

ARTICULO ORIGINAL

Clave dicotómica para la identificación preliminar de las especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* reportadas en la región del Caribe

Dichotomous key for preliminary identification of *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* species reported in the Caribbean region

Lisbet Díaz-Asencio^{1*}
Gabriel L. Rojas-Abrahantes¹
Gleisy Pérez-Avilleira¹
Donaida Chamero-Lago¹
Ángel R. Moreira-González¹

¹ Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos. Carretera a Castillo de Jagua Km 11/2, Ciudad Nuclear, Cienfuegos, Cuba

Autor para correspondencia:
lisbet@ccac.cu

OPEN ACCESS

Distribuido bajo:
Creative Commons Atribución-
NoComercial 4.0 Internacional
(CC BY-NC 4.0)

Editor:
Liliana Gómez Luna
Universidad de Oriente

Recibido: 15.09.2022
Aceptado: 06.06.2023

Resumen

Los géneros de dinoflagelados bentónicos *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* están entre los agentes causales de la ciguatera, intoxicación causada por el consumo de invertebrados y peces contaminados con ciguatoxinas. Debido a las similitudes morfológicas que presentan las especies pertenecientes a estos géneros, su identificación requiere del uso combinado de técnicas de microscopía y moleculares. Sin embargo, estas metodologías son poco accesibles para muchos países con limitados recursos económicos, donde lo más común es disponer en la práctica de la microscopía óptica. Este trabajo propone una clave dicotómica para la identificación preliminar de las especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* reportadas en la región del Caribe, utilizando caracteres morfológicos visibles al microscopio óptico convencional. La clave propuesta permite emplear un número limitado de caracteres morfológicos, lo cual fue posible al incluir pocas especies en el análisis.

Palabras clave: ciguatera, dinoflagelados, microalgas tóxicas, Mar Caribe, taxonomía.

Abstract

Benthic dinoflagellate genera *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* are among the causative agents of ciguatera poisoning, intoxication caused by the consumption of invertebrates and fish contaminated with ciguatoxins. Due to the morphological similarities that the species of these genera present, their identification requires the combined use of microscopy and molecular techniques. However, these methodologies are not always accessible to many countries with limited economic resources, where the most common is to have optical microscopy. This work proposes a dichotomous key for preliminary identification of *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* species reported in the Caribbean region, using morphological characters visible under a conventional light microscope. The proposed key allows the use of a limited number of morphological characters, which is possible because there are few species in the analysis.

Keywords: ciguatera, dinoflagellates, toxic microalgae, Caribbean Sea, taxonomy.

Introducción

La ciguatera es una intoxicación alimentaria, endémica de las regiones tropicales y subtropicales del planeta, que ocurre debido al consumo de invertebrados y peces contaminados con ciguatoxinas (Chinain *et al.* 2020). Estas biotoxinas son inicialmente producidas por especies de dinoflagelados bentónicos pertenecientes a los géneros *Gambierdiscus* R. Adachi & Y. Fukuyo y *Fukuyoa* F. Gómez, D.X. Qiu, R.M. Lopes & S. Lin, frecuentemente asociados con macroalgas y otros sustratos en arrecifes coralinos.

Hasta la fecha, han sido descritas globalmente 16 especies de *Gambierdiscus* y cuatro especies de *Fukuyoa*, a partir de la aplicación conjunta de métodos morfológicos y moleculares (Kretzschmar *et al.* 2019; Tester *et al.* 2020; Li *et al.* 2021). Específicamente para la región del Gran Caribe, se han reportado seis especies de *Gambierdiscus* (*G. belizeanus* M.A. Faust, *G. caribaeus* Vandersea, Litaker, M.A. Faust, Kibler, W.C. Holland & P.A. Tester, *G. carolinianus* Litaker, Vandersea, M.A. Faust, Kibler, W.C. Holland & P.A. Tester, *G. carpenteri* Kibler, Litaker, M.A. Faust, W.C. Holland, Vandersea & P.A. Tester, *G. excentricus* S. Fraga, *G. silvae* S. Fraga & F. Rodríguez) y *Gambierdiscus* ribotipo 2 aún no descrito (Litaker *et al.* 2010; Tester *et al.* 2013a); y una especie de *Fukuyoa* (*F. ruetzleri* (M.A. Faust, Litaker, Vandersea, Kibler, W.C. Holland & P.A. Tester) F. Gómez, D.X. Qiu, R.M. Lopes & Senjie Lin).

Debido a las similitudes morfológicas que estas especies presentan, su identificación requiere del uso combinado de técnicas de microscopía y moleculares. Utilizando estas herramientas, y caracteres como el tamaño, morfología de la célula, así como el tamaño y forma de las placas de la teca, Litaker *et al.* (2009) desarrollaron una clave dicotómica para la identificación de diez especies de *Gambierdiscus*. Sin embargo, el

escenario actual es mucho más complejo con la descripción de otras diez especies en la última década.

