

Avances en el estudio de los dinoflagelados (Dinophyceae) con la filogenia molecular

Advances on the study of dinoflagellates (Dinophyceae) with the molecular phylogeny

Fernando Gómez,^{1*} David Moreira² y Purificación López-García²

¹Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva, Universidad de Valencia, PO Box 22085, 46071 Valencia, España

²Unité d'Ecologie, Systématique et Evolution, CNRS UMR 8079, Université Paris-Sud, Bâtiment 360, 91405 Orsay Cedex, Francia
e-mail: fernando.gomez@fitoplancton.com

Gómez F., D. Moreira y P. López-García. 2011. Avances en el estudio de los dinoflagelados (Dinophyceae) con la filogenia molecular. *Hidrobiológica* 21(3): 343-364.

RESUMEN

Este estudio revisa los avances en el conocimiento de los dinoflagelados con la aplicación de la filogenia molecular. La mayor parte de las secuencias disponibles corresponden a los genes que codifican los ARNs de la subunidades pequeña y grande del ribosoma (SSU y LSU rADN, respectivamente). El marcador LSU rADN, con una mayor variabilidad de algunos dominios, ha sido especialmente usado en la diferenciación de especies, mientras que el gen SSU rADN es más resolutivo para la comparación entre géneros y la delimitación de clados que equivaldrían a las familias. Estos marcadores no permiten resolver la relación entre los órdenes clásicos y el número de secuencias disponibles de otros marcadores es aún insuficiente. Peridiniales, Gymnodiniales y Blastodiniales son claramente polifiléticos y la discusión continúa en el caso de Prorocentrales y Gonyaulacales (*Cryptothecodinium*, *Thecadinium*). Gymnodiniales es polifilético, pero en ningún caso las especies tecadas y atecadas aparecen en el mismo clado. Las diferencias en la tabulación suelen estar apoyadas por la filogenia molecular, mucho más que las diferencias en el hábitat, nutrición o apariencia general (i.e. *Blepharocysta-Roscoffia*). Los métodos habitualmente usados para la captura y la preservación del fitoplancton dejan detrás a una gran parte de la diversidad de dinoflagelados, en particular especies desnudas de pequeño tamaño y especies delicadas, así como multitud de especies parásitas o simbioses de invertebrados o protistas planctónicos. Faltan secuencias representativas de numerosos géneros conocidos, muchas de las secuencias ambientales permanecen sin caracterización morfológica ni funcional, y amplias regiones oceánicas, especialmente aguas profundas y fondos oceánicos, permanecen casi inexplorados.

Palabras claves: Dinoflagellata, Dinophyceae, fitoplancton, filogenia molecular, sistemática.

ABSTRACT

This study reviews the advances on the knowledge of the dinoflagellates with the application of the molecular phylogeny. Most of the available sequences correspond to the genes that codify the small and large subunits of the ribosomal RNA (SSU and LSU rDNA, respectively). The LSU rDNA marker, with several highly variable domains, has been preferentially used for the species separation, while the SSU rDNA marker is more useful for the separation at the genus level or to establish clades that may correspond to family ranks. These markers are unable to solve the interrelations between the classical orders, and the available sequences of other markers are still insufficient. Peridiniales, Gymnodiniales and Blastodiniales are polyphyletic, and Prorocentrales and Gonyaulacales (*Cryptothecodinium*, *Thecadinium*) are matter of debate. The clades of Gymnodiniales branched between clades of thecate dinoflagellates, although in no case armoured and unarmoured species branched in the same clade. In comparison with the type of habitat, nutrition or general appearance (i.e. *Blepharocysta-Roscoffia*), the differences in the tabulation are, in most of cases, supported by the molecular data. Unfortunately, the collection and preservation methods render our knowledge of a great portion of the dinoflagellate diversity, in particular small naked forms and delicate species, as well as parasites or symbionts

in marine invertebrates or protists. Sequences are lacking of numerous of the known genera, clades exclusively composed of environmental sequences have not been yet characterized, and extensive ocean regions, especially the deep and bottom ocean, remain nearly unexplored.

Key words: Dinoflagellata, Dinophyceae, molecular phylogeny, phytoplankton, systematic.

Abreviaturas: LSU, subunidad grande; *s.s.*, *sensu stricto*; rADN, ADN ribosómico; SSU, subunidad pequeña.

INTRODUCCIÓN

Los dinoflagelados presentan una gran diversidad morfológica y funcional: en su mayoría son unicelulares, pero algunos forman colonias o pseudo-colonias. Pueden tener cloroplastos, aunque pocas especies son estrictamente fotoautótrofos, muchos son mixótrofos y un gran porcentaje son heterótrofos obligados (fagótrofos o parásitos osmótrofos). Son componentes importantes del plancton, tanto de aguas continentales como marinas. Los dinoflagelados con unas 2,000 especies conocidas, son junto con las diatomeas uno de los grupos más diversos y abundantes del plancton en ambientes marinos (Gómez, 2005). Pueden formar simbiosis con protistas e invertebrados marinos, incluyendo radiolarios, foraminíferos, gusanos planos, anémonas, medusas y moluscos bivalvos. Géneros como *Symbiodinium* Freudenthal son fundamentales para la formación y el funcionamiento de los arrecifes de coral. En general, presentes tanto como productores primarios, heterótrofos y parásitos, son esenciales en los ambientes acuáticos.

Los dinoflagelados poseen características morfológicas y ultraestructurales únicas como su núcleo. El dinocarión tiene un enorme genoma desprovisto de las típicas histonas eucariotas, no pierde la membrana nuclear durante la división mitótica y los filamentos de cromatina están permanentemente condensados. Las células móviles presentan dos flagelos bien diferenciados, un flagelo transversal y ondulado que se aloja en el cíngulo, y el otro flagelo más convencional, que se dirige posteriormente alojado en el sulco. Estos dos flagelos desiguales proporcionan a los dinoflagelados un característico movimiento rotacional que da nombre al grupo. Muchos dinoflagelados presentan vesículas que contienen placas de celulosa que les dan un aspecto rígido. En estos dinoflagelados tecados, el número, forma y ornamentación de las placas se utiliza para la determinación de las especies. En otros casos la cubierta celular es más fina y no permite distinguir fácilmente las placas, son los llamados dinoflagelados atecados o desnudos.

Unas 60 especies de dinoflagelados producen potentes toxinas citolíticas, hepatotóxicas o neurotóxicas peligrosas para los seres humanos y otros organismos (*Alexandrium* Halim, *Dinophysis* Ehrenberg, *Gymnodinium catenatum* Graham). La aparición de estas toxinas está asociada con la proliferación de microalgas dañinas (en inglés *Harmful Algal Blooms*), comúnmente denominada mareas rojas. Otros grupos de dinoflagelados han recibido

especial atención por su emisión de luz, tales como *Pyrocystis* J. Murray ex Haeckel, *Pyrodinium* Plate y *Noctiluca scintillans* (Macartney) Kofoed, o bien las características peculiares de su núcleo han facilitado su uso como modelos en estudios genéticos (*Cryptocodinium* Biecheler).

El conocimiento de los dinoflagelados ha avanzado paralelamente a la tecnología disponible. Los primeros microscopios fabricados artesanalmente limitaban las observaciones a unos pocos investigadores (O.F. Müller, Ehrenberg). A partir de la década de 1880, los microscopios fueron más accesibles y el interés por los 'infusorios' hizo que el número de especies creciera rápidamente, especialmente en 1883 por los trabajos de Stein, Pouchet y Gourret. Sorprendentemente no fue hasta 1885 cuando se corrigió un grave error, y es que hasta entonces se creía que los dinoflagelados poseían una corona de cilios alrededor del cíngulo, en lugar de un solo flagelo ondulado. Los Cilioflagellata pasarían a Dinoflagellata y el número de especies seguiría aumentando, especialmente gracias a autores como C.A. Kofoed, que homogeneizó la nomenclatura de enumeración de las placas tecales con su tabulación kofoidiana en series latitudinales. El uso de la tabulación, número y disposición de placas tecales para su clasificación se generalizó, gracias a minuciosos estudios de investigadores como E. Balech. A partir de los años 1960 aparecieron los primeros estudios de microscopía electrónica que permitieron detalladas observaciones de la morfología externa y cortes de su ultraestructura. La clasificación de los dinoflagelados ha unificado los taxones basándose en caracteres morfológicos que se consideraban diagnósticos para cada grupo. En el caso de los dinoflagelados tecados se ha usado la tabulación, pero resulta más difícil definir criterios para la clasificación de dinoflagelados desnudos, como en el caso del orden Gymnodiniales. Aunque dos especies tengan similar tabulación, en la taxonomía clásica basada únicamente en la morfología no podemos asegurar que realmente hayan evolucionado a partir de un antecesor común o si por el contrario se trata de una convergencia evolutiva. Mientras que en organismos macroscópicos cabe la posibilidad de estudiar su evolución a partir de fósiles, sólo un pequeño porcentaje de dinoflagelados dejan un registro fósil en forma de quistes, y reconstruir la morfología o tabulación que tuvieron a partir de sus quistes no es una tarea simple. Además de éstos y otros temas, quedan por resolver cuestiones básicas como el origen evolutivo de sus estructuras únicas como el flagelo transversal o la pérdida de histonas.

En las últimas décadas se ha avanzado en las técnicas de cultivo, lo que puede ayudar a conocer su ciclo de vida, pero son aún pocas las especies que se mantienen en cultivo de forma permanente y no sabemos si los estados de vida y morfología que presentan en cultivos son similares en la naturaleza, puesto que en los cultivos se puede favorecer a los morfotipos o estadios de vida de crecimiento más rápido. Muchas especies presentan estadios con grandes diferencias morfológicas entre juveniles y adultos, como las Noctilucales, lo que ha llevado a que una misma especie reciba diferentes nombres y sea incluso clasificada en diferentes órdenes (*Gymnodinium lebouriae* Pavillard - *Spatulodinium* J. Cachon *et al.* Cachon). El estudio de todas estas cuestiones sobre la evolución de los dinoflagelados, las relaciones entre las especies, ciclos de vida en especies difíciles de cultivar, etc., se verá favorecido por la aplicación, especialmente en la última década, de técnicas de biología molecular. La filogenia molecular basada en la comparación de secuencias de ADN aparece como un nuevo recurso para avanzar en el conocimiento de los dinoflagelados. Este estudio pretende repasar el estado actual de la filogenia molecular y las perspectivas futuras.

APLICACIÓN DE LA FILOGENIA MOLECULAR

Los primeros estudios filogenéticos que requerían grandes cantidades de ADN se basaron en especies disponibles en altas densidades en cultivo como *Cryptothecodinium* o *Prorocentrum micans* Ehrenberg (Hinnebusch *et al.*, 1981). Dodge (1965) había propuesto un nuevo reino (Mesocariota), considerando que los dinoflagelados al carecer de histonas constituían un grupo intermedio entre procariotas y eucariotas. Las primeras secuencias de gen del ADN ribosómico 5S de *Cryptothecodinium* mostraban que los dinoflagelados no constituyen un clado basal y que están claramente posicionados en el linaje eucariota (Hinnebusch *et al.*, 1981). Sin embargo el gen ribosomal 5S con sólo 120 pares de bases es muy corto, por lo que contiene una información evolutiva muy limitada. Por esta razón se extendió posteriormente el uso del gen del ARN ribosómico de la subunidad pequeña del ribosoma (SSU rADN). Este gen se encuentra en todos los eucariotas, con un gran número de copias idénticas o similares y un mayor número de pares de bases que el 5S (~1800) (Hillis & Dixon, 1991). Otro gen que comenzó a usarse es el ARN ribosómico de la subunidad grande del ribosoma (LSU rADN), formado por varios dominios y que en general es menos conservado que el SSU rADN, presentando una mayor variabilidad. A partir de 1986, la nueva técnica de la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa) permitió multiplicar exponencialmente el número de copias de ADN de una muestra, facilitando la secuenciación de genes a partir de pequeñas cantidades de ADN de partida. Hasta entonces, los dinoflagelados se habían relacionado con las cromofitas, con la mayor parte de las macrofitas y microalgas. Sin embargo, en los primeros análisis filogenéticos moleculares realizados, los dinoflagelados aparecían agrupados con los protozoos ciliados, y sorprendentemente más

cercanos a los apicomplejos, esporozoos parásitos productores de enfermedades como la toxoplasmosis (*Toxoplasma* Nicolle & Manceaux) y la malaria (*Plasmodium* Marchiafava & Celli) (Gunderson *et al.*, 1987; Sogin, 1989; Gajadhar *et al.*, 1991; Lenaers *et al.*, 1991). Cavalier-Smith (1991) propuso el término Alveolata para este grupo formado por dinoflagelados, apicomplejos y ciliados uniéndolos por la presencia común de una cubierta celular (an-fiesma) muy compleja con unas vesículas aplanadas denominadas alvéolos debajo de la membrana celular. Posteriormente aparecerían parientes más cercanos a los dinoflagelados como el parásito de bivalvos *Perkinsus* Levine (Goggin & Barker, 1993), el flagelado parásito de dinoflagelados *Parvilucifera* Norén *et al.* Moestrup (Nóren *et al.*, 1999), el flagelado heterótrofo de vida libre *Oxyrrhis* Dujardin (Saldarriaga *et al.*, 2003a) y los ellobiópsidos *Thalassomyces* Niezabitowski y *Ellobiopsis* Caullery (Silberman *et al.*, 2004; Gómez *et al.*, 2009a). El Filo Alveolata está dominado por heterótrofos, en una gran parte parásitos osmótrofos y lejos de lo que comúnmente nos referimos con el término algas. Desde un punto de vista evolutivo el término 'algas dinoflageladas' o 'dinofitos' parece ser inapropiado.

El número de secuencias creció, especialmente con la contribución de Saunders *et al.* (1997) que obtuvieron secuencias SSU rADN de 31 especies pertenecientes a 18 géneros. En los árboles filogenéticos generados, usando a *Perkinsus* y los apicomplejos como grupo externo, *Noctiluca* Suriray ex Lamarck, aparecía en una posición basal al resto de dinoflagelados. Sin embargo, resultaba difícil esclarecer las relaciones filogenéticas entre los representantes de los principales órdenes, que aparecían en los árboles en una región donde se entremezclaban con bajo soporte estadístico, secuencias con ramas cortas. A este grupo que incluyó la mayor parte de las especies, Saunders *et al.* (1997) lo llamaron el complejo Gymnodinales-Peridinales-Prorocentrales (GPP). Tan sólo los miembros del orden Gonyaulacales, con ramas largas, formaban un grupo monofilético, con la excepción de *Cryptothecodinium*, cuya posición es inestable.

A finales de la década de 1990 se realizaron los primeros estudios basados en la amplificación, clonación y secuenciación a partir de ADN ambiental, lo que permitió producir secuencias directamente a partir de material biológico retenido en filtros, sin identificar morfológicamente a los organismos de los que estas secuencias procedían (López-García *et al.*, 2001). Muchas de las secuencias así obtenidas aparecían en las filogenias entre otras de dinoflagelados conocidos, lo que reveló que los dinoflagelados están ampliamente distribuidos en todas las regiones oceánicas y profundidades. En una posición basal a los dinoflagelados aparecían dos clados hermanos que recibieron el nombre de *Marine Alveolate Group I* y *II* (López-García *et al.*, 2001). Gunderson *et al.* (1999) habían obtenido la primera secuencia de *Amoebophrya* Koeppen (orden Syndinales), un endoparásito del dinoflagelado *Akashiwo* G. Hansen *et al.* Moestrup y de otras especies formadoras de mareas rojas. *Amoebophrya* se situaba entre *Perkinsus* y el

grupo de dinoflagelados con *Noctiluca* en su posición más basal. Posteriores estudios confirmaron que los Grupos I y II de alveolados marinos están compuestos por dinoflagelados parásitos del orden Syndiniales (Skovgaard *et al.*, 2005; Harada *et al.*, 2007), y que los filtros habían retenido las pequeñas células infectivas que estos parásitos dispersan en gran número (Guillou *et al.*, 2008).

