



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Unidad Iztapalapa

POSGRADO EN BIOLOGIA

T E S I S:

Caracterización morfológica y molecular de microalgas marinas planctónicas del Pacífico tropical mexicano con énfasis en diversidad y taxonomía

P R E S E N T A:

JOVANNY ARANA GARCIA

Matricula: 2223803809

jovaaran@gmail.com

ORCID: 0009-0007-7345-2090

PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN BIOLOGÍA

CO-DIRECTORES

M. en C. Alexis de Jesús Escarcega Bata

Dr. David Uriel Hernández Becerril

ASESORA

M. en C. María Eugenia Zamudio Resendiz

JURADO

Presidenta: M. en C. María Eugenia Zamudio Resendiz

Secretaria: Dra. María Luisa Núñez Resendiz

Vocal: Dr. Francisco José Gutiérrez Mendieta

Vocal: Dra. Laura Georgina Calva Benítez

Iztapalapa, Ciudad de México

24 de octubre 2024

“La Maestría en Biología de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Sistema Nacional de Posgrados (SNP) de CONAHCYT”

El jurado designado por la
División de Ciencias Biológicas y de la Salud
de la Unidad Iztapalapa aprobó la tesis que presentó
Jovanny Arana García

El día 24 de octubre del año 2024

Comité Tutorial y Jurado

M. en C. Alexis de Jesús Escárcega Bata Co-director



Dr. David Uriel Hernández Becerril Co-director

David Uriel Hernández Becerril

M. en C. María Eugenia Zamudio Reséndiz Asesora



Presidente: María Eugenia Zamudio Resendiz



Secretaria: Dra. María Luisa Núñez Resendiz



Vocal: Dr. Francisco José Gutiérrez Mendieta



Vocal: Dra. Laura Georgina Calva Benítez



Declaración de originalidad

El que suscribe ARANA GARCIA JOVANNY, alumno (a) del posgrado MAESTRÍA EN BIOLOGÍA, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa y autor de la tesis o idónea comunicación de resultados titulada: “Caracterización morfológica y molecular de microalgas marinas planctónicas del Pacífico tropical mexicano con énfasis en diversidad y taxonomía”

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante el H. Jurado para lo obtención del grado de Maestra en Biología es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo de investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales del material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he reproducido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, relevo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por la autoría y originalidad de esta, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese de mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 24 de octubre del 2024.

Atentamente



Jovanny Arana Garcia

Este documento debe ser firmado con tinta azul y debe anexarse copia en la tesis o idónea comunicación de resultados (tesina, reporte, etc.), el documento original será conservado por el Coordinador del Posgrado.

Dedicatoria

*A mis padres **Marthita** y **Sergio**.*

*A mi compañera de vida, **Sofi**.*

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Metropolitana

A la Maestría en Biología

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías por el apoyo económico otorgado para la realización de mis estudios de maestría Beca con numero de CVU **1254958**.

A mi Codirector, M. en C. **Alexis Escarcega**, por el apoyo, la atención, compromiso y entrega en la elaboración de este trabajo.

A mi director, Dr. **David Hernández** por guiarme e introducirme a la ciencia.

A la M. en C. **María Eugenia** por abrirme las puertas de su laboratorio.

A mis compañeros de laboratorio.

Al Dr. **Francisco Gutiérrez** por el apoyo brindado a lo largo de la maestría.

A la Dra. **Mary Carmen** por recibirme en su laboratorio y permitirme aprender de su grupo de trabajo.

Al Biol. **Uriel Ruiz**, por las fotografías de *Heterocapsa* sp.

A mis amigos **Alexis, Fanny, Kevin, Erick y Chucho** por todo lo vivido.

A mi compañera de vida **Sofi**, por caminar conmigo esta travesía, por el apoyo y amor incondicional brindado en todo momento y enseñarme a ser mejor persona.

A mis padres, **Marthita y Sergio**, por el apoyo brindado. Sin ustedes, esto no sería posible.

A **Amparo, Paco, Mizi y Soni**.

Resumen

Caracterización morfológica y molecular de microalgas marinas planctónicas del Pacífico tropical mexicano con énfasis en diversidad y taxonomía

El fitoplancton es una comunidad de alta importancia para los ambientes marinos, cumple un papel fundamental en la productividad primaria y las redes tróficas. En esta comunidad destacan los dinoflagelados por su importancia ecológica. Diversos grupos de dinoflagelados han sido pobremente estudiados debido a la naturaleza de las células, donde se favorecen formas grandes y tecadas, las cuales mantienen sus características morfológicas mediante los procesos de colecta y fijación tradicionales. El objetivo de este estudio fue la caracterización morfológica y molecular de microalgas marinas mediante cultivos para el reconocimiento de nuevos registros y resolución de problemas taxonómicos. Se obtuvieron ocho cepas de dinoflagelados correspondientes a los géneros *Karlodinium* y *Heterocapsa*, las cuales fueron aisladas y cultivadas de la Bahía de Acapulco en el océano Pacífico tropical mexicano, durante los meses de noviembre 2021 y marzo 2023. La morfología de las células fue analizada mediante diversas técnicas de microscopía (campo claro, epifluorescencia, microscopía electrónica de barrido y microscopía electrónica de transmisión). Se estudió la ultraestructura y la caracterización morfológica de las escamas de *Heterocapsa borneoensis*. Caracteres morfológicos relevantes de todas las especies fueron consistentes con descripciones previas. La identificación molecular de las especies *Karlodinium azanzae*, *K. decipiens* y *Heterocapsa borneoensis* fue llevada a cabo mediante el marcador molecular 28S LSU ADNr. Confirmamos la presencia de seis nuevos registros de los géneros *Karlodinium* y *Heterocapsa* para el océano Pacífico oriental.

Palabras clave: **dinoflagelados, Pacífico mexicano, filogenia molecular, morfología**

Abstract

Morphological and molecular characterization of planktonic marine microalgae from the Mexican tropical Pacific with emphasis on diversity and taxonomy.

Phytoplankton is a community of great importance for the marine environments, playing a fundamental role in primary productivity and food webs. Within this community, the dinoflagellates are remarkable for their ecological importance. Several groups of dinoflagellates have been poorly studied due to the nature of the cells, where large and thecated forms are favored, which maintain their morphological characteristics through traditional collection and fixation processes. The aim of this study was the morphological and molecular characterization of marine microalgae from cultures for the recognition of species and resolution of taxonomic problems. Eight dinoflagellate strains corresponding to the genera *Karlodinium* and *Heterocapsa* were obtained, isolated and cultured from Acapulco Bay in the tropical Mexican Pacific Ocean, during November 2021 and March 2023. The morphology of the cells was studied using different microscopy techniques (light microscopy, epifluorescence, scanning electron microscopy and transmission electron microscopy). Ultrastructure and morphological characterization of *Heterocapsa borneoensis* scales was made. Relevant morphological characters of all species were consistent with previous descriptions. Molecular identification of the species *Karlodinium azanzae*, *K. decipiens* and *Heterocapsa borneoensis* was carried out using the molecular marker 28s LSU rDNA. The presence of six new records of the genera *Karlodinium* and *Heterocapsa* for the eastern Pacific Ocean is confirmed here.

Key words: dinoflagellates, Mexican Pacific, molecular phylogeny, morphology

Contenido

Dedicatoria.....	5
Agradecimientos.....	6
Resumen en español.....	7
Abstract.....	8
Lista de figuras.....	12
Lista de tablas.....	13
Lista de láminas.....	14
1. Introducción	16
2. Antecedentes.....	18
2.1 Taxonomía de dinoflagelados.....	18
2.2 Género <i>Heterocapsa</i> Stein	18
2.3 Género <i>Karlodinium</i> Larsen	20
2.4 Dinoflagelados en el Pacífico tropical mexicano.....	21
3. Objetivos.....	24
3.1 Objetivo general.....	24
3.2 Objetivos específicos.....	24
4. Metodología.....	25
4.1 Área de estudio.....	25
4.2 Muestreo.....	26
4.3 Análisis de laboratorio.....	26

4.3.1	Aislamiento y cultivo.....	26
4.3.2	Microscopía de Luz.....	26
4.3.3	Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	27
4.3.4	Microscopía electrónica de transmisión (MET).....	27
4.4	Biología molecular.....	27
4.4.1	Análisis de PCR.....	28
4.4.2	Alineación de secuencias y análisis filogenético.....	28
5.	Resultados.....	29
5.1	Morfología.....	29
5.1.1	<i>Heterocapsa borneoensis</i> Teng, Hanifah, Leaw & Lim.....	29
5.1.2	<i>Heterocapsa iwatakii</i> Teng, Hanifah, Leaw & Lim	31
5.1.3	<i>Heterocapsa</i> sp.....	31
5.1.4	<i>Karlodinium azanzae</i> Benico & Iwataki.....	32
5.1.5	<i>Karlodinium ballatinum</i> Salas.....	33
5.1.6	<i>Karlodinium corsicum</i> (Paulmier, Berland, Billard & Nezan) Siano & Zingone.....	33
5.1.7	<i>Karlodinium decipiens</i> Salas y Laza-Martinez.....	34
5.1.8	<i>Karlodinium gentienii</i> Nézan, Chomérat & Siano	34
5.2	Análisis filogenéticos.....	34
5.2.1	<i>Heterocapsa</i>	34
5.2.2	<i>Karlodinium</i>	39
6.	Discusión.....	42
6.1	Morfología de <i>Heterocapsa</i>	42
6.2	Morfología de <i>Karlodinium</i>	45

6.3 Filogenia.....	48
6.3.1 <i>Heterocapsa</i>	49
6.3.2 <i>Karlodinium</i>	49
7. Conclusiones.....	51
8. Recomendaciones.....	52
9. Literatura citada	53

Lista de figuras

Figura 1 Área de estudio con estaciones de muestreo.....	25
Figura 2 Árbol de inferencia bayesiana (BI) y de máxima verosimilitud (ML) basado en secuencias LSU rADN de especies de <i>Heterocapsa</i> . BI (derecha) seguido de los valores bootstrap ML (izquierda) en las ramas. El asterisco indica soporte completo (ML= 100%, BI= 1). Las secuencias generadas en este estudio están resaltadas en un recuadro gris.....	36
Figura 3 Topología de inferencia bayesiana basada en datos de secuencias de ADNr LSU (D1-D2) (1.010 pb) de especies de <i>Karlodinium</i> . Valores bootstrap de inferencia bayesiana en las ramas. Los asteriscos indican apoyo total (BI= 1,00). Las secuencias generadas en este estudio aparecen en negrita.....	40

Lista de Tablas

Tabla 1 Divergencia genética (porcentaje) entre secuencias del género *Heterocapsa*. Las distancias no corregidas se muestran debajo de la diagonal, y los valores de distancia K2 + G (Kimura 2 + Gamma) se sitúan encima de la diagonal. Los números de acceso al GenBank se muestran debajo de cada taxón, los resaltados en negrita corresponden a las secuencias generadas en este estudio.....38

Lista de Laminas

Lamina 1 A-I Micrografías de *Heterocapsa borneoensis*, microscopía óptica y de epifluorescencia. A-F. Células vivas que muestran el contorno general de la especie; se muestran los pirenoides (flechas negras) y los cuerpos rojos (flechas blancas). G-I. Células teñidas con calcoflúor y DAPI mostrando núcleo (N), cloroplasto (Cl) y algunas placas tectales en vista ventral. Barra de escala: 5µm.....73-74

Lamina 2 A-I. Ultraestructura de *Heterocapsa borneoensis*, microscopía electrónica de transmisión. A, B, F. Sección longitudinal con núcleo (N), cloroplasto (ch), pirenoides (Py), grano de almidón (S) y mitocondria (m). C. Detalles de la conexión del pirenoide con el cloroplasto. D. Detalles del cloroplasto con los tilacoides apilados de tres en tres (flechas blancas). E. Tricocisto en sección longitudinal. G-J. Morfología de las escamas del cuerpo. Barras de escala A, F= 3 µm; B= 2 µm; C= 1 µm; G-J= 200 nm.....75-76

Lamina 3 A-C. Micrografías de *Heterocapsa borneoensis*, microscopía electrónica de barrido. A, B. Dos diferentes células en vista ventral, mostrando la forma y tamaño de las células, cíngulo, surco y algunas placas relevantes. C. Célula en vista dorsal con algunas placas. Barra de escala= 2 µm.....77-78

Lamina 4 A-C. Micrografías de *Heterocapsa iwatakii*. Microscopía de luz. Células que muestran la forma general de la especie; se muestran los pirenoides (flechas negras), los cuerpos rojos (flecha blanca) y el cloroplasto (Ch). Núcleo esférico (N) en el episoma. Barras de escala A-C= 5 µm.....79-80

Lamina 5. A-F. Micrografías de *Heterocapsa* sp. A - B. microscopía óptica. Morfología general de células vivas con pirenoides (flechas negras) y cuerpos rojos (flechas blancas). C, F. Células fijadas en epifluorescencia con núcleo alargado (N). D. Patrón de placas en vista ventral. Barras de escala A-F= 5 μm81-82

Lamina 6. Micrografías de *Karlodinium azanzae*. Células en vista ventral (A-B) y dorsal (C-F). Surco apical (Ag), Cloroplasto (Cl), Flagelo (Fl) y Núcleo (N). Barra de escala = 10 μm83-84

Lamina 7. (A-D) Micrografías de *Karlodinium ballantinum*. Células en vista ventral (A-B, E), dorsal (C-D) y lateral (F). Surco apical (Ag), Cíngulo (Ci), Cloroplasto (Cl), Núcleo (N) y Pirenoide (Py). Barra de escala = 5 μm85-86

Lamina 8. Micrografías de *Karlodinium corsicum*. Células en vista ventral (A, F), dorsal (B-E, G) y antapical (H). Surco apical (Ag), Cíngulo (Ci), Cloroplasto (Cl), Núcleo (N) y Sulcus (Su). Barra de escala = 5 μm87-88

Lamina 9. Micrografías de *Karlodinium decipiens* células en vista lateral (A, C-D), ventral (B) y dorsal (E-F). Surco apical (Ag), Cíngulo (Ci), Cloroplasto (Cl), Flagelo (Fl), Núcleo (N) y Sulcus (Su). Barra de escala = 5 μm89-90

Lamina 10. Micrografías de *Karlodinium gentienii*. Células en vista ventral (A, C), dorsal (B, D-E) y antapical (F). Surco apical (Ag), Cíngulo (Ci), Cloroplasto (Cl), Núcleo (N), Cuerpos refringentes (Rb), Sulcus (Su) y poro ventral (Vp). Barra de escala = 5 μm91-92

1 Introducción

El fitoplancton es una comunidad importante debido a su alta productividad primaria, de la cual es responsable del 45% en los ambientes marinos, mientras que representa el 1% de la biomasa fotosintética del planeta (Simon et al., 2009). En el fitoplancton marino podemos encontrar representantes de casi todas las clases taxonómicas algales y protistas, desde organismos procariontes (Cyanobacteria), hasta grupos de algas verdes (Chlorophyta), sin embargo, destacan por su riqueza y abundancia las diatomeas y los dinoflagelados (Bacillariophyta y Dinophyta) (Simon et al., 2009, Meave del Castillo et al., 2012; Not et al., 2012; Hernández-Becerril, 2014).

A pesar de que el fitoplancton aporta un gran porcentaje de la productividad primaria, muchas de las especies son mixótrofas o incluso estrictamente heterótrofas, formando parte de los consumidores primarios, reciclando nutrientes y formando relaciones simbióticas con gran variedad de organismos (Taylor, 1982; Gómez, 2012; Meave del Castillo et al., 2012; Hernández-Becerril, 2014). La comunidad fitoplanctónica responde a diversas condiciones ambientales, tales como: aumento o decremento de la temperatura, incremento de los nutrientes en la columna de agua (eutrofización, surgencias, etc.), entre otros. Derivado de estos cambios en el ambiente, se puede generar la formación de florecimientos algales, en los que se presentan los factores adecuados para el crecimiento acelerado de una o más especies fitoplanctónicas, en los que se pueden generar eventos de anoxia, producción de toxinas, etc., generando daño a otros organismos marinos, afectando las actividades económicas y la salud pública (Grattan et al., 2016). Estos eventos están protagonizados en su mayoría por dinoflagelados y diatomeas, los cuales pueden o no producir compuestos tóxicos (Hallegraeff, 2003).

El segundo grupo más diverso dentro del fitoplancton marino son los dinoflagelados, solo detrás de las diatomeas; son organismos caracterizados por la presencia de dos flagelos, uno longitudinal que surge a través del sulcus y otro transversal alojado en el cíngulo (Fensome et al., 1993). Poseen una gran diversidad morfológica, sus tipos de alimentación son variables, aunque las formas autótrofas son las más conocidas, muchas de ellas son mixótrofas y cerca del 50% de las especies son estrictamente heterótrofas, siendo así, parte de los productores primarios del plancton, como de los consumidores primarios (Gómez, 2020). Los dinoflagelados comprenden un total de 2000-2500 especies (Guiry y Guiry, 2024; Hoppenrath, 2017), mientras que en el Pacífico mexicano se tienen reportadas alrededor de 605 especies pertenecientes a 91 géneros, lo que equivale al 20% de la diversidad total (Okolodkov y Gárate-Lizárraga, 2006). Se sabe que alrededor de 380 especies pueden ser formadoras de mareas rojas, de las cuales, alrededor de 80 especies son productoras de toxinas y el mayor porcentaje de estas especies son dinoflagelados (75%) (Zingone y Enevoldsen, 2000; Hallegraeff, 2003; Hernández-Becerril et al., 2007).

Debido a la gran diversidad de organismos que componen la comunidad fitoplanctónica, los métodos de estudio son diversos. Así mismo, han surgido problemáticas taxonómicas que involucran aspectos morfológicos y moleculares, en las que no es posible observar todos los caracteres necesarios para una correcta clasificación o identificación y una densidad muy baja de células para realizar estudios genéticos, de manera que herramientas como el establecimiento de cultivos, la PCR de una sola célula, entre otros, contribuyen a reducir este sesgo de conocimiento (Hernández-Becerril, 2014; Gómez, 2020; Escarcega et al., 2023).

2 Antecedentes

2.1 Taxonomía de dinoflagelados

Se reconoce un estimado de 2000-2500 especies, repartidas en 6 clases, 16 órdenes, 65 familias y 259 géneros, con 2500 especies fósiles (Gómez, 2005; Taylor et al., 2008; Guiry y Guiry, 2024; Hoppenrath, 2017). Para el Pacífico mexicano se tienen registrados 605 taxones (especies y taxones infraespecíficos) (Okolodkov y Garate-Lizárraga, 2006; Hernández Becerril et al., 2014). Recientemente, Escarcega-Bata et al. (2023) proporciona una revisión de dinoflagelados Gymnodiniales en el Pacífico mexicano, con 103 especies, pertenecientes a 31 géneros y 10 familias.

2.2 Género *Heterocapsa* Stein

Heterocapsa Stein es un género poco estudiado en las costas mexicanas, que incluye formas tecadas de tamaño variable (7.5-45 μm) y teca muy delicada (Iwataki, 2008), con 26 especies aceptadas (Guiry & Guiry, 2024), de las cuales algunas pueden producir mareas rojas o floraciones algales nocivas, como *Heterocapsa circularisquama* Horiguchi, *Heterocapsa rotundata* (Lochmann) Hansen, *Heterocapsa triquetra* (Ehrenberg) F. Stein., y *Heterocapsa bohaiensis* Xiao & Li (Xiao et al., 2018; Lee et al., 2019). En los últimos seis años se han descrito varias especies nuevas, como *Heterocapsa bohaiensis*, *H. claromecoensis* Sunesen, Rodríguez, Tillmann & Sar, *H. busaensis* Choi & Kim, *H. philippinensis* Benico, Lum, Takahashi & Iwataki, *H. borneoensis* Teng, Hanifah, Leaw & Lim, *H. limii* Teng, Hanifah & Leaw, *H. iwatakii* Teng, Hanifah, Leaw & Lim (Sunesen et al., 2020; Benico et al., 2021; Choi & Kim, 2021; Hanifah et al., 2022).

