Variations in morphology, growth, and toxicity among strains of the *Prorocentrum lima* species complex isolated from Cuba and Brazil. *Journal of Applied Phycology*, *31*(1): 519–532. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1587-y>
- Morquecho-Escamilla, L., Gárate-Lizárraga, I., & Gu, H. (2022). Morphological and molecular characterization of the genus *Coolia* (Dinophyceae) from Bahía de La Paz,

southwest Gulf of California. *Algae*, 37(3): 185–204.  
<https://doi.org/10.4490/algae.2022.37.9.2>

- Morquecho-Escamilla, L., Reyes-Salinas, A., & Okolodkov, Y. B. (2016). *Guía Taxonómica Ilustrada de la Colección de Dinoflagelados Marinos (CODIMAR)*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste.
- Muciño-Márquez, R. E., Gárate-Lizárraga, I., & López-Cortés, D. J. (2014). Seasonal variation of the genus *Prorocentrum* (Dinophyceae) in two tuna farms in the Bahía de La Paz, Mexico. *Acta Biológica Colombiana*, 20(1): 195–206.  
<https://doi.org/10.15446/abc.v20n1.42442>
- Murray, S. A., Garby, T., Hoppenrath, M., & Neilan, B. A. (2012a). Genetic diversity, morphological uniformity and polyketide production in dinoflagellates (*Amphidinium*, Dinoflagellata). *PLoS ONE*, 7(6): e38253.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038253>
- Murray, S., Flø Jørgensen, M., Daugbjerg, N., & Rhodes, L. (2004). *Amphidinium* revisited. II. Resolving species boundaries in the *Amphidinium operculatum* species complex (Dinophyceae), including the descriptions of *Amphidinium trulla* sp. nov. and *Amphidinium gibbosum*. comb. nov.1. *Journal of Phycology*, 40(2): 366–382.  
<https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2004.03132.x>
- Murray, S., Momigliano, P., Heimann, K., & Blair, D. (2014). Molecular phylogenetics and morphology of *Gambierdiscus yasumotoi* from tropical eastern Australia. *Harmful Algae*, 39: 242–252. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.08.003>
- Nagai, H., Torigoe, K., Satake, M., Murata, M., Yasumoto, T., & Hirota, H. (1992). Gambieric acids: unprecedented potent antifungal substances isolated from cultures of a marine dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*. *Journal of the American Chemical Society*, 114(3): 1102–1103. <https://doi.org/10.1021/ja00029a057>
- Naik, R. K., Damare, S., Yapa, K., D'Costa, P., & Roy, R. (2018). First report of toxic *Prorocentrum rhathymum* (Dinophyceae) and its pigment composition from coastal waters of the eastern Arabian Sea. *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 47: 645–652.
- Nakajima, I., Oshima, Y., & Yasumoto, T. (1981). Toxicity of Benthic Dinoflagellates in Okinawa. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 47(8): 1029–1033.  
<https://doi.org/10.2331/suisan.47.1029>
- Nascimento, S. M., Corrêa, E. v., Menezes, M., Varela, D., Paredes, J., & Morris, S. (2012). Growth and toxin profile of *Ostreopsis* cf. *ovata* (Dinophyta) from Rio de Janeiro, Brazil. *Harmful Algae*, 13: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2011.09.008>
- Nascimento, S. M., da Silva, R. A. F., Oliveira, F., Fraga, S., & Salgueiro, F. (2019a). Morphology and molecular phylogeny of *Coolia tropicalis*, *Coolia malayensis* and a new lineage of the *Coolia canariensis* species complex (Dinophyceae) isolated from

- Brazil. *European Journal of Phycology*, 54(3): 484–496. <https://doi.org/10.1080/09670262.2019.1599449>
- Nava-Ruiz, V. M., & Valadez Cruz, F. (2012). Flora planctónica de laguna Lagartos, Quintana Roo. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(3). <https://doi.org/10.7550/rmb.24868>
- Ndhlovu, A., Dhar, N., Garg, N., Xuma, T., Pitcher, G. C., Sym, S. D., & Durand, P. M. (2017). A red tide forming dinoflagellate *Prorocentrum triestinum*: identification, phylogeny and impacts on St Helena Bay, South Africa. *Phycologia*, 56(6): 649–665. <https://doi.org/10.2216/16-114.1>
- Nézan, E., & Chomérat, N. (2011). *Vulcanodinium rugosum* gen. et sp. nov. (Dinophyceae), un Nouveau Dinoflagellé Marin de la Côte Méditerranéenne Française. *Cryptogamie, Algologie*, 32(1): 3–18. <https://doi.org/10.7872/crya.v32.iss1.2011.003>
- Ninčević Gladan, Ž., Arapov, J., Casabianca, S., Penna, A., Honsell, G., Brovedani, V., Pelin, M., Tartaglione, L., Sosa, S., Dell’Aversano, C., Tubaro, A., Žuljević, A., Grbec, B., Čavar, M., Bužančić, M., Bakrač, A., & Skejić, S. (2019). Massive occurrence of the harmful benthic dinoflagellate *Ostreopsis cf. ovata* in the Eastern Adriatic Sea. *Toxins*, 11(5), 300. <https://doi.org/10.3390/toxins11050300>
- Obeso-Nieblas, M., Gaviño-Rodríguez, J. H., Obeso-Huerta, H., & Muñoz-Casillas, S. I. (2014). Variabilidad espacial termohalina, masas de agua y circulación geostrofica en Bahía de La Paz, Golfo de California. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 49(3): 413–426. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000300002>
- Obeso-Nieblas, M., Shirasago-Germán, B., Gaviño-Rodríguez, J., Perez-Lezama, E., Obeso-Huerta, H., & Jiménez-Illescas, Á. (2008). Variabilidad hidrográfica en Bahía de La Paz, Golfo de California, México (1995-2005). *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(3). <https://doi.org/10.4067/S0718-19572008000300015>
- Okolodkov, Y. B., & Gárate-Lizárraga, I. (2006). An annotated checklist of dinoflagellates (Dinophyceae) from the Mexican Pacific. *Acta Botánica Mexicana*, 74: 1–154.
- Onda, D. F., Benico, G., Sulit, A. F., & Lorenzo, P. (2013). Morphological and molecular characterization of some HAB-forming dinoflagellates from Philippine waters. *Philippine Science Letters*, 6: 97–106.
- Pearce, I., Handlinger, J. H., & Hallegraeff, G. M. (2005). Histopathology in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) spat caused by the dinoflagellate *Prorocentrum rhathymum*. *Harmful Algae*, 4(1): 61–74. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2003.11.002>
- Pérez-Guzmán, L., Pérez-Matos, A. E., Rosado, W., Tosteson, T. R., & Govind, N. S. (2008). Bacteria associated with toxic clonal cultures of the dinoflagellate *Ostreopsis lenticularis*. *Marine Biotechnology*, 10(5): 492–496. <https://doi.org/10.1007/s10126-008-9088-7>

- Pérez-López, H., Durán-Riveroll, L., Gómez-Lizárraga, L. E., & Mendoza-Garfias, M. B. (2020). Simple method for preparing delicate dinoflagellate of the genus *Amphidinium* for scanning electron microscopy. *Microscopy & Microanalysis*, 26(S2): 1366–1369. <https://doi.org/10.1017/S1431927620017857>
- Pezzolesi, L., Guerrini, F., Ciminiello, P., Dell’Aversano, C., Iacovo, E. dello, Fattorusso, E., Forino, M., Tartaglione, L., & Pistocchi, R. (2012). Influence of temperature and salinity on *Ostreopsis* cf. *ovata* growth and evaluation of toxin content through HR LC-MS and biological assays. *Water Research*, 46(1): 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.10.029>
- Pochon, X., & Gates, R. D. (2010). A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawai’i. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(1): 492–497. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.03.040>
- Rahman Shah, Md. M., Samarakoon, K. W., Ko, J.-Y., Chaminda Lakmal, H. H., Lee, J.-H., An, S.-J., Jeon, Y.-J., & Lee, J.-B. (2014). Potentiality of benthic dinoflagellate cultures and screening of their bioactivities in Jeju Island, Korea. *African Journal of Biotechnology*, 13(6): 792–805. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13250>
- Rahman-Shah, M., Kalpa, W. S., Ju-Young, K., H., H. C. L., Ji-Hyeok, L., So-Jeong, A., You-Jin, J., & Joon-Baek, L. (2014). Potentiality of benthic dinoflagellate cultures and screening of their bioactivities in Jeju Island, Korea. *African Journal of Biotechnology*, 13(6): 792–805. <https://doi.org/10.5897/AJB2013.13250>
- Rains, L. K., & Parsons, M. L. (2015). *Gambierdiscus* species exhibit different epiphytic behaviors toward a variety of macroalgal hosts. *Harmful Algae*, 49: 29–39. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.08.005>
- Ramos-Santiago, A. E., Band-Schmidt, C. J., Leyva-Valencia, I., Muñoz-Ochoa, M., Okolodkov, Y. B., & Santiago-Morales, I. S. (2022). Análisis morfológico y molecular de *Coolia malayensis* (Dinophyceae) y efectos de extractos de la macroalga *Dictyota dichotoma* (Phaeophyceae) en su crecimiento. *CICIMAR Océánides*, 1(37): 1–20.
- Rhodes, L. L., Smith, K. F., MacKenzie, L., & Moisan, C. (2020). Checklist of the planktonic marine dinoflagellates of New Zealand. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 54(1): 86–101. <https://doi.org/10.1080/00288330.2019.1626746>
- Rhodes, L. L., Smith, K. F., Munday, R., Selwood, A. I., McNabb, P. S., Holland, P. T., & Bottein, M.-Y. (2010). Toxic dinoflagellates (Dinophyceae) from Rarotonga, Cook Islands. *Toxicon*, 56(5): 751–758. <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.05.017>
- Rhodes, L., & Smith, K. F. (2019). A checklist of the benthic and epiphytic marine dinoflagellates of New Zealand, including Rangitāhua/Kermadec Islands. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, 53(2): 258–277. <https://doi.org/10.1080/00288330.2018.1492425>

- Rhodes, L., Smith, K., Papiol, G. G., Adamson, J., Harwood, T., & Munday, R. (2014). Epiphytic dinoflagellates in sub-tropical New Zealand, in particular the genus *Coolia* Meunier. *Harmful Algae*, *34*: 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.02.004>
- Rhodes, L., Smith, K., Selwood, A., McNabb, P., Molenaar, S., Munday, R., Wilkinson, C., & Hallegraeff, G. (2011). Production of pinnatoxins E, F and G by scrippsielloid dinoflagellates isolated from Franklin Harbour, South Australia. *New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research*, *45*(4): 703–709. <https://doi.org/10.1080/00288330.2011.586041>
- Rhodes, L., Smith, K., Selwood, A., McNabb, P., Munday, R., Suda, S., Molenaar, S., & Hallegraeff, G. (2011). Dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum* identified as the causative organism of pinnatoxins in Australia, New Zealand & Japan. *Phycologia*, *50*(6): 624–628. <https://doi.org/10.2216/11-19.1>
- Rodríguez, F., Fraga, S., Ramilo, I., Rial, P., Figueroa, R. I., Riobó, P., & Bravo, I. (2017). “Canary Islands (NE Atlantic) as a biodiversity ‘hotspot’ of *Gambierdiscus*: Implications for future trends of ciguatera in the area”. *Harmful Algae*, *67*: 131–143. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.06.009>
- Saburova, M., Al-Yamani, F., & Polikarpov, I. (2009). Biodiversity of free-living flagellates in Kuwait’s intertidal sediments. *BioRisk*, *3*: 97–110. <https://doi.org/10.3897/biorisk.3.16>
- Salvador, N., Gómez Garreta, A., Lavelli, L., & Ribera, M. A. (2007). Antimicrobial activity of Iberian macroalgae. *Scientia Marina*, *71*(1): 101–114. <https://doi.org/10.3989/scimar.2007.71n1101>
- Schiller, J. (1928). Die planktische Vegetationen des adriatischen Meeres. C. Dinoflagellata I Teil. Adiniferidae, Dinophysidaceae. *Arch. Protistenkd*, *61*: 46–91.
- Selina, M. S., & Orlova, T. Yu. (2010). First occurrence of the genus *Ostreopsis* (Dinophyceae) in the Sea of Japan. *Botm*, *53*(3): 243–249. <https://doi.org/10.1515/BOT.2010.033>
- Selwood, A. I., Wilkins, A. L., Munday, R., Gu, H., Smith, K. F., Rhodes, L. L., & Rise, F. (2014). Pinnatoxin H: a new pinnatoxin analogue from a South China Sea *Vulcanodinium rugosum* isolate. *Tetrahedron Letters*, *55*(40): 5508–5510. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2014.08.056>
- Selwood, A. I., Wilkins, A. L., Munday, R., Shi, F., Rhodes, L. L., & Holland, P. T. (2013). Portimine: a bioactive metabolite from the benthic dinoflagellate *Vulcanodinium rugosum*. *Tetrahedron Letters*, *54*(35): 4705–4707. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2013.06.098>
- Semary, N. (2016). Benthic dinoflagellates from Red Sea, Egypt: Early records. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, *42*(2), 177–184. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2016.03.003>

