





Dinoflagelados epífitos de *Thalassia testudinum* en dos sistemas costeros del Caribe colombiano

Epiphytic dinoflagellates of *Thalassia testudinum* in two coastal systems of the Colombian Caribbean

Natalia Arbelaez M.¹, José Ernesto Mancera Pineda² y Beatriz Reguera³

 0000-0002-5162-0336

 0000-0003-2948-3387

 0000-0003-4582-9798

¹ Universidad Nacional de Colombia sede Caribe - Cecimar e Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - Invemar [Marine and Coastal Research Institute]. Calle 25 No. 2-55, Playa Salguero. Rodadero, Santa Marta, Colombia. natalia.arbelaez@invemar.org.co

² Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Carrera 45 No 26-85, Bogotá D.C. Colombia. jemancerap@unal.edu.co

³ Instituto Español de Oceanografía (IEO) [Spanish Institute of Oceanography], Centro Oceanográfico de Vigo [Oceanographic Centre of Vigo], Subida a Radio Faro 50, 36390 Vigo, España. beatriz.reguera@vi.ieo.es

RESUMEN

Los estudios sobre dinoflagelados epibentónicos potencialmente tóxicos han incrementado en los últimos años debido al aumento en el número de eventos perjudiciales atribuidos a algunas de estas microalgas. Tales eventos constituyen un riesgo para la salud humana y para diversas actividades económicas. Con el objetivo de confirmar la presencia de estos dinoflagelados en el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT), Caribe colombiano, se recolectaron mensualmente muestras del pasto marino *Thalassia testudinum* entre enero de 2014 y diciembre de 2015 en dos sistemas costeros (bahía y laguna) ubicados en la Bahía de Chengue (11 ° 20' N y 74 ° 07' W). Las hojas del pasto marino se tomaron manualmente, se depositaron en bolsas plásticas y se trasladaron al laboratorio para el desprendimiento de los dinoflagelados epibentónicos, mediante agitación vigorosa. Para identificar las especies observadas, se utilizaron tres tipos de microscopía (óptica, invertida con epifluorescencia y microscopía electrónica de barrido). Se observaron 14 especies de dinoflagelados epífitos potencialmente tóxicos, distribuidos en cuatro géneros (*Gambierdiscus*, *Coolia*, *Ostreopsis* y *Prorocentrum*). *Prorocentrum* fue el género más representativo, siendo *Ostreopsis* cf. *ovata*, *P. hoffmannianum* y *P. lima* las especies más frecuentes en la bahía, mientras que en la laguna fueron *Prorocentrum* sp. 1 y *P. rhathymum*. Este estudio describe las características principales de las especies observadas, considerando que la identificación precisa a nivel de especie es requerida para cualquier estudio ecológico que busque proporcionar elementos para la gestión de riesgos contra los efectos tóxicos o perjudiciales causados por dinoflagelados epibentónicos.

PALABRAS CLAVES: Dinoflagelados tóxicos, Caribe colombiano, FANs bentónicas, Pastos marinos.

ABSTRACT

Studies on potentially toxic epibenthic dinoflagellates have been increased in the last years due to growing number of harmful events attributed to some of these microalgae. These events represent a risk to human health, as well as to diverse economic activities. With the aim of confirming the presence of these dinoflagellates in Tayrona National Natural Park, Colombian Caribbean, monthly samples of the seagrass *Thalassia testudinum* were collected between January 2014 and December 2015 in two coastal systems (Bay and Lagoon) located in Chengue Bay (11°20' N and 74°07' W). Grass leaves were manually collected, placed in plastic bags with seawater and transferred to laboratory for detachment of epibenthic microalgae by vigorous shaking. To identify the species, three types of microscopy were used (optical, inverted with epifluorescence and scanning electron microscopy). Fourteen species of potentially toxic epiphytic dinoflagellates, distributed in four genera (*Gambierdiscus*, *Coolia*, *Ostreopsis* and *Prorocentrum*) were identified. *Prorocentrum* was the most representative genus. *Ostreopsis* cf. *ovata*, *P. hoffmannianum* and *P. lima* were the most frequent species in the Bay, whereas *Prorocentrum* sp. 1 and *P. rhathymum* were the most frequent in the Lagoon. This study depicts the main features of the observed species, considering that precise identification at species level is required for any ecological study that seeks to provide elements for risk management against the toxic or harmful effects caused by epibenthic dinoflagellates.

KEY WORDS: Toxic dinoflagellates, Colombian Caribbean, Benthic HABs, Seagrass.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas ha habido un incremento aparente en intoxicaciones de seres humanos y muerte de otros organismos asociado a la intensificación en las proliferaciones microalgales a nivel mundial (Hallegraeff *et al.*, 2004; Mancera-Pineda *et al.*, 2009). Los principales agentes de estos episodios son dinoflagelados planctónicos y epibentónicos (asociados a fanerógamas marinas, macroalgas, sedimentos y otros sustratos) productores de potentes toxinas (Hallegraeff *et al.*, 2004). A diferencia de las proliferaciones de células fitoplanctónicas, que pueden causar coloración del agua (mareas rojas), concentraciones incluso elevadas de dinoflagelados epibentónicos pueden pasar desapercibidas. No obstante, sus toxinas se acumulan en diversos organismos marinos (peces o moluscos), generando un riesgo a nivel de salud pública al ser consumidos por humanos (Álvarez, 1997, 1999; Gaitán, 2007).

Entre los principales dinoflagelados epibentónicos productores de toxinas se encuentran distintas especies pertenecientes a los géneros *Ostreopsis*, productor de ovatoxinas, palitoxinas y análogos de estas (Lenoir *et al.*, 2004; Brissard *et al.*, 2014) y responsables de irritaciones dérmicas y de las vías respiratorias (Gallitelli *et al.*, 2005; Tubaro *et al.*, 2011; Del Favero *et al.*, 2012; Ciminiello *et al.*, 2014); *Coolia*, productor de cooliatoxina (Holmes *et al.*, 1995; Rhodes *et al.*, 2000); *Prorocentrum*, causante de envenenamiento diarreico por ingesta de mariscos (DSP siglas en inglés), y *Gambierdiscus*. Este último es uno de los géneros de mayor potencial tóxico, pues algunas especies son capaces de producir gambiertoxinas y maitotoxinas, que se acumulan en peces arrecifales (ej. *Sphyaena barracuda*) y al ser consumidos por seres humanos, ocasionan el síndrome tóxico denominado “ciguatera” (Álvarez, 1997, 1999; Gaitán, 2007). Esta enfermedad genera problemas gastrointestinales, neurológicos y cardíacos recurrentes (Arcila-Herrera *et al.*, 2001; Vila *et al.*, 2001; Faust, 2009; Mancera-Pineda *et al.*, 2009).

La importancia del estudio de dinoflagelados epibentónicos radica en que no todas las especies de este grupo son productoras de toxinas, pero debido a la amplia variabilidad morfológica que presentan, es frecuente que se realicen identificaciones erróneas. Es fundamental la identificación certera y detallada de las especies, lo cual no es sencillo empleando métodos ópticos de baja resolución. Mediante el presente estudio se realiza la descripción de las principales especies de dinoflagelados potencialmente tóxicos presentes en las praderas de *Thalassia testudinum* en dos sistemas costeros del Caribe colombiano como contribución al conocimiento de estos organismos en la región.

INTRODUCTION

In recent decades, an apparent increase has occurred in human intoxication and death from organisms associated with the intensification of microalgal proliferation worldwide (Hallegraeff *et al.*, 2004; Mancera-Pineda *et al.*, 2009). The main agents of these episodes are planktonic and epibenthic dinoflagellates (associated with marine phanerogams, macroalgae, sediments and other substrates) that produce potent toxins (Hallegraeff *et al.*, 2004). Unlike phytoplankton cell proliferation, which can cause water coloration (red tides), even high concentrations of epibenthic dinoflagellates may go unnoticed. However, their toxins accumulate in various marine organisms (fish or mollusks), generating public health risk if consumed by humans (Alvarez, 1997, 1999; Gaitán, 2007).

Among the major toxin-producing epibenthic dinoflagellates are species belonging to the genera *Ostreopsis*, which is a producer of ovatoxins, palytoxin and their analogs (Lenoir *et al.*, 2004; Brissard *et al.*, 2014) and is responsible for dermal and airway irritation (Gallitelli *et al.*, 2005; Tubaro *et al.*, 2011; Del Favero *et al.*, 2012; Ciminiello *et al.*, 2014), *Coolia*, which is producer of cooliatoxin (Holmes *et al.*, 1995; Rhodes *et al.*, 2000), *Prorocentrum*, which causes diarrhetic shellfish poisoning (DSP), and *Gambierdiscus*. The latter genus has some of the highest toxic potential because some species are able to produce gambiertoxins and maitotoxins, which accumulate in reef fish (e.g., *Sphyaena barracuda*) and cause the toxic syndrome called “ciguatera” (Alvarez, 1997, 1999, Gaitán, 2007). This disease generates recurrent gastrointestinal, neurological and cardiac problems (Arcila-Herrera *et al.*, 2001, Vila *et al.*, 2001, Faust, 2009, Mancera-Pineda *et al.*, 2009).

The study of epibenthic dinoflagellates is important because although not all species of this group are producers of toxins, the species are frequently misidentified due to their wide morphological variability. The accurate and detailed identification of species is essential, which is not an easy task using low resolution optical methods. The present study describes the main species of potentially toxic dinoflagellates present in the seagrass beds of *Thalassia testudinum* in two coastal systems of the Colombian Caribbean as a contribution to the knowledge of these organisms in the region.

ÁREA DE ESTUDIO

Entre enero de 2014 y diciembre de 2015 se recolectaron muestras mensualmente en dos sistemas costeros de la bahía de Chengue, Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT) ($11^{\circ}20' N$ y $74^{\circ}08' W$), ubicada a 14 km al noreste de la ciudad de Santa Marta en el Caribe colombiano. El primer punto de muestreo se estableció en el interior de la bahía ($11^{\circ}19'07'' N$ y $74^{\circ}07'42'' W$) sobre la abundante pradera de *T. testudinum* y el segundo en la parte central de una laguna ubicada al sur de la bahía ($11^{\circ}19'01'' N$ y $74^{\circ}07'42'' W$) (Figura 1). La laguna, comunicada permanentemente con la bahía por un pequeño canal, está rodeada por una amplia franja de manglar y presenta algunos parches de macrófitas en su interior (Álvarez-León *et al.*, 1995; Rodríguez-Ramírez *et al.*, 2004).

STUDY AREA

Between January 2014 and December 2015, samples were collected monthly from two coastal systems in Chengue Bay, Tayrona National Natural Park (PNNT) ($11^{\circ} 20' N$ and $74^{\circ} 08' W$), which is located 14 km northeast of Santa Marta city in the Colombian Caribbean. The first sampling point was established in the interior of the bay ($11^{\circ} 19'07'' N$ and $74^{\circ} 07'42'' W$) on the abundant *T. testudinum* bed, and the second was established in the central part of a lagoon located in the southern part of the bay ($11^{\circ} 19'01'' N$ and $74^{\circ} 07'42'' W$) (Figure 1). The lagoon, which is permanently connected with the bay by a small channel, is surrounded by a wide margin of mangrove swamp and has some patches of macrophytes in its interior (Álvarez-León *et al.*, 1995; Rodríguez-Ramírez *et al.*, 2004).

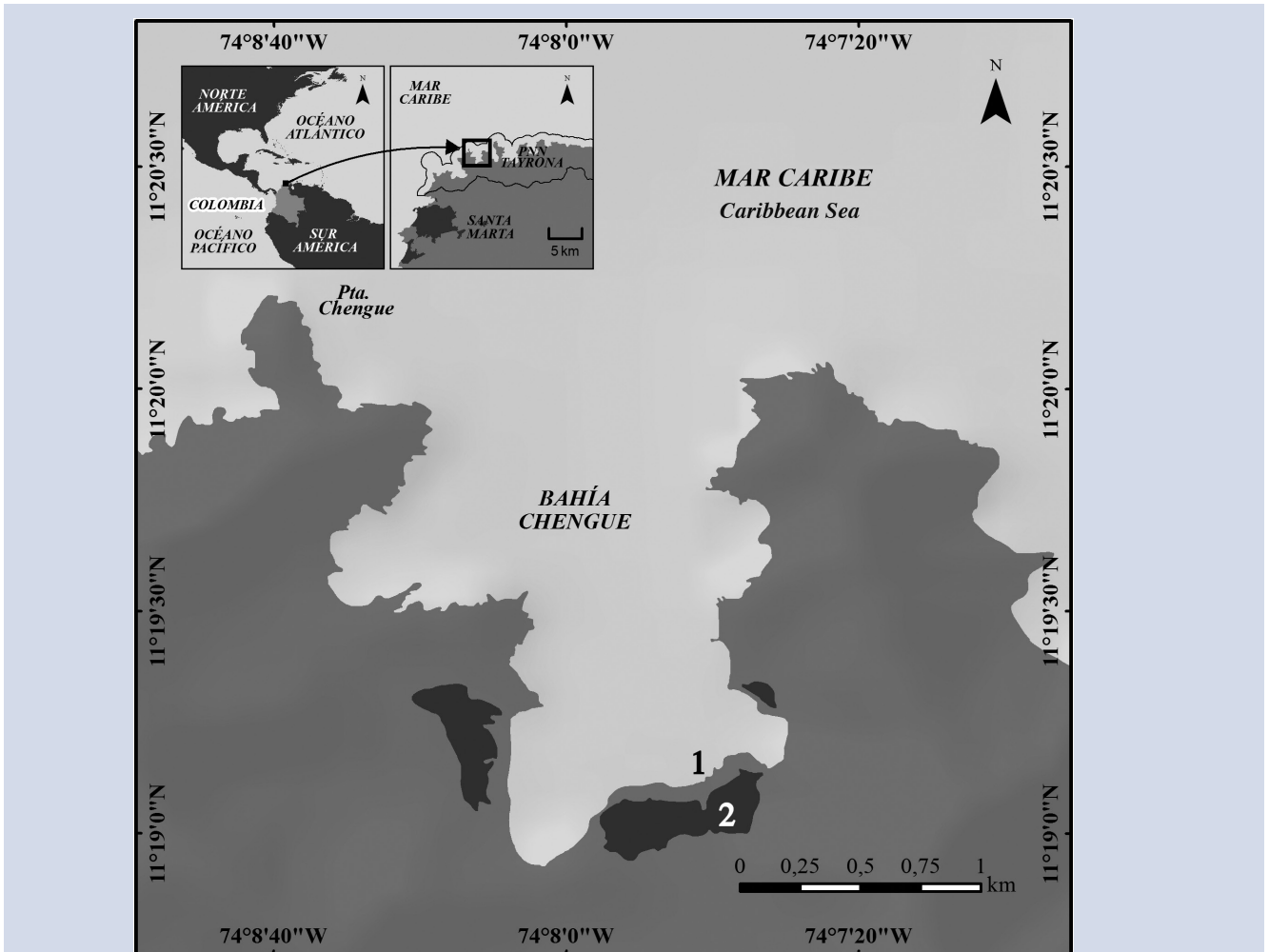


Figura 1. Área de estudio y localización de los puntos de muestreo en la bahía de Chengue (1) Bahía y (2) Laguna de Chengue, Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano.

Figure 1. Studied area, showing sampling stations in Chengue Bay: (1) Bay and (2) Lagoon.

MATERIALES Y MÉTODOS

En cada estación se removieron manualmente hojas de la fanerógama *Thalassia testudinum* (de 80 a 100 g) a una profundidad menor de 1 m y un área inferior a 10 m². Las hojas se halaban suavemente para evitar el desprendimiento de los organismos adheridos y se introdujeron en bolsas con cierre hermético (Ziploc®) teniendo precaución de no dejar ingresar gran cantidad de agua de mar circundante. Una vez en el laboratorio se adicionó agua de mar previamente filtrada a las bolsas y se agitaron vigorosamente durante dos minutos para desprender los dinoflagelados adheridos a la fanerógama. A continuación se extrajeron las hojas y toda el agua presente se filtró por un tamiz de 200 μm para eliminar los residuos de gran tamaño. Cada muestra se depositó en un vaso de precipitado de 1000 ml y se filtró nuevamente por un tamiz de 20 μm . El material contenido en el último tamiz (fracción de 200 a 20 μm) se lavó con agua de mar filtrada con ayuda de un frasco lavador y se almacenó en un frasco plástico rotulado al que se añadió formol a una concentración final de 4% , para fijar la muestra (Reguera *et al.*, 2011).

La identificación y medición de los dinoflagelados se llevó a cabo empleando un microscopio óptico de luz Carl Zeiss Primo Star con cámara AxioCam ERc 5s y el programa de análisis de imagen AxioVision 4.8.2. Las células se montaron en portaobjetos, aplicando una gota de hipoclorito para limpiar y separar sus placas tecaes ejerciendo un poco de presión sobre el cubreobjetos. Las imágenes con epifluorescencia se obtuvieron mediante un microscopio invertido Nikon Eclipse TS100, luego de aplicar una gota de calcoflúor para teñir las placas (Fritz y Trimer, 1985) y observar la muestra bajo un filtro de luz UV (Reguera *et al.*, 2011).

El análisis micromorfológico de las células se realizó mediante un microscopio electrónico de barrido (MEB) Jeol JSM 6360LV. Para preparar las muestras se depositaron de tres a cinco gotas de ésta concentrada sobre un filtro de policarbonato Whatman de 5 μm , la sal presente se eliminó mediante lavados sucesivos con agua de mar filtrada diluida con agua destilada en diferentes concentraciones (10, 20, 30, 50, 80, 90 y 100%) pasando por el filtro, con un intervalo de 10 min entre lavados. A continuación se realizó la deshidratación de las células empleando etanol diluido hasta alcanzar la concentración máxima (5, 15, 30, 50, 70 y 95%), nuevamente con pausas de 10 min entre concentraciones sucesivas. Los filtros con

MATERIALS AND METHODS

At each station, leaves of the phanerogam *Thalassia testudinum* (80 to 100 g) were removed manually at a depth of less than 1 m and over an area of less than 10 m². The leaves were pulled gently to prevent the release of the attached organisms and placed in sealed bags (Ziploc®). Care was taken to not allow large amounts of surrounding sea water into the bags. Once in the laboratory, pre-filtered sea water was added to the bags and vigorously shaken for two minutes to remove the dinoflagellates attached to the phanerogam. Then, the leaves were extracted, and all the water present was filtered through a 200- μm sieve to remove large residues. Each sample was placed in a 1000-ml beaker and refiltered through a 20- μm sieve. The material contained in the last sieve (200 to 20 μm fraction) was washed with filtered sea water with a wash bottle and stored in a labeled plastic bottle to which formaldehyde was added at a final concentration of 4% to fix the sample (Reguera *et al.*, 2011).

The identification and measurement of dinoflagellates were conducted using a Carl Zeiss Primo Star light microscope with an AxioCam ERc 5s camera and the AxioVision 4.8.2 image analysis program. The cells were mounted on slides, and a drop of hypochlorite was applied to clean and separate their thecal plates by exerting some pressure on the coverslip. The epifluorescence images were obtained with a Nikon Eclipse TS100 inverted microscope after applying a drop of calcofluor to dye the plates (Fritz and Trimer, 1985), and the samples were observed under a UV light filter (Reguera *et al.*, 2011).

Micromorphological analysis of the cells was performed using the Jeol JSM 6360LV scanning electron microscope (SEM). To prepare the samples, three to five drops of this concentrate were deposited onto a 5- μm Whatman polycarbonate filter. Salt was removed by successive washes with filtered sea water diluted with distilled water in different concentrations (10, 20, 30, 50, 80, 90 and 100%) through the filter with an interval of 10 min between washes. The cells were dehydrated using diluted ethanol to reach the maximum concentration (5, 15, 30, 50, 70 and 95%) with 10 min pauses between successive concentrations. The filters with the organisms were mounted on small metal aluminum specimen holders that were placed in an oven at 50 °C for 24 h to remove the humidity. Finally, the samples were metallized with gold-palladium in a Sputtering Polaron E5000 metallizer for 5 min under an argon gas atmosphere and a metallization stream of 20 mA. The gold-palladium layer did not exceed 250 Å.

los organismos se montaron sobre pequeños portamuestras de aluminio metálico y para eliminar la humedad, se introdujeron en una estufa a 50 °C por 24 h. Finalmente se realizó la metalización de las muestras con oro-paladio, en un metalizador Sputtering Polaron E5000 por 5 min, bajo una atmósfera de gas argón y una corriente de metalización de 20 mA. Se procuró que la capa de oro-paladio no superara los 250 Å.