Entre las especies potencialmente tóxicas se incluye *Heterocapsa circularisquama*, que ha sido responsable, desde su hallazgo original, en la bahía de Uranoichi, Japón, de la mortalidad de diferentes especies de moluscos, a lo largo de las costas del Pacífico occidental, causando considerables pérdidas económicas (Yamamoto y Tanaka, 1990; Yoshida y Miyamoto, 1995; Matsuyama et al., 1995; Matsuyama et al., 1996; Matsuyama et al., 1997; Matsuyama, 2012). *Heterocapsa bohaiensis* ha mostrado efectos letales sobre larvas de crustáceos de *Penaeus japonicus* y *Eriocheir sinensis* en tanques de cultivo (Yang et al., 2015; Xiao et al., 2018). Más recientemente, Wu et al. (2022) aislaron tres cepas de *Heterocapsa* de un florecimiento algal nocivo (FAN) del mar de China Oriental: *H. horiguchii* Iwataki, Takayama & Matsuoka, *Heterocapsa cf. niei* Morrill & Loeblich, y *Heterocapsa cf. pygamea* Lobelich III, Schmidt & Sherley, que mostraron efectos tóxicos en la gamba de salmuera y efectos hemolíticos dependientes de la densidad celular en eritrocitos de conejo. Además, *Heterocapsa minima* Pomroy, *H. rotundata* Lohmann y *H. steinii* Tillmann, Gottschling, Hoppenrath, Kusber & Elbrächter son especies formadoras de florecimientos, aunque no se han asociado a mortalidad de organismos marinos (Iwataki, 2008; Hanifah et al., 2022).

Características como la tabulación no son útiles para distinguir entre especies del género *Heterocapsa* (Benico et al., 2021). Algunos caracteres morfológicos para la identificación de especies son la forma de las células, que es estable en cada especie, la proporción de epiteca e hipoteca, el número y la posición de los pirenoides, la forma y la ubicación del núcleo (Iwataki, 2008). Sin embargo, el carácter morfológico más relevante es la estructura de las escamas externas del cuerpo, sólo visible mediante microscopía electrónica (Iwataki, 2003; Iwataki et al., 2004 Benico et al., 2021).

En el Pacífico mexicano se han registrado tres especies del género, *Heterocapsa niei* (Loeblich) Morrill et Loeblich, *H. steinii* de la cual no se tiene registro fotográfico ni secuencias, y *H. pymaea*, de la cual se tiene registro morfológico, pero no secuencias moleculares (Okolodkov & Garate-Lizárraga, 2006; Hernández-Becerril et al., 2010). El conocimiento del género en las costas mexicanas está subestimado, dada la dificultad de trabajar con muestras fijas que tienen una baja abundancia de células, y que los caracteres distintivos pueden modificarse, imposibilitando realizar análisis moleculares.

2.3 Género *Karlodinium* Larsen

La familia de dinoflagelados *Kareniaceae* Bergholtz, Daugbjerg, Moestrup & Fernández-Tejedor está constituida por seis géneros de dinoflagelados atecados, de los cuales *Karenia* Hansen & Moestrup, *Karlodinium* y *Takayama* Salas, Bolch, Botes & Hallegraeff son importantes por su potencial tóxico y nocivo (Bergholtz et al., 2005; Brand et al., 2012).

Karlodinium es el género más diverso de la familia, con 16 especies, seis de las cuales son formadoras de florecimientos algales (por ejemplo, *Karlodinium veneficum* Larsen, *K. armiger* Bergholtz, Daugbjerg & Moestrup, *K. corsicum* Siano & Zigone) (Place et al. 2012; Guiry y Guiry, 2024). La especie tipo es *Karlodinium veneficum* (= *Karlodinium micrum*), que fue establecida por Larsen in Daugbjerg et al. (2000), una vez que definieron caracteres morfológicos como el surco apical recto, la presencia de poro ventral, estructuras en forma de enchufe en el anfisema, además de otros caracteres como los pigmentos fotosintéticos (fucoxantina) (Bergholtz et al., 2005). Sin embargo, el poro ventral falta en especies como *K. antarcticum* Salas, *K. ballatinum* Salas, *K. digitatum* Gu, Chan & Lu y *K. zhouanum* Luo & Gu (Cen et al. 2021). Especies del género han sido asociadas a florecimientos en varias localidades de los océanos del mundo causando mortalidades de organismos marinos, debido

a que estas especies producen potentes toxinas denominadas Karlotoxinas (Deeds et al., 2002; Krock et al., 2017; Benico et al., 2020).

Karlodinium es uno de los géneros menos estudiados de la familia Kareniaceae en el Pacífico Mexicano, a pesar de ser el género más diverso dentro de la familia y tener una amplia distribución geográfica (De Salas et al., 2008; Nézan et al., 2014; Benico et al., 2020; Benico et al., 2024). Posiblemente, la razón de la falta de estudios en el género podría deberse al tamaño y fragilidad de la pared celular de las especies del género (y en general, de la mayoría de los dinoflagelados atecados), lo que dificulta la conservación del material para su observación mediante técnicas microscópicas convencionales (De Salas et al., 2008). Para el Pacífico mexicano sólo se han registrado tres especies: *K. veneficum*, *K. ballantinum* y *K. australe* Salas, Bolch & Hallegraeff, en costas de los estados Guerrero (zona tropical) y Baja California (más templada) (Escobar-Morales y Hernández-Becerril, 2015; Escarcega et al., 2022).

2.4 Dinoflagelados en el Pacífico tropical mexicano

El Pacífico mexicano se divide en cuatro secciones de acuerdo con De la Lanza (1991). Región 1: Península de Baja California (costa oeste); Región 2: Península de Baja California (costa oriental), Sonora, Sinaloa y Nayarit; Región 3: Jalisco, Colima, Michoacán y Guerrero; Región 4: Golfo de Tehuantepec (Oaxaca y Chiapas) (Escarcega et al. (2023). El Pacífico tropical mexicano corresponde a la región 3, donde los dinoflagelados han sido estudiados ampliamente; Esqueda-Lara y Hernández-Becerril (2010) presentaron un catálogo de dinoflagelados microplanctónicos marinos, Hernández-Becerril et al. (2012) reportaron el primer registro de la especie potencialmente tóxica *Azadinium spinosum*; Hernández-Becerril et al. (2013) describieron morfológicamente al dinoflagelado atecado *Vulcanodinium*

rugosum; Maciel-Baltazar y Hernández-Becerril (2013) reportaron 27 especies de dinoflagelados atecados para la costa de Chiapas; Maciel-Baltazar (2015) documentó a las especies productoras de toxinas para la costa de Chiapas; Escobar-Morales y Hernández-Becerril (2015) registraron 11 especies de dinoflagelados atecados para la región. También se tiene el registro de diversos florecimientos algales (Garate-Lizárraga et al., 2009, 2011, 2013, 2016).

La Bahía de Acapulco ha sido objeto de estudio durante muchos años, por lo que se ha caracterizado en gran medida por su diversidad fitoplanctónica. Meave-del Castillo et al. (2012), presentaron un inventario de la ficoflora planctónica de la Bahía, donde registraron 647 taxa pertenecientes a 8 divisiones, donde el grupo más diverso fue Dinophyta con 347 taxa y el segundo Bacillariophyta con 247 taxa, así mismo, presentaron 38 nuevos registros para el Pacífico mexicano; Moreno-Díaz et al. (2015) reportaron un total de 65 especies, donde los grupos más abundantes fueron los dinoflagelados (34 especies) y las diatomeas (26 especies). Dentro de la composición de la comunidad fitoplanctónica, destacan ciertas especies que son de importancia ya que pueden ser potencialmente tóxicas y formadoras de florecimientos; Garate-Lizárraga et al. (2016) presentó los FAN para la costa de Guerrero, donde la Bahía de Acapulco es la localidad donde han sido más comunes; Meave-del Castillo y Zamudio-Reséndiz (2018) realizaron una lista de florecimientos dentro de la Bahía en un periodo de 15 años, donde destacan las diatomeas (21 taxa) y los dinoflagelados (19 taxa). Meave-del Castillo et al. (2020) estudiaron la biología y ecología de dos dinoflagelados potencialmente tóxicos (*Gymnodinium catenatum* y *Pyrodinium bahamense* var. *Bahamense*), dentro de la Bahía de Acapulco. Tal como lo mencionan en estos trabajos, los dinoflagelados y las diatomeas han sido los grupos más estudiados en la Bahía de Acapulco, contando así, con una gran variedad de nuevos registros; Hernández-Becerril et al. (2010) a

través del establecimiento de cultivos describió morfológicamente a dos especies potencialmente nocivas, entre ellas una especie del género *Heterocapsa*; Escarcega-Bata et al. (2023) mediante análisis morfológico y molecular registró al género *Grammatodinium* Li & Shin, para el Pacífico oriental con muestras provenientes de la Bahía de Acapulco; Escarcega-Bata et al., (2024) identificó con herramientas morfológicas, moleculares y parámetros ambientales a *Karenia longicanalis* para la bahía de Acapulco como especie formadora de florecimientos.

A nivel global se han descrito nuevas especies pertenecientes a diversos géneros mediante cultivos (*Azadinium* Elbrächter & Tillmann, *Amphidoma* Stein, *Heterocapsa*, *Prorocentrum* Ehrenberg, *Karlodinium* Larsen) de las cuales, posiblemente muchas de ellas estén presentes en mares mexicanos (Tillman et al., 2009; Tillman et al., 2012; ; Benico et al., 2020; Choi y Kim, 2021; Gómez et al., 2022; Hanifah et al., 2022; Arteaga-Sogamoso et al., 2023), por lo que es importante y crucial emplear este tipo de técnicas para estudiar la diversidad de microalgas en la Bahía de Acapulco.

3 Objetivos

3.1 Objetivo General

Caracterizar morfológica y molecularmente microalgas pertenecientes a diferentes grupos taxonómicos mediante cultivos como herramienta para la correcta identificación, reconocimiento de nuevos registros y resolución de problemas taxonómicos.

3.2 Objetivos específicos

- Llevar a cabo una caracterización morfológica mediante diversas técnicas de microscopía (luz, epifluorescencia, electrónica de barrido y transmisión).
- Elaborar filogenias moleculares haciendo uso del marcador LSU rADN
- Identificar a los organismos sobre la base en sus características morfológicas y moleculares.

4 Metodología

4.1 Área de estudio

La bahía de Acapulco se localiza en el estado de Guerrero, México. Tiene una forma semicircular, con medidas de 10 x 7 km y profundidades que van de 10 a 30 m. Se encuentra rodeada por montañas que drenan hacia la bahía y son el principal aporte de materia orgánica. La temperatura es superior los 18° todo el año y su clima es tropical con lluvias en verano (Aw) (Tamayo, 1970; Flamand-Swaner, 1991; Mayo-Vera, 2004; Meave del Castillo et al., 2012).

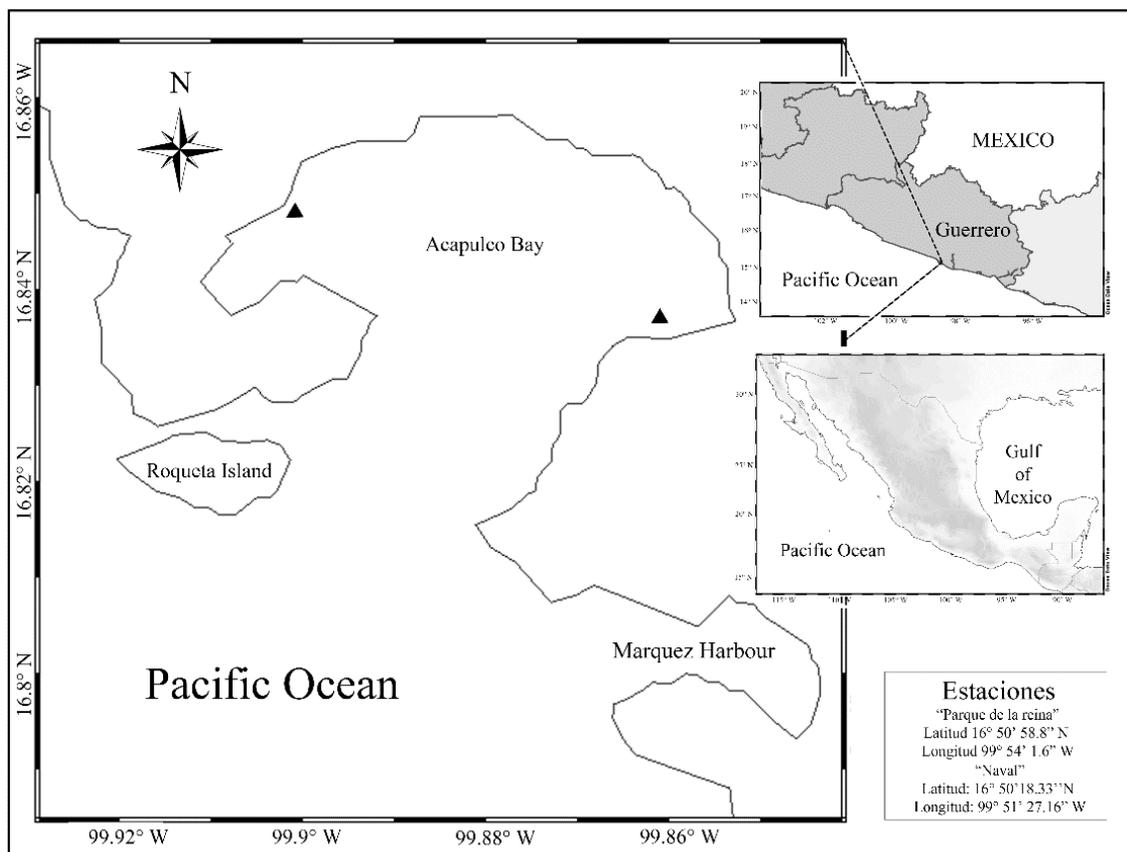


Figura 1. Área de estudio con estaciones de muestreo.

4.2 Muestreo

Se colectaron 2 litros de agua superficial provenientes de la Bahía de Acapulco mediante botella, (dos estaciones: 16° 50' 58.8" N, 99° 54' 1.6" W, y 16° 50' 18.33" N 99° 51' 27.16" W) (Figura 1), los cuales fueron filtrados con una red de apertura de malla de 60 micras para eliminar organismos del zooplancton. Las muestras se vertieron en un recipiente de un litro, se cubrieron de la luz y se transportaron al laboratorio para su posterior análisis

4.3 Análisis de laboratorio

4.3.1 Aislamiento y cultivo

Los organismos pre filtrados se concentraron por gravedad usando un filtro de apertura de poro de 3 micras y se colectaron en un matraz de 500ml. Posteriormente fueron observados en un microscopio invertido y mediante una micropipeta capilar estéril se aislaron las células de interés en placas de 96 pozos de 200 microlitros. Las células aisladas se cultivaron en medio de cultivo IMK (Daigo's, Wako, Tokio, Japón) preparado con agua de mar filtrada y fueron incubados a 24°C con un fotoperiodo 12:12 luz/obscuridad. (Tillman et al., 2012; Benico et al., 2019)

4.3.2 Microscopía de luz

Los organismos fueron examinados en un microscopio invertido (Invertoskop, ZEISS, Alemania). Para la observación en Microscopio óptico con epifluorescencia (Leica, Wetzlar, Alemania), se añadió calcofluor a las células. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital Canon G10 (Tokyo, Japón)

4.3.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Para el análisis en MEB, se realizaron las preparaciones de acuerdo con Takahashi et al. (2017). Las células se fijaron con OsO₄ al 1%, posteriormente se enjuagaron con agua destilada dos veces durante 30 minutos y deshidratadas a través de series de etanol a diferentes concentraciones (30%, 50%, 70%, 90% y 100%) durante 15 minutos cada una. Finalmente, se añadió hexametildisilazano (HMDS) (proporción 1:1 HDMS/EtOH, seguido de 2X 100% HDMS). Los filtros se secaron en una cámara de extracción y luego se montaron y se recubrieron con oro-paladio para observarlos en MEB (JEOL JSM-6360LV). (Escobar-Morales y Hernández-Becerril, 2015; Benico et al., 2019).

4.3.4 Microscopía electrónica de transmisión (MET)

Para la observación en MET, se siguió la metodología utilizada por Benico et al. (2019). Se fijaron las células con glutaraldehído al 2%, preparado en 0.2 M de Na-cacodilato con sacarosa 0.2 M durante una hora en hielo y postfijadas con OsO₄ al 1% en un buffer de Na-cacodilato, por 8 horas, seguido por la deshidratación a través de series de etanol a diferentes concentraciones. Después, las células se incluyeron en resina de baja viscosidad y polimerizadas, para después ser cortadas con una navaja de diamante utilizando un ultramicrotomo. Las secciones cortadas se montaron en una rejilla para ser contrastadas con acetato de uranilo y citrato de plomo. Las observaciones se llevaron a cabo con un (JEOL-JEM-1200) a un voltaje de aceleración de 100 kV.

4.4 Biología Molecular

Extracción de ADN: Para la extracción de ADN, se usó de un kit de extracción de DNA (Zymo research, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante (Shi et al., 2018).

La PCR de una sola célula (Single-cell PCR) se realizó directamente, siguiendo el protocolo descrito por Hernández-Rosas et al. (2018). Células de interés fueron aisladas mediante micropipeta, se realizaron lavado en tres gotas de agua MiliQ para eliminar contaminantes y colocadas en tubos de PCR para proceder a la amplificación.

4.4.1 Análisis de PCR

Se siguió el procedimiento descrito por Escárcega-Bata et al. (2021), en el cual se amplificó el gen 28s de la subunidad grande (LSU), del ADNr, con la utilización de los primers D1R-F/D2C-R. Las condiciones de amplificación para el gen 28s (ADNr) fueron las siguientes: la desnaturalización inicial fue: a 98°C por 3 minutos, 35 ciclos a 95°C por 30 segundos, 52°C por 30 segundos y 72°C por 1 minuto con una extensión final de 72°C por 10 minutos. La amplificación fue confirmada mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.5% durante 20 minutos a 90 V, teñidos con gel red y fueron visualizados en un sistema de documentación de gel de luz UV. Los productos de PCR se enviaron al Laboratorio de secuenciación genómica del Instituto de Biología, UNAM, para su purificación y secuenciación.

4.4.2 Alineación de secuencias y análisis filogenético

Las secuencias obtenidas se alinearon en BioEdit v. 7.0.5 (Hall, 1999) con las de un grupo seleccionado de especies del género de interés del NCBI (GeneBank). Se seleccionó el grupo externo de acuerdo con la literatura. Se realizaron análisis filogenéticos para Máxima Verosimilitud (MV) e inferencia bayesiana (IB). El análisis de MV se realizó utilizando el software RAxML (Stamatakis, 2006). Se obtuvo soporte para cada rama a partir de 100 replicaciones de arranque. El análisis de IB se realizó utilizando el software TOPALi versión 2 (Milne et al., 2009), se utilizaron cuatro cadenas de la cadena Markov Monte Carlo

(MCMC), comenzando con un árbol aleatorio y muestreando los datos cada 500 iteraciones durante 5×10^6 generaciones, descartando el primer 25% de los árboles (calentamiento de las cadenas) Los valores de distancia por par (p-distancias) y las distancias corregidas se calcularon usando Mega v10 (Tamura et al., 2011).

5 Resultados

Se obtuvieron ocho cepas de dinoflagelados correspondientes a seis especies de los géneros *Heterocapsa* y *Karlodinium*, las cuales representan seis nuevos registros para el océano Pacífico oriental.

5.1 Morfología

Heterocapsa es un género de dinoflagelados tecdos de tamaño pequeño (7.5-45 μm) perteneciente a la familia de los Peridiniales, se reconocen 26 especies aceptadas taxonómicamente (Iwataki, 2008; Guiry y Guiry, 2024).

5.1.1 *Heterocapsa borneoensis* Teng, Hanifah, Leaw & Lim (Lamina 1 A-I, Lamina 2 A-I, Lamina 3 A-C)

Referencias: Hanifah et al. (2022)

Células solitarias y móviles con una teca muy fina y transparente. Por lo general, las células son de forma ovoide, con episoma e hiposoma de longitud casi igual, aunque a veces el episoma puede ser ligeramente mayor y más ancho. Las medidas son: 10-15 μm de longitud y 6-10 μm de anchura (n= 50). El cingulo es ancho y excavado, ocupando aproximadamente $\frac{1}{4}$ de la longitud total. El episoma puede ser ovoide, mostrando una muy ligera o ninguna protuberancia en el extremo apical, a nivel del complejo del poro apical, mientras que el

hiposoma es más redondeado (Figs 2 A-I). El núcleo es alargado a subsférico y está situado cerca del centro de la célula, con mayor orientación hacia el hiposoma (Lamina 1 C, G, H, 3 A, F). Se trata de una especie fotosintética, con varios (4-8) cloroplastos alargados de color dorado a marrón, y de dos a cuatro pirenoides grandes por célula (Lamina 1 A-F, 3A-D, F). También se encontraron varios cuerpos rojos en las células (Lamina 1 A, B, D, E, F). En la microscopía de epifluorescencia se observaron pocos detalles de la tabulación tecal, mostrando algunas placas principales en vista ventral, como las placas apicales 1', 2' y 5', las placas precingulares 1'' y 7'', las placas cingulares C1, C6, las placas postcingulares 1''', 5''', las placas antapicales 1'''' y 2''''', y dos placas sulcales Sa y Sp (Lamina 1 D).