- Seoane, S., Molina-Miras, A., López-Rosales, L., Sánchez-Mirón, A., Cerón-García, M. C., García-Camacho, F., Madariaga, I., & Molina-Grima, E. (2018). Data on the *Amphidinium carterae* Dn241EHU isolation and morphological and molecular characterization. *Data in Brief*, 20: 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2018.07.036>
- Sepúlveda Villarraga, M. (2013). *Dinoflagelados potencialmente tóxicos asociados a macroalgas en la Bahía de La Paz, B.C.S.* [Tesis de maestría]. IPN-CICIMAR.
- Shah, Md. M. R., An, S.-J., & Lee, J.-B. (2013). Presence of benthic dinoflagellates around coastal waters of Jeju Island including newly recorded species. *Journal of Ecology and Environment*, 36(4): 347–370. <https://doi.org/10.5141/ecoenv.2013.347>
- Sparrow, L., Momigliano, P., Russ, G. R., & Heimann, K. (2017). Effects of temperature, salinity and composition of the dinoflagellate assemblage on the growth of *Gambierdiscus carpenteri* isolated from the Great Barrier Reef. *Harmful Algae*, 65: 52–60. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2017.04.006>
- Takada, N., Umemura, N., Suenaga, K., Chou, T., Nagatsu, A., Haino, T., Yamada, K., & Uemura, D. (2001). Pinnatoxins B and C, the most toxic components in the pinnatoxin series from the Okinawan bivalve *Pinna muricata*. *Tetrahedron Letters*, 42(20), 3491–3494. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)00480-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)00480-4)
- Ternon, E., Paix, B., Thomas, O. P., Briand, J.-F., & Culioli, G. (2020). Exploring the role of macroalgal surface metabolites on the settlement of the benthic Dinoflagellate *Ostreopsis* cf. *ovata*. *Frontiers in Marine Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00683>
- Tibiricá, C. E. J. de A., Sibat, M., Fernández, L. F., Bilien, G., Chomérat, N., Hess, P., & Mafra Jr, L. L. (2020). Diversity and toxicity of the Genus *Coolia* Meunier in Brazil, and Detection of 44-methyl Gambierone in *Coolia tropicalis*. *Toxins*, 12(5), 327. <https://doi.org/10.3390/toxins12050327>
- Tillmann, U., Beran, A., Gottschling, M., Wietkamp, S., & Hoppenrath, M. (2022). Clarifying confusion – *Prorocentrum triestinum* J.Schiller & *Prorocentrum redfieldii* Bursa (Prorocentrales, Dinophyceae) are two different species. *European Journal of Phycology*, 57(2): 207–226. <https://doi.org/10.1080/09670262.2021.1948614>
- Torres-Ariño, A., Okolodkov, Y., Herrera-Herrera, N., Hernández-Barrera, B., Gonzalez, L., Leon Tejera, H., & Gárate-Lizárraga, I. (2019). *Un listado del fitoplancton y microfitobentos del sureste del Pacífico mexicano*. 5: 1–97.
- Uemura, D., Chou, T., Haino, T., Nagatsu, A., Fukuzawa, S., Zheng, S., & Chen, H. (1995). Pinnatoxin A: a toxic amphoteric macrocycle from the Okinawan bivalve *Pinna muricata*. *Journal of the American Chemical Society*, 117(3): 1155–1156. <https://doi.org/10.1021/ja00108a043>
- Vacarizas, J., Benico, G., Austero, N., & Azanza, R. (2018). Taxonomy and toxin production of *Gambierdiscus carpenteri* (Dinophyceae) in a tropical marine ecosystem: The first



- record from the Philippines. *Marine Pollution Bulletin*, 137: 430–443. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.10.034>
- Vargas-Montero, M., Morales, Á., & Cortés, J. (2017). Primer informe del género *Gambierdiscus* (Dinophyceae) y otros dinoflagelados bentónicos en el Parque Nacional Isla del Coco, Costa Rica, Pacífico Tropical Oriental. *Revista de Biología Tropical*, 187–199. <https://doi.org/10.15517/rbt.v60i3.28361>
- Verma, A., Kazandjian, A., Sarowar, C., Harwood, D. T., Murray, J. S., Pargmann, I., Hoppenrath, M., & Murray, S. A. (2019). Morphology and phylogenetics of benthic *Prorocentrum* species (Dinophyceae) from Tropical Northwestern Australia. *Toxins*, 11(10): 571. <https://doi.org/10.3390/toxins11100571>
- Viličić, D., Djakovac, T., Burić, Z., & Bosak, S. (2009). Composition and annual cycle of phytoplankton assemblages in the northeastern Adriatic Sea. *Botánica marina*, 52(4): 291–305. <https://doi.org/10.1515/BOT.2009.004>
- Villa-Arce, G. V. (2021). Curvas de crecimiento e identificación de cepas de dinoflagelados del género *Prorocentrum* (Dinophyceae) procedentes de la bahía de La Paz, B.C.S., México [Tesis de licenciatura]. UABCS.
- Wakeman, K. C., Yamaguchi, A., Roy, M. C., & Jenke-Kodama, H. (2015). Morphology, phylogeny and novel chemical compounds from *Coolia malayensis* (Dinophyceae) from Okinawa, Japan. *Harmful Algae*, 44: 8–19. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2015.02.009>
- Wang, D.-Z., Xin, Y.-H., & Wang, M.-H. (2022). *Gambierdiscus* and its associated toxins: a minireview. *Toxins*, 14(7): 485. <https://doi.org/10.3390/toxins14070485>
- Wellkamp, M., García-Camacho, F., Durán-Riveroll, L. M., Tebben, J., Tillmann, U., & Krock, B. (2020). LC-MS/MS Method development for the discovery and identification of Amphidinols produced by *Amphidinium*. *Marine Drugs*, 18(10): 497. <https://doi.org/10.3390/md18100497>
- Wu, Y., Huang, S., Krock, B., Leaw, C. P., Teng, S. T., Piumsomboon, A., Punnarak, P., Roeroe, K. A., Wang, N., & Gu, H. (2022). Cryptic speciation of benthic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species and their potential as ecological indicators. *Journal of Sea Research*, 190: 102304. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2022.102304>
- Xu, Y., Richlen, M. L., Liefer, J. D., Robertson, A., Kulis, D., Smith, T. B., Parsons, M. L., & Anderson, D. M. (2016). Influence of environmental variables on *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae) growth and distribution. *PLoS ONE*, 11(4): e0153197. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153197>
- Yamashita, H., & Koike, K. (2013). Genetic identity of free-living *Symbiodinium* obtained over a broad latitudinal range in the Japanese coast. *Phycological Research*, 61(1), 68–80. <https://doi.org/10.1111/pre.12004>

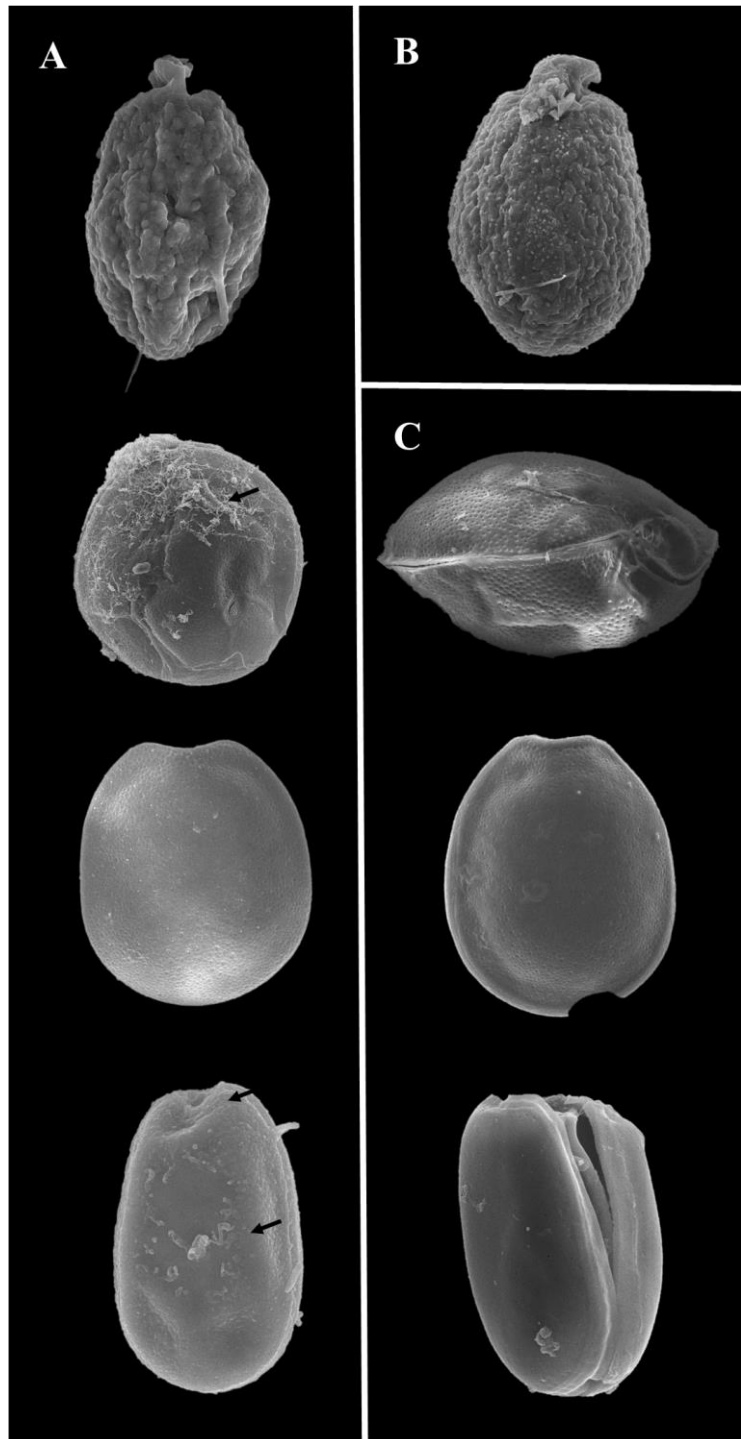
- Yasumoto, T., Seino, N., Murakami, Y., & Murata, M. (1987). Toxins produced by benthic dinoflagellates. *The Biological Bulletin*, 172(1): 128–131. <https://doi.org/10.2307/1541612>
- Yoshimatsu, T., Yamaguchi, H., Iwamoto, H., Nishimura, T., & Adachi, M. (2014). Effects of temperature, salinity and their interaction on growth of Japanese *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 35: 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.hal.2014.03.007>
- Zeng, N., Gu, H., Smith, K., Rhodes, L., Selwood, A., & Yang, W. (2012). The first report of *Vulcanodinium rugosum* (Dinophyceae) from the South China Sea with a focus on the life cycle. *New Zealand Journal of Marine & Freshwater Research*, 46(4): 511–521. <https://doi.org/10.1080/00288330.2012.719911>
- Zhang, H., Lu, S., Li, Y., Cen, J., Wang, H., Li, Q., & Nie, X. (2018). Morphology and molecular phylogeny of *Ostreopsis* cf. *ovata* and *O. lenticularis* (Dinophyceae) from Hainan Island, South China Sea. *Phycological Research*, 66(1): 3–14. <https://doi.org/10.1111/pre.12192>
- Zotov, A. B. (2018). Unification of calculation the volume of alga for phytoplankton of the Black Sea to the standards of the EU Marine Strategy. *Algologia*, 28(2): 208–232. <https://doi.org/10.15407/alg28.02.208>
- Zou, J., Li, Q., Liu, H., Liu, Y., Huang, L., Wu, H., Qiu, J., Zhang, H., & Lü, S. (2022). Taxonomy and toxin profile of harmful benthic *Prorocentrum* (Dinophyceae) species from the Xisha Islands, South China Sea. *Journal of Oceanology and Limnology*, 40(3): 1171–1190. <https://doi.org/10.1007/s00343-021-1045-6>