Para confirmar la identificación de las especies se emplearon los documentos de Fukuyo (1981), Besada *et al.* (1982), Faust *et al.* (1999), Penna *et al.* (2005), Mohammad-Noor *et al.* (2007), Litaker *et al.* (2009), Hoppenrath *et al.* (2014) y Almazán-Becerril *et al.* (2015). Siguiendo lo recomendado por Fraga *et al.* (2011), se empleó el sistema de tabulación de Kofoid modificado, descrito por Besada *et al.* (1982) para nombrar las placas de los géneros *Coolia*, *Gambierdiscus* y *Ostreopsis*, empleando la fórmula tecal Po, 4', 6'', 5''', 2'''' en los tres casos, teniendo en cuenta que está basada en características homólogas y representa la afinidad con otros géneros, considerando la fisión celular y la superposición de algunas placas. Para el caso del género *Prorocentrum*, se emplean los términos sugeridos por Hoppenrath *et al.* (2013) para referirse a la orientación celular y a la nomenclatura de sus características morfológicas.

Cabe resaltar que la toxicidad de los organismos observados en el presente estudio no ha sido determinada. Sin embargo, la mayoría de las especies descritas han sido registradas en otras zonas como productoras de toxinas que afectaron a diversos organismos, incluyendo seres humanos (Yasumoto *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1989; Holmes *et al.*, 1991, 1995; Morton y Bomber, 1994; Rhodes *et al.*, 2000; Delgado, 2005; Delgado *et al.*, 2005; An *et al.*, 2010; Tichadou *et al.*, 2010, Ciminiello *et al.*, 2011, 2014; Tubaro *et al.*, 2011; Gorbi *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2012; Holland *et al.*, 2013; Brissard *et al.*, 2014; Lewis *et al.*, 2016).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES

Se observaron un total de 14 especies de dinoflagelados potencialmente tóxicos asociados a las hojas de *T. testudinum*, pertenecientes a dos órdenes, tres familias y cuatro géneros. Entre los géneros presentes, *Prorocentrum* fue el más representativo durante el muestreo, con un aporte de 50% en el número de especies, lo que coincide con lo registrado en estudios previos en otras partes del Caribe (Valerio y Díaz, 2008; Almazán-Becerril *et al.*, 2015), seguido por *Ostreopsis*

The documents of Fukuyo (1981), Besada *et al.* (1982), Faust *et al.* (1999), Penna *et al.* (2005), Mohammad-Noor *et al.* (2007), Litaker *et al.* (2009), Hoppenrath *et al.* (2014) and Almazán-Becerril *et al.* (2015) were used to confirm the species identities. Following the recommendations of Fraga *et al.* (2011), the modified Kofoid tabulation system described by Besada *et al.* (1982) was used to name the plates of genera *Coolia*, *Gambierdiscus* and *Ostreopsis* using the thecal formula Po, 4', 6'', 5''', 2'''' in the three cases. This system is based on homologous characteristics and represents the affinities with other genera by considering the cellular fission and the superposition of some of the plates. For genus *Prorocentrum*, the terms suggested by Hoppenrath *et al.* (2013) were used to refer to the cellular orientation and the nomenclature of its morphological characteristics.

It must be noted that the toxicity of the organisms observed in the present study was not determined. However, most of the described species were recorded to produce toxins in other areas that affected several organisms, including humans (Yasumoto *et al.*, 1987; Lee *et al.*, 1989; Holmes *et al.*, 1991, 1995; Morton and Bomber, 1994; Rhodes *et al.*, 2000; Delgado, 2005; Delgado *et al.*, 2005; An *et al.*, 2010; Tichadou *et al.*, 2010, Ciminiello *et al.*, 2011, 2014; Tubaro *et al.*, 2011; Gorbi *et al.*, 2012; Nascimento *et al.*, 2012; Holland *et al.*, 2013; Brissard *et al.*, 2014; Lewis *et al.*, 2016).

RESULTS AND DISCUSSION

SPECIES DESCRIPTION

A total of 14 species of potentially toxic dinoflagellates associated with the leaves of *T. testudinum* were observed; these species belonged to two orders, three families and four genera. Among the genera present, *Prorocentrum* was the most representative during sampling, with a contribution of 50% of the species, which coincided with previous studies in other parts of the Caribbean (Valerio and Díaz, 2008; Almazán-Becerril *et al.*, 2015), followed by *Ostreopsis* with 21%. The numbers of species were similar between the two systems, with a difference of two more species in the bay. However, these differences were more evident in terms of composition. For instance, *Coolia* cf. *malayensis*, *Coolia* sp., *Ostreopsis* cf. *lenticularis* and *Prorocentrum emarginatum* were only observed in the bay, whereas *Gambierdiscus* sp. and *Prorocentrum* sp. 2 were found only in the lagoon (Table 1).

In the bay, *Prorocentrum lima*, *P. hoffmannianum* and *Ostreopsis* cf. *ovata* were considered frequent species

con 21%. El número de especies fue similar entre ambos sistemas, con una diferencia de dos especies más en la bahía. Sin embargo, estas diferencias fueron más evidentes en términos de composición: *Coolia* cf. *malayensis*, *Coolia* sp., *Ostreopsis* cf. *lenticularis* y *Prorocentrum emarginatum* sólo se observaron en la bahía, mientras que *Gambierdiscus* sp. y *Prorocentrum* sp. 2 se encontraron únicamente en la laguna (Tabla 1).

Tabla 1. Presencia-ausencia y frecuencia (%) de las especies presentes en las 48 muestras de *Thalassia testudinum* obtenidas en la bahía y la laguna de Chengue entre enero de 2014 y diciembre de 2015.

Especie / Species	Estaciones / Stations	
	Bahía / Bay	Laguna / Laguna
<i>Gambierdiscus</i> cf. <i>caribaeus</i>	4	13
<i>Gambierdiscus</i> sp.	0	4
<i>Coolia</i> cf. <i>malayensis</i>	67	0
<i>Coolia</i> sp.	8	0
<i>Ostreopsis</i> cf. <i>ovata</i>	100	13
<i>Ostreopsis</i> cf. <i>lenticularis</i>	58	0
<i>Ostreopsis</i> sp.	83	33
<i>Prorocentrum hoffmannianum</i>	100	25
<i>Prorocentrum lima</i>	100	46
<i>Prorocentrum emarginatum</i>	42	0
<i>Prorocentrum rhathymum</i>	8	71
<i>Prorocentrum</i> cf. <i>concovum</i>	29	4
<i>Prorocentrum</i> sp. 1	4	79
<i>Prorocentrum</i> sp. 2	0	17

En la bahía, *Prorocentrum lima*, *P. hoffmannianum* y *Ostreopsis* cf. *ovata* se consideraron especies frecuentes, teniendo en cuenta su aparición en todas las muestras durante ambos años, mientras que *Coolia* sp., *Gambierdiscus caribaeus*, *Prorocentrum rhathymum* y *Prorocentrum* sp. 1 se observaron ocasionalmente. En contraste, *Prorocentrum* sp. 1 fue la especie más frecuente (79.17%) en la laguna, seguida de *P. rhathymum* (70.83%), mientras que *Gambierdiscus* sp. y *P. cf. concavum* fueron esporádicas (Tabla 1). A continuación se describen las especies encontradas.

***Gambierdiscus* cf. *caribaeus* Vandersea, Litaker, Faust, Kibler, Holland y Tester, 2009.**

Descripción: Célula grande (longitud dorso-ventral: $82.7 \pm 4.3 \mu\text{m}$; transdiámetro $81.2 \pm 6.7 \mu\text{m}$; $n = 4$). Presenta una forma semicircular tanto en vista apical como antapical, con un sulcus notorio (Figura 2 A, B y F). En

based on their appearances in all samples collected during both years, whereas *Coolia* sp., *Gambierdiscus* cf. *caribaeus*, *Prorocentrum rhathymum* and *Prorocentrum* sp. 1 were observed occasionally. In contrast, *Prorocentrum* sp. 1 was the most frequent species (79.17%) in the lagoon, followed by *P. rhathymum* (70.83%), whereas *Gambierdiscus* sp. and *P. cf. concavum* were found sporadically (Table 1). The species found are described below.

Table 1. Presence-absence and frequency (%) of the main species occurring in the 48 *Thalassia testudinum* samples obtained in Chengue Bay and Laguna between January 2014 and December 2015.

***Gambierdiscus* cf. *caribaeus* Vandersea, Litaker, Faust, Kibler, Holland and Tester, 2009.**

Description: Large cell (dorsoventral length: $82.7 \pm 4.3 \mu\text{m}$; transdiameter: $81.2 \pm 6.7 \mu\text{m}$; $n = 4$). The cell has a semicircular shape in both the apical and antapical views with a noticeable sulcus (Figure 2A, B and F). The U-shaped sulcus in the antapical view is deep and narrow (Figure 2B). The body is slightly compressed in the anteroposterior direction (Figure 2E). The surface is dense with small pores (Figure 2G). Plate 2' is rectangular (length: $47 \mu\text{m}$, width: $20\text{-}25 \mu\text{m}$, Figure 2C), and plate 2'' is pentagonal and wide (length: $50 \mu\text{m}$, width: $37 \mu\text{m}$, Figure 2B and D). Based on the observed structures, especially the shapes of plates 2' and 2'', and the descriptions by Litaker *et al.* (2009), Jeong *et al.* (2012) and Hoppenrath *et al.* (2014), the characteristics of the species coincide with those of *G. caribaeus*, although the

vista antapical el sulcus es profundo y estrecho en forma de U (Figura 2 B). Cuerpo ligeramente comprimido en sentido anteroposterior (Figura 2 E). Superficie densamente provista de pequeños poros (Figura 2 G). Placa 2' rectangular (largo: 47 μm ; ancho: 20-25 μm ; Figura 2 C), placa 2'''' pentagonal, ancha (largo: 50 μm ; ancho: 37 μm ; Figura 2 B y D). Según las estructuras observadas, en particular la forma de las placas 2' y 2''', siguiendo las descripciones realizadas por Litaker *et al.* (2009), Jeong *et al.* (2012) y Hoppenrath *et al.* (2014), las características de la especie coinciden con las de *G. caribaeus*, aunque las células del presente estudio exhibieron un tamaño algo mayor respecto al descrito por Litaker *et al.* (2009).

cells of the present study were somewhat larger than those described by Litaker *et al.* (2009).

Habitat: Usually circumtropical, commonly benthic, associated with various substrates including macroalgae, seagrass, sand and dead coral in protected areas of the waves and away from continental water inputs (Faust, 1995; Hallegraeff *et al.*, 2004; Tester *et al.*, 2014). In case of disturbances, the organisms can swim by moving short distances (Hallegraeff *et al.*, 2004).

Toxicity: Some species of the *Gambierdiscus* genus are the main producers of gambiertoxin and maitotoxin, which are toxins that cause ciguatera

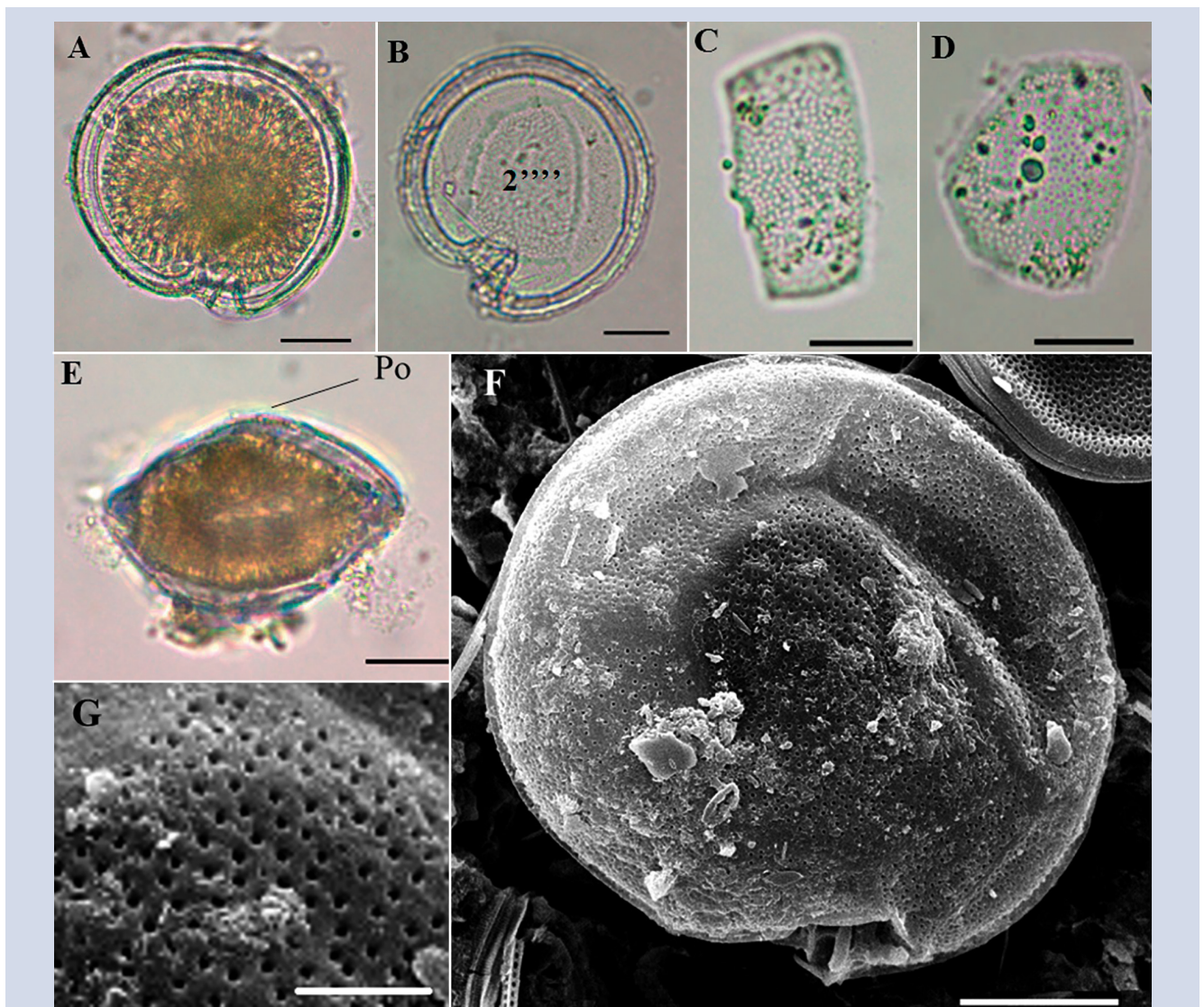


Figura 2. Micrografías de *Gambierdiscus* sp1 al microscopio óptico (A-E) y microscopio electrónico de barrido (F-G). A-B. Célula en vista antapical. C. Segunda placa apical (2'). D. Segunda placa antapical (2'''). E. Vista lateral. F. Vista antapical en MEB. G. Detalle de los poros que recubren la célula. Po: Poro apical. Barra de escala (A-F) = 20 μm , (G) = 5 μm .

Figure 2. Micrographs of *Gambierdiscus* sp1 with optical microscope (A-E) and scanning electron microscope (SEM) (F-G). A-B. Cell in antapical view. C. Second apical plate (2'). D. Second antapical plate (2'''). E. lateral view. F. Antapical view in SEM. G. Detail of the pores that cover the cell. Po: apical pore. Scale bar (A-F) = 20 μm , (G) = 5 μm .

Hábitat: Típicamente circumtropical, comúnmente bentónica, asociada a diversos sustratos incluyendo macroalgas, pastos marinos, arena y coral muerto en zonas protegidas del oleaje y alejadas de aportes de aguas continentales (Faust, 1995; Hallegraeff *et al.*, 2004; Tester *et al.*, 2014). En caso de perturbaciones pueden nadar desplazándose cortas distancias (Hallegraeff *et al.*, 2004).

Toxicidad: Algunas especies del género *Gambierdiscus* son las principales productoras de gambiertoxina y maitotoxina, toxinas causantes de la ciguatera (Litaker *et al.*, 2010; Parsons *et al.*, 2012; Fraga *et al.*, 2016). La toxicidad en esta especie no ha sido confirmada en Chengue, sin embargo, cabe resaltar que se han registrado varios casos de ciguatera con anterioridad en el Caribe colombiano, particularmente en los departamentos de Magdalena, Bolívar y en la isla de San Andrés (Álvarez, 1997, 1999; Gaitán, 2007; Celis y Mancera, 2015)

Gambierdiscus sp.

Descripción: Célula de gran tamaño (longitud dorso-ventral: 76 μm ; transdiámetro: 70 μm ; $n = 1$), comprimida en sentido anteroposterior (Figura 3 F). En vista apical, la forma es más oblonga que en *Gambierdiscus* cf. *caribaeus* y el extremo dorsal de la célula es ligeramente agudo (Figura 3 B). Sulcus profundo y ancho en forma de U evidente en vista antapical (Figura 3 B-D). Superficie de las placas cubierta por pequeños poros (Figura 3 H). Placa del poro apical (Po) desplazada hacia la parte ventral (sulcus). La placa 2' es asimétrica con forma de hacha y la 2'''' es pentagonal, similar a lo descrito por Litaker *et al.* (2009) y Hoppenrath *et al.* (2014) para *G. polynesiensis*; sin embargo, en la descripción realizada por los autores, la especie no presenta el extremo dorsal de la célula agudo y la longitud dorsoventral es menor respecto a la del presente estudio. Adicionalmente no hay evidencia sobre la presencia de esa especie en el Caribe.

Coolia cf. *malayensis* Leaw, P.-T. Lim y Usup, 2001.

Descripción: Forma pequeña (longitud dorsoventral: 29.9 \pm 2.6 μm ; transdiámetro: 28.0 \pm 2.4 μm ; $n = 18$), redondeada y ligeramente comprimida en sentido anteroposterior, forma lenticular (Figura 4 D). En vista lateral, la epiteca se desliza hacia la porción dorsal y la hipoteca se aproxima al área ventral (Figura 4 D), similar a lo observado por Gómez *et al.* (2016).

(Litaker *et al.*, 2010, Parsons *et al.*, 2012, Fraga *et al.*, 2016). The toxicity of this species has not been confirmed in Chengue; however, several cases of ciguatera were reported previously in the Colombian Caribbean, particularly in the departments of Magdalena, Bolívar and San Andres Island (Álvarez, 1997, 1999; Gaitán, 2007; Celis and Mancera, 2015).

Gambierdiscus sp.

Description: Large cell (dorsoventral length: 76 μm ; transdiameter: 70 μm ; $n = 1$) that is compressed in the anteroposterior direction (Figure 3F). In apical view, the shape is more oblong than *Gambierdiscus* cf. *Caribaeus*, and the dorsal end of the cell is slightly acute (Figure 3B). A deep and wide U-shaped sulcus is evident in the antapical view (Figure 3B and D). The plate surface is covered with small pores (Figure 3H). The apical pore plate (Po) is displaced towards the ventral portion (sulcus). Plate 2' is asymmetrical in the shape of an axe, and plate 2'''' is pentagonal, similar to the description by Litaker *et al.* (2009) and Hoppenrath *et al.* (2014) for *G. polynesiensis*. However, in the description of the authors, the dorsal end of the cell is not acute, and the dorsoventral length is shorter than the length observed in the present study. Additionally, there is no evidence of the presence of this species in the Caribbean.

Coolia cf. *malayensis* Leaw, P.-T. Lim and Usup, 2001.