La mayoría de las células estaban ligeramente deformadas cuando se observaron por MEB. La forma general fue consistente, con episoma e hiposoma subiguales, cingulo ancho y excavado, desplazado menos de ½ de su longitud. Los detalles de la tabulación de la teca son difíciles de ver, incluso en microscopía epifluorescencia, pero podemos identificar las placas en vista ventral (Po, 1', 2', 5', 1'', 5'', Sa, C1, C6, Sp, 1''', 5''', 1''''', 2''''').

Las escamas externas muestran un patrón con una placa basal redondeada a hexagonal finamente perforada, ornamentada por una espina central y seis montantes periféricos, interconectados por barras radiales y periféricas; las conexiones entre los montantes periféricos forman tres pentágonos radiales. La perforación de la placa basal era muy variable, con perforaciones de gruesas a más finas. El diámetro de las escamas oscila entre 320 y 440 nm (Lamina 2 G-J).

El contorno general de las células también se observó mediante TEM, con episoma e hiposoma subiguales, y cingulo ancho y excavado (Lamina 2 A, F). Las observaciones del núcleo confirmaron su posición en la célula, ligeramente excéntrico, hacia el hiposoma, y de

forma alargada (Lamina 2 A, F). Se observaron cloroplastos alargados en forma de placa, distribuidos en la periferia de la célula, y mostrando algunos detalles de los tilacoides (Lamina 2 A-D, F). La observación de los pirenoides fue especialmente interesante, ya que eran grandes y estaban conectados a los cloroplastos, siempre rodeados por vainas de almidón casi continuas, mientras que las invaginaciones tubulares estaban ausentes (Lamina 2 B, C, F); las células mostraron tricocistos (Lamina 2 E).

5.1.2 *Heterocapsa iwatakii* Teng, Hanifah, Leaw & Lim (Lamina 4 A-C)

Referencias: Hanifah et al. (2022)

Células solitarias y móviles, con forma elipsoide a elipsoide alargada, el episoma es mayor que el hiposoma, el episoma es cónico y el hiposoma es semiesférico (Lamina 4 A-C). Las medidas son: 8-12 μm de longitud y 6-8 μm de anchura (n=50). Cíngulo profundo y excavado. El núcleo es esférico y se localiza en el episoma (Lamina 4 A, C). La especie es fotosintética, con varios cloroplastos dorados y parietales (Lamina 4 A-C). Las células tienen un único pirenoide esférico, situado en la parte central de la célula o en el hiposoma (Lamina 4 A-C). Se registró la presencia de cuerpos rojos (Lamina 4 A), sin embargo, esto no se encontró en todas las células, sólo en aquellas que crecían exponencialmente.

5.1.3 *Heterocapsa* sp. (Lamina 5 A-F)

Células solitarias y móviles, de forma elipsoidal a ovoide, con un episoma ligeramente cónico y un hiposoma semiesférico (Lamina 5 A-F). Las medidas son: 15-18 μm de longitud y 9-12 μm de anchura (n=50). El episoma es ligeramente mayor que el hiposoma y el cíngulo está excavado. Especie fotosintética con varios cloroplastos dorados y parietales (Lamina 5 A, B). De uno a tres pirenoides esféricos situados en el episoma (Lamina 5 A-C). Núcleo de

elipsoidal a ovoide situado en el centro, entre el episoma y el hiposoma (Lamina 5 C, F). Presencia ocasional de cuerpos rojos, variables en forma y tamaño (Lamina 5 B).

La vista ventral de la especie observada con calcoflúor mostró algunas placas tecaes, confirmando la disposición de éstas, la presencia de cinco placas apicales y siete placas precingulares y la prominencia de las placas sulcaes anterior y posterior (Sa y Sp) (Lamina 5 D)

Karlodinium es un género de dinoflagelados atecados, de tamaño pequeño (10-30 μm de largo) perteneciente a la familia Kareniaceae, se reconocen 16 especies aceptadas taxonómicamente (Benico et al., 2020; Guiry y Guiry, 2024)

5.1.4 *Karlodinium azanzae* Benico & Iwataki (Lamina 6 A-F)

Referencias: Benico et al. (2020)

Células solitarias, esféricas a ovoides. 22.5-27.5 μm de largo y 14.5-23 μm de ancho ($n= 35$). Episoma ligeramente cónico e hiposoma semiesférico. Presencia de un surco apical recto ubicado en el episoma, dirigido hacia la porción derecha de la célula. Cíngulo excavado, desplazado aproximadamente 1/3 de la longitud de la célula. Sulcus profundo, se extiende desde el episoma hasta la base del hiposoma. Varios cloroplastos periféricos, de coloración dorado-amarillo. Núcleo grande, con forma ovoide, localizado en la parte central de la célula. En algunas células se presentan gránulos y cuerpos de acumulación.

5.1.5 *Karlodinium ballantinum* Salas (Lamina 7A-F)

Referencias: De Salas et al. (2008)

Células solitarias, elipsoides, 12.4-14 μm de largo y 8-11 μm de ancho ($n= 35$). Episoma e hiposoma hemisféricos. Presencia de un surco apical recto. Cíngulo excavado, profundo, desplazado aproximadamente 1/3 de la longitud de la célula, con presencia en el episoma. Sulcus excavado. Numerosos cloroplastos colocados en toda la célula. Núcleo grande localizado en la parte central de la célula.

5.1.6 *Karlodinium corsicum* (Paulmier, Berland, Billard & Nezan) Siano & Zingone (Lamina 8 A-H)

Referencias: Paulmier et al. (1995); Bérard-Therriault et al. (1999)

Células solitarias, 10-17 μm de largo y 8-12 μm de ancho ($n=35$), episoma e hiposoma semiesféricos, casi del mismo tamaño. Surco apical recto, relativamente largo. Poro ventral presente de lado izquierdo del surco apical. Cíngulo desplazado 1/3 de la longitud de la célula, ligeramente profundo. Núcleo redondo, localizado en la parte central de la célula, y numerosos cloroplastos parietales (13-15).

5.1.7 *Karlodinium decipiens* Salas & Laza-Martinez (Lamina 9 A-F)

Referencias: De Salas et al. (2008), Benico et al. (2020)

Células solitarias 19-24 μm de largo y 12.5-17 μm de ancho ($n=35$). Células ovoides y tanto alargadas, episoma e hiposoma hemisféricos, hiposoma más grande que el episoma, sulcus desplazado aproximadamente 1/3 de la longitud total de la célula, cíngulo profundo, núcleo redondo a ovoide ubicado en el centro de la célula, numerosos cloroplastos parietales.

5.1.8 *Karlodinium gentienii* Nézan, Chomérat & Siano (Lamina 10 A-F)

Referencias: Nézan et al., (2012)

Células solitarias, ovoides a elipsoides, 12-14 μm de largo y 11-13 μm de ancho, ($n=35$), episoma ligeramente conico, hiposoma hemisférico. Presencia de poro ventral. Surco apical recto, en ocasiones ligeramente curvado. Cíngulo desplazado $\frac{1}{4}$ de la longitud total de la célula, sulcus ancho, presente en el episoma. Numerosos cloroplastos parietales (12- 13) de color verde-amarillo, núcleo grande, irregular en forma y céntrico.

5.2 Análisis filogenéticos

5.2.1 *Heterocapsa*

Se obtuvieron dos secuencias parciales del ADNr LSU, correspondientes a la especie *Heterocapsa borneoensis*. El alineamiento con LSU consta de 40 secuencias, con una longitud final de 900 pares de bases (pb). La reconstrucción filogenética a partir del conjunto de datos LSU (con máximo apoyo filogenético ML= 100%, BI=1), se realizó con secuencias de especies del género *Heterocapsa*. La filogenia resultante (Figura 2) mostró dos grandes clados. Clado I, con bajo soporte filogenético (ML= 61%, BI=0,50) y Clado II, con alto soporte filogenético (ML= 90%, BI=0,85), que se divide en tres subclados, donde se

agruparon las secuencias generadas en este estudio; subclado A, con el máximo soporte donde se agruparon las secuencias de *H. borneoensis* de la Bahía de Acapulco y las de la especie tipo; el subclado B donde se encuentra la secuencia de *H. pygmaea* con el máximo soporte y el subclado C, donde se agruparon secuencias de *H. bohaniensis* y *H. limii* con un alto soporte (ML=80%, BI= 0.72).

Las distancias genéticas encontradas entre las secuencias de *H. borneoensis* y las especies del género *Heterocapsa* pueden verse en la Tabla 1, donde se muestran las distancias no corregidas y las distancias corregidas. Los valores de distancia entre las secuencias de *H. borneoensis*, no se incluyeron porque la variación entre ellas era cercana a cero (0,001%).

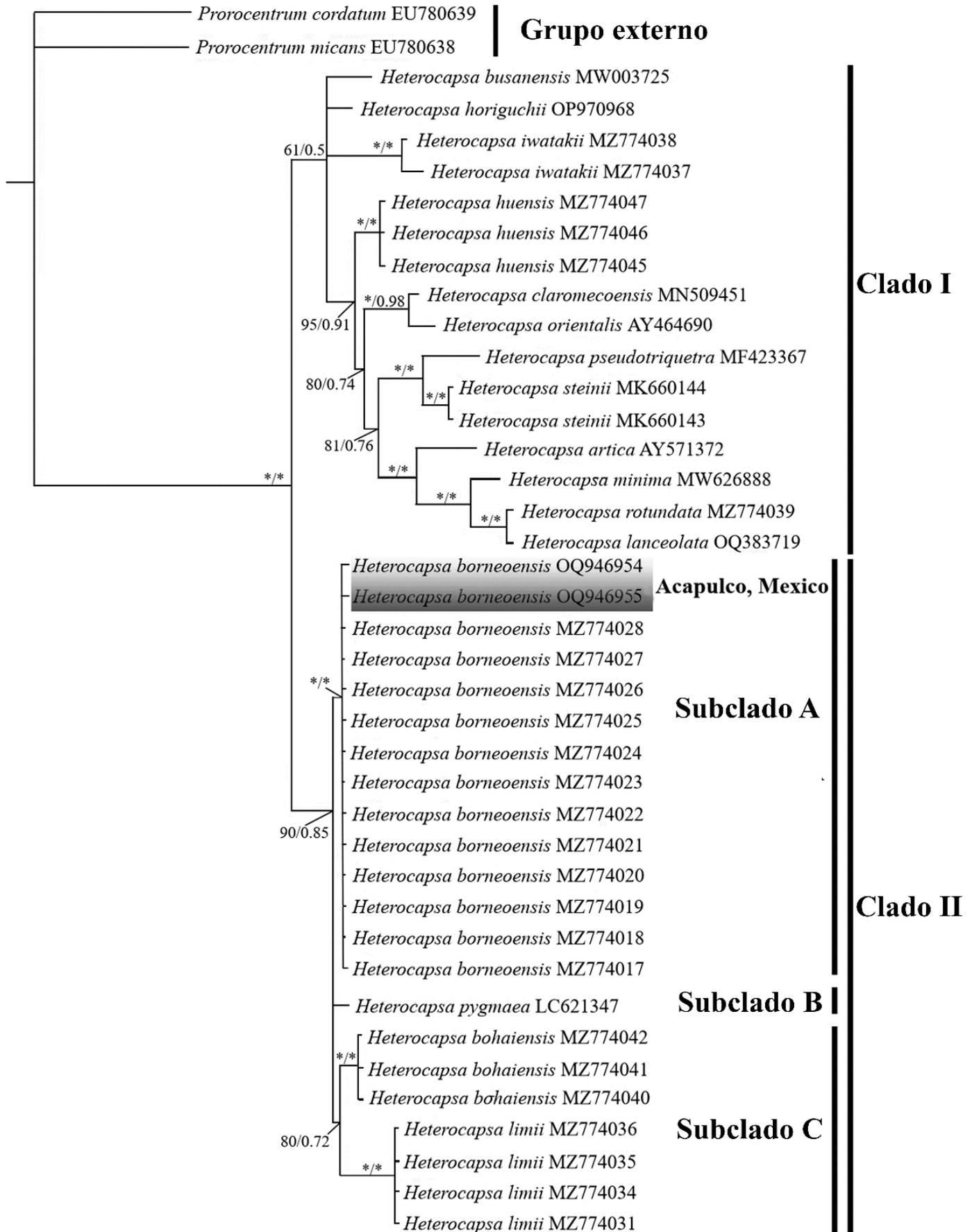


Figura 2. Árbol de inferencia bayesiana (BI) y de máxima verosimilitud (ML) basado en secuencias LSU rADN de especies de *Heterocapsa*. BI (derecha) seguido de los valores bootstrap ML (izquierda) en las ramas. El asterisco indica soporte completo (ML= 100%, BI= 1). Las secuencias generadas en este estudio están resaltadas en un recuadro gris.

Tabla 1. Divergencia genética (porcentaje) entre secuencias del género *Heterocapsa*. Las distancias no corregidas se muestran debajo de la diagonal, y los valores de distancia K2 + G (Kimura 2 + Gamma) se sitúan encima de la diagonal. Los números de acceso al GenBank se muestran debajo de cada taxón, los resaltados en negrita corresponden a las secuencias generadas en este estudio.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1.Heterocapsa borneoensis OQ946954	-	0	0	4.8	6.5	3.9	2.7	3.9	3.9	7.3	4.7	2.3	4.7	4.7	2.3	7.3	0
2.Heterocapsa borneoensis MZ774028	0	-	0	4.8	6.5	3.9	2.3	3.9	3.9	7.3	4.7	2.3	4.7	4.7	2.3	7.3	0
3. <i>Heterocapsa bohaiensis</i> MZ774042	0	0	-	4.8	6.5	3.9	2.3	3.9	3.9	7.3	4.7	2.3	4.7	4.7	2.3	7.3	0
4. <i>Heterocapsa iwatakii</i> MZ774038	4.4	4.4	4.4	-	7.4	7.5	5.8	4	7.4	9.3	6.5	5.8	6.5	4.8	5.8	9.3	4.8
5. <i>Heterocapsa limii</i> MZ774036	5.9	5.9	5.9	6.7	-	7.3	9.1	8.2	7.3	9.2	6.5	9.1	4.8	6.4	9.1	9.2	6.5
6. <i>Heterocapsa huensis</i> MZ774047	3.7	3.7	3.7	6.7	6.7	-	3.1	4.8	3.9	4.8	3.9	3.1	3.9	2.3	3.1	4.8	3.9
7. <i>Heterocapsa rotundata</i> MZ774039	2.2	2.2	2.2	5.2	8.1	3.0	-	1.5	4.7	6.5	5.6	0	5.6	3.9	0	6.5	2.3
8. <i>Heterocapsa minima</i> MW626888	3.7	3.7	3.7	3.7	7.4	4.4	1.5	-	6.5	8.3	5.6	1.5	5.6	3.9	1.5	8.3	3.9
9.Heterocapsa busanensis MW003725	3.7	3.7	3.7	6.7	6.7	3.0	4.4	5.9	-	4.7	3.9	4.7	2.3	3.9	4.7	4.7	3.9
10.Heterocapsa claromecoensis MN509451	6.7	6.7	6.7	8.1	8.1	4.4	5.9	7.4	4.4	-	7.4	6.5	5.6	3.9	6.5	0	7.3
11.Heterocapsa pseudotriquetra MF423367	4.4	4.4	4.4	5.9	5.9	3.7	5.2	5.2	3.7	6.7	-	5.6	3.1	3.1	5.6	7.4	4.7
12.Heterocapsa lanceolata OQ383719	2.2	2.2	2.2	5.9	8.1	3.0	0	1.5	4.4	5.9	5.2	-	5.6	3.9	0	6.5	2.3
13.Heterocapsa horiguchii OP970968	4.4	4.4	4.4	5.9	4.4	3.7	5.2	5.2	2.2	5.2	3.0	5.2	-	3.1	5.6	5.6	4.7
14.Heterocapsa triquetra MK660144	4.4	4.4	4.4	4.4	5.9	2.2	3.7	3.7	3.7	0	3.0	3.7	3	-	3.9	3.9	6.5
15. <i>Heterocapsa artica</i> AY571372	2.2	2.2	2.2	5.2	8.1	3.0	0	1.5	4.4	0.1	5.2	0	5.2	3.7	-	6.5	2.3
16.Heterocapsa orientalis AY464690	6.7	6.7	6.7	8.1	8.1	4.4	5.9	7.4	4.4	0	6.7	5.9	5.2	3.7	5.9	-	7.3
17.Heterocapsa pygmaea LC621347	0	0	0	4.4	5.9	3.7	2.2	3.7	3.7	0.1	4.4	2.2	4.4	4.4	2.2	6.7	-

5.2.2 *Karlodinium*

El alineamiento final (1,010 pares de bases) del gen 28s de los dominios D1-D2, consistió en el agrupamiento de 52 secuencias parciales. La topología resultante mediante el análisis de Inferencia Bayesiana (BI). (Figura 3), mostró dos grandes clados (I-II) con el máximo soporte filogenético (BI=1). El Clado I, con el máximo soporte (BI=1.00), agrupó secuencias de *Karlodinium decipiens* incluyendo la generada en este estudio (OR957370) con una secuencia de la especie *Karlodinium antarcticum*. El Clado II, con alto soporte (BI=0.97) agrupó el resto de las secuencias del género *Karlodinium*, incluyendo la secuencia de *K. azanzae* (OR957371) generada en este estudio. La cepa correspondiente a *K. azanzae*, colectada en la Bahía de Acapulco (BA) se agrupó con la cepa provenientes de Filipinas (LC521281). La cepa de *K. decipiens*, aislada de BA, se agrupó con las cepas de Japón (LC521289, LC521287), España (KP790219, EF469237), y el Océano Antártico (EF469235).

De acuerdo con el análisis BLAST realizado en el National Center for Biotechnology Information (NCBI), el porcentaje de identidad de *K. azanzae* proveniente de la Bahía de Acapulco fue de 99.79% y de 99.62% para *K. decipiens*. La distancia genética de *K. azanzae* de este estudio con la secuencia de la especie tipo fue de 0% y de 0.2% para *K. decipiens* respectivamente.

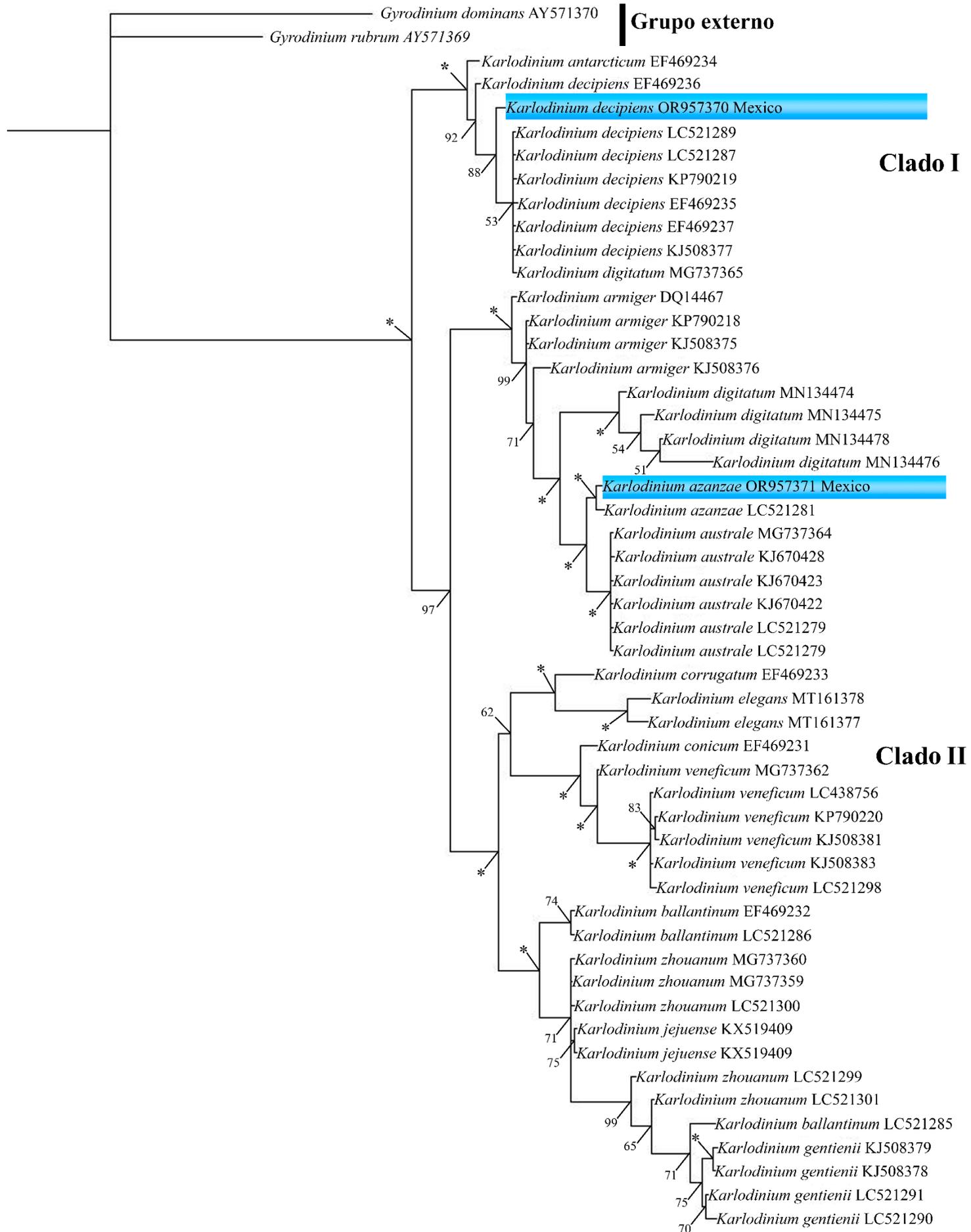


Figura 3. Topología de inferencia bayesiana basada en datos de secuencias de ADNr LSU (D1-D2) (1.010 pb) de especies de *Karlodinium*. Valores bootstrap de inferencia bayesiana en las ramas. Los asteriscos indican apoyo total (BI= 1,00). Las secuencias generadas en este estudio aparecen marcadas en color azul.