En la filogenia de Saunders *et al.* (1997), las secuencias procedían de especies fotosintéticas disponibles en cultivo. Los únicos heterótrofos eran dos especies que excepcionalmente son fáciles de cultivar como *Cryptocodinium* y *Noctiluca*. Esto no representó la mayor parte de los dinoflagelados porque una gran parte de las especies son heterótrofas e incluso especies con cloroplastos no crecen bien en cultivo, lo que dificultó obtener grandes cantidades de ADN para los análisis moleculares. Surgió la necesidad de una técnica que permitiera obtener secuencias a partir de pocas células o idealmente a partir de una célula individual. Así, aparecieron publicaciones describiendo la obtención de secuencias a partir de una sola célula, una técnica conocida como *single-cell PCR*, bastante eficaz en el caso de ciliados o dinoflagelados, dado que contienen un gran número de copias de cada gen (Bolch, 2001; Ruiz Sebastián & Ryan, 2001). Esta técnica no se aplicó con éxito a muestras naturales hasta algunos años más tarde a partir de especímenes de *Gyrodinium* Kofoed *et Swezy* o *Protoperidinium* Bergh aislados en las costas (Hansen & Daugbjerg, 2004; Takano & Horiguchi, 2004). A pesar de ese nuevo avance se sigue manteniendo un sesgo en las secuencias disponibles hasta la actualidad, donde la mayor parte proceden de especies de aguas costeras disponibles en gran número, preferentemente cercanas a los laboratorios en latitudes templadas del norte de Europa, Norteamérica o Japón. Existe un déficit por tanto en especies oceánicas, regiones cálidas o de aguas profundas, y aún no disponemos de ninguna secuencia de muchos de los géneros de dinoflagelados conocidos, y no hay ninguna información sobre la morfología y ecología de linajes que hasta el momento, están exclusivamente representados por secuencias ambientales.

DINOFLAGELADOS BASALES

Los dinoflagelados se caracterizan por presentar un flagelo transversal ondulado y el dinocarión. Los alveolados basales a los dinoflagelados [*Ellobiopsis* (Fig. 1A-C), *Perkinsus*, *Oxyrrhis* (Fig. 1N)], comparten con ellos las células móviles con dos flagelos, uno de los cuales es anterior y recuerda al flagelo transversal ondulado de los dinoflagelados. La estructura del núcleo de esas especies tiene características típicas de eucariotas. En comparación con los dinoflagelados dinocariontes, en Syndiniales como *Syndinium* Chatton, el núcleo es más reducido, presenta histonas y un número menor de cromosomas que tienen forma de 'V'. Los dinoflagelados típicos, dinocariontes, carecen de centriolos. La mitosis

syndinial se caracteriza por una membrana nuclear permanentemente cerrada, con un huso mitótico con sus centriolos sobre la parte interna de la membrana nuclear (Ris & Kubai, 1974).

Cachon & Cachon (1987) clasificaron los dinoflagelados parásitos en tres órdenes. El Orden 'Duboscquellales' agrupa parásitos parcialmente intra- o extra-celulares, divididos en las familias Amoeboophryaceae (*Amoeboophrya*) y Duboscquellaceae (*Duboscquella* Chatton [Fig. 1D-M], *Duboscquodinium* Grassé). Los parásitos enteramente intracelulares (*Syndinium*, *Ichthyodinium* Hollande *et J. Cachon*, *Hematodinium* Chatton *et Poisson*) se clasificaron en Syndiniales. El orden Blastodiniales estaba constituido por parásitos siempre extracelulares como *Blastodinium* Chatton, *Oodinium* Chatton, *Haplozoon* Dogiel, *Amyloodinium* Brown *et Hovasse*, *Piscinoodinium* Lom o *Chytriodinium* Chatton. Fensome *et al.* (1993) habían propuesto incluso una nueva Clase, Blastodiniphyceae, para este grupo que posee el típico dinocarión. La clasificación tradicional a nivel de orden se basaba en la localización del parásito en su huésped (extra o intracelular) y a nivel de familia, frecuentemente en el ciclo de vida (tipo de esporogénesis, número de esporangios o quistes). Sin embargo, la filogenia molecular sugiere cambios sustanciales, ya que en los árboles filogenéticos, las secuencias disponibles de Blastodiniales se sitúan bien posicionadas en clados de dinocariontes de vida libre. Claramente este orden o clase no es monofilético y quedaría restringido al clado de *Blastodinium*, que presenta una tabulación más cercana a los Peridinales (Skovgaard *et al.*, 2007). El género *Haplozoon* forma un clado único, generalmente en una posición basal en el complejo Gymnodinales-Peridinales-Prorocentrales (GPP). El género *Duboscquodinium* no pertenece al Orden 'Duboscquellales', porque se sitúa entre los dinocariontes del género *Scrippsiella* Balech (Coats *et al.*, 2010). Otros géneros de Blastodiniales como *Amyloodinium*, *Piscinoodinium* o *Paulsenella* Chatton, se sitúan en clados de Peridinales y *Dissodinium* Klebs y *Chytriodinium* en Gymnodinales. El orden Syndiniales (*Marine Alveolate Group II*) es el más próximo a los dinocariontes. Podemos dividir este orden en dos familias: Amoeboophryaceae para *Amoeboophrya* (parásito de dinoflagelados) y *Hematodinium* (parásito de crustáceos), y la Familia Syndiniaceae para el parásito de copépodos y radiolarios *Syndinium* (Skovgaard *et al.*, 2005). El Orden 'Duboscquellales' (*Marine Alveolate Group I*) lo constituyen *Duboscquella* e *Ichthyodinium*, parásitos de ciliados y peces respectivamente (Harada *et al.*, 2007; Yuasa *et al.*, 2007) (Fig. 2).

Son muchos los dinoflagelados parásitos de los que desconocemos su posición taxonómica como *Oodinium*, un parásito de apendicularias y el primer dinoflagelado de vida parásita descrito. Los árboles filogenéticos muestran secuencias ambientales dentro de los grupos de 'Duboscquellales' y Syndiniales de los que desconocemos su morfología y función ecológica. Esta inexplorada diversidad la reflejan las secuencias presentes en aguas profundas e incluso en sedimentos de fondos oceánicos (López-

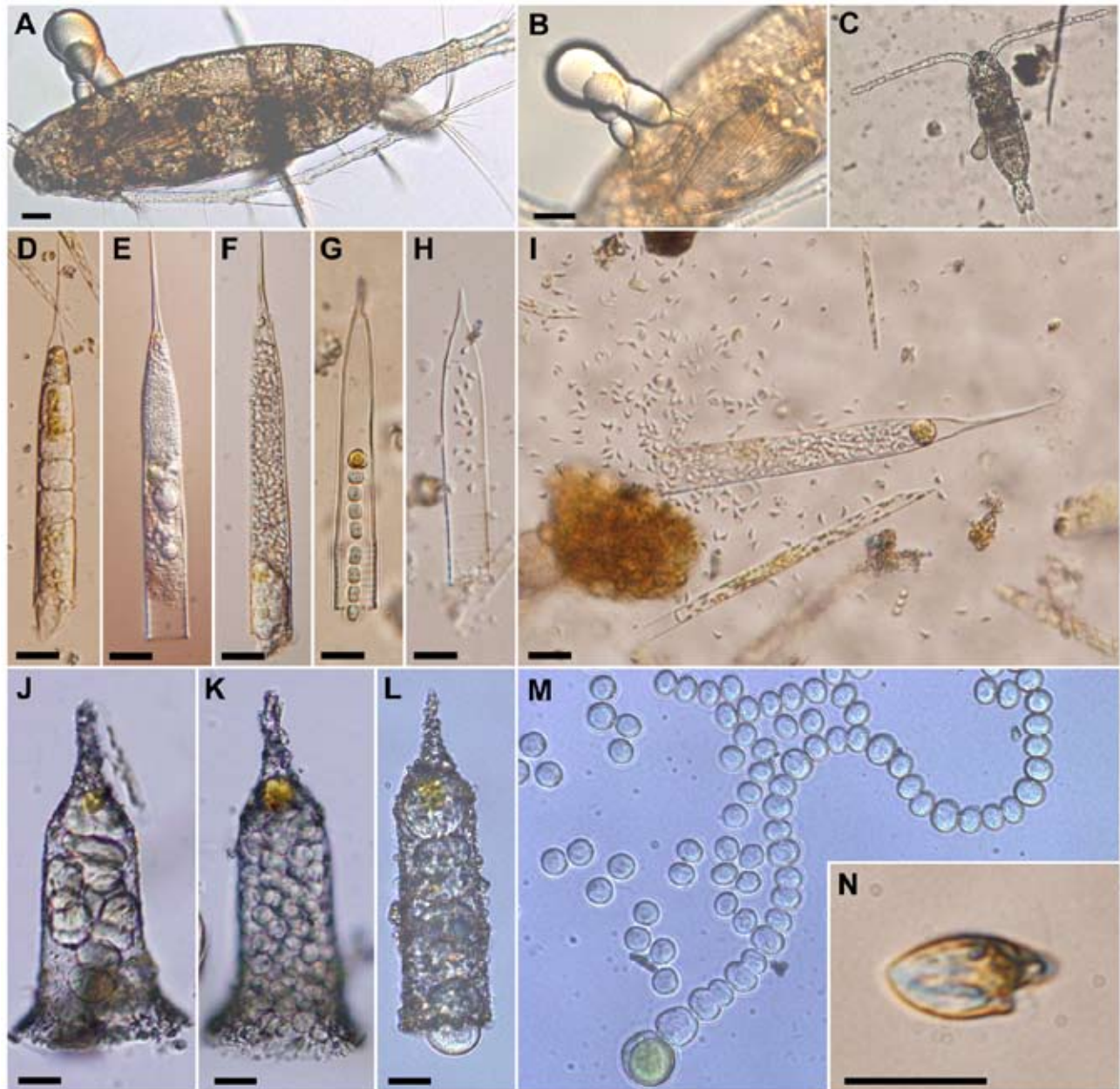


Figura 1A-N. Ejemplos de dinoflagelados basales. A-C. *Ellobiopsis*, parásito del copépodo *Acartia* Dana. D-M. *Duboscquella*, parásito de los ciliados tintínidos *Helicostomella* Jörgensen y *Tintinnopsis* F. Stein. N. *Oxyrrhis*. Escala A-B = 50 µm; D-L, N = 20 µm.

García *et al.*, 2001; Moreira & López-García, 2003). Por ejemplo hay decenas de especies aún no descritas pertenecientes a los clados de 'Duboscquellales' y Syndiniales, que parasitan a radiolarios (Dolven *et al.*, 2007).

NOCTILUCALES

Noctiluca scintillans es el primer dinoflagelado conocido gracias a su gran talla, su bioluminiscencia y sus llamativas mareas rojas,

ilustrado ya por Slabber en 1778 (Fig. 3A-B). *Noctiluca scintillans* es una de las pocas especies heterótrofas fáciles de cultivar, lo que ha facilitado los estudios de su morfología, ultraestructura y ciclo de vida. Las células reproductoras de *Noctiluca* tienen el dinocarión y dos flagelos, pero en el estadio adulto, el trofote, carece de uno de los flagelos y aparentemente le faltan las histonas, aunque los estudios realizados en los años 70 necesitan actualizarse. Estas diferencias en sus estadios hacen que *Noctiluca* pueda verse como un típico dinocariote, aberrante en su

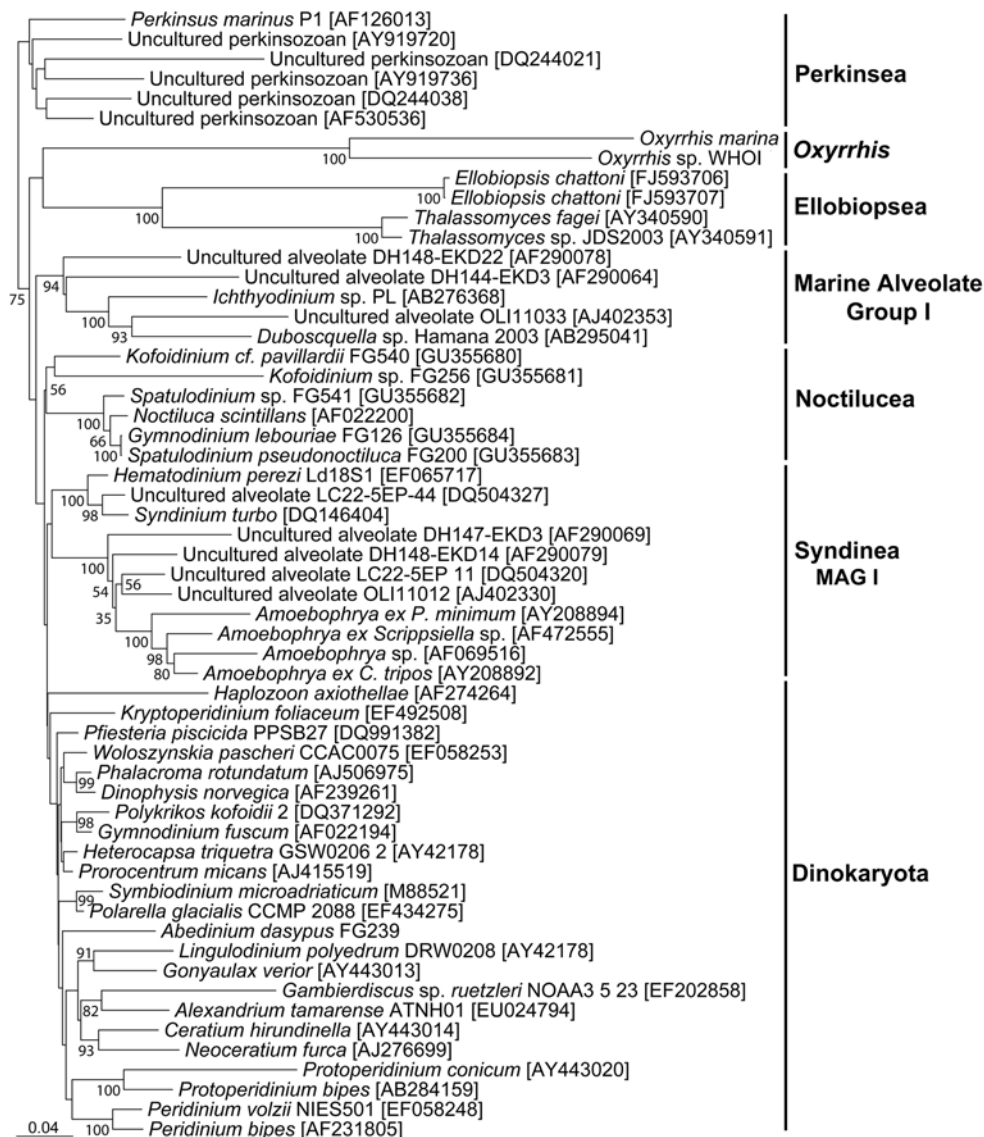


Figura 2. Árbol filogenético de máxima verosimilitud de secuencias SSU rADN de Alveolados, basado en 1147 posiciones alineadas (véase métodos en Gómez et al. 2011b). Los números en los nodos representan los valores de soporte estadístico ('bootstrap'). Valores menores del 50% se omiten. Los números de acceso de GenBank aparecen entre corchetes. La barra de escala indica el número de sustituciones por unidad de longitud de rama.

