

Vulcanodinium rugosum* gen. et sp. nov. (Dinophyceae), un nouveau dinoflagellé marin de la côte méditerranéenne française**Vulcanodinium rugosum* gen. nov., sp. nov. (Dinophyceae): a new marine dinoflagellate from the French Mediterranean coast.**

Elisabeth Nézan* et Nicolas Chomérat

IFREMER Laboratoire Environnement et Ressources – Finistère Bretagne-Nord
13 rue de Kérose, 29187 Concarneau Cedex – France*: Corresponding author : Elisabeth Nézan, Fax: +33 2 98 50 51 02, email address : elisabeth.nezan@ifremer.fr**Résumé :**

Un nouveau dinoflagellé marin à thèque, *Vulcanodinium rugosum* gen. nov., sp. nov. Nézan & Chomérat, est décrit à partir d'échantillons d'eau d'étangs ou de salins méditerranéens. La tabulation est Po, X, 4', 3a, 7'', 6c, 6s, 5''', 2'''. La plaque du pore apical Po est imposante et une matrice muqueuse est extrudée de son centre. La plaque X est relativement longue alors que la première plaque apicale 1', qui lui est postérieure, est étroite et courte. Les plaques intercalaires antérieures sont contigües. La première plaque cingulaire c1 est étroite. Le nombre, la forme des plaques et la présence de lisières caractérisent le sulcus. La surface de la thèque est couverte de stries longitudinales avec souvent des réticulations transversales. Par ailleurs, elle est perforée de gros pores. Selon le critère considéré, la morphologie de *Vulcanodinium rugosum* ressemble tantôt à une espèce peridinioïde, tantôt à une espèce gonyaulacoïde. Une étude phylogénétique basée sur des données de séquences LSU-rDNA confirme que ce taxon est nouveau et qu'il appartient à l'ordre des Peridinales. Cependant, il n'est pas possible de le rattacher ni à une famille ni à un genre déterminés. Un nouveau nom de genre est donc proposé, *Vulcanodinium* avec *V. rugosum* comme espèce type, placé pour l'instant dans l'ordre des Peridinales, incertae sedis.

Mots clés : Dinoflagellés, LSU rDNA, Méditerranée, morphologie, Peridinales, peridinioïde, phylogénie, taxinomie, *Vulcanodinium*

Abstract:

A new armoured marine dinoflagellate, *Vulcanodinium rugosum* Nézan & Chomérat, gen. nov., sp. nov. is described from water samples of Mediterranean lagoons. The thecal plate formula is Po, X, 4', 3a, 7'', 6c, 6s, 5''', 2'''. The apical pore plate Po is very large and a mucous matrix is extruded from its center. The plate X is rather long and just below is the narrow and short first apical plate 1'. The intercalary anterior plates are contiguous. The first cingular c1 plate is narrow. The number, the shape of plates and the presence of lists characterize the sulcus. The thecal surface is covered by longitudinal striae with often cross reticulations and is perfored by large pores. According to the studied feature, the morphology of *Vulcanodinium rugosum* looks like, either a peridinioid or a gonyaulacoid species. A phylogenetic study, based on LSU rDNA sequence data, confirms that this taxon is new and that it belongs to the order Peridinales. However, it is not possible to affiliate it neither to a particular family nor to a known genus. As a consequence, a new generic name, *Vulcanodinium* is proposed with *V. rugosum* as type species, assigned in the order Peridinales, incertae sedis for the time being.

Keywords : Dinoflagellates, LSU rDNA, Mediterranean sea, morphology, Peridinales, peridinioid, Phylogeny, taxonomy, *Vulcanodinium*

1. Introduction

En 1996, le réseau national de surveillance du phytoplancton et des phycotoxines (REPHY) mettait en évidence sur la côte méditerranéenne la présence d'un dinoflagellé à thèque, de taille modeste, arrondi, sans cornes ni épines, à l'apex tronqué. Une première analyse de la tabulation, limitée à l'épithèque et à l'hypothèque, indiquait qu'il s'agissait d'une espèce de type peridinioïde, conformément au système Kofoidien avec trois plaques intercalaires antérieures, sept précingulaires, cinq postcingulaires et deux antapicales. Toutefois, la forme du cingulum ainsi que celle du sulcus faisaient penser à une espèce de type gonyaulacoïde (Dodge, 1989). En 2001, cette même espèce était à nouveau observée dans un second site méditerranéen. Néanmoins, dans les deux cas, la très faible concentration cellulaire n'avait pas permis une étude morphologique approfondie en microscopie électronique à balayage (MEB) pour l'identifier.

En 2009, ce même taxon s'est retrouvé en plus grande abondance dans un troisième site du littoral méditerranéen. Sa détermination spécifique est devenue d'autant intéressante qu'elle était dominante chez les dinoflagellés et que des symptômes neurologiques étaient constatés sur des souris après injection d'un extrait de moules. Grâce à une densité cellulaire suffisante, des isollements ont pu être réalisés à des fins d'observations en MEB et d'analyses moléculaires, qui ont permis de considérer qu'il s'agissait d'une nouvelle espèce d'un nouveau genre. La description morphologique et le positionnement phylogénétique de *Vulcanodinium rugosum* gen. nov., sp. nov. sont présentés dans cette étude.

2. Matériels et méthodes

2.1. Sites de prélèvements

Les trois sites étudiés étaient Port St Louis du Rhône dans le Golfe de Fos pour le premier, le clos de la Comète en Petite Camargue pour le second et l'étang d'Ingril (sud) pour le troisième (Fig.1). Sur chaque site, un échantillon d'eau était prélevé en surface et fixé au lugol acétique (1%) avant d'être expédié et examiné au laboratoire.

L'étang d'Ingril, de plus grand intérêt pour notre étude dans la mesure où l'espèce s'est développée notablement en 2009, couvre une superficie de 685 hectares et communique directement avec la mer par le port de Frontignan via le grau. Il est de faible profondeur (maximum 1,2 m) et de fond sablonneux. La température de l'eau y était de 23,3 °C et la salinité de 36,5 psu au moment du prélèvement en juin 2009.

2.2. Observations au microscope photonique

Les cellules étaient isolées une à une à l'aide d'une pipette sous un microscope inversé Olympus IX70 (Olympus, Tokyo, Japon), équipé d'objectifs à contraste de phase et d'une caméra numérique. Elles étaient placées entre lame et lamelle pour étudier leur forme. Avant dissection, chaque cellule était photographiée puis mesurée à l'aide d'un micromètre. Puis, une goutte de solution d'hypochlorite de sodium à 5% était déposée sur un côté de la lamelle pour libérer la thèque.

2.3. Observations au microscope électronique à balayage (MEB)

Des cellules isolées individuellement étaient introduites dans un tube contenant 0.5 mL d'eau distillée ultra pure (ddH₂O) et une goutte de formaldéhyde pour éviter tout développement fongique. Puis, les cellules étaient filtrées sur une membrane polycarbonate (Millipore GTTP Isopore, 0,22 µm), rincées à l'eau ddH₂O et préparées selon Chomérat & Couté (2008). Elles étaient ensuite métallisées à l'or et observées à l'aide d'un microscope électronique à balayage Quanta 200 (FEI, Eindhoven, the Netherlands). Elles étaient mesurées à l'aide du logiciel ImageJ (Rasband, 1997-2006). La plupart des images MEB sont présentées sur un fond uniforme obtenu à l'aide du logiciel Adobe Photoshop CS2 (V. 9.0.2, Adobe Systems).

Dans cet article, la terminologie utilisée pour les plaques thécales est basée sur le système de Kofoid.