La ejecución de investigaciones sobre esta temática en regiones como el Caribe se dificulta, ya que las técnicas de microscopía electrónica para la observación detallada de determinados caracteres no son accesibles, y lo más común es disponer, en la práctica, únicamente de microscopía óptica. De las siete especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* reportadas para la región del Caribe, seis han sido identificadas en Cuba a través de la aplicación combinada de métodos morfológicos y moleculares (Díaz-Asencio *et al.* 2019a; Díaz-Asencio *et al.* 2019b). El pequeño número de especies a diferenciar hace posible proponer una clave dicotómica para la identificación morfológica preliminar de estas especies en cultivos celulares, utilizando un número limitado de caracteres morfológicos visibles al microscopio óptico convencional.

Materiales y Métodos

La propuesta de clave dicotómica para la identificación de las especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* se basó en la descrita por Litaker *et al.* (2009), considerando solo aquellas especies reportadas para la región del Caribe: *G. belizeanus*, *G. caribaeus*, *G. carolinianus*, *G. carpenteri* y *F. ruetzleri*. Se añadieron a esta clave las especies *G. silvae* y *G. excentricus*.

G. silvae fue descrita formalmente en 2014 (Fraga y Rodríguez 2014); sin embargo, su presencia ya había sido reportada en el Caribe como *Gambierdiscus* ribotipo 1 (Litaker *et al.* 2010; Tester *et al.* 2013b). En 2019, *G. silvae* fue reportada en Cuba (Díaz-Asencio *et al.* 2019a; Díaz-Asencio *et al.* 2019b). *G. excentricus* fue descrita como nueva especie a partir de cultivos provenientes de Islas Canarias (Fraga *et al.* 2011), su presencia en el mar Caribe fue reportada posteriormente por Litaker *et al.* (2017). Aunque esta especie no ha sido aún reportada en Cuba, su presencia potencial y alto potencial tóxico (Litaker *et al.* 2017) justifican su inclusión en esta clave.

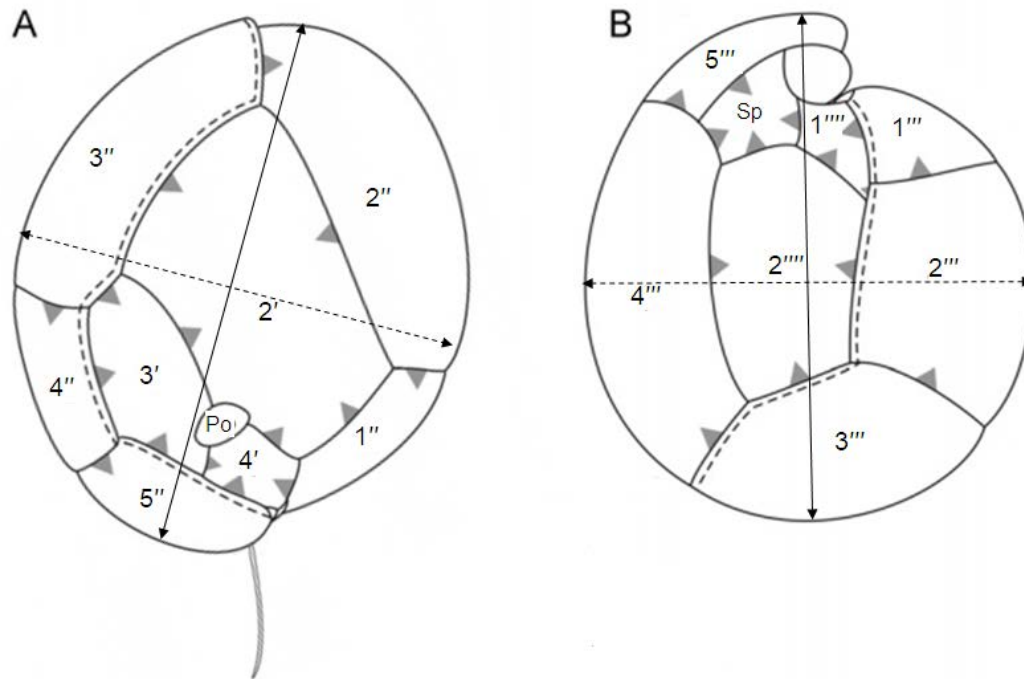


Fig. 1. Sistema de tabulación de Besada para la identificación de las placas de la teca en especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoja* modificado a partir de Fraga *et al.* (2011). A) Vista apical. B) Vista antapical. Las placas se denotan con la simbología prima: apicales ('), precingulares (''), postcingulares ('''') y antapicales (''''). Po denota la placa donde se localiza el poro apical en la epiteca y Sp la placa sulcal posterior en la hipoteca. La línea continua denota la profundidad o distancia dorsoventral y la línea de puntos denota el ancho o diámetro transversal.

Se realizaron observaciones microscópicas de cultivos celulares de las especies *G. belizeanus*, *G. caribaeus* y *G. carolinianus*. Estas especies se aislaron e identificaron en estudios previos, a través de la observación de caracteres morfológicos distintivos al microscopio electrónico y ensayos de PCR (Díaz-Asencio *et al.* 2019a; Díaz-Asencio *et al.* 2019b). Se realizaron observaciones tanto de células en movimiento como de recién fijadas con formalina al 4 %, para distinguir aspectos morfológicos y el tamaño, respectivamente.

