



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DOCTOR EN BIOLOGÍA

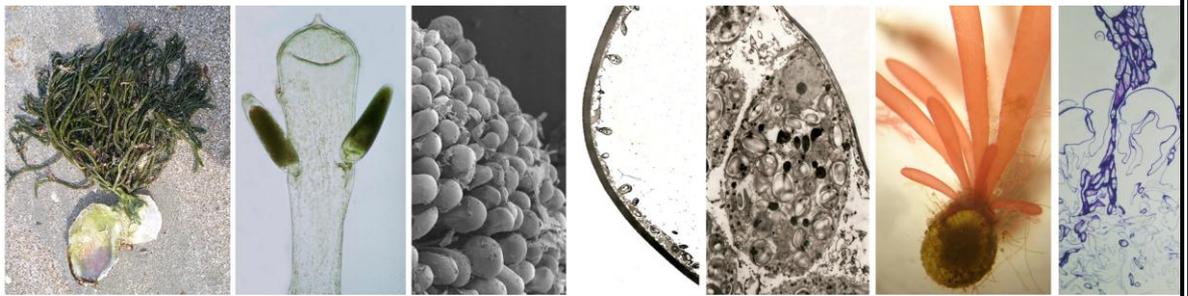
**BIOLOGÍA Y ULTRAESTRUCTURA DE *CODIUM* SPP.
(BRYOPSISIDOPHYCEAE, CHLOROPHYTA): MORFOLOGÍAS
VEGETATIVA Y REPRODUCTIVA, CICLOS DE VIDA Y
EPIFITISMO**

ALICIA BEATRIZ MIRAVALLÉS

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2008





UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DOCTOR EN BIOLOGÍA

**BIOLOGÍA Y ULTRAESTRUCTURA DE *CODIUM* SPP.
(BRYOPSISIDOPHYCEAE, CHLOROPHYTA): MORFOLOGÍAS
VEGETATIVA Y REPRODUCTIVA, CICLOS DE VIDA Y
EPIFITISMO**

ALICIA BEATRIZ MIRAVALLS

BAHIA BLANCA

ARGENTINA

2008

PREFACIO

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia durante el período comprendido entre el 07/09/99 y el 09/12/08, bajo la dirección del Doctor Eduardo J. Cáceres, Profesor Titular de Biología de Algas y Hongos e Investigador Principal de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC) y de la Doctora Patricia I. Leonardi, Profesora Adjunta de Biología de Algas y Hongos e Investigadora Independiente del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

09 de diciembre de 2008

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

Universidad Nacional del Sur



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
Secretaría General de Posgrado y Educación
Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/..../..... , mereciendo la
calificación de(.....)

AGRADECIMIENTOS

Durante la realización de esta tesis muchas personas me brindaron su ayuda, su colaboración, sus críticas y principalmente su apoyo necesarios para su culminación:

A los Doctores Eduardo J. Cáceres y Patricia I. Leonardi por guiarme y acompañarme en todo este proceso, por brindarme toda su experiencia y contagiarme su entusiasmo.

Al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, lugar donde se realizaron los estudios.

A mis amigos del Laboratorio de Ficología y Micología: Patricia Leonardi, Virginia Bianchinotti, Karina Michetti, Nora Ferrer, Cecilia Damiani, Amelia Vouilloud, Cecilia Popovich, Romina Sánchez y Lucas Martín, por su apoyo incondicional, por todos los momentos compartidos...

A Pablo Martín, Lucas Martín, Sandra Fiori, Sebastián Bronfen, quienes me trajeron muestras de *Codium* de sus viajes de muestreo.

Al personal de Microscopía Electrónica del CRIBABB: Viviana Sorrivias, M. Julia Yañez, Carina Cano y Carlos Jones.

A mis amigas Andrea Tomás y Marina Díaz.

A mis compañeros de Farmacobotánica e Histología y Biología Celular.

A mis padres y hermana, que en todo momento me apoyaron para que pueda concretar mis metas.

A Javier, Victoria y Antonio, que con todo su amor, paciencia, comprensión y constante estímulo me alentaron para que pueda concluir esta etapa.