2.4. Amplification de l'ADN et séquençage

Des cellules de *Vulcanodinium rugosum* étaient isolées une à une à l'aide d'une micropipette sous un microscope inversé Olympus IMT2 (Olympus, Tokyo, Japon) et déposées sur une lame. Chaque cellule était rincée dans trois gouttes d'eau ddH₂O avant d'être transférée dans un tube PCR de 0.2 mL contenant 3 µL de ddH₂O. Chaque tube était stocké à -20°C jusqu'à ce que l'analyse moléculaire soit réalisée suivant les protocoles standard d'amplification (fragment correspondant à la grande sous-unité du ribosome, LSU rDNA), de purification et de séquençage (Chomérat *et al.*, 2010).

Les amorces externes 28S-D1R (Scholin & Anderson, 1994) et 28S-1483R (Daugbjerg *et al.*, 2000) ainsi que plusieurs couples d'amorces internes (Chomérat *et al.*, 2010, Tab. 1) étaient utilisées pour obtenir une séquence complète.

2.5. Alignement des séquences et analyses phylogénétiques

Deux séquences de *Vulcanodinium rugosum* étaient alignées avec 37 autres séquences de dinoflagellés disponibles dans GenBank en utilisant l'algorithme MUSCLE (Edgar, 2004). Deux séquences de *Gonyaulax* spp. étaient utilisées comme groupe externe (outgroup).

Pour les analyses phylogénétiques, un fragment partiel du LSU rDNA de 635 caractères, correspondant aux domaines D1-D2, excluant la zone hypervariable, a été utilisé. La matrice de 39 taxons alignés a été analysée par trois méthodes de reconstruction phylogénétique: l'analyse en maximum de vraisemblance (ML), grâce au logiciel PhyML v. 3.0 (Guindon & Gascuel, 2003), l'inférence bayésienne (BI) par MrBayes v.3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) et enfin, l'analyse en maximum de parsimonie (MP) grâce au logiciel PAUP* Version 4.0b10 (Swofford, 2002). Le logiciel jModeltest (Posada, 2008) a permis de choisir le modèle de substitutions de nucléotides le plus adapté à la matrice étudiée et a recommandé le modèle GTR+I+Γ. Les valeurs de bootstrap indicatrices du support des branches de l'arbre ont été obtenues après 1000 itérations en ML et MP. Pour l'inférence bayésienne, quatre chaînes de Markov ont été lancées simultanément pour 2×10⁶ générations avec un échantillonnage toutes les 100 générations. Sur les 2×10⁴ arbres obtenus, les 2500 premiers ont été écartés (burnin) et un arbre consensus a été construit à partir des arbres postérieurs restants. Les probabilités postérieures, correspondant à la fréquence à laquelle un nœud est trouvé dans les arbres conservés, ont été

calculées en utilisant une approche couplée Monte-Carlo Metropolis - chaîne de Markov (MCMC).

3. Résultats

Vulcanodinium rugosum Nézan & Chomérat, gen. et sp. nov. Figs 2–29.

3.1. Diagnose latine

Cellula in ventrale visu biconica vel rotundata, in apicale visu sub-circularis. Longitudo : 24–30 μm ; latitude : 24–30 μm . Epitheca conica vel semi-sphaerica, cum apice truncato. Hypotheca trapeziformis vel semi-sphaerica cum acuminato antapice. Cingulum latum, 1,5–2 plo latitudine sui descendens. Sulcus sigmoideus, angustus in anteriore parte latiorque in posteriore parte et antapicem contingens.

Formula thecae laminarum Po, X, 4', 3a, 7'', 6c, 6s, 5''', 2'''''. In apice pulvinus mucosus. Apicalis lamina (1') angusta. Tres anteriores laminae (3a) contiguae. Lamina posterior sulci (Sp) non contigua cum cingulo. Theca cum striis longitudinalibus ornate, saepe reticulate transversaliter et cum poris sine ordine dispositis perforata. Nucleus elongatus in aequatoriali cellulae parte positus.

3.2. Diagnose en anglais/English diagnosis

The cells are biconical to round, subcircular in apical view, 20–30 μm long, 24–30 μm wide. The epitheca is conical to hemispherical, truncated to the apex. The hypotheca is trapezoidal to hemispherical and acuminate at the antapex. The cingulum is wide, descending 1.5–2 times its own width. The sulcus is sigmoid, anteriorly narrow, posteriorly getting wider and reaching the antapex.

The plate formula is: Po, X, 4', 3a, 7'', 6c, 6s, 5''', 2'''''. A mucoïd matrix is extruded at the apex. The first apical plate (1') is narrow. The three anterior intercalary plates (3a) are contiguous. The sulcal posterior plate (Sp) does not reach the cingulum. The thecal surface is covered by longitudinal striae and optional cross reticulations and perforated by pores. The nucleus is elongated and located in the equatorial region.

3.3. Description

Holotype : Fig. 7.

La préparation MEB 10–C8 de l'échantillon CC09–173 prélevé le 15 juin 2009 a été déposée à la Station de Biologie Marine du Muséum National d'Histoire Naturelle, Concarneau, France.

Isotypes : Figs 8–9, 11–12.

Localité-type : Etang d'Ingril sud, Mer Méditerranée (43° 26' 10" N, 3° 46' 25" E).

Habitat : Marin.

Étymologie : Le mot *Vulcanodinium* vient du latin *Vulcanus* (= Vulcain, dieu du feu et par extension volcan) pour rappeler la forme de l'épithèque et du grec *dinos* pour la rotation de la cellule sur elle-même. L'épithète *rugosum* (latin: *rugosus*) se rapporte à l'ornementation plissée, ridée, froncée de la surface thécale.

N.B. L'article 42 du Code International de Nomenclature Botanique (McNeill *et al.*, 2006) qui autorise une seule description générico-spécifique a été appliqué.

Vulcanodinium rugosum sp. nov. se présente sous forme d'amas (Fig. 2) ou de cellules isolées (Figs 3–4). C'est une espèce à thèque robuste. En vues ventrale, dorsale et latérales gauche et droite, les cellules sont biconiques à arrondies (Figs 3–4, 7–10, 26–27) et subcirculaires en vues apicale et antapicale (Figs 11–12, 28–29). Elles mesurent 24–30 µm de longueur (moyenne 27,6 µm, écart-type 1,9 µm) et 24–30 µm de largeur (moyenne 27,4 µm, écart-type 1,7 µm) (n=13).

L'épithèque est conique à hémisphérique et tronquée avec un apex imposant (Figs 7–10, 26–27). L'hypothèque est trapézoïdale ou hémisphérique et acuminée à l'antapex (Figs 7–10, 26–27). Le cingulum est large et descendant de 1,5 à 2 fois sa propre largeur (Figs 5, 7, 26). Le sulcus est très développé, profond, sigmoïde, étroit antérieurement et s'élargissant postérieurement. Il indente facultativement l'épithèque (Figs 7, 18) et atteint l'antapex (Figs 7, 12, 26–29). La tabulation est Po, Po, X, 4', 3a, 7'', 6c, 6s, 5''', 2''''.

La tabulation de l'épithèque est symétrique et se décompose en une plaque du pore apical (Po), une plaque canal (X), quatre plaques apicales (4'), trois plaques intercalaires (3a) et sept plaques précingulaires (7'') (Figs 11, 28). La plaque Po est ronde avec un pore apical circulaire (Figs 6, 28). Elle est de grande dimension (environ 6 µm de diamètre) et entourée des bords surélevés des plaques 2', 3' and 4' (Figs 13–15, 28). Elle est lisse avec quelques pores marginaux (Figs 14–15). Une matrice muqueuse est extrudée de son centre (Figs 3, 13–15), ce qui n'a pas permis d'observer le pore apical en MEB. La plaque X, relativement longue, est profondément en retrait et peut être masquée par le bord des plaques 2' et 4' (Fig. 16). La première plaque apicale 1' est étroite, courte et asymétrique (Figs 7, 16–17, 26). Les plaques apicales 2', 3' et 4' sont hexagonales (Figs 11, 28). Les trois plaques intercalaires sont contiguës et la seconde (2a) est mi-dorsale. Les plaques 1a et 2a sont pentagonales tandis que la plaque 3a est hexagonale (Figs 11, 28).