Para la observación de las placas de la teca, se añadió hipoclorito al 1 % a una muestra de 15 ml de cultivo en fase exponencial. Posteriormente, se realizaron varios lavados con agua destilada y se preservó la muestra en agua de mar filtrada con unas gotas de formalina. Todas las observaciones se realizaron con un microscopio invertido Zeiss Axiovert 40 con aumento de 25X a 400X. El resto de las especies incluidas en la

clave, al no ser abundantes en los ecosistemas estudiados hasta la fecha en Cuba, no han sido aún cultivadas con éxito. La morfología de los caracteres distintivos de estas especies se tomó a partir de las descripciones originales publicadas por sus autores (Faust 1995; Litaker *et al.* 2009; Fraga *et al.* 2011; Fraga y Rodríguez 2014).

La clave dicotómica se construyó siguiendo el sistema de tabulación modificado de Kofoid, descrito por Besada *et al.* (1982). Para nombrar las placas de la teca se empleó la fórmula tecal Po, 4', 6'', 5''', 2'''' (Fraga *et al.* 2011). Según este sistema, la placa donde se localiza el poro apical en la epiteca se denota como Po, las placas apicales correspondientes a la epiteca se enumeran utilizando la simbología ('), las placas precingulares con la simbología (''); en la hipoteca las placas postcingulares se denotan como (''''), las antapicales como ('''') y la sulcal posterior se denota como Sp. (Fig. 1). Se utilizaron

caracteres morfológicos visibles al microscopio óptico convencional como forma y tamaño de la célula, relación profundidad/ancho, forma de las placas más distintivas de la teca como la 2''', 2' y 3'', y la posición de la placa Po (Fig. 1).

La profundidad, definida como la distancia en el eje dorsoventral, se tomó desde la punta de las placas 5'' (epiteca) o 5''' (hipoteca) hasta el lado opuesto buscando la dimensión mayor. El diámetro transversal fue la mayor dimensión perpendicular al eje de la profundidad. De ser observables, otros caracteres como el tamaño de las placas 4' y 2''', la forma que describen las suturas 2'/2'' y 2'/1'' y la textura de las placas, pudieran ser utilizados para corroborar la identificación obtenida con la clave dicotómica.

Resultados y discusión

La clave dicotómica propuesta se representa en forma de árbol dicotómico para su mejor comprensión (Fig. 2).

La diferencia morfológica más notable entre estas especies es la forma de la célula, que difiere entre las formas globulares y las formas lenticulares o comprimidas en el eje antero-posterior. Para las formas globulares se ha propuesto el nuevo género *Fukuyoa* (Gómez *et al.* 2015) que, hasta la fecha, solo comprende a la especie *F. ruetzleri*, con distribución en el mar Caribe. Esta es la más pequeña de las siete especies incluidas en la clave y la que presenta mayor relación profundidad/ancho (~1.4, según la descripción original de Litaker *et al.* (2009)), lo cual le confiere una morfología comprimida lateralmente, en vista apical y antapical.

Las formas globulares pueden ser distinguidas adicionalmente de las antero-posteriormente comprimidas sobre la base del tamaño y forma de las placas 2' y 4'. En las especies globulares, la placa 4' es la más grande de la epiteca, a diferencia de las formas comprimidas antero-posteriormente, en las que la placa 2' es la de mayor tamaño. La placa 2' en las formas globulares es