## 11. ANEXOS

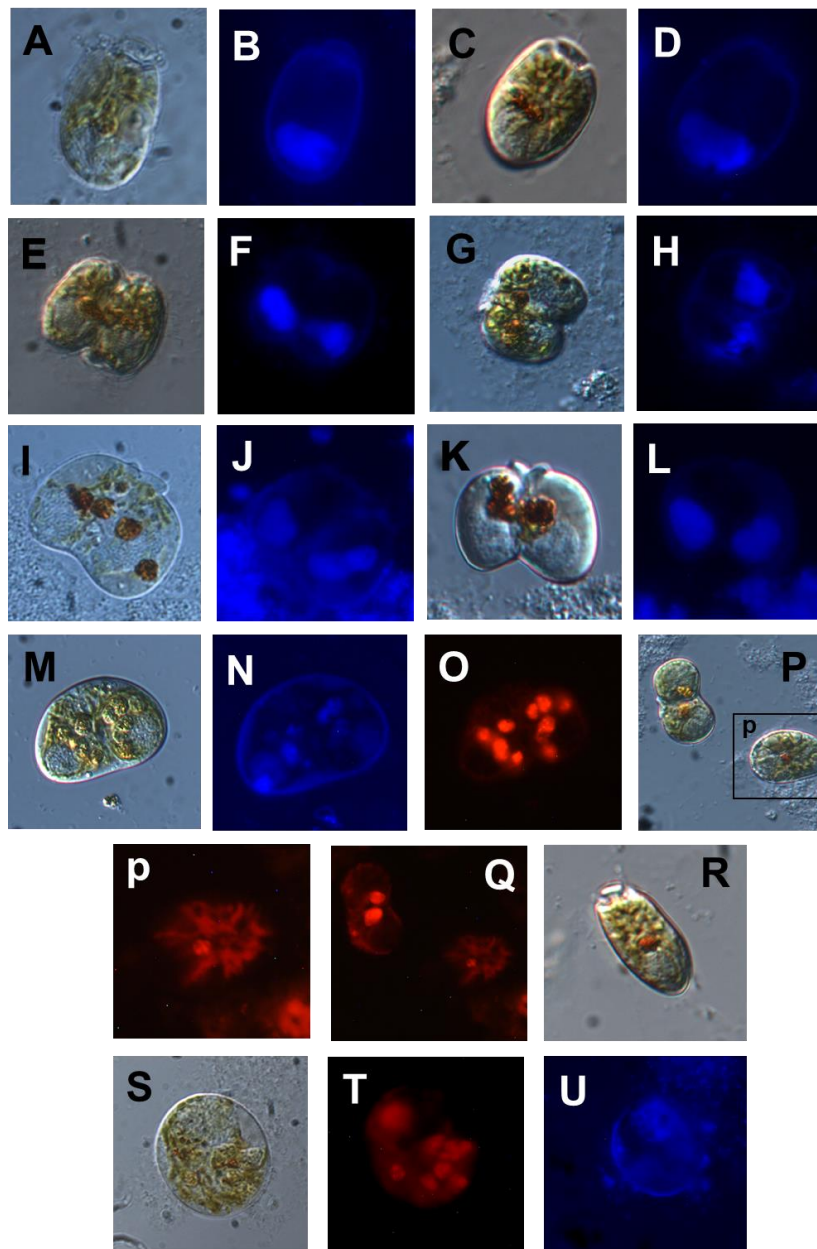
**Anexo I.** Tratamientos (T) para el procesamiento de muestras de microscopía electrónica de barrido. Las horas totales no incluyen los tiempos de lavados para eliminar los fijadores.

Procesos	T1	T2	T3	Tiempos
<b>Fijación con formol o lugol</b>			X	1 día
<b>Peróxido de hidrógeno al 37%</b>			X	4 días
<b><sup>1</sup>Fijación con glutaraldehído al 4%</b>	X			90 min
<b><sup>2</sup>Postfijación con tetraóxido de osmio 2%</b>	X	X		90 a 120 min
<b><sup>3</sup>Tren de deshidratación</b>	X	X	X	Aprox. 50 min
<b><sup>4</sup>Secado- HMDS</b>	X	X	X	8 h
<b>Horas totales</b>	<sup>1,2,3,4</sup> 12 h	<sup>2,3,4</sup> 10 h	<sup>3,4</sup> 8 h	

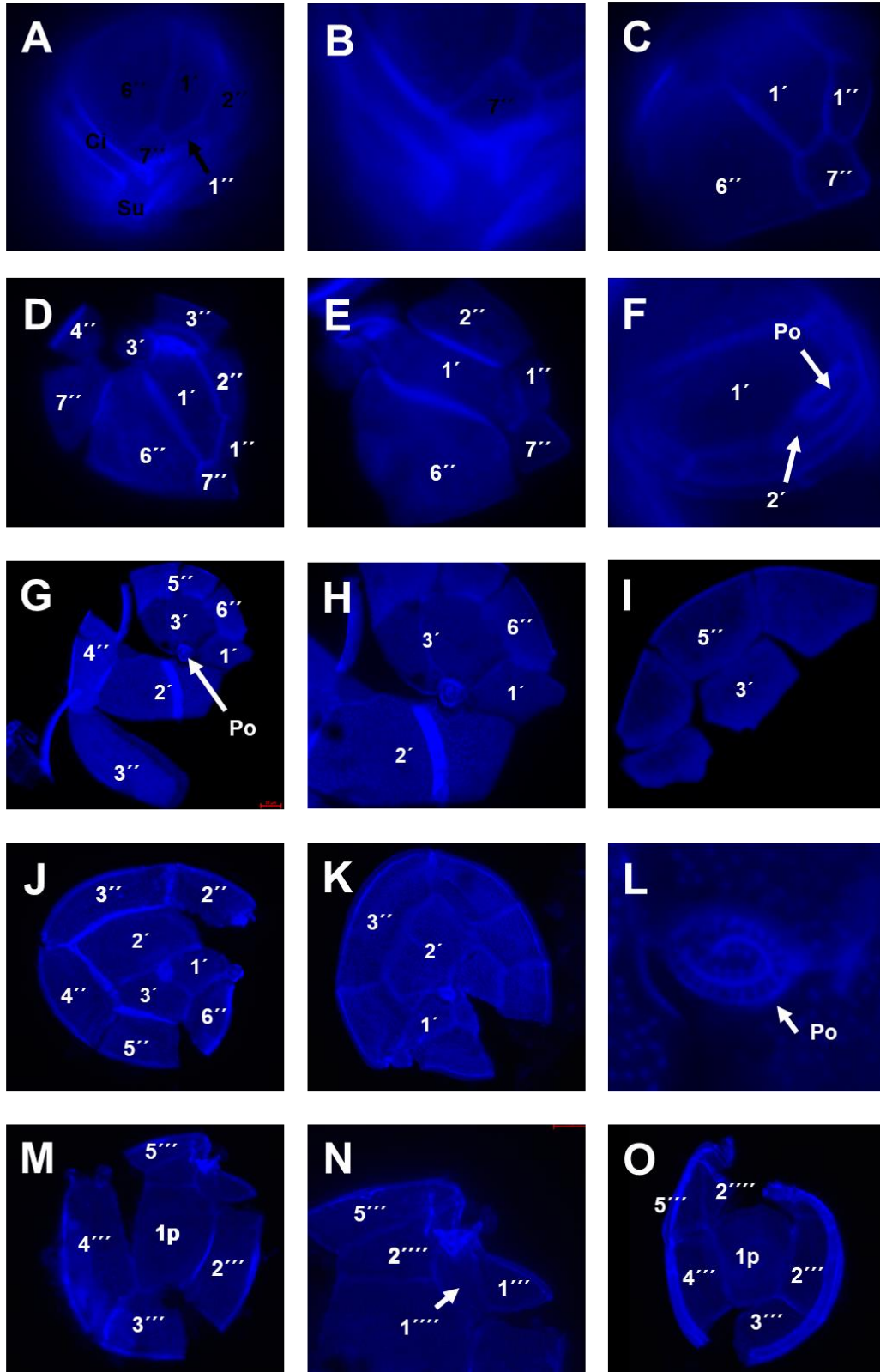
**Anexo II.** Micrografías de microscopía electrónica de barrido. A) Micrografías obtenidas con el tratamiento original (T1). B) Células sometidas al tratamiento 2. C) Micrografías del tratamiento 3. Las flechas señalan películas en las muestras que evitan que se observen estructuras de importancia taxonómica.



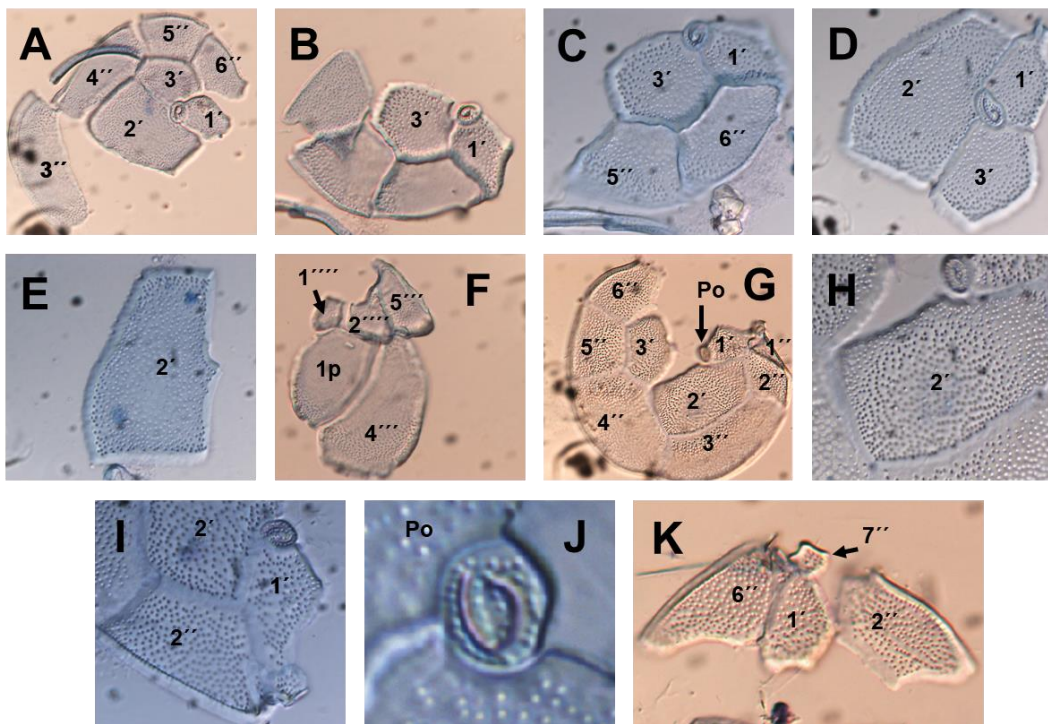
**Anexo III.** Microfotografías de epifluorescencia de dinoflagelados de los géneros *Amphidinium*, *Coolia*, *Gambierdiscus*, *Ostreopsis*, *Prorocentrum*, *Symbiodinium* y *Vulcanodinium*. Tinciones celulares con DAPI, calcoflúor y azul de tripano.