estadio adulto, o bien como realmente un dinoflagelado basal. En los primeros análisis filogenéticos, *Noctiluca* aparecía entre los dinoflagelados y Syndiniales (*Amoebophrya*) y *Perkinsus*, lo que sugiere una posición basal al resto de los dinoflagelados (Saunders et al., 1997; Gunderson et al., 1999). En la actualidad hay más de 100 secuencias disponibles de *Noctiluca*, pero su ubicación como un dinoflagelado basal o como un típico dinocarionte sigue siendo objeto de discusión. Saldarriaga et al. (2004) obtuvieron diferentes topologías a partir de las regiones SSU y LSU rADN, dependiendo del tamaño de las secuencias nucleotídicas o las especies incluidas en los análisis. Estos autores situaron a *Noctiluca* en el clado de dinoflagelados atecados, idea que justifica-

ron basándose en la semejanza de los primeros estadios de vida de algunos Noctilucos con la forma de *Amphidinium* Claparède et Lachmann y otros caracteres estructurales. En el Orden Noctilucos, además de *Noctiluca scintillans* (Familia Noctilucaeae), se han incluido a las Familias Kofoidiniaceae [*Kofoidinium* Pavillard (Fig. 3K-O), *Spatulodinium* (Fig. 3C-J)] y Leptodiscaceae [*Leptodiscus* Hertwig (Fig. 3R-S), *Scaphodinium* Margalef (Fig. 3P), *Abedinium* Loeblich Jr. et Loeblich III (Fig. 3Q)]. Los análisis filogenéticos referidos tan solo incluían a *Noctiluca*, sin embargo consideramos que resultaría más resolutorio incluir en nuevos análisis, secuencias de los organismos cercanos filogenéticamente a *Noctiluca*. La primera filogenia que incluyó además de

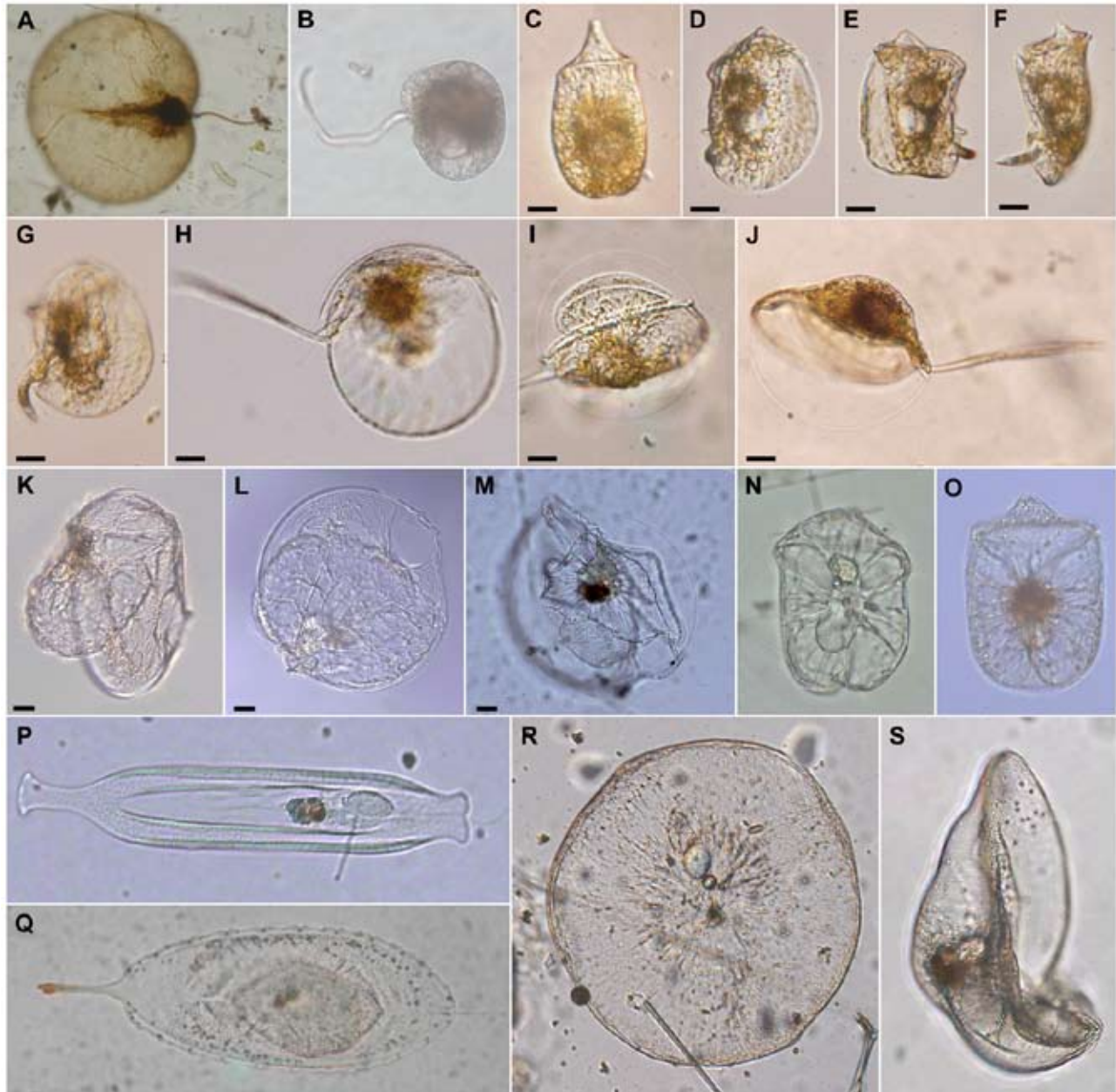


Figura 3A-S. Ejemplos de Noctilucaceas. A-B. *Noctiluca scintillans*. C-J. *Spatulodinium pseudonociluca*. C. Estadio inmaduro "*Gymnodinium lebouriae*". D-G. Especimen con tentáculo. H-J. Estadios maduros. K-M. *Kofoidinium pavillardii* J. Cachon et M. Cachon. N-O. Estadios inmaduros de *Kofoidinium*. P. *Scaphodinium*. Q. *Abedinium*. R-S. *Leptodiscus*. Barra de escala = 20 μ m.

Noctiluca a otros Noctilucaceas mostró que las tres familias de Noctilucaceas se agruparon en un clado que, con moderado soporte, aparece en una posición basal al resto de dinoflagelados, y como un grupo hermano del resto de dinocariontes (Gómez et al., 2010b). Basados en esta filogenia, los autores proponen la existencia de tres Familias: Noctilucaceae (*Noctiluca*, *Spatulodinium*), Kofoidiniaceae (*Kofoidinium*) y Leptodiscaceae.

La filogenia molecular también permite verificar el ciclo de

vida para esas especies no fácilmente cultivables o bien, para aquellas cuyas condiciones de cultivo inhiben la aparición de alguno de sus estadios o morfologías. Pouchet (1885) describió cómo una célula, con una morfología similar a *Amphidinium*, desarrollaba un tentáculo y se transformaba en la forma adulta típica de *Spatulodinium*. Autores posteriores (Pavillard, Lebour, Kofoid, etc.) lo consideraron especies diferentes y esas células pigmentadas del tipo de *Amphidinium*, recibieron el nombre de *Gymnodinium viridis* Lebour y posteriormente el de *G. lebouriae*,

siendo consideradas sin ninguna relación con Noctilucales. La filogenia molecular ha confirmado que el estadio *G. lebouriae* se transforma en *Spatulodinium*, como puede observarse con especímenes vivos (Fig. 3C-G) (Gómez *et al.*, 2010b). En toda la bibliografía precedente, los Noctilucales son considerados como heterótrofos, desprovistos de cloroplastos. Sin embargo, el estadio *G. lebouriae* presenta cloroplastos (Gómez & Furuya, 2007; Gómez *et al.*, 2010b). Esto contrasta con los organismos basales a los dinoflagelados, que salvo raras excepciones (*Chromera*; Moore *et al.*, 2008) carecen de cloroplastos. *Spatulodinium* se muestra como un modelo para el estudio del origen de los cloroplastos en los dinoflagelados (Gómez *et al.*, 2010b).

La diversidad conocida de Noctilucales no se ha incrementado desde los trabajos de Cachon & Cachon (1967, 1969), pero son muchas las especies que aún no han sido descritas (Gómez & Furuya 2005, 2007; Gómez, 2010). La filogenia molecular avala esta diversidad, por ejemplo las dos secuencias disponibles de *Spatulodinium*, corresponden claramente a dos especies, cuando sólo está descrita la especie tipo: *S. pseudonociluca* (Pouchet) J. Cachon *et* M. Cachon *ex* Loeblich Jr. *et* Loeblich III. *Noctiluca* se sitúa entre las dos especies de *Spatulodinium*, lo que sugiere que *Noctiluca* ha derivado a partir de *Spatulodinium* y que probablemente *Spatulodinium* deba escindirse en 2 géneros (Fig. 2). Los Noctilucales, con una diversidad claramente infraestimada, constituyen un grupo esencial para reconstruir la evolución de los dinoflagelados.

DINOFLAGELADOS ATECADOS O DESNUDOS

Lindemann (1928) separó a los dinoflagelados en Thecatales y Athecatales. Esta separación definió dos grupos con muy diferente grado de conocimiento. En efecto, conocemos mucho mejor a los dinoflagelados tecados, porque resisten a la captura con redes y a la fijación con formalina y sus placas rígidas han facilitado su identificación y clasificación. En cambio, los dinoflagelados atecados son frágiles y se deterioran o destruyen fácilmente, haciendo difícil su identificación y encontrar caracteres diagnósticos para su clasificación. La descripción de especies, a partir de especímenes fijados, o bien especímenes vivos pero a menudo alterados por el estrés de la manipulación, hace que las descripciones sean muy incompletas. Sin duda, los dinoflagelados desnudos, tradicionalmente peor conocidos, se benefician más de las recientes técnicas de filogenia molecular, especialmente para definir los caracteres diagnósticos para su clasificación.

Los dinoflagelados más basales en la filogenia molecular, como los Syndiniales y los Noctilucales, carecen de las rígidas placas de celulosa de los dinoflagelados tecados. Esto podría sugerir que se trata de un carácter basal y que por tanto estos dinoflagelados desnudos son también basales entre los dinocarios. No hay ninguna evidencia para afirmar eso, y al contrario, algunos dinoflagelados desnudos como *Erythropsidinium*

P.C. Silva muestran orgánulos celulares muy elaborados (ocelo, pistón), lo que sugiere un mayor grado de complejidad evolutiva. Los primeros árboles ya mostraban que los dinoflagelados atecados forman clados que se dispersaban entre clados de tecados (Saunders *et al.*, 1997). No hay por tanto un orden que agrupe a los atecados, ni siquiera el Orden Gymnodinales es monofilético. Esto es lógico porque la separación entre dinoflagelados con o sin las rígidas placas de celulosa es pobre. Podemos ver en cualquier muestra con material vivo como durante la ecdisis, las células de *Gonyaulax* Diesing abandonan su teca y nadan temporalmente como dinoflagelados desnudos, y en el caso de la reproducción de *Protoperidinium*, al dividirse también abandonan su teca madre y surgen dos células desnudas que sintetizarán sus placas de celulosa en unos minutos. No debe resultarnos extraño que algunos clados de dinoflagelados desnudos aparezcan cercanos a tecados, y podemos especular que tuvieron un antecesor común y que en algún momento de su evolución dejaron de sintetizar las placas de celulosa. Hasta ahora todos los clados de dinoflagelados atecados, aunque dispersos entre tecados en el complejo Gymnodinales-Peridinales-Prorocentrales (GPP), están constituidos exclusivamente por dinoflagelados atecados que sugieren que el paso de tecado a permanentemente atecado o viceversa no es reciente en la evolución de cada uno de esos clados (Saldaña *et al.*, 2004; Fig. 5).

La mayor parte de los dinoflagelados desnudos se agrupan en el Orden Gymnodinales, definidos por la ausencia de placas de celulosa. En la clasificación clásica, la separación en familias dentro de Gymnodinales se basaba en caracteres como la altura relativa del cíngulo (*Amphidinium*, *Torodinium* Kofoid *et* Swezy), número de giros del cíngulo (*Cochlodinium* Schütt, *Warnowia* Lindemann), o el grado de desplazamiento del cíngulo (*Gymnodinium* F. Stein, *Gyrodinium*). Sin embargo, la filogenia molecular no apoya este esquema clásico y los principales géneros como *Gymnodinium* y *Amphidinium* muestran ser polifiléticos (Fig. 5).

Por definición, el clado de los Gymnodinales en sentido estricto es aquel que contiene a la primera célula gymnodinioide descrita, *Gymnodinium fuscum* (Ehrenberg) F. Stein 1878 (= *Peridinium fuscum* Ehrenberg). Los análisis filogenéticos de Daugbjerg *et al.* (2000) mostraron que las especies fotosintéticas de *Gymnodinium* disponibles en cultivos, aparecían en varios clados claramente separados. Surgieron los nuevos géneros: *Akashiwo* [*Gymnodinium sanguineum* Hirasaka (Fig. 4L)], *Karenia* G. Hansen *et* Moestrup (*Gymnodinium breve* Davis) y *Karlodinium* J. Larsen (*Gyrodinium galatheanum* (Braarud) F.J.R. Taylor), que difieren del clado de *Gymnodinium* s.s. (clado formado por *G. fuscum*) en la composición de pigmentos y la forma de la acrobasis [una ranura en la superficie de la epiteca cerca del ápice, interpretada como una extensión del sulco (Biecheler, 1934)]. A medida que han ido apareciendo nuevas secuencias, especialmente de especies heterótrofas, el clado *Gymnodinium* s.s. ha crecido en número de

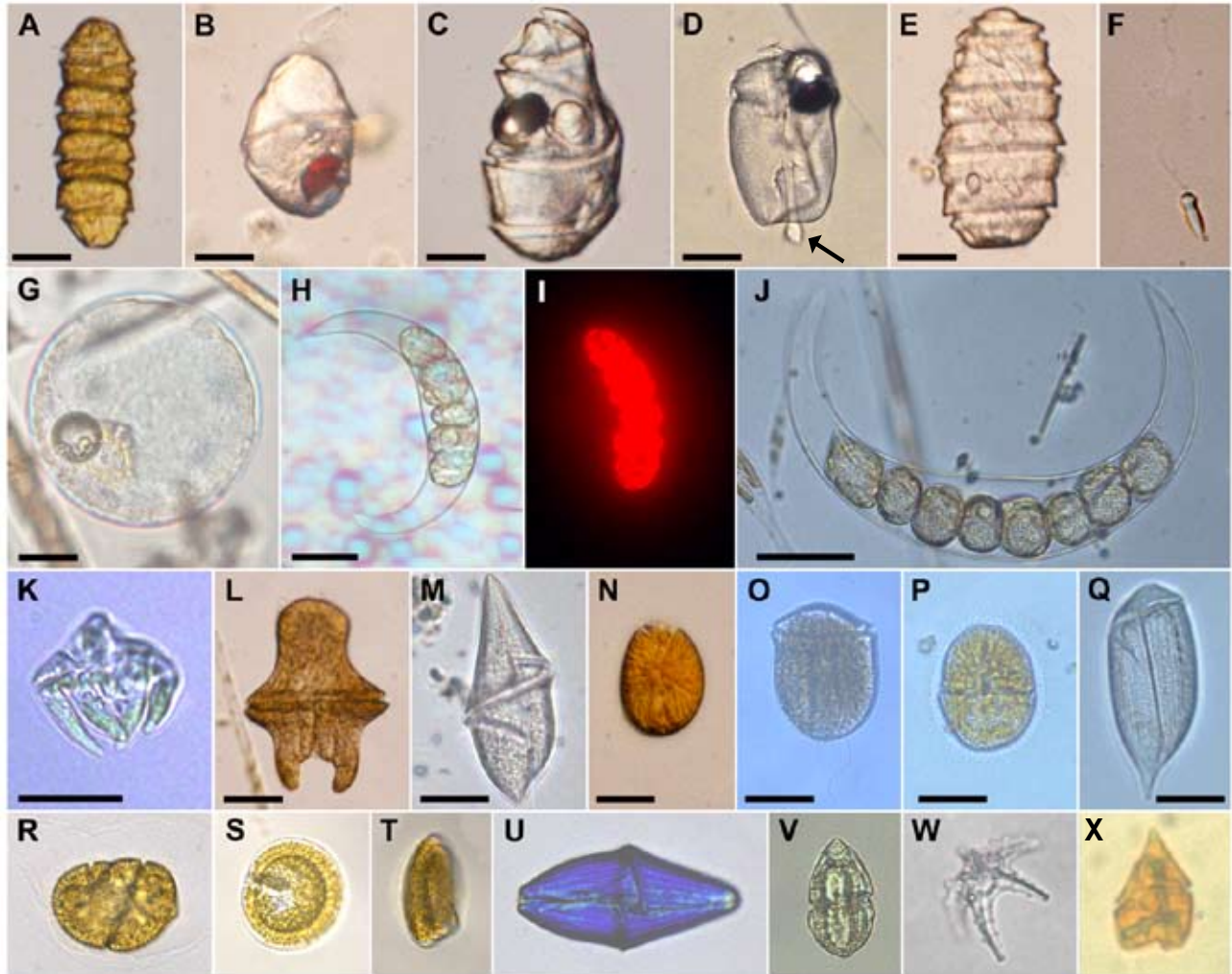


Figura 4A-X. Ejemplos de dinoflagelados desnudos o atecados. Orden Gymnodiniales (A-J). A. *Gymnodinium impudicum* (Fraga et Bravo) G. Hansen et Moestrup. B-C. *Warnowia* spp. La región pigmentada corresponde al ocelo. D. *Erythrotridinium*, véase el pistón (flecha). E-F. *Polykrikos*, véase el nematocisto (Fig. F). G-J. Diferentes estadios de *Dissodinium pseudolunula*. Véase la fluorescencia de la clorofila *a* (Fig. I). Otros órdenes (K-Y): K. Brachidiniales, *Brachidinium*. L. *Akashiwo*. M. *Gyrodinium*. N. *Amphidinium*. O. *Toga*. P. *Spiniferodinium*. Q. *Apicoporus*. R. *Cochlodinium*. Orden Ptychodiscales, S-T. *Ptychodiscus*. U. *Balechina coerulea* (Dogiel) F. J. R. Taylor. V-X. Orden Actiniscales, V. *Achradina*. W. Esqueleto de *Actiniscus*. X. *Dicroerisma*. Barra de escala = 20 µm.