Description: Small form (dorsoventral length: 29.9 \pm 2.6 μm ; transdiameter: 28.0 \pm 2.4 μm ; $n = 18$) that is rounded and slightly compressed in the anteroposterior direction with a lenticular shape (Figure 4D). In the lateral view, the epiteca shifts towards the dorsal portion, and the hypotheca is closer to the ventral area (Figure 4D) similar to the observations of Gómez *et al.* (2016). The apical pore plate (Po) is visible under a light microscope and is located between plates 2' and 4' in the upper left apical position of the cell, with an approximate size of 6.7 μm (Figure 4A). The Po size is larger than the one reported by Leaw *et al.* (2010) and Karafas *et al.* (2015) (5.0 and 5.9 μm , respectively). Plate 4' is oblong with a hexagonal shape and is located towards the center of the cell; its right edge makes contact with plate 5'', which tends to be the largest of the epiteca (Figure 4A and G);

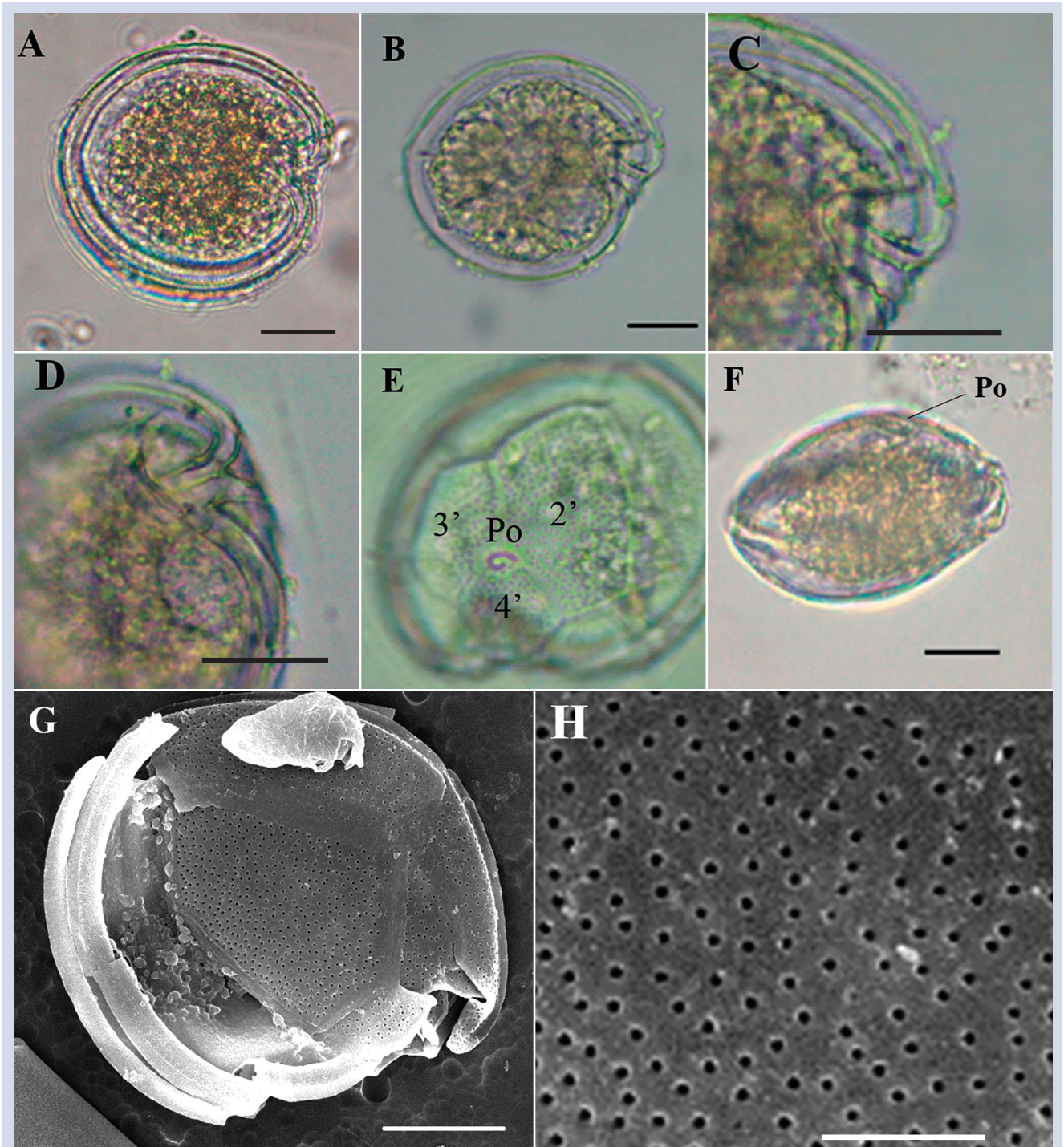


Figura 3. Micrografías de *Gambierdiscus* sp. 2 al microscopio óptico (A-F) y al microscopio electrónico de barrido (G-H). A-B. Vista antapical. C-D. Sulcus. E. Placas apicales y del poro apical (Po). F. Vista lateral. G. Vista antapical al MEB. H. Detalle de los poros que recubren las placas celulares. Barra de escala (A-G) = 20 μ m; (H) = 5 μ m.

Figure 3. Micrographs of *Gambierdiscus* sp. 2 with optical microscope (A-F) and SEM (G-H). A-B Antapical view. C-D sulcus. E. Apical plates and apical pore (Po). F. Lateral view. G. Antapical view in SEM. H. Detail of the pores that cover cell plates. Scale bar (A-G) = 20 μ m; (H) = 5 μ m.

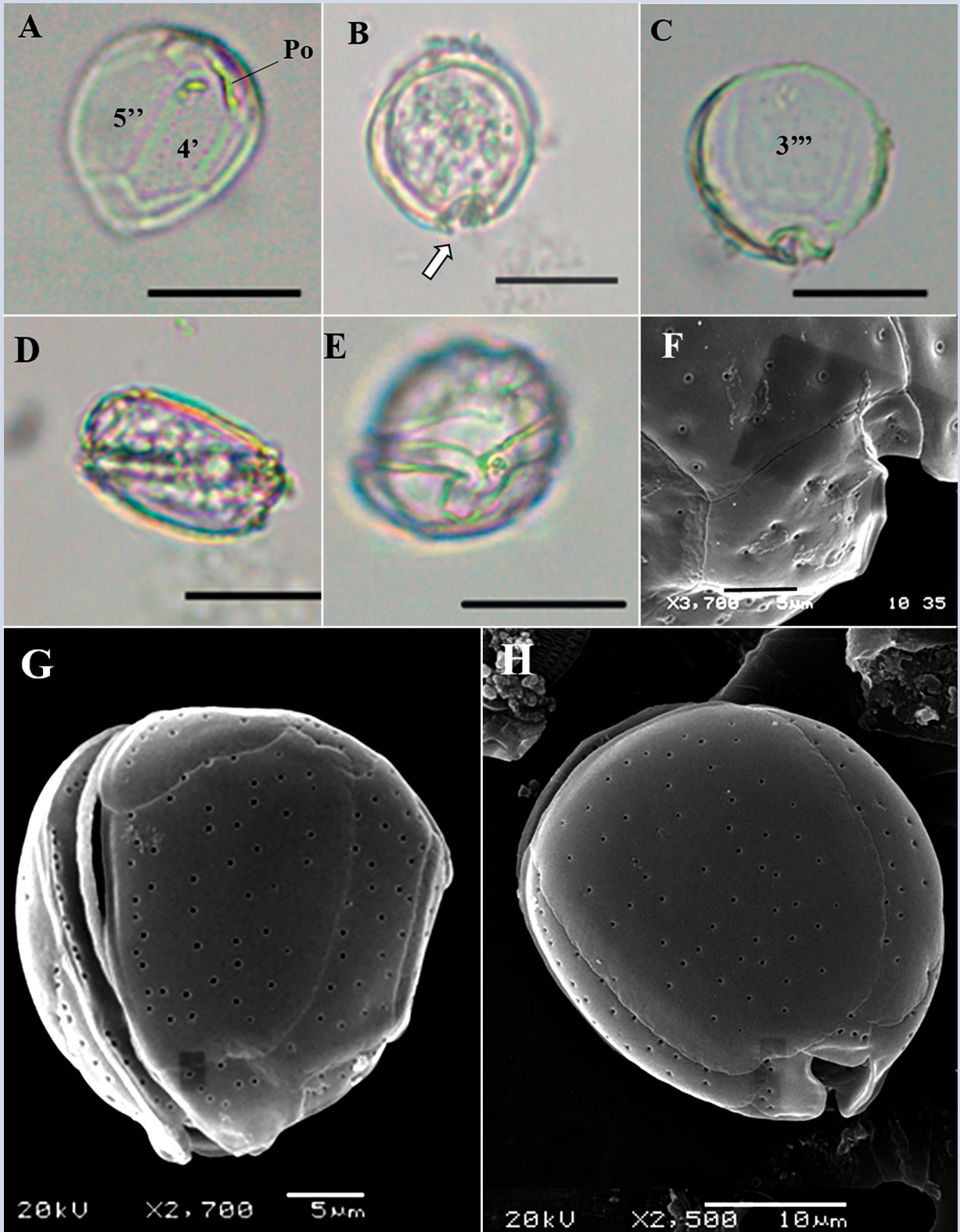


Figura 4. Micrografías de *Coolia* cf. *malayensis* en microscopio óptico (A-E) y microscopio electrónico de barrido (F-H). A. Vista apical. B-C. Vista antapical (la flecha señala una de las membranas sulcales). D. Vista lateral. E-F. Vista ventral y detalles del sulcus. G. Vista apical en MEB. H. Vista antapical. Po: Poro apical. Barra de escala (A-E) = 20 μ m, (F-G) = 5 μ m, (H) = 10 μ m.

Figure 4. Micrographs of *Coolia* cf. *malayensis* under optical microscope (A-E) and SEM (F-H). A. Apical view. B-C. Antapical view (arrow indicates one of the sulcal membranes). D. Lateral view. E-F. Ventral view and sulcus details. G. Apical view In SEM. H. Antapical view. Po: Apical pore. Scale bar (A-E) = 20 μ m, (F-G) = 5 μ m, (H) = 10 μ m.

Placa del poro apical (Po) visible en microscopio óptico, situada entre las placas 2' y 4' en posición apical superior izquierda de la célula, con un tamaño aproximado de 6.7 μm (Figura 4 A), este tamaño es mayor que el reportado por Leaw *et al.* (2010) y Karafas *et al.* (2015) (5.0 y 5.9 μm respectivamente). Placa 4' oblonga, con forma hexagonal, ubicada hacia el centro de la célula; su extremo derecho hace contacto con la placa 5'', la cual tiende a ser la más grande de la epitoca (Figura 4 A y G), con un patrón parecido al observado en el género *Ostreopsis*. Placa 3' pentagonal, ubicada entre las placas 4' y 3''. Placa 3''' rectangular, centrada y amplia, ocupando gran parte de la hipoteca (Figura 4 C y H). Superficie de las placas cubiertas por pequeños poros (Figura 4 G y H). Sulcus estrecho, con dos membranas que se proyectan hacia fuera de éste a cada lado (Figura 4 B y C). La especie tiene semejanza con *C. palmyrensis* y *C. monotis* por la forma y disposición de las placas 4', 5'' y 3'''. Sin embargo, *C. palmyrensis* suele ser más pequeña en tamaño y sus placas tecales tienen una menor densidad de poros (Karafas *et al.*, 2015). Para el caso de *C. monotis*, las células presentan un sulcus profundo expandiéndose hasta casi ocupar una cuarta porción de la célula, mientras que en el organismo aquí observado el sulcus es corto, abriéndose hacia la base (Figura 4 H). Por otra parte, coincidiendo con Leaw *et al.* (2010), en *C. malayensis* la placa 3''' es la más grande de la hipoteca, en tanto que en *C. monotis* las placas 3''' y 4''' tienen un tamaño similar. Sin embargo, otros autores han observado la similitud en el tamaño de estas placas en ambas especies (Jeong *et al.*, 2012; Gómez *et al.*, 2016).

Hábitat: Género marino, de aguas subtropicales y templadas. *Coolia* cf. *malayensis* se ha observado asociada a macroalgas, fragmento de coral y arena (Leaw *et al.*, 2010). La especie más estudiada, *C. monotis*, ha sido observada en muestras planctónicas, hábitats salobres, lagunas costeras y en zonas con manglar, en aguas someras (Faust, 1992; Steidinger y Tangen, 1996); sin embargo, su distribución es más limitada a zonas templadas.

Toxicidad: No confirmada en el área de estudio; sin embargo, algunas especies del género son potencialmente tóxicas. En unas pocas cepas se ha confirmado la producción de cooliatoxina, una potente neurotoxina que puede ocasionar dificultades respiratorias y el bloqueo de algunos nervios fundamentales para el funcionamiento del sistema nervioso en algunos mamíferos (Holmes *et al.*, 1995; Rhodes *et al.*, 2000; Fraga *et al.*, 2008). Hasta la fecha no se ha registrado su efecto negativo en humanos.

this pattern is similar to the pattern observed in genus *Ostreopsis*. Plate 3' is pentagonal and is located between plates 4' and 3''. Plate 3''' is rectangular, centered and wide and occupies much of the hypotheca (Figure 4C and H). The surfaces of the plates are covered with small pores (Figure 4G and H). The sulcus is narrow, with two membranes projecting out on each side (Figure 4B and C). The species resembles *C. palmyrensis* and *C. monotis* based on the shape and arrangement of plates 4', 5'' and 3'''. However, *C. palmyrensis* is usually smaller in size, and its thecal plates have a lower pore density (Karafas *et al.*, 2015). For *C. monotis*, the cells have a deep sulcus expanding to occupy almost a quarter of the cell, whereas in the organism observed here, the sulcus is short with an opening towards the base (Figure 4H). Coinciding with Leaw *et al.* (2010), plate 3''' is the largest of the hypotheca in *C. malayensis*, whereas in *C. monotis* plates 3''' and 4''' have similar sizes. However, other authors have observed similarity in plate sizes in both species (Jeong *et al.*, 2012; Gómez *et al.*, 2016).

Habitat: Marine genus, subtropical and temperate waters. *Coolia* cf. *malayensis* has been associated with macroalgae, coral fragments and sand (Leaw *et al.*, 2010). The most studied species (*C. monotis*) has been observed in planktonic samples, brackish habitats, coastal lagoons and mangrove areas in shallow waters (Faust, 1992; Steidinger and Tangen, 1996); however, its distribution is often limited to temperate zones.

Toxicity: Not confirmed in the study area; however, some species of the genus are potentially toxic. A few strains produce cooliatoxin, which is a potent neurotoxin that may lead to respiratory difficulties, and blockage of some nerves essential for the functioning of the nervous system has been confirmed in some mammals (Holmes *et al.*, 1995; Rhodes *et al.*, 2000; Fraga *et al.*, 2008). To date, the negative effect of this toxin has not been reported in humans.

Coolia sp.

Description: The cell is rounded and globular, and the epitoca is slightly compressed towards one end. Dimensions of single organism observed were as follows: dorsoventral length 38.89 μm and transdiameter 40.1 μm . The sulcus is even narrower than in *Coolia* cf. *malayensis*, with the presence of two small membranes projecting out on each side (Figure 5A). Unlike *Coolia* cf. *malayensis*, in the lateral view the epitoca and the

Coolia sp.

Descripción: Célula redondeada globular, epiteca ligeramente comprimida hacia uno de los extremos. Dimensiones del único organismo observado: longitud dorso-ventral $38.89 \mu\text{m}$; transdiámetro $40.1 \mu\text{m}$. El sulcus es aún más estrecho que en *Coolia* cf. *malayensis*, con presencia de las dos pequeñas membranas que se proyectan

hypothecca do not shift towards the ends (Figure 5B). We could not provide a more detailed description of the plates because only one cell was found in the samples. The specimen has an affinity with *C. tropicalis* and *C. canariensis*, mainly due to its size, which is larger than the other species of this genus and coincides with the sizes described by Fraga *et al.* (2008), Mohammad-Noo *et al.* (2013) and Karafas *et al.* (2015).

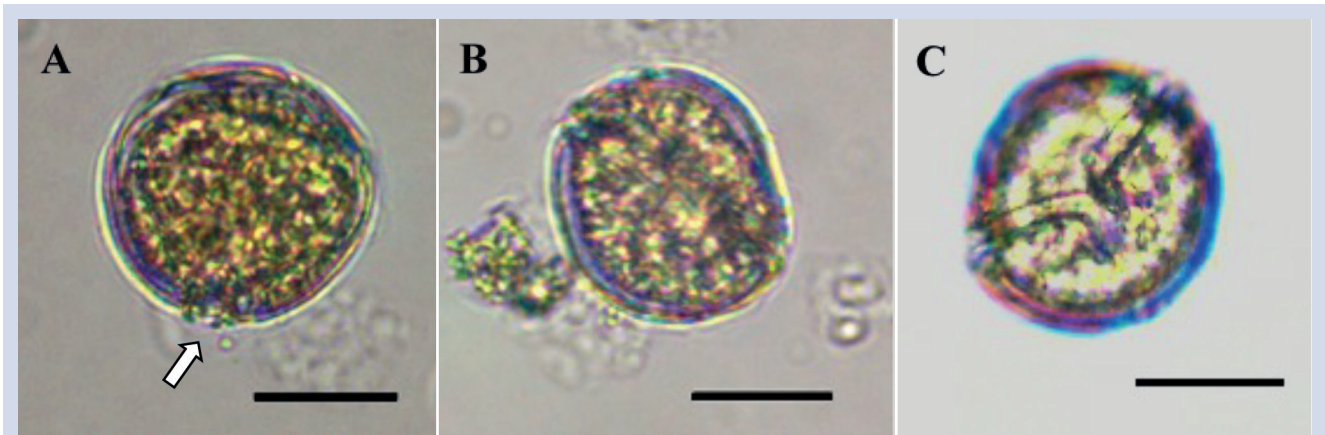


Figura 5. Micrografías de *Coolia* sp. en microscopio óptico. A. Vista antapical (la flecha señala las dos pequeñas membranas que se proyectan fuera del sulcus). B. Vista lateral de la célula. C. Vista ventral. Barra de escala = $20 \mu\text{m}$.

Figure 5. Micrographs of *Coolia* sp. under optical microscope. A. Antapical view (arrow indicates the two small membranes projecting out of the sulcus). B. Lateral view. C. Ventral view. Scale bar = $20 \mu\text{m}$.

fuera de este a cada lado (Figura 5 A) y a diferencia de *Coolia* cf. *malayensis*, en vista lateral la epiteca y la hipoteca no se desplazan hacia los extremos (Figura 5 B). No fue posible realizar una descripción más detallada de las placas, teniendo en cuenta que solo se encontró una célula en las muestras. El espécimen presenta afinidad con *C. tropicalis* y *C. canariensis*, principalmente debido a su tamaño, siendo superior al de las demás especies de este género, coincidiendo con lo descrito por Fraga *et al.* (2008), Mohammad-Noo *et al.* (2013) y Karafas *et al.* (2015).

Ostreopsis cf. ovata Fukuyo, 1981.

Descripción: Células ovaladas, alargadas y agudas en su extremo ventral, con forma similar a una lágrima (Figura 6 A-C). La forma más pequeña del género entre las observadas en las muestras, con una longitud dorso-ventral de $66.2 \pm 3.5 \mu\text{m}$ y transdiámetro de $39.9 \pm 3.3 \mu\text{m}$ ($n = 35$). Eje antero-posterior aproximadamente igual al ancho de la célula. Placa del poro apical (Po) estrecha, con una

Ostreopsis cf. ovata Fukuyo, 1981.

Description: The cells are oval, elongated and acute at their ventral ends, with a tear shape (Figure 6A-C). The cells are the smallest form of the genus among those observed in the samples, with a dorsoventral length of $66.2 \pm 3.5 \mu\text{m}$ and a transdiameter of $39.9 \pm 3.3 \mu\text{m}$ ($n = 35$). The anteroposterior axis is approximately equal to the width of the cell. The apical pore plate (Po) is narrow, with a length of approximately $9.7 \mu\text{m}$, and is noticeably shifted dorso-laterally to the left of the apical zone, which increases the difficulty of observing plate 2' (Figure 6B and D). The sutures between the plates are soft and poorly visible. The shape is similar to *O. ovata*; however, according to the descriptions by Penna *et al.* (2005), the specimen differs from *O. ovata* in the shapes of plates 4', 3' and 2''', which are similar to the plates observed in *O. heptagona* except for the suture indicated with the arrow in Figure 6D. In *O. heptagona*, the suture makes direct contact with plate 4', whereas in the observed species, the suture makes contact

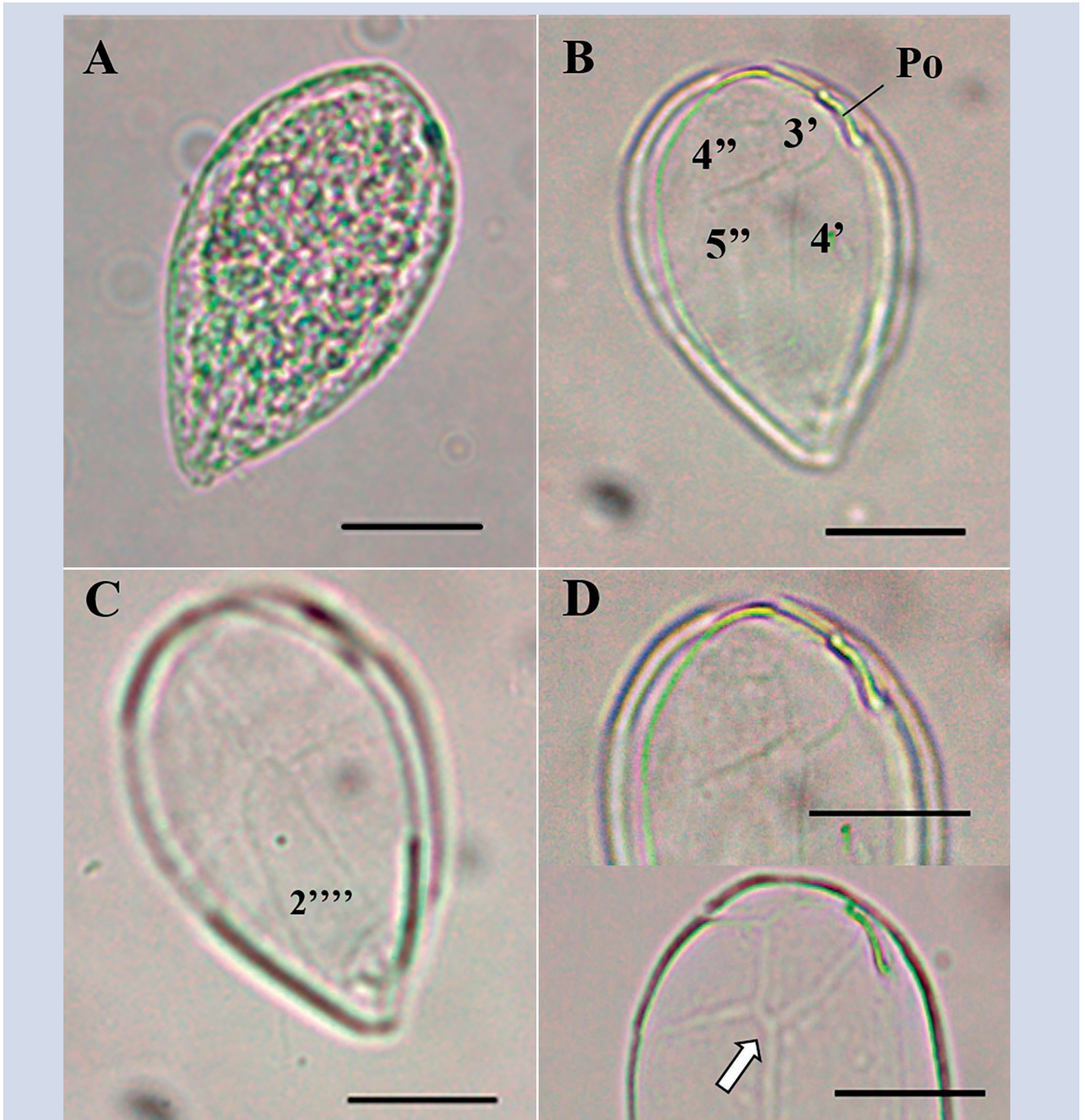


Figura 6. Micrografías de *Ostreopsis cf. ovata* observado al microscopio óptico. A. Vista apical. B. Detalle de las placas apicales. C. Vista antapical y detalle de placas. D. Detalles de la sutura de las placas y del complejo del poro apical (la flecha señala la sutura entre las placas 3' y 5'' que separa a las 4' y 4''). Po: Poro apical. Barra de escala = 20 μm .