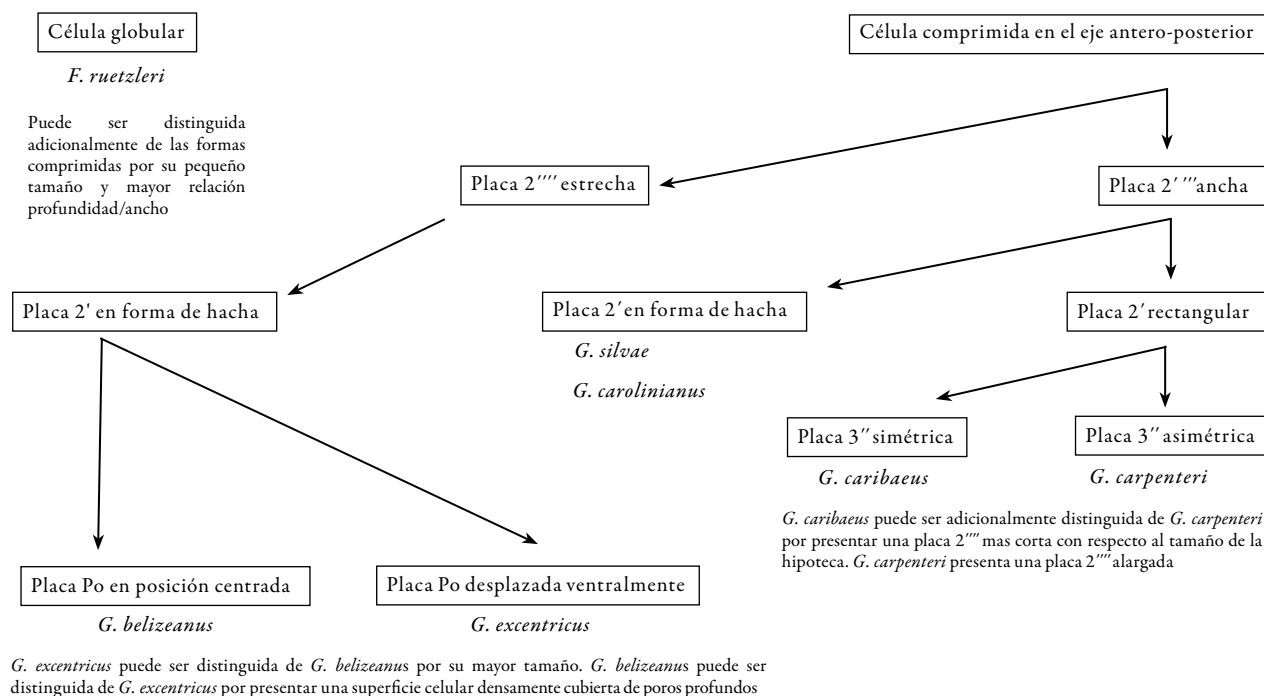


Fig. 2. Árbol dicotómico para la identificación de las especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* reportadas en Cuba. Po denota la placa donde se localiza el poro apical en la epiteca.

pequeña, larga y estrecha, siendo mucho más grande, con forma rectangular o de hacha, en las células antero-posteriormente comprimidas (Litaker *et al.* 2009; Gómez *et al.* 2015).

Las especies de *Gambierdiscus* con forma lenticular se dividen en dos grupos teniendo en cuenta la forma de la placa 2'''. *G. belizeanus* y *G. excentricus* presentan la placa 2''' estrecha (Fig. 3), mientras *G. silvae*, *G. carolinianus*, *G. caribaeus* y *G. carpenteri* presentan una placa 2''' ancha. *G. belizeanus* y *G. excentricus* se diferencian en la posición de la placa del poro apical; *G. belizeanus* presenta esta placa en posición centrada mientras que *G. excentricus* la presenta desplazada ventralmente (Fig. 3).

G. excentricus puede ser adicionalmente distinguida de *G. belizeanus* por presentar un tamaño mucho mayor. Según la descripción original de Fraga *et al.* (2011), *G. excentricus* presentó una profundidad media \pm desviación estándar de $97 \pm 8 \mu\text{m}$, mientras que para *G. belizeanus* se han reportado mediciones de profundidad de $63 \pm 2.2 \mu\text{m}$ (Litaker *et al.* 2009) y de $68.7 \pm 3.5 \mu\text{m}$ (Díaz-Asencio *et al.* 2019a). Por otra parte, *G. belizeanus* puede ser distinguida de *G. excentricus* por presentar una superficie celular muy ornamentada (Fig. 3).

La forma de la placa 2' permite separar las especies *G. silvae*, *G. carolinianus*, *G. caribaeus* y *G. carpenteri* en dos grupos: *G. silvae* y *G. carolinianus*, que presentan una placa 2' en forma de hacha (Fig. 4), mientras que *G. caribaeus* y *G. carpenteri* la presentan en forma rectangular. El carácter tamaño de la célula pudiera ser utilizado para diferenciar *G. silvae* y *G. carolinianus*. Según la descripción original de Fraga y Rodríguez (2014), la profundidad media de *G. silvae* fue de $69 \pm 8 \mu\text{m}$ mientras que Bravo *et al.* (2019) estimaron este parámetro en $60 \pm 9 \mu\text{m}$.

La profundidad de *G. carolinianus*, según la descripción original de Litaker *et al.* (2009), fue de 78 ± 5 mientras que otros estudios reportan dimensiones similares (Bravo *et al.* 2019). Sin embargo, los aislados de *G. carolinianus* obtenidos en Cuba han mostrado

profundidades muy variables, con valores medios de $70 \mu\text{m}$ hasta valores superiores a $90 \mu\text{m}$ (Díaz-Asencio *et al.* 2019b). Por lo tanto, debido al riesgo de solapamiento potencial derivado de la variabilidad de este carácter en cultivos celulares, es necesario utilizar otros caracteres para diferenciar estas dos especies.