especies, pero especialmente en su diversidad ecológica (Gómez et al., 2009b,c). Este clado incluye especies fotosintéticas, con la pigmentación más común con clorofila *c* y peridina, aunque otros grupos tienen clorofila *b* (*Lepidodinium* Watanabe, Suda, Inouye, Sawaguchi et Chihara) o pigmentos aún no determinados [*Pheopolykrikos* Chatton, *Polykrikos lebouriae* E.C. Herdman] (Fig. 5). El clado *Gymnodinium* s.s. podemos considerarlo el Orden Gymnodiniales s.s. formado por varias Familias. Gymnodiniaceae constituida principalmente por especies fotosintéticas con la típica pigmentación con peridina (*Gymnodinium*, *Paragymnodinium* Kang, Jeong, Moestrup et Shin, *Barrufeta* Sampedro et Fraga) (Fig. 4A). *Lepidodinium*, con clorofila *b*, puede emplazarse en Gymnodiniaceae, o tentativamente en una familia independiente.

Muy cerca de Gymnodiniaceae se encuentran las formas pseudo-coloniales de *Polykrikos* Bütschli (Polykrikaceae) que han desarrollado unos orgánulos, los nematocistos, que recuerdan a los cnidocistos de las medusas (Fig. 4E-F). La Familia Chytridiaceae (*Dissodinium*, *Chytridinium*) contiene especies ectoparasitas de huevos de crustáceos y en el caso de *Dissodinium* aún mantienen los cloroplastos (Fig. 4I, Gómez et al., 2009c). En ningún caso debemos confundir los quistes lunados de *Dissodinium pseudolunula* E. Swift (Fig. 4G-J) con algunos estadios de *Pyrocystis* (Fig. 6M). Sin ninguna duda el mayor grado de complejidad lo presentan las especies de la Familia Warnowiaceae (*Proterothropsis* Kofoed et Swezy, *Warnowia*, *Erythrotridinium*, Fig. 4B-D), todas con un ocelo con diferente grado de complejidad.

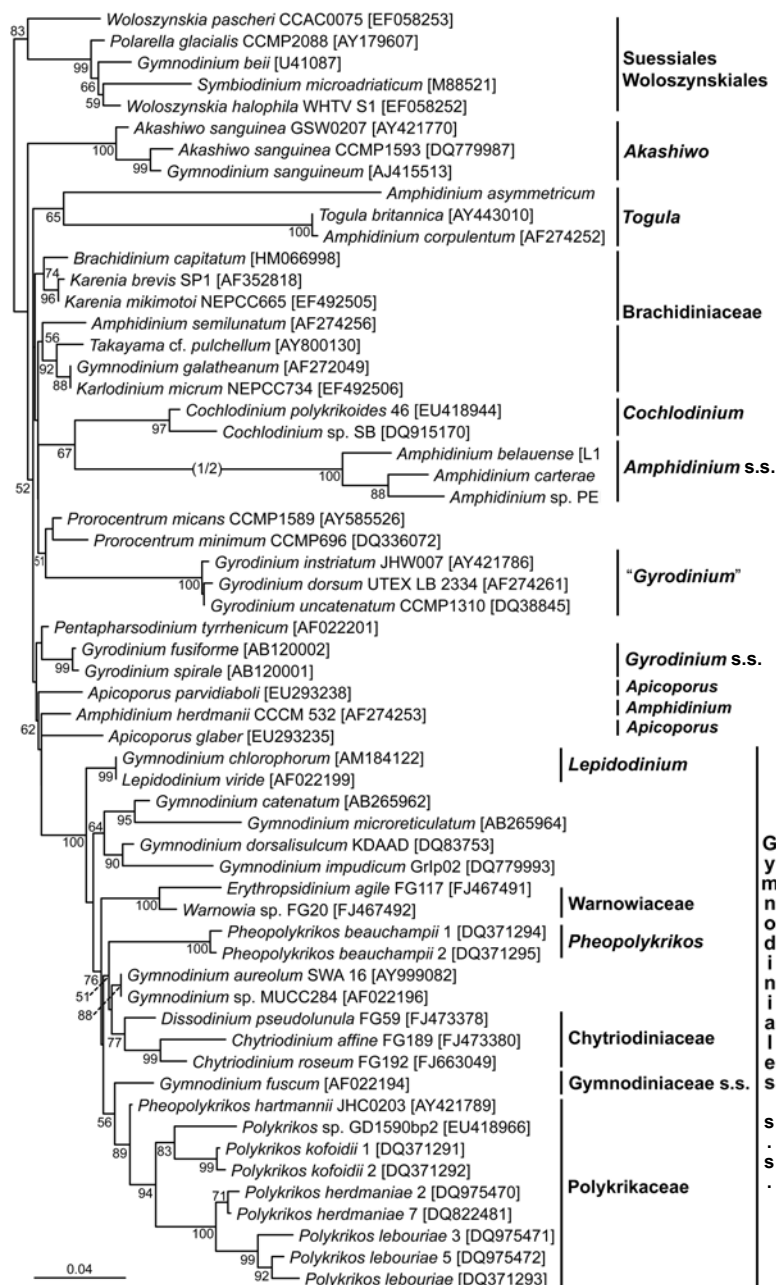


Fig. 5. Árbol filogenético de máxima verosimilitud de secuencias SSU rADN de dinoflagelados desnudos o atecados, basado en 1211 posiciones alineadas (véase métodos en Gómez *et al.* 2011). Los números en los nodos representan los valores de soporte estadístico ('bootstrap'). Valores menores del 50% se omiten. Algunas ramas largas que corresponden a especies de evolución rápida se han acortado a la mitad (indicado por 1/2). Los números de acceso de GenBank se muestran entre corchetes. La barra de escala indica el número de sustituciones por unidad de longitud de rama.

dad y en el caso de *Erythroplaxidinium* además con un pistón, un orgánulo que no se encuentra en ningún otro organismo conocido (Fig. 4D) (Gómez *et al.*, 2009b).

De la separación de *Gymnodinium*, tras el trabajo de Daugbjerg *et al.* (2000) surgieron los nuevos géneros *Karlodinium*, *Takayama* de Salas, Bolch, Bores *et al.* Hallegraeff y *Karenia* que

forman un clado con especies fotosintéticas con fucoxantina, considerado desde 2005 la Familia Kareniaceae. El Orden Brachidinales y su Familia Brachidiniaceae, se creó en 1972 para unos dinoflagelados aplanados con unas extensiones o brazos [*Brachidinium* F.J.R. Taylor (Fig. 4K), *Asterodinium* Sournia, *Microceratium* Sournia]. El estudio detallado de esos géneros mostró una gran semejanza con los caracteres diagnósticos de *Karenia*, lo

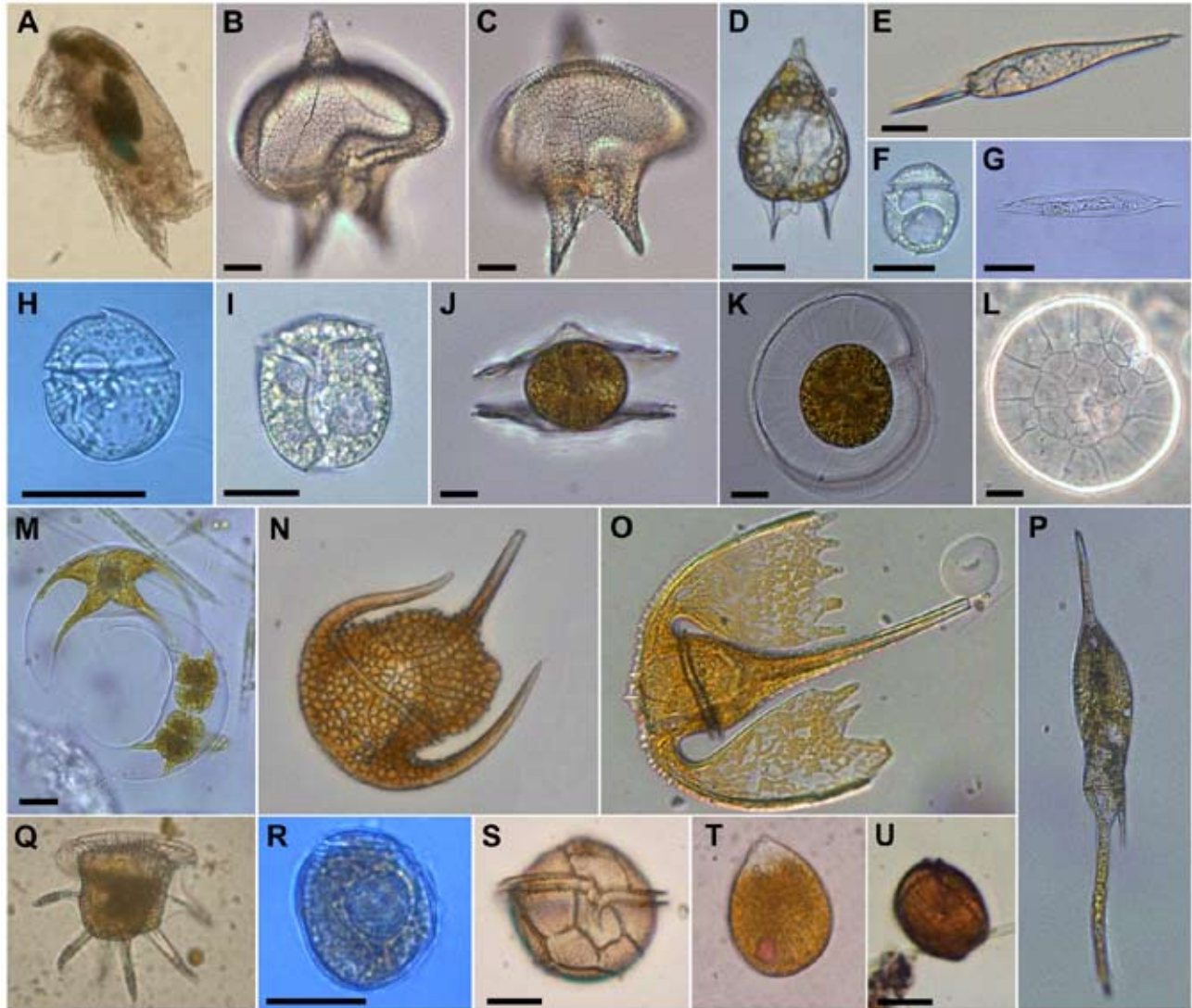


Figura 6A-U. Ejemplos de dinoflagelados tecados de los órdenes Peridinales (A-I) y Gonyaulacales (J-U). A. *Blastodinium*, endoparásito de un copépodo. B-C. *Protoperidinium*. D-E. *Podolampas*. F. *Roscoffia*. G. *Lessardia*. H. *Herdmania* Dodge. I. *Amphidiniopsis*. J-L. *Pyrophacus*. M. *Pyrocystis*. N-P. *Neoceratium*. Q. *Ceratocorys*. R. *Thecadinium*. S. *Goniodoma*. T. *Ostreopsis*. U. *Coolia*. Barra de escala = 20 μ m.

que sugirió que algunas especies de *Karenia*, eran capaces de proyectar extensiones celulares o brazos en condiciones oceánicas, coincidiendo con la morfología de lo que conocemos como *Brachidinium* o *Asterodinium*. Gómez *et al.* (2005) sugirieron que *Karenia* debe considerarse como un sinónimo de *Brachidinium*, ya que este último tiene prioridad al crearse en 1963. La filogenia molecular ha confirmado esta hipótesis (Henrichs *et al.*, 2011), y aunque es prematuro transferir todas las especies de *Karenia* a *Brachidinium*, sí que podemos considerar que la familia Brachidiniaceae y el orden Brachidiniales tienen la prioridad frente a la familia Kareniaceae.

Aun en la actualidad, los géneros *Gyrodinium*, *Cochlodinium* y *Amphidinium* se clasifican en la Familia Gymnodiniaceae, pero

en la filogenia molecular no muestran ninguna relación con el clado de Gymnodinales s.s., lo que sugiere familias independientes para cada género. La separación clásica entre *Gymnodinium* y *Gyrodinium*, basada en el grado de desplazamiento del cíngulo, no tiene ningún soporte de la filogenia molecular (Daugbjerg *et al.*, 2000; Hansen & Daugbjerg, 2004; Takano & Horiguchi, 2004). *Gyrodinium* forma un clado de especies heterótrofas cuyo anfiema presenta estrías longitudinales (Fig. 4M). El género *Amphidinium* basado en la altura relativa del cíngulo, tiene también carácter polifilético (Flø Jørgensen *et al.*, 2004a). De la separación de las especies psammófilas de *Amphidinium*, han surgido nuevos géneros como *Togula* Flø Jørgensen, S. Murray *et al.* Daugbjerg y *Apicoporus* Sparmann, Leander *et al.* Hoppenrath (Flø Jørgensen *et al.*

al., 2004b; Sparmann *et al.*, 2008) (Fig. 4N-Q). En el caso de *Togula* la separación genérica se basa en la forma de bipartición de las células, un carácter morfológico difícilmente observable bajo el microscopio si no se disponen de cultivos. Si bien *Amphidinium* siempre se diferenció por su reducido episoma, *Spiniferodinium* Horiguchi *et Chihara*, con el cíngulo en una posición media, aparece en el clado de *Togula* en algunas filogenias, mientras que en otras se sitúa en el clado de *Gymnodinium sensu stricto* (Horiguchi *et al.*, 2011) (Fig. 4O-P). Esto hace que la altura relativa del cíngulo no sea un carácter relevante para ese grupo. Como tendencia más habitual dentro de un mismo género, las especies simbióticas tienden a estar filogenéticamente separadas de las especies de vida libre. Esto ocurre por ejemplo con el simbiote de foraminíferos *Gymnodinium bei* Spero, recientemente transferido al nuevo género *Pelagodinium* Siano, Montresor, Probert *et de Vargas*, o bien con *Scrippsiella nutricula* (Brandt) Banaszak, Iglesias-Prieto *et Trench*, simbiote en cnidarios, que no está relacionada con las otras especies de *Scrippsiella*. Una excepción a esa tendencia es *Amphidinium belauense* Banaszak, Iglesias-Prieto *et Trench*, una especie simbiote en gusanos platelmintos pero que claramente pertenece al mismo clado de especies de vida libre de *Amphidinium* (Gast & Caron, 1993).