Con la alegría de llegar a la recta final, deseo redundar en mi agradecimiento a todas y cada una de las personas que de una forma u otra han ayudado a que esto fuera realidad.

RESUMEN

Se estudiaron poblaciones de tres taxa del género *Codium* que crecen en las costas de las Provincias de Buenos Aires, Río Negro y Chubut: *C. decorticatum*, *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* y *C. vermilara*. Los talos de los tres taxa, erguidos y ramificados dicotómicamente, se fijaban al sustrato mediante un disco basal. El tamaño y forma de los utrículos y gametangios, presencia/ausencia de mucrón fueron las características principales que permitieron diferenciar los taxa.

Ultraestructuralmente los utrículos mostraron una vacuola central rodeada por una fina capa de citoplasma parietal en la que se encontraban las organelas. La ultraestructura de los pelos y de los filamentos medulares fue similar a la de los utrículos.

Los gametangios se formaban a los lados de los utrículos. Se observaron gametangios femeninos en los tres taxa y masculinos en *C. fragile*. Los masculinos eran más delgados que los femeninos. La liberación de ambos tipos de gametas inmersas en abundante mucílago se produjo a través de la ruptura del extremo apical.

Este es el primer estudio ultraestructural del proceso de gametogénesis y de las gametas femeninas y masculinas en el género *Codium*. Las gametogénesis se iniciaban con la división de núcleos y cloroplastos. La delimitación de las gametas se producía por la actividad de vesículas dictiosómicas que rodeaban porciones de protoplasma uninucleadas.

Las gametas femeninas eran piriformes; poseían una papila apical de la que emergían los flagelos. Anteriormente se encontraban el núcleo y una mitocondria grande con forma de V invertida. El resto de la gameta estaba ocupado por numerosos cloroplastos. Las gametas masculinas eran ovoides alargadas, de menor tamaño; poseían dos o tres cloroplastos escasamente desarrollados y una papila apical hialina de la que emergían los flagelos. Se comprobó la germinación partenogenética de las gametas femeninas de *C. fragile* en ausencia de gametas masculinas. También se observó la germinación intragametangial de las gametas femeninas.

Se verificó la reproducción sexual en *C. fragile* en presencia de ambos tipos de gametas por la presencia de cigotos tetraflagelados y su posterior germinación.

Para cada uno de los tres taxa se proporcionó información cariológica, con un número haploide de 10, como el obtenido por otros autores para otras especies del género.

Se confirmó la partenogénesis para las tres especies. Se determinó que *C. vermilara* y *C. decortcatum* presentaban un ciclo de vida haplobionte haplonte y *C. fragile* un ciclo de vida haplobionte haplonte o diplonte, de acuerdo a la capacidad de formación de gametas masculinas.

Se identificaron las distintas especies de epífitos sobre *C. vermilara* de la localidad de Las Grutas. Los géneros de epífitos más comunes fueron *Ceramium*, *Polysiphonia*, *Callithamnion* y *Ectocarpus*. De acuerdo al grado de invasión de las estructuras de fijación se diferenciaron cuatro modos de fijación de los epífitos al hospedante. Se estudió con microscopía óptica y electrónica la interfase entre los epífitos y el hospedante para determinar el grado de daño que

ejercía el epífito al hospedante. Las distintas especies de epífitos que crecían sobre *Codium* y entre sus utrículos no causaban daño al talo.

ABSTRACT

The purpose of this thesis was to study populations of *C. decorticatum*, *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* and *C. vermilara* of the genus *Codium* growing on the coastal areas of the provinces of Buenos Aires, Río Negro and Chubut, Argentina. Their thalli were found to be erect and dichotomously branched and they were fixed to the substrate by a basal disk. The following characteristics were crucial for the differentiation of these taxa: i) size and shape of utricula and gametangia, and ii) presence and/or absence of mucron.

At the ultrastructural level, it could be observed that utricula showed a central vacuole which was surrounded by a thin layer of parietal cytoplasm in which organella were located. The ultrastructure of hairs and medular filaments was similar to that of utricula.