Le cingulum est constitué de six plaques (6c) dont la première (c₁) est étroite (Figs 7, 18–19, 26). Il a la particularité de former une petite indentation de l'épithèque au niveau du bord antérieur de la dernière plaque (c₆) (Figs 7, 18, 19).

Le sulcus est formé de sept plaques (7s) et de deux lisières très développées : une lisière sulcale droite (Isd) et une lisière sulcale interne (Isi) (Figs 18, 19). La plaque sulcale antérieure (Sa) est relativement grande et en forme d'hameçon. Elle indente facultativement l'épithèque (Figs 5, 7, 16–18). Son bord droit, adjacent à la plaque précingulaire 7'' est très incurvé (Figs 7, 17–19, 26). Elle est très creusée sur son bord postérieur gauche et abrite la petite plaque médiane (Sm) (Fig. 18). Elle se prolonge postérieurement par la plaque sulcale antérieure droite (Sda) (Fig. 19). La plaque sulcale droite (Sd) est trapézoïdale et située à l'extrémité du cingulum (Figs 18–19, 26). La plaque sulcale gauche (Ss) est haute, irrégulière et très élargie postérieurement. Elle est connectée antérieurement à la plaque Sm (Fig. 18). Une plaque sulcale interne (Si) située entre les deux plaques Sd et Ss est souvent dissimulée par les lisières sulcales (Figs 18–19). La plaque sulcale postérieure (Sp), qui est la plus grande des sulcales, atteint l'antapex. Son bord antérieur supporte les trois plaques Sd, Si et Ss. Elle ne remonte pas à gauche jusqu'à la plaque c₁ du cingulum (Figs 18–19, 26). La zone du pore flagellaire est très difficile à localiser dans le sulcus à cause des lisières sulcales très développées. Il pourrait se situer au niveau de la plaque Sm (Fig. 18).

L'hypothèque, dont l'arrangement est légèrement asymétrique, est composée de cinq plaques postcingulaires (5''') et de deux plaques antapicales (2''') (Figs 12, 29). La plaque 1''' est la plus petite des plaques postcingulaires (Figs 12, 29). Les

plaques antapicales sont irrégulièrement pentagonales et de taille inégale, la seconde (2^{'''}) étant la plus petite (Figs 12, 29).

Les plaques thécales, y compris celles du cingulum et du sulcus sont couvertes de fortes stries longitudinales, occasionnellement obliques (Figs 7–10, 20), perceptibles en microscopie photonique (Fig. 5). Par ailleurs, une réticulation transversale est souvent présente (Figs 7–10, 21). La thèque est de plus perforée de pores ronds aux bords épaissis, répartis irrégulièrement sur la surface (Figs 20–23) et d'assez grande taille (0,23–0,28 µm). Une ligne marginale de pores est souvent observée sur les bords des plaques postcingulaires, le long du cingulum (Fig. 22). Les bandes intercalaires de croissance sont lisses et peuvent être très larges (Fig. 23).

Le noyau est allongé et localisé dans la région équatoriale du cingulum (Fig. 4).

L'état des échantillons, fixés au lugol, n'a pas permis d'étudier la présence d'éventuels chloroplastes et stigma.

Il est à souligner que des formes arrondies, légèrement plus petites avec une ornementation rudimentaire et une tabulation plus ou moins formée ont été observées dans l'échantillon de l'étang d'Ingril. (Figs 24–25).

3.4. Positionnement phylogénétique

Concernant les données moléculaires, deux séquences LSU rDNA de *Vulcanodinium rugosum* identiques ont été obtenues. Une seule d'entre elles a été déposée dans GenBank sous le numéro d'accèsion HQ622103. Toutefois, les deux séquences ont servi à la construction de l'arbre.

L'arbre phylogénétique (Fig. 30) indique que *Vulcanodinium rugosum* se détache des taxons gonyaulacoïdes et forme un clade à l'intérieur des dinoflagellés peridinioïdes. Par ailleurs, ce nouveau taxon ne se regroupe pas avec les espèces morphologiquement proches du genre *Scrippsiella*. Toutefois, bien que sans support statistique, il est présent dans le clade frère du groupe *Thoracosphaera*–*Calciodinellum*, qui inclut *Scrippsiella*. De plus, il constitue un groupe frère des genres *Peridinium*, *Diplopsalis*, *Archaeoperidinium*, *Preperidinium* et *Protoperidinium*. Cette dernière position était relativement bien supportée par une probabilité postérieure de 0.94 dans l'analyse Bayésienne (BI). Une position similaire était obtenue (figure non présentée) dans un arbre réalisé à partir d'un fragment partiel ITS1, 5.8S, ITS2 (numéro d'accèsion HQ622102).

4. Discussion

D'un point de vue morphologique, l'arrangement des plaques de l'épithèque est symétrique avec des plaques intercalaires contigües dont l'une est mi-dorsale (2a), contrairement aux espèces des genres *Peridinium* Ehrenb. et *Bysmatrum* M.A. Faust & Steid., comme chez *B. caponii* (T. Horig. & Pienaar) M.A. Faust & Steid. (Lombard & Capon, 1971; Horiguchi & Pienaar, 1988a; Faust & Steidinger, 1998), *B. subsalsum* (Ostenf.) M.A. Faust & Steid. (Steidinger & Balech, 1977; Faust & Steidinger, 1998), *B. arenicola* (T. Horig. & Pienaar) M.A. Faust & Steid. (Horiguchi & Pienaar, 1988b; Faust & Steidinger, 1998), *B. granulosum* Ten-Hage *et al.* (Ten-Hage *et al.*, 2001) et *B. teres* Murray *et al.* (Murray *et al.*, 2006). La forme de la première plaque apicale 1' est très particulière et caractérise la nouvelle espèce. *Vulcanodinium rugosum* se distingue également par la seconde plaque intercalaire

antérieure (2a) qui est de type penta (5 côtés) contrairement aux espèces du genre *Scrippsiella* Balech ex A.R. Loeb. chez lesquelles elle est de type hexa (6 côtés) (Fensome, 1993). C'est le cas par exemple chez *Scrippsiella sweeneyae* Balech ex A.R. Loeb. (Balech, 1959; Loeblich III, 1965), *S. spinifera* Honsell & Cabrini (Honsell & Cabrini, 1991), *S. tinctoria* Indel. & A.R. Loeb. (Indelicato & Loeblich, 1985).

Le cingulum de *Vulcanodinium rugosum* est constitué de six plaques (6c), ce qui distingue cette espèce de celles du genre *Protoperidinium* Bergh avec trois à quatre plaques cingulaires (3–4c) et *Pentapharsodinium* Indel. & A.R. Loeb. avec cinq plaques cingulaires (5c) comme chez *P. dalei*, *P. trachodium* Indel. & A.R. Loeb. (Indelicato & Loeblich, 1986) et *P. tyrrhenicum* (Balech) Montresor *et al.* (Montresor *et al.*, 1993). Le cingulum est très descendant (au moins 1,5 fois sa propre largeur), comme dans le genre *Gonyaulax* Diesing, alors qu'il n'est que légèrement déplacé dans le genre *Scrippsiella* (moins de 1 fois sa propre largeur) (Balech, 1959; Loeblich, 1965; Sournia, 1986). La première plaque c_1 est plus petite que les cinq autres de la série, comme chez *Scrippsiella*. Quant au sulcus, la forme sigmoïde et le nombre élevé de plaques (7s) rappellent le genre *Gonyaulax*, alors que l'arrangement des plaques est de type peridinioïde (Fensome, 1993). Les sillons, parties généralement considérées comme les plus conservées au rang du genre (Balech, 1980) ne correspondent donc, dans notre cas, à aucun genre connu (Tableau 1).

