

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

RELATION THÈQUE-KYSTE ET PHYLOGÉNIE (ADN CODANT POUR L'ARN
DE LA PETITE SOUS-UNITÉ RIBOSOMALE) DU KYSTE DE DINOFLAGELLÉ
ARCTIQUE *ISLANDINIUM MINUTUM* (HEAD *ET AL.*, 2001)

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ À

L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI

comme exigence partielle du programme de

maîtrise en océanographie

PAR

ERIC POTVIN

Mars 2010

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

*“Classifications are theories about the basis of natural order,
not dull catalogues compiled only to avoid chaos”*

Stephen Jay Gould, *Wonderful Life*, 1989

REMERCIEMENTS

Maintenant au terme de ce projet, je souhaite exprimer toute ma gratitude aux nombreuses personnes qui en ont permis la réalisation. Je tiens tout d'abord à remercier mon superviseur et ma cosuperviseure, soit le Dr André Rochon¹ et la Dre Connie Lovejoy² respectivement, qui sont à l'origine de ce mémoire. Je ne saurais trop remercier Étienne Faubert¹ (technicien), Jacques Labrie¹(auxiliaire de recherche), Claude Belzile¹ (agent de recherche) et Louis Bernier³ (auxiliaire à l'enseignement) pour leur professionnalisme, leur efficacité et leur grande disponibilité. Je tiens ensuite à remercier la Dre Marianne Ellegaard⁴ pour ses conseils techniques au niveau de la microscopie à épifluorescence ainsi que la Dre Karine Lemarchand¹, la Dre Gesche Winkler¹, la M.Sc. Sofia Ribeiro⁴ et le Dr Takeo Horiguchi⁵ pour leurs conseils techniques au niveau de la génétique. Je tiens par la suite à remercier le Dr Yuri B. Okolodkov⁶ et le Dr John Dodge⁷ pour la littérature suggérée ainsi que pour celle transmise. Je tiens à remercier tout spécialement le Dr Rodrigue Bélanger⁸ qui a permis d'établir la diagnose latine de l'espèce étudiée. Enfin, je remercie les officiers et l'équipage du NGCC *Amundsen*, la Dre Trecia Schell⁹, le

¹ Université du Québec à Rimouski, Institut des Sciences de la Mer de Rimouski, Canada

² Université Laval, Département de Biologie, Canada

³ Université du Québec à Rimouski, Département de Génie, Canada

⁴ Université de Copenhague, Département de Biologie, Danemark

⁵ Université Hokkaido, Faculté des Sciences, Département d'Histoire des Sciences Naturelles, Japon

⁶ Université Veracruzana, Institut des Sciences de la Mer et des Pêches, Mexique

⁷ Retraité

⁸ Retraité

⁹ Université Dalhousie, Département des Sciences de la Terre, Canada

B.Sc. Robbie J. Bennett¹⁰, la B.Sc. Lisa Delaney¹¹ et la Dre Sophie Dupré¹² pour leur aide lors des campagnes d'échantillonnage en mer à l'été 2005 et 2006 ainsi que la Dre Karine Lemarchand¹ qui a fourni l'accès à son laboratoire d'écologie moléculaire.

Je tiens à remercier également le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada, le Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies et le Programme de formation scientifique dans le Nord du ministère des Affaires indiennes et du Nord canadien pour leur soutien financier sans lequel ce travail n'aurait pas vu le jour.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance aux membres du jury pour avoir consacré de leur temps afin d'évaluer ce mémoire. Je remercie particulièrement Suzanne Roy¹ pour avoir accepté la présidence du jury ainsi que Marianne Ellegaard⁴ et Øjvind Moestrup⁴ pour avoir accepté d'être examinateurs externes.

Je n'oublierai en aucun cas tous les collègues et amis de l'Université du Québec à Rimouski sans qui le travail n'aurait pas été pareil : Agathe Lisé-Pronovost, David Ledu, Dominique Hamel, Francesco Barletta, Hervé Guyard, Manuel Bringué, Marie-Pier St-Onge, Michel Lajoie, Olivia Lacasse, Oscar-Gabriel Casas-Monroy, Thomas Richerol et Ursule Boyer-Villemare.

¹ Université du Québec à Rimouski, Institut des Sciences de la Mer de Rimouski, Canada

⁴ Université de Copenhague, Département de Biologie, Danemark

¹⁰ Institut Océanographique de Bedford, Commission Géologique du Canada, Répertoire des Compétences Géoscientifiques, Canada

¹¹ Université Dalhousie, Département d'Océanographie, Canada

¹² Université Laval, Département de Géographie, Canada

Je dois remercier ma mère et mon père, soit Monique Chaput et Jules Potvin respectivement, pour leur amour et leur support sans fin malgré la distance qui nous séparait. Je ne pourrais jamais mettre en mot la gratitude que je vous porte. Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi. Un gros merci à mes amis (es) qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours autant dans les bons que les moins bons moments. Merci à Jimmy Gobeil sans qui la vie de tous les jours n'aurait pas été pareille. Merci à Kaven Dionne, Pascale Tremblay, Stéphanie Labonté, Lisa-Marie Leclerc et Martin Pelletier qui m'ont suivi tout au long de mon parcours et que je considère comme de proches amis.

LISTE DES COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES ORALES ET PAR AFFICHE

Potvin, É.* et A. Rochon, 2007. Relation thèque-kyste chez l'espèce *Islandinium minutum*.

7^e congrès annuel du GEOTOP, 16 au 18 mars, Harrington, Québec, Canada
(présentation orale, congrès provincial)

Rochon, A.* et **É. Potvin**, 2008. *Protoperidinium canadiense*, sp. nov. (Dinophyceae): A

new dinoflagellate species from the Canadian Arctic. DINO8: Eighth international conference on modern and fossil dinoflagellates, 4 au 10 mai, Montréal, Québec, Canada (présentation orale, congrès international)

Potvin, É.* et A. Rochon, 2008. Les kystes de dinoflagellés épineux arctiques: qui s'y

frotte s'y pique!. 5^e édition du colloque de vulgarisation scientifique: La biologie dans tous ses états, 13 au 14 mars, Rimouski, Québec, Canada (présentation orale, congrès institutionnel)

Potvin, É.*, A. Rochon et C. Lovejoy, 2009. Cyst-theca relationship and genetics of the

arctic dinoflagellate cyst *Islandinium minutum*. 10^e congrès annuel du GEOTOP, 16 au 18 janvier, Harrington, Québec, Canada (présentation orale, congrès provincial)

Potvin, É.*, A. Rochon et C. Lovejoy, 2008. Genetics and cyst-theca relationship of the

arctic dinoflagellate cyst *Islandinium minutum*. Arctic change international

conference 2008, 9 au 12 décembre, Québec, Québec, Canada (présentation par affiche, congrès international)

Potvin, É.*, A. Rochon et C. Lovejoy, 2008. Génétique et relation thèque-kyste du kyste de dinoflagellé arctique *Islandinium minutum*. Assemblée générale annuelle de Québec-Océan, 27 au 28 novembre, Rivière-du-Loup, Québec, Canada (présentation par affiche, congrès provincial)

Potvin, É.*, A. Rochon et C. Lovejoy, 2008. Genetics and cyst-theca relationship of the arctic dinoflagellate cyst *Islandinium minutum*. DINO8: Eighth international conference on modern and fossil dinoflagellates, 4 au 10 mai, Montréal, Québec, Canada (présentation par affiche, congrès international, **prix pour la meilleure présentation par affiche**)

Potvin, É.*, A. Rochon et C. Lovejoy, 2008. Genetics and cyst-theca relationship of the arctic dinoflagellate cyst *Islandinium minutum*. 9^e Journée des sciences de la terre et de l'environnement, 28 mars, Québec, Québec, Canada (présentation par affiche, congrès provincial)

Potvin, É.*, A. Rochon et C. Lovejoy, 2008. Genetics and cyst-theca relationship of the arctic dinoflagellate cyst *Islandinium minutum*. 8^e congrès annuel du GEOTOP, 8 au 10 février, Pohénégamook, Québec, Canada (présentation par affiche, congrès provincial, **prix pour la meilleure présentation par affiche**)

Potvin, É.*, A. Rochon et C. Lovejoy, 2007. Génétique et relation thèque-kyste du kyste de dinoflagellé arctique *Islandinium minutum*. Assemblée générale annuelle de Québec-Océan, 21 au 22 novembre, Rivière-du-Loup, Québec, Canada (présentation par affiche, congrès provincial)

* Présentateur

AVANT-PROPOS

Le travail présenté dans ce mémoire est une contribution au Réseau de Centres d'Excellence du Canada ArcticNet. Ce mémoire est présenté sous forme classique. Le premier chapitre consiste en une introduction qui fournit au lecteur une mise en contexte du sujet d'étude. Le deuxième chapitre présente le matériel et les méthodes utilisés, les résultats ainsi que la discussion. Le mémoire se termine par une conclusion générale qui constitue le troisième chapitre. Les résultats et les interprétations présentés feront l'objet d'un article dont l'auteur du présent mémoire sera l'auteur principal. Cet article sera soumis dans une revue avec comité de lecture. Éric Potvin a effectué la majorité du travail de laboratoire, l'analyse des données ainsi que la rédaction du mémoire.

RÉSUMÉ

Les kystes sphériques, bruns et épineux constituent un groupe morphologique qui caractérise plusieurs assemblages de kystes modernes des hautes latitudes. Le kyste de dinoflagellé *Islandinium minutum* faisant partie de ce groupe constitue le principal indicateur paléoécologique permettant de reconstituer la durée du couvert de glace saisonnier en Arctique. Son importance provient de sa vaste répartition à travers les régions arctiques et subarctiques et de sa représentativité dans les assemblages de sédiments de surface pouvant aller jusqu'à 90% dans le nord de la baie de Baffin, l'archipel arctique canadien, le détroit de Fram et la mer de Kara. Les connaissances de l'écologie des dinoflagellés sont principalement restreintes aux formes mobiles vivant dans la partie supérieure de la colonne d'eau ou aux kystes déposés à la surface du sédiment. L'unification de ces connaissances écologiques pourrait dresser un meilleur portrait des relations entre les espèces et les facteurs environnementaux tout en augmentant nos connaissances sur la taxonomie et l'interprétation du registre fossile. À partir d'expériences d'incubations de kystes dans des conditions contrôlées ainsi que de la génétique à une cellule, l'affinité biologique de l'espèce et sa position phylogénétique à partir du gène qui code pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale ont été déterminées. La forme mobile thécale obtenue est une nouvelle espèce arctique. La formule tabulaire de l'espèce est typique du genre *Protoperidinium* et du sous-genre *Archaeperidinium* : Po, x, 4', 2a, 7'', 3c, (5+2)s, 5''', Op, 2'''''. La position phylogénétique de l'espèce étudiée a été le résultat le plus inattendu de l'étude. L'espèce est étroitement liée à *Thecadinium dragescoi*, une espèce vivant dans les interstices sableux et qui fait actuellement partie de l'ordre des Gonyaulacales. Ce regroupement est stable dans toutes les analyses, mais sa position phylogénétique varie à proximité des Protoperidiniaceae. Cette instabilité est probablement le reflet du manque de connaissances génétiques chez les Protoperidiniaceae. L'association phylogénétique constante ainsi que la morphologie et l'écologie divergentes des deux espèces tendent à les associer à des genres inconnus, distincts et liés étroitement. Le manque d'informations génétiques chez les espèces similaires à la forme mobile obtenue a rendu impossible la détermination de caractères distinctifs représentant l'histoire évolutive de ces espèces. La forme mobile obtenue a donc été incorporée au genre *Protoperidinium* sous le nom *Protoperidinium canadensis* sp. nov..

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	iii
LISTE DES COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES ORALES ET PAR AFFICHE.....	vi
AVANT-PROPOS.....	ix
RÉSUMÉ.....	x
TABLE DES MATIÈRES.....	xi
LISTE DES TABLEAUX.....	xiii
LISTE DES FIGURES.....	xiv
LISTE DES PLANCHES DE PHOTOS.....	xv
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
MATÉRIEL ET MÉTHODES, RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	8
1. Matériel et méthodes.....	8
1.1 Germination.....	8
1.2 Morphologie.....	9
1.3 Génétique.....	10
2. Résultats.....	14
2.1 Morphologie du kyste.....	14
2.2 Germination.....	15
2.3 Morphologie de la forme mobile.....	16
2.4 Génétique.....	19

3. Discussion.....	21
3.1 Succès évolutif de l'espèce	21
3.2 Interprétation micropaléontologique et affinité biologique	21
3.3 Comparaison entre espèces	24
3.4 Génétique	28
3.5 Incorporation de l'espèce au genre <i>Protoperidinium</i>	29
CONCLUSION GÉNÉRALE.....	31
BIBLIOGRAPHIE.....	34

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Amorces utilisées pour l'amplification et le séquençage du gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale	45
Tableau 2. Taxa utilisés pour établir la phylogénie à partir du gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale	47
Tableau 3. Caractéristiques morphologiques des formes mobiles utilisées lors de la génétique à une cellule	51
Tableau 4. Caractéristiques morphologiques de la forme mobile obtenue et des espèces similaires du genre <i>Protoperdinium</i>	52
Tableau 5. Caractéristiques morphologiques des kystes des espèces sélectionnées.....	53

LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Localisation du site d'échantillonnage (étoile) et distribution connue de *Islandinium minutum* dans le sédiment de surface de l'hémisphère nord (modifiée de Head *et al.*, 2001)54
- Figure 2. Germinations de *Islandinium minutum* en fonction du temps de réponse aux stimuli (n=1; 120 germinations).....55
- Figure 3. Vues générales schématisées de la thèque de la forme mobile de *Islandinium minutum*. Les parties grisâtres du sulcus sont des extensions de plaques ou des plaques additionnelles (ap) situées sous les plaques sulcales principales as (sulcale antérieure), rs (sulcale droite), ms (sulcale médiane), ls (sulcale gauche) et ps (sulcale postérieure).56
- Figure 4. Arbre phylogénétique se basant sur la méthode Maximum Likelihood. Les valeurs de support de la méthode Bootstrap supérieures à 50% et inférieures à 95% sont fournies (Neighbor-Joining/Maximum Parsimony). Les cercles représentent des valeurs de support Bootstrap supérieures ou égales à 95%. Les étoiles représentent les espèces du sous-genre *Archaeoperidinium*. Les séquences dérivées de cette étude sont mises en évidence dans les encadrés noirs.57
- Figure 5. Comparaison de l'épithèque de la forme mobile de *Islandinium minutum* et de l'archéopyle de plusieurs kystes. La morphologie générale de l'archéopyle reflète trois plaques de l'épithèque de la forme mobile (illustrées en gris).58

LISTE DES PLANCHES DE PHOTOS

- Planche 1. Photomicrographies (DIC) du kyste de dinoflagellé *Islandinium minutum*. (a) coupe optique d'un kyste vivant illustrant le contenu cellulaire et un processus incomplet (flèche); (b) coupe optique révélant des détails de la paroi du kyste; (c) vue tangentielle illustrant les détails de la surface du kyste (la flèche pointe un anneau); (d-e) vue tangentielle illustrant les détails des processus; (f-g) vue tangentielle illustrant la distribution des processus; (h) coupe optique d'un processus (indiquée par la flèche). La barre d'échelle est de 10 μm 59
- Planche 2. Photomicrographies (DIC et épifluorescence) et schémas du kyste de dinoflagellé *Islandinium minutum* et de la forme mobile obtenue. (a-f) kyste; (a-b, d-e) photomicrographies en vue tangentielle de la paroi du kyste illustrant l'archéopyle des spécimens; (c,f) schémas de l'archéopyle des spécimens illustrés; (g-k) forme mobile; (g) photomicrographie en coupe optique d'une forme mobile vivante; (h) photomicrographie en coupe optique d'une forme mobile vivante illustrant des chloroplastes; (i-j) photomicrographies en vue tangentielle illustrant des épines arrondies (flèches); (k) photomicrographie en vue tangentielle illustrant une crête allongée (flèche). La barre d'échelle est de 10 μm 60
- Planche 3. Photomicrographies (DIC et lumière naturelle) et schémas des thèques de la forme mobile obtenue. (a) photomicrographie en vue tangentielle du complexe du

pore apical; (b) schéma du complexe du pore apical; (c) photomicrographie en vue tangentielle apicale de l'épithèque du morphotype 1 (contact 1"/1a); (d) photomicrographie de l'étalement de l'épithèque du morphotype 1; (e) schéma de l'épithèque du morphotype 1; (f) photomicrographie en vue tangentielle apicale de l'épithèque du morphotype 2 (contact 2'/2"); (g) schéma de l'épithèque du morphotype 2; (h) photomicrographie en vue tangentielle apicale de l'épithèque du morphotype 3 (contact 2'/1a/1"/2"); (i) schéma de l'épithèque du morphotype 3. La barre d'échelle est de 10 μm 61

Planche 4. Photomicrographies (DIC) et schémas des thèques de la forme mobile obtenue.

(a) photomicrographie en vue tangentielle apicale de l'épithèque du morphotype 4 (fusion 1"/2"; les plaques équivalentes chez les morphotypes 1, 2 et 3 sont indiquées entre parenthèses); (b) schéma de l'épithèque du morphotype 4 (les plaques équivalentes chez les morphotypes 1, 2 et 3 sont indiquées entre parenthèses); (c) photomicrographie en vue tangentielle de la suture cingulaire 2c/3c; (d) photomicrographie en vue tangentielle de la suture cingulaire 1c/2c et de la plaque ms (flèche); (e) photomicrographie en vue tangentielle de l'aire sulcale; (f) photomicrographie d'un étalement illustrant une plaque additionnelle (ap, flèche) ainsi que la plaque ms (flèche); (g) schémas des plaques sulcales illustrées à la photomicrographie précédente; (h) photomicrographie d'un étalement illustrant une extension de la plaque ls dans sa partie supérieure (flèche) et la présence d'une côte dans sa partie inférieure (flèche); (i) schémas des plaques sulcales illustrées à la photomicrographie précédente. La barre d'échelle est de 10 μm 62

Planche 5. Photomicrographies (DIC) et schémas des thèques de la forme mobile obtenue.