Figure 6. Micrographs of *Ostreopsis cf. ovata* observed under optical microscope. A. Apical view. B. Detail of the apical plates. C. Antapical view and plates details. D. Details of the plates sutures and of the apical pore complex (arrow indicates the suture between plates 3' y 5'' that separate 4' y 4''). Po: apical pore. Scale bar = 20 μm .

longitud aproximada de 9,7 μm , notoriamente desplazada dorso-lateralmente hacia la izquierda de la zona apical, lo que dificulta la observación de la placa 2' (Figura 6 B y D). Sutures entre las placas suaves y poco visibles. La forma

with plate 3'. Both the sizes of the cells observed in the present study and the lengths of the Po are greater than those reported by Faust *et al.* (1996) and Faust (1999) for *O. ovata*. The morphological variability of this species is quite

es similar a *O. ovata*; sin embargo, según las descripciones realizadas por Penna *et al.* (2005), el organismo difiere de esa especie en la forma de las placas 4', 3' y 2''', similares a las observadas en *O. heptagona*, a excepción de la sutura señalada con la flecha en la figura 6 D, pues en *O. heptagona* ésta entra en contacto directamente con la placa 4' y en la especie observada hace contacto con la placa 3'. Así mismo, tanto el tamaño de las células observadas en el presente estudio, como la longitud del Po son mayores a las registradas por Faust *et al.* (1996) y Faust (1999) para *O. ovata*. La variabilidad morfológica de esta especie es bastante amplia y su clasificación taxonómica aún debe validarse empleando la información disponible en bases de datos genéticos (Penna *et al.*, 2005).

Hábitat: *Ostreopsis ovata* es una especie marina, bentónica, que puede estar adherida a macrófitas y a otros sustratos. Es común en zonas tropicales, subtropicales y templadas. Sin embargo, suele ser más frecuente en aguas cálidas (Parsons *et al.*, 2012). Se han observado ocasionalmente, al igual que *Ostreopsis* sp., en muestras planctónicas.

Toxicidad: La especie ha sido registrada como productora de diversas toxinas, incluyendo ostreotoxinas y palitoxinas (Granéli *et al.*, 2011) causantes de problemas gastrointestinales, respiratorios y dermatológicos en los seres humanos (Parsons *et al.*, 2012). Sin embargo, su toxicidad no ha sido confirmada en el área de estudio.

Ostreopsis sp.

Descripción: Las células presentan una forma ovoide en vista apical, algo puntiaguda hacia la parte ventral en vista apical y ancha hacia el extremo dorsal. Dimensiones: longitud dorso-ventral: $84.8 \pm 5.7 \mu\text{m}$; transdiámetro: $64.6 \pm 5.5 \mu\text{m}$ ($n = 37$). Comprimida dorso-ventralmente, las tecas presentan una ondulación evidente en vista lateral (Figura 7 E), similar a la descrita por Fukuyo (1981) para *O. siamensis*. Tecas cubiertas por un solo tipo de poros, algo distantes entre sí y forman una línea contigua en el margen externo de las placas precingulares (Figura 7 F). Placa del poro apical (Po) angosta y alargada ($19.7 \mu\text{m}$), con una curvatura paralela al borde superior izquierdo de la célula (Figura 7 B, C y F). Teniendo en cuenta la talla de las células observadas, la longitud del Po, así como la forma y disposición de las placas tecales, la especie podría tratarse de *O. labens* (Faust *et al.*, 1996; Hoppenrath *et al.*, 2014); sin embargo, según las descripciones realizadas por

broad, and its taxonomic classification needs to be validated using the information available in genetic databases (Penna *et al.*, 2005).

Habitat: *Ostreopsis ovata* is a marine benthic species that may be attached to macrophytes and other substrates. This species is common in tropical, subtropical and temperate zones. However, *O. ovata* is often more frequent in warm waters (Parsons *et al.*, 2012). *Ostreopsis* sp. have occasionally been observed in planktonic samples.

Toxicity: The species has been recorded as a producer of various toxins, including ostreotoxins and palytoxins (Granéli *et al.*, 2011), which cause gastrointestinal, respiratory and dermatological problems in humans (Parsons *et al.*, 2012). However, its toxicity has not been confirmed in the study area.

Ostreopsis sp.

Description: The cells are ovoid and somewhat pointed towards the ventral portion and wide towards the dorsal end in the apical view. Dimensions: dorsoventral length: $84.8 \pm 5.7 \mu\text{m}$; transdiameter: $64.6 \pm 5.5 \mu\text{m}$ ($n = 37$). Compressed dorso-ventrally, the thecal plates exhibit undulations that are evident in lateral view (Figure 7E) similar to the description by Fukuyo (1981) for *O. siamensis*. The thecal plates are covered by a single type of pores, which are located somewhat distant from each other and form a contiguous line in the outer margin of the precingular plates (Figure 7F). The apical pore plate (Po) is narrow and elongated ($19.7 \mu\text{m}$) with a curvature parallel to the upper left edge of the cell (Figure 7B, C and F). Considering the size of the cells observed, the length of the Po and the shape and arrangement of the thecal plates, the species could be *O. labens* (Faust *et al.*, 1996; Hoppenrath *et al.*, 2014); however, according to the descriptions reported by some authors, the species does not present undulations in the plates. Due to their variability in size and shape, the cells observed may be part of a complex composed of more than one species. However, the taxonomic description of this genus is not very clear, and most of the characteristics overlap between species, making their differentiation very complex. Penna *et al.* (2005) indicated that high morphological variability could be observed between cells of the same species, and Almazán-Becerril *et al.* (2015) mentioned that the taxonomy of this genus was so ambiguous that differentiation between species was impossible.

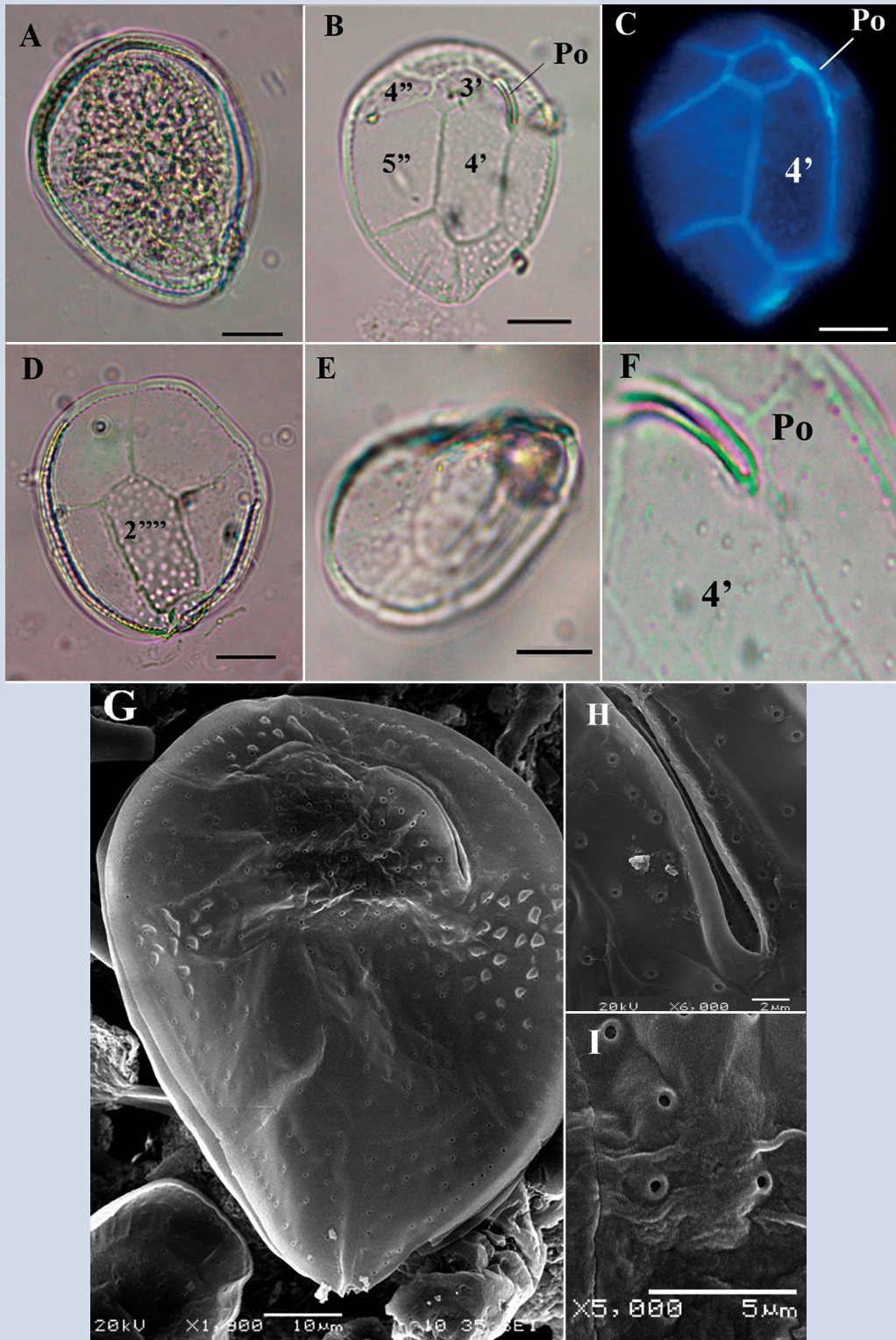


Figura 7. Micrografías de *Ostreopsis* sp. al microscopio óptico (A-F) y microscopio electrónico de barrido (G-I). A. Célula en vista antapical. B. Detalle de placas apicales. C. Placas apicales teñidas con calcofluor y vistas con epifluorescencia. D-E. Vista antapical interna de las placas. F. Poro apical (Po) y poros en microscopio óptico. G. Vista apical en MEB. H. Detalle de la placa del poro apical (Po). I. Poros que recubren la célula. Barra de escala (A-E) = 20 μm , (G) = 10 μm , (H) = 2 μm , (I) = 5 μm .

Figure 7. Micrographs of *Ostreopsis* sp. under optical microscope (A-F) and SEM (G-I). A. Cell in antapical view. B. Detail of the apical plates. C. Apical plates stained with calcofluor and view by epifluorescence. D-E. Internal view of the antapical plates. F. Apical pore (Po) and pores. G. Apical view in SEM. H. Detail of the apical pore plate (Po). I. Pores that cover the cell. Scale bar (A-E) = 20 μm , (G) = 10 μm , (H) = 2 μm , (I) = 5 μm .

algunos autores, la especie no presenta ondulación en las placas. Es posible que, debido a su variabilidad en tamaño y formas, las células observadas sean parte de un complejo conformado por más de una especie. Cabe resaltar que la descripción taxonómica de este género no es muy clara y la mayoría de las características se solapan entre especies, haciendo muy compleja su diferenciación. Penna *et al.* (2005) indican que es posible observar una alta variabilidad morfológica entre células de la misma especie y Almazán-Becerril *et al.* (2015) mencionan que la taxonomía de este género es tan ambigua que hace imposible la diferenciación entre especies.

Ostreopsis cf. lenticularis Fukuyo 1981.

Descripción: Célula redondeada en vista apical (Figura 8 A-C), lenticular, ligeramente puntiaguda hacia el sulcus. Antero-posteriormente comprimida y de mayor tamaño que las demás especies de este género observadas en las muestras. Longitud dorso-ventral: $102.1 \pm 7.0 \mu\text{m}$; transdiámetro: $83.8 \pm 6.4 \mu\text{m}$ ($n = 24$). Las tecas presentan dos tipos de poros: unos pequeños y más abundantes y otros gruesos, ambos visibles al microscopio óptico (Figura 8 D). Po angosta y alargada (Figura 8 A), con una longitud aproximada de $22 \mu\text{m}$. Presenta el mismo patrón de placas que *Ostreopsis* sp.; sin embargo, *O. cf. lenticularis*, aparte del tamaño y la presencia de los dos tipos de poros, es redondeada y carece de ondulación en las tecas, coincidiendo con la descripción realizada por Hallegraeff *et al.* (2004). Faust, (1996) indica que la presencia de los dos tipos de poros se da en *O. siamensis*, si bien Fukuyo, (1981) y Parsons *et al.* (2012) coinciden en que esta característica es típica de *O. lenticularis*. Asimismo, el tamaño celular y la longitud de la Po coinciden con algunas de las características descritas por Faust (1999) para *O. marinus*; sin embargo, el autor indica que la superficie tecal de esta especie presenta pequeños poros y no dos tipos de poros, tal como se observó en las células de Chengue.

Hábitat: Especie bentónica adherida a rocas y otros sustratos o epífita de macrófitas en aguas circumtropicales someras (Hallegraeff *et al.*, 2004).

Toxicidad: La especie se ha registrado como potencialmente tóxica, productora de palitoxinas y otras toxinas análogas (Tosteson *et al.*, 1989; Ashton *et al.*, 2003; Granéli *et al.*, 2011) perjudiciales para algunos organismos, incluidos los humanos. No se ha confirmado su toxicidad en la región.

Ostreopsis cf. lenticularis Fukuyo 1981.

Description: The cell is rounded in the apical view (Figure 8A-C), lenticular and slightly pointed towards the sulcus. The cell is antero-posteriorly compressed and has larger size than the other species of this genus observed in the samples. Dorsal-ventral length: $102.1 \pm 7.0 \mu\text{m}$; transdiameter: $83.8 \pm 6.4 \mu\text{m}$ ($n = 24$). The thecal plates have two types of pores (small and more abundant and thicker); both pore types are visible under a light microscope (Figure 8D). The Po is narrow and long (Figure 8A), with an approximate length of $22 \mu\text{m}$. This specimen has the same pattern of plates as *Ostreopsis* sp.; however, apart from the size and presence of the two types of pores, *O. cf. lenticularis* is rounded and lacks thecal undulations, which coincides with the description by Hallegraeff *et al.* (2004). Faust (1996) indicated that the presence of both types of pores occurred in *O. siamensis*, although Fukuyo (1981) and Parsons *et al.* (2012) agreed that this characteristic was typical of *O. lenticularis*. Additionally, the cell size and the length of the Po coincide with some of the characteristics described by Faust (1999) for *O. marinus*; however, the author indicated that the thecal surface of this species had small pores and not two types of pores, as was observed in the cells from Chengue.

Habitat: Benthic species attached to rocks and other substrates or epiphytes of macrophytes in shallow circumtropical waters (Hallegraeff *et al.*, 2004).

Toxicity: The species has been recorded as a potentially toxic producer of palytoxins and other analogous toxins (Tosteson *et al.*, 1989; Ashton *et al.*, 2003; Granéli *et al.*, 2011) that are harmful to some organisms, including humans. The toxicity of the species in the region has not been confirmed.

Prorocentrum hoffmannianum Faust, 1990.

Synonym: *Exuviaella hoffmanniana* (Faust) McLachlan, Boalch et Jahn 1997.

Exuviaella hoffmannianum (Faust) McLachlan et Boalch (Hoppenrath *et al.*, 2014).

Description: The cell has a broad, tear-like, oval shape that is somewhat narrower towards the apical area, with a flattening towards the center of the cell where the pyrenoids are located (Figure 9A). Dorsal-ventral length: $50.6 \pm 3.1 \mu\text{m}$ transdiameter: $37.3 \pm 2.4 \mu\text{m}$ ($n = 38$). The theca surface is reticulated-excavated (Hoppenrath

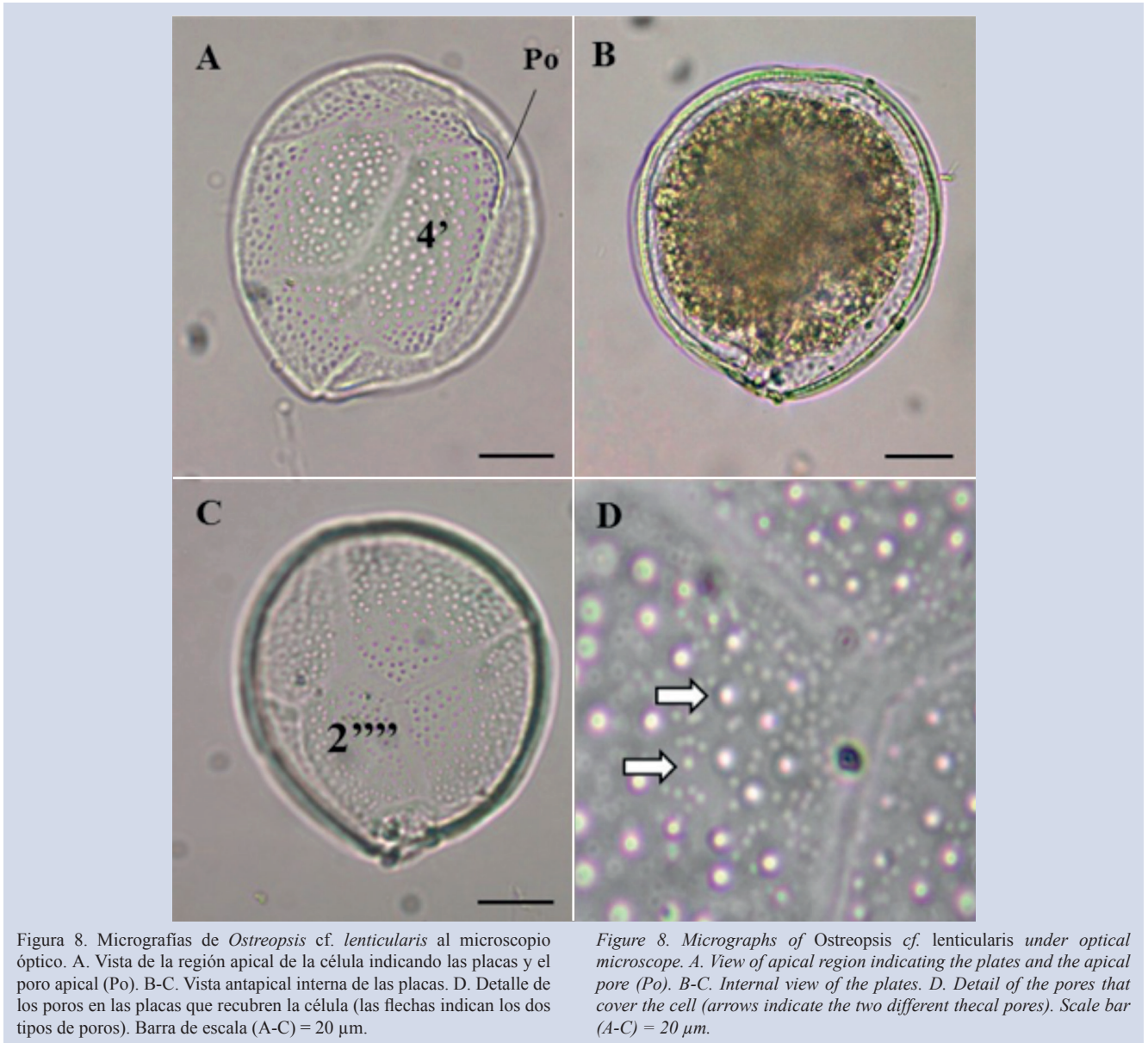


Figura 8. Micrografías de *Ostreopsis* cf. *lenticularis* al microscopio óptico. A. Vista de la región apical de la célula indicando las placas y el poro apical (Po). B-C. Vista antapical interna de las placas. D. Detalle de los poros en las placas que recubren la célula (las flechas indican los dos tipos de poros). Barra de escala (A-C) = 20 μ m.