El género *Cochlodinium* está representado solo por tres especies en las bases de datos de secuencias (como GenBank), donde bajo el nombre de *C. polykrikoides* Margalef hay diferentes especies. Especies heterótrofas de *Cochlodinium* no están representadas, por lo que queda aún mucho por conocer y *Cochlodinium* no se puede adscribir a ninguna de las familias existentes de Gymnodiniales (Fig. 4R).

Los órdenes Ptychodiscales y Actiniscales incluyen especies atecadas, en general mal estudiadas, con un supuesto anfiésma rígido para Ptychodiscales y un endoesqueleto para Actiniscales. En el Orden Ptychodiscales Fensome *et al.* (1993), incluyeron a la Familia Brachidiniaceae (*Brachidinium*, *Asterodinium*), supuestamente con un anfiésma rígido. La filogenia molecular ya ha confirmado que *Brachidinium* no es más que una *Karenia* con extensiones celulares. *Karenia* es uno de los géneros mejor estudiados y nunca ningún autor hizo referencia a un anfiésma rígido en ese género. Fensome *et al.* (1993) también incluyeron en este Orden a la Familia Amphilotheaceae (*Amphilothus* Kofoed ex Poche, *Achradina* Lohmann), basada en el género *Amphilothus*, que no ha sido observado en los últimos 100 años. Finalmente Fensome *et al.* (1993) definen la Familia Ptychodiscaceae como aquellos dinoflagelados atecados con un asfiésma rígido que no son ni Brachidiniaceae ni Amphilotheaceae. En Ptychodiscaceae se incluyen los géneros *Ptychodiscus* y *Balechina* Loeblich Jr. *et Loeblich III* (Fig. 4S-U), que claramente no comparten ninguna semejanza morfológica y que difícilmente podrán tener alguna relación filogenética como para considerarlos de la misma familia.

En el orden Actiniscales que se han agrupado especies con un esqueleto interno (*Achradina*, *Actiniscus* Ehrenberg, *Di-*

croerisma F.J.R. Taylor *et Cattell*) (Fig. 4V-X). Conocemos poco de la naturaleza de estos esqueletos y las diferencias morfológicas sugieren que no hay ninguna relación entre estos géneros. No hay disponible ninguna secuencia de estos géneros para poder verificar la hipótesis del origen independiente de los endoesqueletos. Por tanto estos Órdenes de dinoflagelados atecados, tanto los parásitos del orden Blastodiniales como las especies de vida libre de Ptychodiscales y Actiniscales, son muy probablemente un cajón de sastre donde se han agrupado géneros que no guardan ninguna relación filogenética. Ninguna secuencia de representantes de los órdenes Ptychodiscales y Actiniscales está disponible para poder confirmar esta hipótesis.

Los Suessiales son un grupo de dinoflagelados que poseen placas de celulosa relativamente más finas que las de los otros dinoflagelados tecados. Los llamados 'thin walled' tienen un mayor número de placas y su tabulación no se ajusta bien al esquema de nomenclatura kofoidiniana de series latitudinales. Aunque en el grosor y número de placas aparezcan como intermedios entre tecados y atecados, en ningún caso existen datos filogenéticos que apoyen esta hipótesis. Este orden toma su nombre a partir del género *Suessia* Morbey 1975 (non Deslongchamps 1855), sólo conocido a partir del registro fósil, por lo que siempre quedarán dudas sobre si realmente esos fósiles están relacionados con las especies actuales. El clado de Suessiales lo forman un grupo de una extraordinaria importancia ecológica, especialmente *Symbiodinium* que forma las 'zooxanthellas' en los corales. Bajo el nombre *Gymnodinium bei*, actualmente *Pelagodinium*, simbioses de foraminíferos (Siano *et al.*, 2010) y hay otras especies no descritas en radiolarios (Gast & Caron, 1996). En este clado también se incluye el ectoparásito de peces *Piscinodinium*, la especie de vida libre fotosintética de mares polares *Polarella glacialis* Montresor, Procaccini *et Stoecker* y especies continentales de aguas salobres del género *Woloszynskia* R.H. Thompson, que actualmente se clasifican en el Orden Lophodiniales (Montresor *et al.*, 1999; Levy *et al.*, 2007). Estas especies politabuladas de *Woloszynskia* se han clasificado en los géneros de reciente creación *Biecheleria* Moestrup, Lindberg *et Daugbjerg* y *Biecheleriopsis* Moestrup, Lindberg *et Daugbjerg*. Otros géneros dulceacuícolas de vida libre, como *Baldinia* G. Hansen *et Daugbjerg* y *Borghiella* Moestrup, G. Hansen *et Daugbjerg*, aparecen como un clado hermano a los Suessiales (Siano *et al.*, 2010).

PERIDINIALES

Con la excepción de los Suessiales, Dinophysales y Prorocentrales, los dinoflagelados tecados contienen cinco series latitudinales de placas: apicales ('), intercalares anteriores (a), precingulares (''), postcingulares ('') y antapicales o perisulcales (''''), junto con las series cingular y sulcal. Las primeras filogenias mostraban que la clasificación basada en la tabulación tenía una base filogenética (Taylor, 1999, 2004). Hay fórmulas de tabulación

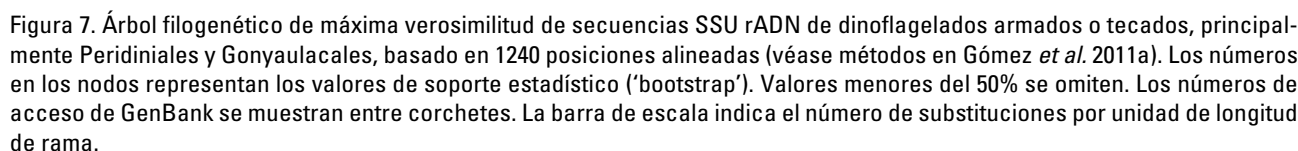
como: 4', 7'', 5''', 2''''', que es extremadamente común entre los Peridinales, e incluye a especies que aparecen en clados diferentes. En el caso de las Peridinales otras series de placas como las intercalares anteriores o las cingulares tienen mayor importancia. Tras *Noctiluca*, el primer dinoflagelado descrito fue *Peridinium* Ehrenberg, *P. cinctum* (O.F. Müller) Ehrenberg, que dio nombre a los dinoflagelados como peridiniáceas. Bajo el género *Peridinium* se han descrito unas 500 especies, pero progresivamente se ha escindido en géneros diferentes. Ya los primeros estudios mostraban que los Peridinales eran un grupo polifilético, e incluso las especies del género *Peridinium* aparecían en clados separados (Saldarriaga *et al.*, 2004; Logares *et al.*, 2007). El género *Peridinium* s.s. quedaría exclusivamente para especies fotosintéticas de agua dulce con la tabulación de la epiteca 4', 3a, 7'' para la especie tipo *P. cinctum*, y otras, que constituirían la Familia Peridiniaceae. Otros clados se diferencian en el número de placas intercalares anteriores como el grupo de *P. umbonatum* F. Stein (4', 2a, 7'') y el grupo de *P. polonicum* Woloszyńska (4', 1a, 7'') (Ki *et al.*, 2011). El grupo de *Peridinium quinquecorne* Abé lo componen especies de aguas salobres que difieren también de otros *Peridinium* en el número de placas apicales (formula 3', 2a, 7''). Este clado es generalmente basal en el complejo GPP, a menudo como un grupo hermano de *Cryptothecodinium*. *Peridinium quinquecorne* claramente requiere ser transferido a otro género como ya ocurrió con *Durinskia baltica* (Levander) Carty *et Cox* o *Kryptoperidinium foliaceum* (F. Stein) Lindemann. Todos estos géneros, junto con la especie psammófila *Galeidinium rugatum* Tamura *et Horiguchi* (Tamura *et al.*, 2005) comparten además de la tabulación, la presencia de una diatomea endosimbiótica por lo que merecen la consideración como una familia independiente.

A partir de los años 70, las especies marinas de *Peridinium* se escindieron en el género *Protoperidinium*, que con unas 250 especies, es el género con el mayor número de especies (Balech, 1974). Los miembros de la Familia Protoperidiniaceae, *Protoperidinium* y el llamado *Diplopsalis*-group (con hasta 11 géneros), se diferencian de *Peridinium* en el número menor de placas cingulares (Fig. 6B-C). En general, en los árboles filogenéticos basados en las secuencias SSU rADN de las especies de Protoperidiniaceae, éstas tienen ramas más largas que los otros Peridinales, lo que puede inducir un artefacto conocido como atracción por ramas largas (Philippe & Adoutte, 1998) y a menudo Proroperidiniaceae forma un grupo hermano con los Gonyaulacales, también con ramas largas. El género *Protoperidinium* se ha separado en tres subgéneros, basados en el número de placas intercalares anteriores: La especie tipo *P. pellucidum* Bergh, subgénero *Protoperidinium* con tres intercalares anteriores (3a), subgénero *Archaeoperidinium* Jörgensen (2a) y subgénero *Testeria* Faust (1a). En el caso de las especies de *Peridinium*, las diferencias en el número de intercalares anteriores definían a los clados observados en los alineamientos (Ki *et al.*, 2011). Sin embargo, la

clasificación en subgéneros de *Protoperidinium* basados en el número de placas intercalares no está apoyada por la filogenia molecular, ya que los miembros del subgénero *Protoperidinium* aparecen en dos clados, y uno de ellos incluye a una especie de *Testeria*. La especie tipo de *Archaeoperidinium*, *Protoperidinium minutum* (Kofoid) Loeblich III, aparece muy separada del resto de especies de *Protoperidinium*, junto a especies psammófilas como *Herdmania* Dodge (Fig. 6H) y *Thecadinium dragescoi* Balech. Recientemente el género *Archaeoperidinium* se ha reinstaurado exclusivamente para la especie tipo, *Protoperidinium minutum*, pero no para el resto de las especies del subgénero *Archaeoperidinium*, que aparecen dispersas en otros clados de *Protoperidinium* (Yamaguchi *et al.*, 2011). Las especies psammófilas *Herdmania* y *Thecadinium dragescoi*, así como muchos tecados psammófilos presentan formas aplanadas, siendo difícil interpretar a qué serie pertenecen algunas de sus placas. Sin embargo la proximidad a *Archaeoperidinium* (= *Protoperidinium*) *minutum* permite decantarse por una interpretación. *Amphidiniopsis* Woloszyńska es otro género psammófilo con una tabulación similar a estos anteriores (Fig. 6I). Este clado corresponde a Amphidiniopsidaceae, una familia separada de los clados de Protoperidiniaceae (Gómez *et al.*, 2011a; Fig. 7).

A partir de especies como *Peridinium trochoideum* (F. Stein) Lemmermann, se estableció el género *Scrippsiella* para especies marinas planctónicas, y otros géneros como *Enciculifera* Balech, y *Pentapharsodinium* Indelicato *et* Loeblich III, géneros derivados de *Scrippsiella* más conocidos por sus quistes calcáreos (*Calciodinellum* Deflandre, *Pernambugia* Janofske *et* Karwath, *Leonella* Janofske *et* Karwath) y el género bentónico *Bysmatrum* Faust *et* Steidinger. El género *Thoracosphaera* Kamptner, tipo de la Familia Thoracosphaeraceae u Orden Thoracosphaerales, en el pasado considerado un cocolitofórido, posee una cubierta calcárea que se asemeja a las *Scrippsiella* que forman quistes calcáreos. La filogenia molecular revela que estos géneros fotosintéticos conforman dos clados hermanos al que debemos añadir numerosos géneros heterótrofos y parásitos. Uno de los clados lo conforman los parásitos miembros de la familia Pfiesteriaceae (*Pfiesteria* Steidinger *et* Burkholder, *Pseudopfiesteria* Litaker *et al.*, *Cryptoperidiniopsis* Steidinger, Landsberg, Mason, Vogelbein, Tester *et* Litaker, *Luciella* Mason, Jeon, Litaker, Reece *et* Steidinger), otros parásitos (*Amyloodinium*, *Paulsenella*), heterótrofos (*Stoeckeria* Jeong, J.S. Kim, J.Y. Park, J.H. Kim, S. Kim, J. Lee, S.H. Lee, J.H. Ha *et W.* H. Yih, *Tyrannodinium* Calado, Craveiro, Daugbjerg *et* Moestrup) y especies fotosintéticas como: *Chimonodinium* Craveiro, Calado, Daugbjerg, Hansen *et* Moestrup, *Peridinium aciculiferum* Lemmermann, *Scrippsiella hangoei* (Schiller) Larsen y *Thoracosphaera*. La presencia de este último género daría la prioridad a la Familia Thoracosphaeraceae para este clado.

Un segundo clado lo constituyen *Scrippsiella* y géneros afines (*Calciodinellum*, *Pernambugia*, *Leonella*), *Peridiniopsis*



polonicum (Woloszyńska) Bourrelly y los parásitos *Duboscquodinium* y *Tintinnophagus* Coats (Coats *et al.*, 2010). Estas especies constituirían la Familia Calciodinellaceae. Las especies simbióticas de cnidarios *Scrippsiella nutricula* o *S. velellae* Banaszak, Iglesias-Prieto *et Trench*, en el futuro deberán transferirse a otro género y familia. *Pentapharsodinium*, *Ensiculifera* y el género bentónico *Bysmatrum*, no pertenecen ni a las Familias Thoracosphaeraceae ni a Calciodinellaceae (Fig. 7).

El género *Podolampas* F. Stein y otros géneros caracterizados por la ausencia de un cíngulo (*Blepharocysta* F. Stein, *Lissodinium* Matzenauer, *Gaardieriella* Carbonell-Moore, *Heterobracium* Carbonell-Moore, *Mysticella* Carbonell-Moore), conforman la Familia Podolampadaceae (Fig. 6D-E). La especie psammófila *Roscoffia* Balech coincide en la tabulación con Podolampadaceae, pero difiere en el hábitat y morfológicamente por la presencia de un cíngulo bien definido. Saldarriaga *et al.* (2003b) sitúan a *Roscoffia* (Fig. 6F), junto con el género *Lessardia* Saldarriaga & F.J.R. Taylor (Fig. 6G), en la Familia Podolampadaceae, pero esta relación entre *Roscoffia* y las podolampadáceas ha sido muy replicada (Schweikert & Elbrächter, 2004). Cuando las primeras secuencias de podolampadáceas típicas como *Podolampas* y *Blepharocysta* estuvieron disponibles, se demostró que *Roscoffia* era un miembro de Podolampadaceae (Gómez *et al.*, 2010c). *Lessardia* aparece cercana al clado de podolampadáceas, pero su posición es variable y no está claro si debe incluirse en Podolampadaceae o mantenerse en la familia independiente Lessardiaceae (Fig. 7). Todas estas especies de Podolampadaceae son heterótrofas y algunas contienen microalgas simbióticas (Schweikert & Elbrächter, 2004) (Fig. 6D). Un clado bien definido lo forman las especies de *Heterocapsa* F. Stein, que conformarían la Familia Heterocapsaceae, con especies fotosintéticas planctónicas y una especie bentónica.

Blastodinium presenta células infectivas con una tabulación peridinioide y sus secuencias se sitúan entre los Peridinales y Gonyaulacales en los árboles SSU rADN (Skovgaard *et al.*, 2007). La Clase Blastodiniophyceae u Orden Blastodinales, no tiene ninguna base filogenética, puesto que *Blastodinium* es una peridinial y no está relacionada con los otros géneros englobados en Blastodinales (Fig. 6A). Otros Blastodinales, *Amyloodinium*, *Piscinoodinium* o *Paulsenella* pertenecen a diferentes clados de Peridinales y sólo *Haplozoon* forma un clado independiente y típicamente basal en el complejo GPP.

Las secuencias de las especies psammófilas *Sabulodinium* Saunders *et Dodge* o *Adenoides* Balech, forman linajes separados siempre cercanos a Peridinales, pero sin ninguna relación clara con ninguna de las familias de Peridinales. La familia de *Heterodinium* Kofoid, Heterodiniaceae, se ha clasificado en Gonyaulacales, pero su apariencia general y tabulación puede interpretarse como más cercana a los Peridinales. A veces incluso con el uso de diferentes marcadores (actina, α - y β -tubulina,

HSP90, COI, cyt b) es difícil establecer si un género pertenece al Orden Peridinales o Gonyaulacales como en el caso de *Azadinium* Elbrächter *et Tillmann* (Tillmann *et al.*, 2009). Son aún muchos los géneros de tentativos Peridinales como: *Amphidoma* F. Stein, *Cladopyxis* F. Stein, *Palaeophalacroma* Schiller, *Oxytoxum* F. Stein o *Corythodinium* Loeblich Jr. *et Loeblich III*, de los que no disponemos de ninguna secuencia.