L'arrangement des plaques de l'hypothèque est de type peridinioïde mais la légère asymétrie des plaques antapicales diffère d'autres genres peridinioïdes tels que *Scrippsiella*, *Pentapharsodinium*, *Protoperidinium*, *Peridinium* (Indelicato & Loeblich, 1986).

Finalement, l'arrangement des plaques est de type peridinioïde et non gonyaulacoïde avec une tabulation propre à un nouveau genre (Tableau 1).

D'autres critères peuvent être retenus pour définir ce nouveau taxon: l'apex tronqué avec une plaque Po de grande taille d'où jaillit un panache muqueux, la plaque X relativement longue et en retrait, et l'ornementation forte et complexe des plaques.

La production d'une matrice muqueuse à l'apex a déjà été soulignée chez d'autres espèces comme *Bysmatrum caponii*, *B. subsalsum*, *B. arenicola* ou encore chez *Scrippsiella hexapraecingula* T. Horig. & Chihara (Horiguchi & Chihara, 1983). Considérant la faible profondeur de l'étang d'Ingril, *Vulcanodinium rugosum* pourrait occuper le même habitat épibenthique/épiphyte que ces dernières, ce qu'une étude écologique complémentaire permettrait de confirmer.

Les résultats de l'étude phylogénétique confirment l'appartenance de *Vulcanodinium rugosum* aux taxons peridinioïdes. De façon inattendue, il ne se regroupe pas avec les genres proches morphologiquement comme *Scrippsiella* ou *Pentapharsodinium*. Toutefois, il est regrettable que le genre *Bysmatrum*, également proche, n'ait pu être pris en compte à défaut de séquences moléculaires disponibles.

Le genre *Vulcanodinium* se situe à la base d'un clade constitué de taxons rattachés aux Peridiniaceae (*Peridinium*) et aux Protoperidiniaceae (*Diplopsalis*, *Archaeoperidinium*, *Preperidinium*, *Protoperidinium*) dont la topologie est très similaire à celle mise en évidence par Gribble & Anderson (2006). De ce fait, le rattachement du genre *Vulcanodinium* à une famille déterminée est incertain. Par ailleurs, il apparaît que *V. rugosum* est relativement éloigné des dinoflagellés calcaires tels que *Calciodinellum operosum*, *Calcigonellum infula*, *Enciculifera* cf.

loeblichii, Pentapharsodinium tyrrhenicum, Pernambugia tuberosa, Scrippsiella spp. et Thoracosphaera heimii (Gottschling et al., 2005; 2008). Une étude complémentaire requérant une mise en culture est cependant nécessaire pour savoir s'il est capable ou non de produire une structure calcaire à un stade donné de son cycle. Ceci permettrait également de comprendre la signification des formes arrondies, de plus petite taille et plus ou moins ornementées, qui pourraient résulter d'un désenkystement (Ellegaard et al., 2002).

En conclusion, sur la base des résultats morpho-moléculaires, nous proposons *Vulcanodinium* comme nouveau genre avec l'espèce-type *V. rugosum*, épithète en rapport avec la description de l'ornementation. Les données phylogénétiques suggèrent que *Vulcanodinium* appartient à l'ordre des Peridinales incertae sedis. Cependant, la présente étude ne suffit pas à clarifier sa position phylogénétique, par manque d'informations génétiques disponibles pour des taxons apparentés. Enfin, bien que la toxicité de *V. rugosum* soit suspectée, elle n'a pas été considérée dans cette étude et reste à démontrer.

Remerciements

Nous tenons à remercier nos collègues Eric Abadie, Claude Chiantella et Françoise Marco-Miralles pour la fourniture d'échantillons, Gwenael Bilien, Sylviane Boulben et Karine Chèze pour leur aide technique moléculaire ainsi que Pr Alain Couté pour la traduction de la diagnose en latin.

Références

Balech E., 1959 – Two new genera of dinoflagellates from California. *Biological Bulletin* 116 (2): 195-203.

Balech E., 1980 – On thecal morphology of Dinoflagellates with special emphasis on circular and sulcal plates. *Anales del Centro de ciencias del mar y limnología, Universidad nacional autonoma de Mexico* 7 (1): 57-68.

Chomérat N. & Couté A., 2008 – *Protoperidinium bolmonense* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae), a small dinoflagellate from a brackish and hypereutrophic lagoon (South of France). *Phycologia* 47 (3): 392-403.

Chomérat N., Sellos D.Y., Zentz F. & Nézan E., 2010 – Morphology and molecular phylogeny of *Prorocentrum consutum* sp. nov. (Dinophyceae), a new benthic dinoflagellate from South Brittany (Northwestern France). *Journal of Phycology* 46: 183-194.

Daugbjerg N., Hansen G., Larsen J. & Moestrup Ø., 2000 – Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates based on ultrastructure and partial LSU rDNA sequence data, including the erection of three new genera of unarmoured dinoflagellates. *Phycologia* 39: 302-317.

Dodge J.D., 1989 – Some revisions of the family Gonyaulacaceae (Dinophyceae) based on a scanning electron microscope study. *Botanica Marina* 32: 275-298.

Edgar R.C., 2004 – MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32: 1792-1797.

Ellegaard M., Lewis J. & Harding I. 2002 – Cyst-theca relationship, life cycle, and effects of temperature and salinity on the cyst morphology of *Gonyaulax baltica* sp. nov. (Dinophyceae) from the Baltic Sea area. *Journal of Phycology* 38: 775-789.

Faust M.A. & Steidinger K.A., 1998 – *Bysmatrum* gen. nov. (Dinophyceae) and three new combinations for benthic scrippsielloid species. *Phycologia* 37 (1): 47-52.

Fensome R.A., Taylor F.J.R., Norris G., Sarjeant W.A.S., Wharton D.I., Williams G.L., 1993 – A classification of living and fossil dinoflagellates. *Micropaleontology, Special Publication 7*: 1-351.

Gottschling M., Keupp H., Plötner J., Knop R., Willems H. & Kirsch M., 2005 – Phylogeny of calcareous dinoflagellates as inferred from ITS and ribosomal sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 36: 444-455.

Gottschling M., Renner S.S., Meier K.J.S., Willems H. & Keupp H., 2008 – Timing deep divergence events in calcareous dinoflagellates. *Journal of Phycology* 44: 429-438.

Gribble K.E. & Anderson D.M., 2006 – Molecular phylogeny of the heterotrophic dinoflagellates, *Protoperidinium*, *Diplopsalis* and *Preperidinium* (Dinophyceae), inferred from large subunit rDNA. *Journal of Phycology* 42: 1081-1095.

Guindon S. & Gascuel O., 2003 – A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology* 52 (5): 696-704.

Honsell G. & Cabrini M., 1991 – *Scrippsiella spinifera* sp. nov. (Pyrrophyta): a new dinoflagellate from the Northern Adriatic Sea. *Botanica Marina* 34: 167-175.

Horiguchi T. & Chihara M., 1983 – *Scrippsiella hexapraecingula* sp. nov. (Dinophyceae), a tide pool dinoflagellate from the Northwest Pacific. *Botanical Magazine, Tokyo* 96: 351-358.