Figure 8. Micrographs of *Ostreopsis* cf. *lenticularis* under optical microscope. A. View of apical region indicating the plates and the apical pore (Po). B-C. Internal view of the plates. D. Detail of the pores that cover the cell (arrows indicate the two different thecal pores). Scale bar (A-C) = 20 μ m.

***Prorocentrum hoffmannianum* Faust, 1990.**

Sinonimia: *Exuviaella hoffmanniana* (Faust) McLachlan, Boalch et Jahn 1997.

Exuviaella hoffmannianum (Faust) McLachlan et Boalch (Hoppenrath *et al.*, 2014).

Descripción: La célula presenta una forma ovalada ancha, similar a una lágrima, algo más estrecha hacia el área apical, con un aplanamiento hacia el centro de la célula, donde se ubican los pirenoides (Figura 9 A). Longitud dorso-ventral: $50.6 \pm 3.1 \mu\text{m}$ transdiámetro: $37.3 \pm 2.4 \mu\text{m}$ ($n= 38$). Superficie de las tecas reticulada-excavada (Hoppenrath *et al.*, 2013), poros reniformes dispersos sobre

et al., 2013), and reniform pores are dispersed on the plates (Figure 9G) but absent in the center. The V-shaped periflagellar area has eight plates (1-8) (Figure 9J and K) and a wide adjacent apical collar (Figure 9C and F). Periflagellar plate 1 has three slits (Figure 9J and K) that coincide with the description by Hoppenrath *et al.* (2013). The morphology of these cells presents variations in shape and size, even some of them with a slightly reduced apical collar were observed. The species is easily confused with *P. sabulosum*, *P. tropicalis* and *P. belizeanum*, but Herrera-Sepúlveda *et al.* (2015) confirmed by molecular analysis that there was no difference between *P. hoffmannianum* and *P. belizeanum*.

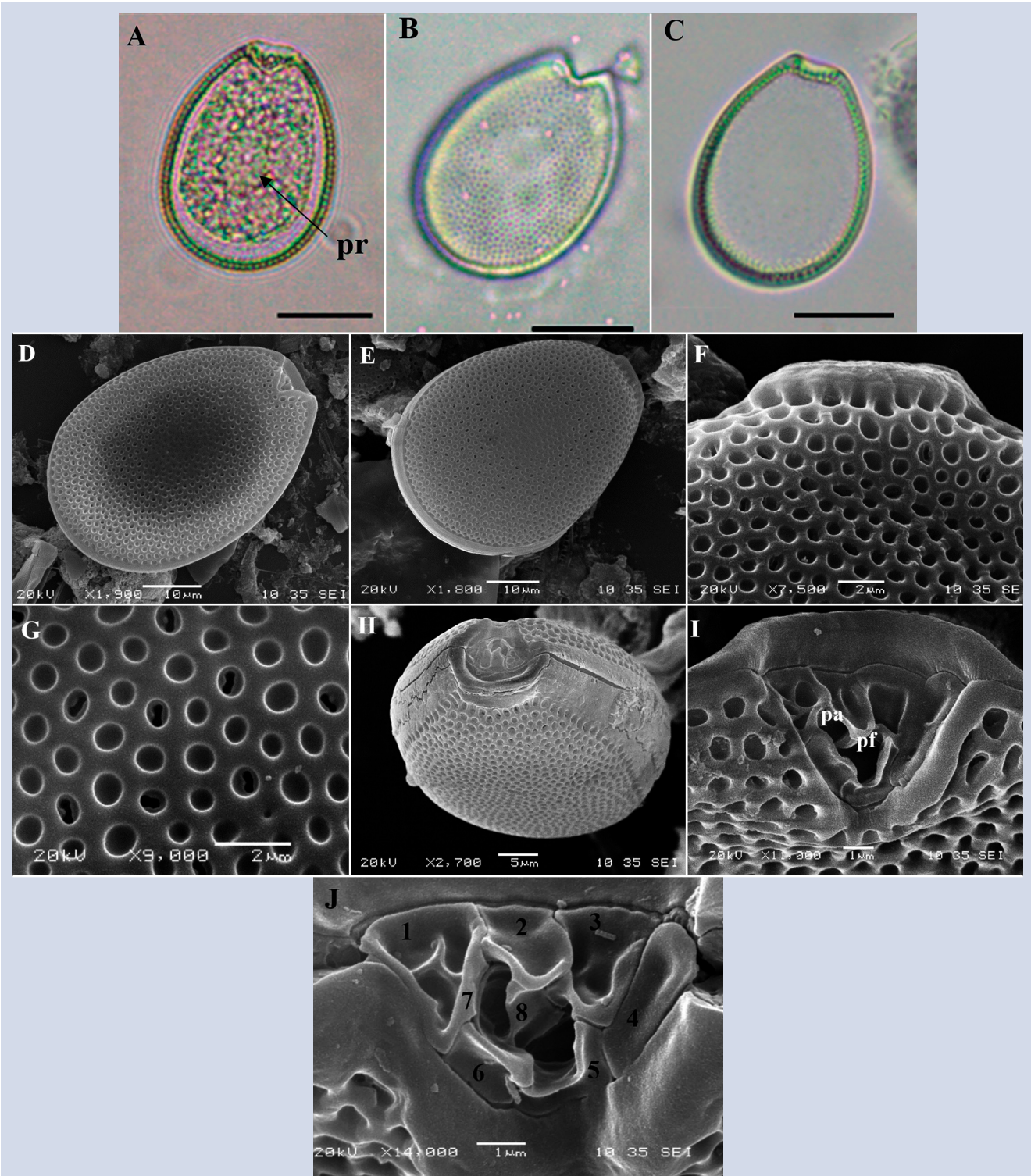


Figura 9. Micrografías de *Prorocentrum hoffmannianum* al microscopio óptico (A-C) y microscopio electrónico de barrido (D-J). A. Vista de la placa derecha; B. Placa derecha con detalle de poros. C. Placa izquierda. D. Célula en vista ventral (MEB). E. Vista dorsal. F. Detalle del collar apical. G. Detalle de poros y areolas que recubren la célula. H-J. Área periflagelar (apical). J. Placas periflagelares, enumeración siguiendo la propuesta por Hoppenrath *et al.* (2013). Pr: pirenoide, pa: poro accesorio, pf: poro flagelar. Barra de escala (A-C) = 20 μ m, (D-E) = 10 μ m, (F-G) = 2 μ m, (H) = 10 μ m, (I) = 5 μ m, (J-K) = 1 μ m.

Figure 9. Micrographs of *Prorocentrum hoffmannianum* under optical microscope (A-C) and SEM (D-J). A. View of the right plate. B. Right plate with pore detail. C. Left plate. D. Cell in ventral view. E. Dorsal view. F. Detail of the apical collar. G. Detail of pores and areoles covering the cell. H-J. Periflagellar area (apical). J. Periflagellar plates, numbered following Hoppenrath *et al.* (2013). Pr: pirenoid, pa: accessory pore, pf: flagellar pore. Scale bar (A-C) = 20 μ m, (D-E) = 10 μ m, (F-G) = 2 μ m, (H) = 10 μ m, (I) = 5 μ m, (J-K) = 1 μ m.

las placas (Figura 9 G), ausentes en el centro de ésta. Área periflagelar en forma de “V” con ocho placas (1-8) (Figura 9 J y K) y un collar apical adyacente amplio (Figura 9 C-F); placa periflagelar 1 con tres hendiduras (Figura 9 J y K), coincidiendo con la descripción realizada por Hoppenrath *et al.* (2013). Su morfología presenta variaciones en forma y tamaño e inclusive se observaron células con el collar apical algo reducido. La especie se confunde fácilmente con *P. sabulosum*, *P. tropicalis* y *P. belizeanum*, pero Herrera-Sepúlveda *et al.* (2015) confirmaron mediante análisis moleculares que no existe diferencia entre *P. hoffmannianum* y *P. belizeanum*. En cuanto a las demás especies, Hoppenrath *et al.* (2014) sugirieron que es necesario realizar un análisis más detallado para establecer los límites que las separan.

Hábitat: Especie marina, bentónica, ampliamente distribuida en áreas tropicales y subtropicales, que suele encontrarse sobre diversos sustratos, tales como arena, rocas o fanerógamas (Chomérat *et al.*, 2010).

Toxicidad: Especie potencialmente tóxica, productora de ácido okadaico y sus análogos, los cuales generan envenenamiento diarreico por ingesta de moluscos (o DSP por sus siglas en inglés, Diarrhetic Shellfish Poisoning) (Faust *et al.*, 1999; Hoppenrath *et al.*, 2013).

Prorocentrum lima Stein, 1878.

Basionimia: *Cryptomonas lima* Ehrenberg 1860.

Sinonimia homotípica: *Exuviaella lima* (Ehrenberg) Bütschli 1885, *E. marina* var. *lima* (Ehrenberg) Schiller 1931 (Guiry y Guiry, 2016).

Sinonimia heterotípicas: *Exuviaella marina* Cienkowski 1881, *Dinopyxis laevis* Stein 1883, *E. laevis* (Stein) Schroder 1900, *E. cincta* Schiller 1918, *E. ostenfeldi* Schiller 1933, *E. caspica* Kiselev 1940, *P. marinum* Dodge et Bibby 1973, *Prorocentrum arenarium* Faust 1994 (Guiry y Guiry, 2016).

Descripción: Célula ovoide, ovalada oblonga. Longitud dorso-ventral: $40.4 \pm 2.9 \mu\text{m}$; transdiámetro: $25.0 \pm 2.0 \mu\text{m}$ ($n = 42$). En vista valvar es más estrecha hacia el área periflagelar y lenticulada elipsoidal en vista lateral, ligeramente aplanada hacia la parte central, donde se ubican internamente los prominentes pirenoides (Figura 10 A) visibles al microscopio óptico. Superficie tecal suave con pequeños poros ovalados dispersos que forman una hilera marginal, inclusive rodeando el área periflagelar (Figura 10 C-F); porción central de ambas tecas desprovistas de poros (Figura 10 B-D). Área periflagelar en forma de “V” con ocho (1-8) placas adyacentes

Regarding the other species, Hoppenrath *et al.* (2014) suggested that a more detailed analysis was needed to establish the boundaries that separated them.

Habitat: Marine species, benthic, widely distributed in tropical and subtropical areas, usually found on various substrates, such as sand, rocks or phanerogams (Chomérat *et al.*, 2010).

Toxicity: A potentially toxic species that is a producer of okadaic acid and its analogues, which generate DSP (Faust *et al.*, 1999; Hoppenrath *et al.*, 2013).

Prorocentrum lima Stein, 1878.

Synonym: *Cryptomonas lima* Ehrenberg 1860.

Homotypic synonym: *Exuviaella lima* (Ehrenberg) Bütschli 1885, *E. marina* var. *lima* (Ehrenberg) Schiller 1931 (Guiry and Guiry, 2016).

Heterotypic synonyms: *Exuviaella marina* Cienkowski 1881, *Dinopyxis laevis* Stein 1883, *E. laevis* (Stein) Schroder 1900, *E. cincta* Schiller 1918, *E. ostenfeldi* Schiller 1933, *E. caspica* Kiselev 1940, *P. marinum* Dodge et Bibby 1973 and *Prorocentrum arenarium* Faust 1994 (Guiry and Guiry, 2016).

Description: The cell is ovoid, oval and oblong. Dorsoventral length: $40.4 \pm 2.9 \mu\text{m}$; transdiameter: $25.0 \pm 2.0 \mu\text{m}$ ($n = 42$). In valve view, the cell is narrower towards the periflagellar area, ellipsoidal lenticulate in lateral view and slightly flattened towards the central portion, where prominent pyrenoids are internally located (Figure 10A), visible under the light microscope. The thecal surface is soft with small dispersed oval pores that form a marginal row and surround the periflagellar area (Figure 10C-F); the central portion of both thecal plates are devoid of pores (Figure 10B-D). The V-shaped periflagellar area with eight (1-8) plates adjacent to the flagellar pores (Figure 10G and H) coincides with the description of Hoppenrath *et al.* (2013). The species presents a wide variability of forms and sizes, which sometimes generates misidentifications.

Habitat: Marine species, epibenthic, embedded in sand or attached to various substrates, including macrophytes. Widely distributed in tropical waters (Hoppenrath *et al.*, 2013, 2014). Fukuyo (1981) observed when performing cultures of this species that it normally adhered to the walls of the vessel, and cells were rarely found swimming freely. However, the species has been observed sporadically and in low densities in planktonic samples (Vila *et al.*, 2001, Levasseur *et al.*, 2003).

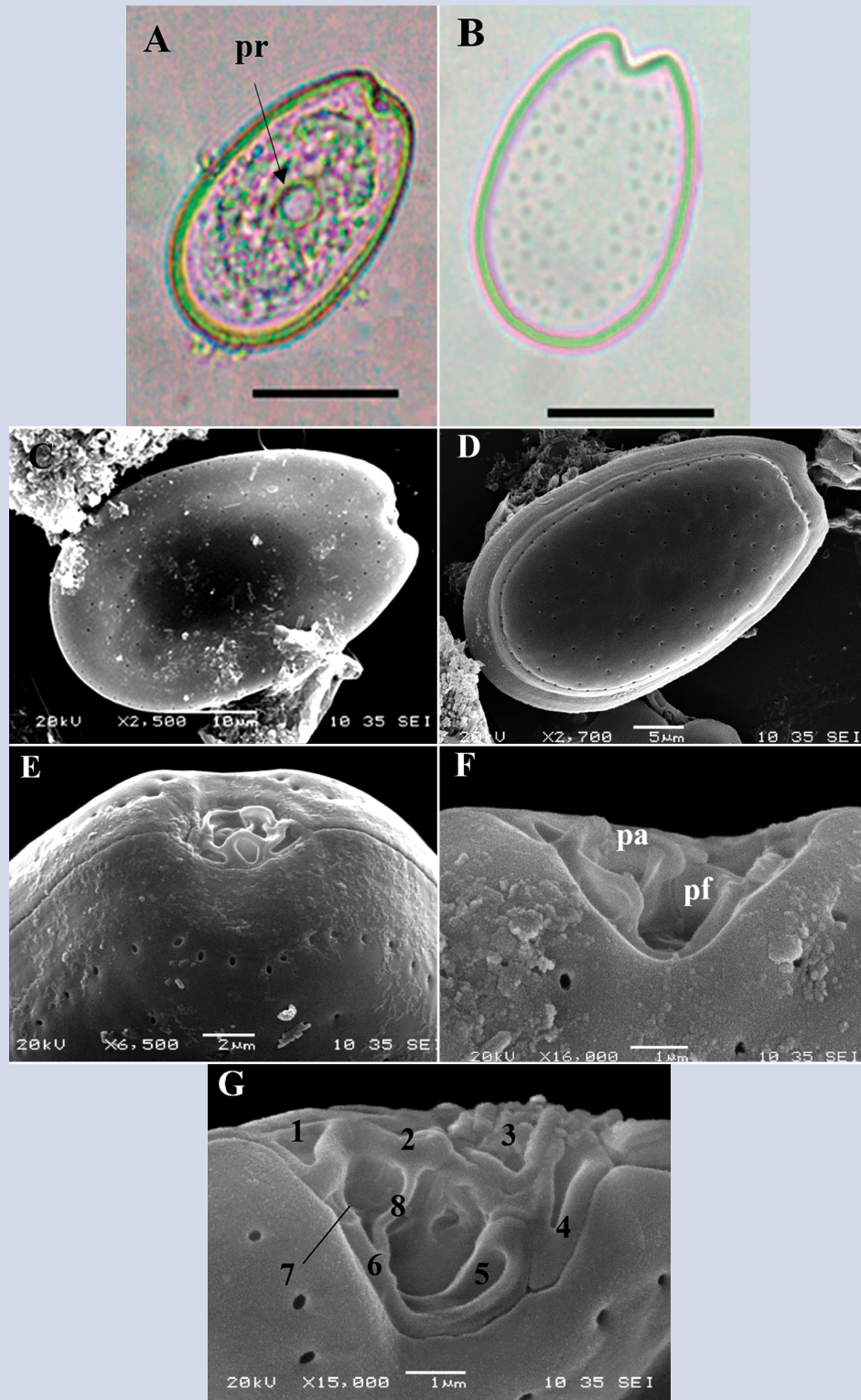


Figura 10. Micrografías de *Prorocentrum lima* al microscopio óptico (A-B) y microscopio electrónico de barrido (C-G). A. Vista de la teca derecha; B. Teca derecha con poros tecales. C. Teca derecha al MEB. D. Vista de la teca izquierda. E-G. Área periflagelar (apical). G. Placas periflagelares, enumeración siguiendo la propuesta por Hoppenrath *et al.* (2013). Pr: pirenóide, pa: poro accesorio, pf: poro flagelar. Barra de escala (A-B) = 20 μ m, (C y E) = 10 μ m, (D) = 5 μ m, (F) = 2 μ m, (G-H) = 1 μ m.

Figure 10. Micrographs of *Prorocentrum lima* under optical microscope (A-B) and SEM (C-G). A. Right theca. B. Right theca with pores. C. Right theca. D. Left theca. E-G. Periflagellar area (apical). G. Periflagellar plates, numbered following Hoppenrath *et al.* (2013). Pr: pirenoid, pa: accessory pore, pf: flagellar pore. flagelar. Scale bar (A-B) = 20 μ m, (C and E) = 10 μ m, (D) = 5 μ m, (F) = 2 μ m, (G-H) = 1 μ m.

a los poros flagelares (Figura 10 G y H), coincidiendo con las descripciones realizadas por Hoppenrath *et al.* (2013). La especie presenta una amplia variabilidad de formas y tamaños, lo cual en ocasiones genera inconvenientes en su identificación.

Hábitat: Especie marina, epibentónica, incrustada en la arena o adherida a diversos sustratos incluyendo macrófitas. Ampliamente distribuida en aguas tropicales (Hoppenrath *et al.*, 2013, 2014). Fukuyo (1981) observó que al realizar cultivos de esta especie, normalmente se adhería a las paredes del recipiente y era raro encontrar células nadando libremente. Sin embargo, la especie se ha observado esporádicamente y en bajas densidades en muestras planctónicas (Vila *et al.*, 2001, Levasseur *et al.*, 2003)

Toxicidad: No se ha confirmado su toxicidad en el área de estudio. Sin embargo la especie se considera potencialmente tóxica, productora de ácido okadaico y otras toxinas congéneres, pudiendo ocasionar envenenamiento diarreico por ingesta de moluscos (Murakami *et al.*, 1982; Lee *et al.*, 1989; Torigoe *et al.*, 1988).

Prorocentrum emarginatum Fukuyo, 1981.

Descripción: Célula asimétrica, redondeada, ligeramente ovalada, un poco menos ancha hacia el extremo apical (Figura 11 A-D, F-G). En vista lateral las tecas están ligeramente comprimidas dorso-ventralmente. Longitud dorso-ventral: $36.7 \pm 2.0 \mu\text{m}$; transdiámetro: $32.0 \pm 1.5 \mu\text{m}$ ($n = 8$). Teca de textura suave con dos tipos de poros en filas (Figura 11 E), dispuestos radialmente desde la periferia hacia el centro de la célula, sin estar del todo presentes en la porción central de la teca (Figura 11 C, D y F). Área periflagelar en forma de “V” fuertemente marcada (Figura 11 B-C, F-G). En vista ventral es posible observar que los dos hombros apicales son desiguales, siendo el dorsal romo y el ventral alargado puntiagudo (Figura 11 B-C, F), coincidiendo con lo descrito por Hoppenrath *et al.* (2013, 2014). En el área periflagelar sobresale una estructura en forma de ala o espina que bordea la placa periflagelar 1 (Figura 11 F y G). La especie puede confundirse con *Prorocentrum fukuyoi* y con *P. scuptile*; sin embargo, a diferencia de *P. fukuyoi*, las células observadas no presentan pequeños poros en el centro de la teca y tampoco poseen una superficie tecal reticulada-excavada como ocurre en *P. scuptile*, coincidiendo con la descripción de *P. emarginatum* realizada por Hoppenrath *et al.* (2013). Sin embargo, se requiere una revisión más detallada tanto a nivel morfológico como molecular para establecer una clara diferencia entre estas tres especies y lograr comprender la variabilidad de las diferentes características.