Gametangia were formed on the sides of utricula. Female gametangia were observed in the three taxa analyzed whereas male gametangia were found only in *C. fragile* and they were thinner than the female ones. The release of both types of gametes, which were immersed in abundant mucilage, occurred through a slit.

This is the first ultrastructural study conducted to date on gametogenesis and on female and male gametes in the genus *Codium*. Findings from this thesis indicate that gametogenesis begins with the division of nuclei and chloroplasts and that gametes are individualized as a result of the activity of dyctiosomic vesicles which surround uninucleate portions of protoplasm. It could also be

observed that female gametes are pyriform and that they have an apical papilla from which flagella emerge. The nucleus and a large inverted V-shaped mitochondrion were found to be located in the anterior region of gamete while the rest of the gamete was occupied by numerous chloroplasts. Male gametes were found to be ovoid and elongated, they were smaller than female gametes and they had two or three chloroplasts poorly developed and a hyaline apical papilla from which flagella emerged. Parthenogenetic germination of female gametes of *C. fragile* was observed in the absence of male gametes. Intragametangial germination of female gametes was also observed. On the other hand, the presence of tetraflagellate zygotes and their subsequent germination in *C. fragile* was indicative of sexual reproduction in this species.

Karyological information was provided for each of the three taxa with a haploid number of 10. The latter agreed with that obtained by other authors for other species of the genus. Parthenogenesis was confirmed for the three species. Also, it could be concluded that *C. vermilara* and *C. decorticatum* have a haplobiont haplont life cycle and that *C. fragile*, depending on the presence or absence of male gametes, has either a haplobiont diplont or haplont life cycle.

Different species of epiphytes on *C. vermilara* could also be identified in Las Grutas, Argentina, the most common epiphytic genera being *Ceramium*, *Polysiphonia*, *Callithamnion* and *Ectocarpus*. Taking into account the degree of invasion of fixing structures, four modes of attachment of epiphytes to the host were identified. The epiphyte-host interface was studied via optical and electron microscopy in order to determine the degree of damage exerted by the epiphyte to the host. It could be observed that the different species of epiphytes growing on *Codium* and among its utricula induce no damage to the thallus.

ÍNDICE

PREFACIO	i
AGRADECIMIENTOS	ii
RESUMEN	iii
ABSTRACT	vi
ÍNDICE	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE TABLAS	xv
INTRODUCCIÓN	1
Objetivos	7
MATERIALES Y MÉTODOS	8
Colecciones	8
Procesamiento de las muestras	12
Microscopía óptica	12
Liberación de gametas	12
Partenogénesis	12
Estudio anatómico	13
Epifitismo	14
Cultivos	15
Medios de cultivo	15
Condiciones de cultivo	17
Cariología	17
Microscopía Electrónica de Transmisión	19
Microscopía Electrónica de Barrido	25

RESULTADOS

1- MORFOLOGÍA VEGETATIVA	27
1.1- Morfología externa	27
1.2- Morfología interna	31
1.3- Ultraestructura	41
2- MORFOLOGÍA REPRODUCTIVA	51
2.1- REPRODUCCIÓN ASEXUAL	51
2.2- REPRODUCCIÓN SEXUAL	51
2.2.1- Estructuras reproductivas	51
2.2.2- Gametogénesis	54
<i>Codium decorticatum</i>	
Gametogénesis femenina	54
Ultraestructura de la gametogénesis femenina	55
Morfología de las gametas femeninas	57
Ultraestructura de las gametas femeninas	57
<i>Codium vermilara</i>	
Gametogénesis femenina	67
Morfología de las gametas femeninas	67
Ultraestructura de las gametas femeninas	68
<i>Codium fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i>	
Gametogénesis femenina	71
Ultraestructura de la gametogénesis femenina	71
Morfología de las gametas femeninas	73
Ultraestructura de las gametas femeninas	73
Partenogénesis de las gametas femeninas	73
Gametogénesis masculina	82
Ultraestructura de la gametogénesis masculina	82