(a) photomicrographie de l'étalement de la thèque illustrant une plaque additionnelle (ap; flèche) et une projection de la plaque as en forme de crochet (flèche); (b) schémas des plaques sulcales illustrées à la photomicrographie précédente; (c) schéma des plaques sulcales principales (as, rs, ms, ls, ps) ainsi que de l'ailette sulcale; (d) photomicrographie en vue tangentielle antapicale de l'hypothèque; (e) photomicrographie d'un étalement de l'hypothèque; (f) schéma de l'hypothèque. La barre d'échelle est de 10 μm 63

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Généralités. Les dinoflagellés (i.e. Dinophyceae) actuels représentent un groupe diversifié d'organismes planctoniques comprenant environ 2000 espèces marines et quelques centaines d'espèces d'eau douce. Ils sont distribués sous toutes les latitudes, de l'équateur aux mers polaires (de Vernal et Marret, 2007). Les dinoflagellés sont présents dans les milieux marins côtiers, estuariens et ouverts, riverains, lacustres, sableux ainsi que sous et intra glaciels (Evitt, 1985; Fensome *et al.*, 1993). Environ la moitié des espèces de dinoflagellés sont dépourvus de chloroplastes, et sont donc des hétérotrophes obligatoires, alors que les espèces de l'autre moitié contiennent des chloroplastes et sont soit phototrophes ou mixotrophes (Schweikert et Elbrächter, 2004). Plusieurs dinoflagellés ont un cycle de vie complexe comportant plusieurs phases asexuées et sexuées, haploïdes et diploïdes ainsi que mobiles et enkystées.

Forme mobile. Les formes mobiles des dinoflagellés se distinguent par leur paroi ou amphiesma. La paroi est constituée d'un ensemble de vésicules qui sont organisées selon un arrangement distinctif (i.e tabulation). Des plaques cellulosiques peuvent être présentes ou absentes à l'intérieur des vésicules; les dinoflagellés sont alors qualifiés de thécaux ou d'athécaux respectivement (Fensome *et al.*, 1993). La tabulation varie, mais possède des caractéristiques communes selon le niveau de classification taxonomique. Des systèmes ont

été utilisés afin de décrire la géométrie et la topologie des plaques des dinoflagellés thécaux afin d'obtenir une meilleure compréhension des relations entre les taxa. Certains de ces systèmes sont décrits dans Eaton (1980), Taylor (1980) et Evitt (1985).

Kyste. Les dinoflagellés peuvent produire des kystes à différents stades de leur cycle de vie. Des kystes temporaires peuvent se développer lors de conditions adverses et représentent un moyen de survie à court terme pour l'organisme. Ces kystes ont une paroi mince et n'entrent pas dans un stade de dormance. Les kystes de dormance représentent un stade où le métabolisme est réduit de façon importante. Certains de ces kystes possèdent une paroi résistante leur permettant d'être préservés dans le registre fossile (Head, 1996). C'est de ce type de kyste dont il sera question par la suite.

La classification des formes mobiles constitue une base pour la classification et l'interprétation des kystes de l'ordre des Peridinales et des Gonyaulacales (Evitt, 1985). Ceci est rendu possible par l'expression de la tabulation de la forme mobile chez certains kystes. Ce reflet de la tabulation sur le kyste est nommé paratabulation. Le critère paratabulaire le plus important chez le kyste est l'archéopyle, ouverture utilisée lors de la germination. Les particularités de l'archéopyle permettent de classer le kyste au niveau de la famille ou du genre et parfois de distinguer les différents kystes à l'espèce (e.g. *Brigantedinium cariacense* et *Brigantedinium simplex*). La paratabulation peut se limiter à l'archéopyle chez certains kystes ou, à l'extrême, refléter la tabulation presque complète de la forme mobile. L'interprétation de cette paratabulation permet au paléontologue, dans certains cas, d'apporter des hypothèses quant à la forme mobile ayant produit le kyste.

D'autres critères importants sont utilisés lors de l'identification tels que la morphologie du corps du kyste, l'ornementation ainsi que la couleur et la structure de la paroi (Matsuoka et Fukuyo, 2000).

Intérêts scientifiques. L'importance écologique et socio-économique des formes mobiles et la nature résistante de la paroi de certains kystes ont attiré l'attention de deux groupes de scientifiques, soit les phytoplanctonologues et les paléontologues respectivement. Les phytoplanctonologues ont été intéressés entre autre par les espèces productrices de toxines, la productivité primaire et les relations trophiques alors que les paléontologues ont porté leur attention sur l'utilité des kystes en biostratigraphie (e.g. exploration pétrolière) et comme indicateurs paléoécologiques des conditions de surface (e.g. Rochon *et al.*, 1999 ; de Vernal *et al.*, 2001 ; de Vernal *et al.*, 2005). Les intérêts de ces deux groupes de scientifiques ont mené à la production de deux systèmes de classifications qui ont été développés presque indépendamment, soit le système biologique pour les formes mobiles et paléontologique pour les kystes.

Étude du cycle de vie. L'intérêt des phytoplanctonologues à déterminer l'équivalent des formes mobiles sous forme de kyste (i.e. affinité paléontologique) s'est accru par la reconnaissance de l'importance des kystes dans la récurrence des efflorescences d'algues nuisibles (e.g. Bolch et Hallegraeff, 1990; Genovesi-Giunti *et al.*, 2006). Les paléontologues ont également démontré de l'intérêt pour déterminer l'équivalent des kystes sous leurs formes mobiles (i.e. affinité biologique). La détermination de l'affinité biologique des indicateurs paléoécologiques permet d'associer les connaissances portant

sur la distribution des kystes à celle des formes mobiles et d'obtenir une meilleure compréhension des relations entre les espèces et les facteurs environnementaux en plus de clarifier leur taxonomie.

Les études portant sur le cycle de vie des dinoflagellés peuvent prendre plusieurs formes. La plupart des relations entre les kystes et les formes mobiles sont déterminées par l'incubation de kystes vivants et l'identification de la forme mobile à la suite de la germination du kyste (e.g. Kawami *et al.*, 2006 ; Lewis *et al.*, 1984; Zonneveld et Dale, 1994). La détermination de la relation entre le kyste et la forme mobile peut également être réalisée par la production de kystes à partir de cultures (e.g. Rochon *et al.*, 2009; de Sousa E Silva, 1962). Quelques relations ont également été déterminées par l'observation, dans le plancton, de stades intermédiaires possédant à la fois les caractéristiques du kyste et de la forme mobile.

Génétique. Les connaissances sur les relations évolutives des dinoflagellés étaient auparavant basées entièrement sur la morphologie. Dans la dernière décennie, nos connaissances sur l'évolution des dinoflagellés ont été enrichies par l'apport de la génétique (e.g. Daugbjerg *et al.*, 2000; Saldarriaga *et al.*, 2001). Les connaissances moléculaires actuelles sont davantage orientées vers les formes facilement cultivables et ne nécessitant pas l'apport de proies. La génétique à une cellule (Bolch, 2001; Sebastián et O'Ryan 2001; Godhe *et al.*, 2002 ; Takano et Horiguchi 2004 ; Yamaguchi et Horiguchi, 2005 ; Gribble et Anderson, 2006 ; Matsuoka *et al.*, 2006) a permis d'apporter davantage de connaissances moléculaires sur les formes difficilement cultivables. L'apport de ces connaissances

moléculaires modifie de façon importante nos façons de voir les relations évolutives entre les espèces.

Contexte et objectifs

Les kystes produits par les dinoflagellés sont utilisés comme indicateurs paléoécologiques des conditions de surface en Arctique. Dans ces régions, les connaissances sur la distribution des dinoflagellés sous leur forme mobile dans les eaux de surface et sous leur forme enkystée à la surface du sédiment augmentent progressivement. La relation entre la forme mobile et enkystée n'est toutefois connue que pour une partie des espèces productrices de kystes (Rochon, 2009). La détermination de ces relations pourrait permettre de dresser un meilleur portrait des relations entre les espèces et les facteurs environnementaux tout en augmentant nos connaissances sur la taxonomie et l'interprétation du registre fossile. Les connaissances sur les liens entre le kyste et la forme mobile qui le produit sont toutefois défailtantes pour plusieurs espèces, et ce, particulièrement pour l'environnement arctique.

Les kystes sphériques, bruns et épineux constituent un groupe morphologique qui caractérise plusieurs assemblages modernes des hautes latitudes (e.g. Head *et al.* 2001). Ces kystes sont répartis à l'intérieur de deux genres de kystes, soit *Islandinium* (Head *et al.*, 2001) et *Echinidinium* (Zonneveld, 1997). Ces deux genres se distinguent par leur archéopyle. *Islandinium* possède un archéopyle saphopylique (i.e opercule libre) reflétant trois plaques apicales tel qu'énoncé par Head *et al.* (2001) alors que *Echinidinium* possède

un archéopyle théropylique (i.e. opercule attaché) formé par la rupture de parasutures prédéterminées sur la partie du kyste reflétant l'épithèque.

L'affinité biologique des espèces de kystes sphériques, bruns et épineux est, dans la plupart des cas, inconnue. Les expériences d'incubations réalisées jusqu'à maintenant sur ce groupe morphologique ont produit des formes mobiles attribuables au genre *Protoperidinium* (e.g. Lewis *et al.*, 1984) et à la sous-famille Diplopsalioideae (e.g. Kawami *et al.*, 2006), tous les deux faisant partie de la famille Protoperidiniaceae.

Islandinium minutum (Harland et Reid) Head, Harland et Matthiessen possède une histoire taxonomique complexe. L'espèce a été décrite à l'origine en tant que *Multispinula? minuta* Harland et Reid (Harland *et al.*, 1980). Les auteurs étaient alors incertains quant à l'affinité générique de l'espèce. Matsuoka et Bujak (1988) ont ensuite assigné l'espèce au genre *Algidasphaeridium* sous-entendant une affinité pour l'ordre des Gymnodinales. En 2001, Head *et al.* ont reclassifié de nouveau l'espèce dans le nouveau genre de kyste *Islandinium* faisant partie de la famille des Protoperidiniaceae qui est constituée exclusivement d'espèces marines non photosynthétiques (Fensome *et al.*, 1993).

Dans cette étude, l'intérêt a été porté sur le kyste de dinoflagellé *Islandinium minutum* (Head *et al.*, 2001) en raison de son utilité comme principal indicateur paléoécologique permettant de reconstituer la durée du couvert de glace saisonnier en Arctique. Son importance comme indicateur provient de sa répartition importante à travers les régions arctiques et subarctiques et de sa représentativité dans les assemblages de

sédiments de surface pouvant aller jusqu'à 90% dans le nord de la baie de Baffin, l'archipel arctique canadien, le détroit de Fram et la mer de Kara.

Le travail réalisé dans ce mémoire vise à 1) établir la relation entre le kyste de dinoflagellé *Islandinium minutum* et la forme mobile qui le produit à partir d'expériences d'incubations et d'observations détaillées en microscopie optique du kyste et de la forme mobile et à 2) déterminer la place phylogénétique de l'espèce à partir de données génétiques obtenues sur le gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale (18S) à l'aide de la génétique à une cellule. Il s'agit de la première étude de ce type portant sur un kyste du genre *Islandinium*.

CHAPITRE 2

MATÉRIEL ET MÉTHODES, RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Matériel et méthodes

1.1 Germination

Isolation. Du sédiment de surface provenant de l'Arctique canadien a été prélevé en septembre 2006 à bord du NGCC *Amundsen* dans la baie de Baffin (station 101; 76°25'N, 77°18'W; figure 1) lors du leg 1 de la campagne ArcticNet à l'aide d'un carottier à boîte et entreposé à la noirceur à 4°C jusqu'à son utilisation. Les kystes de dinoflagellés vivants ont ensuite été concentrés. De 1 à 2 cc de sédiment ont été sonifiés pendant 5 minutes et rincés sur des tamis de nylon Nitex 100 µm et 20 µm à l'aide d'eau de mer filtrée (salinité ca. 26). Les kystes et particules de densité similaire ont ensuite été séparés des sables grossiers par l'application manuelle d'un vortex dans de l'eau de mer filtrée (salinité ca. 26) et la récupération de la fraction en suspension. La fraction contenant les kystes concentrés était alors sonifiée 5 minutes et rincée sur un tamis de nylon Nitex 20 µm à l'aide d'eau de mer filtrée (salinité ca. 26). Cette dernière opération a été répétée deux fois afin de nettoyer les kystes. Des kystes individuels de *Islandinium minutum* ont alors été isolés par micromanipulation dans des plaques à puits (Corning, Inc., New-York, États-Unis) à l'aide d'un microscope inversé à lumière transmise Eclipse TE2000-U (Nikon, Japon). Chaque puits contenait ~ 2,0 mL de milieu de culture F/2 sans silice (Guillard et Ryther, 1962) à

une salinité de 32 représentative de la salinité associée à la distribution d'une partie des kystes dans le sédiment de surface.

Incubation. Les kystes étaient ensuite incubés à l'intérieur d'une chambre de croissance végétale MLR-351H (Sanyo Electric Co., Ltd., Japon) à une température de 4°C et sous un cycle lumière :noirceur 18 hrs :6 hrs à une intensité lumineuse de $123 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

1.2 Morphologie

Microscopie optique. Quelques formes mobiles ont été teintées à l'aide du fluorochrome calcofluor white à une concentration de 1 mg mL^{-1} (Fluorescent Brightener 28, Sigma-Aldrich, Chine ; Fritz et Triemer, 1985) pendant au moins 10 minutes. Les cellules ont ensuite été déposées individuellement dans une goutte d'eau disposée sur une lame microscopique au centre d'un cadre de vinyle. Une lamelle était ensuite déposée sur le cadre de vinyle et scellée à l'aide de graisse de silicone (modifiée de Horiguchi *et al.*, 2000). Les formes mobiles étaient ensuite observées à l'aide d'un microscope à fluorescence Olympus BX51 (Olympus, Japon) afin de déterminer l'arrangement des plaques thécales (excitation : 360 nm, émission : 460 nm) et la présence de chloroplastes (excitation : 480 nm, émission : 660 nm). Des spécimens ont également été observés à l'aide d'un microscope droit à lumière transmise Eclipse 80i (Nikon, Japon) équipé du contraste d'interférence différentiel (DIC). La morphologie détaillée de la thèque a été déterminée entre lame et lamelle à l'aide d'hypochlorite de sodium commercial ($\leq 5,25\%$) permettant la dissociation de la thèque.

La morphologie du kyste a été déterminée en montant quelques spécimens dans la glycérine gélatinée sur des lames microscopiques. Les spécimens étaient repositionnés en disposant la lame microscopique sur une plaque chauffante à 100°C jusqu'à ce que la glycérine gélatinée fonde. La lamelle était ensuite déplacée délicatement sous un microscope jusqu'à ce que la position adéquate soit obtenue. Certaines thèques ont été manipulées de la même façon.

Les formes mobiles et les kystes ont été mesurés à l'aide d'un microscope droit à lumière transmise Eclipse 80i (Nikon, Japon) et d'un microscope inversé à lumière transmise Eclipse TE2000-U (Nikon, Japon). Les photomicrographies ont été produites à l'aide d'une caméra numérique Coolpix 5400 (Nikon, Japon) et Olympus DP70 (Olympus, Japon).

1.3 Génétique

Traitement des cellules. Des cellules vivantes identifiées à l'aide du calcofluor white ont été lavées dans trois gouttes d'eau Nanopure (NANOpure Infinity UV, modèle D8971, Barnstead International, Dubuque, Iowa, États-Unis) et brisées à l'aide d'une micropipette fermée à son extrémité sous une flamme. Les gouttes comportant le contenu cellulaire d'une cellule ont ensuite été utilisées directement dans le processus d'amplification.

Réactions en chaîne de la polymérase (i.e. PCR). Des amplicons du gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale (18S) ont été obtenus à partir de la PCR emboîtée. Les amorces utilisées dans cette étude sont présentées au tableau 1. Un thermocycleur

Eppendorf modèle 5341 (Brinkmann, Allemagne) a été utilisé lors des réactions d'amplifications. Les concentrations finales des réactifs utilisés étaient comme suit : 1X de tampon PCR (Qiagen, Maryland, États-Unis), 0,2 mM de dNTP (dNTP-Mix, Qiagen, Maryland, États-Unis), 0,5 μM de chaque amorce, 0,1U μL^{-1} de HotStarTaq DNA polymérase (Qiagen, Maryland, États-Unis) et 1,6 mM de MgCl_2 . Pour le premier tour de PCR, les amorces SR1 et LSUR2 (tableau 1) ont été utilisées afin d'amplifier le gène codant pour la petite sous-unité ribosomale dans un volume final de 25 μL . La PCR du premier tour a été conduite comme suit : une étape d'activation à 95°C de 15 minutes, suivi de 35 cycles à 94°C pour 1 minute, 53°C pour 1 minute et 72°C pour 3 minutes, et une étape d'élongation finale à 72°C de 10 minutes. Un volume de 0,5 μL d'une dilution 1 :1000 des produits du premier tour a été utilisé pour le second tour de PCR. Des réactions individuelles dans un volume final de 35 μL ont été réalisées à l'aide des couples d'amorces suivants : SR1 (ou SR1b) et SR5AY, SR4 et SR9p ainsi que SR8pc et SR12b (tableau 1). La PCR du second tour a été conduite comme suit : une étape d'activation à 95°C de 15 minutes, suivi de 40 cycles à 94°C pour 30 secondes, 53°C pour 30 secondes et 72°C pour 30 secondes, et une étape d'élongation finale à 72°C de 10 minutes.

Vérification des produits PCR et séquençage. Des contrôles positifs et négatifs ont été utilisés pour toutes les réactions d'amplification. La pureté des amplicons a été vérifiée en effectuant une migration de 5 μL des produits PCR dans un gel d'agarose 1,0 % contenant du bromure d'éthidium. Les produits ont été visualisés et photographiés sous une lampe UV (longueur d'onde : 302 nm). Les produits PCR ont été envoyés directement au Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université Laval (CHUL, Québec, Canada) où ils ont

été purifiés à l'aide de microplaques Unifilter de 384 puits à fond filtrant de Whatman (VWR, Mississauga, Ontario, Canada) et séquencés à l'aide d'un analyseur d'ADN ABI-3730xl (Applied Biosystems, Californie, États-Unis). Des séquences du gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale ont été obtenues pour 5 formes mobiles germées à partir de kystes différents.