Horiguchi T. & Pienaar R.N., 1988a – A redescription of the tidal pool dinoflagellate *Peridinium gregarium* based on re-examination of the type material. *British Phycological Journal* 23: 33-39.

Horiguchi T. & Pienaar R.N., 1988b – Ultrastructure of a new sand-dwelling dinoflagellate, *Scrippsiella arenicola* sp. nov. *Journal of Phycology* 24: 426-438.

Indelicato S.R. & Loeblich A.R.III., 1985 – A description of the marine dinoflagellate, *Scrippsiella tinctoria* sp. nov. *Japanese Journal of Phycology* 33: 127-134.

Indelicato S.R. & Loeblich A.R.III., 1986 – A revision of the marine peridinioid genera (Pyrrophyta) utilizing hypothecal-cingular plate relationships as a taxonomic guideline. *Japanese Journal of Phycology* 34: 153-162.

Loeblich A.R.III., 1965 – Dinoflagellate nomenclature. *Taxon* 14 (1): 15-18.

Lombard E.H. & Capon B., 1971 – *Peridinium gregarium*, a new species of dinoflagellates. *Journal of Phycology* 7: 184-187.

McNeill J., Barrie F.R., Burdet H.M., Demoulin V., Hawksworth D.L., Marhold K., Nicolson D.H., Prado J., Silva P.C., Skog J.E., Wiersema J.H. & Turland N.J., 2006 – *International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code)*. *Regnum Vegetabile* 146. A.R.G. Gantner Verlag KG, 568 p.

Montresor M., Zingone A. & Marino D., 1993 – The calcareous resting cyst of *Pentaparsodinium tyrrhenicum* comb. nov. (Dinophyceae). *Journal of Phycology* 29: 223-230.

Murray S., Hoppenrath M., Larsen J. & Patterson D.J., 2006 – *Bysmatrum teres* sp. nov., a new sand-dwelling dinoflagellate from north-western Australia. *Phycologia* 45 (2): 161-167.

Posada D., 2008 – jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25 (7): 1253-1256.

Rasband W.S., 1997–2006 – Image J. Ver. 1.37c Available at: <http://rsb.info.nih.gov/ij>.

Ronquist F. & Huelsenbeck J.P., 2003 – MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19 (12): 1572-1574.

Scholin C. & Anderson D.M., 1994 – Identification of group- and strain-specific genetic markers for globally distributed *Alexandrium* (Dinophyceae). II. Sequence analysis of a fragment of the LSU rDNA gene. *Journal of Phycology* 30: 999-1011.

Sournia A., 1986 – Atlas du Phytoplancton Marin. Volume I: Introduction, Cyanophycées, Dictyochophycées, Dinophycées et Raphidophycées. Éditions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 219 p.

Steidinger K.A. & Balech E., 1977 – *Scrippsiella subsalsa* (Ostenfeld) comb. nov. (Dinophyceae) with a discussion on *Scrippsiella*. *Phycologia* 16 (1): 69-73.

Swofford D.L., 2002 – PAUP* beta version. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Version 4.0b10. Sinauer Associated, Sunderland, MA.

Ten-Hage L., Quod J.P., Turquet J. & Couté A., 2001 – *Bysmatrum granulorum* sp. nov., a new benthic dinoflagellate from the southwestern Indian Ocean. *European Journal of Phycology* 36: 129-135.

Figures

Fig. 1. Localisation des trois sites d'échantillonnage.

Figs 2–6. Observations en microscopie photonique. Fig. 2. Amas de cellules. Fig. 3. Cellule isolée montrant la matrice muqueuse (tête de flèche). Fig. 4. Cellule avec le noyau visible (n). Fig. 5. Thèque montrant les stries longitudinales (tête de flèche). Fig. 6. Détail de la plaque du pore apical Po dissociée de la thèque. Le pore apical est indiqué par une tête de flèche. Figs 2–4. Cellules fixées au lugol. Figs 4–6. Images en contraste de phase. Fig. 2, échelle = 20 µm. Figs 3–6, échelle = 10 µm.

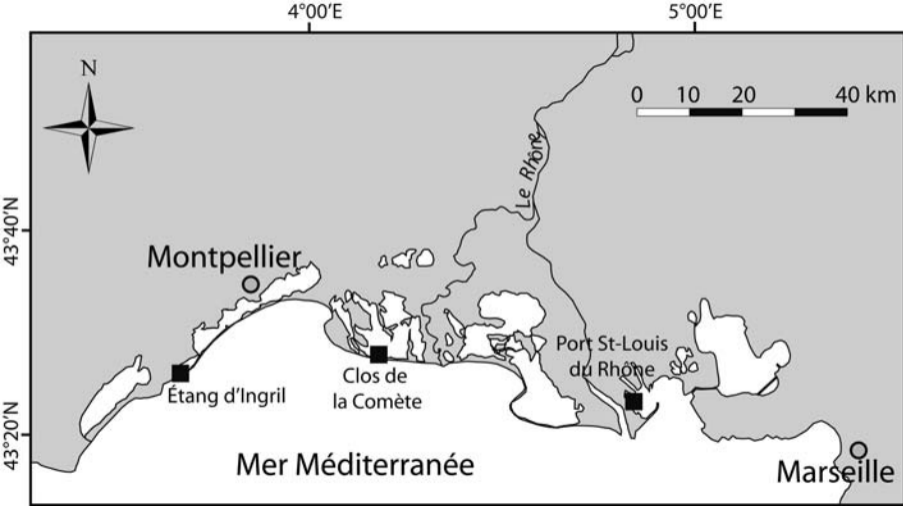
Figs 7–12. Observations en microscopie électronique à balayage. Fig. 7. Vue ventrale. Noter la petite indentation sur le bord antérieur de la plaque c_6 (flèche blanche). Fig. 8. Vue dorsale. Fig. 9. Vue latérale gauche. Fig. 10. Vue latérale droite. Fig. 11. Vue apicale. Fig. 12. Vue antapicale. Figs 7–12, échelle = 10 μm .

Figs 13–19. Observations en microscopie électronique à balayage. Fig. 13. Zone apicale en vue ventrale d'où sort une matrice muqueuse au centre. Fig. 14. Plaque Po en vue ventro-apicale, lisse et pourvue de quelques pores marginaux. Une matrice muqueuse est visible au centre. Fig. 15. Plaque Po en vue dorso-apicale, lisse et pourvue de quelques pores marginaux. Une matrice muqueuse est visible au centre. Fig. 16. Partie ventrale de l'épithèque avec mise en évidence des plaques X, 1' et de l'indentation de la plaque Sa sur l'épithèque (flèche blanche). Fig. 17. Partie ventrale de l'épithèque avec mise en évidence des plaques 1' et Sa. Fig. 18. Détail du cingulum et du sulcus. Au niveau du cingulum, noter la petite taille de la plaque c_1 et la petite indentation sur le bord antérieur de la plaque c_6 (flèche blanche). Au niveau du sulcus, mise en évidence de la petite plaque Sm et des lisières sulcales (têtes de flèches noires). Fig. 19. Détail du cingulum et du sulcus. Au niveau du cingulum, noter la petite taille de la plaque c_1 et la petite indentation sur le bord antérieur de la plaque c_6 (flèche blanche). Au niveau du sulcus, mise en évidence des plaques Sda et Si ainsi que des lisières sulcales lsd et lsi (têtes de flèches noires). Figs 13–19, échelle = 5 μm .