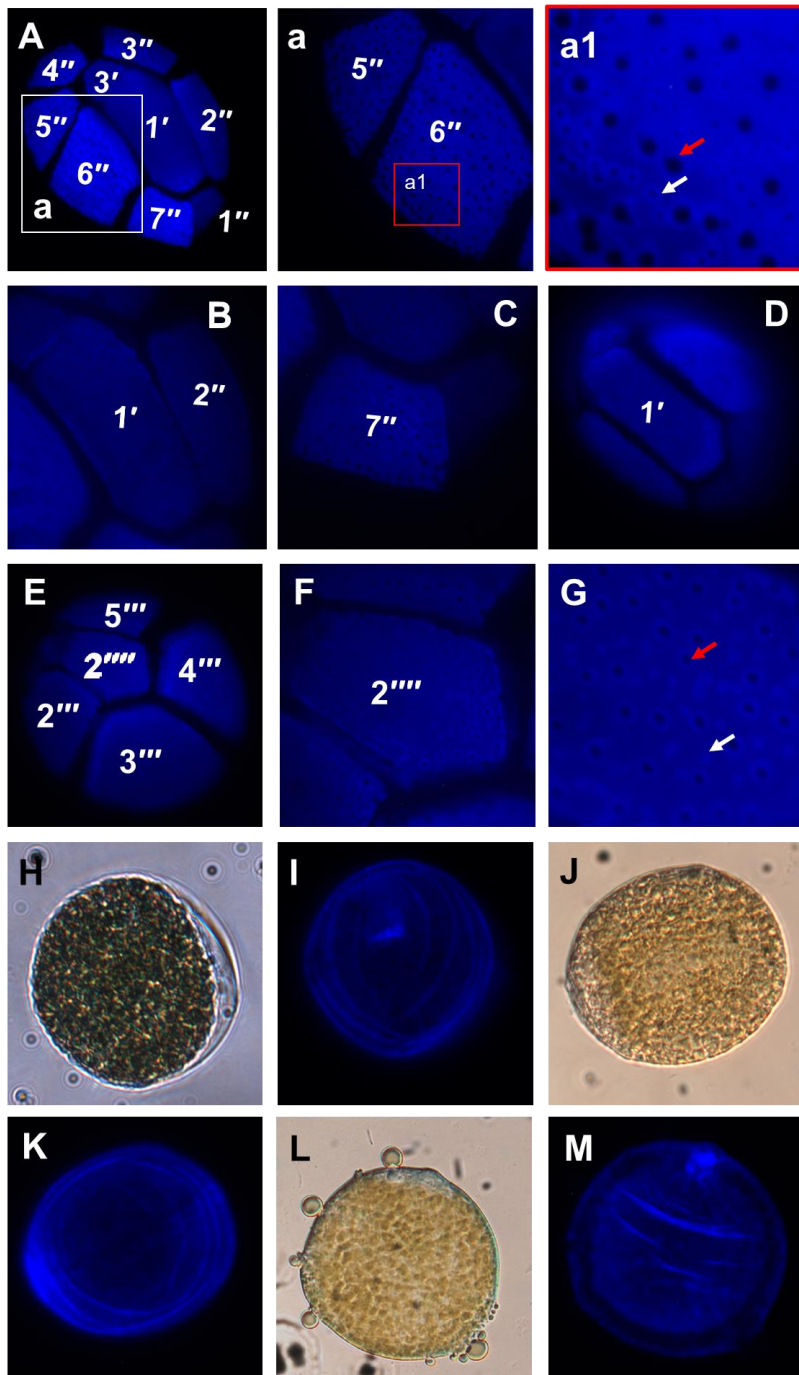
**Lámina 1.** Micrografías de epifluorescencia de *Amphidinium* cf. *operculatum* (cepa AS22). A, C, E, G, I, K, M, P, R y S) Microscopía de luz. B, D, F, H, J, L, N y U) Tinción del ADN con el marcador fluorescente DAPI. O, p, Q y T) Distribución de los cloroplastos.



**Lámina 2.** Micrografías de las placas tecaes de *Coolia malayensis* y *Gambierdiscus carpenteri*. A-F) Tinción de calcoflúor en *C. malayensis*. G-I) *G. carpenteri*, cepa Gamb-1. J-O) *G. carpenteri*, cepa Gamb-3. Po= placa del poro apical.

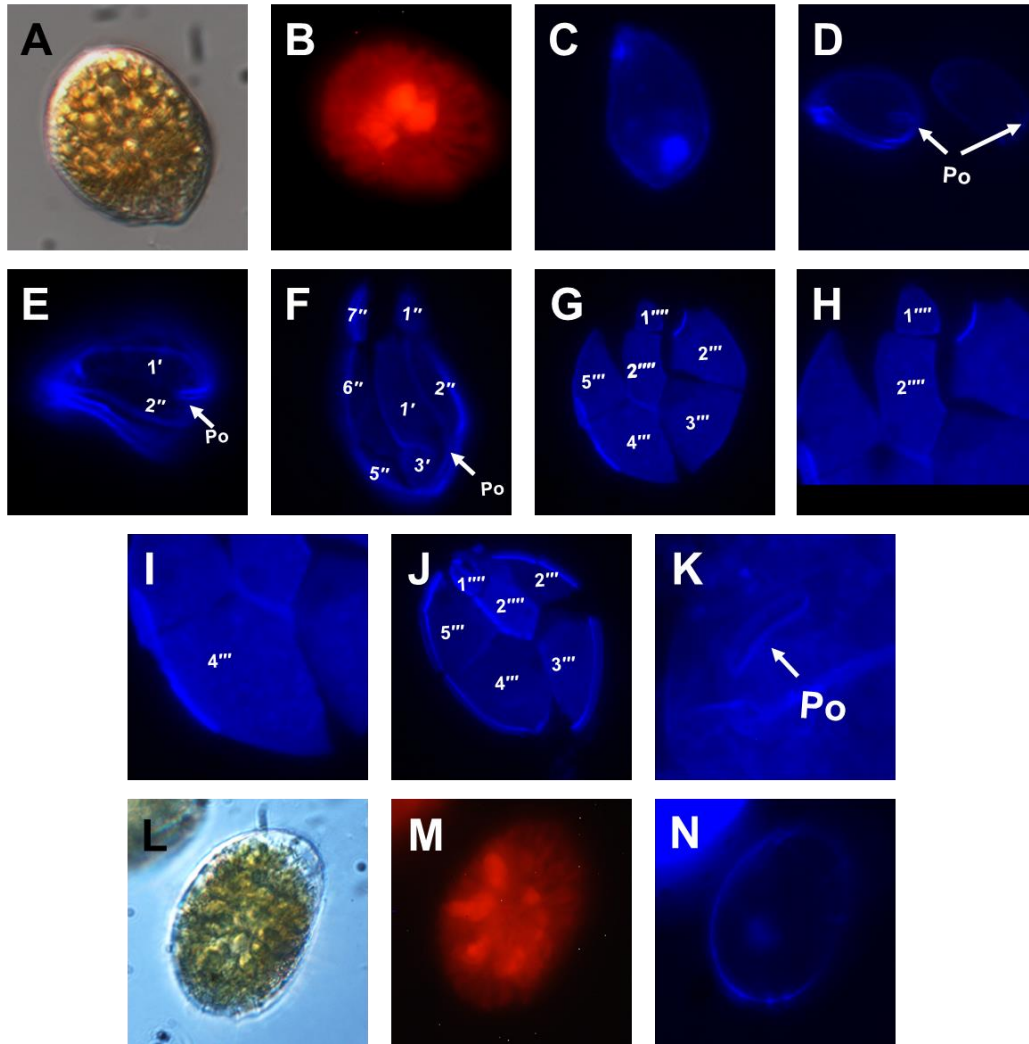


**Lámina 3.** Tinción de las placas tecales de *Gambierdiscus carpenteri* con azul de tripano. A-F) Cepa Gamb-1. G-K) Cepa Gamb-3. Po= placa del poro apical.

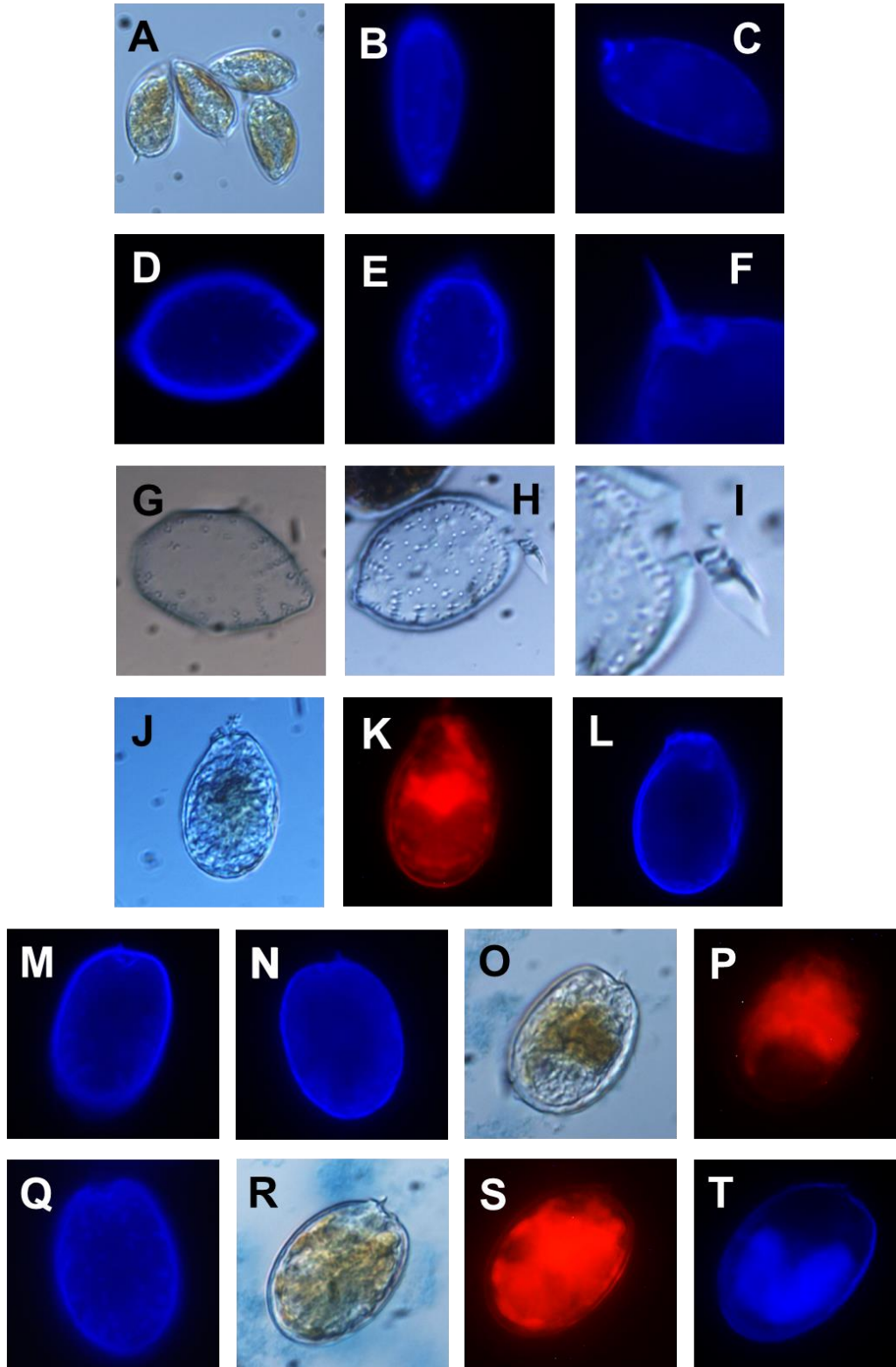


**Lámina 4.** Microscopía de epifluorescencia de *Ostreopsis lenticularis* (cepa SO4). A-D) Vista apical, placas apicales, precingulares, y dos tipos de poros de la superficie tecal (flechas blanca y roja). E-G) Vista antapical, placas antapicales y postcingulares. H-M) Quistes.