Según Fraga y Rodríguez (2014), la relación profundidad/ancho de la célula muy cercana o mayor que 1 identifica a *G. silvae*, mientras que un valor menor que 1 caracteriza a *G. carolinianus* (Fig. 4). Según Litaker *et al.* (2009), *G. carolinianus* es la única especie de *Gambierdiscus* que como promedio es más ancha que profunda; sin embargo, esta condición no siempre se cumple. Bravo *et al.* (2019) reportaron una relación profundidad/ancho de 1.03 en una cepa de *G. carolinianus*

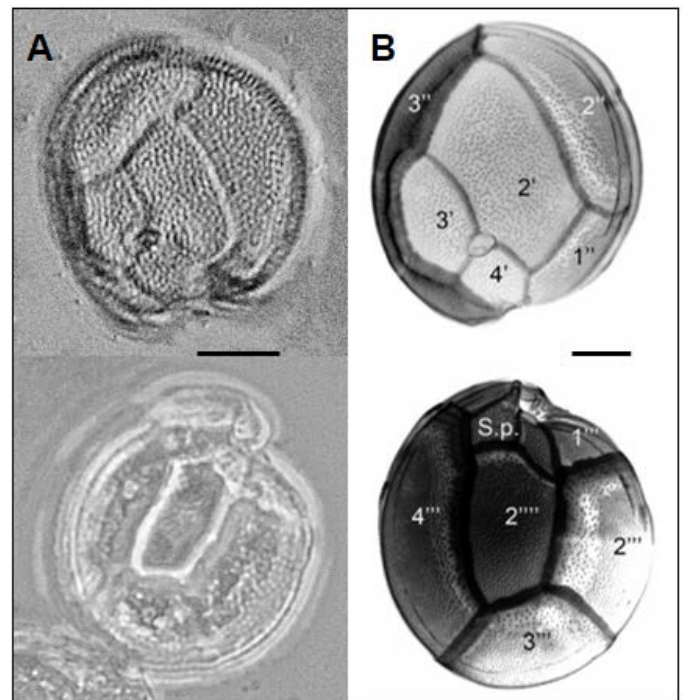


Fig. 3. Microfotografías de *Gambierdiscus belizeanus* y *Gambierdiscus excentricus* al microscopio óptico. A. Epiteca (arriba) e hipoteca (abajo) de *G. belizeanus* aislado de Cuba. B. Epiteca (arriba) e hipoteca (abajo) de *G. excentricus* tomadas de Fraga *et al.* (2011). Barras de escala: $20 \mu\text{m}$

aislada en Islas Canarias, mientras que algunos aislados de Cuba mostraron valores entre 1.07 y 1.09.

Otro carácter que puede ser utilizado para diferenciar estas especies es la forma que describen las suturas $2'/2''$ y $2'/1''$. En el caso de *G. silvae*, estas suturas describen una línea curva, mientras que en *G. carolinianus* describen un ángulo (Fig. 4). No obstante, estos autores dejaron claro que no todas las células examinadas de *G. silvae* presentaban esta forma distintiva del carácter, aunque sí la gran mayoría. En resumen, esta información destaca lo difícil que pudiera resultar diferenciar estas dos especies utilizando pocos caracteres morfológicos, lo cual indica la necesidad de examinar un número elevado de células en cultivo (Fraga y Rodríguez, 2014).

Según las descripciones originales de Litaker *et al.* (2009), *G. caribaeus* y *G. carpenteri* se diferencian en cuanto a la forma de la placa $3''$, simétrica en *G. caribaeus* (Fig. 5) y asimétrica en *G. carpenteri*. *G. caribaeus* puede ser adicionalmente distinguida de *G. carpenteri* por presentar forma una placa $2'''$ más corta con respecto al tamaño de la hipoteca, mientras que *G. carpenteri* presenta una placa $2'''$ alargada (Fig. 5). La forma de la célula elíptica en *G. carpenteri*, con una relación profundidad/ancho mayor que 1, no parece ser un carácter suficiente para diferenciar estas especies. Según Vacarizas *et al.* (2018), este carácter fue de 0.98 en un aislado proveniente de Filipinas, indicando que las células eran generalmente redondas.

La clave dicotómica propuesta se utilizó para la identificación preliminar de un cultivo de *Gambierdiscus* sp. (CUB3D5), obtenido recientemente en el Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos. Las células se caracterizaron por presentar forma lenticular, placa $2'''$ ancha, placa $2'$ rectangular y placa $3''$ simétrica, lo que permitió identificarlo, de manera preliminar, como *G. caribaeus*. Presentó una profundidad de $79 \pm 7 \mu\text{m}$, diámetro transversal equivalente a $73 \pm 6 \mu\text{m}$ y una relación profundidad/ancho de 1.1, lo cual describe una forma más elíptica que redonda, típica de *G. carpenteri*