Prévention des contaminations. Afin d'éviter les contaminations, des gants sans poudre ont été utilisés lors des manipulations. Les surfaces et les gants utilisés étaient d'abord stérilisés à l'aide d'une dilution 1 :10 d'hypochlorite de sodium commercial (5,25%). De l'éthanol 70% était ensuite appliqué afin de faciliter l'assèchement. Une stérilisation supplémentaire au rayonnement ultraviolet de 15 minutes a été utilisée sur la surface utilisée pour la manipulation des amplicons. Des laboratoires et des ensembles de pipettes différents ont été utilisés pour produire le mélange de réactifs à PCR, traiter les cellules et manipuler les amplicons. De plus, des embouts résistant aux aérosols (ART Molecular BioProducts, Inc., Californie, États-Unis) ont été utilisés afin de prévenir les contaminations croisées.

Analyses phylogénétiques. Les séquences partielles du gène qui code pour la petite sous-unité ribosomale ont été combinées à l'aide de BioEdit v7.0.9.0 (Hall, 1999). Les séquences obtenues étaient composées de 1748 nucléotides. Les séquences des taxa utilisés pour la phylogénie (tableau 2) ont été alignées à l'aide de Clustal X v2.0 (Larkin *et al.*, 2007). Une matrice de données contenant 1846 nucléotides, incluant les espaces, a été obtenue. L'alignement a ensuite été raffiné en se basant sur la structure secondaire de

l'ARN ribosomal à l'aide d'ARB (Ludwig *et al.*, 2004) laissant un total de 1632 nucléotides alignés sans ambiguïté. La nouvelle matrice a ensuite été analysée à l'aide de Paup v4.0b10 (Swofford, 2002). Trois méthodes phylogénétiques ont été utilisées, soit neighbour joining (NJ), maximum parsimony (MP) et maximum likelihood (ML).

Un modèle de substitution des nucléotides (i.e. modèle évolutif) a été déterminé pour NJ et ML à l'aide de Modeltest 7.3 (Posada et Crandall, 1998) en se basant sur le critère d'information Akaike (Posada et Buckley, 2004). Un modèle GTR+G+I avec une proportion de sites invariables de 0,2292 et une distribution gamma discrète de 0,6041 possédant quatre catégories de taux de variation a été sélectionné. Les fréquences des nucléotides déterminées à partir de la matrice de données étaient les suivantes : A=0,2533, C=0,1946, G=0,2505 et T=0,3016.

Une recherche d'arbre heuristique a été utilisée afin de déterminer les arbres optimaux pour les méthodes MP et ML. L'algorithme de réarrangement d'arbre TBR (i.e. tree-bisection-reconnection) a été utilisé pour MP et ML avec 1000 et 5 additions aléatoires de séquences respectivement. Les caractères ont été pondérés également et les espaces produits lors de l'alignement ont été traités comme des données manquantes. La méthode Bootstrap a été appliquée avec 1000 réplicats pour les méthodes NJ et MP afin de déterminer la robustesse des clades. Aucun Bootstrap n'a été produit pour la méthode ML.

2. Résultats

2.1 Morphologie du kyste

Généralités. Le kyste de *Islandinium minutum* est sphérique, brun, épineux et proximochorate avec une coloration brun foncé lorsqu'il possède du contenu cellulaire (Pl. 1a) et brun pâle lorsqu'il est vide (Pl. 1b). Le contenu cellulaire des kystes vivants apparaît légèrement teinté de brun (Pl. 1a); des corps globulaires verts, jaunes et rouges sont également présents (Pl. 1a). Le diamètre des kystes est de 27-50 μm , avec une moyenne de 39 μm (n=102). La longueur des processus est de 2-7 μm , avec une moyenne de 4 μm (n=102; une mesure représentative/spécimen). La paroi est composée de deux membranes accolées et ne dépasse pas 0,5 μm d'épaisseur (Pl. 1b). La surface est ornée de granules séparés d'environ 0,5 μm et d'anneaux répartis de façon aléatoire (Pl. 1c). Les processus droits (Pl. 1d) ou courbés (Pl. 1e) sont non tabulaires et distribués également (Pl. 1f) ou inégalement (Pl. 1g) à la surface. Des processus incomplets sont observés chez une minorité de kystes (Pl. 1a). Les kystes de *Islandinium minutum* étaient souvent retrouvés avec des débris de matière organique amorphe (Pl. 1g, 1h).

Processus. Les processus sont aciculaires. La base des processus a un diamètre allant de 1,0 μm à 1,5 μm . Un péricoel est présent à la base et peut occuper le tiers de la longueur du processus. Le reste des processus est solide (Pl. 1h). Les processus sont coniques à leur base et deviennent progressivement plus étroits vers leur extrémité. L'extrémité des processus est acuminée. La surface des processus est lisse en microscopie optique (Pl. 1d, 1e). Les processus étaient circulaires en coupe optique (Pl. 1f).

Archéopyle. Les archéopyles observés correspondent à trois paraplaques de la zone apicale (Pl 2a, 2b, 2d, 2e). L'opercule est toujours resté attaché (i.e. théropylique) aux spécimens à la suite de la germination, ce qui a rendu difficile la détermination de l'archéopyle chez les spécimens observés. Des variations morphologiques mineures ont été notées au niveau de la forme générale de l'archéopyle (Pl. 2c, 2f). L'archéopyle constituait le seul indice de tabulation chez les kystes observés.

2.2 Germination

Un groupe de 142 kystes de *Islandinium minutum* a été incubé au même moment après 29 mois d'entreposage afin d'étudier différentes caractéristiques de la population du site d'échantillonnage. Les kystes étaient observés quotidiennement jusqu'à 10 jours consécutifs sans germination. Un total de 120 kystes (i.e. 85%) ont germé sur une période de 36 jours. La majorité des exkystements (i.e. 65%) se sont produits entre 2 et 9 jours. La distribution quotidienne des germinations durant cette période est pratiquement unimodale. Un second mode semble se situer entre 10 et 22 jours sans toutefois être non équivoque. Le potentiel de germination de la population diminue après cette période, mais l'espèce possède tout de même la capacité de germer pour une période allant jusqu'à 36 jours dans les conditions d'incubation utilisées (Fig. 2). Les formes mobiles obtenues ont eu la capacité de passer du stade mobile au kyste temporaire jusqu'à quatre fois et de nager 12 jours suivant la germination sans apport de proies. Dans certains cas, des subdivisions (i.e. 1 ou 2) se sont produites dans les puits, mais aucune culture n'a pu être établie.

2.3 Morphologie de la forme mobile

La codification des plaques pour l'établissement de la tabulation suit le système de Kofoid (Kofoid, 1909) et la codification des plaques sulcales suit celle décrite dans Williams *et al.* (2000) pour le genre *Protoperidinium*.

Généralités. Les formes mobiles obtenues étaient thécales et subsphériques. La cellule possède des corps globulaires verts, jaunes et rouges dans le cytoplasme (Pl. 2g). Les globules apparaissent rouges lorsqu'ils sont observés à l'aide de la microscopie à épifluorescence sous une lumière bleue (Pl. 2h) révélant ainsi la présence de chloroplastes. Les tentatives de mises en culture infructueuses semblent indiquer une nature mixotrophique. La hauteur des cellules obtenues était de 33-58 μm , avec une moyenne de 44 μm (n=102). La largeur des cellules étaient de 30-50 μm , avec une moyenne de 41 μm (n=102). L'épithèque a une taille similaire à l'hypothèque (Pl. 2g). L'épithèque est en forme de dôme et l'hypothèque est ronde en vue ventrale (Pl. 2g). La thèque possède une légère asymétrie en coupe optique ventrale (Pl. 2g). La cellule n'a aucune projection à l'apex et à l'antapex (Pl. 2g). La forme générale de la cellule était relativement constante chez toutes les cellules étudiées. Toutes les plaques thécales sont lisses et, à l'exception de celles du complexe du pore apical (CPA), sont ornementées de pores trichocystes entourés d'une bordure circulaire (Pl. 2i, 2j, 2k; voir Dodge, 1983). Des projections arrondies (Pl. 2i, 2j; similaires aux épines de Dodge, 1983) ou des crêtes basses et allongées ornementent également la surface (Pl. 2k). Les pores trichocystes sont disposés de façon irrégulière sur les plaques (Pl. 3d ; Pl. 5e). Le cingulum est équatorial, non déplacé (Pl. 4d), excavé et ne

possède pas de voile (Pl. 2g). Le sulcus n'est pas excavé (Pl. 4d, 4e) et est orné d'une ailette portée par le côté gauche de la sulcale droite (Pl. 4f). L'ailette se développe vers la droite (Pl. 4f). La formule tabulaire de l'espèce est typique du genre *Protoperidinium* et du sous-genre *Archaeoperidinium* : Po, x, 4', 2a, 7'', 3c, (5+2)s, 5''', 0p, 2'''' (Fig. 3).

Complexe du pore apical. Le complexe du pore apical est dirigé vers la droite de la thèque, ce qui le rend légèrement asymétrique par rapport à l'axe dorsoventral (Pl. 3f, Pl. 4a). Le complexe comprend une plaque porale (Po) quadrangulaire irrégulière et une petite plaque carrée (x) (Pl. 3a). Le pore est localisé au centre de la plaque Po (Pl. 3a).

Épithèque. La première plaque apicale (1') a l'aspect d'un losange tronqué dans sa partie inférieure et supérieure et démontre un arrangement ortho (contact avec quatre plaques épithécales majeures). Le côté inférieur droit de la plaque 1' est courbé et plus long que le côté inférieur gauche. Ceci rend la plaque 1' asymétrique (Pl. 3d). Des contacts mineurs lient la plaque 1' à la petite plaque carrée (x) du complexe du pore apical et à la plaque sulcale antérieure (as) (Pl. 3a, Pl. 4d). Les deux plaques antérieures intercalaires (a) sont environ de la même taille et déplacées vers la gauche de l'épithèque en position latérale (1a) et dorsale (2a) (Pl. 3c, 3f, 3h, Pl. 4a). La plaque 1a peut être à la fois hexagonale et heptagonale alors que la deuxième plaque intercalaire (2a) est toujours hexagonale (Pl. 3c, 3f, 3h, Pl. 4a). Les plaques 2' et 4' ont des tailles similaires. La plaque 2' peut être pentagonale ou hexagonale selon le spécimen alors que la plaque 4' est toujours hexagonale. La plaque 3' est pentagonale (Pl. 3c, 3f, 3h, Pl. 4a). Des variations du patron des plaques sont observées du côté gauche de l'épithèque incluant les contacts entre les

plaques 2', 1a, 1'' et 2'' et la fusion des plaques 1'' et 2'' (Pl. 3c, 3f, 3h, Pl. 4a). Les variations observées ont été séparées en quatre morphotypes différents, soit le morphotype 1 (contact 1''/1a; Pl. 3c), le morphotype 2 (contact 2'/2''; Pl. 3f), le morphotype 3 (contact 2'/1a/1''/2'' ; Pl. 3h) et le morphotype 4 (fusion 1''/2''; Pl. 4a).

Cingulum. Le cingulum consiste en 3 plaques de largeurs différentes: la cingulaire gauche (1c), la cingulaire dorsale (2c) et la cingulaire droite (3c). La plaque transitionnelle (t) est absente (Pl. 4e). Les cingulaires gauche et droite sont légèrement plus larges que la base des plaques 1'' et 7'' respectivement (Pl. 4c, 4d). La plaque 2c est la plus large des plaques cingulaires couvrant toute la face dorsale et une partie de la face ventrale de la thèque. Le cingulum est bordé par une rangée de pores trichocystes le long de l'hypothèque (Pl. 5e).

Sulcus. Le sulcus est constitué de 5 plaques principales, la sulcale antérieure (as), la sulcale gauche (ls), la sulcale droite (rs), la sulcale moyenne (ms) et la sulcale postérieure (ps). Deux plaques additionnelles (ap) se situent en dessous des plaques principales. La plaque as pénètre dans l'épithèque et est en contact avec les plaques 1', 1'' et 7'' (Pl. 4d). La plaque as se termine postérieurement par une extension ayant la forme d'un crochet qui s'étend sous les plaques rs et ms (Pl. 5a). La plaque ms se situe au centre des plaques ls et rs (Pl. 4d). Les plaques ls, ms et rs sont dirigées vers la droite de la thèque (Pl. 4e). La plaque ls pénètre de façon marquée dans la plaque ps (Pl. 4e, 4h). La sulcale droite porte une ailette sur son côté gauche qui se développe vers la droite (Pl. 4f). La base de l'ailette est supportée en partie par une côte qui émerge de la plaque ls (Pl. 4h). Une extension de la

plaque ls dans sa partie supérieure s'étend sous la thèque (Pl. 4h). La plaque ps est large, pentagonale et en contact avec les plaques 1''', 5''', 1'''' et 2'''' (Pl. 5d). Deux plaques additionnelles (ap) sont présentes sous les plaques rs, ms et ls. Une petite plaque en croissant de lune se situe sous les plaques rs et ms (Pl. 5a). Le côté concave de cette plaque est dirigé vers la plaque 5''' et le côté convexe vers la plaque ls. Cette plaque se fixe à l'aide de deux filaments émergeant de la partie convexe (Pl. 5a). Une autre plaque additionnelle (ap) se situe en dessous de la plaque ls. Cette plaque est mince et convexe (Pl. 4f).

Hypothèse. La plaque 1''' est plus haute que large alors que la plaque 5''' est plus large que haute (Pl. 5e). La taille de la plaque 5''' est plus importante que celle de la plaque 1''' (Pl. 5e). Les plaques 1''' et 3''' sont pentagonales. Les plaques 2''' et 4''' sont quadrangulaires et de taille similaire (Pl. 5e). Les deux plaques antapicales (1'''' et 2'') sont larges, pentagonales et de même taille (Pl. 5e).

2.4 Génétique

Variabilité génétique. Les caractéristiques morphologiques des cellules utilisées lors de la génétique à une cellule sont résumées dans le tableau 3. Les séquences obtenues sont variables à trois loci. Cette variabilité n'a pas pu être corrélée avec la plasticité morphologique observée. La possibilité d'un complexe d'espèces a été exclue.

Phylogénie. Les résultats morphologiques ont mené à inclure toutes les séquences de Protoperidiniaceae disponibles. La figure 4 fournit la phylogénie obtenue à l'aide de la

méthode ML. Les valeurs de support de la méthode Bootstrap obtenues par les méthodes NJ et MP y sont rapportées. Les principaux regroupements obtenus ont été reproduits par les méthodes NJ, MP et ML. Les embranchements basaux ont toutefois démontré de la variabilité. Le sous-genre *Archaeoperidinium* est représenté dans la phylogénie par cinq espèces, soit *Protoperidinium abei*, *P. denticulatum*, *P. thorianum*, *P. excentricum* et l'espèce étudiée. Ce sous-genre est clairement polyphylétique.

Les Protoperidiniaceae se regroupent en deux clades. Le clade A est composé d'espèces du genre *Protoperidinium* (*P. pentagonum*, *P. divergens*, *P. crassipes*, *P. elegans*, *P. bipes*, *P. pellucidum*, *P. pallidum*, *P. excentricum*, *P. punctulatum*, *P. thulesense*, *P. leonis*, *P. conicum*, *P. abei*, *P. thorianum*, *P. denticulatum*) et le clade B est composé d'espèces du genre *Protoperidinium*, *Diplopsalis*, *Oblea*, *Diplopsalopsis* et *Gotoius* (*Protoperidinium depressum*, *P. claudicans*, *Diplopsalis lebourae*, *Oblea torta*, *Oblea* sp. *acanthocysta*, *Diplopsalopsis bomba*, *Gotoius excentricus*). Les résultats obtenus par les méthodes MP (non illustrés) et ML sont similaires. Les phylogénies obtenues démontrent que l'espèce étudiée est fortement liée à *Thecadinium dragescoi* Balech (valeur de bootstrap : 99% NJ; 99% MP), une espèce actuellement classifiée dans l'ordre des Gonyaulacales. Le regroupement de l'espèce étudiée et de *Thecadinium dragescoi* est reproduit dans toutes les analyses. La position phylogénétique du regroupement est toutefois variable. Selon l'arbre, le regroupement est basal au clade A, aux clades A et B ou aux clades A, B ainsi que trois espèces de *Peridinium* (*P. bipes*, *P. willei* et *Peridinium* sp.) qui sont des représentants d'eau douce.

3. Discussion

3.1 Succès évolutif de l'espèce

Le temps de réponse aux stimuli (i.e. durée d'exkystement) du kyste s'est révélé variable dans la population de kystes étudiés. Cette variabilité a permis à l'espèce de germer sur une période de plus d'un mois. De plus, la forme mobile a démontré une capacité de survie importante. Les chloroplastes révélés par l'observation de cellules végétatives en fluorescence peuvent être utilisés comme méthode alternative de nutrition et permettre à la cellule de survivre sans apport de proies pour un certain temps. L'ensemble de ces propriétés de l'espèce démontre sa capacité à exploiter une fenêtre temporelle importante pour se réintroduire sous sa forme mobile dans la partie supérieure de la colonne d'eau. Ceci s'avère avantageux puisque la période de croissance en Arctique est très brève. L'ensemble de ces caractéristiques pourrait favoriser le succès évolutif de l'espèce.

3.2 Interprétation micropaléontologique et affinité biologique

Head *et al.* (2001) ont assigné *Islandinium* et plusieurs morphotypes semblables à la famille des Protoperidiniaceae en fonction de l'archéopyle (saphopylique ou théropylique), de la pigmentation brune de la paroi du kyste, de l'absence d'épifluorescence de sa paroi (Brenner et Biebow, 2001) et de la distribution non tabulaire des processus. Les auteurs ont attribué le kyste *Islandinium minutum* à la sous-famille des Protoperidinioideae en raison de sa ressemblance avec plusieurs kystes produits par des cellules végétatives du genre

Protooperidium. La tabulation de la thèque obtenue à partir des expériences d'incubations indique clairement une affinité pour le genre *Protooperidium*.