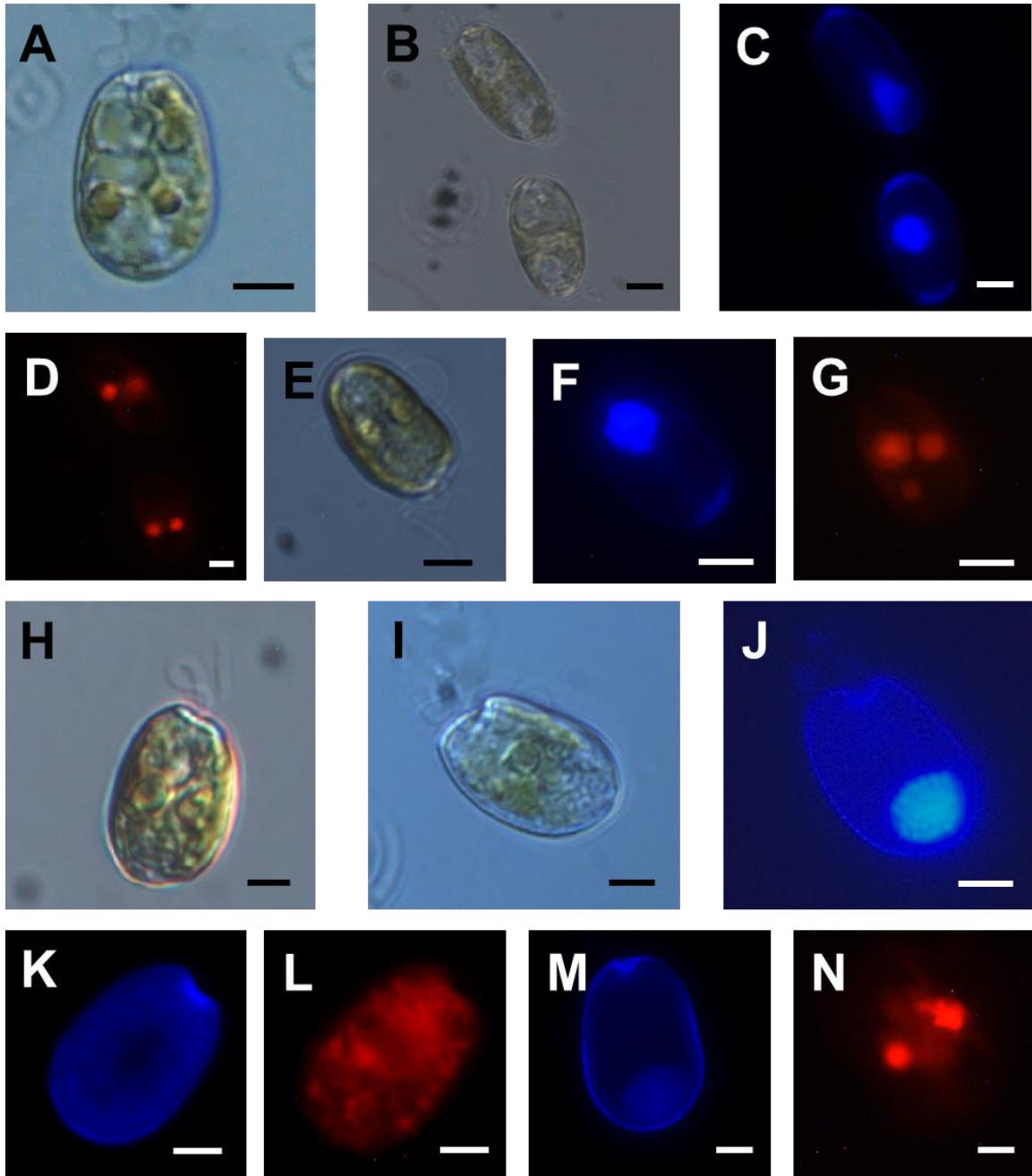




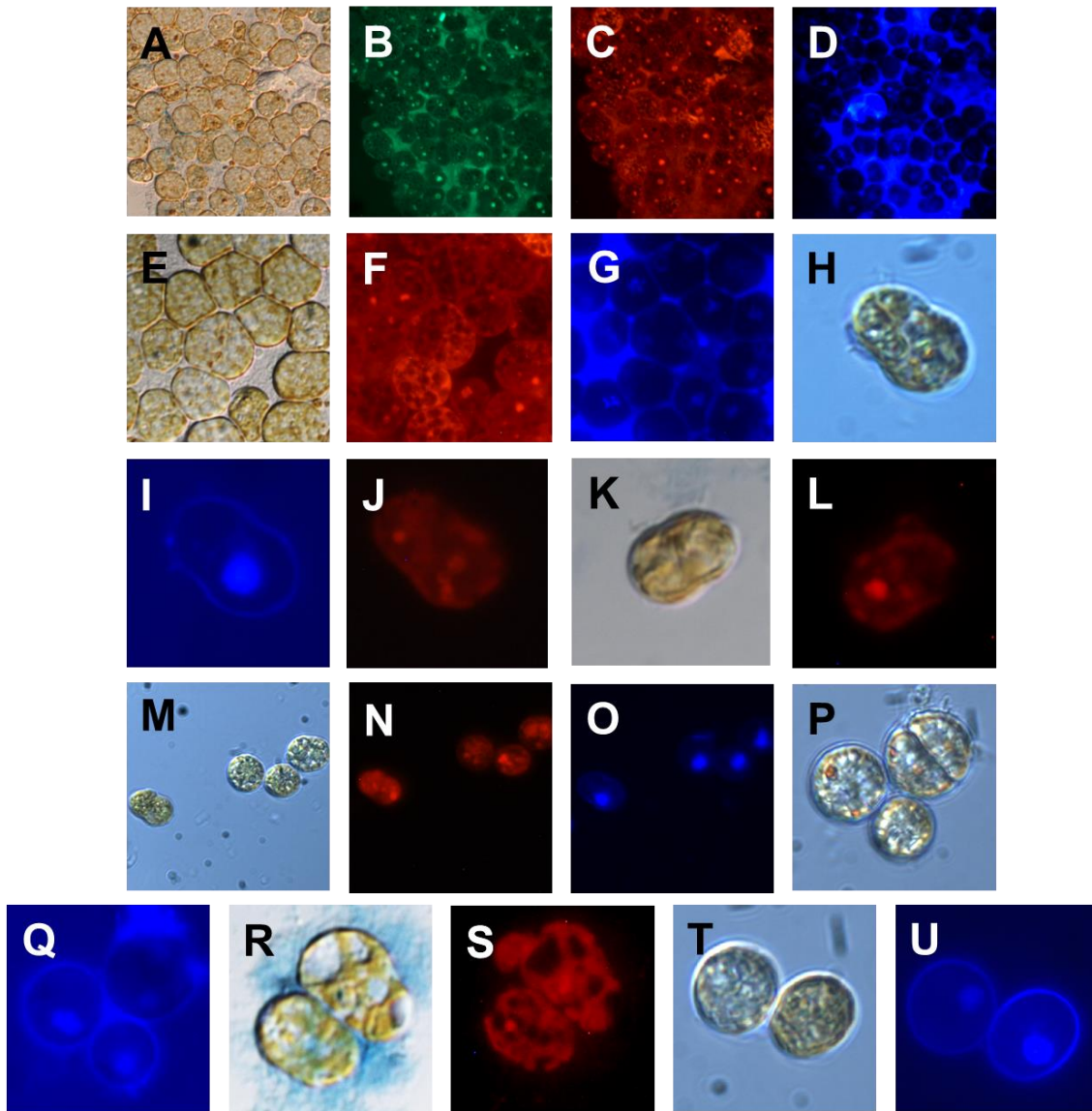
**Lamina 5.** Microscopía de epifluorescencia de *Ostreopsis ovata*. A-K) cepa SO2. L-N) cepa SO3. A) Microscopía fotónica, vista apical. B y M) Autofluorescencia de la clorofila. C y N) Tinción del núcleo con DAPI. D-K) Tinción de tecas con calcoflúor.



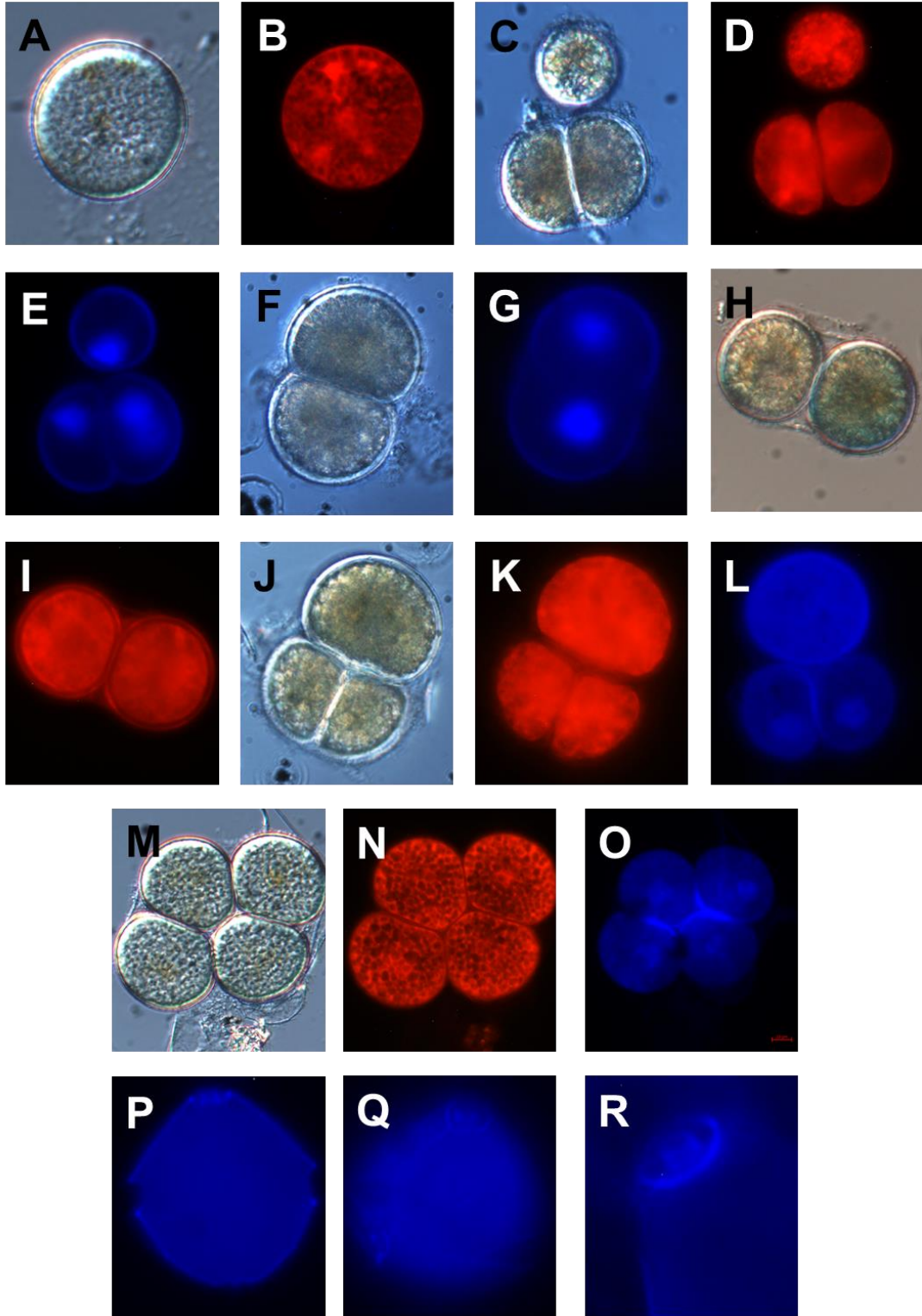
**Lámina 6.** Microscopía de epifluorescencia de *Prorocentrum* spp. A-C) *P. triestinum*. D-I) *P. koreanum* (cepas s/i 35 y RP1). J-T) *P. rathymum*. A, J, O y R) Microscopía fotónica. K, P y S) Autofluorescencia de la clorofila. T) Tinción del núcleo con DAPI. B-F, M, N y Q) Tinción de tecas con calcoflúor. G-I) Tinción de tecas con azul de tripano.