GONYAULACALES

Hasta 1980 los Gonyaulacales constituían la Familia Gonyaulacaceae dentro del Orden Peridinales. Ahora que el Orden Peridinales aparece polifilético, los Gonyaulacales constituyen uno de los grandes clados que merecen la consideración de un orden. En filogenias moleculares de SSU rADN los Gonyaulacales aparecen a menudo como un grupo hermano de *Protoperidinium* que también presenta ramas largas, lo que puede generar el artefacto de atracción de ramas largas (Philippe & Adoutte, 1998). Los géneros *Thecadinium* Kofoid *et Skogsberg* (Fig. 6R) y *Crypthecodinium*, se consideran como Gonyaulacales, pero en algunos árboles filogenéticos se alejan de los Gonyaulacales (Saldarriaga *et al.*, 2004). Ambos géneros tienen una inusual tabulación que no se relaciona claramente ni con Gonyaulacales ni con Peridinales. En ocasiones *Crypthecodinium* aparece en una posición basal en los Gonyaulacales o a veces basal al complejo GPP, a menudo como un grupo hermano del grupo de *Peridinium quinquecorne* y otros peridinales con diatomeas simbióticas. *Thecadinium* es actualmente un género polifilético, ya que *T. dragescoi* en ninguna filogenia está relacionado con otras especies congénicas y en el futuro deberá transferirse a otro género dentro de los Peridinales. La especie tipo es *Thecadinium kofoidii* (E.C. Herdman) J. Larsen, próxima pero sin formar un clado con otras especies fotosintéticas como: *T. yashimaense* Yoshimatsu, Toriumi *et Dodge*. Estas especies de *Thecadinium* tienden a aparecer en una posición basal dentro del clado de Gonyaulacales.

El resto de Gonyaulacales están agrupados, pero la relación entre los clados no está bien resuelta (Fig. 7). La mayor parte de Gonyaulacales son fotosintéticos, y contienen numerosas especies tóxicas como *Alexandrium*, por lo que los Gonyaulacales están relativamente mejor estudiados que los otros órdenes. La especie tipo de este orden, *Gonyaulax spinifera* (Claparède *et Lachmann*) Diesing, forma un clado con poco soporte estadístico con otras especies de *Gonyaulax*, como *G. polygramma* F. Stein, *G. fragilis* (Schütt) Kofoid y *G. cochlea* Meunier. La especie *Lingulodinium polyedra* (F. Stein) Dodge (= *G. polyedra*) y *Amylax diacantha* Meunier forman un clado separado de *Gonyaulax* s.s. que sugiere la consideración de una familia separada. Muchas de las especies de *Alexandrium* se describieron bajo el género *Gonyaulax*. La filogenia molecular no muestra una relación entre esos géneros que claramente deben estar en familias distintas (Saldarriaga *et al.*, 2004). En las filogenias moleculares *Alexandrium*

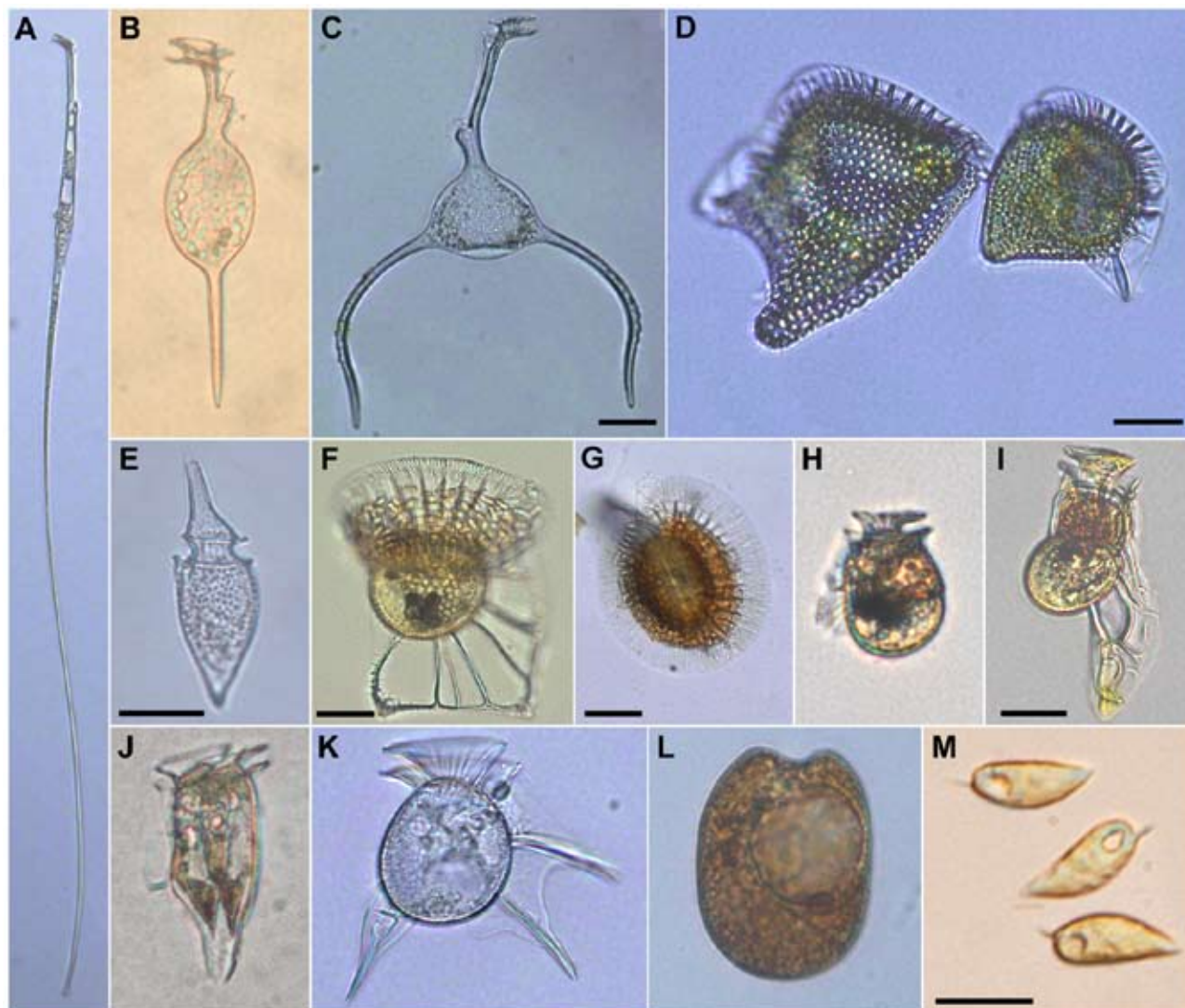


Figura 8A-M. Ejemplos de dinoflagelados tecados de los órdenes Dinophysales (A-K) y Prorocentrales (L-M). A-B. *Amphisolenia*. C. *Triposolenia*. D. *Phalacroma rapa* F. Stein (grande) y *P. mitra* Schütt (pequeña). E. *Phalacroma* (= *Oxyphysis*) *oxytoxoides* (Kofoid) F. Gómez, P. López-García et D. Moreira. F-G. *Ornithocercus* en vista lateral y apical respectivamente. H. *Citharistes*. I. *Histioneis*. J. *Dinophysis caudata* con la 'small cell' *D. diegensis* Kofoid. K. *Dinophysis schuettii* G. Murray et Whitting. L-M. *Prorocentrum*. Escala = 20 µm.

forma un clado bien definido junto con *Pyrodinium* y las especies tóxicas epifíticas: *Coolia* Meunier (Fig. 6T) y *Ostreopsis* J. Schmidt (Fig. 6U). Cercano a este grupo se encuentran las especies epifíticas de *Gambierdiscus* Adachi et Fukuyo. A falta de confirmación con la secuencia de *Goniodoma* F. Stein (Fig. 6S), podemos englobar a todas estas especies en la Familia Goniodomataceae (Fig. 7).

Otro de los clados de Gonyaulacales lo conforman las especies del género *Ceratium* Schrank. La filogenia molecular muestra una marcada separación entre las especies de agua dulce y marinas, que se han transferido recientemente al nuevo Género *Neoceratium* F. Gómez, D. Moreira et P. López-García, con base

en diferencias tanto en la tabulación como en el número de placas cingulares (Fig. 6N-P) (Gómez et al., 2010a). Sin duda ambos géneros constituyen la Familia Ceratiaceae, pero es difícil encontrar una relación con otras familias de Gonyaulacales.

Protoceratium reticulatum (Claparède et Lachmann) Bütschli y las especies de *Ceratocorys* F. Stein (Fig. 6Q) difieren en su apariencia general e incluso en su tabulación. Sin embargo, la filogenia molecular muestra que esas especies han evolucionado a partir de un ancestro común y deberían clasificarse en la misma familia. La Familia Protoceratiaceae Lindemann (1928, p. 83) tendría la prioridad frente a Ceratocoryaceae Lindemann (1928, p. 98), pero la especie tipo de *Protoceratium* Bergh no está bien de-

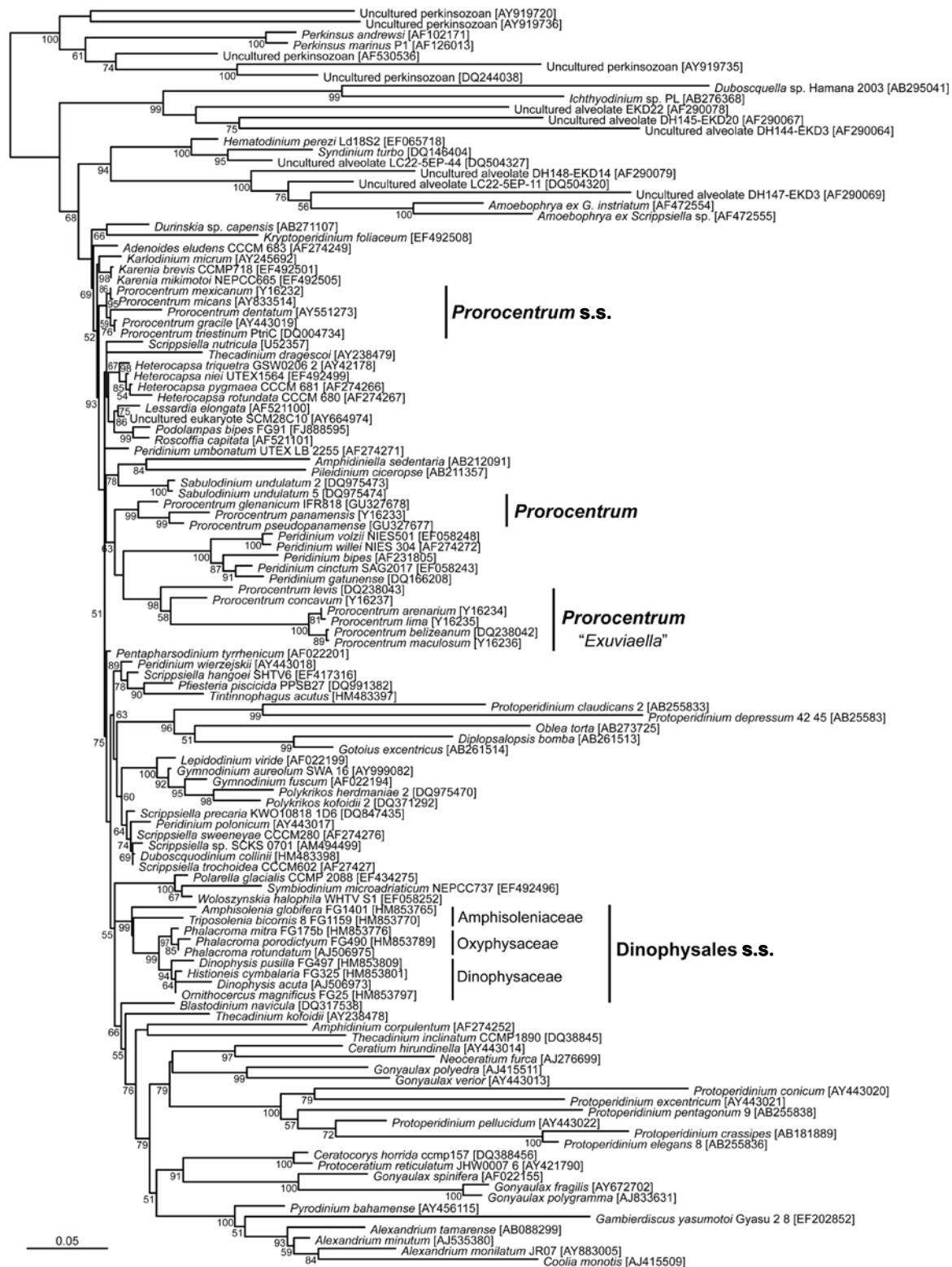


Figura 9. Árbol filogenético de máxima verosimilitud de secuencias SSU rADN de dinoflagelados armados o tecados, principalmente Dinophysales y Prorocentrales, basado en 1228 posiciones alineadas (véase métodos en Gómez *et al.* 2011a). Los números en los nodos representan los valores de soporte estadístico ('bootstrap'). Valores menores del 50% se omiten. Los números de acceso de GenBank se muestran entre corchetes. La barra de escala indica el número de sustituciones por unidad de longitud de rama.

finida. Otro clado está formado por *Pyrocystis*, *Fragilidium* Balech ex Loeblich III y *Pyrophacus* F. Stein (Fig. 6J-L), que difieren en su morfología de otras Gonyaulacales. Estos dos últimos géneros muestran una inusual multiplicación del número de placas. *Pyrocystis* tiene una tabulación más típica, pero las células forman unos quistes de dinosporina con alternancia de fases tecadas y atecadas (Fig. 6M). Este es sin duda el grupo morfológicamente más heterogéneo de Gonyaulacales, que podemos englobar en la Familia Pyrocystaceae. Los quistes secundarios del *Dissodinium pseudolunula* (Fig. 4G-J), un gymnodinioide parásito de ovocitos de copépodos, no se deben confundir con quistes lunados de *Pyrocystis* (Fig. 6M). Estrictamente, dado que *Pyrocystis* forma parte del Orden Gonyaulacales, el Orden Pyrocystales Apstein 1909 tendría prioridad con respecto a Gonyaulacales F.J.R. Taylor 1980. Algunos géneros monoespecíficos bentónicos como *Halospyrodinium* Horiguchi et Yoshizawa-Ebata y *Amphidiniella* Horiguchi, aparecen con bajo soporte entre los Gonyaulacales, pero no se relacionan con claridad con ninguna de las familias conocidas de Gonyaulacales (Fig. 7).

DINOPHYSALES Y PROROCENTRALES

Los Dinophysales y Prorocentrales suelen ser aplanados lateralmente, generalmente una gran hipoteca que se separa en dos valvas con una sutura sagital. En *Prorocentrum* no hay un sulco o cíngulo aparentes y la orientación de los flagelos desmocontes, es diferente a los otros dinoflagelados (Fig. 8L-M). Los Dinophysales poseen un cíngulo y sulco (Fig. 8A-K). La típica nomenclatura de la tabulación kofoidiniana basada en series latitudinales no es válida en estos órdenes. Se especula que ambos órdenes deriven de un antecesor común, quizás un peridinioide que fusionó las placas de su hipoteca, pero no hay evidencias basadas en filogenia molecular (Saldarriaga et al., 2004). Si tenemos en cuenta que los Prorocentrales se agrupan en dos o tres clados dispersos por el complejo GPP, no es fácil afirmar que los Dinophysales y todos los clados de *Prorocentrum* deriven de un ancestro común.