En se basant sur des indices de tabulation sur le kyste, Head *et al.* (2001) ont émis l'hypothèse que l'archéopyle représentait trois paraplaques apicales (2', 3' et 4'). L'archéopyle de l'épitype de *Islandinium minutum* est similaire à ceux observés dans les expériences d'exkystements de l'étude actuelle. La comparaison de ces derniers avec l'épithèque de la forme végétative confirme l'hypothèse de Head *et al.* (2001) sur la nature apicale de l'archéopyle (Fig. 5). La morphologie des archéopyles observés indique toutefois des différences mineures par rapport à l'épitype de *Islandinium minutum* quant à la largeur, la morphologie et l'angle entre les différents côtés formant le contour de l'archéopyle. De plus, l'arrangement des paraplaques de certains spécimens n'était pas toujours clairement asymétrique comme sur l'épitype. Par contre, la disposition des plaques correspondantes sur la thèque l'est clairement.

Head *et al.* (2001) ont également déterminé que l'archéopyle était saphopylique (i.e. opercule libre) à partir de spécimens montés sur une lame microscopique ayant subi des traitements aux acides. L'observation de kystes venant de germer a toutefois permis de déterminer que l'archéopyle était théropylique (i.e. opercule attaché). Les traitements mécanique et chimique apportés au sédiment peuvent avoir entraîné la perte de l'opercule de certains spécimens. Cette caractéristique de l'archéopyle devrait être déterminée à partir de kystes venant de germer lorsque cela est possible.

Head *et al.* (2001) ont également tenté de déterminer l'affinité biologique de *Islandinium minutum*, mais sans succès. Une recherche importante dans la littérature n'a pas permis de déterminer une équivalence à la forme mobile obtenue. Par conséquent, la forme mobile doit être considérée comme une nouvelle espèce.

Étymologie : *canadensis* (Latin) réfère à la distribution importante de l'espèce dans l'Arctique canadien

Holotype: Pl. 3c

Iconotype: Fig. 3

Isotypes: Pl. 3a, 3f, 3h, 4a, 5d

Localité type: baie de Baffin, Arctique canadien (76°25'N, 77°18'W)

Dinophyceae West et Fritsch

Peridinales Haeckel

Proto-peridiniaceae Balech/Proto-peridiniaceae Bujak et Davis

Proto-peridinium (Bergh) Balech

Archaeperidinium (Jørgensen) Lebour

Proto-peridinium canadensis sp. nov. Potvin, Rochon et Lovejoy

Descriptio : Cellulae cum lorica. 33-58 (peraeque aestimatio 44) μm longae et 30-50 (peraeque aestimatio 41) μm latae. Epitheca tholi forma et hypotheca rotunda est. Cellula habet chloroplastas et plurima virida, flava et rubea globosa corpuscula in cytoplasma. Globulae rubea colore apparent quando observantur cum collustrata microscopia luce caerulea. Omnes thecae laminae lenes sunt et, praeter illas apicalis poris multiplicis (APC), habent dissipatas poras circumscistas circularium anulorum et brevium spinarum vel procerarum demissarum verrucarum. Cingulum excavatum est, non translatum et in cellulae equatoriali parte situm. Sulcus non excavatum est. Laminarum tabulatio : Po, x, 4', 2a, 7'', 3c, (5+2)s, 5''', 0p, 2'''''. Prima apicalis lamina (1') ortho. Duo intercalares ad epithecae sinistram partem positae sunt. Prima intercalaris lamina (1a) sex vel septem latera habet, secunda (2a) sex latera. Cingulum cum tres laminis longitudine dissimilibus. Transitionalis lamina absentis. Sulci dextera lamina parvam alam in suo sinistro latere habet. Variationes laminae formae observantur epithecae sinistro latere, cum tactibus inter 2', 1a, 1'' et 2'' laminas et conjunctione 1'' et 2'' laminarum. Lamina 1a primam precingularem laminam tangere potest.

Description: Cellules thécales. 33-58 (moy. 44) μm longueur et 30-50 (moy. 41) μm largeur. Épithèque est en forme de dôme et hypothèque est arrondie. La cellule possède des chloroplastes ainsi que plusieurs corps globulaires dans le cytoplasme de couleurs verte, jaune et rouge. Les globules apparaissent rouges lorsqu'ils sont observés à l'aide de la microscopie à épifluorescence sous une lumière bleue. Toutes les plaques thécales sont

lisses et, à l'exception des celles du complexe du pore apical (CPA), possèdent des pores entourés d'une bordure circulaire et des projections arrondies ou des verrues allongées. Le cingulum est excavé, non déplacé et localisé dans la partie équatoriale de la cellule. Le sulcus n'est pas excavé. La formule tabulaire est : Po, x, 4', 2a, 7'', 3c, (5+2)s, 5''', 0p, 2'''''. La première plaque apicale (1') est ortho. Les plaques intercalaires sont déplacées vers la gauche de l'épithèque. La première plaque intercalaire (1a) est hexagonale ou heptagonale, la seconde est hexagonale. Le cingulum est constitué de trois plaques de longueurs différentes. La plaque transitionnelle est absente. La sulcale droite porte une ailette sur son côté gauche. Des variations du patron des plaques sont observées du côté gauche de l'épithèque incluant les contacts entre les plaques 2', 1a, 1'' et 2'' et la fusion des plaques 1'' et 2''. La plaque 1a peut être en contact avec la première plaque précingulaire (1''').

3.3 Comparaison entre espèces

Plusieurs formes végétatives ont une morphologie générale similaire à l'espèce étudiée. Parmi les espèces similaires, *Protoperidinium minutum*, *P. monospinum*, *P. aspidiotum*, *P. bolmonense*, *P. vorax*, *P. parthenopes* et *P. americanum* ont été sélectionnées à des fins de comparaisons. Les tableaux 4 et 5 résument les caractéristiques détaillées permettant de distinguer les différentes espèces sous leurs formes mobiles et enkystées respectivement.

Sous-genre Archaeoperidinium. Le sous-genre *Archaeoperidinium* est constitué des espèces du genre *Protoperidinium* possédant sept plaques précingulaires et deux plaques intercalaires. *Protoperidinium minutum*, *P. monospinum* et *P. aspidiotum* ont démontré des similarités avec *P. canadensis*. La comparaison avec *P. minutum* s'est révélée plus complexe qu'avec les deux autres espèces. Une recherche approfondie dans la littérature a permis de déterminer des irrégularités dans les différentes descriptions de l'espèce (voir tableau 4). Les différences subtiles notées et la répartition importante de l'espèce suggèrent

la présence d'un complexe d'espèces. *Protoperidinium canadensis* possède toutefois un ensemble de caractéristiques permettant de le distinguer de ce regroupement, soit l'absence de voile cingulaire, l'ornementation de la surface des plaques thécales et la disposition asymétrique des plaques intercalaires. Des difficultés ont également été encourues lors de la comparaison avec *P. monospinum*. La description originale de Paulsen (1908) et celle émondée de Zonneveld et Dale (1994) ne s'accordent pas sur certains détails telles la hauteur, la présence d'un voile cingulaire, l'ornementation des plaques et la présence d'un contact entre les plaques 1'' et 1a. Ces descriptions pourraient également représenter plusieurs espèces. *Protoperidinium canadensis* se distingue toutefois par l'absence d'une corne apicale et l'ornementation de ses plaques. La présence du contact entre la plaque 1a et 1'' chez *P. canadensis* et *P. monospinum* Paulsen est particulière. Cette configuration est retrouvée chez les membres du genre *Peridinium*, mais est inhabituelle chez les membres du genre *Protoperidinium*. Finalement, *P. canadensis* se distingue de *P. aspidiotum* par l'absence d'une corne apicale et la disposition asymétrique des plaques intercalaires. Les espèces comparées appartenant au sous-genre *Archaeoperidinium* forment un ensemble d'espèces très similaires ne pouvant être distinguées que par des détails fins. Des analyses morphologiques et génétiques détaillées des différentes formes mobiles obtenues dans les différentes localités pourraient clarifier la situation.

Parmi les espèces appartenant à cet ensemble, un complexe d'espèces productrices de kystes comprenant *P. minutum* (Wall et Dale, 1968; décrite aux États-Unis), *P. minutum* (Fukuyo *et al.*, 1977; décrite au Japon) et *P. monospinum* (Zonneveld et Dale, 1994; décrite en Norvège) a été proposé par Zonneveld et Dale (1994). L'ajout de *P. minutum*

(S. Ribeiro, communication personnelle, 2009; décrite au Portugal) et *P. canadensis* mène à cinq le nombre d'espèces similaires produisant des kystes différents et facilement différenciables (voir tableau 5). Ceci accentue l'importance d'ajouter d'autres critères que la morphologie lorsque des espèces sont décrites, tels la génétique et des détails sur le cycle de vie de l'espèce.

Sous-genre Protoperidinium. Le sous-genre *Protoperidinium* est constitué de toutes les espèces du genre *Protoperidinium* possédant sept plaques précingulaires et habituellement trois plaques antérieures intercalaires. *Protoperidinium bolmonense*, *P. vorax*, *P. parthenopes* et *P. americanum* font partie de ce sous-genre et partagent plusieurs caractéristiques avec *P. canadensis*. Parmi ces caractéristiques, il y a le contact entre la première plaque intercalaire (1a) et la première plaque précingulaire (1'') qui était présent également chez *P. monospinum* Paulsen, la disposition asymétrique des plaques intercalaires, l'absence de voile cingulaire et l'absence de corne apicale.

Chez le genre *Protoperidinium*, le nombre de plaques cingulaires est généralement de quatre. Ces plaques sont habituellement constituées d'une première plaque qualifiée de transitionnelle. Cette plaque est petite et située immédiatement à gauche du sulcus. La plaque transitionnelle est ensuite suivie de trois plaques principales (Fensome *et al.*, 1993). La plaque transitionnelle est absente chez *P. canadensis*. Cette caractéristique n'est partagée qu'avec deux autres espèces du genre *Protoperidinium*, soit *P. bolmonense* et *P. vorax*. Par contre, la tabulation, la taille, l'absence de chloroplastes et la présence de

sutures à la jonction des plaques cingulaires au niveau dorsal chez ces espèces les distinguent de *P. canadensis*.

Protoperidinium americanum se distingue de *P. canadensis* par quatre caractéristiques principales, soit la tabulation, l'ornementation des plaques, le nombre de plaques cingulaires et leur configuration. *Protoperidinium americanum* possède quatre plaques antérieures intercalaires, ce qui le rend unique à l'intérieur du genre *Protoperidinium*. Les plaques de *P. americanum* sont caractérisées par des ondulations, ce qui n'est pas le cas chez *P. canadensis*. De plus, les plaques cingulaires sont au nombre de quatre. *Protoperidinium americanum* se distingue également de *P. canadensis* par la présence de sutures à la jonction des plaques cingulaires au niveau dorsal. L'espèce partage toutefois une caractéristique très distinctive avec *P. canadensis*, soit la présence d'un archéopyle de nature apicale chez le kyste. Ces deux espèces pourraient donc être liées. *Protoperidinium parthenopes* possède les mêmes caractéristiques que *P. americanum* quant au nombre de plaques cingulaires et à la présence de sutures à la jonction des plaques cingulaires au niveau dorsal. Ces critères le distinguent de *P. canadensis*. La configuration de l'épithèque et de l'hypothèque de *P. parthenopes* est toutefois très similaire à *P. canadensis*, la seule différence provenant de la présence de trois plaques intercalaires au niveau de l'épithèque chez *P. parthenopes* à l'opposé de deux chez *P. canadensis*. Le patron de plaques de l'épithèque est reconnu pour varier chez les dinoflagellés (Balech, 1980). La taxonomie actuelle des *Protoperidinium* met beaucoup d'importance sur le nombre de plaques antérieures intercalaires. Certaines espèces de dinoflagellés ont toutefois démontré de la variabilité au niveau du nombre de ces plaques (e.g. *Azadinium spinosum*;

Tillmann *et al.*, 2009). Le nombre de plaques intercalaires pourrait ainsi ne pas avoir l'importance que la taxonomie actuelle lui donne. Ainsi, *P. canadensis* et *P. parthenopes* pourraient très bien être étroitement liés.

3.4 Génétique

Le résultat le plus inattendu de cette étude a été l'association de *Protoberidinium canadensis* et de *Thecadinium dragescoi*, une espèce actuellement classifiée chez les Gonyaulacales. La position phylogénétique du regroupement des deux espèces s'est toutefois révélée instable. La diversité génétique connue des Protoberidiniaceae est très restreinte par rapport à la diversité morphologique. Ce manque de connaissances génétiques peut ainsi apporter des ambiguïtés quant aux relations d'ancêtres à descendants dans les analyses phylogénétiques et être la cause de cette instabilité. L'unité des deux espèces et les supports obtenus par la méthode Bootstrap reflètent toutefois un lien évolutif important. Ce lien a des implications importantes tant pour *Thecadinium dragescoi* que pour *Protoberidinium canadensis*.

Une étude de la morphologie détaillée du genre *Thecadinium* a été réalisée par Hoppenrath (2000). L'affinité de l'espèce *Thecadinium dragescoi* pour le genre *Thecadinium* et même pour les Gonyaulacales avait alors été mise en doute sur la base de plusieurs détails morphologiques de l'espèce. Quelques années plus tard, une étude phylogénétique se basant sur le gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale menée par Hoppenrath *et al.* (2004) n'a pas supporté avec certitude l'hypothèse de l'étude morphologique précédente. Dans cette dernière étude, *Thecadinium dragescoi* se trouvait à

proximité d'au moins un membre de l'ordre des Peridinales sans toutefois trouver une position avec un support Bootstrap important. La phylogénie de l'étude actuelle tend à confirmer l'hypothèse initiale de Hoppenrath (2000). Le support de la position de *Thecadinium dragescoi* avec l'espèce étudiée ainsi que la place phylogénétique variable, mais toujours située à proximité des Protoperidiniaceae tend à lier *Thecadinium dragescoi* davantage aux Peridinales qu'aux Gonyaulacales.

Thecadinium dragescoi est une espèce colonisant les interstices entre les grains de sable alors que *Protoperidinium canadensis* n'a pas la morphologie adaptée à ce genre d'environnement. Selon la distribution des kystes dans le sédiment de surface, l'espèce serait davantage associée au couvert de glace. La morphologie des deux espèces les associe aux Peridinales, mais leurs différences morphologiques sont très importantes. L'écologie et la morphologie divergentes des deux espèces suggèrent qu'ils sont des représentants de genres inconnus, distincts et étroitement liés.

3.5 Incorporation de l'espèce au genre *Protoperidinium*

Certains critères morphologiques et génétiques tendent à distinguer l'espèce étudiée et certaines des espèces comparées du genre *Protoperidinium* telles l'absence de plaque transitionnelle, la présence d'un contact entre la première plaque antérieure intercalaire (1a) et la première plaque précingulaire (1'') ainsi que la présence de chloroplastes. Les données moléculaires chez les espèces comparées ne sont toutefois disponibles que chez *P. canadensis*. Ceci empêche la mise en évidence de caractéristiques ayant une signification évolutive et reflétant l'histoire naturelle de ces espèces. Pour cette raison, l'espèce étudiée a

été incorporée dans le genre *Protoperidinium* et dans le sous-genre *Archaeoperidinium* et ce, malgré les problèmes actuels inhérents à la taxonomie du sous-genre *Archaeoperidinium* soulevés par la comparaison des formes similaires et la polyphylie du groupe.

CHAPITRE III

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les kystes sphériques, bruns et épineux constituent un groupe morphologique qui caractérise plusieurs assemblages modernes des hautes latitudes. Leur équivalence sous forme mobile est, dans la plupart des cas, inconnue. L'étude actuelle sur le cycle de vie de *Islandinium minutum* a permis de déterminer son affinité biologique. La forme mobile s'est révélée inconnue. La distribution de cette dernière n'étant pas connue, l'unification des connaissances écologiques des deux stades n'a pas pu être faite. De vastes études spatiales et temporelles des assemblages des dinoflagellés contenus dans le plancton et la glace de mer en Arctique seront nécessaires afin de documenter la distribution de la forme mobile obtenue dans cette étude. Ceci permettra de déterminer avec davantage de précision les nécessités écologiques de l'espèce étudiée.

La comparaison des données génétiques a permis de conclure à la présence d'une seule espèce malgré la variabilité morphologique observée chez la forme mobile. L'étude s'est toutefois concentrée à un endroit spécifique de l'Arctique, soit la baie de Baffin, alors que la distribution de l'espèce est beaucoup plus étendue. Des expériences d'incubations couplées à des analyses morphologiques et génétiques devraient être réalisées à d'autres endroits afin de déterminer si les résultats sont comparables et si la distribution obtenue sous forme de kyste ne représente qu'une seule espèce.

L'étude a apporté des éléments nouveaux quant à l'écologie de l'espèce. Ainsi, le temps de réponse de la forme enkystée aux stimuli et la capacité de survie importante de la forme mobile pourraient permettre à l'espèce d'exploiter une fenêtre temporelle importante pour se réintroduire dans la partie supérieure de la colonne d'eau.

La comparaison entre l'espèce étudiée et les espèces de forme similaire a révélé une situation complexe. Les espèces comparées appartenant à la fois au sous-genre *Archaeoperidinium* et *Protooperidinium* s'unissent par plusieurs critères distinctifs du genre *Protooperidinium*, telles l'absence de plaque transitionnelle, la présence d'un contact entre la première plaque antérieure intercalaire (1a) et la première plaque précingulaire (1'') ainsi que la présence de chloroplastes chez certains. Les connaissances génétiques actuelles ne permettent pas de déterminer si ces critères ont une importance dans l'histoire naturelle des espèces. Ceci reflète toutefois certaines faiblesses au niveau de la classification subgénérique chez le genre *Protooperidinium*.