**Lamina 7.** Micrografías de epifluorescencia de *Prorocentrum norrisianum*. A-G) Cepa s/i 44. H-N) Cepa BAPAZ. A, B, E, H-I) Microscopía de fotónica. C, F, J y M) Tinción con DAPI, muestra la posición y forma del núcleo. K) Tinción de la teca con calcoflúor. D, G, L y N) Imágenes de epifluorescencia de los cloroplastos. Barra de escala de 5 µm.



**Lámina 8.** Micrografías de epifluorescencia de *Symbiodinium natans*, cepa s/i 53. A, E, K, M, P, R y T) Microscopía de fotónica. B, C, F, J, L, N y S) Cloroplastos. D, G, I, O, Q y U) Tinción con DAPI, muestra la posición del núcleo en los diferentes estados reproductivos.



**Lámina 8.** Micrografías de epifluorescencia *Vulcanodinium rugosum*, cepa B2. A, C, F, H, J y M) Microscopía de fotónica. B, D, I, K y N) Imágenes de epifluorescencia de los cloroplastos. E, G, L y O) Tinción con DAPI, muestra la posición del núcleo en los diferentes estados reproductivos. P, Q y R) Tinción de la teca con calcoflúor.

**Anexo IV.** Tipo de hábitat, distribución, ecología y toxicidad de las especies reportadas en este estudio.

### 1- *Amphidinium carterae*

*Hábitat:* Se considerada bentónica, habita sobre macroalgas y sustratos blandos como arena y fango, ha sido encontrada en esteros, muestras de estromatolitos y en muestras de agua de red (Al-Qassab *et al.*, 2002; Shah, An & Lee, 2013; Hoppenrath *et al.*, 2014). También ha sido reportada como simbiote en la medusa *Cassiopea xamachana* Bigelow en el mar Caribe (Murray *et al.*, 2004).

*Distribución:* Presenta una distribución cosmopolita. Ha sido reportado en las aguas costeras del Reino Unido (Dodge & Hart-Jones, 1982), Italia (Murray *et al.*, 2012b), España (Seoane *et al.*, 2018; Wellkamp *et al.*, 2020), Grecia, Egipto (Ismael, Halim & Khalil, 1999), Kuwait (país árabe), Noruega, Dinamarca, Mar de Frisia, Portugal (Sampayo, 1985), costas de los E.U.A. y Canadá (Murray *et al.*, 2012b; Hoppenrath *et al.*, 2014), Belice (Faust, 1995), Australia (Al-Qassab *et al.*, 2002; Murray *et al.*, 2012), Malasia, Tailandia, Japón y Brasil (Wellkamp *et al.*, 2020). En México *Amphidinium carterae* y *Amphidinium cf. carterae* han sido reportadas en la Bahía de la Paz, B.C.S (Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006; 2012; Gárate-Lizárraga *et al.*, 2019).

*Ecología y toxicidad:* Cepas de *Amphidinium carterae* pueden producir amphidinoles y análogos, macrólidos, hemosilinas, estos presentan actividad ictiotóxica (Yasumoto *et al.*, 1987; Huang *et al.*, 2004; Murray *et al.*, 2012a; Zeng *et al.*, 2012; Wellkamp *et al.*, 2020). En cepas de España se ha reportado la producción de carotenoides y ácidos grasos (Seoane *et al.*, 2018).

### 2- *Amphidinium cf. operculatum*

*Hábitat:* Ha sido reportada habitando distintos sedimentos marinos, como arena, macroalgas (ej. *Padina*) y en tapetes de estromatolitos (Al-Qassab *et al.*, 2002; Shah, An & Lee, 2013). En este estudio las células fueron aisladas de macroalgas del género *Sargassum*.

*Distribución:* Es cosmopolita, con localidad tipo en las costas de Noruega (Guiry & Guiry, 2022). Se ha reportado en el Atlántico en las islas Canarias; en Europa en el Mar Báltico, Mar Negro, Portugal, Gran Bretaña, Islas Británicas, Alemania, Escandinavia, Mediterráneo y Rumanía (Guiry & Guiry, 2022). También se ha reportado en los mares de Arabia Saudita, China, Corea (Shah, An & Lee, 2013), Japón, Rusia, Australia (Al-Qassab *et al.*, 2002), Nueva Zelanda e Islas Guam (Guiry & Guiry, 2022). Mientras que, en Latinoamérica se ha reportado en México (Baja California Sur y Veracruz) y Brasil (Okolodkov & Gárate-Lizárraga, 2006; Moreira-González *et al.*, 2019; Mejía-Camacho *et al.*, 2021).

*Ecología y toxicidad:* La información de la especie es escasa, sin embargo, se maneja que las especies del género *Amphidinium* son capaces de producir policétidos de cadena corta y larga. Además de macrólidos, los cuales pueden tener actividad citotóxica y hemolítica. Actualmente, estos compuestos están siendo empleados para pruebas contra células cancerígenas (Murray *et al.*, 2012b; Mejía-Camacho *et al.*, 2021).

### 3- *Coolia malayensis*

*Hábitat:* Principalmente bentónico, habitando de manera epifita sobre macroalgas, pastos marinos y mangle, en sustratos duros se suele encontrar en arena, roca y coral vivo y muerto (Leaw *et al.*, 2010; Hoppenrath *et al.*, 2014; Rahman-Shah *et al.*, 2014; Wakeman *et al.*, 2015; Arbeláez *et al.*, 2017; Leung *et al.*, 2017).

*Distribución:* Es considerada una especie cosmopolita (Leaw *et al.*, 2016). Ha sido reportada en Hong Kong (Leung *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2020), China (Leaw *et al.*, 2016), Malasia (Leaw *et al.*, 2010; Mohammad-Noor *et al.*, 2013), Golfo de Vizcaya e Islas Canarias, España (Fraga *et al.*, 2008; Laza-Martínez, Orive & Miguel, 2011), en las costas de Belice, Brasil y Puerto Rico (Leaw *et al.*, 2016; Moreira-González *et al.*, 2019; Tibiriçá *et al.*, 2020). En México se

ha reportado en el sur del Golfo de California, en la Bahía de La Paz (Sepúlveda Villarraga, 2013; Morquecho *et al.*, 2022; Ramos-Santiago *et al.*, 2022). En el Pacífico Sur Occidental se ha reportado en las Islas Cook (Rhodes *et al.*, 2010), Northland, Nueva Zelanda, y en el centro de la Gran Barrera de Coral, Australia (Laza-Martínez *et al.*, 2011; Momigliano *et al.*, 2013).

*Ecología y toxicidad:* La especie *C. malayensis* es capaz de producir análogos de la yesotoxina, gambierona, del ácido okadaico y azaspirácido (Wakeman *et al.*, 2015; Leaw *et al.*, 2016; Leung *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2020; Tibiriçá *et al.*, 2020). Los compuestos antes mencionados pueden ser citotóxicos, tener actividad hemolítica, provocar hipotermia e insuficiencia respiratoria en los ensayos en ratón, y mortalidad de 80 a 100% en el copépodo *Tigriopus californicus*, el crustáceo *Artemia franciscana* y otros invertebrados marinos como *Heliocidaris crassispina* (Leung *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2020).

#### 4- *Gambierdiscus carpenteri*

*Hábitat:* El género es considerado epibentónico, habitando sobre macroalgas como *Dictyota* spp., *Padina* sp., *Phyllospora* sp., *Halimeda monile*, entre otras; sobre pastos marinos, arena y coral (Litaker *et al.*, 2009; Kohli *et al.*, 2014; Murray *et al.*, 2014; Xu *et al.*, 2016; Larsson *et al.*, 2018).

*Distribución:* La especie tiene su localidad tipo en Belice, y se ha hipotetizado que presenta una distribución global debido a que en estudios de laboratorio muestra una alta tolerancia a las condiciones ambientales como son: la temperatura, salinidad e irradiancia (Litaker *et al.*, 2009, 2010; Xu *et al.*, 2016). *Gambierdiscus carpenteri* ha sido reportado en Cancún, México (Litaker *et al.*, 2017), Florida (Rains & Parsons, 2015; Xu *et al.*, 2016), Carolina del Norte, Islas Marianas, Isla Guam, Islas Fiji (Litaker *et al.*, 2009), Australia (Kohli *et al.*, 2014; Sparrow *et al.*, 2017; Larsson *et al.*, 2018) y Filipinas (Vacarizas *et al.*, 2018).



*Ecología y toxicidad:* La toxicidad en la especie había sido desconocida (Litaker *et al.*, 2009), sin embargo, se ha reportado que cepas de Australia producen maitotoxina-3 y compuestos similares a este, en organismos cultivados entre los 18 a 27 °C (Kohli *et al.*, 2014; Larsson *et al.*, 2018). En el Caribe y Golfo de México han detectado baja concentración de ciguatoxinas (1.4 fg) en esta especie (Litaker *et al.*, 2017). En ensayos en ratón cepas de Australia con una dosis de 2.4 mg kg<sup>-1</sup> provocaron disminución de la frecuencia y parálisis respiratorias (Kohli *et al.*, 2014). Aunado a lo anterior, la especie se encuentra en la lista de especies productoras de florecimientos algales de la IOC-UNESCO (Lundholm *et al.*, 2023).

#### 5- *Ostreopsis lenticularis*

*Hábitat:* Se considera epibentónica debido a que se ha reportado en muestras de macroalgas, sustratos artificiales recolectados entre los 1 a 5 m de profundidad (Chomérat *et al.*, 2019b; Borsato *et al.*, 2020; Carnicer *et al.*, 2020) y de raspaduras de invertebrados bentónicos (Carnicer *et al.*, 2020).