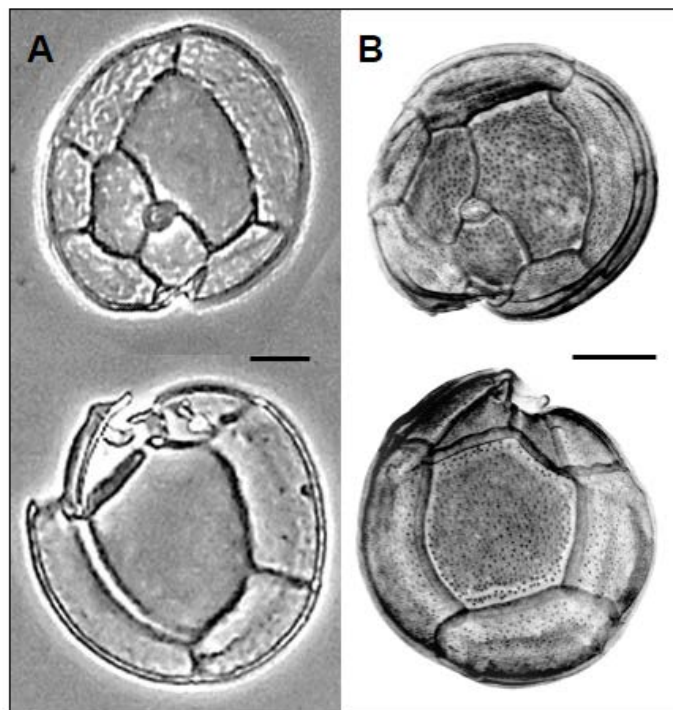


Fig. 4. Microfotografías de *Gambierdiscus carolinianus* y *Gambierdiscus silvae* al microscopio óptico. A. Epiteca (arriba) e hipoteca (abajo) de *G. carolinianus* aislado de Cuba. B. Epiteca (arriba) e hipoteca (abajo) de *G. silvae* tomadas de Fraga y Rodríguez (2014). Barras de escala: 20 μm

según la descripción de Litaker *et al.* (2009). Si se corrobora la identificación de este aislado como *G. caribaeus* se confirmaría la poca utilidad de este carácter para diferenciar ambas especies, lo que concuerda con las observaciones de Vacarizas *et al.* (2018).

Teniendo en cuenta los reportes recientes sobre la distribución de las especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* (Tester *et al.* 2020), resulta prudente evaluar la eficacia de esta clave en un nuevo escenario, que incluya además otras especies reportadas en un espacio geográfico más amplio, en este caso ambas costas del océano Atlántico. A partir del aislamiento y descripción de *Gambierdiscus australes* M.A.Faust & Chinain en la Polinesia Francesa (Chinain *et al.* 1999), la especie ha sido reportada recurrentemente en diferentes latitudes

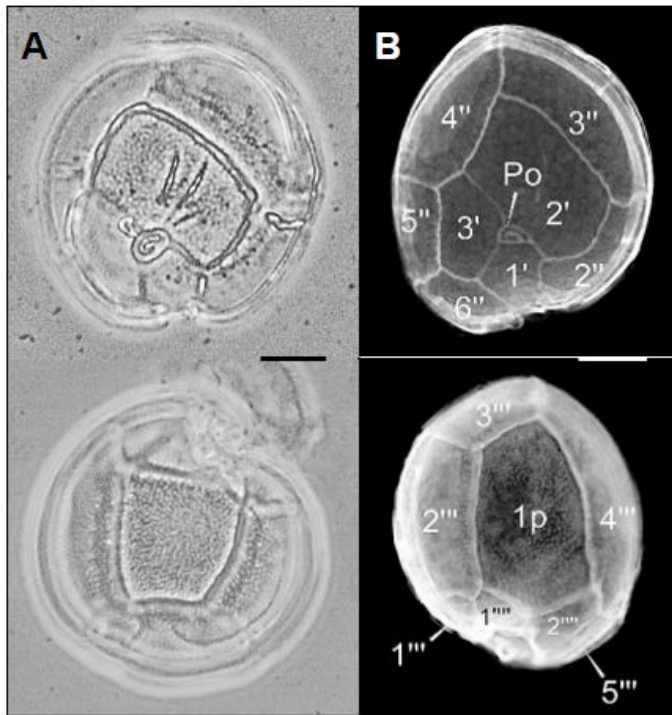


Fig. 5. Microfotografías de *Gambierdiscus caribaeus* y *Gambierdiscus carpenteri* al microscopio óptico. A. Epiteca (arriba) e hipoteca (abajo) de *G. caribaeus* aislado de Cuba. B. Epiteca (arriba) e hipoteca (abajo) de *G. carpenteri* tomadas de Litaker *et al.* (2009) utilizando el sistema de tabulación de Kofoid. Barras de escala: 20 μ m

en el océano Pacífico (Zhang *et al.* 2016; Smith *et al.* 2017) y, en 2014, fue reportada por primera vez en el océano Atlántico, en Islas Canarias (Fraga y Rodríguez 2014).



Fig. 6. Microfotografías de la epiteca (izquierda) e hipoteca (derecha) de un cultivo de *Gambierdiscus* sp. aislado de Cuba (CUB3D5). Barra de escala: 20 μ m

G. australes presenta, al igual que *G. belizeanus* y *G. excentricus*, una placa 2''' estrecha. Sin embargo, se distingue de estas por presentar una placa 2' rectangular. *Fukuyoa paulensis* F. Gómez, D. Qiu, R.M. Lopes & S. Lin fue descrita en 2015 a partir de cultivos obtenidos en la costa sur de Brasil (Gómez *et al.* 2015). *F. paulensis* y *F. ruetzleri* presentan dimensiones similares y diferencias muy sutiles en la morfología de las placas, por lo que no parece posible distinguir ambas especies utilizando exclusivamente microscopía óptica.