Toxicity: No toxicity has been confirmed in the study area. However, the species is considered potentially toxic and produces okadaic acid and other congeners that may cause diarrhetic shellfish poisoning (DSP) (Murakami *et al.*, 1982; Lee *et al.*, 1989; Torigoe *et al.*, 1988).

Prorocentrum emarginatum Fukuyo, 1981.

Description: The cell is asymmetric, rounded, slightly oval and slightly less broad towards the apical end (Figure 11A-D and F-G). In the lateral view, the thecal plates are slightly compressed dorsoventrally. Dorsoventral length: $36.7 \pm 2.0 \mu\text{m}$; transdiameter: $32.0 \pm 1.5 \mu\text{m}$ ($n = 8$). The thecal texture is smooth with two types of pores in rows (Figure 11E) that are arranged radially from the periphery towards the center of the cell and are not completely present in the central portion of the theca (Figure 11C, D and F). A strongly marked V-shaped periflagellar area is observed (Figure 11B-C and F-G). In ventral view, it can be observed that the two apical shoulders are unequal, with the dorsal blunt and the ventral long and pointed (Figure 11 B-C and F), coinciding with the description of Hoppenrath *et al.* (2013, 2014). In the periflagellar area, a wing or spine-shaped structure protrudes from periflagellar plate 1 (Figure 11F and G). The species may be confused with *Prorocentrum fukuyoi* and *P. scuptile*; however, unlike *P. fukuyoi*, the cells observed do not have small pores in the center of the theca or possess a reticulated-excavated thecal surface as described for *P. scuptile*, which coincides with the description of *P. emarginatum* by Hoppenrath *et al.* (2013). However, a more detailed review at both the morphological and molecular levels is required to establish a clear difference between these three species and to understand the variability of the different characteristics.

Habitat: Epibenthic marine species common in Caribbean waters. Faust *et al.* (1999) recorded this species in low densities on sediment, such as rocks or dead coral, attached to macrophytes and even on floating material.

Toxicity: The toxicity of this species has not been confirmed, although its presence has been associated with other benthic toxin-producing dinoflagellates (Faust *et al.*, 1999).

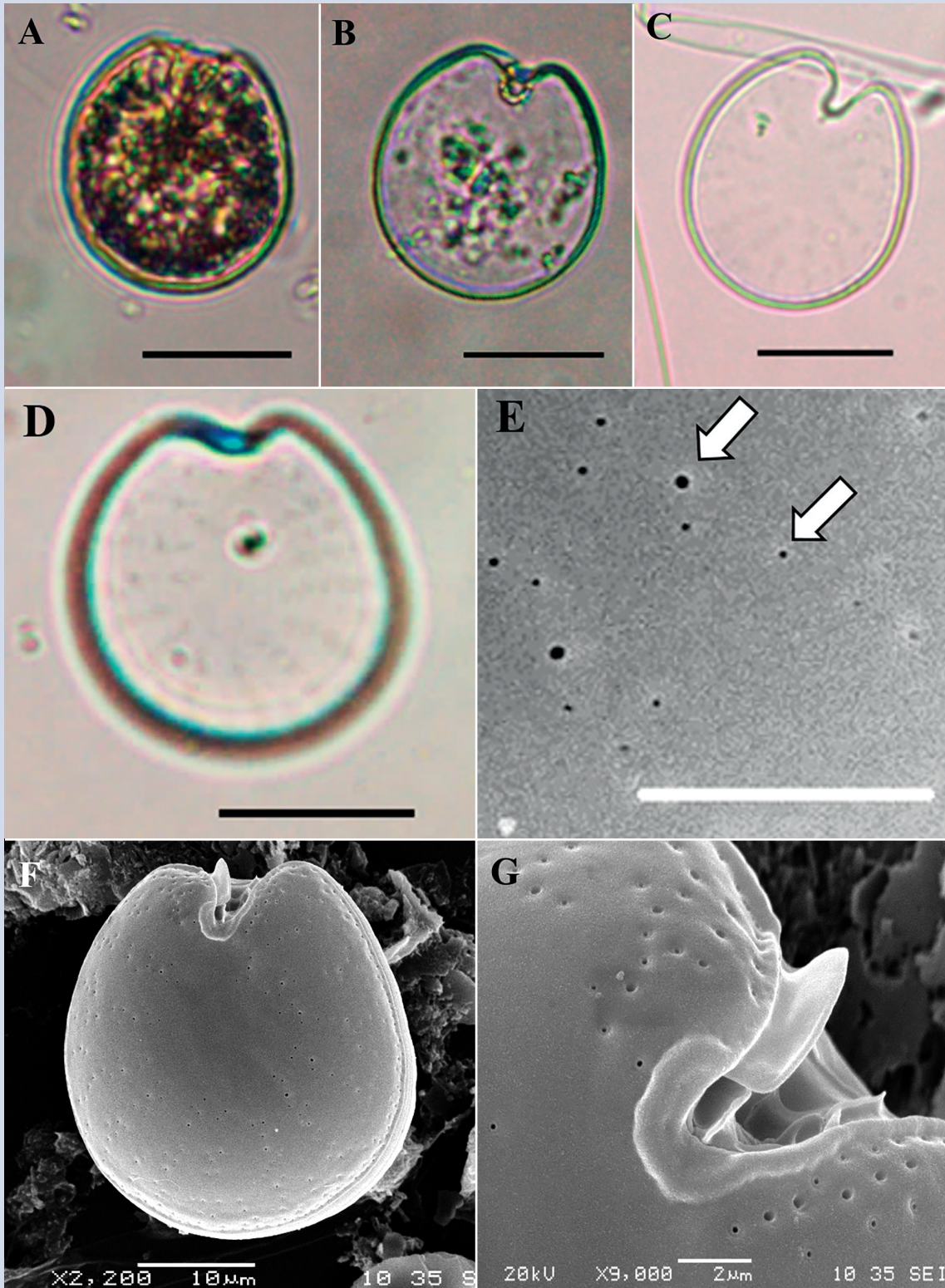


Figura 11. Micrografías de *Prorocentrum emarginatum* al microscopio óptico (A-D) y microscopio electrónico de barrido (E-G). A-B. Vista de la teca derecha. C. Teca derecha donde se observa levemente el patrón de poros. D. Teca izquierda. E. Detalle de los dos tamaños de poros (flechas blancas) al MEB. F. Vista ventral. G. Detalle del área periflagelar y ala apical. Barra de escala (A-D) = 20 μm , (E) = 5 μm , (F) = 10 μm , (G) = 2 μm .

Figure 11. Micrographs of *Prorocentrum emarginatum* under optical microscope (A-D) and SEM (E-G). A-B. Right theca. C. Right theca slightly showing the pore pattern. D. Left theca. E. Detail of the two types of thecal pores (white arrows). F. Ventral view. G. Detail of the periflagellar area and of the apical wing. Scale bar (A-D) = 20 μm , (E) = 5 μm , (F) = 10 μm , (G) = 2 μm .

Hábitat: Especie marina epibentónica, común en aguas del Caribe. Faust *et al.* (1999) la registran en bajas densidades, sobre sedimento tal como rocas o coral muerto, adherida a macrofitas e inclusive sobre material flotante.

Toxicidad: No se ha confirmada la toxicidad de esta especie; aunque, su presencia se ha asociado con la de otros dinoflagelados bentónicos productores de toxinas (Faust *et al.*, 1999).

***Prorocentrum rathymum* Loeblich III, Sherley y Schmidt, 1979.**

Descripción: Célula asimétrica, ovalada y oblonga. Longitud dorso-ventral: $32.1 \pm 3.8 \mu\text{m}$; transdiámetro: $22.4 \pm 2.0 \mu\text{m}$ ($n = 5$). Pirenoides presentes (Figura 12 A). Superficie de las tecas de textura suave, presentando un patrón de poros

***Prorocentrum rathymum* Loeblich III, Sherley and Schmidt, 1979.**

Description: Cell with asymmetric shape, oval and oblong. Dorsoventral length: $32.1 \pm 3.8 \mu\text{m}$; transdiameter: $22.4 \pm 2.0 \mu\text{m}$ ($n = 5$), with pyrenoids present (Figure 12A). The texture of the thecal surface is soft and presents a characteristic pore pattern with a row of apical pores and some rows of radial pores towards the posterior end (Figure 12C and D). The central portion of the theca is devoid of pores (Figure 12C). A narrow U-shaped periflagellar area is observed; one end of periflagellar plate 1 extends as a spine projecting towards the right apical end of the cell (Figure 12A-B and D). There is controversy surrounding the taxonomy of this species because in some studies, *Prorocentrum rathymum* has been considered

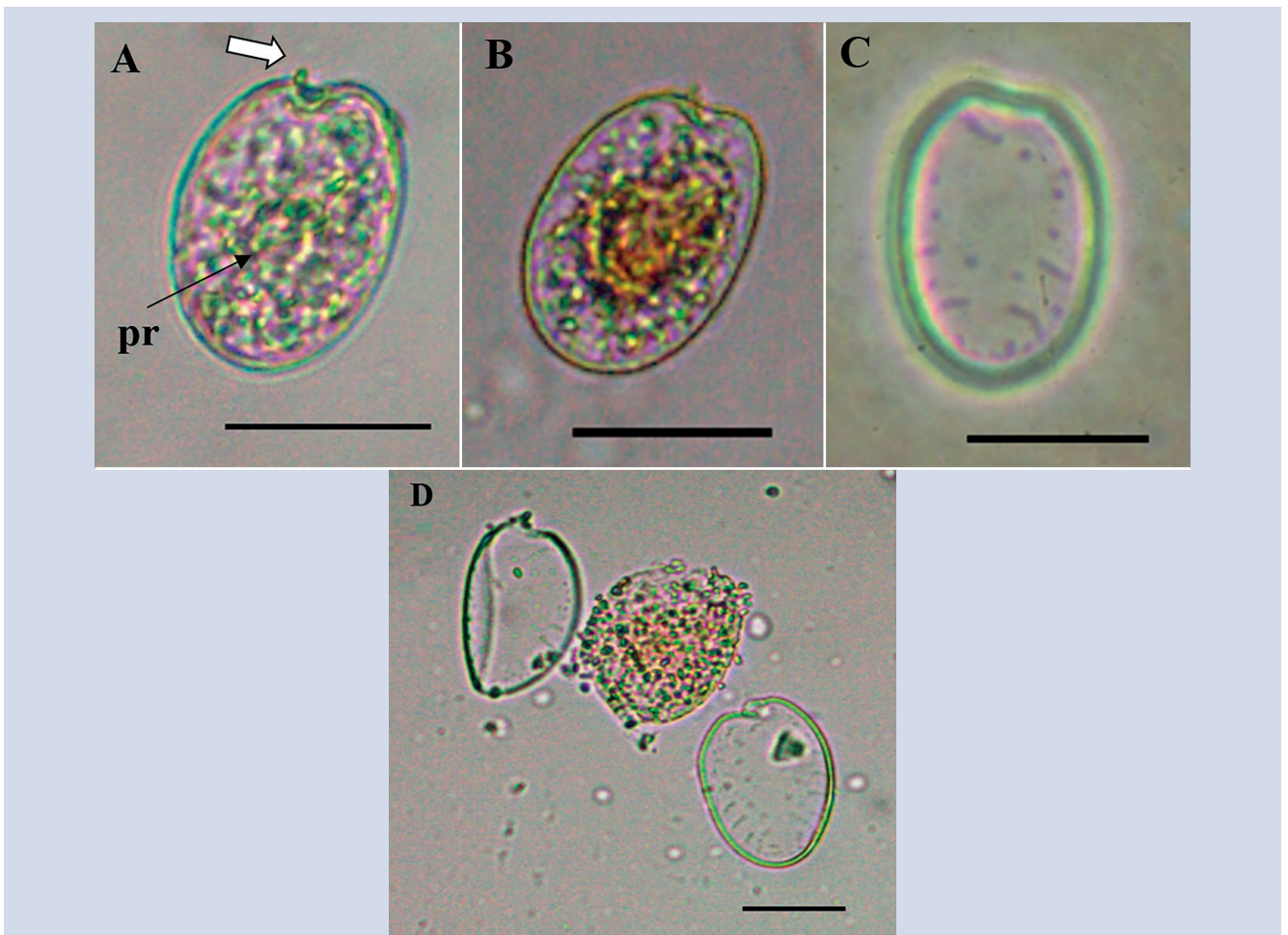


Figure 12. Micrografías de *Prorocentrum rathymum* al microscopio óptico. A-B. Vista de la teca derecha (la flecha señala la espina apical). C. Vista de la teca izquierda y patrón de poros. D. Separación de las tecas, en el centro material citoplasmático. Pr: pirenoide. Barra de escala (A-D) = 20 μm .

Figura 12. Micrographs of *Prorocentrum rathymum* under optical microscope. A-B. Right theca view (arrows indicate the apical spine). C. Left theca view and pore pattern. D. Separation of the two thecas, cytoplasmic material in the center. Pr: pyrenoid. Scale bar (A-D) = 20 μm .

característico, una hilera de poros apicales y algunas hileras de poros radiales hacia el extremo posterior (Figura 12 C y D). Porción central de las tecas desprovistas de poros (Figura 12 C). Área periflagelar estrecha en forma de “U”; uno de los extremos de la placa periflagelar 1 se extiende en forma de espina proyectándose hacia el extremo apical derecho de la célula (Figura 12 A-B, D). Existe una controversia en la taxonomía de esta especie, teniendo en cuenta que en algunos estudios se ha considerado que *Prorocentrum rhathymum* es sinónima de *P. mexicanum* (Faust, 1990; Steidinger y Tangen, 1996; Faust y Gullede 2002), mientras que en otros se definen como especies diferentes (Cortés-Altamirano y Sierra-Beltrán, 2003). Sin embargo, en el reciente estudio realizado por Gómez *et al.* (2017), basado en análisis morfológicos y moleculares, se confirma que se tratan de la misma especie.

Hábitat: Especie marina, epibentónica, común sobre macroalgas y otros sustratos. Se encuentra ampliamente distribuida en aguas tropicales y templadas (Hallegraeff *et al.*, 2004).

Toxicidad: Potencial productora de toxinas. Bomber y Aikman (1989) registraron la presencia de toxinas hemolíticas en cultivos de la especie. No se ha confirmado su toxicidad en el área de muestreo.

Prorocentrum cf. concavum Fukuyo, 1981

Descripción: Célula ancha, redondeada ovoide, algo más estrecha hacia la parte apical (Figura 13). Longitud dorsoventral: $44.9 \pm 0.6 \mu\text{m}$; transdiámetro: $39.3 \pm 1.3 \mu\text{m}$; ($n = 3$), con presencia de pirenoides (Figura 13 A y B). Superficie de las tecas reticulada-excavada con poros, los cuales no se encuentran en el centro de éstas (Figura 13 D), haciéndose más densos hacia los márgenes de las células. Área periflagelar con una amplitud notoria hacia los extremos laterales en forma de “V” (Figura 13 A y B). No fue posible hacer un estudio más detallado del organismo para confirmar la especie debido a que sólo se observaron un par de células en las muestras.

Hábitat: Organismo marino, frecuentemente asociado a macroalgas y sobre sedimento (Faust *et al.*, 1999), tanto en el Pacífico (Fukuyo, 1981) como en el Caribe (Valerio y Díaz, 2007; Almazán-Becerril *et al.*, 2015).

Toxicidad: Se ha demostrado que *P. concavum* es capaz de producir potentes toxinas, incluyendo ácido okadaico y algunos compuestos icthiotóxicos no definidos (Bomber y Aikman, 1989; Dickey *et al.*, 1990; Faust *et al.*, 1999), pero no se ha comprobado la toxicidad de este organismo en la zona de muestreo.

synonymous with *P. mexicanum* (Faust, 1990, Steidinger and Tangen, 1996, Faust and Gullede 2002), whereas in other studies it has been defined as a separate species (Cortés-Altamirano and Sierra-Beltrán, 2003). However, in a recent study based on morphological and molecular analyses, Gómez *et al.* (2017) confirmed that these were the same specie.

Habitat: Marine species, epibenthic, common on macroalgae and other substrates. This species is widely distributed in tropical and temperate waters (Hallegraeff *et al.*, 2004).

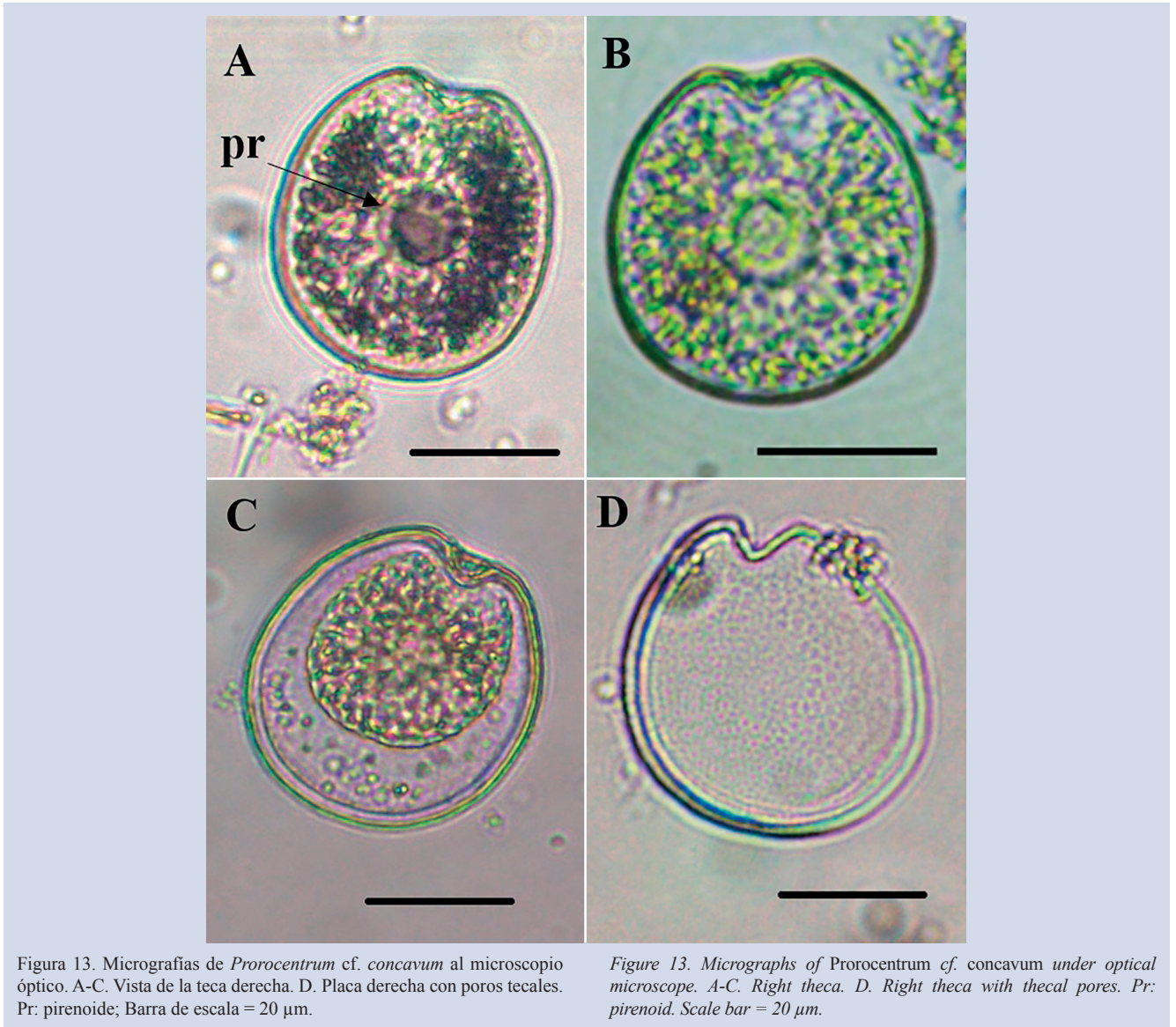
Toxicity: Potential toxin-producer. Bomber and Aikman (1989) recorded the presence of hemolytic toxins in cultures of the species. No toxicity has been confirmed in the sampling area.