Del orden Prorocentrales tan sólo tenemos información del género *Prorocentrum*. Las especies son fotosintéticas y generalmente fáciles de cultivar, por lo que hay un gran número de secuencias disponibles. Sin embargo eso no hace que este género quede libre de controversia, porque no está claro su carácter monofilético o polifilético. Las especies de *Prorocentrum* forman dos, y a veces tres, clados separados (Fig. 9). Uno de los clados lo conforman especies generalmente planctónicas, con una valva simétrica o asimétrica. En este clado está la especie tipo, *P. micans* Ehrenberg, y por tanto correspondería a *Prorocentrum* s.s. Un segundo clado lo conforman mayoritariamente especies con valvas simétricas y generalmente epibentónicas, representadas por *P. lima* (Ehrenberg) Dodge, también descrita bajo el género *Exuviaella* Cienkowski. McLachlan et al. (1997) reinstauraron el género *Exuviaella*, pero basados en caracteres diagnósticos que no tienen una base filogenética. A pesar de los numerosos

estudios morfológicos, la separación de *Prorocentrum* y *Exuviaella* necesita una mayor justificación. En el clado de *P. lima* también se incluyen especies de agua dulce (i.e., *Prorocentrum foveolata* Croome et Tyler) que podrían corresponder al género *Haplodinium* Klebs. A estos dos clados, debemos añadir un tercero formado por *Prorocentrum panamense* Grzebyk, Sako et Berland (Grzebyk et al., 1998; Murray et al., 2009; Cohen-Fernández et al., 2010). Si no podemos claramente demostrar que todos los *Prorocentrum* proceden de un ancestro común, es aún más complicado demostrar que Prorocentrales y Dinophysales comparten un origen común. Por el momento, en las topologías generadas con la región SSU rADN, los Dinophysales se ubican en clados con bajo soporte, como un grupo hermano del clado de *P. lima* (Gómez et al., 2011b).

El grupo de los Dinophysales, con unas 280 especies, destaca por su diversidad de formas, con especies heterótrofas, y otras con cloroplastos de diferentes orígenes o simbiosis con microalgas y bacterias diazotróficas. El género *Dinophysis* ha recibido una mayor atención porque algunas especies son tóxicas y son frecuentes en aguas costeras templadas. En cultivos se ha comprobado la formación de estadios en su ciclo de vida (*small cells*) que se habían considerado como especies diferentes (Reguera & González-Gil, 2001) (Fig. 8J). Hasta muy recientemente, especies con cloroplastos del género *Dinophysis* no se han podido cultivar de forma permanente, pero ha tenido éxito una técnica basada en la alimentación con el ciliado *Myrionecta* Jankowski con cloroplastos procedentes de la criptofita *Teleaulax* D.R.A. Hill (Park et al., 2006). Hasta hace un par de años las secuencias disponibles de Dinophysales estaban limitadas a algunas especies de *Dinophysis* con cloroplastos. Handy et al. (2009) y en mayor medida Hastrup Jensen y Daugbjerg (2009) proporcionaron las primeras secuencias de los géneros *Amphisolenia* F. Stein (Fig. 8A-B), *Citharistes* F. Stein (Fig. 8H), *Ornithocercus* F. Stein (Fig. 8F-G), *Histioneis* F. Stein (Fig. 8I) y numerosas especies de *Dinophysis* y *Phalacroma* F. Stein. Estos estudios han resuelto en parte el debate de la sinonimia de *Dinophysis* y *Phalacroma*, pero se complica porque las especies de *Dinophysis* se separan por el momento en al menos tres clados y *Phalacroma* en dos clados. La separación clásica entre *Phalacroma* y *Dinophysis* se basaba en la relativa altura del cíngulo (Fig. 8D, J-K). Hastrup Jensen & Daugbjerg (2009) comenten el mismo error y reinstauran el género *Phalacroma* para especies cuya epiteca no excede más de ¼ de la longitud total de la célula. La clasificación hasta entonces dividía a los Dinophysales en tres familias, la familia Oxyphysaceae (solo con *Oxyphysis oxytoxoides* Kofoid) que se suponía basal, la familia Amphisoleniaceae (*Amphisolenia*, *Triposolenia*, Fig. 8A-C) y Dinophysaceae para el resto de Dinophysales. Un estudio más reciente, incluyendo la secuencia de *Oxyphysis* Kofoid, muestra que tanto la reciente definición de *Phalacroma*, como la clasificación no son válidas. *Oxyphysis*, cuya epiteca excede más de ¼ de la longitud total de la célula (Fig. 8E), es muy cercana a la

especie tipo de *Phalacroma*, *P. porodyctium* F. Stein, por lo que pertenece al género *Phalacroma* (Gómez *et al.*, 2011b). Los Dinophysales aparecen en tres clados, un clado basal para la familia Amphisoleniaceae y dos clados hermanos (Fig. 9). Uno para *Phalacroma* y *Oxyphysis* (excluyendo especies como *Phalacroma argus* F. Stein) que podemos nombrar como Oxyphysaceae, ahora que *Oxyphysis* es sinónimo de *Phalacroma* (Gómez *et al.*, 2011b). El otro clado, la familia Dinophysaceae, lo constituyen los géneros *Dinophysis*, *Histioneis*, *Ornithocercus* y algunos *Phalacroma* como *P. argus* F. Stein. Este resultado es similar en la filogenia basada en el marcador LSU rADN (Park *et al.*, 2011). En el género *Dinophysis* las especies con cloroplastos, típicamente la especies tóxicas (*D. acuta* Ehrenberg, *D. caudata* Kent, *D. acuminata* Claparède et Lachmann), forman un clado bien separado de las especies heterótrofas, tales como: especies pertenecientes al grupo de *Dinophysis hastata* F. Stein. Sin embargo, todas esas especies no forman un clado bien definido, incluso especies antes consideradas como formas de *D. hastata*, son especies independientes y en clados bien separados [*D. phalacromoides* (Jørgensen) F. Gómez, P. López-García et D. Moreira y *D. uracanthoides* (Jørgensen) F. Gómez, P. López-García et D. Moreira]. Las especies heterótrofas de *Dinophysis* no se incluyen en un clado monofilético, por lo que serán necesarios más estudios antes de la posible separación genérica entre las especies con o sin cloroplastos (Gómez *et al.*, 2011b).

A medida que se han ido obteniendo nuevas secuencias de géneros diferentes, la filogenia de Dinophysales se ha revelado especialmente compleja. Hasta el momento los Dinophysales han permanecido como el único de los órdenes clásicos con un carácter monofilético. Sin embargo, un reciente estudio muestra que especies del género pelágico *Pseudophalacroma* Jørgensen y el género béntico *Sinophysis* D.S. Nie et C.C. Wang, forman dos clados separados que divergen del clado principal de Dinophysales *sensu stricto* (Gómez *et al.*, 2012).

PERSPECTIVAS

La mayor parte de los estudios de dinoflagelados se han realizado a partir de material fijado y en muchas casos con muestras recogidas con red. Si bien los dinoflagelados tecados están relativamente bien estudiados, nuestro conocimiento es más limitado para las especies de menor tamaño y los dinoflagelados desnudos. La observación de muestras con material vivo es esencial para conocer esas especies que se alteran o desaparecen con la fijación. Grupos de parásitos o los Noctilucales tienen una diversidad claramente subestimada. La situación es similar para la filogenia molecular, donde además se añade un claro sesgo hacia las especies fotosintéticas. Las librerías de secuencias ambientales de SSU rADNs revelan que los dinoflagelados están presentes ampliamente en todo tipo de ambientes acuáticos, pero los estudios se han centrado en aguas superficiales y en zonas costeras. Tan sólo en la última década, varias decenas de nuevos géneros

han aparecido en los estudios de especies psammófilas de zonas intermareales, pero son pocos los estudios morfológicos que se realizan en aguas oceánicas y sedimentos de aguas profundas. Quedan por tanto muchos ambientes por explorar.

Faltan aún secuencias de muchos géneros conocidos para completar los árboles basados en los genes SSU y LSU rADN. Las secuencias SSU rADN, más conservadas que las LSU rADN, son muy útiles para la diferenciación de géneros y familias, pero en algunos casos como en las especies de *Neoceratium*, las diferencias interespecíficas son muy escasas. El gen LSU rADN es más variable y útil para resolver las relaciones filogenéticas a nivel intragenérico. Saunders *et al.* (1997) mencionaron las dificultades para establecer las relaciones entre los clados de Gymnodiniales, Peridiniales y Prorocentrales. Hoy en día, a pesar del aumento de secuencias disponibles esta situación continúa y la mayor parte de los órdenes aparecen separados en numerosos clados, a veces con clados diferentes para un mismo género, como es el caso de *Prorocentrum*. Ni los genes SSU, ni LSU rADN permiten resolver las relaciones filogenéticas entre los órdenes clásicos. En especies muy abundantes o disponibles en cultivos ha sido posible utilizar una combinación de varios marcadores moleculares, pero es aún escaso el número de secuencias disponibles de otros marcadores (Hoppenrath & Leander, 2010). Además de las relaciones entre los órdenes, temas como el origen del flagelo transversal, la pérdida de histonas, el origen de la bioluminiscencia y los cloroplastos, y el desarrollo de orgánulos como nematocistos, ocelos o pistón, necesitan ser investigados.

AGRADECIMIENTOS

F.G. agradece el financiamiento del contrato JCI-2010-08492 del Ministerio Español de Ciencia y Tecnología. D.M. y P.L-G., están financiados por el CNRS y el programa ANR Biodiversity (ANR BDIV 07 004-02 'Aquaparadox'). Agradecemos a la Dra. M.E. Meave del Castillo la oportunidad de poder contribuir a este número conmemorativo.

REFERENCIAS

- BALECH, E. 1974. El género *Protoperidinium* Bergh, 1881 (*Peridinium* Ehrenberg, 1831, partim). *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"* 4 (1): 1-79.
- BIECHLER, B. 1934. Sur le réseau argentophile et la morphologie de quelques péridiniens nus. *Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie* 115: 1039-1042.
- BOLCH, C. J. S. 2001. PCR protocols for genetic identification of dinoflagellates directly from single cysts and plankton cells. *Phycologia* 40 (2): 162-167.
- CACHON, J. & M. CACHON. 1967. Contribution à l'étude des Noctilucidae Saville-Kent. I. Les Kofoidininae Cachon, J. et M. évolution, morphologie et systématique. *Protistologica* 3 (4): 427-444.

- CACHON, J. & M. CACHON. 1969. Contribution à l'étude des Noctilucidae Saville-Kent. Évolution, morphologique, cytologie, systématique. II. Les Leptodiscinae Cachon J. et M. *Protistologica* 5 (1): 11-33.
- CACHON, J. & M. CACHON. 1987. Parasitic dinoflagellates. In: Taylor, F. J. R. (Ed.). *The biology of dinoflagellates*. Blackwell, New York. pp. 571-610.
- CAVALIER-SMITH, T. 1991. Cell diversification in heterotrophic flagellates. In: Patterson, D. J. & J. Larsen (Eds.). *The biology of free-living heterotrophic flagellates*. Systematics Association Special Volume 45. Clarendon Press, Oxford. pp. 113-131.
- COATS, D. W., S. KIM, T. R. BACHVAROFF, S. M. HANDY & C. F. DELWICHE. 2010. *Tintinnophagus acutus* n. g., n. sp. (Phylum Dinoflagellata), an ectoparasite of the ciliate *Tintinnopsis cylindrica* Daday 1887, and its relationship to *Duboscquodinium collini* Grassé 1952. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 57 (6): 468-482.
- COHEN-FERNÁNDEZ, E. J., F. F. PEDROCHE, M. RODRÍGUEZ PALACIOS, S. ÁLVAREZ HERNÁNDEZ & M. E. MEAVE DEL CASTILLO. 2010. Molecular phylogeny of *Prorocentrum* (Dinoflagellata) from the Pacific Coast of Mexico based on the parsimony analysis of fragments of LSU rDNA and SSU rDNA. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry* 2 (3): 29-37.
- DAUGBJERG, N., G. HANSEN, J. LARSEN & Ø. MOESTRUP. 2000. Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates based on ultrastructure and partial LSU rDNA sequence data, including the erection of three new genera of unarmoured dinoflagellates. *Phycologia* 39 (4): 302-317.
- DODGE, J. D. 1965. Chromosome structure in the dinoflagellates and the problem of the mesocaryotic cell. *Excerpta Medica International Congress Series* 91: 264-265.
- DOLVEN, J. K., C. LINDQVIST, V. A. ALBERT, K. R. BJØRKLUND, T. YUASA, O. TAKAHASHI & S. MAYAMA. 2007. Molecular diversity of Alveolates associated with neritic North Atlantic radiolarians. *Protist* 158 (1): 65-76.
- FENSOME, R. A., F. J. R. TAYLOR, G. NORRIS, W. A. S. SARJEANT, D. I. WHARTON & G. L. WILLIAMS. 1993. *A classification of living and fossil dinoflagellates*. American Museum of Natural History. Sheridan Press, Hanover. 351 p.
- FLØ JØRGENSEN, M., S. MURRAY & N. DAUGBJERG. 2004a. *Amphidinium* revisited: I. Redefinition of *Amphidinium* (Dinophyceae) based on cladistic and molecular phylogenetic analyses. *Journal of Phycology* 40 (2): 351-365.
- FLØ JØRGENSEN, M., S. MURRAY & N. DAUGBJERG. 2004b. A new genus of athecate interstitial dinoflagellates, *Togula* gen. nov., previously encompassed within *Amphidinium* sensu lato: Inferred from light and electron microscopy and phylogenetic analyses of partial large subunit ribosomal DNA sequences. *Phycological Research* 52 (3): 284-299.
- GAJADHAR, A. A., W. C. MARQUARDT, R. HALL, J. GUNDERSON, E. V. ARITZIA-CARMONA & M. L. SOGIN. 1991. Ribosomal RNA sequences of *Sarcocystis muris*, *Theileria annulata* and *Crypthecodinium cohnii* reveal evolutionary relationships among apicomplexans, dinoflagellates and ciliates. *Molecular and Biochemical Parasitology* 45 (1): 147-154.
- GAST, R. J. & D. A. CARON. 1996. Molecular phylogeny of symbiotic dinoflagellates from planktonic foraminifera and radiolaria. *Molecular Biology and Evolution* 13 (9): 1192-1197.
- GOGGIN, C. L. & S. C. BARKER. 1993. Phylogenetic position of the genus *Perkinsus* (Protista, Apicomplexa) based on small subunit ribosomal RNA. *Molecular and Biochemical Parasitology* 60 (1): 65-70.
- GÓMEZ, F. 2005. A list of dinoflagellates in the world's oceans. *Acta Botanica Croatica* 64 (1): 129-212.
- GÓMEZ, F. & K. FURUYA. 2005. Leptodiscaceans (Noctilucales, Dinophyceae) from the Pacific Ocean: First records of *Petalodinium* and *Leptodiscus* beyond the Mediterranean Sea. *European Journal of Protistology* 41 (3): 231-239.
- GÓMEZ, F., Y. NAGAHAMA, H. TAKAYAMA & K. FURUYA. 2005. Is *Karenia* a synonym of *Asterodinium-Brachidinium*? (Gymnodiniales, Dinophyceae). *Acta Botanica Croatica* 64 (2): 263-274.
- GÓMEZ, F. & K. FURUYA. 2007. *Kofoidinium*, *Spatulodinium* and other kofoidiniaceans (Noctilucales, Dinophyceae) in the Pacific Ocean. *European Journal of Protistology* 43 (2): 115-124.
- GÓMEZ, F., P. LÓPEZ-GARCÍA, A. NOWACZYK & D. MOREIRA. 2009a. The crustacean parasites *Ellobiopsis caulleryi*, 1910 and *Thalassomyces niezabitowski*, 1913 form a monophyletic divergent clade within the Alveolata. *Systematic Parasitology* 74 (1): 65-74.
- GÓMEZ, F., P. LÓPEZ-GARCÍA & D. MOREIRA. 2009b. Molecular phylogeny of the ocelloid-bearing dinoflagellates *Erythrospidinium* and *Warnowia* (Warnowiaceae, Dinophyceae). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 56 (5): 440-445.
- GÓMEZ, F., D. MOREIRA & P. LÓPEZ-GARCÍA. 2009c. Life cycle and molecular phylogeny of the dinoflagellates *Chytriodinium* and *Dissodinium*, ectoparasites of copepod eggs. *European Journal of Protistology* 45 (4): 260-270.
- GÓMEZ, F. 2010. Diversity and distribution of noctiluroid dinoflagellates (Noctilucales, Dinophyceae) in the open Mediterranean Sea. *Acta Protozoologica* 49 (4): 365-372.
- GÓMEZ, F., D. MOREIRA & P. LÓPEZ-GARCÍA. 2010a. *Neoceratium* gen. nov., a new genus for all marine species currently assigned to *Ceratium* (Dinophyceae). *Protist* 161 (1): 35-54.
- GÓMEZ, F., D. MOREIRA & P. LÓPEZ-GARCÍA. 2010b. Molecular phylogeny of noctiluroid dinoflagellates (Noctilucales, Dinophyta). *Protist* 161 (3): 466-478.
- GÓMEZ, F., D. MOREIRA & P. LÓPEZ-GARCÍA. 2010c. Molecular phylogeny of the dinoflagellates *Podolampas* and *Blepharocysta* (Peridiniales, Dinophyceae). *Phycologia* 49 (3): 212-220.
- GÓMEZ, F., P. LÓPEZ-GARCÍA & D. MOREIRA. 2011a. Molecular phylogeny of the sand-dwelling dinoflagellates *Amphidiniopsis hirsuta* and *A.*