*Distribución:* Ha sido reportada en las costas de China (Zhang *et al.*, 2018), el Archipiélago de Fernando de Noronha, Brasil, en el Atlántico Sur (Borsato *et al.*, 2020), la reserva marina de las Islas Galápagos (Carnicer *et al.*, 2020). Además de contar con reportes en el Mar Caribe y el Pacífico mexicano (Hoppenrath *et al.*, 2014; Gárate-Lizárraga, González-Armas & Okolodkov, 2018), así como en Malasia y la Polinesia Francesa (Hoppenrath *et al.*, 2014; Chomérat *et al.*, 2019a).

*Ecología y toxicidad:* Los estudios de aislados de *Ostreopsis lenticularis* del Océano Pacífico muestran que no presentan compuestos tóxicos (Chomérat *et al.*, 2019a; Carnicer *et al.*, 2020), pero no existen análisis de toxinas de cepas identificadas genéticamente procedentes del océano Atlántico y del Caribe. Por lo anterior, los estudios sobre toxicidad de *O. lenticularis* que no se acompañen de análisis moleculares deben reevaluarse. Por otro lado, se ha reportado que la especie y sus simbiontes (bacterias *Pseudomonas* sp.) producen ácidos grasos (Carballeira *et al.*, 1998).

## 6- *Ostreopsis ovata*

*Hábitat:* Es epibentónica y epifita, se puede encontrar habitando sobre macroalgas (ej. *Stypocaulon* sp. y *Acetabularia* sp.) y pastos marinos, además, se han aislado células de muestras de raspaduras de invertebrados bentónicos (Selina & Orlova, 2010; Bravo *et al.*, 2012; Brissard *et al.*, 2014; Ciminiello *et al.*, 2014; Gómez *et al.*, 2017; Carnicer *et al.*, 2020; Chomérat *et al.*, 2022). Aunado a lo anterior, la especie ha sido reportada de muestras planctónicas (Rhodes *et al.*, 2020).

*Distribución:* *Ostreopsis ovata* tiene su localidad tipo en la Polinesia Francesa y Nueva Caledonia, Océano Pacífico (Guiry & Guiry, 2022). Así mismo, *O. ovata* y *Ostreopsis* cf. *ovata* han sido reportadas en Europa en las Costas de Italia, Francia (Amzil *et al.*, 2012; Bravo *et al.*, 2012; Pezzolesi *et al.*, 2012; Accoroni *et al.*, 2014; Ciminiello *et al.*, 2014; Chomérat *et al.*, 2022), Mar Adriático (Ninčević Gladan *et al.*, 2019), Portugal y la Península Ibérica (David *et al.*, 2013); en Asia en el Golfo Pérsico (Hoppenrath *et al.*, 2014), Japón (Selina & Orlova, 2010) y sur de China (Zhang *et al.*, 2018); en Nueva Zelanda (Rhodes *et al.*, 2020); en América en Cuba (González, 2014), el Mar Caribe (Hoppenrath *et al.*, 2014), la reserva marina de las Islas Galápagos (Carnicer *et al.*, 2020) y Brasil, Atlántico Sudoccidental (Nascimento *et al.*, 2012; Gómez *et al.*, 2017).

*Ecología y toxicidad:* La proliferación de *Ostreopsis* cf. *ovata* y *O. ovata* se asocian con la presencia palitoxinas, palitoxina isobárica, ovatoxina-a, b, c, d, e, f, g y mascarenotoxina-a y c en muestras de campo y cultivo (Nascimento *et al.*, 2012; Brissard *et al.*, 2014; García-Altres *et al.*, 2015; Chomérat *et al.*, 2022). Además, produce compuestos similares a la palitoxina (Honsell *et al.*, 2013). Las palitoxinas se han encontrado acumuladas en equinodermos (erizos) y bivalvos (mejillones), con máximos de 450 µg eq/kg y 230 µg eq/kg de carne total, respectivamente (Amzil *et al.*, 2012). En estudios donde se buscaba la presencia de toxinas de *Ostreopsis* cf. *ovata* a diferentes profundidades, encontraron que las células pelágicas (5 m profundidad) de dicha especie debido a la poca abundancia dichas toxinas no eran detectables, en comparación de muestras obtenidas en el fondo donde la

abundancia celular era mayor encontrando mayor ovatoxinas-a (Brissard *et al.*, 2014). Cepas de *Ostreopsis* cf. *siamensis* y *O.* cf. *ovata* de la costa francesa confirmaron la relación de florecimientos de estas especies con 674 casos de intoxicación (síntomas respiratorios y cutáneos) por contacto directo e inhalación de aerosoles de toxinas producidas por dichas especies, principalmente ovatoxinas-a (Chomérat *et al.*, 2022). Las ovatoxinas en aerosoles se ha reportado en el Mar Mediterráneo (Ciminiello *et al.*, 2014). Por otro lado, las toxinas analizadas de muestras de *O.* cf. *ovata* de la reserva Marina de la Isla Galápagos se encontraron por debajo del límite de detección (Carnicer *et al.*, 2020).

#### 7- *Prorocentrum koreanum*

*Hábitat:* Debido a que la especie fue descrita recientemente, (Han *et al.* 2016) no existen más registros sobre los sustratos que podría habitar. En dicho registro *P. koreanum* fue encontrada en muestras de aguas superficiales, siendo planctónica. Sin embargo, en este estudio la especie ha sido observada en muestras de fondo en sustrato fangoso y macroalgas. Por lo anterior, la especie debe considerarse ticoplanctónica, con ocurrencia en los dos tipos de hábitat marinos (planctónico y bentónico).

*Distribución:* Los registros de *P. koreanum* son escasos, la especie fue reportada por primera vez en las costas de Japón y Corea (Han *et al.*, 2016); posterior a esto, se reportó en La Paz, B.C.S. (Villa-Arce, 2021).

*Ecología y toxicidad:* No existen datos sobre la toxicidad de esta especie.

#### 8- *Prorocentrum norrisianum*

*Hábitat:* Ha sido aislada de detritos flotantes en zonas intermareales de manglares (Faust, 1997), macroalgas, coral muerto, arena (Mohammad-Noor *et al.*, 2004) y sedimentos superficiales (Chomérat *et al.*, 2019).

*Distribución:* Existen pocos registros de *Prorocentrum norrisianum* y *P. cf. norrisianum*, la descripción de la especie se realizó con muestras de Cayos Gemelos y Belice (Faust, 1997). Posteriormente, la especie se reportó en Malasia (Mohammad-Noor *et al.*, 2004), mientras que *P. cf. norrisianum* se ha reportado en Isla Martinica, en el Caribe (Chomérat *et al.*, 2019).

*Ecología y toxicidad:* No existen datos sobre la posible toxicidad de *P. norrisianum* y *P. cf. norrisianum*.

### 9- *Prorocentrum triestinum*

*Hábitat:* *Prorocentrum triestinum* es una especie planctónica, sin embargo, en este estudio se ha observado en muestras bentónicas y en Nueva Zelanda fue encontrada en muestras del césped coralino (Rhodes & Smith, 2019). Por lo anterior, la especie debe ser considerada como ticoplanctónica.

*Distribución:* Ha sido reportada en Puerto Triestino, Santa Cruz, Italia (Tillmann *et al.*, 2022); Mar Adriático nororiental (Viličić *et al.*, 2009); Mar Mediterráneo (Gómez, 2003); Mar negro (Zotov, 2018); Islas Canarias (Afonso-Carrillo, 2014); China, Corea y Rusia (Guiry & Guiry, 2022); Nueva Zelanda (Rhodes & Smith, 2019); Helena Bay, Sudáfrica (Ndhlovu *et al.*, 2017); Brasil y Colombia (Guiry & Guiry, 2022); Sureste del Pacífico mexicano (Torres-Ariño *et al.*, 2019) y Bahía Almejas, en el océano Pacífico, México (Gárate-Lizárraga *et al.* 2007). Debido a que la mayoría de los estudios anteriores son listados taxonómicos que carecen de evidencia fotográfica, y por la problemática de la especie se debe tomar con cautela la distribución de la especie (*véase* apartado de Discusión del grupo).

*Ecología y toxicidad:* No existen registros sobre la toxicidad de la especie. No obstante, se han reportado florecimientos de esta especie en Sudáfrica, donde causó mortalidad de langostas (*Jasus lalandii*) por anoxia (Ndhlovu *et al.*, 2017); y en Bahía Almeja, México

donde igual causó mortalidad de peces por disminución de oxígeno (Gárate-Lizárraga *et al.* 2007).

#### **10- *Prorocentrum concavum***

*Hábitat:* Epifitos habitando sobre macroalgas, pastos marinos (Zou *et al.*, 2022), arrecifes de coral (Saburova *et al.*, 2009; Luo *et al.*, 2017; Zou *et al.*, 2022), arena y fango (Saburova *et al.*, 2009; Luo *et al.*, 2017).

*Distribución:* Con reportes en las costas de China y Tailandia (Luo *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2022; Zou *et al.*, 2022); Malasia (Lim *et al.*, 2019); Golfo de Arabia, Kuwait (Saburova *et al.*, 2009); Islas Vírgenes, E.U.A. (Dickey *et al.*, 1990); Isla de Martinica, en el Mar Caribe (N. Chomérat, Bilien & Zentz, 2019); Isla de Coco, Costa Rica (Vargas-Montero *et al.*, 2017) y costas de Panamá (Grzebyk *et al.*, 1998).

*Ecología y toxicidad:* Del total de especies de *Prorocentrum*, se ha observado que diez especies epibentónicas, incluida *Prorocentrum concavum* pueden producir ácido okadaico y derivados metílicos (Lim *et al.*, 2019). En cepas del Caribe el ácido okadaico fue identificada por medio de cromatografía líquida de alto rendimiento (Dickey *et al.*, 1990). Sin embargo, estudios toxicológicos de cepas de Australia y China no han corroborado la presencia de toxinas para esta especie (Luo *et al.*, 2017; Verma *et al.*, 2019; Zou *et al.*, 2022).

#### **11- *Prorocentrum rhathymum***

*Hábitat:* Epífita, habita sobre macroalgas y pastos marinos (*Cymodocea nodosa* y *Thalassia testudinum*) (Mohammad-Noor *et al.*, 2004; Aligizaki *et al.*, 2009; Gómez, Qiu & Lin, 2017; Luo *et al.*, 2017). Epipélicos sobre sedimento superficial (polvo orgánico) (Chomérat *et al.*, 2019). Epipsámicos sobre arena (Gómez, Qiu & Lin, 2017; Luo *et al.*, 2017). Epizoicos sobre coral (Fukuyo, 1981; Mohammad-Noor *et al.*, 2004; Luo *et al.*, 2017). Además, se reporta

que la especie se ha encontrado en la columna de agua, por lo que se maneja que la especie es ticoplanctónica, pudiendo encontrarse en hábitats bentónicos y planctónicos (Gárate-Lizárraga & Martínez-López, 1997; Aligizaki *et al.*, 2009).

*Distribución:* La localidad tipo de la especie se encuentra en el Mar Caribe en las Islas Vírgenes (Guiry & Guiry, 2022). También ha sido reportada en la Isla Dinawan, Sabah (Al-Has & Mohammad-Noor, 2011); Mar Arábigo (Gul & Saifullah, 2011a; Naik *et al.*, 2018); España, Grecia (Aligizaki *et al.*, 2009; Lim *et al.*, 2013), Isla de Martinica, Francia (N. Chomérat, Bilien & Zentz, 2019), Malasia (Mohammad-Noor *et al.*, 2004; Lim *et al.*, 2013), Filipinas (Onda *et al.*, 2013), Mar del norte de China (Luo *et al.*, 2017), Isla Jeju en Corea (Aligizaki *et al.*, 2009; Lim *et al.*, 2013) y Japón (Fukuyo, 1981). Existen reportes en Florida, EE. UU. (An *et al.*, 2010; Laza-Martínez, Orive & Miguel, 2011; Lim *et al.*, 2013), Puerto Rico, Belice y Brasil (Lim *et al.*, 2013; Gómez, Qiu & Lin, 2017). En México *P. mexicanum* y *P. rhathymum* se han reportado en Baja California Sur (Gárate-Lizárraga & Martínez-López, 1997; Hernández-Becerril *et al.*, 2000; Lim *et al.*, 2013; Almazán-Becerril *et al.*, 2015).