6 Discusión

6.1 Morfología de *Heterocapsa*

Cuatro cepas correspondientes a las especies de dinoflagelados tecados *Heterocapsa borneoensis* (Cepas: C9HBAB-C10HBAB), *H. iwatakii* (Cepa: E8HIAB) y *Heterocapsa sp.* (Cepa: B8HSPAB), se obtuvieron en la Bahía de Acapulco, México, lo que representa el primer registro de las especies *Heterocapsa borneoensis* y *H. iwatakii* desde su descripción original en la costa de Sarawak, Borneo, Malasia (Hanifah et al., 2022). La morfología general y detallada de estas dos especies, estudiada mediante microscopía óptica, y en el caso de *H. borneoensis* también mediante microscopía electrónica, descrita en este estudio concuerda completamente con los caracteres morfológicos descritos por Hanifah et al. (2022).

Morfológicamente, *H. borneoensis* es similar a *H. bohaiensis*, superponiéndose en tamaño, (10-15/ 10-17 μm de largo y 6-10/ 6-12 μm de ancho, respectivamente), y la principal diferencia entre las dos especies es la forma del hiposoma (Xiao et al., 2018; Figs. 1 A, B), sin embargo, en la cepa establecida por Hanifah et al. (2022), la forma elipsoidal de *H. bohaniensis* se parecía a *H. borneoensis*. En este estudio, la forma y el tamaño coinciden con la descripción original de *H. borneoensis*. La presencia de múltiples pirenoides es otro carácter compartido, aunque en la descripción de Xiao et al. (2018), *H. bohaiensis* mostró de 1 a 3 pirenoides, mientras que Hanifah et al. (2022) informaron de 1 a 4 pirenoides, el mismo número de pirenoides informado para *H. borneoensis* (2-4 pirenoides).

Otras especies muestran pirenoides múltiples, como *H. pygmaea* (2 pirenoides; Iwataki, 2004, 2008; Hernández-Becerril et al., 2010), que difiere de *H. borneoensis* en el desplazamiento del

cíngulo y la forma y ubicación del núcleo, *H. limii* (2 pirenoides; Hanifah et al., 2022), que tiene una estrecha relación con *H. borneoensis*, sin embargo, las diferencias son la forma del núcleo, la presencia invariable de 2 pirenoides y la ausencia de cuerpos rojos en *H. limii*. Por último, *H. huensis* tiene 1-3 pirenoides, pero difiere en la forma general de la célula (Iwataki et al., 2009; Hanifah et al., 2022).

Iwataki (2008), proporcionó una guía general de identificación, en la que el primer carácter a tener en cuenta son las proporciones del episoma y el hiposoma, así como el tamaño y la forma de la célula. Sin embargo, el principal carácter que permite la diferenciación entre especies del género *Heterocapsa* es la morfología de las escamas externas del cuerpo (Iwataki, 2008). Teniendo en cuenta este hecho, encontramos que la diferencia entre *H. borneoensis* y *H. bohaiensis* radica en la morfología de las escamas, que difieren en tamaño (320-460 nm y 300-350 nm), contorno (triangular y circular), crestas (seis y tres), espinas y arcos periféricos respectivamente. Además, la identificación de *H. borneoensis* también está respaldada por la inferencia filogenética del ADNr LSU.

Las observaciones de la ultraestructura de *H. borneoensis* realizadas en este estudio coinciden con la ultraestructura de otras especies del género: cloroplastos periféricos con conexión pirenoide, pirenoide rodeado de grano de almidón, mitocondrias, núcleo con cromosomas condensados y presencia de tricocistos (Horiguchi, 1995; Iwataki et al., 2003; Rintala et al., 2010; Tillman et al., 2017; Xiao et al., 2018; Sunesen et al., 2020; Benico et al., 2021). En cuanto a la ultraestructura, dentro del género *Heterocapsa*, algunas especies presentan invaginaciones tubulares en la matriz del pirenoide, cuya función no está clara (Iwataki et al., 2003; Benico et al., 2021). En *H. borneoensis*, una especie relativamente pequeña, las

invaginaciones tubulares están ausentes, ya que se cree que estas estructuras sólo se dan en especies grandes (Iwataki et al., 2003).

Heterocapsa iwataki es una especie pequeña del género, Hanifah et al. (2022) describieron detalladamente las características que la distinguen de aquellas especies morfológicamente similares, *H. horiguchii*, *H. busaensis* y *H. ovata*, en las que, a pesar de compartir caracteres, *H. iwataki* se distingue por su tamaño (7-12 um de longitud y 5-8 um de anchura) ya que no se sobrepone con ninguna de las especies mencionadas. La cepa de la bahía de Acapulco coincide con la descripción original de Hanifah et al. (2022): episoma más grande que el hiposoma, núcleo redondo situado en el episoma, un pirenoide situado en el hiposoma y presencia de cuerpos rojos. Lamentablemente, no fue posible observar la morfología de las escamas.

La cepa (B8HSPBA) se estudió únicamente por LM, utilizando material vivo y fijo. Esta especie es morfológicamente cercana a *H. borneoensis*, *H. bohaiensis* y *H. limii*, todas estas especies coinciden en tamaño y forma celular general. *Heterocapsa* sp. tiene un mayor parecido con *H. bohaiensis* (Hanifah et al., 2022; Figs. 5 A, B) ya que ambas especies tienen un episoma más grande. El siguiente carácter por considerar es el número y posición de los pirenoides, en el que las especies mostraron 2 pirenoides localizados en el episoma y sólo se observó una célula con 3 (Lamina 5 B). Siguiendo la guía de identificación proporcionada por Hanifah et al. (2022) (Figs. 12 A-B), sólo cinco especies presentan pirenoides múltiples: *H. pygmaea*, que tiene un núcleo esférico y no tiene cuerpos rojos (Loeblich et al., 1981; Iwataki et al., 2004; Hernández-Becerril et al., 2010), *H. limii*, que difiere de *Heterocapsa* sp. por la presencia de un tercer pirenoide y la presencia de cuerpos rojos (Hanifah et al., 2022), *H. huensis*, que es más grande y difiere en la forma celular (Loeblich et al. 1981; Hanifah et al., 2022), mientras que *H.*

borneoensis y *H. bohaiensis* tienen de 1 a 4 pirenoides. *Heterocapsa* sp. difiere de *H. borneoensis* en la proporción entre episoma e hiposoma y en la posición y forma del núcleo, que se encuentra en el episoma en *H. borneoensis* y está situado en el centro en *Heterocapsa* sp. (Lamina 5 F), aunque en algunas células puede verse cubriendo más área del hiposoma (Lamina 5 C). El patrón de placas de *Heterocapsa* sp. coincide con el de *H. borneoensis* (Hanifah et al. 2022). El parecido morfológico y el solapamiento de caracteres de *Heterocapsa* sp. con otras especies del género han dificultado su identificación y, lamentablemente, no ha sido posible obtener secuencias ni observar la morfología de las escamas. Este solapamiento de caracteres puede explicarse por el deterioro o modificación de la morfología de *Heterocapsa* sp. en muestras fijas.

6.2 Morfología de *Karlodium*

Descrita en las costas de Filipinas, *Karlodium azanzae* es la especie más grande del género (21.4 -29.6 μm de largo y 15.1-23.2 μm de ancho). En el caso de *Karlodium azanzae* recolectado en el Pacífico mexicano (cepa: C10KAAB), fue posible observar la forma general de la célula, el desplazamiento del cíngulo, el surco apical recto, la posición y la forma del núcleo, así como la disposición de los cloroplastos. Todos estos caracteres concuerdan con la descripción original (Benico et al., 2020). Las diferencias que pudimos observar en nuestra cepa comparada con la cepa de Benico et al. (2020), fue la forma ligeramente cónica del epicono, esto puede deberse a las diferentes condiciones ambientales, o a las condiciones de cultivo. Otra diferencia fue la presencia de cuerpos de acumulación, los cuales están ausentes en la cepa C10KAAB, esto se debe a que no fue posible mantener el cultivo por largos periodos de tiempo, ya que Benico et al. (2020) mencionaron que estas estructuras estaban presentes en mayor

número en cultivos viejos. En las micrografías obtenidas en este estudio por microscopía óptica, el poro ventral es apenas visible, sin embargo, en Benico et al. (2020) se muestra esta estructura, por lo que es un carácter que sólo puede ser confirmado por MEB. *Karlodinium azanzae* podría confundirse fácilmente con especies del género *Karenia*, debido a la similitud en el tamaño (Benico et al., 2020), sin embargo, las principales diferencias morfológicas son el núcleo alargado situado centralmente y la aparición de un poro ventral (ambos caracteres no están presentes en ninguna especie del género *Karenia*) (Cen et al. 2024).

Karlodinium ballantinum fue descrita originalmente para las costas de Australia (De Salas et al., 2008) y desde su descripción ha sido reportada en diferentes lugares del mundo (Europa, Norteamérica y Asia (Siano et al., 2009; Escobar-Morales y Hernández- Becerril, 2015; Benico et al., 2020, 2024, respectivamente). En la cepa de *K. ballantinum* (F3KBAB) colectada en el Pacífico mexicano, los caracteres morfológicos coincidieron con los presentados en la descripción original (De Salas et al., 2008), tales como la forma y tamaño celular, posición y forma del núcleo, surco apical corto, número y disposición de los cloroplastos, ausencia aparente del poro ventral, así como, sulcus en forma de «S». La morfología de nuestra cepa también fue consistente con otros registros, como el presentado por Siano et al. (2009) en el que se menciona el comportamiento del movimiento natatorio, el cual coincidió con el ocurrido en este estudio: nado rápido en línea recta, ondulante, con cambios de dirección. En el Pacífico mexicano, esta especie ha sido reportada para las costas de Guerrero (Escobar-Morales y Hernández-Becerril, 2015), sin embargo, no fue posible comparar nuestra cepa con dicho morfotipo, ya que algunos caracteres morfológicos de la cepa proveniente de Guerrero no eran visibles.

Karlodinium corsicum fue descrito originalmente como *Gyrodinium corsicum* por Paulmier et al. (1995) en el lago Diana (Córcega, Francia), posteriormente fue transferido al género *Karlodinium* por Siano et al. (2009). En el caso del espécimen correspondiente a *K. corsicum*, colectado en el Pacífico Mexicano (F1KCAB), éste coincidía con la descripción original de Paulmier et al. (1995), sin embargo, en el estudio de Bérard-Therriault et al. (1999) existe una variación relativamente alta en la longitud y anchura de la célula (10.7-16 μm de largo y 8.8-14 μm de ancho), cabe señalar que nuestro morfotipo coincidió con las medidas reportadas por estos últimos autores. Esta especie sólo ha sido reportada para las costas de Francia, Canadá (Paulmier et al., 1995; Bérard-Therriault et al., 1999) y España (Delgado et al., 1995); en este último estudio fue reportada como *Gyrodinium* sp., pero con las características morfológicas de *K. corsicum*, donde la presencia de la especie también fue asociada con mortalidad de peces (Delgado et al., 1995).

Los caracteres morfológicos que distinguen a *Karlodinium decipiens* de otras especies del género son sus grandes cloroplastos lenticulares, un gran núcleo situado en el centro de la célula y un extenso surco apical (De Salas et al., 2008). En la cepa correspondiente a *K. decipiens*, (D9KDAB) los caracteres morfológicos observados coinciden con la descripción original de De Salas et al. (2008), así como con la descripción de Benico et al. (2020). En comparación con el estudio de Nézan et al. (2014), nuestra cepa difería únicamente en la posición del núcleo, ya que, en las micrografías mostradas, el núcleo estaba dirigido hacia el hipocono. En los ejemplares mostrados por Nezan et al. (2014) y Reñe et al. (2015), los caracteres morfológicos distintivos son poco claros y limitan la correcta identificación de la especie, sin embargo, la identificación molecular nos permitió confirmar la presencia de *K. decipiens* por primera vez en

el océano Pacífico oriental. Por otro lado, *K. decipiens* fue descrita para el Océano Atlántico, en ambientes templados a subpolares, recolectada a temperaturas de 8.95-19.6°C (De Salas et al., 2008). El registro actual amplió el rango de distribución y las temperaturas toleradas por esta especie, ya que la especie fue recolectada en latitudes tropicales a una temperatura de 26°C. Recientemente, Yao et al. (2024) describieron un nuevo carácter para esta especie, una vesícula anfiesmal en el epicono dorsal que conecta con el extremo del surco apical, sin embargo, señalan que se necesita más investigación para determinar la importancia de este carácter. Además, estos autores señalan que *K. decipiens* es una especie nociva, debido a la posible producción de toxinas.

La especie *Karlodinium gentienii* es un pequeño dinoflagelado, descrito originalmente para el océano Atlántico (Francia) (Nézan et al., 2014), aunque también se ha descrito en el océano Pacífico occidental (Japón) (Benico et al., 2020). Esta especie es morfológicamente similar a otras especies en el género y estas diferencias se discuten en Nézan et al. (2014). La cepa colectada en el Pacífico mexicano (H5KGAB) coincidió con los caracteres distintivos de la especie, como la forma y tamaño general de las células, posición y forma del núcleo, y con el surco apical ligeramente curvado y cercano a la intrusión del surco en el epicono. El número de cloroplastos variaba en nuestra cepa (12-13), a diferencia del morfotipo presentado por Nézan et al. (2014), donde el número de cloroplastos era de 5 a 7.

6. 3 Filogenia

6.3.1 *Heterocapsa*

Tras las observaciones morfológicas y la filogenia molecular obtenida (secuencias de ADNr LSU), se confirmó la presencia de la especie *H. borneoensis* en la costa oriental del Pacífico. La filogenia del conjunto de datos analizados mostró que las dos secuencias obtenidas en este estudio (OQ946954-OQ946955), se agrupaban con secuencias de *H. borneoensis* recogidas en las costas de Malasia (Hanifah et al., 2022). Sin embargo, la topología del árbol LSU de Hanifah et al. (2022) *H. borneoensis*, mostró ser parafilético. En nuestro árbol, el clado de *H. borneoensis* (subclado A, Fig. 2) está bien diferenciado con máximo soporte y de la misma manera que en Hanifah et al. (2022), la secuencia GBHetBol (LC621347, número de acceso al Genbank) de Benico et al. (2021) se agrupó junto con las secuencias de *H. bohaiensis*. La divergencia de las secuencias de *H. borneoensis* de este estudio comparadas con las proporcionadas por Hanifah et al. (2022) es cero, lo que implica que se trata de la misma especie.

6.3.2 *Karlodinium*

El análisis filogenético realizado mostró que las dos cepas secuenciadas en este estudio (C10KAAB y D9KDAB) se agrupaban en clados separados con secuencias de *Karlodinium azanzae* y *K. decipiens*, respectivamente. La secuencia generada en este estudio e identificada como *K. decipiens* (OR957370) formó parte del clado I, junto con otras secuencias de la misma especie y de *K. antarcticum*. En cuanto a la secuencia etiquetada como *K. digitatum* (MG737365) procedente de China, lo más probable es que se trate de un error de identificación (Cen et al., 2021). La secuencia correspondiente a *K. azanzae* (OR957371) se agrupó en el clado II con la secuencia proporcionada por Benico et al. (2020) para la costa de Filipinas, y cabe

señalar que, en ese clado, la especie *K. azanzae* formaba un clado hermano con *K. australe*. Estos resultados confirman la identificación molecular de las dos cepas analizadas en este estudio. De Salas et al. (2008) y Yao et al. (2024), apoyan el establecimiento de un nuevo género basado en las relaciones filogenéticas entre las especies *K. antarcticum* y *K. decipiens*, sin embargo, Yao et al. (2024), señalan que este nuevo género podría establecerse a partir del estudio exhaustivo de la gran vesícula anfiesmal en el epicono. Esta hipótesis también se sugiere en nuestros resultados, donde la topología del árbol filogenético indica que podrían representar un género diferente.

Los estudios en el Pacífico mexicano relacionados a los géneros presentados en este trabajo, son escasos. Ambos géneros (*Heterocapsa*, *Karlodinium*) presentan especies de menor tamaño a las 30 µm y poseen células frágiles, lo que las hace susceptibles a dañarse mediante los métodos de colecta y fijación tradicionales (arrastres con red, formaldehído, yoduro de Lugol, etc). Los registros previos, nos pueden indicar que más especies pudieran estar presentes en costas mexicanas, sin embargo, algunas de estas especies habían sido descritas en ambientes templados (e.g. *K. decipiens*) o solo se habían reportado una vez desde su descripción original (e.g. *K. corsicum*). Es difícil justificar si estas especies poseen naturalmente una amplia distribución, o si existen factores externos que han influido en la biogeografía de las especies (cambios en las corrientes oceánicas, transporte a través de agua de lastre, etc). Teniendo en cuenta los antecedentes y con base en los resultados obtenidos, se puede inferir que estas especies presentan una amplia distribución, asimismo, el uso de diversas técnicas de identificación (establecimiento de cultivos, PCR de una sola célula, secuenciación masiva, etc) han sido útiles para el estudio de estos organismos, cuya diversidad en el Pacífico mexicano está subestimada.

7 Conclusiones

A través del establecimiento de cultivos, fue posible caracterizar morfológicamente ocho cepas de dinoflagelados en la Bahía de Acapulco, pertenecientes a dos géneros, de los cuales, seis son nuevos registros, ampliando así el conocimiento de la diversidad de dinoflagelados presentes en la Bahía.

Basándonos en nuestros datos morfológicos, podemos confirmar el primer registro de las especies *Heterocapsa borneoensis* y *H. iwatakii* para el Océano Pacífico oriental desde su descripción original. También se ha estudiado por primera vez la ultraestructura y filogenia molecular de la especie *H. borneoensis*. Este estudio demuestra el amplio rango de distribución de este género potencialmente nocivo y la necesidad de mantener el monitoreo e investigación de especies potencialmente tóxicas del género *Heterocapsa* en aguas mexicanas mediante el uso de diversas técnicas microscópicas y moleculares (PCR cuantitativa, metabarcoding, etc).

En este estudio contribuimos al conocimiento de la diversidad del género *Karlodinium* en el Pacífico mexicano, registrando la ocurrencia de cinco especies, considerando caracteres morfológicos relevantes revelados principalmente por microscopía óptica, adicionalmente las identificaciones también fueron apoyadas por filogenias moleculares para dos especies. Las especies encontradas y estudiadas en el Pacífico mexicano son *Karlodinium azanzae*, *K. ballantinum*, *K. corsicum*, *K. decipiens* y *K. gentienii*, contando con cuatro nuevos registros. Esta es también una contribución a la biogeografía y diversidad genética del género *Karlodinium*, cuya presencia en las costas mexicanas ha sido subestimada. Por tratarse de un género de importancia ecológica, debido a su potencial tóxico y su capacidad para formar

florecimientos algales, es necesario incrementar los esfuerzos de monitoreo en las diferentes regiones del Pacífico Mexicano.