Prorocentrum cf. concavum Fukuyo, 1981

Description: The cell is wide with a rounded ovoid shape that is somewhat narrow towards the apical portion (Figure 13). Dorsoventral length: $44.9 \pm 0.6 \mu\text{m}$; transdiameter: $39.3 \pm 1.3 \mu\text{m}$; ($n = 3$), with the presence of pyrenoids (Figure 13A and B). The thecal surface is reticulated-excavated with pores, absent in the center of the thecal plates (Figure 13D) and become denser towards the margins of the cell. The periflagellar area is noticeably pronounced towards the V-shaped lateral ends (Figure 13A and B). It was not possible to perform a more detailed study of the organism to confirm the species because only one pair of cells was observed in the samples.

Habitat: Marine organism, often associated with macroalgae and sediment (Faust *et al.*, 1999) both in the Pacific (Fukuyo, 1981) and in the Caribbean (Valerio and Díaz, 2007; Almazán-Becerril *et al.*, 2015).

Toxicity: *P. concavum* has been shown to be capable of producing potent toxins, including okadaic acid and some undefined ichthyotoxic compounds (Bomber and Aikman, 1989; Dickey *et al.*, 1990; Faust *et al.*, 1999), but the toxicity of this organism has not been verified in the sampling area.



Prorocentrum sp. 1

Descripción: Célula simétrica, ovalada oblonga, ocasionalmente redondeada. Longitud dorso-ventral: $41.0 \mu\text{m} \pm 2.3$; transdiámetro: $33.8 \mu\text{m} \pm 2.4$ ($n = 24$), con pirenoides presentes (Figura 14). Superficie de las placas de textura suave, con pequeños poros poco visibles en microscopio óptico de luz, dispuestos de forma irregular (Figura 14 D-F). Área periflagelar en forma de “U” poco marcada. Similar a *P.* cf. *concavum*, sin embargo, difieren en su tamaño, en la forma del área periflagelar, siendo más amplia en *P.* cf. *concavum* y en el patrón de poros (Figura 14 D-F). Es necesario realizar un estudio más detallado del organismo para determinar con certeza a qué especie pertenece.

Prorocentrum sp. 1

Description: The cell is symmetric, oblong oval and occasionally rounded. Dorsoventral length: $41.0 \mu\text{m} \pm 2.3$; transdiameter: $33.8 \mu\text{m} \pm 2.4$ ($n = 24$), with pyrenoids present (Figure 14). The texture of the plate surface is smooth, with small pores arranged irregularly that are difficult to observe under a light microscope (Figure 14D-F). The U-shaped periflagellar area is not very pronounced. Similar to *P.* cf. *concavum*, but differs in the cells size, pores pattern (Figure 14D-F) and in the periflagellar area, which is wider in *P.* cf. *concavum*. A more detailed study of the organism is necessary to determine which species it belongs to.

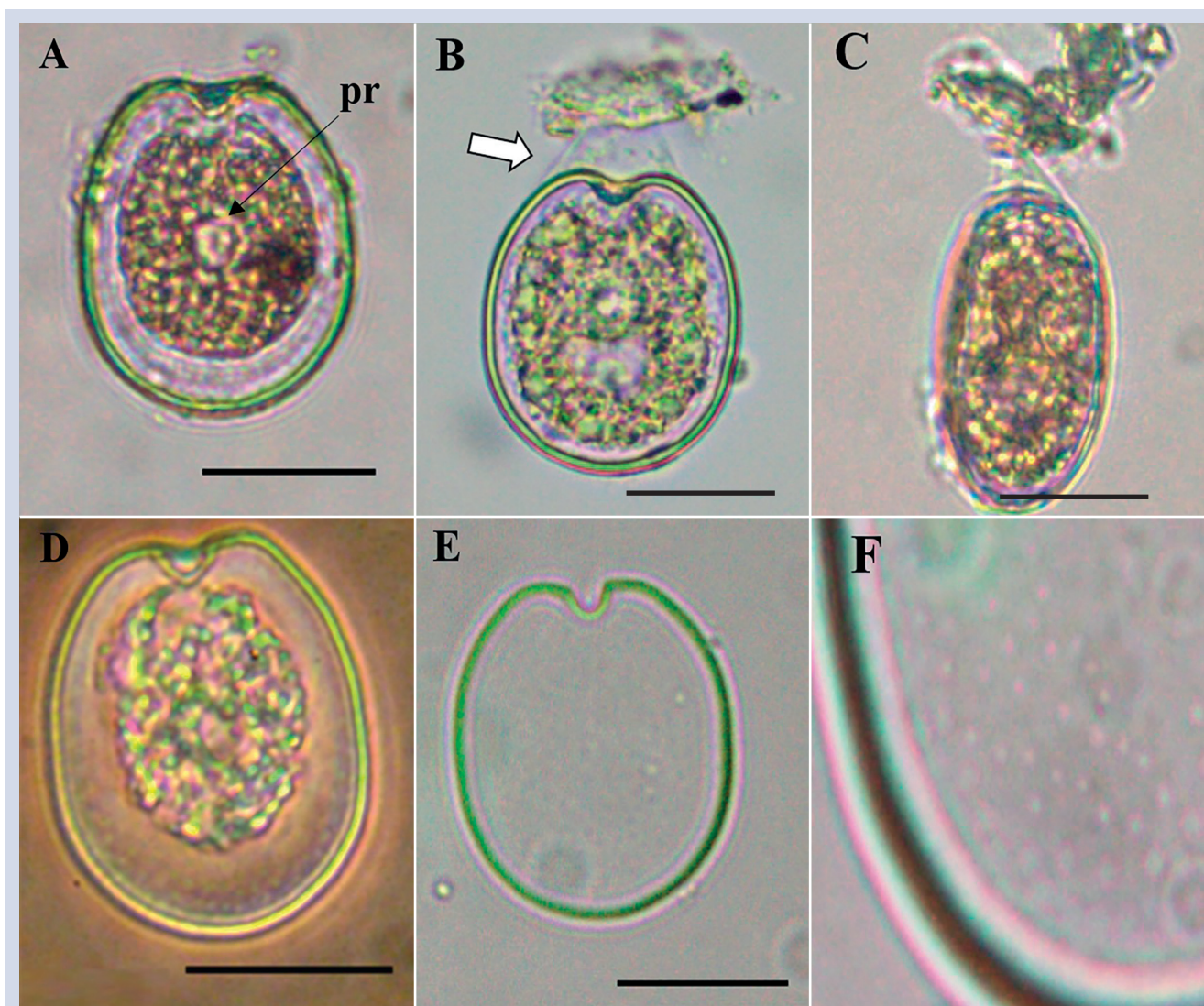


Figura 14. Micrografías de *Prorocentrum* sp1 al microscopio óptico. A. Vista de la teca derecha. B. Detalle de la célula adherida a una partícula (la flecha señala el mucus). C. Vista lateral de célula adherida a detritus. D. Vista ventral. E. Placa derecha; F. Detalle de la superficie tecal con pequeños poros. Pr: pirenoides. Barra de escala = 20 μ m.

Figure 14. Micrographs of *Prorocentrum* sp1 under optical microscope. A. Right theca. B. Detail of a cell attached to a particle (arrow indicating mucus). C. Lateral view of a cell attached to detritus. D. Ventral view. E. Right plate. F. Detail of the thecal surface with small pores. Pr: pirenoid. Scale bar = 20 μ m.

Prorocentrum sp. 2

Descripción: Célula asimétrica ovalada oblonga. Longitud dorso-ventral: 47.0 μ m \pm 1.0; transdiámetro: 32.0 μ m \pm 1.6 ($n = 8$), en forma de frijol. Margen derecho redondeado y el margen izquierdo presenta una curvatura hacia el centro de la célula. Superficie de las tecas de textura suave, varias hileras de poros radiales hacia el extremo posterior de la célula. Área periflagelar poco profunda en forma de “V” de la cual sobresale una espina apical alargada, no siempre visible en todas las células debido a que parece ubicarse de forma horizontal sobre

Prorocentrum sp. 2

Description: The cell is asymmetric with an oval oblong shape. Dorsoventral length: 47.0 μ m \pm 1.0; transdiameter: 32.0 μ m \pm 1.6 ($n = 8$), bean-shaped. The right margin is rounded, and the left margin shows a curvature towards the center of the cell. The thecal surface is soft-textured, with several rows of radial pores towards the posterior end of the cell. The V-shaped shallow periflagellar area has an elongated protruding apical spine that is not always visible in all cells because it appears to lie horizontally over the periflagellar area (Figure 15A and

el área periflagelar (Figura 15 A, E). La especie presenta características similares a las de *P. rhathymum* y *P. shikokuense*, pero difiere de éstas en su forma y tamaño, siendo mucho mayor respecto a *P. rhathymum*, la cual no presenta la curvatura del extremo izquierdo. Respecto a *P. shikokuense*, es clara la diferencia en el patrón de poros. En las células observadas en el presente estudio, no se detectó la banda intercalaria ancha con estrías, como lo describen Su-Myat y Koike (2013). Es necesario un estudio más detallado del organismo para identificarlo a nivel de especie. No fue posible obtener mayor información debido a su baja frecuencia en las muestras durante el periodo de muestreo.

E). The species presents characteristics similar to those of *P. rhathymum* and *P. shikokuense* but differs from these species in their shapes and sizes; the cell is much larger than *P. rhathymum*, which does not have the curvature to the left end of the cell. Compared to *P. shikokuense*, the difference in the pore pattern is clear. In the cells observed in the present study, the wide striated intercalary band described by Su-Myat and Koike (2013) was not detected. A more detailed study of the organism is necessary for identification at the species level. We could not obtain further information due to its low frequency in the samples during the sampling period.

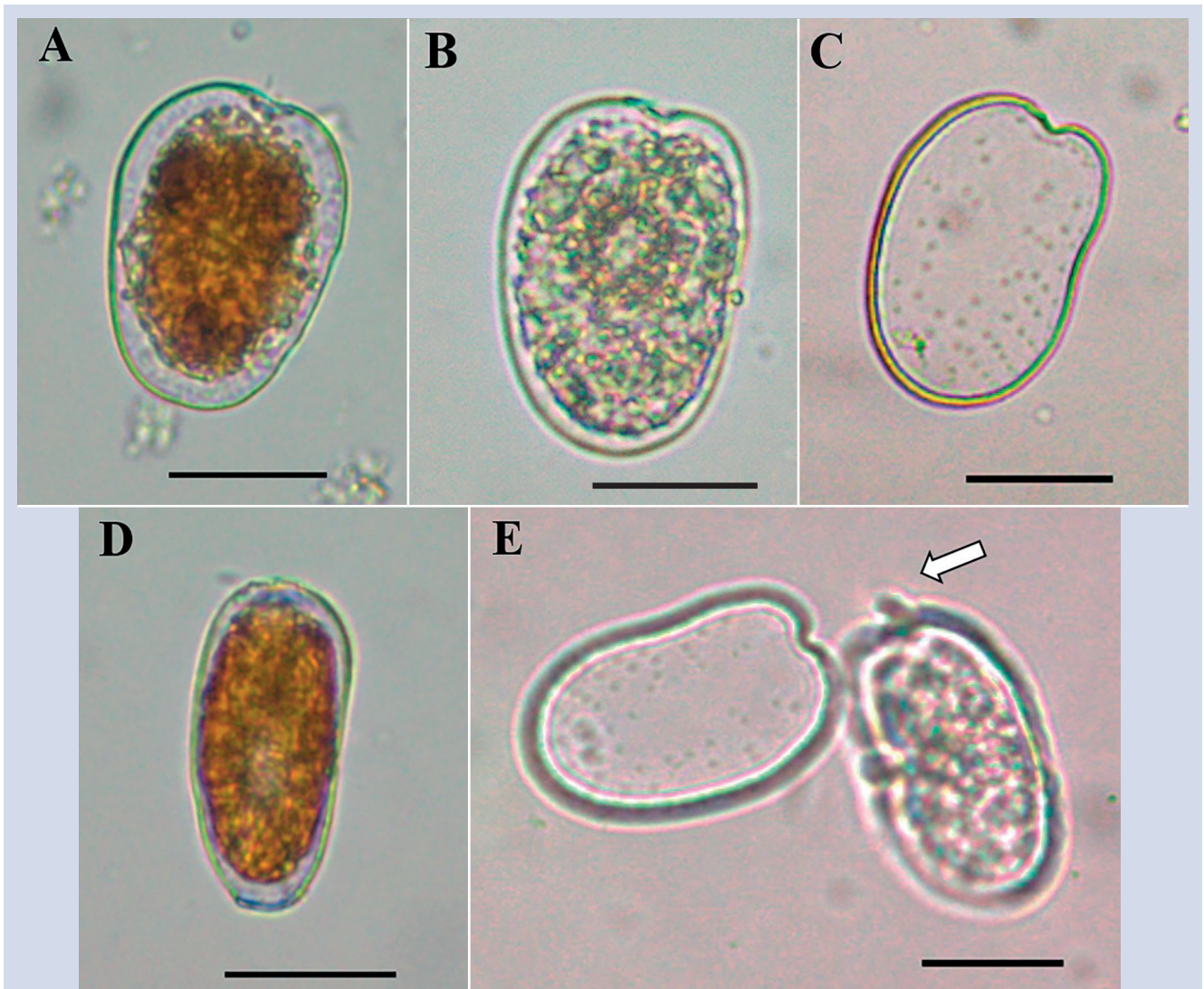


Figura 15. Micrografías de *Prorocentrum* sp. 2 al microscopio óptico. A-B. Vista de la teca derecha. C. Teca derecha con patrón de poros. D. Vista lateral; E. Separación de las thecas, la flecha señala la espina apical. Barra de escala = 20 μ m.

Figure 15. Micrographs *Prorocentrum* sp. 2 under optical microscope. A-B, Right theca. C. Right theca with pore pattern. D, Lateral view. E. Separation of the two thecas, arrow indicates apical spine. Scale bar = 20 μ m.

BIODIVERSIDAD

En términos generales, la riqueza de especies en la zona de estudio (14 especies) se mantuvo dentro del ámbito registrado por otros autores, quienes en investigaciones previas realizadas en la Polinesia Francesa, Nueva Caledonia, Japón, Cuba y México, registraron menos de 25 especies conformando los ensamblajes de dinoflagelados epifitos/bentónicos sobre diversos sustratos (Fukuyo, 1981; Vila *et al.*, 2001; Delgado *et al.*, 2006; Okolodkov *et al.*, 2007, 2014; Peraza y Moreira, 2012; Almazán-Becerril *et al.*, 2015; Martínez-Cruz *et al.*, 2015), con una composición de especies similar a la observada en Chengue. Sin embargo, el número de especies en el presente estudio fue superior respecto a lo registrado por Rodríguez *et al.* (2010), quienes cuantificaron un total de ocho especies epífitas sobre *T. testudinum*, en la isla de San Andrés, Caribe colombiano. Cabe resaltar que el muestreo de estos autores fue durante un menor periodo de tiempo (dos meses), lo cual podría explicar esta diferencia.

Es evidente, tanto en las descripciones como en las imágenes obtenidas, la variabilidad morfológica (forma y tamaño) observada en algunas especies, lo cual hace que la identificación a nivel de especie con métodos tradicionales de microscopía óptica sea compleja e inclusive confusa. Es necesario implementar distintas estrategias para hacer correctamente la identificación. Entre ellas, establecer cultivos con el fin de conseguir suficientes células para observarlas en microscopio electrónico de barrido y lograr su análisis desde diferentes ángulos. Así mismo, es fundamental complementar el análisis óptico con el genético, aplicando técnicas moleculares, para apoyar los resultados. La correcta identificación de la especie es fundamental para cualquier estudio que pretenda aportar elementos para la gestión del riesgo frente a efectos tóxicos o nocivos por dinoflagelados bentónicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimiento al Instituto de Investigaciones Marinas “Jose Benito Vives de Andreis”- INVEMAR, contribución No. 1162, al Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADS) y a la Agencia Internacional de Energía Atómica (IAEA en inglés), co-financiadores del proyecto “Establecimiento de una red de observaciones en el Caribe para evaluar la acidificación de los océanos y su impacto en las floraciones

BIODIVERSITY

In general terms, the species richness in the study area (14 species) remained within the range reported by other authors. Previous research conducted in French Polynesia, New Caledonia, Japan, Cuba and Mexico recorded less than 25 species forming epiphytic/benthic dinoflagellate assemblies on various substrates (Fukuyo, 1981; Vila *et al.*, 2001; Delgado *et al.*, 2006; Okolodkov *et al.*, 2007, 2014; Peraza and Moreira, 2012; Almazán-Becerril *et al.*, 2015; Martínez-Cruz *et al.*, 2015), with a species composition similar to that observed in Chengue. However, the number of species in the present study was higher than that recorded by Rodríguez *et al.* (2010), who quantified a total of eight epiphytic species on *T. testudinum* on the island of San Andres, Colombian Caribbean. Notably, the sampling performed by these authors was for a shorter period of time (two months), which could explain this difference.

Morphological variability (shape and size) was evident in some species in both the descriptions and the images obtained, which made identification at the species level using traditional light microscopy methods complex and even confusing. Different strategies need to be implemented for correct identification, such as establishing cultures to obtain sufficient cells for observation under a scanning electron microscope and analysis from different angles. Additionally, the optical analysis must be complemented with a genetic analysis by applying molecular techniques to support the results. Correct identification of the species is fundamental for any study that intends to provide elements for risk management against toxic or harmful effects of benthic dinoflagellates.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are most grateful to Marine and Coastal Research Institute “Jose Benito Vives de Andreis”. INVEMAR (Contribution N°1162), to the Ministry of Environment and Suitable Development (MADS) and the International Atomic Energy Agency (IAEA), co-funders of the project “Establishment of an observation net in the Caribbean to evaluate the acidification of the ocean and its impact blossoming of harmful algae through the use of nuclear and isotropic techniques”, which provided basic information to furge the present study. Special thanks are expressed to the Universidad Nacional de Colombia, the Marine Science Institute – Cecimar (Caribbean office)

de algas nocivas, a través del uso de técnicas nucleares e isotópicas”, del cual se obtuvo información básica para desarrollar el presente estudio. Se agradece a la Universidad Nacional de Colombia Sede Caribe, Instituto de Estudios en Ciencias del Mar –Cecimar, contribución No. 461 y sede Bogotá, Proyecto HERMES 28292. Al Banco Español de Algas de Gran Canarias, en particular al señor E. Soler Onís y al Jardín Botánico de Gran Canarias “Viera y Clavijo” por su apoyo con la metodología y el uso del MEB. Se agradece también a los señores E. Arteaga por su apoyo en laboratorio y en campo y S. Fraga por la colaboración confirmando la identificación de algunas especies. Este documento hace parte de la tesis de maestría de la primera autora.

and the Biology Postgraduated program – Marine Biology Line (N°461) Bogotá office, HERMES project 28292. The Banco Español de Algas de Gran Canarias, specially Mr. E. Soler Onís and the Botanical Garden of Gran Canarias “Viera y Clavijo” are warmly thanked for their support in methodology and in the use of MEB. Thanks are also expressed to Mr. E. Arteaga for his support in the laboratory and in the field, and to Mr. S. Fraga for his collaboration in confirming the identification of several species. This document is part of the Master’s thesis of the first author.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Almazán-Becerril, A., S. Escobar-Morales, G. Rosiles-González and F. Valadez. 2015. Benthic-epiphytic dinoflagellates from the northern portion of the Mesoamerican Reef System. *Bot. Mar.*, 58(2): 115–128.
- Álvarez, R. 1997. Primer caso de ciguatera en el Caribe colombiano por *Seriola zonata* (Mitchill, 1815) (Pisces: Carangidae). *Biomédica*, 17: 67-68.
- Álvarez, R. 1999. Tres brotes de ictiosarcotoxicosis por ingestión de *Sphyrna barracuda* (Walbaum) y *Seriola zonata* (Mitchill) en el Caribe de Colombia. *Biomédica*, 9:35-38.
- Álvarez-León, R., G. Ramírez-Triana y E. Wedler. 1995. Registro de las condiciones ambientales de la laguna sur (bahía de Chengue, Caribe colombiano) entre 1981-1984. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.*, 19 (74): 509-525.
- An, T., J. Winshell, G. Scorzetti, J.W. Fell and K.S. Rein. 2010. Identification of okadaic acid production in the marine dinoflagellate *Prorocentrum rhathymum* from Florida Bay. *Toxicon*, 55(2-3): 653–657.
- Arcila-Herrera, H., J. Mendoza-Ayora, F. González-Franco, L. Montero-Cervantes y A. Castelo-Navarrete. 2001. Revisión de una enfermedad poco conocida: la ciguatera. *Rev Biomed.*, 12:27-34.
- Ashton, M., T. Tosteson and C. Tosteson. 2003. The effect of elevated temperature on the toxicity of the laboratory cultured dinoflagellate *Ostreopsis lenticularis* (Dinophyceae). *Rev. Biol. Trop.*, 4:1-6.
- Besada, E.G., L.A. Loeblich and A.R. Loeblich. 1982. Observations on tropical, benthic dinoflagellates from ciguatera-endemic areas: *Coolla*, *Gambierdiscus*, and *Ostreopsis*. *Bull. Mar. Sci.*, 32(3): 723-735.
- Bomber, J. W. and K. E. Aikman. 1989. The ciguatera dinoflagellates. *Biol. Oceanogr.*, 6: 291–311.
- Brissard, C., C. Herrenknecht, V. Séchet, F. Hervé, F. Pisapia, J. Harcouet, R. Lémée, N. Chomérat, P. Hess and Z. Amzil. 2014. Complex toxin profile of French Mediterranean *Ostreopsis* cf. *ovata* strains, seafood accumulation and ovatoxins prepurification. *Mar. Drugs*, 12: 2851-2876.
- Celis, J.S. y J.E. Mancera-Pineda. 2015. Análisis histórico de la incidencia de ciguatera en las islas del Caribe durante 31 años: 1980 – 2010. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, 44: 7-32.
- Chomérat, N., D.Y. Sellos, F. Zentz and E. Nézan. 2010. Morphology and molecular phylogeny of *Prorocentrum consutum* sp nov. (Dinophyceae), a new benthic dinoflagellate from south Brittany (northwestern France). *J. Phycol.*, 46(1): 183-194.
- Ciminiello, P., C. Dell’Aversano, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, C. Grillo and N. Melchiorre. 2011. Putative palytoxin and its new analogue, ovatoxin-a, in *Ostreopsis ovata* collected along the Ligurian coasts during the 2006 toxic outbreak. *J. Am. Soc. Mass. Spect.*, 19: 111-120.
- Ciminiello, P., C. Dell’Aversano, E. Dello Iacovo, E. Fattorusso, M. Forino, L. Tartaglione, G. Benedettini, M. Onorari, F. Serena, C. Battocchi, S. Casabianca and A. Penna. 2014. First finding of *Ostreopsis* cf. *ovata* toxins in marine aerosols. *Environ. Sci. Technol.*, 48(6): 3532-3540.
- Cortés-Altamirano, R. and A.P. Sierra-Beltrán. 2003. Morphology and taxonomy of *Prorocentrum mexicanum* and reinstatement of *Prorocentrum rhathymum* (Dinophyceae). *J. Phycol.*, 39: 221-225.
- Del Favero, G., S. Silva, M. Pelin, E. D’Orlando, C. Florio, P. Lorenzon, M. Poli and A. Tubaro. 2012. Sanitary problems related to the presence of *Ostreopsis* spp. in the Mediterranean Sea: a multidisciplinary scientific approach. *Ann. Ist. Super. Ann. Ist. Super. Sanità*, 48(4): 407-414.
- Delgado, G. 2005. Dinoflagelados bentónicos tóxicos asociados a la ciguatera: abundancia, toxicidad y relación con los factores ambientales en un área del litoral noroccidental de Cuba. Tesis doctorado Ciencias del Mar, Centro Invest. Biol. Noroeste S.C. La Paz, México. 72 p.