Le lien évolutif étroit entre l'espèce étudiée et *Thecadinium dragescoi* est le résultat le plus inattendu de l'étude. Ceci ajouté à la morphologie et à l'écologie divergentes des deux espèces tend à indiquer que ce sont des représentants de deux genres inconnus, distincts et étroitement liés. La position phylogénétique variable du regroupement des deux espèces aux alentours des *Protooperidiniaceae* reflète la nécessité d'augmenter les connaissances moléculaires sur ce groupe. Un intérêt particulier devrait être accordé aux *Protooperidinium* appartenant au sous-genre *Archaeoperidinium*, ce dernier étant polyphylétique. Les nouvelles connaissances génétiques sur ce sous-genre entraîneront fort

probablement des changements taxonomiques majeurs. Il est fort probable que l'importance accordée au nombre de plaques précingulaires et antérieures intercalaires sera amenuisée.

BIBLIOGRAPHIE

- Balech, E. 1980. « On thecal morphology of dinoflagellates with special emphasis on circular and sulcal plates », **Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM**, volume 7, número 1, pp. 57-68.
- Balech, E. 1988. « Los Dinoflagellados del Atlantico Sudoccidental », **Madrid: Publicaciones Especiales Instituto Espanol de Oceanografia**, número 1, 310 p.
- Bolch, C.J.S.; G.M. Hallegraeff. 1990. « Dinoflagellate cysts in recent marine sediments from Tasmania, Australia », **Botanica Marina**, volume 33, número 2, pp. 173-192.
- Bolch, C.J.S. 2001. « PCR protocols for genetic identification of dinoflagellates directly from single cysts and plankton cells », **Phycologia**, volume 40, número 2, pp. 162-167.
- Brenner, W.W.; N. Biebow. 2001. « Missing autofluorescence of recent and fossil dinoflagellate cysts - an indicator of heterotrophy? », **Neues Jahrbuch für Geologie und Paläontologie, Abhandlungen**, volume 219, número 1-2, pp. 229-240.
- Chomérat, N.; A. Couté. 2008. « *Protoperidinium bolmonense* sp. nov. (Peridinales, Dinophyceae), a small dinoflagellate from a brackish hypereutrophic lagoon (South of France) », **Phycologia**, volume 47, número 4, pp. 392-403.

- Daugbjerg, N.; G. Hansen; J. Larsen; Ø. Moestrup. 2000. « Phylogeny of some of the major genera of dinoflagellates based on ultrastructure and partial LSU rDNA sequence data, including the erection of three new genera of unarmoured dinoflagellates », **Phycologia**, volume 39, numéro 4, pp. 302-317.
- Dodge, J.D. 1983. « Ornamentation of thecal plates in *Protoperidinium* (Dinophyceae) as seen by scanning electron microscopy », **Journal of Plankton Research**, volume 5, numéro 2, pp. 119-127.
- Eaton, G.L. 1980. « Nomenclature and homology in peridinialean dinoflagellate plate patterns », **Paleontology**, volume 23, partie 3, pp. 667-688.
- Evitt, W.R. 1985. **Sporopollenin Dinoflagellate Cysts: Their Morphology and Interpretation**. Texas: American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation. 333 p.
- Fensome, R.A.; F.J.R. Taylor; G. Norris; W.A.S. Sarjeant; D.I. Wharton; G.L. Williams. 1993. **A classification of living and fossil dinoflagellates**. Massachusetts: Micropaleontology special publication number 7. 351 p.
- Fritz, L.; R.E. Triemer. 1985. « A rapid simple technique utilizing calcofluor white M2R for the visualization of dinoflagellate thecal plates », **Journal of Phycology**, volume 21, numéro 4, pp. 662-664.

- Fukuyo, Y. ; J. Kittaka ; R. Hirano. 1977. « Studies on the Cysts of Marine Dinoflagellates- I », **Bulletin of Plankton Society of Japan**, volume 24, numéro 1, pp. 11-18.
- Genovesi-Giunti, B.; M. Laabir; A. Vaquer. 2006. « The benthic resting cyst: A key actor in harmful dinoflagellate blooms - A review », **Vie et milieu**, volume 56, numéro 4, pp. 327-337.
- Godhe, A.; D.M. Anderson; A.-S. Rehnstam-Holm. 2002. « PCR amplification of microalgal DNA for sequencing and species identification: studies on fixatives and algal growth stages », **Harmful Algae**, volume 1, numéro 4, pp. 375-382.
- Gribble, K.E.; D.M. Anderson. 2006. « Molecular phylogeny of the heterotrophic dinoflagellates, *Protooperidinium*, *Diplopsalis* and *Preperidinium* (Dinophyceae), inferred from large subunit rDNA», **Journal of Phycology**, volume 42, numéro 5, pp. 1081-1095.
- Guillard, R.R.L.; J.H. Ryther. 1962. « Studies of marine planktonic diatoms: I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. », **Canadian Journal of Microbiology**, volume 8, numéro 2, pp. 229-239.
- Hall, T.A. 1999. « BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT », **Nucleic Acids Symposium Series**, numéro 41, pp. 95-98.

- Harland, R.; P.C. Reid; P. Dobell; G. Norris. 1980. « Recent and sub-Recent dinoflagellate cysts from the Beaufort Sea, Canadian Arctic », **Grana**, volume 19, número 3, pp. 211-225.
- Head, M.J. 1996. « Modern dinoflagellate cysts and their biological affinities ». *In* Jansonius, J.; D.C. McGregor (éd.). **Palynology: principles and applications**. Texas: American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation volume 3. pp. 1197-1248.
- Head, M.J.; R. Harland; J. Matthiessen. 2001. « Cold marine indicators of the late Quaternary: the new dinoflagellate cyst genus *Islandinium* and related morphotypes », **Journal of Quaternary Science**, volume 16, número 7, pp. 621-636.
- Hernández-Becerril, D.U. 1991. « *Protoperidinium* (Dinophyceae) species in the gulf of California and off the coast of Baja California », **Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM**, volume 18, número 1, pp. 77-88.
- Hoppenrath, M. 2000. « Morphology and taxonomy of the marine sand-dwelling genus *Thecadinium* (Dinophyceae), with the description of two new species from the North German Wadden Sea », **Phycologia**, volume 39, número 2, pp. 96-108.
- Hoppenrath, M.; J.F. Saldarriaga; M. Schweikert; M. Elbrachter; F.J.R. Taylor. 2004. « Description of *Thecadinium mucosum* sp. nov. (Dinophyceae), a new sand-dwelling marine dinoflagellate, and an emended description of *Thecadinium inclinatum* Balech », **Journal of Phycology**, volume 40, número 5, pp. 946-961.

- Horiguchi, T.; J. Yoshizawa-Ebata; T. Nakayama. 2000. « *Halostylodinium arenarium*, gen. et sp. nov. (Dinophyceae), a coccoid sand-dwelling dinoflagellate from subtropical Japan », **Journal of Phycology**, volume 36, numéro 5, pp. 960-971.
- Kawami, H.; M. Iwataki; K. Matsuoka. 2006. « A new diplopsalid species *Oblea acanthocysta* sp. nov. (Peridiniales, Dinophyceae) », **Plankton and Benthos Research**, volume 1, numéro 4, pp. 183-190.
- Kofoed, C.A. 1907. « Dinoflagellata of the San Diego region, III. Descriptions of new species », **University of California Publications Zoology**, volume 3, numéro 13, pp. 299-340.
- Kofoed, C.A. 1909. « On *Peridinium steinii* Jörgensen, with a note on the nomenclature of the skeleton of the Peridinidae », **Archiv für Protistenkunde**, volume 16, numéro 1, pp. 25-47.
- Larkin, M.A.; G. Blackshields; N.P. Brown; R. Chenna; P.A. McGettigan; H. McWilliam; F. Valentin ; I.M. Wallace ; A. Wilm; R. Lopez; J.D. Thompson; T.J. Gibson; D.G. Higgins. 2007. « Clustal W and Clustal X version 2.0 », **Bioinformatics**, volume 23, numéro 21, pp. 2947-2948.
- Lenaers, G.; L. Maroteaux; B. Michot; M. Herzog. 1989. « Dinoflagellates in evolution. A molecular phylogenetic analysis of large subunit ribosomal RNA », **Journal of Molecular Evolution**, volume 29, numéro 1, pp. 40-51.

- Lewis, J.; J. D. Dodge; P. Tett. 1984. « Cyst-theca relationships in some *Protoperidinium* species (Peridinales) from Scottish sea lochs », **Journal of Micropalaeontology**, volume 3, numéro 2, pp. 25-34.
- Lewis, J. ; J.D. Dodge. 1987. « The cyst-theca relationship of *Protoperidinium americanum* (Gran & Braarud) Balech », **Journal of Micropalaeontology**, volume 6, numéro 2, pp. 113-121.
- Ludwig, W.; O. Strunk; R. Westram; L. Richter; H. Meier; Yadhukumar; A. Buchner; T. Lai; S. Steppi; G. Jobb; W. Förster; I. Brettske; S. Gerber; A.W. Ginhart; O. Gross; S. Grumann; S. Hermann; R. Jost; A. König; T. Liss; R. Lüßmann; M. May; B. Nonhoff; B. Reichel; R. Strehlow; A. Stamatakis; N. Stuckmann; A. Vilbig; M. Lenke; T. Ludwig; A. Bode; K.-H. Schleifer. 2004. « ARB: A software environment for sequence data », **Nucleic Acids Research**, volume 32, numéro 4, pp. 1363-1371.
- Matsuoka, K.; J.P. Bujak. 1988. « Cenozoic dinoflagellate cysts from the Navarin Basin, Norton Sound and St. George Basin, Bering Sea », **Bulletin of the Faculty of Liberal Arts, Nagasaki University, Natural Science**, volume 29, numéro 1, pp. 1-147.
- Matsuoka, K.; Y. Fukuyo. 2000. « Technical Guide for Modern Dinoflagellate Cyst Study », **WESTPAC-HAB/WESTPAC/IOC**.
- Matsuoka, K.; H. Kawami; R. Fujii; M. Iwataki. 2006. « Further examination of the cyst-theca relationship of *Protoperidinium thulesense* (Peridinales, Dinophyceae)

and the phylogenetic significance of round brown cysts », **Phycologia**, volume 45, numéro 6, pp. 632-641.

Okolodkov, Y.B. 2005. « *Protoperidinium* Bergh (Dinoflagellata) in the southeastern Mexican Pacific Ocean : part 1 », **Botanica Marina**, volume 48, numéro 4, pp. 284-296.

Paulsen, O. 1908. Peridinales. *In* Brandt, K.; C. Apstein (éd.). « Nordisches Plankton », **Botanischer Teil**, 18. Lipsius and Tischer, Kiel and Leipzig. pp. 1-124.

Posada, D.; K.A. Crandall. 1998. « Modeltest: testing the model of DNA substitution ». **Bioinformatics**, volume 14, numéro 9, pp. 817-818.

Posada, D.; T.R. Buckley. 2004. « Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of akaike information criterion and bayesian approaches over likelihood ratio tests », **Systematic Biology**, volume 53, numéro 5, pp. 793-808.

Rausch, H.; N. Larsen; R. Schmitt. 1989. « Phylogenetic relationships of green algae *Volvox carteri* deduced from small-subunit ribosomal RNA comparisons », **Journal of Molecular Evolution**, volume 29, numéro 3, pp. 255-265.

Rochon, A.; A. de Vernal; J.-L. Turon; J. Matthiessen; M.J. Head. 1999. **Distribution of recent dinoflagellate cysts in surface sediments from the North Atlantic Ocean and adjacent seas in relation to sea-surface parameters**. Texas: American

Association of Stratigraphic Palynologists Foundation, Contributions Series number 35. 152 p.

Rochon, A. 2009. « The ecology and biological affinity of Arctic dinoflagellates and their paleoceanographical significance in the Canadian High Arctic », **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, volume 5, pp. 1-6.

Rochon, A.; J. Lewis; M. Ellegaard; I.C. Harding. 2009. « The *Gonyaulax spinifera* (Dinophyceae) “complex”: Perpetuating the paradox? », **Review of Palaeobotany and Palynology**, volume 155, numéro 1-2, pp. 52-60.

Saldarriaga, J.F.; F.J.R. Taylor; P.J. Keeling; T. Cavalier-Smith. 2001. « Dinoflagellate nuclear SSU rRNA phylogeny suggests multiple plastid losses and replacements », **Journal of Molecular Evolution**, volume 53, numéro 3, pp. 204-213.

Schweikert, M.; M. Elbrächter. 2004. « First ultrastructural investigations of the consortium between a phototrophic eukaryotic endocytobiont and *Podolampas bipes* (Dinophyceae) », **Phycologia**, volume 43, numéro 5, pp. 614-623.

Sebastián C.R.; C. O’Ryan. 2001. « Single-cell sequencing of dinoflagellate (Dinophyceae) nuclear ribosomal genes », **Molecular Ecology Notes**, volume 1, numéro 4, pp. 329-331.

- Siano R.; M. Montresor. 2005. « Morphology, ultrastructure and feeding behaviour of *Protoperidinium vorax* sp. nov. (Dinophyceae, Peridinales) », **European Journal of Phycology**, volume 40, numéro 2, pp. 221-232.
- de Sousa E Silva, E. 1962. « Some observations on marine dinoflagellate cultures II. *Glenodinium foliaceum* Stein and *Gonyaulax diacantha* (Meunier) Schiller », **Botanica Marina**, volume 3, numéro 3-4, pp. 75-100.
- Swofford, D.L. 2002. **PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). version 4.0b10**. Massachusetts (Sunderland): Sinauer Associates.
- Takano, Y.; T. Horiguchi. 2004. « Surface ultrastructure and molecular phylogenetics of four unarmored heterotrophic dinoflagellates, including the type species of the genus *Gyrodinium* (Dinophyceae) », **Phycological Research**, volume 52, numéro 2, pp. 107-116.
- Takano, Y.; T. Horiguchi. 2006. « Acquiring scanning electron microscopical, light microscopical and multiple gene sequence data from a single dinoflagellate cell », **Journal of Phycology**, volume 42, numéro 1, pp. 251-256.
- Taylor, F.J.R. 1980. « On dinoflagellate evolution », **Biosystems**, volume 13, numéro 1-2, pp. 65-108.

- Tillmann, U.; M. Elbrächter; B. Krock; U. John; A. Cembella. 2009. « *Azadinium spinosum* gen. et sp. nov. (Dinophyceae) identified as a primary producer of azaspiracid toxins », **European Journal of Phycology**, volume 44, numéro 1, pp. 63-79.
- de Vernal, A.; M. Henry; J. Matthiessen; P.J. Mudie; A. Rochon; K.P. Boessenkool; F. Eynaud; K. Grosfjeld; J. Guiot; D. Hamel; R. Harland; M.J. Head; M. Kunz-Pirrung; E. Levac; V. Loucheur; O. Peyron; V. Pospelova; T. Radi; J.L. Turon; E. Voronina. 2001. « Dinoflagellate cyst assemblages as tracers of sea-surface conditions in the northern North Atlantic, Arctic and sub-Arctic seas: the new 'n=677' data base and its application for quantitative palaeoceanographic reconstruction », **Journal of Quaternary Science**, volume 16, numéro 7, pp. 681-698.
- de Vernal, A.; F. Eynaud; M. Henry; C. Hillaire-Marcel; L. Londeix; S. Mangin; J. Matthiessen; F. Marret; T. Radi; A. Rochon; S. Solignac; J.L. Turon. 2005. « Reconstruction of sea-surface conditions at middle to high latitudes of the Northern Hemisphere during the Last Glacial Maximum (LGM) based on dinoflagellate cyst assemblages », **Quaternary Science Reviews**, volume 24, numéro 7-9, pp. 897-924.
- de Vernal, A.; F. Marret. 2007. « Organic-walled dinoflagellate cysts: tracers of sea-surface conditions ». In Hillaire-Marcel, C.; A. de Vernal (éd.). **Proxies in Late Cenozoic paleoceanography, Developments in marine geology, série 1**. Canada: Elsevier. pp. 371–408.

- Wall, D. ; B. Dale. 1968. « Modern dinoflagellate cysts and evolution of the Peridinales », **Micropaleontology**, volume 14, numéro 3, pp. 265-304.
- Williams, G.L.; R.A. Fensome; M.A. Miller; W.A.S. Sarjeant. 2000. **A glossary of the terminology applied to dinoflagellates, acritarchs and prasinophytes, with emphasis on fossils**, 3^e édition. Texas: American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation, Contributions Series number 37. 370 p.
- Yamaguchi, A.; T. Horiguchi. 2005. « Molecular phylogenetic study of the heterotrophic dinoflagellate genus *Protoperidinium* (Dinophyceae) inferred from small subunit rRNA gene sequences », **Phycological Research**, volume 53, numéro 1, pp. 30-42.
- Zingone, A.; M. Montresor. 1988. « *Protoperidinium parthenopes* sp. nov. (Dinophyceae), an intriguing dinoflagellate from the Gulf of Naples », **Cryptogamie, Algologie**, volume 9, numéro 2, pp. 117-125.
- Zonneveld, K.A. ; B. Dale. 1994. « The cyst-motile stage relationships of *Protoperidinium monospinum* (Paulsen) Zonneveld et Dale comb. nov. and *Gonyaulax verior* (Dinophyta, Dinophyceae) from the Oslo Fjord (Norway) », **Phycologia**, volume 33, numéro 5, pp. 359-368.
- Zonneveld, K.A.F. 1997. « New species of organic walled dinoflagellate cysts from modern sediments of the Arabian Sea (Indian Ocean) », **Review of Palaeobotany and Palynology**, volume 97, numéro 3-4, pp. 319-337.