8 Recomendaciones

Es necesario continuar con el monitoreo de especies de dinoflagelados de importancia para las costas del Pacífico mexicano, en específico en la Bahía de Acapulco, el cual es un lugar de importancia turística, por lo que identificar correctamente a especies con potencial tóxico y nocivo, es primordial.

Es recomendable el uso de marcadores moleculares adicionales como lo son SSU e ITS ADNr, para una caracterización molecular más detallada.

La medición de variables ambientales podría ser útil para identificar las condiciones en las que ciertas especies se encuentran presentes en la Bahía.

Aplicación de técnicas de microscopía fina, como microscopía electrónica de barrido y de transmisión serán útiles para una caracterización morfológica y ultraestructural detallada.

La realización de análisis de pigmentos para la completa caracterización de las especies.

Estudios detallados sobre la ecología de las especies presentes en la zona de estudio.

9 Literatura Citada

- Almazán-Becerril, A., Aké-Castillo, J. A., García-Mendoza, E., Sánchez-Bravo, Y. A., Escobar-Morales, S. & Valadez Cruz, F. 2016. *Catálogo de microalgas de Bahía de Todos Santos, Baja California*. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Ensenada, México. 132 pp
- Armbrust, E.V. 2009. The life of diatoms in the world's oceans. *Nature* 459 (7244): 185-192.
- Arteaga-Sogamoso, E., Rodríguez, F., Amato, A., Ben-Gigirey, B., Fraga, S., Mafra Jr, L. L. & Mancera-Pineda, J. E. 2023. Morphology and phylogeny of *Prorocentrum porosum* sp. nov. (Dinophyceae): A new benthic toxic dinoflagellate from the Atlantic and Pacific Oceans. *Harmful Algae* 121: 102356.
- Band-Schmidt, C. J., Bustillos-Guzmán, J., Morquecho, L., Gárate-Lizárraga, I., Alonso-Rodríguez, R., Reyes-Salinas, A. & Luckas, B. 2006. Variations of PSP toxin profiles during different growth phases in *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) strains isolated from three locations in the Gulf of California, Mexico. *Journal of Phycology* 42 (4): 757-768.
- Band-Schmidt, C. J., Martínez-López, A., Bustillos-Guzmán, J. J., Carreón-Palau, L., Morquecho, L., Olguín-Monroy, N. O. & Tomas, C. 2012. Morphology, biochemistry, and growth of raphidophyte strains from the Gulf of California. *Hydrobiologia* 693 (1): 81-97.
- Band-Schmidt, C. J., Morquecho, L., Hernández-Becerril, D. U., Reyes-Salinas, A. & Bravo-Sierra, E. 2004. Raphidophyceans on the coasts of Mexico. *Hydrobiologia* 515 (1): 79-89.

- Band-Schmidt, C. J., Morquecho, L., Lechuga-Devéze, C. H. & Anderson, D. M. 2004. Effects of growth medium, temperature, salinity and seawater source on the growth of *Gymnodinium catenatum* (Dinophyceae) from Bahía Concepción, Gulf of California, Mexico. *Journal of Plankton Research* 26 (12): 1459-1470.
- Benico, G., Takahashi, K., Lum, W. M. & Iwataki, M. 2019. Morphological variation, ultrastructure, pigment composition and phylogeny of the star-shaped dinoflagellate *Asterodinium gracile* (Kareniaceae, Dinophyceae). *Phycologia* 58 (4): 405-418.
- Benico, G., Takahashi, K., Lum, W. M., Yñiguez, A. T. & Iwataki, M. 2020. The harmful unarmored dinoflagellate *Karlodinium* in Japan and Philippines, with reference to ultrastructure and micropredation of *Karlodinium azanzae* sp. nov. (Kareniaceae, Dinophyceae). *Journal of Phycology* 56 (5): 1264-1282.
- Benico, G., Lum, W. M., Takahashi, K., Yñiguez, A. T. & Iwataki, M. 2021. Thecal tabulation, body scale morphology and phylogeny of *Heterocapsa philippinensis* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae) from the Philippines. *European Journal of Protistology* 80: 125811.
- Benico, G. A., Flores, J. A. V., Esteban, S. P., Undan, J. R., Kuwata, K. & Iwataki, M. 2024. Morphology, phylogeny and discovery of the antioxidant potential of a marine dinoflagellate *Karlodinium ballantinum* (Kareniaceae, Dinophyceae) isolated from Subic Bay, Zambales, Central Luzon, Philippines. *Philippine Journal of Science* 31: 1.

- Bérard-Therriault, L., Poulin, M. & Bossé, L. 1999. *Guide d'identification du phytoplancton marin de l'estuaire et du golfe du Saint-Laurent: incluant également certains protozoaires*. NRC Research Press. 128 pp.
- Bergholtz, T., Daugbjerg, N., Moestrup, Ø. & Fernández-Tejedor, M. 2006. On the identity of *Karlodinium veneficum* and description of *Karlodinium armiger* sp. nov. (Dinophyceae), based on light and electron microscopy, nuclear-encoded LSY rDNA, and pigment composition. *Journal of Phycology* 42 (1): 170-193.
- Brand, L. E., Campbell, L. & Bresnan, E. 2012. *Karenia*: The biology and ecology of a toxic genus. *Harmful Algae* 14: 156-178.
- Cen, J., Wang, J., Huang, L., Lin, Y., Ding, G., Qi, Y. & Lü, S. 2021. *Karlodinium elegans* sp. nov. (Gymnodiniales, Dinophyceae), a novel species isolated from the East China Sea in a dinoflagellate bloom. *Journal of Oceanology and Limnology* 39 (1): 242-258
- Cen, J., Lu, S., Moestrup, Ø., Jiang, T., Ho, K. C., Li, S. & Wang, J. 2024. Five *Karenia* species along the Chinese coast: with the description of a new species, *Karenia hui* sp. nov. (Kareniaceae, Dinophyta). *Harmful Algae* 10 (2): 645.
- Choi, H. & Kim, S. 2021. *Heterocapsa busanensis* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae): A new marine thecate dinoflagellate from Korean coastal waters. *European Journal of Protistology* 79: 125797.

- De Salas, M. F., Laza-Martínez, A. & Hallegraeff, G. M. 2008. Novel unarmoured dinoflagellates from the toxigenic family Kareniaceae (Gymnodiales): Five new species of *Karlodinium* and one new *Takayama* from the Australian sector of the Southern Ocean. *Journal of Phycology* 44 (1): 241-257.
- Delgado, M. 1995. Phytoplankton monitoring in the Catalan Area, MAST-IOC Advanced Phytoplankton Course on Taxonomy and Systematics. IOC (UNESCO). Oral presentation. October 1997, Ischia, Italy.
- De la Lanza Espino, G. J. (1991). Oceanografía de mares mexicanos. *Ciencias* 76: 569.
- Escárcega-Bata, A., Ruiz-de la Torre, M. C., Reséndiz, M. L. N. & Enríquez-Paredes, L. M. 2022. An update on the diversity of athecate dinoflagellates (Dinoflagellata) in Bahía Todos Santos, Baja California. *Nova Hedwigia*. ¿???
- Escárcega-Bata, A., Zamudio-Reséndiz, M. E., Hernández-Rosas, A., Reséndiz, M. L. N., Dreckmann, K. M. & Senties, A. 2023. First record of *Grammatodinium* (Dinophyceae) for the American Eastern Pacific coast: morphological, molecular and ecological confirmation. *European Journal of Protistology* 125942.
- Escárcega-Bata, A. D. J., Ruiz-de la Torre, M. C., Reséndiz, M. L. N., Enriquez-Paredes, L. M., Dreckmann, K. M. & Senties, A. 2021. Molecular assessment of athecate dinoflagellates of the order Gymnodiniales (Dinophyceae) in Todos Santos Bay, Baja California, México. *American Journal of Plant Sciences* 12 (12): 1926-1944.

- Escarcega-Bata, A., Núñez Resendiz, M. L., Ruiz-de la Torre, M. C., Dreckmann, K. M., Zamudio-Resendiz, M. E. & Sentías, A. 2023. Diversidad de dinoflagelados atecados del orden Gymnodiniales (Dinophyceae), con énfasis en aquellos formadores de florecimientos algales nocivos en las costas del Pacífico Mexicano. *Acta Botánica Mexicana* 130: e2126.
- Escarcega-Bata, A., Resendiz, M. L. N., Zamudio-Resendiz, M. E., Dreckmann, K. M., Sánchez, E. C., & Sentías, A. 2024. Morpho-molecular and environmental evidence of the occurrence of *Karenia longicanalis* (Dinophyceae: Kareniaceae) as a bloom former in the Eastern Pacific Ocean. *Protist*, 175(2), 126022.
- Escobar-Morales, S. & Hernández-Becerril, D. U. 2015. Free-living marine planktonic unarmoured dinoflagellates from the Gulf of Mexico and the Mexican Pacific. *Botanica Marina* 58 (1): 9-22.
- Esqueda-Lara, K., & Hernández-Becerril, D. U. (2010). Dinoflagelados microplanctónicos marinos del Pacífico central de México (Isla Isabel, Nayarit y costas de Jalisco y Colima). *Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.*
- Fensome, R.A., Taylor, F.J.R., Norris, G., Sarjeant, W.A.S., Wharton, D.I., Williams, G.L., 1993. A classification of fossil and living dinoflagellates. *Micropaleontology* Special Publication 7, 351 pp.
- Flamand-Swaner, C. L. 1991. Pacífico tropical mexicano, Cabo Corrientes a la frontera con Guatemala. Oceanografía Geológica. In: De la Lanza Espino, G. (comp.). *Oceanografía de mares mexicanos*. AGT Editor, México, D.F., México. pp. 117-148.

- Gárate-Lizárraga, I. 2020. Dinoflagelados atecados y su importancia como causantes de florecimientos en la Bahía de La Paz, Golfo de California. In: Rodríguez-Riosmena, R., López-Vivas, J. M., Gómez-Gallardo, A., Cruz-Piñón, G. & Romo-Piñera, A. K. (Eds.). La Bahía de La Paz: Biodiversidad, procesos ecológicos y sociales. Universidad Autónoma de Baja California Sur, La Paz, México. pp. 197-242.
- 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.
- Gárate-Lizárraga, I., B. Pérez-Cruz, J. A. Díaz-Ortíz, Y. B. Okolodkov y S. López-Silva. 2016. Florecimientos algales nocivos en las aguas costeras del estado de Guerrero, México. In: García-Mendoza, E., S. I. Quijano-Scheggia, A. Olivos-Ortiz y E. J. Núñez-Vázquez (eds.). Florecimientos algales nocivos en México. Centro de Investigación Científica y de Estudios Superiores de Ensenada. Ensenada, México. Pp. 228-241.
- Gárate-Lizárraga, I., G. Sevilla-Torres, M. Álvarez-Añorve, F. Aguirre-Bahena, J. Violante-González y A. Rojas-Herrera. 2013. First record of a red tide caused by *Gyrodinium instriatum* (Dinophyceae: Gymnodinales) in Bahía de Acapulco, Guerrero. *CICIMAR Océánides* 28(1): 43-47
- Gárate-Lizárraga, I., J. A. Díaz-Ortiz., B. Pérez-Cruz., M. A. Alarcón-Romero, L. A. Chávez-Almazán, J. L. García-Barbosa y S. López-Silva. 2011. A multi-species dinoflagellate bloom and shellfish

toxicity in Costa Grande, Guerrero, Mexico (December, 2010). *CICIMAR Océánides* 26(1): 61-71.

Gárate-Lizárraga, I., J. Díaz-Ortiz, B. Pérez-Cruz, M. Alarcón-Tacuba, A. Torres-Jaramillo, M. A. Alarcón-Romero y S. López-Silva. 2009. *Cochlodinium polykrikoides* and *Gymnodinium catenatum* in Bahía de Acapulco, México (2005-2008). *Harmful Algae News* 40: 8-9

Gómez, F. 2005 A list of free-living dinoflagellate species in the world's oceans. *Acta Botanica Croatica*, 64(1), 129-212.

Gómez, F. 2012. A checklist and classification of living dinoflagellates (Dinoflagellata, Alveolata). *Cicimar Océánides* 27 (1): 65-140.

Gómez, F. 2020. Diversity and classification of dinoflagellates. In: Subba Rao, D. V. (Ed.). *Dinoflagellates: Classification, Evolution, Physiology and Ecological Significance*. 1-38

Gómez, F., Gourvil, P., Li, T., Huang, Y., Zhang, H., Courcot, L. & Lin, S. 2022. Molecular phylogeny of the spiny-surfaced species of the dinoflagellate *Prorocentrum* with the description of *P. thermophilum* sp. nov. and *P. criophilum* sp. nov. (Prorocentrales, Dinophyceae). *Journal of Phycology* 11(2), 271

Grattan, L. M., Holobaugh, S. & Morris Jr, J. G. 2016. Harmful algal blooms and public health. *Harmful Algae* 57: 2-8.

Guiry, M. D. & Guiry, M. D. 2018. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org/> (accessed: 5 Aug 2023).

- Guiry, M. D. & Guiry, M. D. 2024. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org/> (accessed: 31 January 2024).
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium* 41: 95-98.
- Hallegraeff, G. M. 2003. Harmful algal blooms: A global overview. In: Hallegraeff, G. M., Anderson, D. M. & Cembella, A. D. (Eds.). *Manual on Harmful Marine Microalgae*. UNESCO, Paris. pp. 33-22.
- Hanifah, A. H., Teng, S. T., Law, K., Abdullah, N., Chiba, S. U. A., Lum, W. M., ... & Leaw, C. P. 2022. Six marine thecate *Heterocapsa* (Dinophyceae) from Malaysia, including the description of three novel species and their cytotoxicity potential. *Harmful Algae* 120: 102338.
- Hernández-Becerril, D. U. 1988. Planktonic dinoflagellates (except *Ceratium* and *Protoperidinium*) from the Gulf of California and off the coasts of Baja California. *Botanica Marina* 31: 423-435.
- Hernández-Becerril, D. U. & Bravo-Sierra, E. 2004. New record of planktonic dinoflagellates (Dinophyceae) from the Mexican Pacific Ocean. *Botanica Marina* 47 (5): 417-423.
- Hernández-Becerril, D. U., Alonso-Rodríguez, R., Álvarez-Góngora C., Barón-Campis, S. A., Ceballos-Corona, G., Herrera-Silveira, J., Meave del Castillo, M. E., Juárez-Ruiz, N., Merino-Virgilio, F., Morales-Blake A., Ochoa J. L., Orellana-Cepeda E., Ramírez-Camarena C. & Rodríguez-Salvador R. 2007. Toxic and harmful marine phytoplankton and microalgae (HABs) in Mexican Coasts. *Journal of Environmental Science and Health, Part A* 42 (10): 1349-1363.

- Hernández-Becerril, D. U., Rodríguez-Palacio, M. C., & Lozano-Ramírez, C. 2010. Morphology of two bloom-forming or potentially toxic marine dinoflagellates from the Mexican Pacific, *Heterocapsa pygmaea* and *Protoceratium reticulatum* (Dinophyceae). *Cryptogamie, Algologie* 31 (2): 245-258.
- Hernández-Becerril, D. U., Aquino-Cruz, A., Salas-De-León, D. A., Signoret-Poillon, M., & Monreal-Gómez, M. A. 2012. Studies on picophytoplankton in the southern Gulf of Mexico: pigment analysis and potential importance of the picoeukaryote Prasinophyte *Micromonas pusilla*. *Marine Biology Research* 8 (4): 331-340.
- Hernández-Becerril, D. U., Barón-Campis, S. A., & Escobar-Morales, S. 2012. A new record of *Azadinium spinosum* (Dinoflagellata) from the tropical Mexican Pacific. *Revista de biología marina y oceanografía*, 47(3), 553-557.
- Hernández-Becerril, D. U., Barón-Campis, S. A., Salazar-Paredes, J. & Alonso-Rodríguez, R. 2013. Species of the planktonic diatom genus *Skeletonema* (Bacillariophyta) from the Mexican Pacific Ocean. *Cryptogamie, Algologie* 34 (2): 77-87.
- 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. *Botanica marina*, 56(5-6), 535-540.
- Hernández-Becerril, D. U. 2014. Biodiversidad de algas planctónicas marinas (Cyanobacteria, Prasinophyceae, Euglenophyta, Chrysophyceae, Dictyochophyceae, Eustigmatophyceae,

Parmophyceae, Raphidophyceae, Bacillariophyta, Cryptophyta, Haptophyta, Dinoflagellata) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: 44-53.

Hernández-Becerril, D. U., Lau, W. L., Hii, K. S., Leaw, C. P., Varona-Cordero, F. & Lim, P. T. 2018. Abundance and distribution of the potentially toxic thecate dinoflagellate *Alexandrium tamiyavanichii* (Dinophyceae) in the Central Mexican Pacific, using the quantitative PCR method. *Frontiers in Marine Science* 5: 366.

Hernández-Becerril, D. U. & Arce-Rocha, G. 2021. Morphology of two species of the thecate dinoflagellate genus *Blepharocysta* (Dinophyta) from the tropical Mexican Pacific. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 92.

Hernández-Becerril, D. U. & Vega-Juárez, G. 2022. Morphology of the marine, planktonic, thecate dinoflagellate *Gonyaulax areolata* (Dinophyceae), a species causing red tides in the tropical Mexican Pacific. *Phycologia* 61 (6): 595-605.

Hernández-Becerril, D. U., Pichardo-Velarde, J. G., Alonso-Rodríguez, R. et al. 2023. Diversity and distribution of species of the planktonic dinoflagellate genus *Alexandrium* (Dinophyta) from the tropical and subtropical Mexican Pacific Ocean. *Botanica Marina* 66: 539-557.

Hernández-Rosas, A., Meave-del Castillo, M.E., Díaz-Larrea, J. & Rodríguez, F. 2018. Single-cell PCR amplification of thecate dinoflagellates: A case study of *Tripos* (Dinophyceae). *Journal of Applied Phycology* 30: 1117-1124.

- Hoppenrath, M. 2017. Dinoflagellate taxonomy a review and proposal of a revised classification. *Marine Biodiversity*, 47(2), 381-403.
- Horiguchi, T. 1997. *Heterocapsa arctica* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae), a new marine dinoflagellate from the arctic. *Phycologia* 36 (6): 488-491.
- Iwataki, M., Takayama, H., Matsuoka, K. & Fukuyo, Y. 2002. *Heterocapsa lanceolata* sp. nov. and *Heterocapsa horiguchii* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae), two new marine dinoflagellates from coastal Japan. *Phycologia* 41 (5): 470-479.
- Iwataki, M., Botes, L., Sawaguchi, T., Sekiguchi, K. & Fukuyo, Y. 2003. Cellular and body scale structure of *Heterocapsa ovata* sp. nov. and *Heterocapsa orientalis* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae). *Phycologia* 42 (6): 629-637.
- Iwataki, M., Hansen, G., Sawaguchi, T., Hiroishi, S. & Fukuyo, Y. 2004. Investigations of body scales in twelve *Heterocapsa* species (Peridinales, Dinophyceae), including a new species *Heterocapsa pseudotriquetra* sp. nov. *Phycologia* 43 (4): 394-403.
- Iwataki, M. 2008. Taxonomy and identification of the armored dinoflagellate genus *Heterocapsa* (Peridinales, Dinophyceae). *Plankton Benthos Research* 3 (3): 135-142.
- Iwataki, M., Kawami, H., Van Nguyen, N. et al. 2009. Cellular and body scale morphology of *Heterocapsa huensis* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae) found in Hue, Vietnam. *Phycol. Res.* 57 (2): 87-93.

- Lee, S. Y., Jeong, H. J., Kwon, J. E., et al. 2019. First report of the photosynthetic dinoflagellate *Heterocapsa minima* in the Pacific Ocean: morphological and genetic characterizations and the nationwide distribution in Korea. *Algae* 34 (1): 7-21.
- Lum, W. M., Lim, H. C., Lau, W. L. S., Law, K., Teng, S. T., Benico, G., ... & Iwataki, M. 2022. Description of two new species *Chattonella tenuiplastida* sp. nov. and *Chattonella malayana* sp. nov. (Raphidophyceae) from the South China Sea, with a report of wild fish mortality. *Harmful Algae* 118: 102322.
- Lundholm, N., Churro, C., Escalera, L., Fraga, S., Hoppenrath, M., Iwataki, M., Larsen, J., Mertens, K., Moestrup, Ø., Murray, S., Tillmann, U., & Zingone, A. (Eds.) 2009 onwards. IOC-UNESCO Taxonomic Reference List of Harmful Micro Algae. Accessed at <https://www.marinespecies.org/hab> on 2024-01-31. doi:10.14284/362.
- Luo, Z., Wang, L., Chan, L., Lu, S., & Gu, H. 2018. *Karlodinium zhouanum*, a new dinoflagellate species from China, and molecular phylogeny of *Karenia digitata* and *Karenia longicanalis* (Gymnodiniales, Dinophyceae). *Phycol.* 57 (4): 401-412.
- Maciel-Baltazar, E. 2015. Dinoflagelados (Dinoflagellata) tóxicos de la costa de Chiapas, México, Pacífico centro oriental. *UNED Research Journal* 7 (1): 39-48.
- Maciel-Baltazar, E., & Hernández-Becerril, D. U. 2013. Especies de dinoflagelados atecados (Dinophyta) de la costa de Chiapas, sur del Pacífico mexicano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 48 (2): 245-259.