Morfología de las gametas masculinas	83
Ultraestructura de las gametas masculinas	84
Reabsorción flagelar	85
2.2.3- Singamia	93
2.3- OBSERVACIONES FENOLÓGICAS DE LOS PERÍODOS REPRODUCTIVOS	95
3- CARIOLOGÍA	99
4- EPÍFITOS SOBRE LOS TALOS DE <i>CODIUM</i>	104
4.1- Epífitos de <i>Codium vermilara</i>	104
4.2- Epífitos de <i>Codium fragile</i>	107
4.3- Relación epífito-hospedante	107
DISCUSIÓN	
DISTRIBUCIÓN Y HABITAT	126
MORFOLOGÍA EXTERNA	127
MORFOLOGÍA INTERNA	130
ULTRAESTRUCTURA	134
REPRODUCCIÓN ASEXUAL	138
REPRODUCCIÓN SEXUAL	141
Gametogénesis	143
División nuclear	143
Diferenciación de gametangios y gametas	144
Morfología de las gametas	148
Ultraestructura de las gametas	153
Configuración absoluta del aparato flagelar de las gametas	155
Partenogénesis	156
Singamia	158
PERÍODOS REPRODUCTIVOS	159

CARIOLOGÍA	160
CICLO DE VIDA	163
EPIFITISMO	170
BIBLIOGRAFÍA	177

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Mapa de la República Argentina y ubicación de los sitios de recolección	10
Fig. 2. Sustratos sobre los que se encontraron creciendo los talos de las distintas especies de <i>Codium</i>	11
Fig. 3. Morfología externa de las especies estudiadas	29
Fig. 4. Morfología externa de <i>C. vermilara</i>	30
Fig. 5. Morfología interna de <i>C. decorticatum</i>	34
Fig. 6. Morfología interna de <i>C. fragile</i>	35
Fig. 7. Morfología interna de <i>C. fragile</i>	36
Fig. 8. Morfología interna de <i>C. vermilara</i>	37
Fig. 9. Morfología interna de <i>C. vermilara</i>	38
Fig. 10. Morfología interna del disco basal	39
Fig. 11. Pared celular de <i>C. decorticatum</i>	45
Fig. 12. Ultraestructura vegetativa de <i>C. decorticatum</i>	46
Fig. 13. Ultraestructura vegetativa de <i>C. fragile</i>	47
Fig. 14. Ultraestructura vegetativa de <i>C. vermilara</i>	48
Fig. 15. Ultraestructura de los pelos de <i>C. vermilara</i>	49
Fig. 16. Ultraestructura de los filamentos medulares de <i>C. vermilara</i>	50
Fig. 17. Reproducción asexual en las distintas especies de <i>Codium</i>	52
Fig. 18. Gametogénesis femenina de <i>C. decorticatum</i>	59
Fig. 19. Gametogénesis femenina de <i>C. decorticatum</i>	60
Fig. 20. Gametogénesis femenina de <i>C. decorticatum</i>	61
Fig. 21. Gametogénesis femenina de <i>C. decorticatum</i>	62
Fig. 22. Gametogénesis femenina de <i>C. decorticatum</i>	63
Fig. 23. Gametangio femenino y gametas de <i>C. decorticatum</i>	64
Fig. 24. Ultraestructura de la gameta femenina de <i>C. decorticatum</i>	65