Figs 20–25. Observations en microscopie électronique à balayage. Figs 20–23. Détail de l'ornementation de la thèque. Fig. 20. Noter les stries longitudinales et les pores de surface. Fig. 21. Noter la réticulation transversale et les pores de surface. Fig. 22. Noter la distribution irrégulière des pores de surface et une rangée marginale de pores (flèches blanches). Fig. 23. Cellule avec des bandes intercalaires larges. Fig. 24. Petite forme rudimentaire avec amorce du cingulum (c). Fig. 25. Petite forme avec tabulation complète. Figs 20–23, échelle = 5 μm . Figs 24–25, échelle = 10 μm .

Figs. 26–29. Dessins montrant la morphologie et l'arrangement des plaques thécales. Fig. 26. Vue ventrale. Fig. 27. Vue dorsale. Fig. 28. Vue apicale. Fig. 29. Vue antapicale. Figs 26–29, échelle = 10 μm .

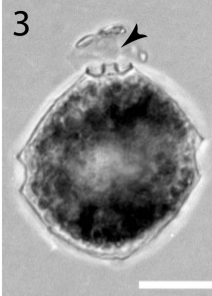
Fig. 30. Phylogénie de *Vulcanodinium rugosum* et des espèces apparentées, établie à partir d'une matrice de données LSU rDNA (39 taxons, 635 caractères). L'arbre phylogénétique obtenu par l'analyse en maximum de vraisemblance (modèle GTR+I+ Γ_4 , I = 0.060, Γ = 0.773) est enraciné avec les deux séquences de *Gonyaulax* spp. comme groupe externe (outgroup). Valeur de vraisemblance: loglk = -7417.979. Matrice de substitution: A \leftrightarrow C = 0.90553, A \leftrightarrow G = 2.89416, A \leftrightarrow T = 0.84424, C \leftrightarrow G = 0.67458, C \leftrightarrow T = 7.57715, G \leftrightarrow T = 1.00000. Fréquence des nucléotides: f(A) = 0.24562, f(C) = 0.19648, f(G) = 0.28001, f(T) = 0.27789. Les points noirs identifient les branches supportées par des valeurs de bootstrap de 100 et une probabilité postérieure de 1.00. Les nombres au-dessus des branches indiquent, de gauche à droite, les valeurs de bootstrap (ML), les probabilités postérieures (BI) et les valeurs de bootstrap (MP) seulement si la valeur de bootstrap est supérieure à 50 dans l'analyse ML. Le symbole « - » indique l'absence de branche dans l'analyse MP. Abréviations: GO = espèces gonyaulacoïdes, GY = espèces gymnodinioïdes, P = espèces peridinioïdes.



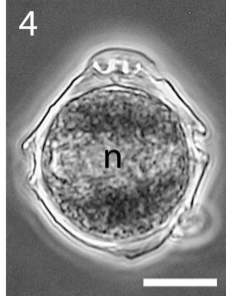
2



3



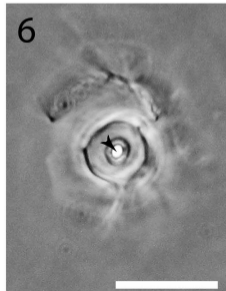
4

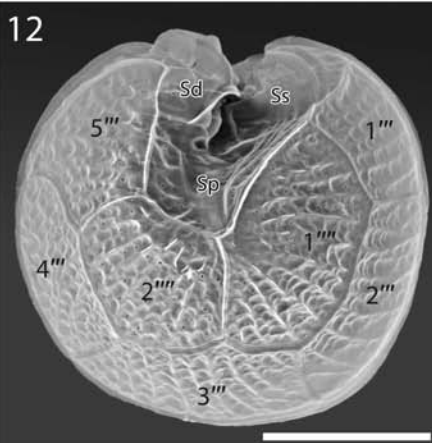
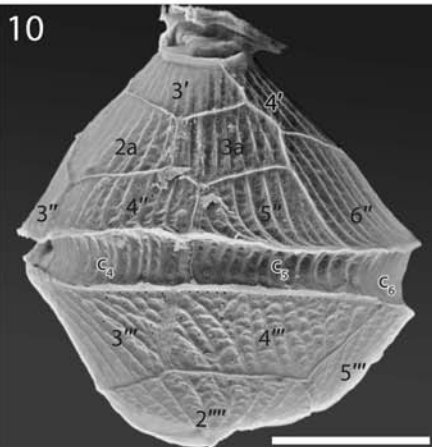
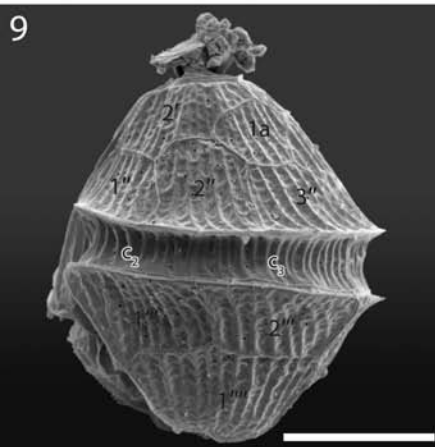
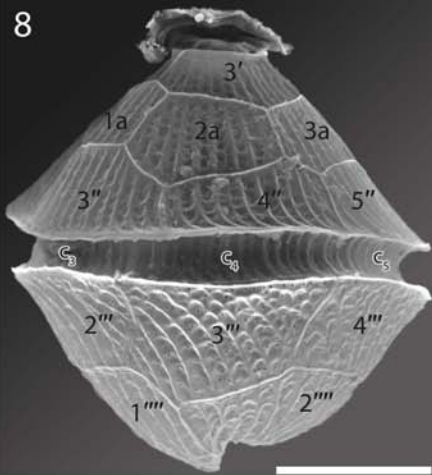
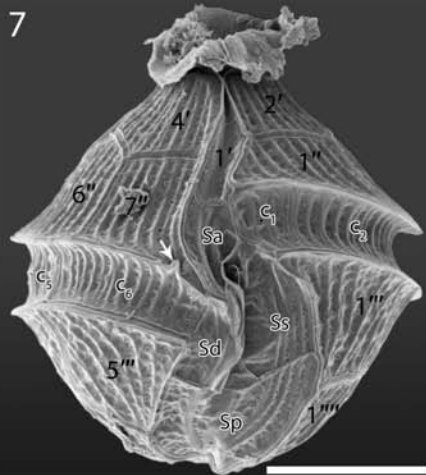