- swedmarkii* (Peridiniales, Dinophyceae). *Acta Protozoologica* 50 (3): 255-262.
- GÓMEZ, F., P. LÓPEZ-GARCÍA & D. MOREIRA. 2011b. Molecular phylogeny of dinophysoid dinoflagellates: The systematic position of *Oxyphysis oxytoxoides* and the *Dinophysis hastata* group (Dinophysales, Dinophyceae). *Journal of Phycology* 47 (2): 393-406.
- GÓMEZ, F., P. LÓPEZ-GARCÍA & D. MOREIRA. 2012. *Sinophysis* and *Pseudopha-lacroma* are distantly related to typical dinophysoid dinoflagellates (Dinophysales, Dinophyceae). *Journal of Eukaryotic Microbiology* 59: DOI: 10.1111/j.1550-7408.2011.00598.
- GRZEBYK, D., Y. SAKO & B. BERLAND. 1998. Phylogenetic analysis of nine species of *Prorocentrum* (Dinophyceae) inferred from 18S ribosomal DNA sequences, morphological comparisons, and a description of *Prorocentrum panamensis*, sp. nov. *Journal of Phycology* 34 (6): 1055-1068.
- GUILLLOU, L., M. VIPREY, A. CHAMBOUVET, R. M. WELSH, A. R. KIRKHAM, R. MASSANA, D. J. SCANLAN & A. Z. WORDEN. 2008. Widespread occurrence and genetic diversity of marine parasitoids belonging to Syndiniales (Alveolata). *Environmental Microbiology* 10 (12): 3349-3365.
- GUNDERSON, J. H., H. ELWOOD, A. INGOLD, K. KINDLE & M. L. SOGIN. 1987. Phylogenetic relationships between chlorophytes, chrysophytes and oomycetes. *Proceedings of the National Academy of Science* 84 (16): 5823-5827.
- GUNDERSON, J. H., S. H. GOSS & D. W. COATS. 1999. The phylogenetic position of *Amoebophrya* sp. from *Gymnodinium sanguineum*. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 46 (2): 194-197.
- HANDY, S. M., T. R. BACHVAROFF, R. E. TIMME, D. W. COATS, S. KIM & C. F. DELWICHE. 2009. Phylogeny of four Dinophysiacean genera (Dinophyceae, Dinophysiales) based on rDNA sequences from single cells and environmental samples. *Journal of Phycology* 45 (5): 1163-1174.
- HANSEN, G. & N. DAUGBJERG. 2004. Ultrastructure of *Gyrodinium spirale*, the type species of *Gyrodinium* (Dinophyceae), including a phylogeny of *G. dominans*, *G. rubrum* and *G. spirale* deduced from partial LSU rDNA sequences. *Protist* 155 (3): 271-294.
- HARADA, A., S. OHTSUKA & T. HORIGUCHI. 2007. Species of the parasitic genus *Duboscquella* are members of the enigmatic Marine Alveolate Group I. *Protist* 158 (3): 337-347.
- HASTRUP JENSEN, M. & N. DAUGBJERG. 2009. Molecular phylogeny of selected species of the order Dinophysiales (Dinophyceae) -testing the hypothesis of a Dinophysoid radiation. *Journal of Phycology* 45 (5): 1136-1152.
- HENRICHS, D. W., H. M. SOSIK, R. J. OLSON & L. CAMPBELL. 2011. Phylogenetic analysis of *Brachidinium capitatum* Taylor (Dinophyceae) from the Gulf of Mexico indicates membership in the Kareniaceae. *Journal of Phycology* 47 (2): 366-374.
- HILLIS, D. M. & M. J. DIXON. 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *Quarterly Review of Biology* 66 (4): 411-453.
- HINNEBUSCH, A. G., L. C. KLOTZ, R. L. BLANKEN & A. R. LOEBLICH III. 1981. An evaluation of the phylogenetic position of the dinoflagellate *Cryptothecodinium cohnii* based on 5S rRNA characterization. *Journal of Molecular Evolution* 17 (6): 334-347.
- HOPPENRATH, M. & B. S. LEANDER. 2010. Dinoflagellates phylogeny as inferred from heat shock protein 90 and ribosomal gene sequences. *PLoS ONE* 5 (10): e13220.
- HORIGUCHI, T., Y. HAYASHI, H. KUDO & Y. HADA. 2011. A new benthic dinoflagellate *Spiniferodinium palauense* sp. nov. (Dinophyceae) from Palau. *Phycologia* 50 (6): 616-623.
- KI, J. S., M. H. PARK & M. S. HAN. 2011. Discriminative power of nuclear rDNA sequences for the DNA taxonomy of the dinoflagellate genus *Peridinium* (Dinophyceae). *Journal of Phycology* 47 (2): 426-435.
- LENAERS, G., C. SCHOLIN, Y. BHAUD, D. SAINT-HILAIRE & M. HERZOG. 1991. A molecular phylogeny of dinoflagellate protists (Pyrrhophyta) inferred from the sequence of 24S rRNA divergent domains D1 and D8. *Journal of Molecular Evolution* 32 (1): 53-63.
- LEVY, M. G., R. W. LITAKER, R. J. GOLDSTEIN, M. J. DYKSTRA, M. W. VANDERSEA & E. J. NOGA. 2007. *Piscinoodinium*, a fish-ectoparasitic dinoflagellate, is a member of the class Dinophyceae, subclass Gymnodiniophycidae: convergent evolution with *Amyloodinium*. *Journal of Parasitology* 93 (5): 1006-1015.
- LINDEMANN, E. 1928. Abteilung Peridineae (Dinoflagellatae). In: A. Engler & K. Prantl (Eds.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Wilhelm Engelmann. Bd. 2. pp. 1-104.
- LOGARES, R., K. SHALCHIAN-TABRIZI, A. BOLTOVSKOY & K. RENGEFORS. 2007. Extensive dinoflagellate phylogenies indicate infrequent marine-freshwater transitions. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45 (3): 887-903.
- LÓPEZ-GARCÍA, P., F. RODRÍGUEZ-VALERA, C. PEDRÓS-ALIÓ & D. MOREIRA. 2001. Unexpected diversity of small eukaryotes in deep-sea Antarctic plankton. *Nature* 409 (6820): 603-607.
- MCLACHLAN, J. L., G. T. BOALCH & R. JAHN. 1997. Reinstatement of the genus *Exuviaella* (Dinophyceae, Prorocentrophycidae) and an assessment of *Prorocentrum lima*. *Phycologia* 36 (1): 38-46.
- MONTRESOR, M., G. PROCACCINI & D. K. STOECKER. 1999. *Polarella glacialis* gen. nov., sp. nov. (Dinophyceae): Suessiaceae are still alive. *Journal of Phycology* 35 (1): 186-197.
- MOORE, R. B., M. OBORNIK, T. CHRUDIMSKY, J. JANOUSKOVEC, M. VANCOVA, D. H. GREEN, S. W. WRIGHT, N. W. DAVIES, C. J. S. BOLCH, K. HEIMANN, O. HOEGH-GULDBERG, J. M. LOGSDON JR. & D. A. CARTER. 2008. A photosynthetic alveolate closely related to apicomplexan parasites. *Nature* 451 (7181): 959-963.
- MOREIRA, D. & P. LÓPEZ-GARCÍA. 2003. Are hydrothermal vents oases for parasitic protists?. *Trends in Parasitology* 19 (12): 556-558.
- MURRAY, S., C. L. IP, R. MOORE, Y. NAGAHAMA & Y. FUKUYO. 2009. Are prorocentroid dinoflagellates monophyletic? A study of 25 species based on nuclear and mitochondrial genes. *Protist* 160 (2): 245-264.

- NORÉN, F., O. MOESTRUP & A. -S. REHNSTAM-HOLM. 1999. *Parvilucifera infectans* gen. et sp. nov. (Perkinsozoa phylum nov.): A parasitic flagellate capable of killing toxic algae. *European Journal of Protistology* 35 (3): 233-254.
- PARK, M. G., S. KIM, H. S., KIM, G. MYUNG, Y. G. KANG & W. YIH. 2006. First successful culture of the marine dinoflagellates *Dinophysis acuminata*. *Aquatic Microbial Ecology* 45 (2): 101-106.
- PARK, M. G., H. LEE, K. Y. KIM & S. KIM. 2011. Feeding behavior, spatial distribution and phylogenetic affinities of the heterotrophic dinoflagellate *Oxyphysis oxytoxoides*. *Aquatic Microbial Ecology* 62 (3): 279-287.
- PHILIPPE, H. & A. ADOUTTE. 1998. The molecular phylogeny of Eukaryota: solid facts and uncertainties. In: G. H. Coombs, K. Vickerman, M. A. Sleight & A. Warren (Eds.). *Evolutionary Relationships among Protozoa*. Kluwer, pp. 25-56.
- POUCHET, C. H. G. 1885. Nouvelle contribution a l'histoire des Péridiniens marins. *Journal de l'Anatomie et de la Physiologie Normales et Pathologiques de l'Homme et des Animaux* 21: 28-88.
- REGUERA, B. & S. GONZÁLEZ-GIL. 2001. Small cell and intermediate cell formation in species of *Dinophysis* (Dinophyceae, Dinophysiales). *Journal of Phycology* 37 (2): 318-333.
- RIS, H. & D. F. KUBAL. 1974. An unusual mitotic mechanism in the parasitic protozoan *Syndinium* sp. *Journal of Cell Biology* 60 (3): 702-720.
- RUIZ SEBASTIÁN, C. & C. O. RYAN. 2001. Single-cell sequencing of dinoflagellate (Dinophyceae) nuclear ribosomal genes. *Molecular Ecology Notes* 1 (4): 329-331.
- SALDARRIAGA, J. F., M. L. MCEWAN, N. M. FAST, F. J. R. TAYLOR & P. J. KEELING. 2003a. Multiple protein phylogenies show that *Oxyrrhis marina* and *Perkinsus marinus* are early branches of the dinoflagellate lineage. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 53 (1): 355-365.
- SALDARRIAGA, J. F., B. S. LEANDER, F. J. R. TAYLOR, & P. J. KEELING. 2003b. *Lessardia elongata* gen. et sp. nov. (Dinoflagellata, Peridinales, Podolampaceae) and the taxonomic position of the genus *Roscoffia*. *Journal of Phycology* 39 (2): 368-378.
- SALDARRIAGA, J. F., F. J. R. TAYLOR, T. CAVALIER-SMITH, S. MENDEN-DEUER & P. J. KEELING. 2004. Molecular data and the evolutionary history of dinoflagellates. *European Journal of Protistology* 40 (1): 85-111.
- SAUNDERS, G. W., D. R. A. HILL, J. SEXTON & R. A. ANDERSEN. 1997. Small-subunit ribosomal RNA sequences from selected dinoflagellates: testing classical evolutionary hypotheses with molecular systematic methods. In: Bhattacharya, D. (Ed.) *Origins of algae and their plastids*. Springer, New York, pp. 237-259.
- SCHWEIKERT, M. & M. ELBRÄCHTER. 2004. First ultrastructural investigations of the consortium between a phototrophic eukaryotic endocytobiont and *Podolampas bipes* (Dinophyceae). *Phycologia* 43 (5): 614-623.
- SIANO, R., M. MONTRESOR, I. PROBERT, F. NOT & C. DE VARGAS. 2010. *Pelagodinium* gen. nov. and *P. beii* comb. nov., a dinoflagellate symbiont of planktonic foraminifera. *Protist* 161 (3): 385-399.
- SILBERMAN, J. D., COLLINS, A. G., GERSHWIN, L. A., JOHNSON, P. J. & A. J. ROGER. 2004. Ellobiopsids of the genus *Thalassomyces* are alveolates. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 51 (2): 246-252.
- SKOVGAARD, A., R. MASSANA, V. BALAGUE & E. SAIZ. 2005. Phylogenetic position of the copepod infesting parasite *Syndinium turbo* (Dinoflagellata, Syndinea). *Protist* 156 (4): 413-423.
- SKOVGAARD, A., R. MASSANA & E. SAIZ. 2007. Parasites of the genus *Blastodinium* (Blastodiniphyceae) are peridinoid dinoflagellates. *Journal of Phycology* 43 (3): 553-560.
- SOGIN, M. L. 1989. Evolution of eukaryotic microorganisms and their small-subunit ribosomal RNA's. *American Zoologist* 29 (2): 487-499.
- SPARMANN, S. F., B. S. LEANDER & M. HOPPENRATH. 2008. Comparative morphology and molecular phylogeny of taxa of the new marine benthic dinoflagellate genus *Apicoporus*, classified formerly within *Amphidinium* sensu lato. *Protist* 159 (3): 383-399.
- TAKANO, Y. & T. HORIGUCHI. 2004. Surface ultrastructure and molecular phylogenetics of four unarmoured heterotrophic dinoflagellates, including the type species of *Gyrodinium* (Dinophyceae). *Phycological Research* 52 (2): 106-117.
- TAMURA, M., S. SHIMADA & T. HORIGUCHI. 2005. *Galeidinium rugatum* gen. et sp. nov. (Dinophyceae), a new coccoid dinoflagellate with a diatom endosymbiont. *Journal of Phycology* 41 (3): 658-671.
- TAYLOR, F. J. R. 1999. Morphology (tabulation) and molecular evidence for dinoflagellate phylogeny reinforce each other. *Journal of Phycology* 35 (1): 4-6.
- TAYLOR, F. J. R. 2004. Illumination or confusion? Dinoflagellate molecular phylogenetic data viewed from a primarily morphological standpoint. *Phycological Research* 52 (4): 308-324.
- TILLMANN, U., M. ELBRÄCHTER, B. KROCK, U. JOHN & A. CEMBELLA. 2009. *Azadinium spinosum* gen. et sp. nov. (Dinophyceae) identified as a primary producer of azaspiracid toxins. *European Journal of Phycology* 44 (1): 63-79.
- YAMAGUCHI, A., M. HOPPENRATH, V. POSPELOVA, T. HORIGUCHI & B. S. LEANDER. 2011. Molecular phylogeny of the marine sand-dwelling dinoflagellate *Herdmania litoralis* and an emended description of the closely related planktonic genus *Archaeoperidinium* Jörgensen. *European Journal of Phycology* 46 (2): 98-112.
- YUASA, K., T. KAMAISHI, K. MORI, J. H. HUTAPEA, G. N. PERMANA & A. NAKAZAWA. 2007. Infection by a protozoan endoparasite of the genus *Ichthyodinium* in embryos and yolk-sac larvae of yellowfin tuna *Thunnus albacares*. *Fish Pathology* 42 (1): 59-66.

Recibida: 1 de julio de 2011.

Aceptada: 18 octubre de 2011.