La clave dicotómica propuesta para la identificación preliminar de las especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* reportadas en la región del Caribe, utilizando como herramienta solo la microscopía óptica, permite emplear un número limitado de caracteres morfológicos para distinguir las especies. Sin embargo, lo compensa el hecho de tener pocas especies en el análisis. Desde el punto de vista práctico, esta clave es de fácil utilización y no tiene grandes requerimientos para la preparación de las muestras.

Con el incremento en las investigaciones relacionadas con estos géneros a nivel global, nuevas especies pueden ser descritas y/o puede ampliarse el rango de distribución de aquellas que ya lo están, aspectos importantes a tener en cuenta para el uso de esta clave en el futuro. Aun cuando las técnicas moleculares son herramientas costosas y de uso poco rutinario en muchos laboratorios de la región del Caribe, seguirán siendo imprescindibles en la identificación inequívoca de las especies de estos géneros.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Santiago Fraga las correcciones realizadas al manuscrito así como sus sugerencias y recomendaciones.

Declaraciones

Contribución de autores

Conceptualización, LDA y AMG; Metodología, LDA, GPA, DChL y AMG; Curación de datos, LDA, GRA y GPA; Escritura - Original, LDA; Escritura - Revisión

y edición, LDA y GRA; Administración del proyecto, LDA; Adquisición de fondos, LDA

Financiamiento

El presente estudio ha sido financiado por el proyecto PS211LH02-029 'Fortaleciendo la vigilancia de FANs y la evaluación de riesgo por ciguatera en Cuba a través del uso y desarrollo de técnicas isotópicas y nucleares', a partir de fondos provenientes del programa Sectorial 02 de Ciencia, Tecnología e Innovación del CITMA gestionado por la Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías de Avanzada de Cuba. Los proyectos regionales de Cooperación Técnica del Organismo Internacional de Energía Atómica RLA7014, RLA7020 y RLA7022 contribuyeron con la adquisición de equipamiento y actividades de entrenamiento.

Conflicto de intereses

No existen conflicto de intereses financieros o no financieros que declarar que sean relevantes para el contenido del manuscrito.

Comportamiento ético

No se utilizaron animales de experimentación.

Permisos de muestreo y otros permisos

No se requirieron permisos para la realización de esta investigación.

Referencias bibliográficas

- Besada E.G., Loeblich L.A. & Loeblich A.R. (1982). Observations on tropical, benthic dinoflagellates from ciguatera-endemic areas: *Coolia*, *Gambierdiscus*, and *Ostreopsis*. *Bull. Mar. Sci.*, 32, 723-735.
- Bravo I., Rodríguez F., Ramilo I., Pilar R. & Fraga S. (2019). Ciguatera-causing dinoflagellate *Gambierdiscus* spp. (Dinophyceae) in a subtropical region of North Atlantic Ocean (Canary Island): morphological characterization and biogeography. *Toxins*, 11, 423-439.
- Chinain M., Faust M. & Pauillac S. (1999). Morphology and molecular analyses of three toxic species of *Gambierdiscus* (Dinophyceae): *G. pacificus*, sp. nov., *G. australes*, sp. nov., and *G. polynesiensis*, sp. nov. *J. Phycol.*, 35, 1282-1296.
- Chinain M., Gatti C.M.i., Darius H.T., Quod J.-P. & Tester P.A. (2020). Ciguatera poisonings: A global review of occurrences and trends. *Harmful Algae*, 102, 101873.
- Díaz-Asencio L., Clausing R.J., Vandersea M., Chamero-Lago D., Gómez-Batista M., Hernández-Albernas J.I., Chomérat N., Rojas-Abrahantes G., Litaker R.W., Tester P., Diogène J., Alonso-Hernández C.M. & Dechraoui Bottein M.-Y. (2019a). Ciguatoxin Occurrence in Food-Web Components of a Cuban Coral Reef Ecosystem: Risk-Assessment Implications. *Toxins*, 11, 722.
- Díaz-Asencio L., Vandersea M.W., Chomérat N., Fraga S., Clausing R.J., Litaker R.W., Chamero-Lago D., Gómez-Batista M., Moreira-González A., Tester P., Alonso-Hernández C. & Dechraoui Bottein M.-Y. (2019b). Morphology, toxicity and molecular characterization of *Gambierdiscus* spp. towards risk assessment of ciguatera in south central Cuba. *Harmful Algae*, 86, 119-127.
- Faust M.A. (1995). Observation of sand-dwelling toxic dinoflagellates (Dinophyceae) from widely different sites including two new species. *J. Phycol.*, 31, 996-1003.
- Fraga S. & Rodríguez F. (2014). Genus *Gambierdiscus* in the Canary Islands (NE Atlantic Ocean) with description of *Gambierdiscus silvae* sp. nov., a new potentially toxic epiphytic benthic dinoflagellate. *Protist*, 165, 839-853.
- Fraga S., Rodríguez F., Caillaud A., Diogène J., Raho N. & Zapata M. (2011). *Gambierdiscus excentricus* sp. nov. (Dinophyceae), a benthic toxic dinoflagellate from the Canary Islands (NE Atlantic Ocean). *Harmful Algae*, 11, 10-22.
- Gómez F., Qiu D., Lopes R.M. & Lin S. (2015). *Fukuyoa paulensis* gen. et sp. nov., a new genus for the globular species of the dinoflagellate *Gambierdiscus* (Dinophyceae). *PLoS ONE*, 10, 0119676.
- Kretzschmar A.L., Larsson M.E., Hoppenrath M., Doblin M.A. & Murray S.A. (2019). Characterisation of Two Toxic *Gambierdiscus* spp. (Gonyaulacales, Dinophyceae)