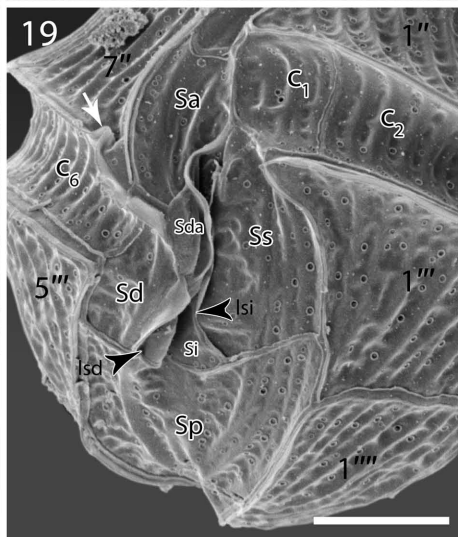
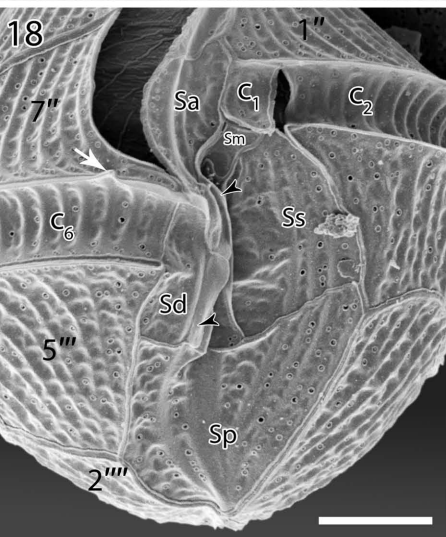
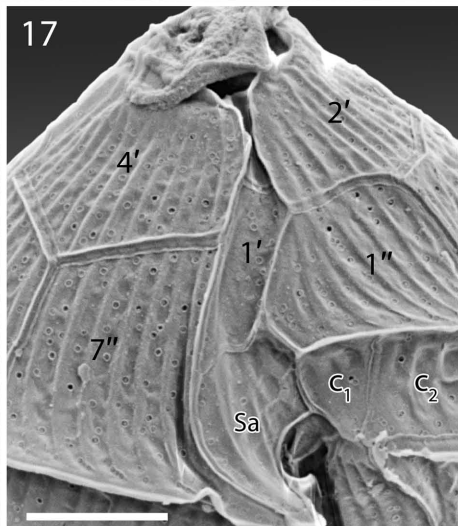
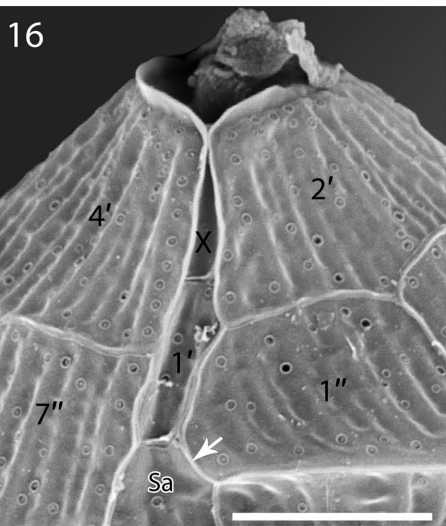
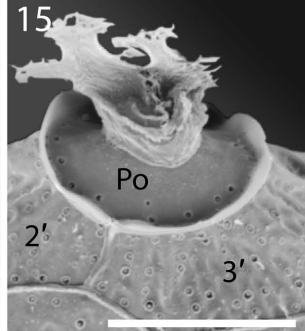
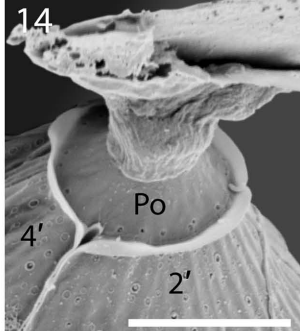
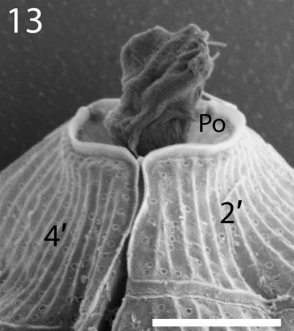
5

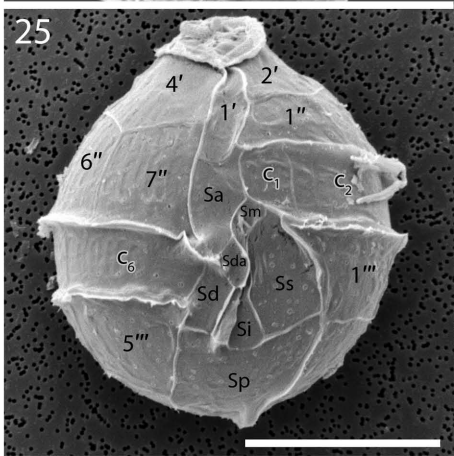
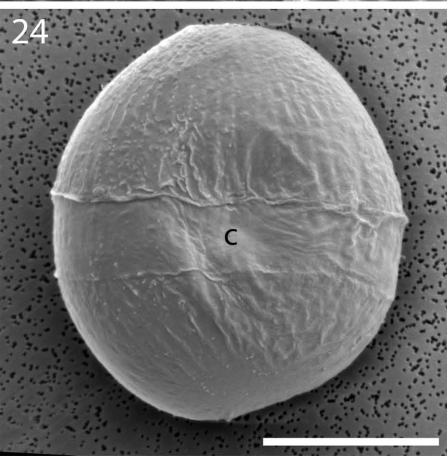
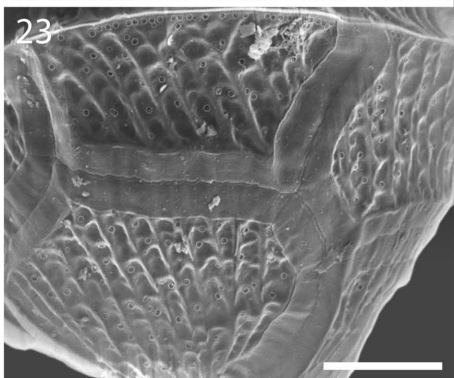
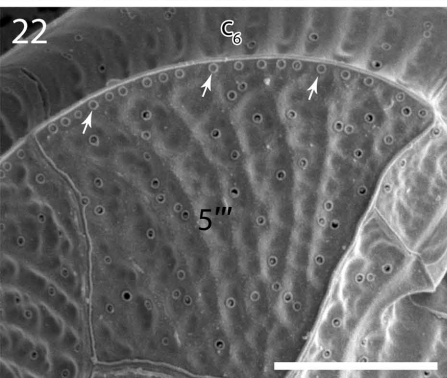
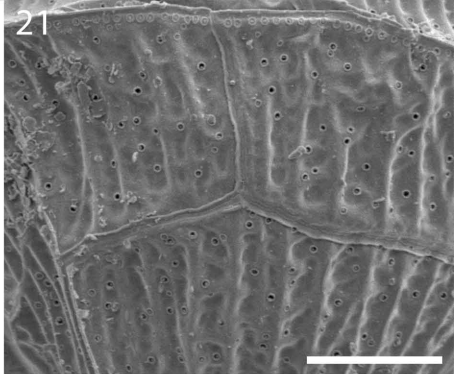
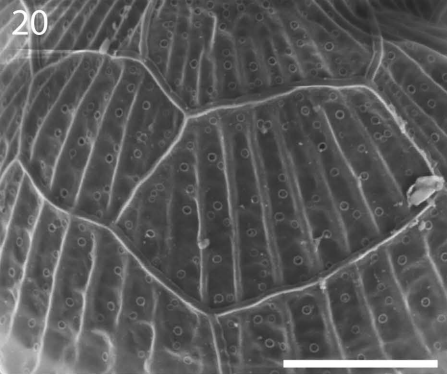