- Mayo-Vera, A. B. 2004. Estudio Ambiental de la bahía de Acapulco, Guerrero. Tesis de licenciatura (Ingeniero Geólogo), Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ingeniería. México, D.F., México. 76 pp.
- Matsuyama, Y., Nagai, K., Mizuguchi, T., et al. 1995. Ecological features and mass mortality of pearl oysters during the red tide of *Heterocapsa* sp. in Ago Bay in 1992. *Nippon Suisan Gakkaishi* 61: 35–41 (in Japanese with English abstract).
- Matsuyama, Y., Uchida, T., Nagai, K., et al. 1996. Biological and environmental aspects of noxious dinoflagellate blooms by *Heterocapsa circularisquama* in West Japan. In: Yasumoto, T., Oshima, Y., Fukuyo, Y. (Eds.), *Harmful and Toxic Algal Blooms*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp. 247–250.
- Matsuyama, Y., Uchida, T., Honjo, T. 1997. Toxic effects of the dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on the clearance rate of the blue mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Ecology Progress Series* 146: 73–80.
- Matsuyama, Y. 2012. Impacts of the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* bloom on shellfish aquaculture in Japan and some experimental studies on invertebrates. *Harmful Algae* 14: 144-155.
- Meave-del Castillo, M. E., Zamudio-Resendiz, M. E., & Castillo-Rivera, M. 2012. Riqueza fitoplanctónica de la Bahía de Acapulco y zona costera aledaña, Guerrero, México. *Acta Botanica Mexicana* (100): 405-487.

- Meave-del Castillo, M. E., & Zamudio-Resendiz, M. E. 2018. Florecimientos de microalgas planctónicas de 2000 al 2015 en la Bahía de Acapulco, Guerrero, México. *Acta Botanica Mexicana* (125): 61-93.
- Meave-del Castillo, M. E., Zamudio-Resendiz, M. E., Castillo-Rivera, M. A., Gutiérrez-Mendieta, F. J., Varona-Cordero, F., & Hernández-Cárdenas, G. 2020. Co-ocurrencia de dos dinoflagelados tóxicos en la Bahía de Acapulco, Guerrero, México: una oportunidad para cuantificar su biología y ecología. *Acta Botanica Mexicana* (127).
- Mertens, K. N., Morquecho, L., Carbonell-Moore, C., Meyvisch, P., Gu, H., Bilien, G., ... & Pérez-Cruz, B. 2022. *Pentaplacodinium lapazense* sp. nov. from Central and Southern Gulf of California, a new non-toxic gonyaulacalean resembling *Protoceratium reticulatum*. *Marine Micropaleontology*, 178, 102187.
- Milne, I., Lindner, D., Bayer, M., et al. 2009. TOPALi v2: a rich graphical interface for evolutionary analyses of multiple alignments on HPC clusters and multi-core desktops. *Bioinformatics* 25 (1): 126-127.
- Moreno-Díaz, G., Rojas-Herrera, A. A., González-González, J., Violante-González, J., Acevedo, J. R., & Ibáñez, S. G. 2015. Variación temporal de la abundancia y composición de especies de fitoplancton colectado con red, en la Bahía de Acapulco, México. *Revista Bio Ciencias* 3 (2): 88-102.
- Morrill, L. C., & Loeblich III, A. R. 1981. A survey for body scales in dinoflagellates and a revision of *Cachonina* and *Heterocapsa* (Pyrrophyta). *Journal of Plankton Research* 3: 53-65.

- Morquecho, L., Alonso-Rodríguez, R., & Martínez-Tecuapacho, G. A. 2014. Cyst morphology, germination characteristics, and potential toxicity of *Pyrodinium bahamense* in the Gulf of California. *Botanica Marina* 57 (4): 303-314.
- Morquecho, L. 2019. *Pyrodinium bahamense*: one of the most significant harmful dinoflagellates in Mexico. *Frontiers in Marine Science* 6: 1.
- Nézan, E., Siano, R., Boulben, S., Six, C., Bilien, G., Chèze, K., & Chomérat, N. 2014. Genetic diversity of the harmful family *Kareniaceae* (Gymnodiniales, Dinophyceae) in France, with the description of *Karlodinium gentienii* sp. nov.: A new potentially toxic dinoflagellate. *Harmful Algae* 40: 75-91.
- Not, F., Siano, R., Kooistra, W. H., Simon, N., Vaultot, D., & Probert, I. (2012). Diversity and ecology of eukaryotic marine phytoplankton. In *Advances in botanical research* (64, pp. 1-53). Academic Press.
- Okolodkov, Y. B., & Gárate-Lizárraga, I. 2006. An annotated checklist of dinoflagellates (Dinophyceae) from the Mexican Pacific. *Acta Botánica Mexicana* 74 (1): 1-154.
- Paulmier, G. 1995. *Gyrodinium corsicum* sp. nov. (Gymnodiniales, Dinophycees), organisme responsable d'une "eau verte" dans l'étang marin de Diana (Corse). *Cryptogamie, Algologie* 16: 77.
- Place, A. R., Bowers, H. A., Bachvaroff, T. R., Adolf, J. E., Deeds, J. R., & Sheng, J. 2012. *Karlodinium veneficum*—The little dinoflagellate with a big bite. *Harmful Algae* 14: 179-195.

- Reñé, A., Camp, J., & Garcés, E. 2015. Diversity and phylogeny of *Gymnodiniales* (Dinophyceae) from the NW Mediterranean Sea revealed by a morphological and molecular approach. *Protist* 166 (2): 234-263.
- Rintala, J. M., Hällfors, H., Hällfors, S., Hällfors, G., Majaneva, M., & Blomster, J. 2010. *Heterocapsa arctica* subsp. *frigida* subsp. nov. (Peridinales, Dinophyceae) - description of a new dinoflagellate and its occurrence in the Baltic Sea. *Journal of Phycology* 46: 751–762.
- Ruiz-de la Torre, M. C., Resendiz, M. L. N., Dreckmann, K. M., Senties, A., Zamudio-Resendiz, M. E., & Escarcega-Bata, A. 2022. *Biecheleriopsis adriatica* (Dinophyceae: Suessiaceae): the first record from the Eastern Pacific Ocean. *Botanica Marina* 65 (5): 371-378.
- Saldarriaga, J. F., & Taylor, F. J. R. 2017. Dinoflagellata. In: Archibald, J. M., et al. (Eds.), *Handbook of the Protists*. Springer International Publishing AG, pp. 1-54.
- Scholin, C. A., & Anderson, D. M. 1994. Identification of group and strain specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). I. RFLP analysis of SSU rRNA genes 1. *Journal of Phycology* 30 (4): 744-754.
- Shi, X., Liu, L., Li, Y., Xiao, Y., Ding, G., Lin, S., & Chen, J. (2018). Isolation of an algicidal bacterium and its effects against the harmful-algal-bloom dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 80, 72-79.

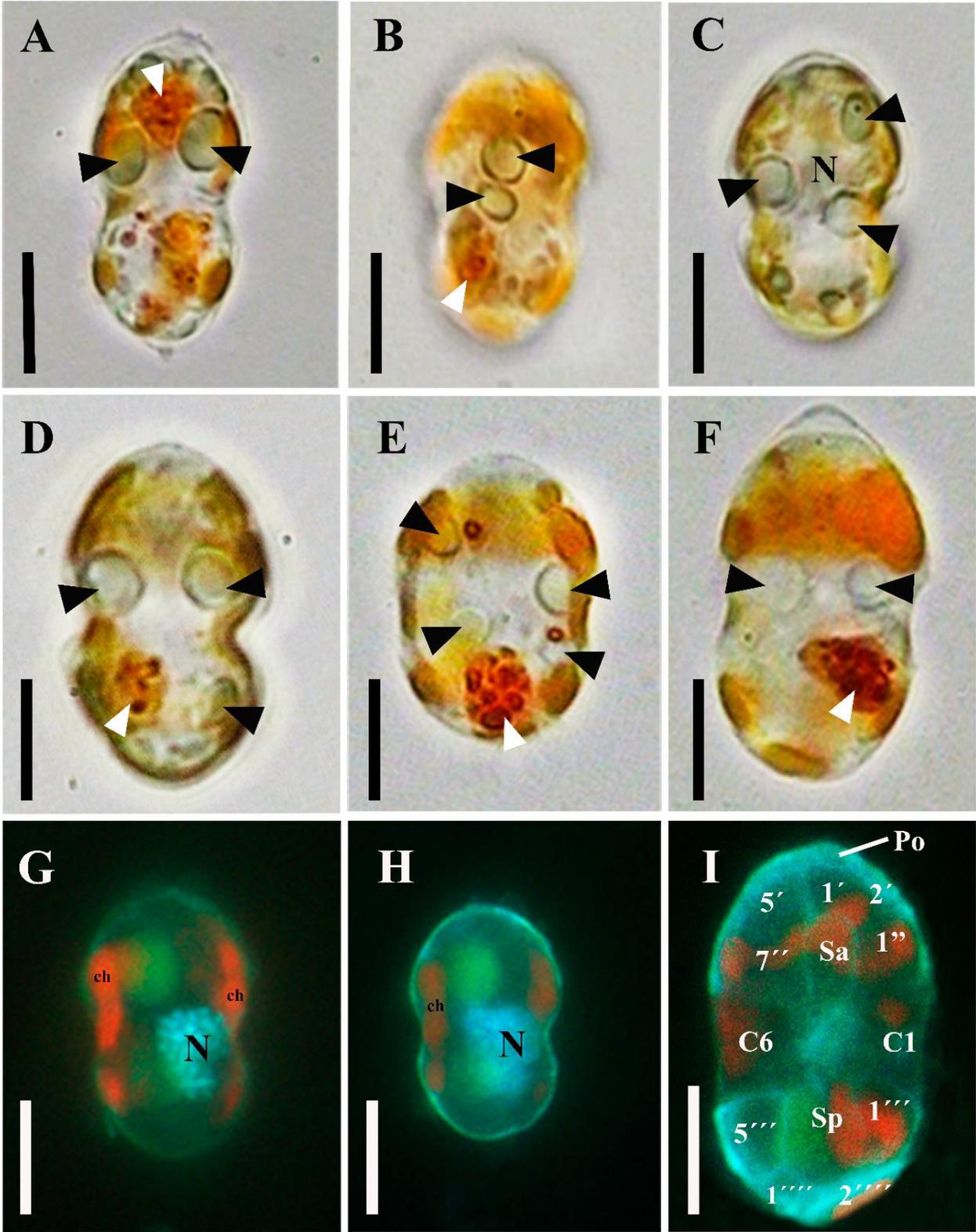
- Siano, R., Kooistra, W. H. C. F., Montresor, M., & Zingone, A. 2009. Unarmoured and thin-walled dinoflagellates from the Gulf of Naples, with the description of *Woloszynskia cincta* sp. nov. (Dinophyceae, Suessiales). *Phycologia* 48: 44-65.
- Simon, N. A. L., Cras, E., Foulon, R., & Lemée, R. 2009. Diversity and evolution of marine phytoplankton. *Comptes Rendus Biologies* 332: 159-170.
- Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* 22 (21): 2688-2690.
- Sunesen, I., Rodríguez, F., Tardivo Kubis, J. A., et al. 2020. Morphological and molecular characterization of *Heterocapsa claromecoensis* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae) from Buenos Aires coastal waters (Argentina). *European Journal of Phycology* 55 (4): 490-506.
- von Stein, F. R. 1883. Der Organismus der Infusionstiere. III Abt. In: II Halfte: Die Naturgeschichte der Arthrodelen Flagellaten. (Ed Engelmann VvW), Leipzig, pp. 1–30.
- Takahashi K., Moestrup Ø., Wada M., Ishimatsu A., Nguyen V.N., Fukuyo Y. & Iwataki M. 2017. *Dactylodinium pterobelotum* gen. et sp. nov., a new marine woloszynskioid dinoflagellate positioned between the two families Borghiellaceae and Suessiaceae. *Journal of Phycology* 53: 1223–1240.
- Tamayo, J. L. 1970. *Geografía Moderna de México*. Ed. Trillas. México, D.F., México. 390 pp.
- Taylor, F. J. R. 1982. Symbioses in marine microplankton. *Annales de l'Institut Océanographique* 8: 61-90.

- Taylor, F. J. R., Hoppenrath, M., & Saldarriaga, J. F. (2008). Dinoflagellate diversity and distribution. *Biodiversity and conservation*, 17, 407-418.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M., & Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution* 28 (10): 2731-2739.
- Tett, P., & Barton, E. D. 1995. Why are there about 5000 species of phytoplankton in the sea? *Journal of Plankton Research* 17: 1693-1704.
- Tillmann, U., Salas, R., Gottschling, M., Krock, B., O'Driscoll, D., & Elbrächter, M. 2012. *Amphidoma languida* sp. nov. (Dinophyceae) reveals a close relationship between *Amphidoma* and *Azadinium*. *Protist* 163 (5): 701-719.
- Tillmann, U., Hoppenrath, M., Gottschling, M., Kusber, W. H., & Elbrächter, M. 2017. Plate pattern clarification of the marine dinophyte *Heterocapsa triquetra* sensu Stein (Dinophyceae) collected at the Kiel Fjord (Germany). *Journal of Phycology* 53 (6): 1305-1324.
- Tillmann, U., Beran, A., Gottschling, M., Wietkamp, S., & Hoppenrath, M. 2022. Clarifying confusion—*Prorocentrum triestinum* J. Schiller and *Prorocentrum redfieldii* Bursa (Prorocentrales, Dinophyceae) are two different species. *European Journal of Phycology* 57 (2): 207-226.
- Wu, X., Liu, Y., Weng, Y., Li, L., & Lin, S. 2022. Isolation, identification and toxicity of three strains of *Heterocapsa* (Dinophyceae) in a harmful event in Fujian, China. *Harmful Algae* 120: 102355.

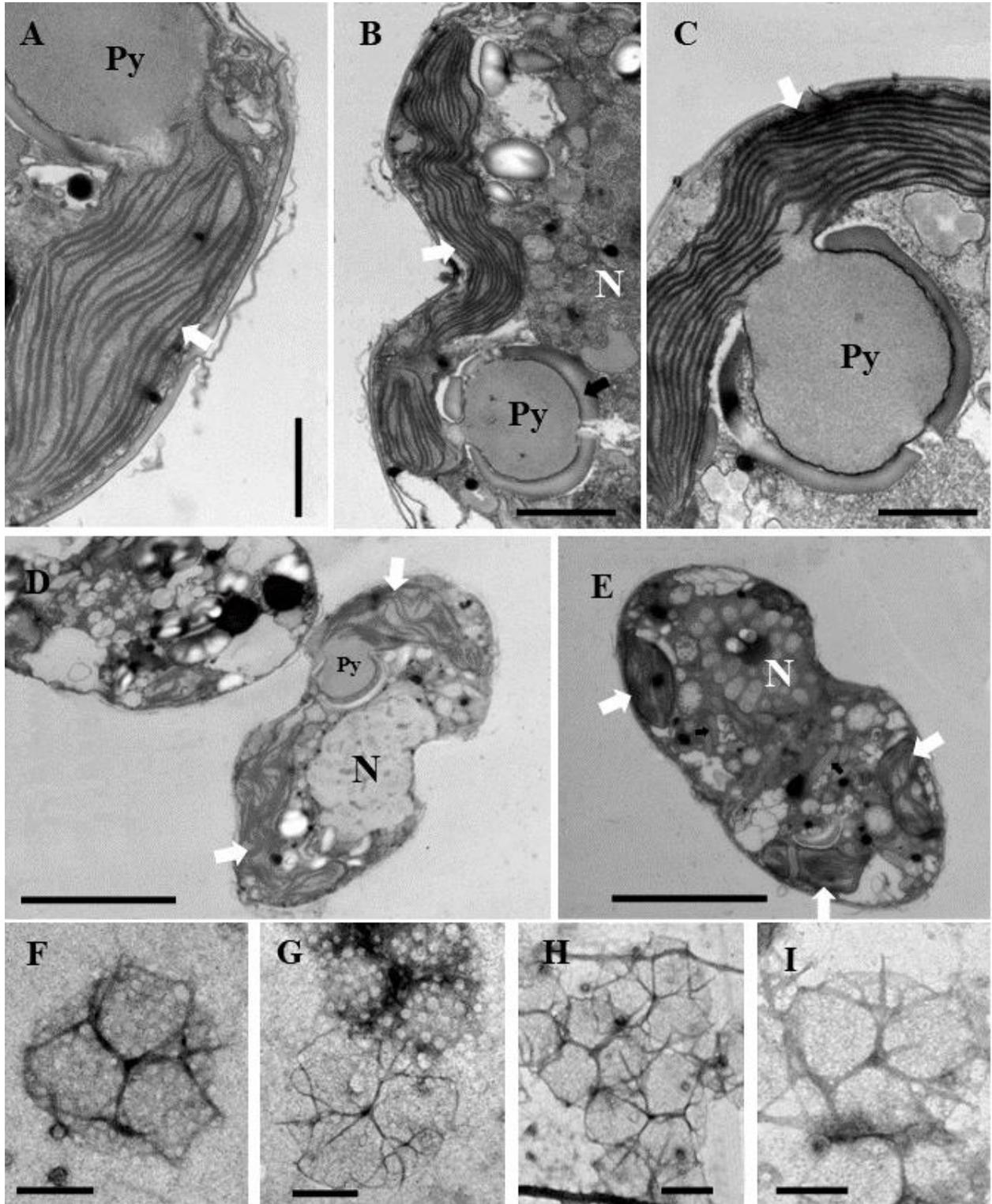
- Xiao, J., Sun, N. A., Zhang, Y., et al. 2018. *Heterocapsa bohaiensis* sp. nov. (Peridinales: Dinophyceae): a novel marine dinoflagellate from the Liaodong Bay of Bohai Sea, China. *Acta Oceanologica Sinica* 37 (10): 18–27.
- Yamamoto, C., & Tanaka, Y. 1990. Two species of harmful bloom plankton increased in Fukuoka Bay. *Bulletin of Fukuoka Prefectural Fisheries Experimental Station* 16: 43–44.
- Yang, X., Sun, N., Li, Y. 2015. Effects of two harmful species algae on reproduction of rotifer *Brachionus plicatilis* and metamorphosis of zoea of Chinese mitten-handed crab *Eriocheir sinensis*. *Journal of Dalian Ocean University* (in Chinese) 30 (4): 351–356.
- Yao, J., Fan, Y., Chen, Q., Chen, X., Deng, Y., Sun, Y., & Tang, Y. Z. 2024. Characterization of the Unarmored Dinoflagellate *Karlodinium decipiens* (Dinophyceae) from Jiaozhou Bay, China. *Diversity*, 16(8), 449.
- Yoshida, Y., & Miyamoto, M. 1995. Growth of *Heterocapsa circularisquama* population in Kusuura Bay and variation of diurnal motion of bloom in 1994. *Report of Kumamoto Prefectural Fisheries Research Center* 3: 31–35.
- Zingone, A., & Enevoldsen, H. O. 2000. The diversity of harmful algal blooms: a challenge for science and management. *Ocean & Coastal Management* 43 (8-9): 725-748.