Tableau 1. Amorces utilisées pour l'amplification et le séquençage du gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale

Code	DS	Séquence (5'-3')	Position	Référence
SR1	A	TACCTGGTTGATCCTGCCAG	1–20 (a)	Yamaguchi et Horiguchi (2005)
SR1b	A	GATCCTGCCAGTAGTCATATGCTT	10–33 (a)	Yamaguchi et Horiguchi (2005)
SR4	A	AGGGCAAGTCTGGTGCCAG	548–566 (a)	Yamaguchi et Horiguchi (2005)
SR5AY	I	ACTACGAGCTTTTTAACCGC	630–611 (a)	Yamaguchi et Horiguchi (2005)
SR8pc	A	GGATTGACAGATTGATAGCT	1224-1243 (a)	Cette étude
SR9p	I	AACTAAGAACRGCCATGCAC	1286–1267 (a)	Yamaguchi et Horiguchi (2005)
SR12b	I	CGGAAACCTTGTTACGACTTCTCC	1762–1739 (a)	Yamaguchi et Horiguchi (2005)
LSU R2	I	ATTCGGCAGGTGAGTTGTTAC	1344–1324 (b)	Takano et Horiguchi (2006)

La position des amorces est indiquée par rapport à la séquence d'ADN de (a) *Volvox carteri* (Rausch *et al.* 1989) codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale et de (b)

Prorocentrum micans (Lenaers *et al.* 1989) codant pour l'ARN de la grosse sous-unité ribosomale. DS : direction de synthèse, A : avant, I :inverse.

Tableau 2. Taxa utilisés pour établir la phylogénie à partir du gène codant pour l'ARN de la petite sous-unité ribosomale

Taxa	Numéro d'acquisition GenBank
<i>Adenoides eludens</i> (Herdman) Balech	AF274249
<i>Akashiwo sanguinea</i> (Hirasaka) Hansen et Moestrup	AY421770
<i>Alexandrium minutum</i> Halim	AY831408
<i>Alexandrium tamarense</i> (Lebour) Balech	DQ785890
<i>Amphidinium corpulentum</i> Kofoid et Swezy	AF274252
<i>Amphidinium herdmanii</i> Kofoid et Swezy	AF274253
<i>Amphidinium longum</i> Lohmann	AF274254
<i>Ceratium longipes</i> (Bailey) Gran	DQ388462
<i>Ceratocorys horrida</i> Stein	DQ388456
<i>Dinophysis norvegica</i> Claparède et Lachmann	AJ506974
<i>Diplopsalis lebourae</i> (Nie) Balech	AB261512
<i>Diplopsalopsis bomba</i> (Stein) Dodge et Toriumi	AB261513
<i>Gonyaulax spinifera</i> (Claparède et Lachmann) Diesing	AF022155
<i>Gotoius excentricus</i> (Nie) Sournia	AB261514
<i>Gymnodinium aureolum</i> (Hulburt) Hansen	AF172713
<i>Gymnodinium béii</i> Spero	U37406
<i>Gymnodinium catenatum</i> Graham	DQ779990

<i>Gymnodinium fuscum</i> (Ehrenberg) Stein	AF022194
<i>Gymnodinium simplex</i> (Lohmann) Kofoid <i>et</i> Swezy	U41086
<i>Heterocapsa niei</i> (Loeblich III) Morrill <i>et</i> Loeblich III	AF274265
<i>Heterocapsa pygmaea</i> Loeblich III, Schmidt <i>et</i> Sherley	AF274266
<i>Karenia brevis</i> (Davis) Hansen <i>et</i> Moestrup	AF274259
<i>Karlodinium micrum</i> (Leadbeater <i>et</i> Dodge) Larsen	AY245692
<i>Kryptoperidinium foliaceum</i> (Stein) Lindemann	AF274268
<i>Lepidodinium chlorophorum</i> (Elbrächter <i>et</i> Schnepf) Hansen, Botes <i>et</i> de Salas	AM184122
<i>Lepidodinium viride</i> Watanabe, Suda, Inouye, Sawaguchi <i>et</i> Chihara	AF022199
<i>Oblea</i> sp. <i>acanthocysta</i> Kawami, Iwataki <i>et</i> Matsuoka	AB273723
<i>Oblea torta</i> (Abé) Balech	AB273725
<i>Pentapharsodinium</i> sp. Indelicato <i>et</i> Loeblich III	AF274270
<i>Pentapharsodinium tyrrhenicum</i> (Balech) Montresor, Zingone <i>et</i> Marino	AF022201
<i>Peridinium bipes</i> (Paulsen) Balech	AF231805
<i>Peridinium</i> sp. Ehrenberg	AF022202
<i>Peridinium umbonatum</i> Stein	AF274271
<i>Peridinium willei</i> Huitfeldt-Kaas	AB232669
<i>Pheopolykrikos beauchampii</i> Chatton	DQ371295

<i>Polarella glacialis</i> Montresor, Procaccini et Stoecker	AF099183
<i>Polykrikos kofoidii</i> Chatton	DQ371291
<i>Prorocentrum micans</i> Ehrenberg	AY585526
<i>Protoceratium reticulatum</i> (Claparède et Lachmann) Bütschli	AY421790
<i>Protoperidinium abei</i> (Paulsen) Balech	AB181882
<i>Protoperidinium bipes</i> (Paulsen) Balech	AB284159
<i>Protoperidinium canadensis</i> sp. nov. Potvin, Rochon et Lovejoy	
<i>Protoperidinium claudicans</i> (Paulsen) Balech	AB255833
<i>Protoperidinium conicum</i> (Gran) Balech	AB181886
<i>Protoperidinium crassipes</i> (Kofoid) Balech	AB261515
<i>Protoperidinium denticulatum</i> (Gran et Braarud) Balech	AB181890
<i>Protoperidinium depressum</i> (Bailey) Balech	AB255834
<i>Protoperidinium divergens</i> (Ehrenberg) Balech	AB181893
<i>Protoperidinium elegans</i> (Cleve) Balech	AB255836
<i>Protoperidinium excentricum</i> (Paulsen) Balech	AY443021
<i>Protoperidinium leonis</i> (Pavillard) Balech	AB181898
<i>Protoperidinium pallidum</i> (Ostenfeld) Balech	AB261516
<i>Protoperidinium pellucidum</i> Bergh	AB181903
<i>Protoperidinium pentagonum</i> (Gran) Balech	AB255838
<i>Protoperidinium punctulatum</i> (Paulsen) Balech	AB181906

<i>Protoperidinium thorianum</i> (Paulsen) Balech	AB181908
<i>Protoperidinium thulesense</i> (Balech) Balech	AB261522
<i>Pyrocystis lunula</i> (Schütt) Schütt	AF274274
<i>Pyrocystis noctiluca</i> Murray	AF022156
<i>Pyrodinium bahamense</i> Plate	AF274275
<i>Sabulodinium undulatum</i> Saunders et Dodge	DQ975474
<i>Sarcocystis muris</i> (Blanchard) Alexieff	M64244
<i>Scrippsiella sweeneyae</i> Balech	AF274276
<i>Scrippsiella trochoidea</i> (Stein) Balech	AY421792
<i>Thecadinium dragescoi</i> Balech	AY238479
<i>Thecadinium kofoidii</i> (Herdman) Larsen	AY238478
<i>Thecadinium yashimaense</i> Yoshimatsu, Toriumi et Dodge	AY238477
<i>Thoracosphaera heimii</i> (Lohmann) Kamptner	AF274278
<i>Woloszynskia pascheri</i> (Suchlandt) Stosch	EF058253

Sarcocystis muris, un apicomplexe, a été utilisé comme racine afin de polariser l'arbre phylogénétique. Le nom des espèces suit le Code International de Nomenclature Botanique (ICBN).

Tableau 3. Caractéristiques morphologiques des formes mobiles utilisées lors de la génétique à une cellule

	Hauteur (μm)	Largeur (μm)	Morphotype
Cellule 1	46	39	1
Cellule 2	40	37	3
Cellule 3	48	43	2
Cellule 4	42	41	1
Cellule 5	48	45	2

N.B. Aucune donnée génétique n'a pu être obtenue pour le morphotype 4.

Tableau 4. Caractéristiques morphologiques de la forme mobile obtenue et des espèces similaires du genre *Protoperdinium*

Sous-genre	<i>Archaeperidinium</i>				<i>Protoperdinium</i>			
Espèces	<i>P. canadensis</i>	<i>P. minutum</i>	<i>P. monospinum</i>	<i>P. aspidiotum</i>	<i>P. bolmonense</i>	<i>P. vorax</i>	<i>P. parthenopes</i>	<i>P. americanum</i>
Localité	Arctique (Baie de Baffin)	États-Unis (Californie: Port de San Pedro) États-Unis (Woods Hole) Japon (Lac Hamana) États-Unis (Golf de Californie) Océan Pacifique (Sud-est du Mexique) Portugal (Estuaire Mondego)	Mer du Nord Norvège (Fjord de Oslo)	Argentine (Mar del Plata)	France (Lagon de Bolmon)	Italie (Golf de Naples)	Italie (Golf de Naples)	Écosse (Côte ouest)
Forme générale	Subsphérique	Subsphérique ^{2,14,36}	Subsphérique	Subsphérique	Ronde et aplatie dorsoventralement	Sphérique	Subsphérique	Subsphérique
Hauteur (µm)	33-58	23-43 ¹ 46 ² 43-45 ¹ 33-53 ¹	30-35 ² 48-56 ¹	35-39	18-22	16-26	30-38.8	30-40
Largeur (µm)	30-50	23-47 ¹ 40 ² 29-33 ¹ 38-39 ¹ 29-49 ³ 27-37 ²	25-30 ²	34-35	15-18	16-25	26-35	28-38
Come apicale	Absente	Présente ^{1,14,36} Absente ²	Présente	Présente	Absente	Absente	Absente	Absente
Disposition du complexe du pore apical	Légèrement asymétrique	Symétrique ² Légèrement asymétrique ^{1,14,36}	Symétrique ²	Symétrique	Légèrement asymétrique	Légèrement asymétrique	Légèrement asymétrique	Symétrique
Voile cingulaire (entourant le cingulum)	Absent	Présent ^{1,14,36} Ambigu ¹	Présent ² Absent	Absent	Absent	Absent	Absent (réduit selon les auteurs)	Absent
Ornementation des plaques	Pores éparpillés, verrues allongées, épines, pores alignés le long du cingulum	Pores éparpillés, aucune réticulation ¹ Pores éparpillés et microgranules ^{2,14,36} Réticulations polygonales incomplètes ²	Surface granuleuse ¹ Réticulation fine ²	-	Pores éparpillés, pores en bordure	Pores en bordure	Pores, protubérances, réticulations légères, pores alignés en bordure	Ondulations et pores en bordure Pores alignés en bordure
Disposition des plaques intercalaires	Asymétrique	Symétrique ^{2,3} Légèrement asymétrique ¹	Symétrique ² Ambigu ¹	Légèrement asymétrique	Asymétrique	Asymétrique	Asymétrique	Asymétrique
Cingulum	3c	4(t+3)c ^{1,36} Ambigu ¹	4(t+3)c ²	4(t+3)c	3c	3c	4c	4c
Lien entre 1a et 1''	Présent Absent	Absent ^{1,2,14,36}	Absent ² Présent	Absent	Présent	Présent	Présent	Présent
Disposition des sutures à la jonction des plaques cingulaires	Ventrale	Ventrale ^{1,6} Ambigu ¹	Ventrale ²	Ventrale	Ventrale Dorsale	Ventrale Dorsale	Ventrale Dorsale	Ventrale Dorsale
Chloroplastes	Présents	Présents ^{2,14,36}	Absents ²	-	Absents	Absents	-	Absents
Plaques sulcales	7(5+2)s	4s ¹ 6s ^{1,36}	5s ² (sans t) ²	6s	4(?)s	5s	6s	7s
Production de kystes	Oui	Oui ^{2,14,36}	Oui ²	-	-	- (non observée)	-	Oui
Références	Étude actuelle	Kofoid (1907) ¹ Wall et Dale (1968) ² Fukuyo <i>et al.</i> (1977) ¹ Hernández-Becerril (1991) ⁴ Okolodkov (2005) ¹ Ribeiro, S. (com. pers., 2009) ⁶	Paulsen (1908) ¹ Zonneveld et Dale (1994) ²	Balech (1988)	Chomérat et Couté (2008)	Siano et Montesor (2005)	Zingone et Montesor (1988)	Lewis et Dodge (1987)

Tableau 5. Caractéristiques morphologiques des kystes des espèces sélectionnées

Sous-genre	<i>Archaeoperidinium</i>					<i>Protoperidinium</i>
	<i>P. canadensis</i>	<i>P. minutum</i>	<i>P. minutum</i> ¹	<i>P. minutum</i>	<i>P. monospinum</i>	<i>P. americanum</i>
Localité	Arctique (Baie de Baffin)	États-Unis (Woods Hole)	Japon (Lac Hamana)	Portugal (Estuaire Mondego)	Norvège (Fjord de Oslo)	Écosse (Côte ouest)
Généralité	Brun Épineux Sphérique	Vert pâle à brun Épineux Sphérique	Brun Épineux Sphérique	Brun pâle Épineux Subsphérique	Brun pâle Épineux Subsphérique	Brun pâle Absence d'épines Sphérique Capsule
Diamètre (µm)	27 - 50	41-43	28-32	25-34	Longueur: 28-40 Largeur: 28-40	35-52
Paroi	Granulée Anneaux	Faiblement ondulée	-	Finement granulée	-	Granulée Capsule lisse, transparente, plissée chez certains spécimens
Processus	Longueur: 2 - 7 µm Périscoel basal, solide, extrémité acuminée, distribution aléatoire	Longueur: 7-9 µm Portion distale plate (bordure externe des extrémités avec des spinules pointées), bases circulaires, transparent, ca. 40 processus	Longueur: 3-5 µm Acuminé et courbé	Longueur: 4-9 µm Conique, extrémité s'élargissant légèrement, circulaire en coupe optique, transparent, souvent courbé et distribution régulière	Longueur a: 3-7 µm Longueur b: 3 µm a: Large, transparent, capité et terminaison bifide ou doublement bifide, distribution aléatoire; b: Solide, acuminé, et distribution aléatoire entre les processus larges	Aucun
Archéopyle	Apicale Théropylique	Intercalaire -	Intercalaire Théropylique	Intercalaire Théropylique	Indéterminée Théropylique	Apicale Saphropylique
Références	Étude actuelle	Wall et Dale (1968)	Fukuyo <i>et al.</i> (1977)	Ribeiro, S. (com. pers., 2009)	Zonneveld et Dale (1994)	Lewis et Dodge (1987)

N.B. Lewis *et al.* (1984) ont retrouvé des morphotypes similaires dans les lochs de la côte ouest de l'Écosse

N.B. Opercule reste attaché au kyste après l'exkystement

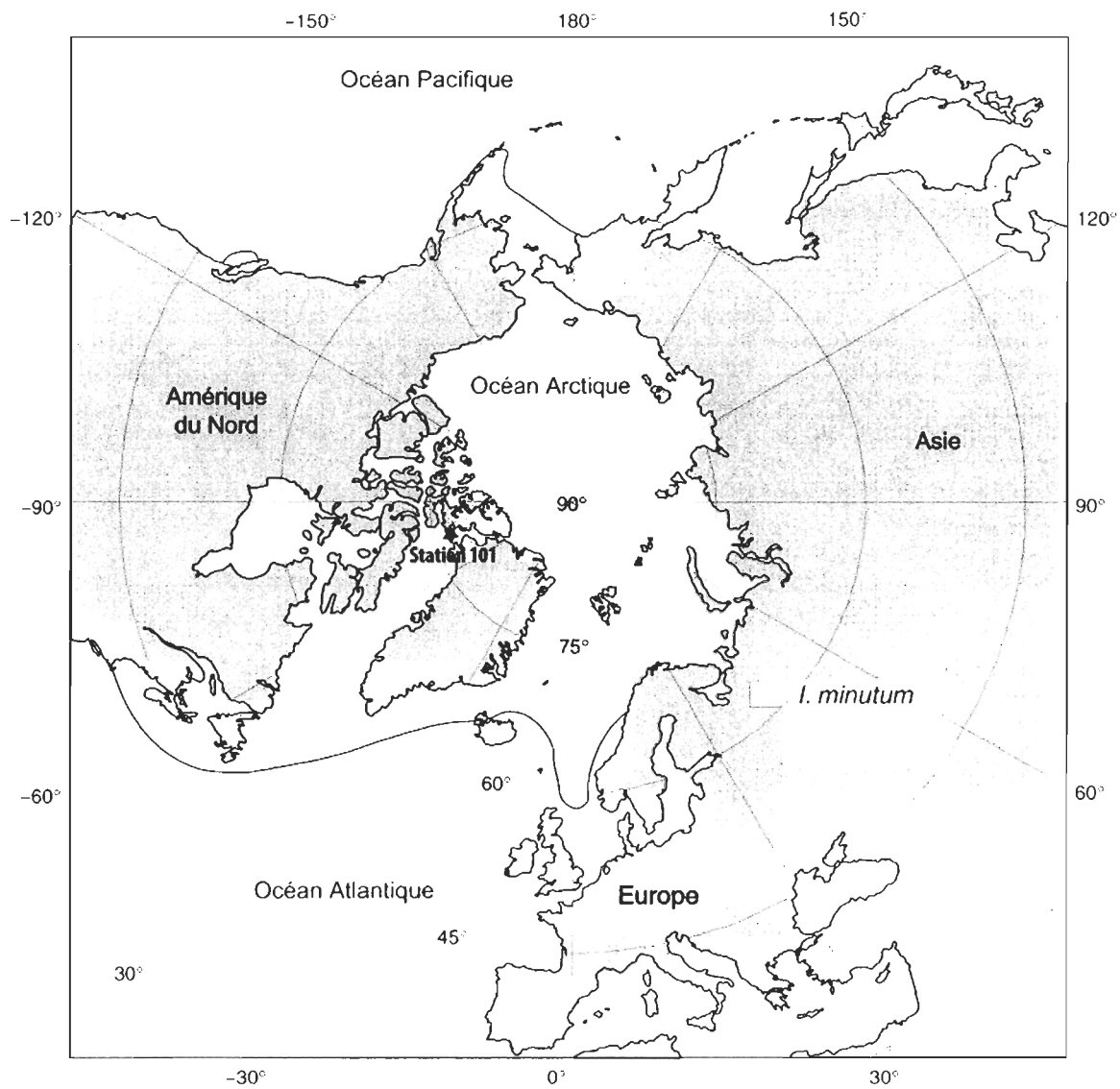


Figure 1. Localisation du site d'échantillonnage (étoile) et distribution connue de *Islandinium minutum* dans le sédiment de surface de l'hémisphère nord (modifiée de Head *et al.*, 2001)