- from the Great Barrier Reef (Australia): *G. lewisii* sp. nov. and *G. holmesii* sp. nov. *Protist*, 125699.
- Li Z., Park J.S., Kang N.S., Chomérat N., Mertens K.N., Gu H., Lee K.-W., Kim K.H., Baek S.H., Shin K., Han K.H., Son M.H. & Shin H.H. (2021). A new potentially toxic dinoflagellate *Fukuyoa koreansis* sp. nov. (Gonyaulacales, Dinophyceae) from Korean coastal waters: Morphology, phylogeny, and effects of temperature and salinity on growth. *Harmful Algae*, 109, 102107.
- Litaker R.W., Holland W., Hardison R., Pisapia F., Hess P., Kibler S. & Tester P. (2017). Ciguatotoxicity of *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* species from the Caribbean and Gulf of Mexico. *PLoS ONE*, 12, 0185776.
- Litaker R.W., Vandersea M.W., Faust M.A., Kibler S.R., Chinain M., Holmes M.J., Holland W.C. & Tester P.A. (2009). Taxonomy of *Gambierdiscus* including four new species, *Gambierdiscus caribaeus*, *Gambierdiscus carolinianus*, *Gambierdiscus carpenteri* and *Gambierdiscus ruetzleri* (Gonyaulacales, Dinophyceae). *Phycologia*, 48, 344-390.
- Litaker R.W., Vandersea M.W., Faust M.A., Kibler S.R., Nau A.W., Holland W.C., Chinain M., Holmes M.J. & Tester P.A. (2010). Global distribution of ciguatera causing dinoflagellates in the genus *Gambierdiscus*. *Toxicon*, 56, 711-730.
- Smith K., Biessy L., Argyle P., Trnski T., Halafihi T. & Rhodes L. (2017). Molecular identification of *Gambierdiscus* and *Fukuyoa* (Dinophyceae) from environmental samples. *Mar. Drugs*, 15, 243.
- Tester P.A., Litaker R.W. & Morris J. (2013a). Ciguatera Fish Poisoning in the Gulf and Caribbean: what do we really know? In: *66th Gulf and Caribbean Fisheries Institute November 4 - 8* (pp. 148-151). Corpus Christi, Texas USA.
- Tester P.A., Vandersea M.W., Buckel C.A., Kibler S.R., Holland W.C., Davenport E.D., Clark R.D., Edwards K.F., Taylor J.C., Pluym J.L.V., Hickerson E.L. & Litaker R.W. (2013b). *Gambierdiscus* (Dinophyceae) species diversity in the Flower Garden Banks National Marine Sanctuary, Northern Gulf of Mexico, USA. *Harmful Algae*, 29, 1-9.
- Tester P.A., Wickliffe L., Jossart J., Rhodes R., Enevoldsen H., Adachi M., Nishimura T., Rodríguez F., Chinain M. & Litaker R.W. (2020). Global distribution of the genera *Gambierdiscus* and *Fukuyoa*. In Hess P (ed.), *International Conference on Harmful Algae 2018* (p. 214). International Society for the Study of Harmful Algae Nantes, France.
- Vacarizas J., Benico G., Austero N. & Azanza R. (2018). Taxonomy and toxin production of *Gambierdiscus carpenteri* (Dinophyceae) in a tropical marine ecosystem: The first record from the Philippines. *Mar. Pollut. Bull.*, 137, 430-443.
- Zhang H., Wu Z., Cen J., Li Y., Wang H. & Lu S. (2016). First report of three benthic dinoflagellates, *Gambierdiscus pacificus*, *G. australes*, and *G. caribaeus* (Dinophyceae), from Hainan Island, South China Sea. *Phycol. Res.*, 64, 259-273.

Como citar este artículo

Díaz-Asencio, L. , Rojas-Abrahantes, G.L., Pérez-Avilleira, G., Chamero-Lago, D., Moreira-González, Á.R. (2023). Clave dicotómica para la identificación preliminar de las especies de *Gambierdiscus* y *Fukuyoa* reportadas en la región del Caribe. *Rev. Invest. Mar.*, 43(2), 27-35.