Laminas

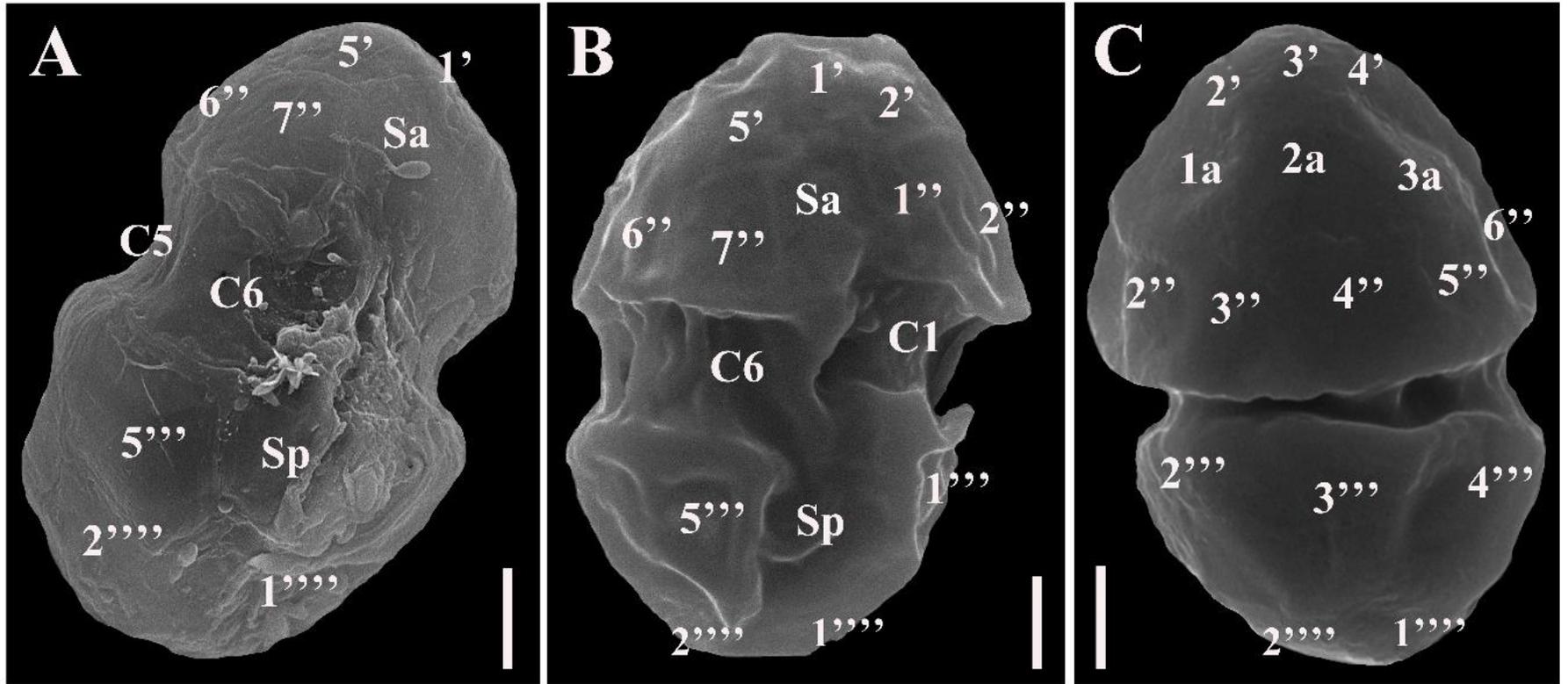
Lamina 1 A-I Micrografías de *Heterocapsa borneoensis*, microscopía óptica y de epifluorescencia. A-F. Células vivas que muestran el contorno general de la especie; se muestran los pirenoides (flechas negras) y los cuerpos rojos (flechas blancas). G-I. Células teñidas con calcoflúor y DAPI mostrando núcleo (N), cloroplasto (Cl) y algunas placas tecales en vista ventral. Barra de escala: 5µm



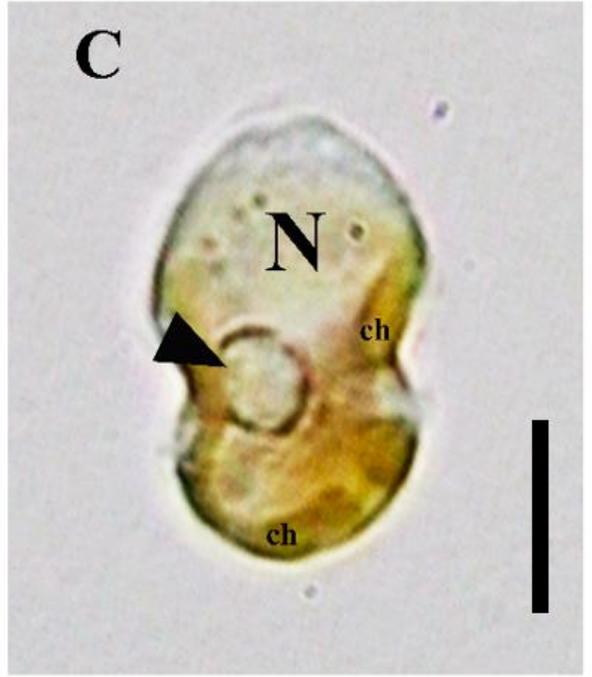
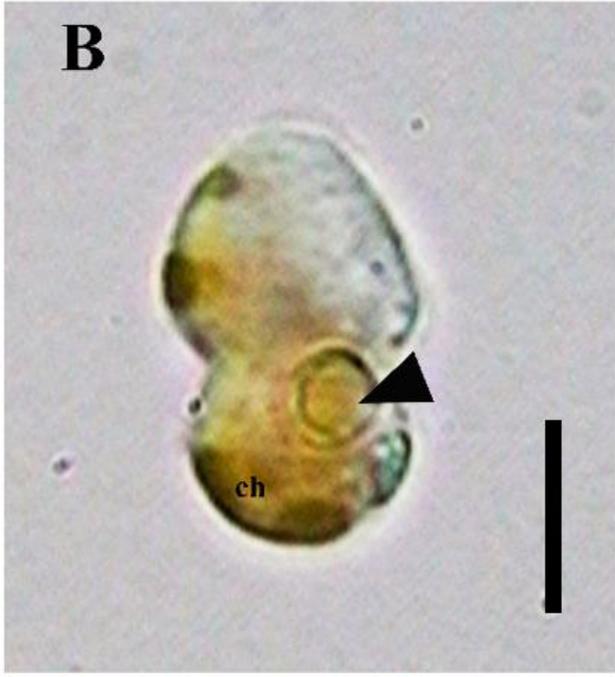
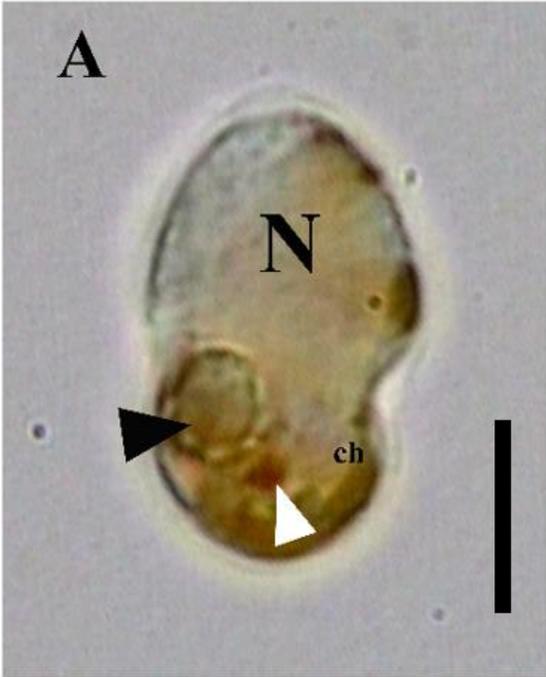
Lamina 2 A-I. Ultraestructura de *Heterocapsa borneoensis*, microscopía electrónica de transmisión. A, B, F. Sección longitudinal con núcleo (N), cloroplasto (ch), pirenoides (Py), grano de almidón (S) y mitocondria (m). C. Detalles de la conexión del pirenoide con el cloroplasto. D. Detalles del cloroplasto con los tilacoides apilados de tres en tres (flechas blancas). E. Tricocisto en sección longitudinal. G-J. Morfología de las escamas del cuerpo. Barras de escala A, F= 3 μm ; B= 2 μm ; C= 1 μm ; G-J= 200 nm.



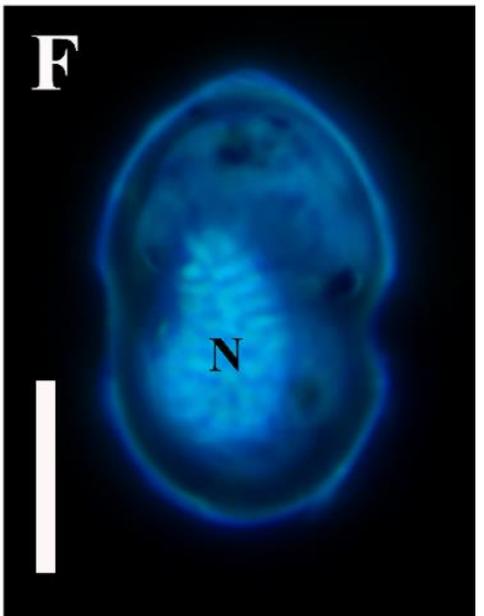
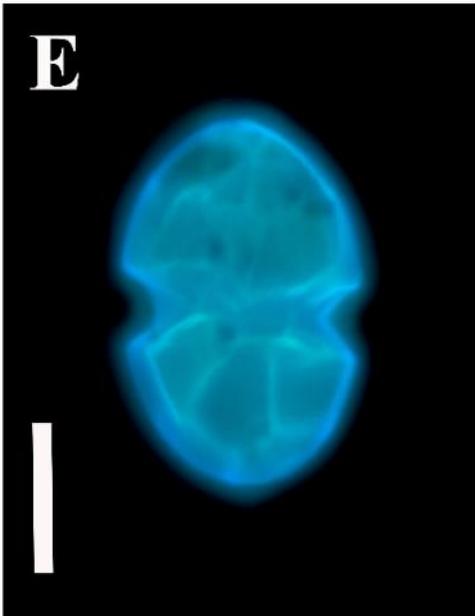
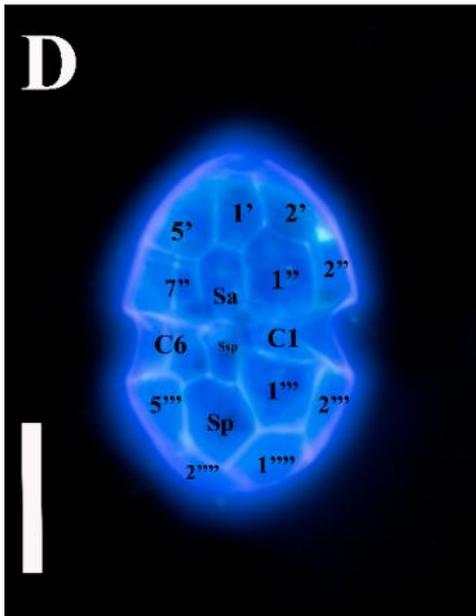
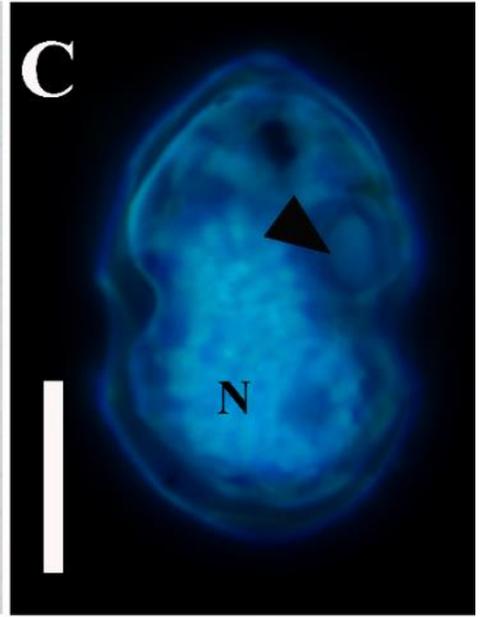
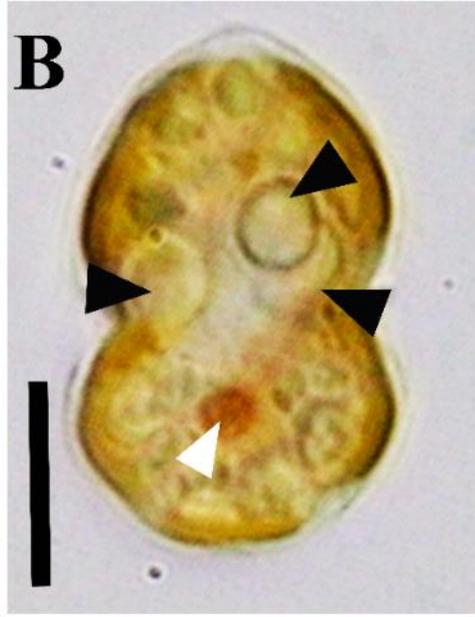
Lamina 3 A-C. Micrografías de *Heterocapsa borneoensis*, microscopía electrónica de barrido. A, B. Dos diferentes células en vista ventral, mostrando la forma y tamaño de las células, cingulo, surco y algunas placas relevantes. C. Célula en vista dorsal con algunas placas. Barra de escala= 2 μm .



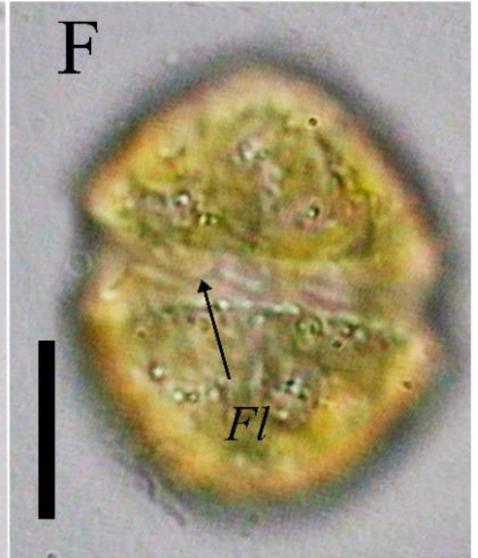
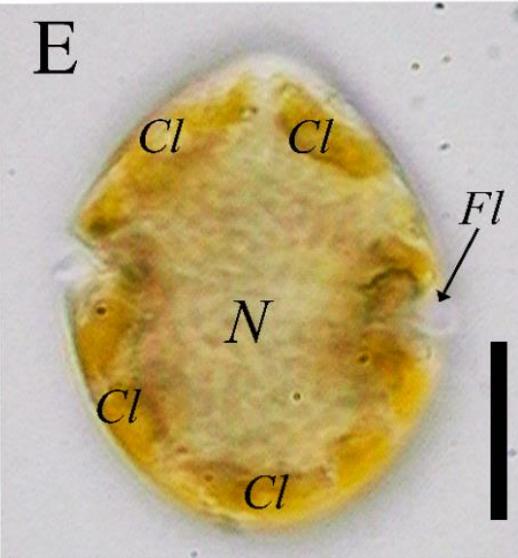
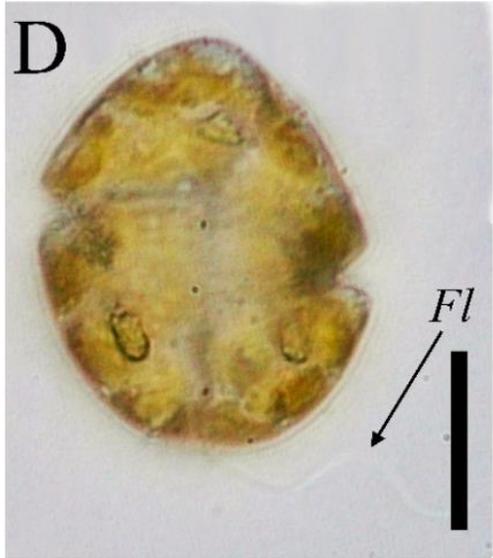
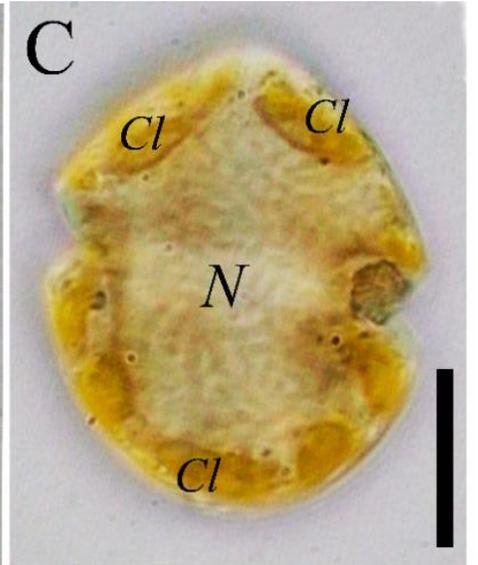
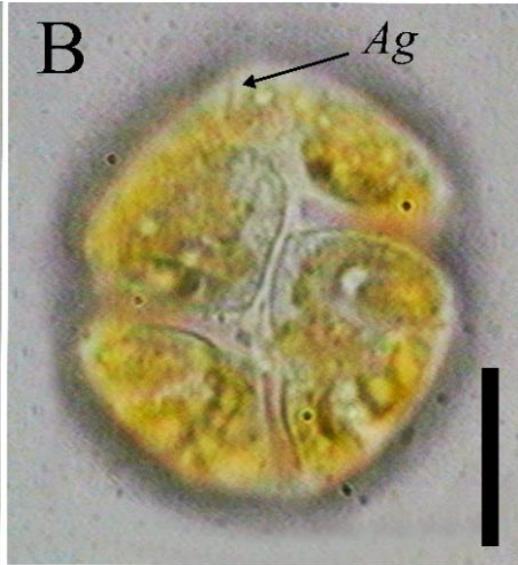
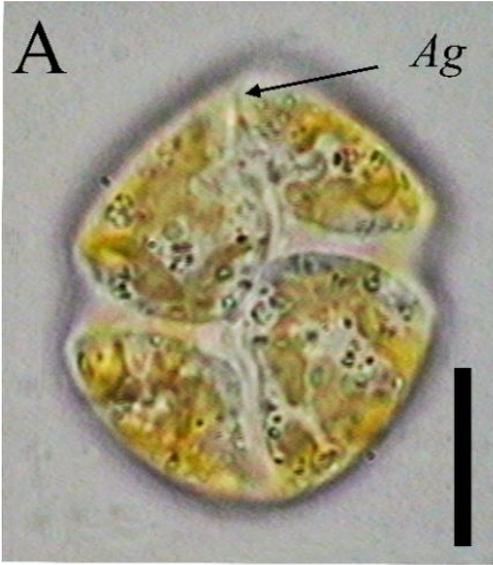
Lamina 4 A-C. Micrografías de *Heterocapsa iwataki*. Microscopía de luz. Células que muestran la forma general de la especie; se muestran los pirenoides (flechas negras), los cuerpos rojos (flecha blanca) y el cloroplasto (Ch). Núcleo esférico (N) en el episoma. Barras de escala A-C= 5 μ m.