*Ecología y toxicidad:* La especie produce compuestos con actividad hemolítica, toxinas hidrosolubles de acción rápida, prorocontrolidos, dinofisistoxinas DTX 1 y en ensayos de laboratorio ha sido letal para nauplios de *Artemia* (Nakajima, Oshima & Yasumoto, 1981; Gárate-Lizárraga & Martínez-López, 1997; Pearce *et al.*, 2005; Aligizaki *et al.*, 2009; An *et al.*, 2010; Naik *et al.*, 2018). En Grecia y México se ha reportado formando florecimientos (Gárate-Lizárraga & Martínez-López, 1997; Aligizaki *et al.*, 2009).

## **12- Clado A- *Symbiodinium natans***

*Hábitat:* El grupo es planctónico de vida libre. Aislados se han obtenido de muestras de columna de agua y pozas de mareas (Yamashita & Koike, 2013). No obstante, se ha reportado sobre diferentes sustratos marinos bentónicos, por ejemplo: arena, en la macroalga *Chondrus crispus* (Yamashita & Koike, 2013) sobre corales, y otros animales marinos como moluscos

y cnidarios (Yamashita & Koike, 2013; de Palmas *et al.*, 2015). En este estudio los organismos fueron aislados de la anemona *Actinostella* sp. (Fig. 52).

*Distribución:* El género *Symbiodinium* tiene una amplia distribución, sin embargo, la especie *S. natans* tiene su localidad tipo en Callao Salvaje en Tenerife, Islas Canarias (Hansen & Daugbjerg, 2009; Guiry & Guiry, 2022), también se ha reportado en Japón y Hawái (Yamashita & Koike, 2013).

*Toxicidad:* La especie no es tóxica.

### 13- *Vulcanodinium rugosum*

*Hábitat:* Debido a que *V. rugosum* presenta un ciclo reproductivo que incluye fases bentónicas y planctónicas es considerada meroplanctónica (Morquecho *et al.*, 2016). Las células móviles y quistes han sido aislados de muestras de la columna de agua (Nézan & Chomérat, 2011; Hernández-Becerril *et al.*, 2013); de macrófitos en zonas someras-rocosas y de sedimentos superficiales arenosos y detritus (Rhodes *et al.*, 2011; Zeng *et al.*, 2012; Garrett *et al.*, 2014).

*Distribución:* La especie fue descubierta en el 2011 en una laguna de la costa Mediterránea Francesa (43° 26' 10" N, 3° 46' 25" E), siendo este sitio la localidad tipo del género (Nézan & Chomérat, 2011). También ha sido reportada en Japón, China, Australia, Nueva Zelanda, Hawaii, Francia, Florida y Cuba (Takada *et al.*, 2001; Rhodes *et al.*, 2011; Zeng *et al.*, 2012; Hoppenrath *et al.*, 2014; Moreira-González *et al.*, 2021). En México ha sido reportada en las costas de Michoacán y en Baja California Sur (Hernández-Becerril *et al.*, 2013; Morquecho *et al.*, 2016).

*Ecología y toxicidad:* *Vulcanodinium rugosum* es la única especie que produce pinnatoxinas (PnTX), neurotoxina detectada en muestras de mariscos de Japón, China, Australia, Nueva Zelanda, Hawaii y Francia (Rhodes *et al.*, 2011; Zeng *et al.*, 2012; Hoppenrath *et al.*, 2014). Las PnTX son toxinas del tipo de iminas cíclicas, siendo la serie pinnatoxina A la primera en

describirse en 1995 y aislada del bivalvo *Pinna muricata* (Uemura *et al.*, 1995). Las pinnatoxinas más potentes son las series B y C aisladas del bivalvo *Pinna muricata* en Okinawa, Japón (Takada *et al.*, 2001). Se ha demostrado que las pinnatoxinas presentan citotoxicidad ya que detienen el ciclo celular y producen rupturas del ADN en células de Neuro2A, además tiene efectos en invertebrados marinos como los moluscos (*ej.* síntomas neurológicos). Sin embargo, no se ha demostrado que tenga un efecto en el humano (Nézan & Chomérat, 2011; Rhodes *et al.*, 2011; Geiger *et al.*, 2013).

La especie produce diferentes PnTX dependiendo de su zona geográfica, por ejemplo, se ha reportado que cepas de Nueva Zelanda y Australia producen pinnatoxinas E, F y G, mientras que cepas de Japón solo producen pinnatoxinas G y cepas del sur de China producen pinnatoxinas H (Rhodes *et al.*, 2011; Selwood *et al.*, 2014). Aunado a lo anterior, algunas cepas producen mayor concentración de toxinas, tal es el caso de cepas de China. En el trabajo de Abadie *et al.* (2016) observaron que las concentraciones mayores de pinnatoxina-G (0.36 a 0.19 pg cel.) se presentaron en la fase estacionaria de cultivo a temperaturas entre 25 y 30 °C y a una salinidad de 30.

*Vulcanodinium rugosum* también produce la Portimina, una toxina de tipo éter policíclico la cual tiene una fracción de imina cíclica de un anillo con cinco miembros de carbono, y un anillo tetrahidrofurano (Selwood *et al.*, 2013; Garrett *et al.*, 2014; Molgó *et al.*, 2017; Moreira-González *et al.*, 2021). Se ha documentado que las cepas que no producen pinnatoxinas pueden producir portiminas. A pesar de ser menos tóxica, la portimina es altamente citotóxica (Garrett *et al.*, 2014). La toxina es capaz de activar la caspasa-3, exhibe la fosfatidilserina lo que inicia la apoptosis celular (Cuddihy *et al.*, 2016).

En el trabajo de (Moreira-González *et al.*, 2021) reportan el primer florecimiento algal nocivo (FAN) de *V. rugosum* en la Bahía de Cienfuegos, al sur de Cuba. El FAN lo detectaron en zonas poco profundas de la Bahía, en temporadas de lluvias (julio a septiembre del 2015). Dicho FAN tuvo impactos en la población, 60 personas que tuvieron contacto prolongado (>2 hrs) con el florecimiento presentaron problemas agudos en la piel. La mayoría de los pacientes estuvieron alrededor de cinco días de hospitalización. Las muestras que analizaron contenían pinnatoxinas F y E (441.8 fg cell<sup>-1</sup> y 94.2 fg cell<sup>-1</sup>, respectivamente) y portiminas (356.6 fg cell<sup>-1</sup>). Recientemente Leyva-Valencia *et al.* (2021) reportaron la acumulación de



PnTX E, F y G en tejidos de *Atrina maura* en la Bahía de La Paz, sin embargo, los autores no lograron identificar al organismo productor de estas toxinas durante sus muestreos.

**Anexo V.** Secuencias cortas no incluidas en los análisis filogenéticos, en las que se realizó edición y el análisis BLAST.

Cepa	Secuencia	Tamaño	Región (ADNr)	Identidad (%)	Especie similar
CT4	ACATGTGTTGCATCATT GTTAAACAAAAGCCATA CATATTTGTATCAGAAAT GTGTGTTTGTGGCAAT GAATGTATAAGTTCAACA TGTGATGAAGAAAGTAG CCAAATGCAAATAATATT TGTGAAATGCAGAATCCC GTGAATCAATTCATGTTG AATGTGTCTGGCATCTAT GGGATATGCTTGAAGATA TGTTTCGATTCAATGTCGA ATGTGTTTGTATGAATGT GTACAATGTGTTTGAGTG ATCACCTTGCACATTTGT TGTTGTATGT	278	5.8S	96	<i>C. malayensis</i>
TC12	AAGAAGGATCATTGTGT TTCAATTTATCATTTTCTG AATGAATATCAGGATGG CAACATCATTTTACATGT GTTGCCATCATTTTAAAC CAAAGCCATACCATATTT GTATCATGAATGTGTGTT TGTTTGGCAATGAATGTA TAAGTTCAACATGTGATG AAGAATGTAGCCAAATG CAATAATATTTGTGAAAT GCAGAATCCCGTGAATCA ATTCATGTTTGAATGTGT CTGGCATCTTTGGGATAT GCTTGAAGATATGTTTCGA TTCAATGTGCGAATGTGTT TGTATGAATGTGAAT	296	5.8S	99	<i>C. malayensis</i>

Predfiel d	AAAGTGCCTGAAATTGAT GAAAGGGAAGCGAATGG AACCAGTGCCTTGGTGA AATTGTCACATGGATTCC ATGTGGTGGTTCTTGCCT TGTGTGTCATTGCCAGTT TGCGTTCGAGGAAAAGTGC CAGACACATGGTAGCCTA GCCTCGGCTGGGTGAATG TGTCTGGTAGAACTCATT CGCGTACTTTTTCTGTGT CTGGTTGCAGTGCTCTGT CCCATCTGGGGGTGGCTG GAGAGGGAGTTACTCCAT TCAGGGATCAGCTCAGCA TGAAATTGGGGCCTTGG CC	245	28S	96	<i>P. triestinum</i>
Proro 1	AAAATATTGGTTCGAGAC CGATAGCAAACAAGTGC CATGAGGGAAAGGTGAA AAGGACTTTGAAAAGAG AGTTAAAAGTGCCTGAA ATCCTGAAAGGGAAGCG AATGGAACCAGTATTGGT TGGCGAAATTGTCATACG CATTGCGTGTGGTGGTT CTTGCCTTGTGTGTCAAC GCCAGTTCTCGATCGAGG AAAAGTCTTGGGACATGG TAGCCTGTCTTCGGGCGG GTGAATGTGCCTTGTAGA ACTCATTTGCGGACTGAT TACTTCGTGTCTGGTTGC AGCGCTTCTTGTGCTTG GACGTGCTTGGGCGTGGG AGCTTGCTCCTCGCGCCC AGCGCTCTGGTGAAGTGGG CGCT	359	28	98	<i>P. mexicanu m/P. rhathymu m</i>
N	CAATTGTTCACTGTGACT GAACTTCGTGAGGGTCTG TGTGGGGGTGGAGATAG CATCAATACCTCTATGCA GGCGCTCGAGGGCAGTA AGCCAGGTTTGGACTGTC TTCCATTCTGCCCTGC TGCCACCTCTCTCATTG	283	ITS	98	<i>P. koreanum</i>

---

CTTCTCAGCATTATTGC  
ATCGTTTCTTCTCGAGTG  
GTTATCCACTTATCCATT  
CTATTACAACCTTTCAGCG  
ACGGATGTCTCGGCTCGA  
ACAACGATGAAGGGCGC  
AGCGAAGTGTGATAATG  
CTTGTGAATTGCAGAATC  
CAGTGCTCCAAAATACGA  
GTATGTTGAATTCCGCTC  
GTCTCTGTTTGCTCCAGC  
TGAACCGGAGGACAACCT  
TAGAAGTCTTTTATTCAA  
CGCATGACGCCACAGG  
ATCACAT

---

RP3

CTGGAATTTACGCTTTGC  
NTTTCTTCGGACAACAAG  
CGCGGCGCTCGGGTGCG  
ATCTCTAAGCGGTCGCAG  
AGGAGAGCATTTGCAGCT  
TGCCACGTCGTTGGCGTC  
AAGGAGCCACAACGCGG  
AAAGGGCTCACGCTCGTT  
TATAGCCTCTGCAGATAC  
GTAAATGCAGCGGCTACC  
CGCAGAATTCTATCATCG  
GCAG

200

ITS

93

*P.*  
*concauum*