6

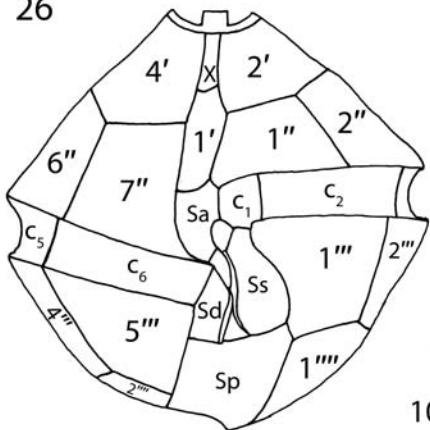




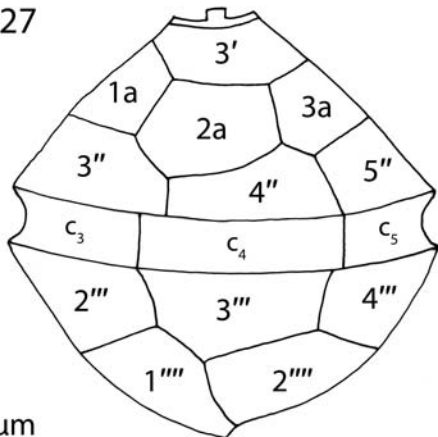




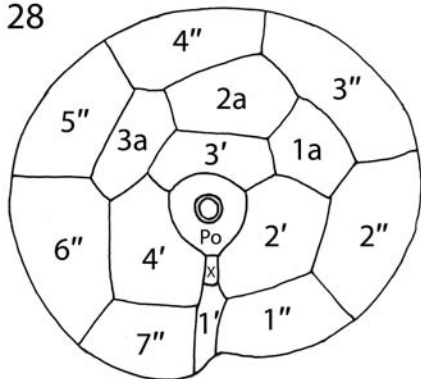
26



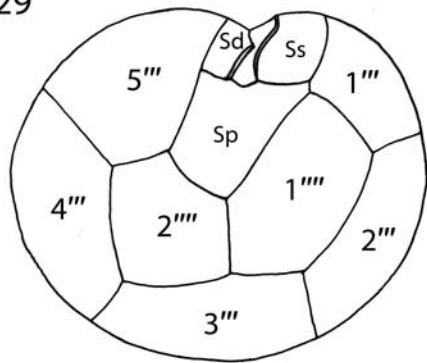
27

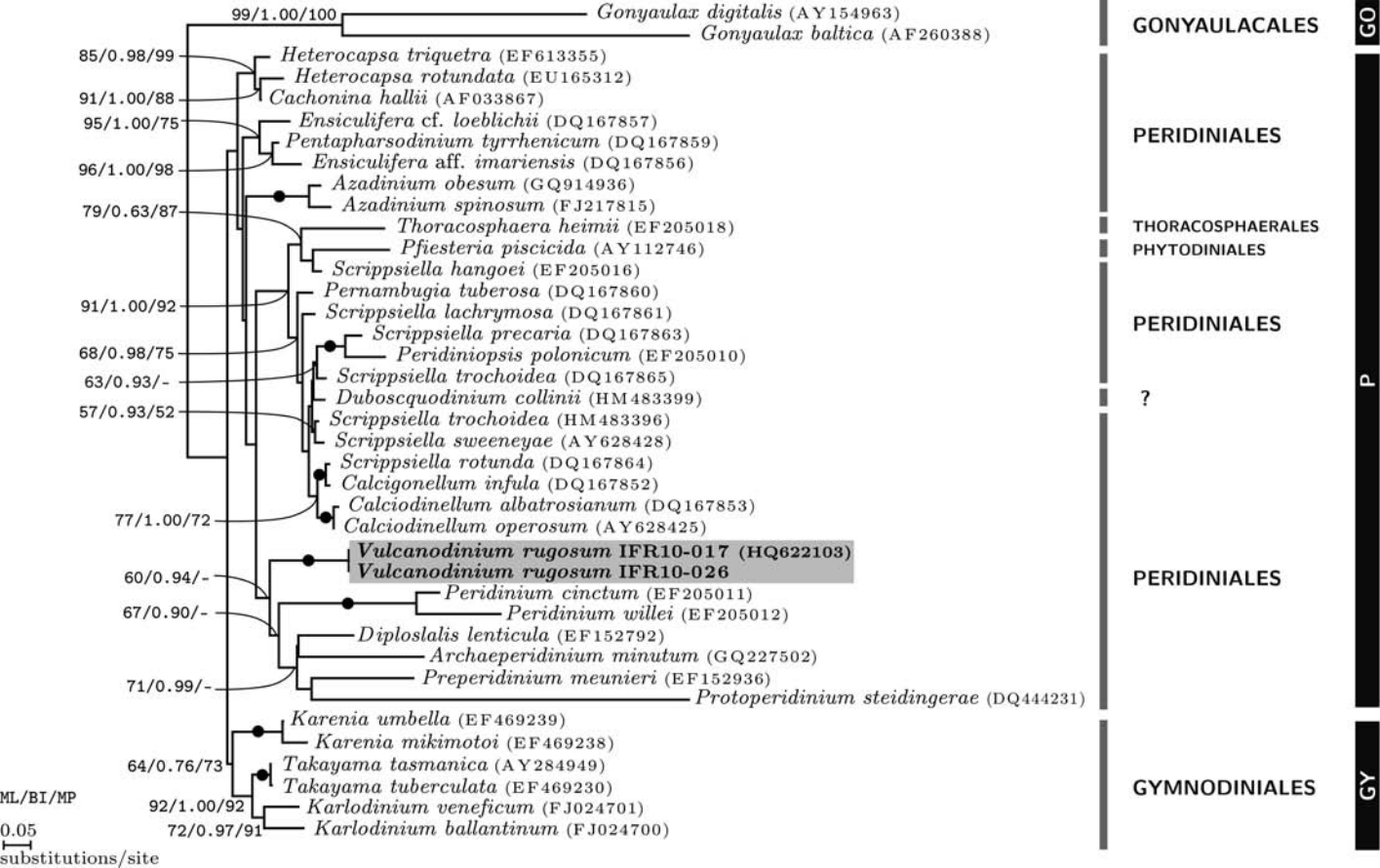
10 μ m

28



29





Tableau

Tableau 1 : Comparaison de *Vulcanodinium* gen. nov. avec d'autres genres voisins

| | <i>Vulcanodinium</i> Nézan & Chomérat gen. nov. | <i>Scrippsiella</i> Balech ex Loebl. | <i>Peridinium</i> A.R. Ehrenb. | <i>Bysmatrum</i> M.A. Faust & Steid. | <i>Protoperidinium</i> Bergh | <i>Pentapharsodiniu</i> <i>m</i> Indel. & Loebl. | <i>Gonyaulax</i> Diesing A.R. |
|---------------------------------------|---|--|-----------------------------------|--|---------------------------------|---|-------------------------------------|
| Plaques de l'APC | Po, X | Po, X | Po, X | Po, X | Po, X | Po, X | Po |
| Plaques apicales (') | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3–5 |
| Plaques intercalaires antérieures (a) | 3 | 3 | 2–3 | 3 | 3 | 3 | 0–2 |
| Plaques précingulaires ('') | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 6 |

| | | | | | | | |
|---|------------|------------|---------------------------------|-------------|---------------------------------|------------|-------------|
| Plaques cingulaires (c) | 6 | 6 | 5–6 | 6 | 3–4 | 5 | 6 |
| Plaques sulcales (s) | 7 | 4–5 | 5 | 4 | 6–7 | 4 | 7–8 |
| Plaques postcingulaire s (") | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 6 |
| Plaques intercalaires postérieures (p) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| Plaques antapicales (") | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 1 |
| Tabulation de l'épithèque | Symétrique | Symétrique | Symétrique ou asymétrique | Asymétrique | Symétrique ou asymétrique | Symétrique | Asymétrique |

| | | | | | | | |
|----------------------------|------------------------|---|----------------|--------------------|----------------|--------------|--------------|
| Tabulation de l'hypothèque | Asymétrique | Symétrique | Symétrique | Asymétrique | Symétrique | Symétrique | Asymétrique |
| Déplacement du cingulum | Prononcé | Faible | Nul à prononcé | Faible à prononcé | Nul à prononcé | Faible | Prononcé |
| Habitat | Epiphyte/benthique (?) | En général, planctonique | Planctonique | Epiphyte/benthique | Planctonique | Planctonique | Planctonique |
| Matrice mucoïde | Oui | Non observé sauf <i>hexapraecingula</i> | Non observé | Oui | Non observé | Non observé | Non observé |