- Delgado, G., G. Popowski, C. García, N. Lagos and C.H. Lechuga-Devéz. 2005. Presence of DSP-toxins in *Prorocentrum lima* (Ehrenberg) Dodge in Cuba. *Rev. Invest. Mar.*, 26(3): 229-234.
- Delgado, G., C.H. Lechuga-Devéz, G. Popowski, L. Troccoli and C.A. Salinas. 2006. Epiphytic dinoflagellates associated with ciguatera in the northwestern coast of Cuba. *Rev. Biol. Trop.*, 54(2): 299-310.
- Dickey, R.W., S.C. Bobzin, D.J. Faulkner, F.A. Bencsath and D. Andrzejewski. 1990. Identification of okadaic acid from a Caribbean dinoflagellate, *Prorocentrum concavum*. *Toxicon*, 28(4): 371-377.
- Faust, M. A. 1990. Morphologic details of six benthic species of *Prorocentrum* (Pyrrhophyta) from a mangrove island, Twin Cays, Belize, including two new species. *J. Phycol.*, 26: 548-558.
- Faust, M.A. 1992. Observations on the morphology and sexual reproduction of *Coolia monotis* (Dinophyceae). *J. Phycol.*, 28: 94-104.
- Faust, M.A. 1995. Observation of sand-dwelling toxic dinoflagellates (Dinophyceae) from widely differing sites, including two new species. *J. Phycol.*, 31: 996-1003.
- Faust, M.A. 1999. Three new *Ostreopsis* species (Dinophyceae): *O. marinus* sp. nov., *O. belizeanus* sp. nov., and *O. caribbeanus* sp. nov. *Phycologia*, 38(2): 92-99.
- Faust, M.A. 2009. Ciguatera-causing dinoflagellates in a coral-reef-mangrove ecosystem, Belize. *Atoll Res. Bull.*, 569: 1-32.
- Faust, M.A. and R.A. Gualledge. 2002. Identifying harmful marine dinoflagellates. *Smithson. Contr. U.S Nat. Herb.*, 42:1-144.
- Faust, M.A., S.L. Morton and J.P. Quod. 1996. Further SEM study of marine dinoflagellates: The genus *Ostreopsis* (Dinophyceae). *J. Phycol.*, 32: 1053-1065.
- Faust, M.A., J. Larsen and Ø. Moestrup. 1999. Potentially toxic phytoplankton. 3. Genus *Prorocentrum* (Dinophyceae). ICES Identification Leaflets for Plankton. Ed. J.A. Lindley. Natural Environment Research Council. Copenhagen. 24 p.
- Fraga, S., A. Penna, I. Bianconi, B. Paz and M. Zapata. 2008. *Coolia canariensis* sp. nov. (Dinophyceae), a new nontoxic epiphytic benthic dinoflagellate from the Canary Islands. *J. Phycol.*, 44: 1060-1070.
- Fraga, S., F. Rodríguez, A. Caillaud, J. Diogène, N. Raho and M. Zapata. 2011. *Gambierdiscus excentricus* sp. nov. (Dinophyceae), a benthic toxic dinoflagellate from the Canary Islands (NE Atlantic Ocean). *Harmful Algae*, 11: 10-22.
- Fraga, S., F. Rodríguez, P. Riobó and I. Bravo. 2016. *Gambierdiscus balechii* sp. nov. (Dinophyceae), a new benthic toxic dinoflagellate from the Celebes Sea (SW Pacific Ocean). *Harmful Algae*, 58: 93-105.
- Fritz L. and R.E. Trimer. 1985. A rapid and simple technique utilizing calcofluor white MR2 for visualization of dinoflagellate technology. *J. Phycol.*, 21: 662-64.
- Fukuyo, Y. 1981. Taxonomical study on benthic dinoflagellates collected in coral reefs. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 47:967-78.
- Gaitán, J.D. 2007. Ictiotoxismo por consumo de barracuda (*Sphyrna barracuda*) y morena manchada (*Gymnothorax moringa*) en la comunidad de pescadores artesanales de Tasajera, Caribe colombiano. *Duazary*, 4(2): 160-167.
- Gallitelli, M., N. Ungaro, L.M. Addante, V. Procacci, N.G. Silveri and C. Sabbá. 2005. Respiratory illness as a reaction to tropical algal blooms occurring in a temperate climate. *JAMA*, 293(21): 2599-2600.
- Gómez, F., D. Qiu, E. Otero-Morales, R.M. Lopes and S. Lin. 2016. Circumtropical distribution of the epiphytic dinoflagellate *Coolia malayensis* (Dinophyceae): Morphology and molecular phylogeny from Puerto Rico and Brazil. *Phycol. Res.*, 64: 194-199.
- Gómez, F., D. Qiu and S. Lin. 2017. The synonymy of the toxic dinoflagellates *Prorocentrum mexicanum* and *P. rhathymum* and the description of *P. steidingeriae* sp. nov. (Prorocentrales, Dinophyceae). *J. Eukaryot. Microbiol.*, 0: 1-10.
- Gorbi, S., R. Bocchetti, A. Binelli, S. Bacchiocchi, R. Orletti, L. Nanetti, F. Raffaelli, A. Vignini, S. Accoroni, C. Totti and F. Regoli. 2012. Biological effects of palytoxin-like compounds from *Ostreopsis cf. ovata*: A multibiomarkers approach with mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Chemosphere*, 89: 623-632.
- Granéli, E., N.K. Vidyarthna, E. Funari, P.R.T. Cumarantunga and R. Scenati. 2011. Can increases in temperature stimulate blooms of the toxic benthic dinoflagellate *Ostreopsis ovata*? *Harmful Algae*, 10: 165-172.
- Guiry, M.D. and G.M. 2016. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; Consultado 15/01/2016.
- Hallegraeff, G.M., D.M. Anderson and A.D. Cembella. 2004. Manual on harmful marine microalgae. Monographs on Oceanographic Methodology, UNESCO. Paris. 793 P.
- Herrera-Sepúlveda, A., L. Medlin, G. Murugan, A.P. Sierra-Beltrán, A.A. Cruz-Villacorta and N.Y. Hernández-Saavedra. 2015. Are *Prorocentrum hoffmannianum* and *Prorocentrum belizeanum* (Dinophyceae, Prorocentrales) the same species? An integration of morphological and molecular data. *J. Phycol.*, 51: 173-188.
- Holland, W., W. Litaker, C.R. Tomas, S.R. Kibler, A.R. Place, E.D. Davenport and P.A. Tester. 2013. Differences in the toxicity of six *Gambierdiscus* (Dinophyceae) species measured using an in vitro human erythrocyte lysis assay. *Toxicon*, 65: 15-33.

- Holmes M., R.J. Lewis, M.A. Poli and N.C. Gillespie. 1991. Strain dependent production of ciguatoxin precursors (gambiertoxins) by *Gambierdiscus toxicus* (Dinophyceae) in culture. *Toxicon*, 29(6): 761-75.
- Holmes, M., R. Lewis, A. Jones and A. Wong. 1995. Cooliatoxin, the first toxin from *Coolia monotis* (Dinophyceae). *Nat. Toxins*, 3:355-362.
- Hoppenrath, M., N. Chomérat, T. Horiguchi, M. Schweinkert, Y. Nagahama and S. Murray. 2013. Taxonomy and phylogeny of the benthic *Prorocentrum* species (Dinophyceae) — A proposal and review. *Harmful Algae*, 27: 1-28.
- Hoppenrath, M., S. A. Murray, N. Chomérat and T. Horiguchi. 2014. Marine benthic dinoflagellates – unveiling their worldwide biodiversity. Ed. Senckenberg. Stuttgart. 276 p.
- Jeong, H.J., A.S. Lim, S.H. Hang, W.O. Yih, N.S. Kang, S.Y Lee, Y.D. Yoo and H.S Kim. 2012. First report of the epiphytic dinoflagellate *Gambierdiscus caribaeus* in the temperate waters off Jeju Island, Korea: morphology and molecular characterization. *J. Eukaryot. Microbiol.*, 59(6): 637–650.
- Karafas, S., R. York and C. Tomas. 2015. Morphological and genetic analysis of the *Coolia monotis* species complex with the introduction of two new species, *Coolia santacroce* sp. nov. and *Coolia palmyrensis* sp. nov. (Dinophyceae). *Harmful Algae*, 46: 18–33.
- Leaw, C-P., P-T. Lim, K-W. Cheng, B-K. Ng and G. Usup. 2010. Morphology and molecular characterization of a new species of thecate benthic dinoflagellate, *Coolia malayensis* sp. nov (Dinophyceae). *J. Phycol.*, 46: 162-171.
- Lee, J.S., T. Igarashi, S. Fraga, E. Dahl, P. Hovgaard and T. Yasumoto. 1989. Determination of diarrhetic shellfish toxins in various dinoflagellate species. *J. Appl. Phycol.*, 1: 147-152.
- Lenoir, S., L. Ten-Hage, T. Turquet, J.P. Quod, C. Bernard and M.C. Hennion. 2004. First evidence of palytoxin analogues from an *Ostreopsis mascarenensis* (Dinophyceae) benthic bloom in southwestern Indian Ocean. *J. Phycol.*, 40: 1042–1051.
- Levasseur, M., J. Couture, A.M. Weise, S. Michaud, M. Elbrächter, G. Sauvé and E. Bonneau. 2003. Pelagic and epiphytic summer distributions of *Prorocentrum lima* and *P. mexicanum* at two mussel farms in the Gulf of St. Lawrence, Canada. *Aquat. Microb. Ecol.*, 30: 283–293.
- Lewis, R.J., M. Insera, I. Vetter, W.C. Holland, D.R. Hardison, P.A. Tester and R.W. Litaker. 2016. Rapid extraction and identification of maitotoxin and ciguatoxin-like toxins from Caribbean and Pacific *Gambierdiscus* using a new functional bioassay. *PLoS One*, 11(7): e0160006.
- Litaker, R.W., M. Vandersea, M. Faust, S. Kibler, M. Chinain, M. Holmes, W. Holland and P. Tester. 2009. Taxonomy of *Gambierdiscus* including four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*, *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (Gonyaulacales, Dinophyceae). *Phycologia*, 48(5): 344–390.
- Litaker, R.W., M. Vandersea, M. Faust, S. Kibler, A.W. Nau, W. Holland, M. Chinain, M. Holmes and P.A. Tester. 2010. Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon*, 56: 711–730.
- Mancera-Pineda, J.E., B. Gavio y G. Arencibia. 2009. Floraciones algales nocivas, intoxicación por microalgas e impactos en el desarrollo regional: el caso de San Andrés isla, Caribe colombiano, 46-62. En: Mancera-Pineda, J.E., O. Sierra y S. Pérez. (Eds.) 2009. Cuadernos del Caribe, 13, 78 p.
- Martínez-Cruz, M.E., Y. Okolodkov, A.C. Aguilar-Trujillo and J.A. Herrera-Silveira. 2015. Epiphytic dinoflagellates on the seagrass *Thalassia testudinum* at Dzilam, southeastern Gulf of Mexico. *Cymbella*, 3: 2-9.
- Mohammad-Noor, N., N. Daugbjerg, Ø. Moestrup and A. Anton. 2007. Marine epibenthic dinoflagellates from Malaysia - a study of live cultures and preserved samples based on light and scanning electron microscopy. *Nord. J. Bot.*, 24(6): 629-690.
- Mohammad-Noor, N., Ø. Moestrup, N. Lundholm, S. Fraga, A. Adam, M.J. Holmes and E. Saleh. 2013. Autecology and phylogeny of *Coolia tropicalis* and *Coolia malayensis* (Dinophyceae), with emphasis on taxonomy of *C. tropicalis* based on light microscopy, scanning electron microscopy and LSU rDNA. *J. Phycol.*, 49: 536–545.
- Morton, S.L. and J.W. Bomber. 1994. Maximizing okadaic acid content from *Prorocentrum hoffmannianum* Faust. *J. Appl. Phycol.*, 6: 41-44.
- Murakami, Y., Y. Oshima and T. Yasumoto. 1982. Identification of okadaic acid as a toxic component of a marine dinoflagellate *Prorocentrum lima*. *Nippon Suisan Gakk.*, 48: 69–72.
- Nascimento, S., E.V. Corrêa, M. Menezes, D. Varela, J. Paredes and S. Morris. 2012. Growth and toxin profile of *Ostreopsis cf. ovata* (Dinophyta) from Rio de Janeiro, Brazil. *Harmful Algae*, 13: 1-9.
- Okolodkov, Y., F. Merino-Virgilio, J. Aké- Castillo, A. Aguilar-Trujillo, S. Espinosa-Matías and J. Herrera-Silveira. 2014. Seasonal changes in epiphytic dinoflagellate assemblages near the northern coast of the Yucatan Peninsula, Gulf of Mexico. *Acta Bot. Mex.*, 107: 121-151.
- Parsons, M.L., K. Aligizaki, M.-Y. Dechraoui Bottein, S. Fraga, S.L. Morton, A. Penna and L. Rhodes. 2012. *Gambierdiscus* and *Ostreopsis*: Reassessment of the state of knowledge of their taxonomy, geography, ecophysiology, and toxicology. *Harmful Algae*, 14: 107–129.
- Penna, A., M. Vila, S. Fraga, M.G. Giacobbe, F. Andreoni, P. Riobó and C. Vernesi. 2005. Characterization of *Ostreopsis* and *Coolia* (Dinophyceae) isolates in the western Mediterranean Sea based on morphology, toxicity and internal transcribed spacer 5.8s rDNA sequences. *J. Phycol.*, 41: 212–225.
- Peraza, R. y Á. Moreira. 2012. Composición y abundancia de dinoflagelados epibentónicos tecados potencialmente tóxicos de la Ensenada Guajimico, región Centro-Sur de Cuba. *Rev. Cub. Invest. Pesq.*, 29: 59-66.
- Reguera, B., R. Alonso, A. Moreira y S. Méndez. 2011. Guía para el diseño y puesta en marcha de un plan de seguimiento de microalgas productoras de toxinas. IOC Manuals and Guides 59, COI de UNESCO y OIEA, París y Viena, 46 p + Anexos.

- Rhodes, L., J. Adams, T. Suzuki, L. Briggs and I. Garthwaite. 2000. Toxic marine epiphytic dinoflagellates, *Ostreopsis siamensis* and *Coolia monotis* (Dinophyceae), in New Zealand. N. Z. J. Mar. Fresh., 34: 371-383.
- Rodríguez, A., J.E. Mancera-Pineda and B. Gavio. 2010. Survey of benthic dinoflagellates associated to beds of *Thalassia testudinum* in San Andrés Island, Seaflower Biosphere Reserve, Caribbean Colombian. Acta Biol. Col., 15(2): 231 – 248.
- Rodríguez-Ramírez, A., J. Nivia-Ruíz y J. Garzón-Ferreira. 2004. Características estructurales y funcionales del manglar de *Avicennia germinans* en la Bahía de Chengue (Caribe colombiano). Bol. Invest. Mar. Cost., 33: 223-244.
- Steidinger, K. and K. Tangen. 1996. Dinoflagellates. 387-598. In: C.R. Tomas (Ed.). 1996. Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates. Academic Press, New York.
- Su-Myat and K. Koike. 2013. A red tide off the Myanmar coast: Morphological and genetic identification of the dinoflagellate composition. Harmful Algae, 27(7):149–158.
- Tester, P.A., S. Kibler, W. Holland, G. Usup, M. Vandersea, C.P. Leaw, L.P. Teen, J. Larsen, N. Mohammad-Noor, M.A. Faust and R.W. Litaker. 2014. Sampling harmful benthic dinoflagellates: Comparison of artificial and natural substrate methods. Harmful Algae, 39: 8–25.
- Tichadou, L., M. Glaizal, A. Armengaud, H. Grosseil, R. Lemée, R. Kantin, J.L. Lasalle, G. Drouet, L. Rambaud , P. Malfait and L. De Haro. 2010. Health impact of unicellular algae of the *Ostreopsis* genus blooms in the Mediterranean Sea: experience of the French Mediterranean coast surveillance network from 2006 to 2009. Clin. Toxicol., 48(8): 839-844.
- Torigoe, K., M. Murata and T. Yasumoto. 1988. Prorocentrolide, a toxic nitrogenous macrocycle from a marine dinoflagellate, *Prorocentrum lima*. J. Am. Chem. Soc., 110: 7876-7877.
- Tosteson, T.R., D.L. Ballantine, C.G. Tosteson, V. Hensley and A.T. Bardales. 1989. Associated bacterial flora, growth, and toxicity of cultured benthic dinoflagellates *Ostreopsis lenticularis* and *Gambierdiscus toxicus*. Appl. Environ. Microbiol., 55(1): 137-41.
- Tubaro A., P. Durando, G. Del Favero, F. Ansaldi, G. Icardi, J.R. Deeds and S. Sosa. 2011. Case definitions for human poisonings postulated to palytoxins exposure. Toxicon, 57(3): 478-495.
- Valerio, L. y J. Díaz. 2007. Dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos presentes en praderas de *Thalassia testudinum* en las costas nororientales de Venezuela. Rev. Fac. Agron., 24(1): 39-43.
- Valerio, L. y J. Díaz. 2008. Distribución de dinoflagelados epifitos potencialmente tóxicos asociados a praderas de *Thalassia testudinum* en la isla la Tortuga, la bahía de Mochima y golfo de Cariaco, Venezuela. Bol. Inst. Oceanogr., 47(1): 47-58.
- Vila, M., E. Garcés and M. Masó. 2001. Potentially toxic epiphytic dinoflagellate assemblages on macroalgae in the NW Mediterranean. Aquat. Microb. Ecol., 26: 51–60.
- Yasumoto, T., N. Seino, Y. Murakami and M. Murata. 1987. Toxins produced by benthic dinoflagellates. Biol. Bull., 172: 128-131.

RECIBIDO / RECEIVED: 24/10/2016

ACEPTADO / ACCEPTED: 08/07/2017