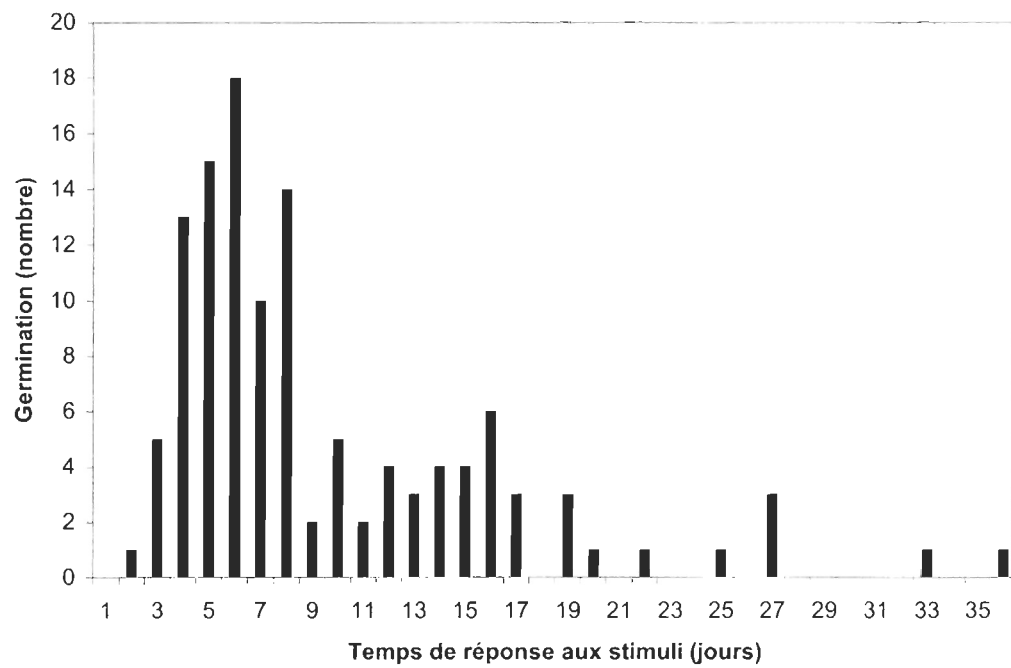


Figure 2. Germinations de *Islandinium minutum* en fonction du temps de réponse aux stimuli (n=1; 120 germinations)

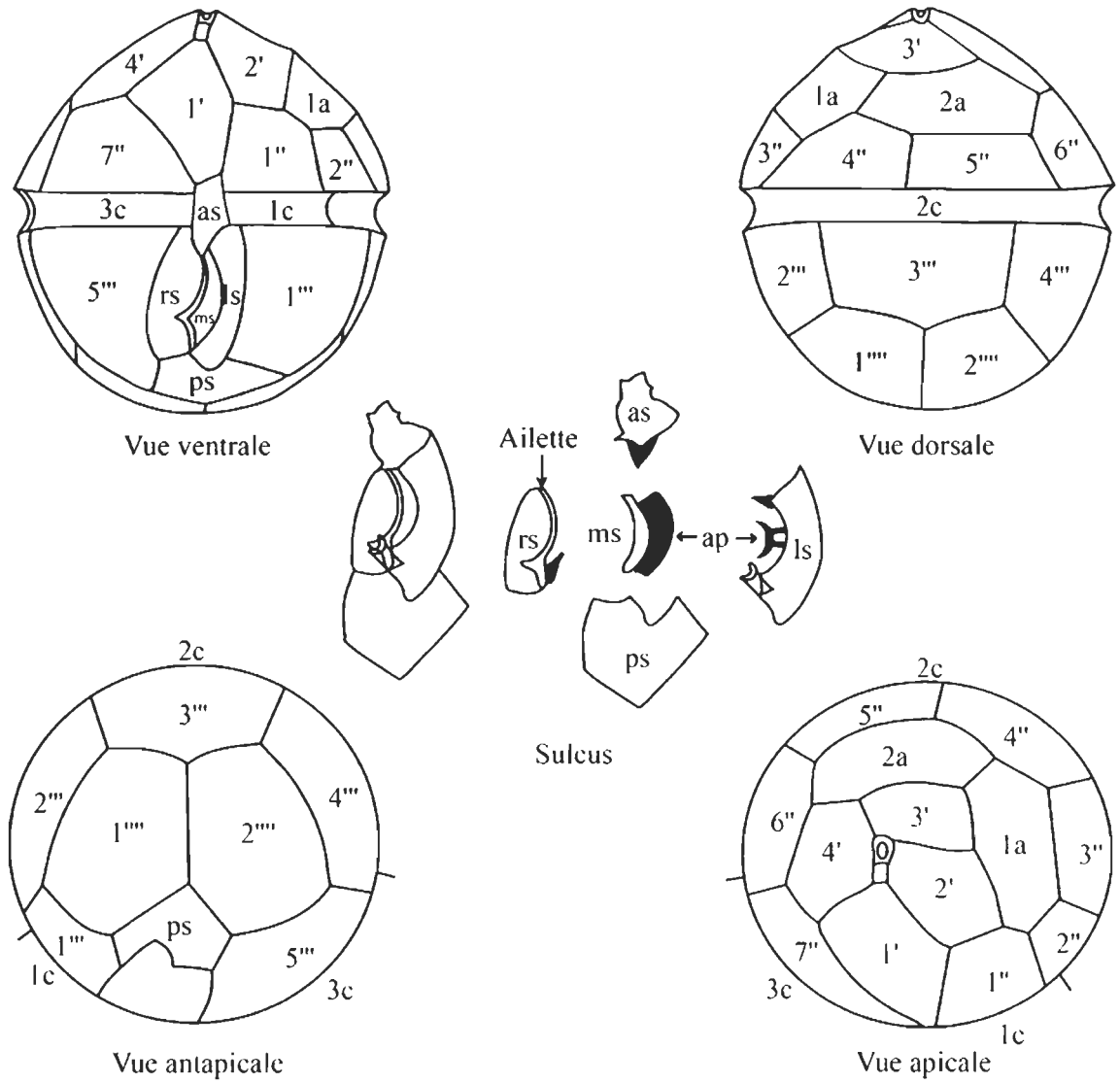


Figure 3. Vues générales schématisées de la thèque de la forme mobile de *Islandinium minutum*. Les parties grisâtres du sulcus sont des extensions de plaques ou des plaques additionnelles (ap) situées sous les plaques sulcales principales as (sulcale antérieure), rs (sulcale droite), ms (sulcale médiane), ls (sulcale gauche) et ps (sulcale postérieure).

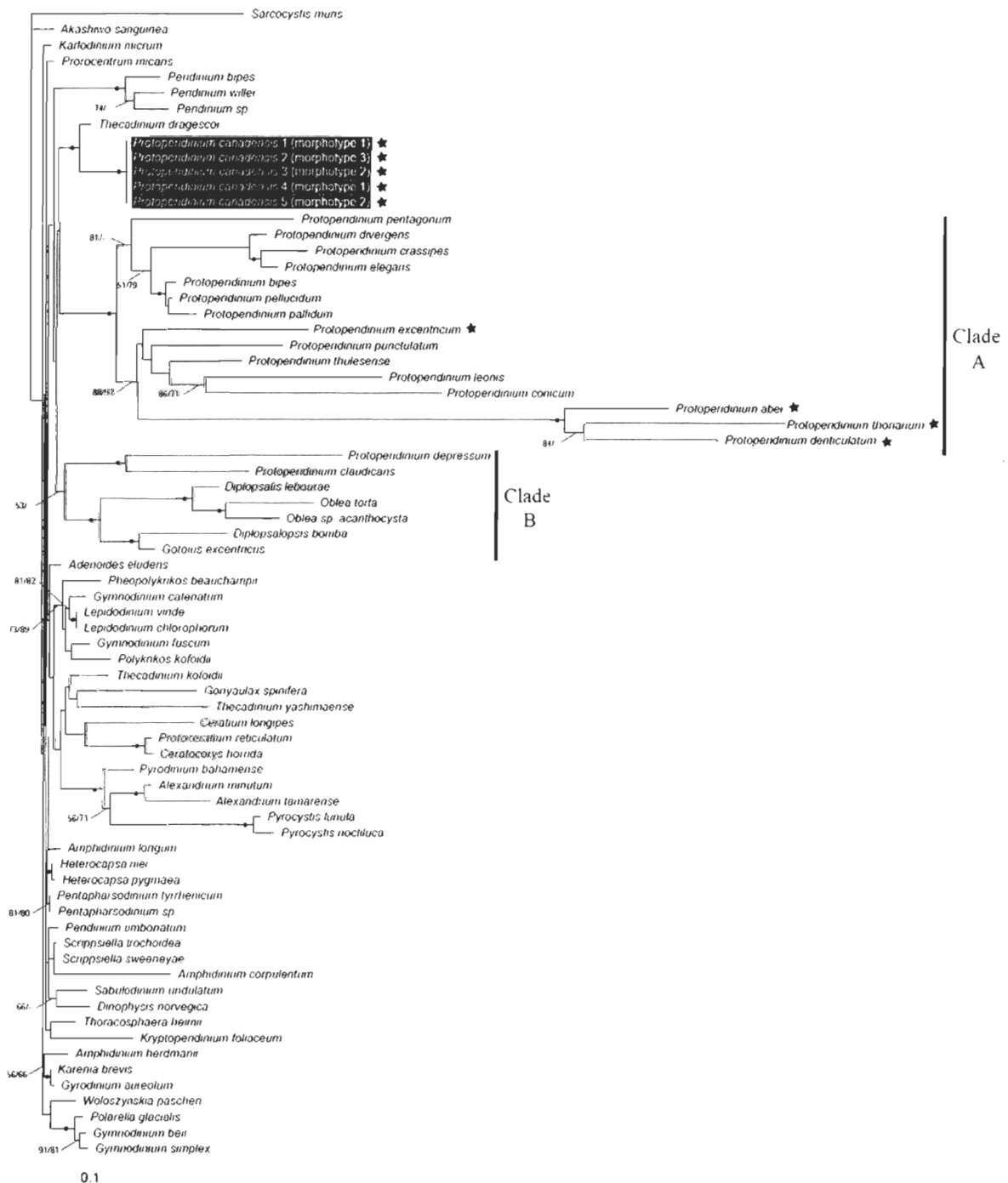


Figure 4. Arbre phylogénétique se basant sur la méthode Maximum Likelihood. Les valeurs de support de la méthode Bootstrap supérieures à 50% et inférieures à 95% sont fournies (Neighbor-Joining/Maximum Parsimony). Les cercles représentent des valeurs de support Bootstrap supérieures ou égales à 95%. Les étoiles représentent les espèces du sous-genre *Archaeperidinium*. Les séquences dérivées de cette étude sont mises en évidence dans les encadrés noirs.

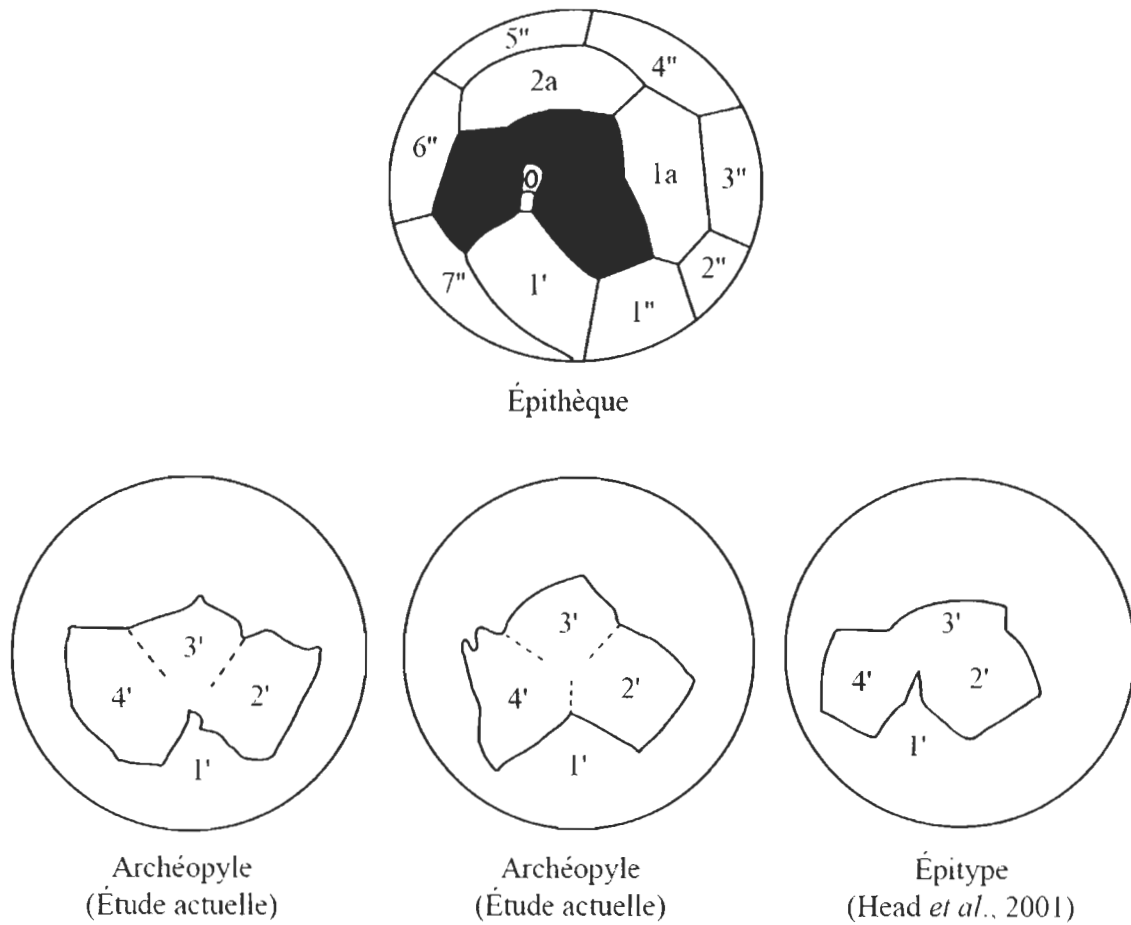


Figure 5. Comparaison de l'épithèque de la forme mobile de *Islandinium minutum* et de l'archéopyle de plusieurs kystes. La morphologie générale de l'archéopyle reflète trois plaques de l'épithèque de la forme mobile (illustrées en gris).

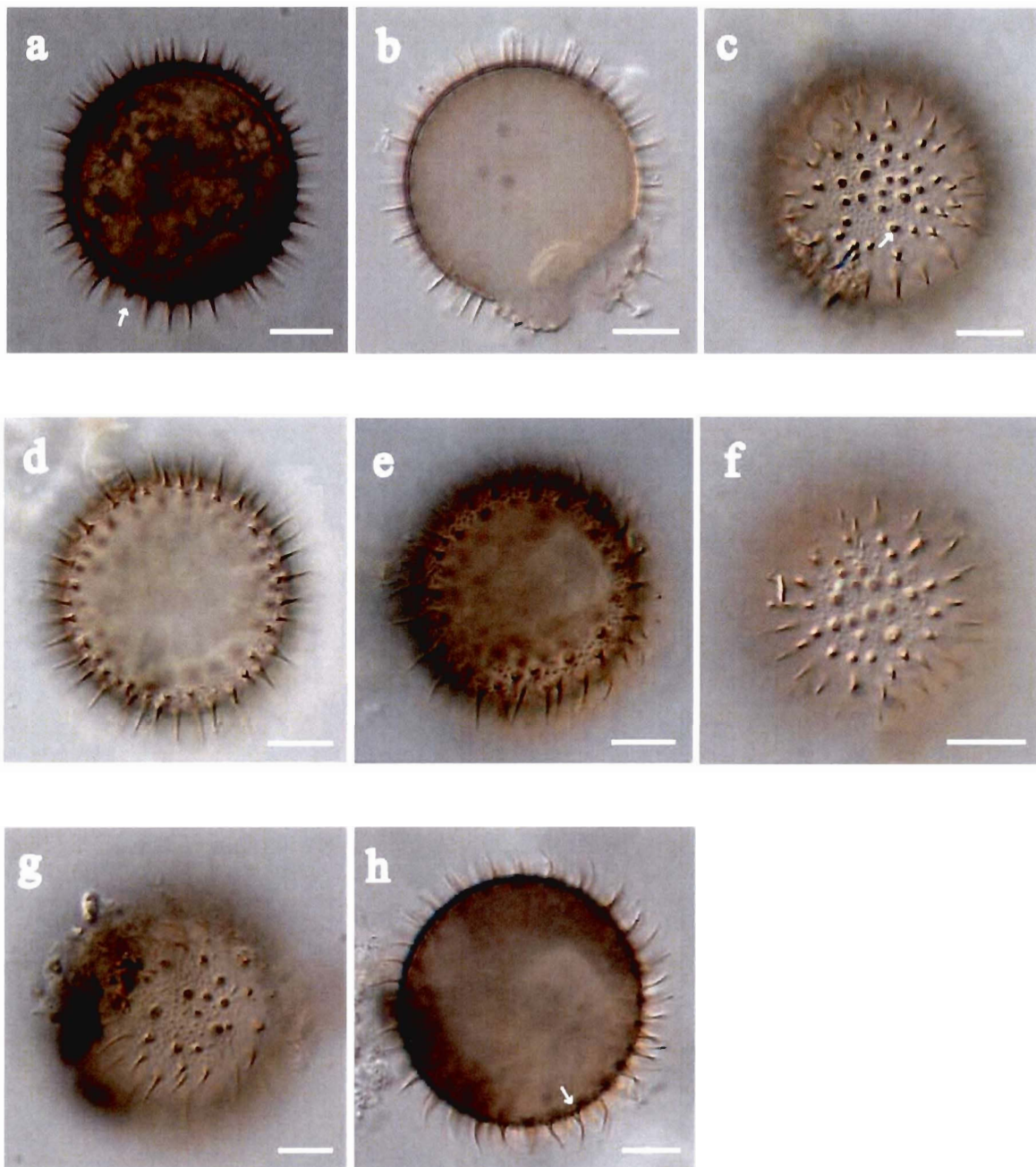


Planche 1. Photomicrographies (DIC) du kyste de dinoflagellé *Islandinium minutum*. (a) coupe optique d'un kyste vivant illustrant le contenu cellulaire et un processus incomplet (flèche); (b) coupe optique révélant des détails de la paroi du kyste; (c) vue tangentielle illustrant les détails de la surface du kyste (la flèche pointe un anneau); (d-e) vue tangentielle illustrant les détails des processus; (f-g) vue tangentielle illustrant la distribution des processus; (h) coupe optique d'un processus (indiquée par la flèche). La barre d'échelle est de 10 μm .