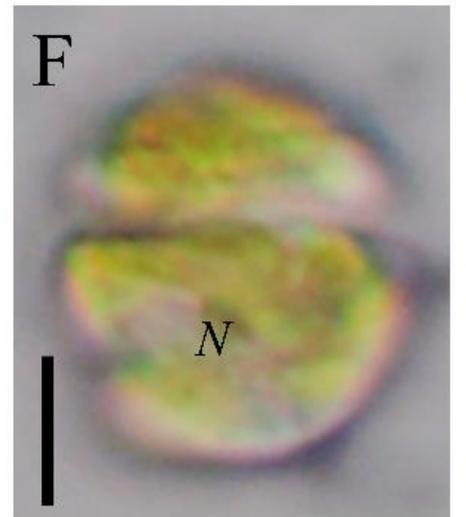
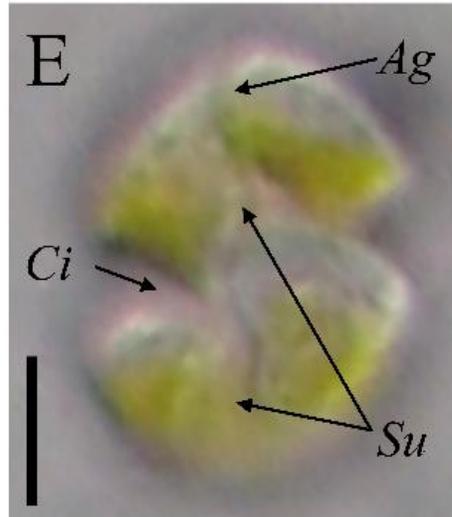
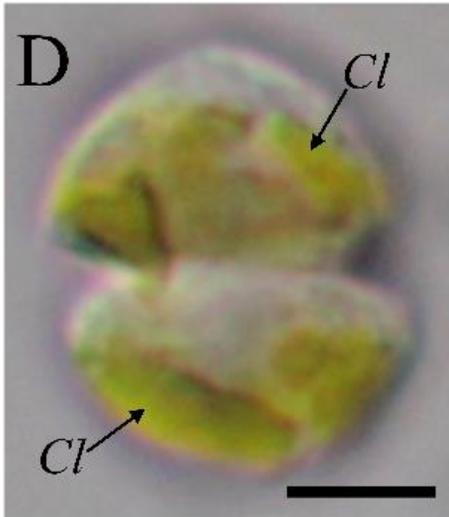
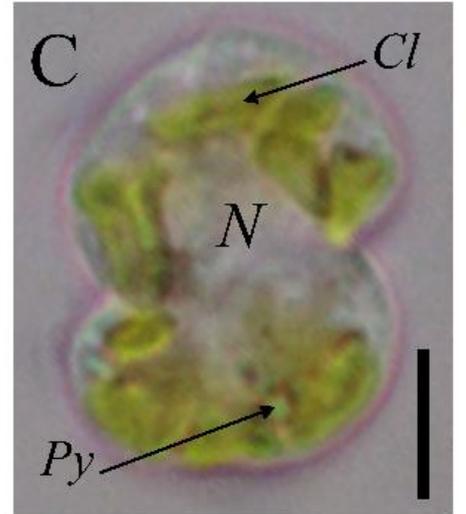
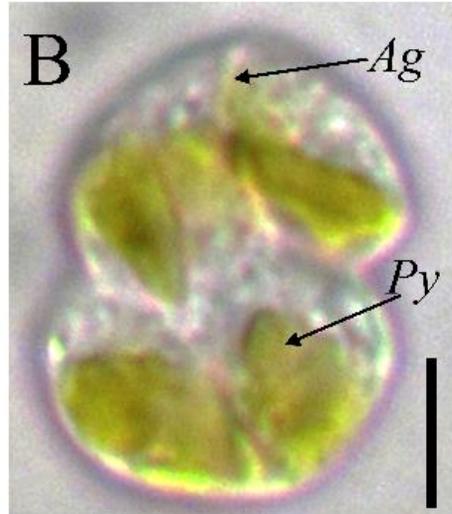
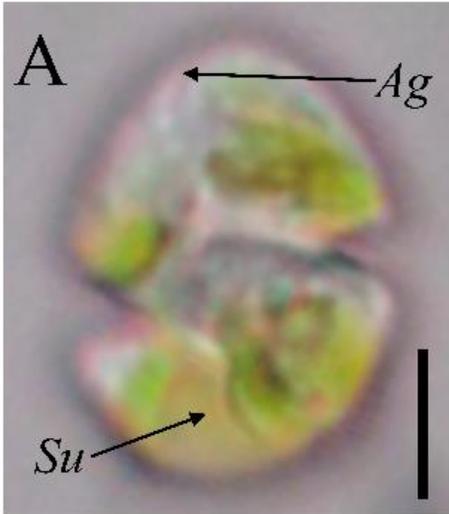
Lamina 5. A-F. Micrografías de *Heterocapsa* sp. A - B. microscopía óptica. Morfología general de células vivas con pirenoides (flechas negras) y cuerpos rojos (flechas blancas). C, F. Células fijadas en epifluorescencia con núcleo alargado (N). D. Patrón de placas en vista ventral. Barras de escala A-F= 5 μ m.



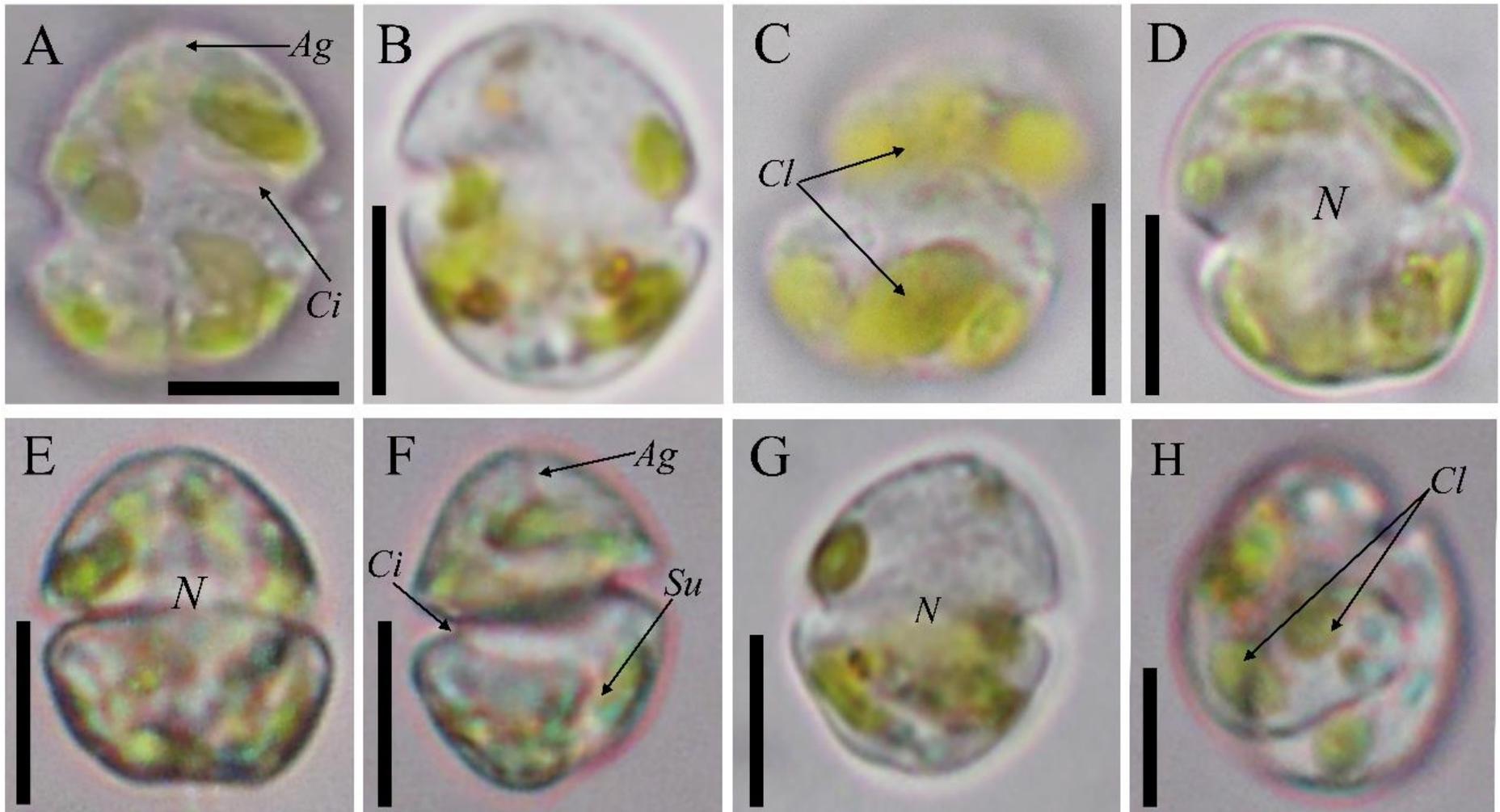
Lamina 6. Micrografías ópticas de *Karlodinium azanzae*. Células en vista ventral (A-B) y dorsal (C-F). Surco apical (Ag), Cloroplasto (Cl), Flagelo (Fl) y Núcleo (N). Barra de escala = 10 μm



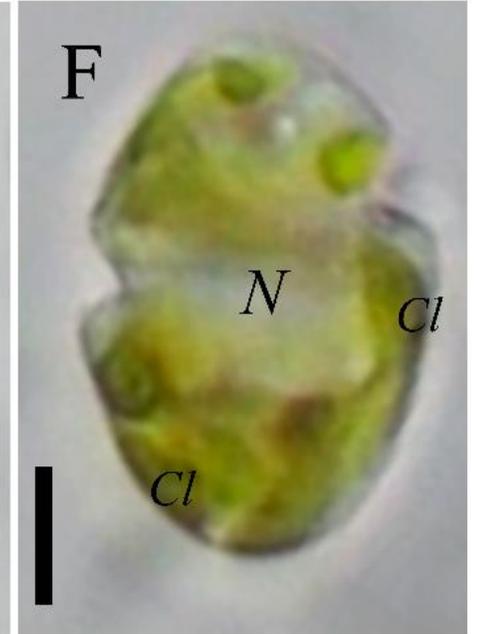
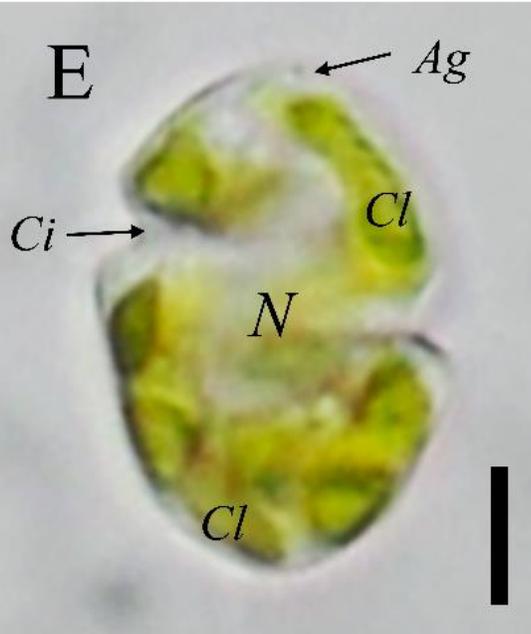
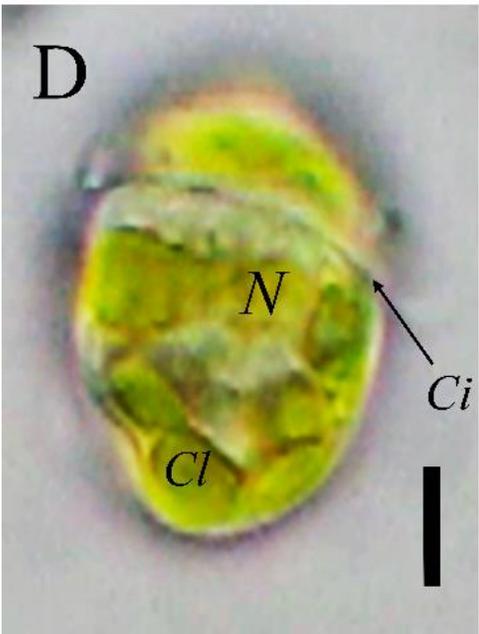
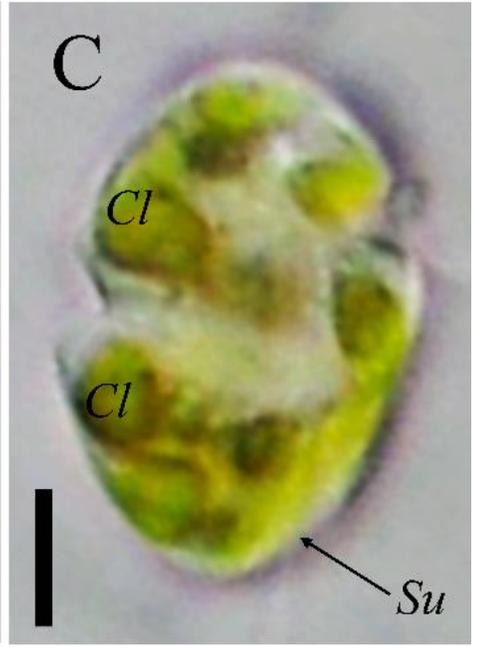
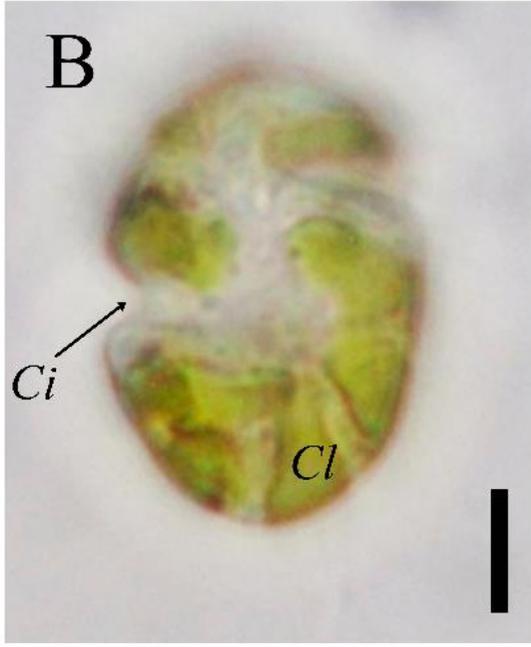
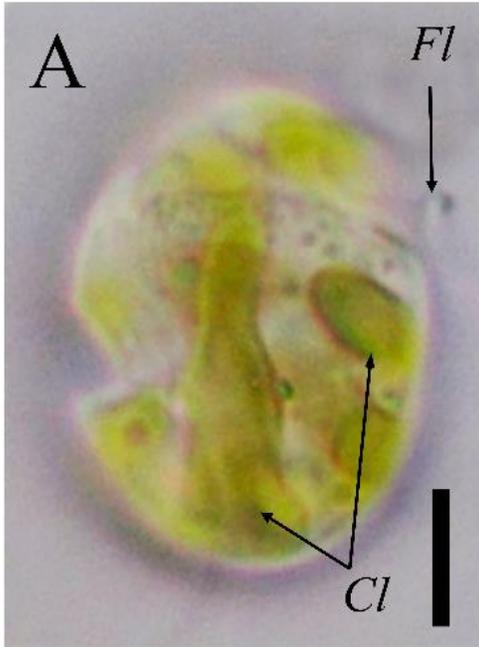
Lamina 7. (A-D) Micrografías de *Karlodinium ballatinum*. Células en vista ventral (A-B, E), dorsal (C-D) y lateral (F). Surco apical (Ag), Cíngulo (Ci), Cloroplasto (Cl), Núcleo (N) y Pirenoide (Py). Barra de escala = 5µm



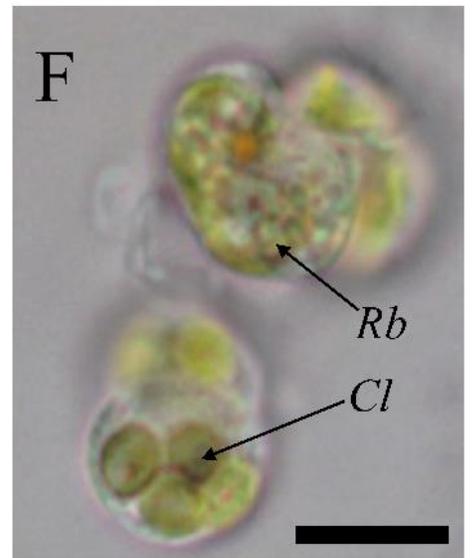
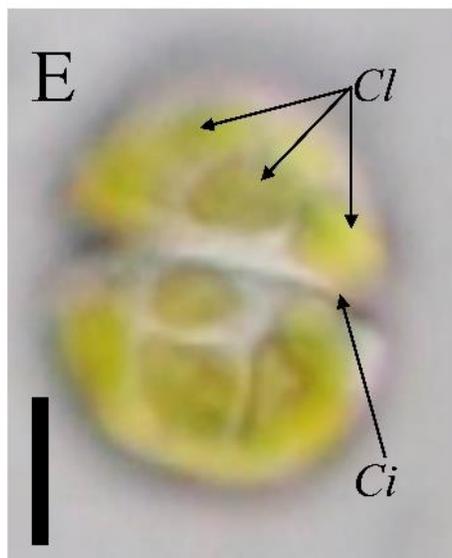
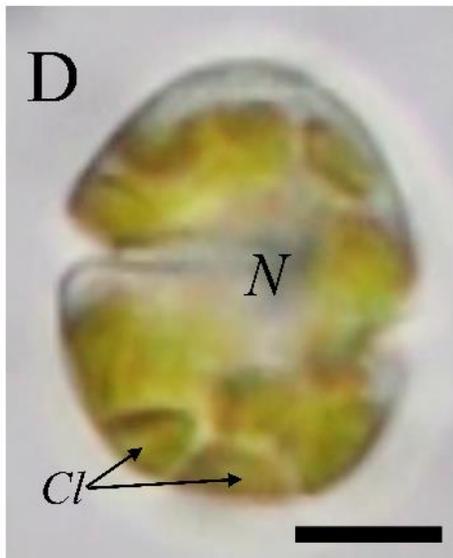
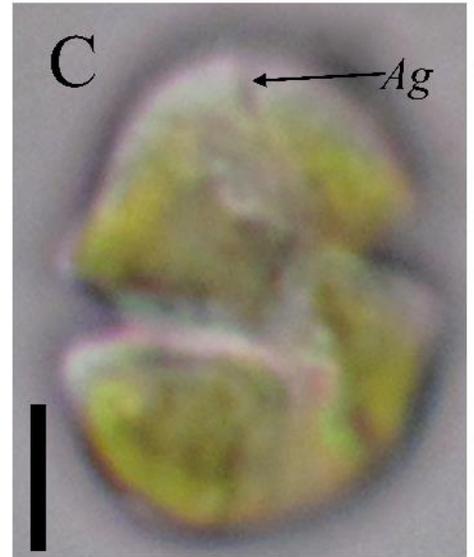
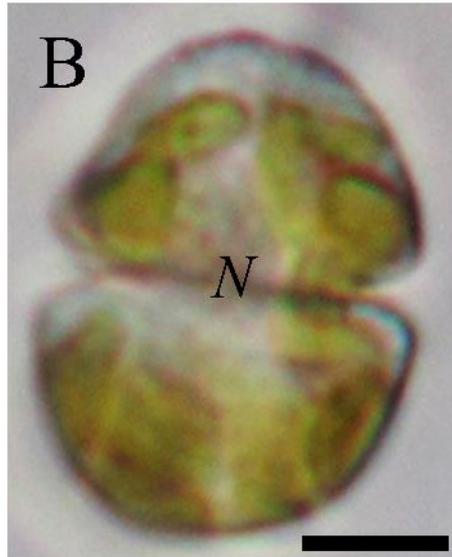
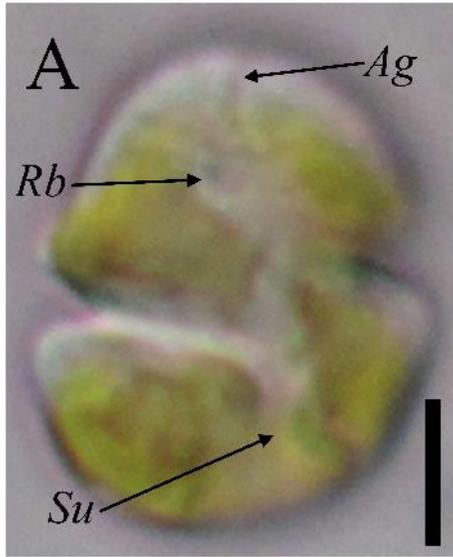
Lamina 8. Micrografías de *Karlodinium corsicum*. Células en vista ventral (A, F), dorsal (B-E, G) y antapical (H). Surco apical (Ag), Cíngulo (Ci), Cloroplasto (Cl), Núcleo (N) y Sulcus (Su). Barra de escala = 5 μ m.



Lamina 9. Micrografías de *Karlodinium decipiens* células en vista lateral (A, C-D), ventral (B) y dorsal (E-F). Surco apical (Ag), Cíngulo (Ci), Cloroplasto (Cl), Flagelo (Fl), Núcleo (N) y Sulcus (Su). Barra de escala = 5 μ m



Lamina 10. Micrografías de *Karlodinium gentienii*. Células en vista ventral (A, C), dorsal (B, D-E) y antapical (F). Surco apical (Ag), Cíngulo (Ci), Cloroplasto (Cl), Núcleo (N), Cuerpos refringentes (Rb), Sulcus (Su) y poro ventral (Vp). Barra de escala = 5 μ m.





Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00233

Matrícula: 2223803809

Caracterización morfológica y molecular de microalgas marinas planctónicas del Pacífico tropical mexicano con énfasis en diversidad y taxonomía.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 15:00 horas del día 24 del mes de octubre del año 2024 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

M. EN C. MARIA EUGENIA ZAMUDIO RESENDIZ
DR. FRANCISCO JOSE GUTIERREZ MENDIETA
DRA. LAURA GEORGINA CALVA BENITEZ
DRA. MARIA LUISA NUÑEZ RESENDIZ

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN BIOLOGÍA

DE: JOVANNY ARANA GARCIA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

Aprobar

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.



JOVANNY ARANA GARCIA
ALUMNO

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTOR DE LA DIVISION DE CBS

DR. JOSE LUIS GOMEZ OLIVARES

PRESIDENTA

M. EN C. MARIA EUGENIA ZAMUDIO RESENDIZ

VOCAL

DR. FRANCISCO JOSE GUTIERREZ MENDIETA

VOCAL

DRA. LAURA GEORGINA CALVA BENITEZ

SECRETARIA

DRA. MARIA LUISA NUÑEZ RESENDIZ