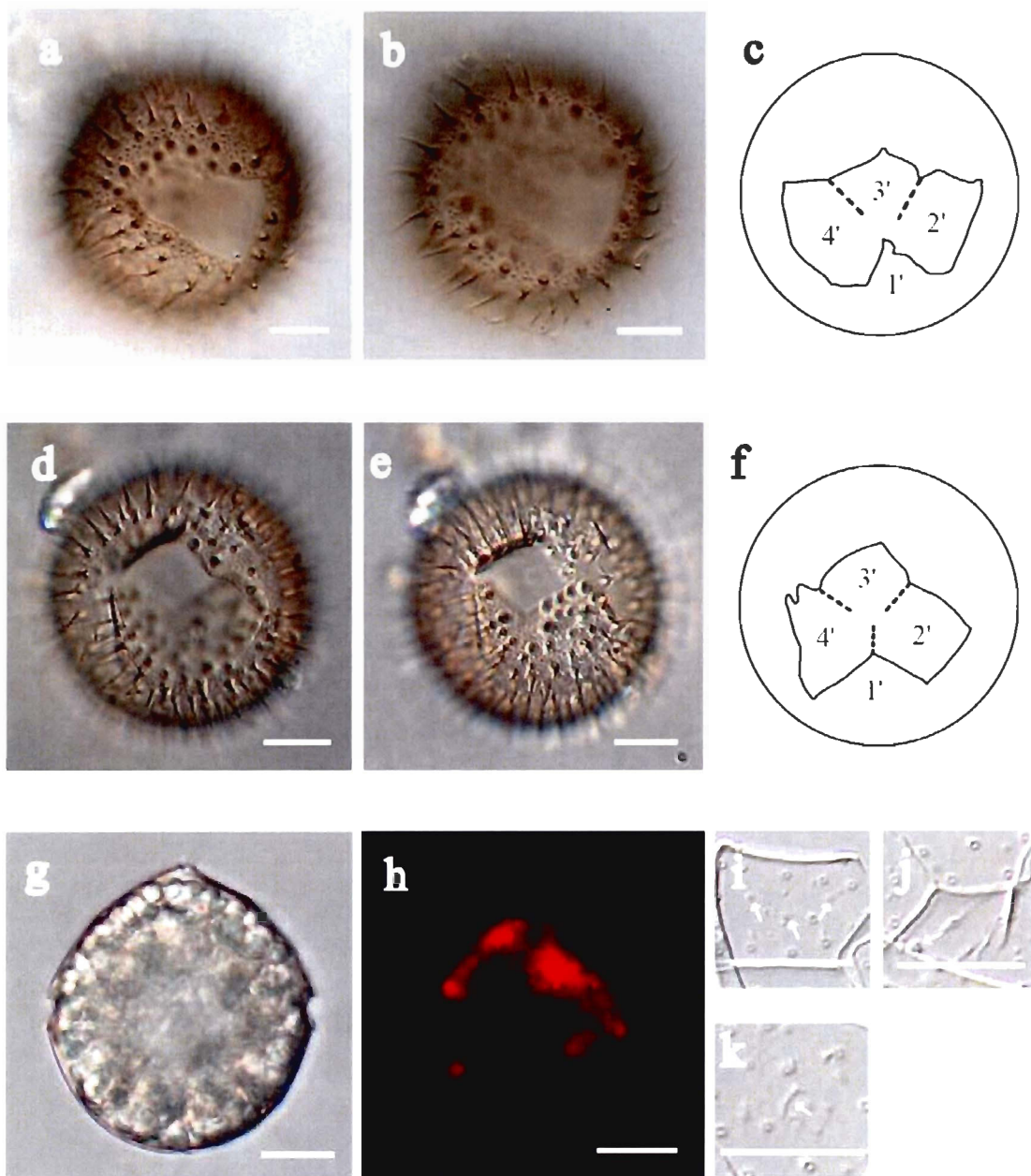


Planche 2. Photomicrographies (DIC et épifluorescence) et schémas du kyste de dinoflagellé *Islandinium minutum* et de la forme mobile obtenue. (a-f) kyste: (a-b, d-e) photomicrographies en vue tangentielle de la paroi du kyste illustrant l'archéopyle des spécimens; (c,f) schémas de l'archéopyle des spécimens illustrés; (g-k) forme mobile: (g) photomicrographie en coupe optique d'une forme mobile vivante; (h) photomicrographie en coupe optique d'une forme mobile vivante illustrant des chloroplastes; (i-j) photomicrographies en vue tangentielle illustrant des épines arrondies (flèches); (k) photomicrographie en vue tangentielle illustrant une crête allongée (flèche). La barre d'échelle est de 10 μm .

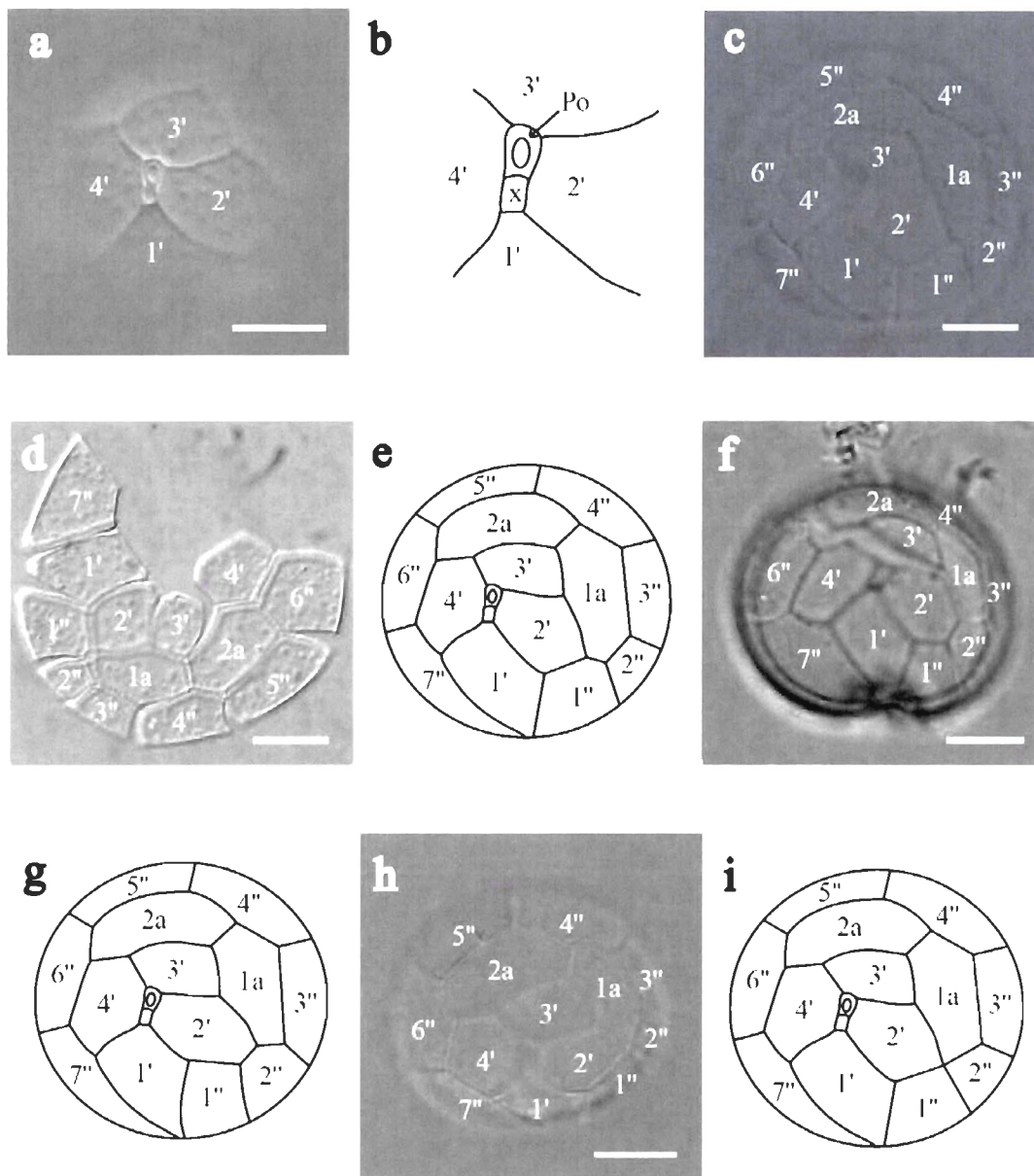


Planche 3. Photomicrographies (DIC et lumière naturelle) et schémas des thèques de la forme mobile obtenue. (a) photomicrographie en vue tangentielle du complexe du pore apical; (b) schéma du complexe du pore apical; (c) photomicrographie en vue tangentielle apicale de l'épithèque du morphotype 1 (contact 1'/1a); (d) photomicrographie de l'étalement de l'épithèque du morphotype 1; (e) schéma de l'épithèque du morphotype 1; (f) photomicrographie en vue tangentielle apicale de l'épithèque du morphotype 2 (contact 2'/2''); (g) schéma de l'épithèque du morphotype 2; (h) photomicrographie en vue tangentielle apicale de l'épithèque du morphotype 3 (contact 2'/1a/1''/2''); (i) schéma de l'épithèque du morphotype 3. La barre d'échelle est de 10 μm.

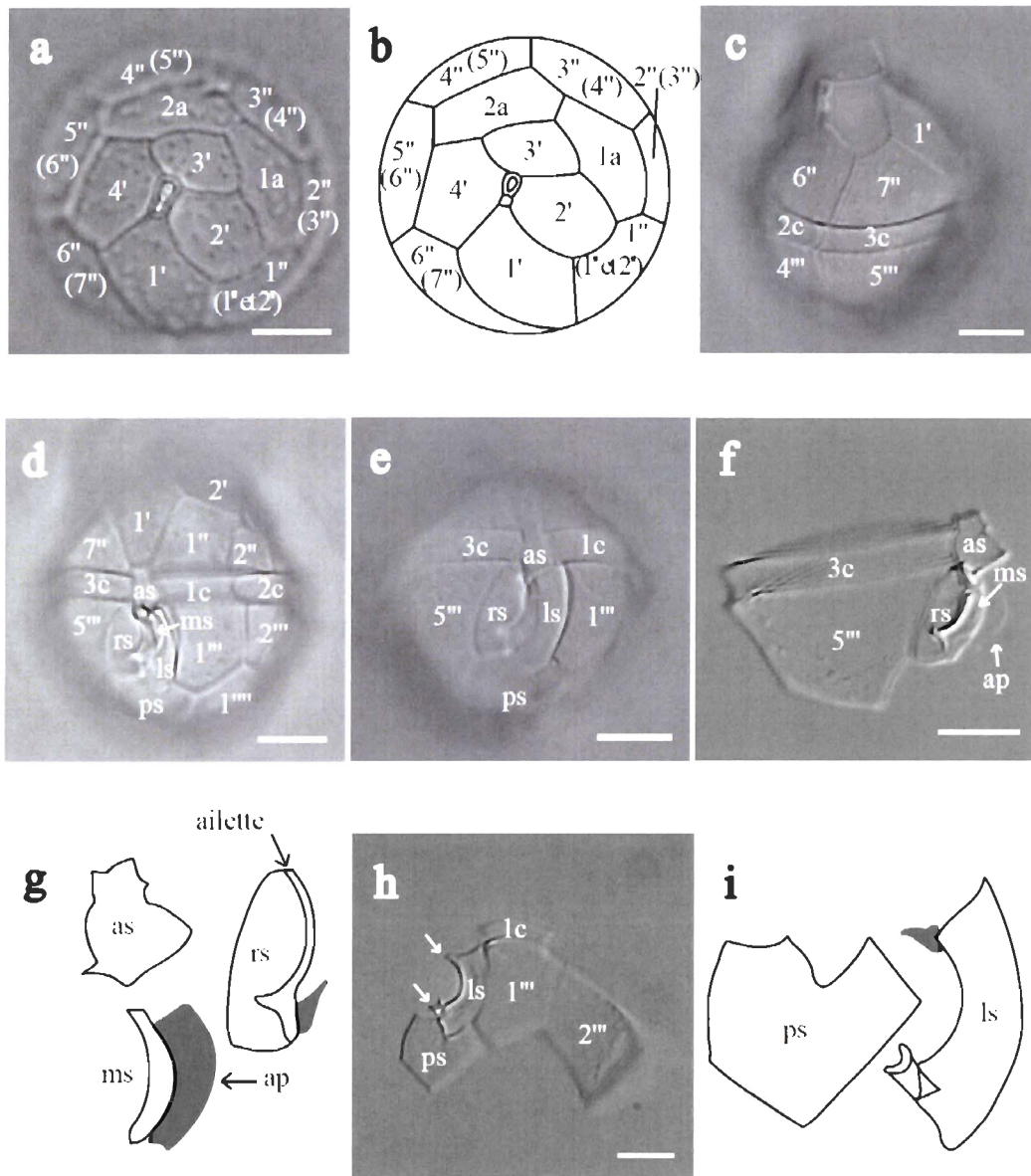


Planche 4. Photomicrographies (DIC) et schémas des thèques de la forme mobile obtenue. (a) photomicrographie en vue tangentielle apicale de l'épithèque du morphotype 4 (fusion 1''-2'' : les plaques équivalentes chez les morphotypes 1, 2 et 3 sont indiquées entre parenthèses); (b) schéma de l'épithèque du morphotype 4 (les plaques équivalentes chez les morphotypes 1, 2 et 3 sont indiquées entre parenthèses); (c) photomicrographie en vue tangentielle de la suture cingulaire 2c/3c; (d) photomicrographie en vue tangentielle de la suture cingulaire 1c/2c et de la plaque ms (flèche); (e) photomicrographie en vue tangentielle de l'aire sulcale; (f) photomicrographie d'un étalement illustrant une plaque additionnelle (ap, flèche) ainsi que la plaque ms (flèche); (g) schémas des plaques sulcales illustrées à la photomicrographie précédente; (h) photomicrographie d'un étalement illustrant une extension de la plaque ls dans sa partie supérieure (flèche) et la présence d'une côte dans sa partie inférieure (flèche); (i) schémas des plaques sulcales illustrées à la photomicrographie précédente. La barre d'échelle est de 10 μ m.

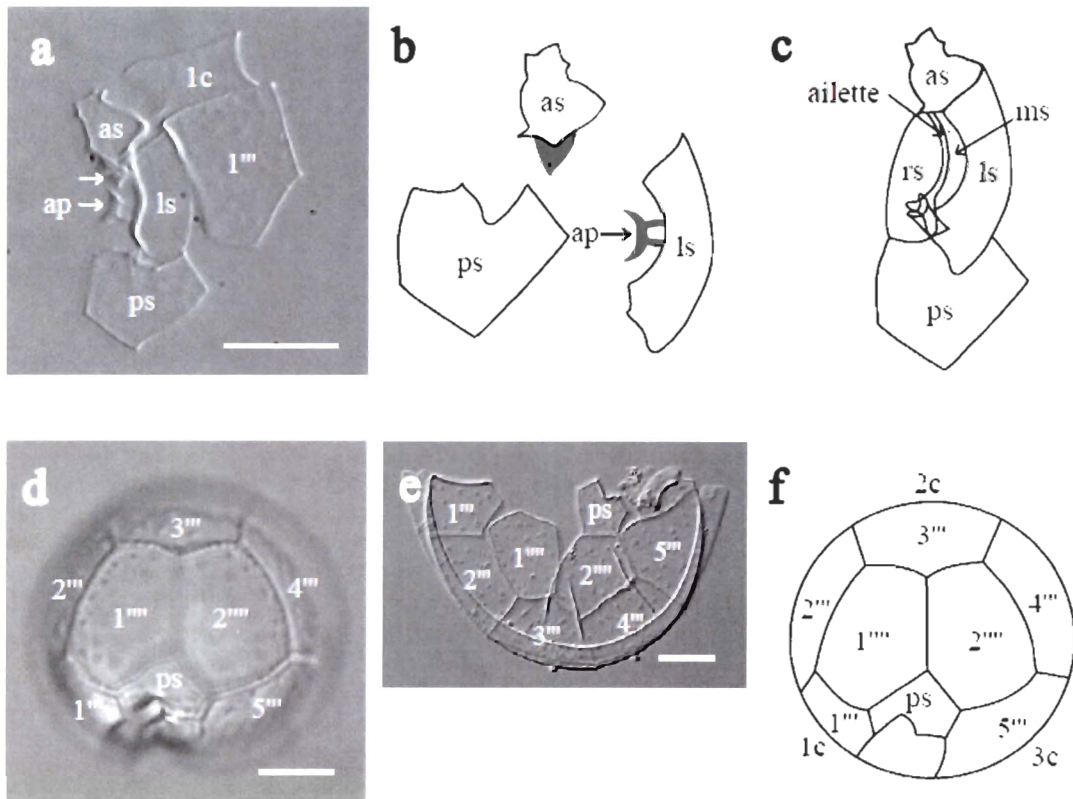


Planche 5. Photomicrographies (DIC) et schémas des thèques de la forme mobile obtenue. (a) photomicrographie de l'étalement de la thèque illustrant une plaque additionnelle (ap: flèche) et une projection de la plaque as en forme de crochet (flèche); (b) schémas des plaques sulcales illustrées à la photomicrographie précédente; (c) schéma des plaques sulcales principales (as, rs, ms, ls, ps) ainsi que de l'ailette sulcale; (d) photomicrographie en vue tangentielle antapicale de l'hypothèque; (e) photomicrographie d'un étalement de l'hypothèque; (f) schéma de l'hypothèque. La barre d'échelle est de 10 μm .