Fig. 25. Aparato flagelar de la gameta masculina de <i>C. decortdatum</i>	66
Fig. 26. Gametogénesis femenina de <i>C. vermilara</i>	69
Fig. 27. Gameta femenina de <i>C. vermilara</i>	70
Fig. 28. Gametogénesis femenina de <i>C. fragile</i>	75
Fig. 29. Gametogénesis femenina de <i>C. fragile</i>	76
Fig. 30. Gametogénesis femenina de <i>C. fragile</i>	77
Fig. 31. Gameta femenina de <i>C. fragile</i>	78
Fig. 32. Partenogénesis de gametas femeninas de <i>C. fragile</i>	79
Fig. 33. Germinación de gametas femeninas de <i>C. fragile</i> dentro del gametangio	80
Fig. 34. Germinación de gametas femeninas de <i>C. fragile</i> dentro del gametangio	81
Fig. 35. Gametogénesis masculina de <i>C. fragile</i>	86
Fig. 36. Gametogénesis masculina de <i>C. fragile</i>	87
Fig. 37. Gametogénesis masculina de <i>C. fragile</i>	88
Fig. 38. Gametangio y gametas masculinas de <i>C. fragile</i>	89
Fig. 39. Ultraestructura de la gameta masculina de <i>C. fragile</i>	90
Fig. 40. Aparato flagelar de la gameta masculina de <i>C. fragile</i>	91
Fig. 41. Reabsorción flagelar de la gameta masculina de <i>C. fragile</i>	92
Fig. 42. Cigoto de <i>C. fragile</i>	94
Fig. 43. Cariología de <i>C. decortdatum</i>	101
Fig. 44. Cariología de <i>C. fragile</i>	102
Fig. 45. Cariología de <i>C. vermilara</i>	103
Fig. 46. Epífitos tipo 1. <i>Kyrtuthrix maculans</i>	112
Fig. 47. Epífitos tipo 1. <i>Calothrix crustacea</i> , <i>Lyngbya</i> sp.	113
Fig. 48. Epífitos tipo 2. <i>Microsyphar</i> sp.	114
Fig. 49. Epífitos tipo 2. <i>Lomentaria clavellosa</i>	115
Fig. 50. Epífitos tipo 3. <i>Myrionema incommodum</i>	116
Fig. 51. Epífitos tipo 4. <i>Callithamnion</i> sp.	117

Fig. 52. Epífitos tipo 4. <i>Polysiphonia</i> sp.	118
Fig. 53. Epífitos tipo 4. <i>Ceramium</i> sp.	119
Fig. 54. Epífitos tipo 4. <i>Ectocarpus confervoides</i>	120
Fig. 55. Epífitos tipo 4. <i>Sphacelaria furcigera</i> , <i>Audouinella</i> sp.	121
Fig. 56. Epífitos tipo 4. <i>Cladophora</i> sp.	122
Fig. 57. Epífitos tipo 4. <i>Ulva</i> sp.	123
Fig. 58. Epífitos tipo 4. <i>Aglaozonia</i> sp.	124
Fig. 59. Epífitos tipo 4. <i>Antithamnion densum</i> . Bacterias endofíticas	125
Fig. 60. Representación esquemática del ciclo de vida hipotético de <i>C. decorticatum</i> y <i>C. vermilara</i>	164
Fig. 61. Representación esquemática del ciclo de vida hipotético de <i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i>	165

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de caracteres morfológicos externos e internos de las tres especies de <i>Codium</i> estudiadas	40
Tabla 2. Aparición de gametangios en <i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i> en las distintas localidades estudiadas	96
Tabla 3. Aparición de gametangios en <i>C. decorticatum</i> en las distintas localidades estudiadas	97
Tabla 4. Aparición de gametangios en <i>C. vermilara</i> en las distintas localidades estudiadas	98
Tabla 5. Distribución estacional de los epífitos de <i>C. vermilara</i>	105
Tabla 6. Comparación de los datos morfológicos de <i>C. decorticatum</i> de este estudio con los de estudios anteriores	131
Tabla 7. Comparación de los datos morfológicos de <i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i> de este estudio con los de estudios anteriores	132
Tabla 8. Comparación de los datos morfológicos de <i>C. vermilara</i> de este estudio con los de estudios anteriores	133
Tabla 9. Tamaño de las gametas de diferentes especies de <i>Codium</i>	151
Tabla 10. Números cromosómicos de distintas especies de <i>Codium</i>	162

INTRODUCCIÓN

Codium Stackhouse (Bryopsidophyceae, Bryopsidales, Chlorophyta) es uno de los géneros de algas verdes de mayor distribución en el mundo (Silva, 1951). El género *Codium* se ubica en el Orden Bryopsidales (= Siphonales, Caulerpales, Codiales), junto con *Bryopsis* Lamouroux, *Pseudobryopsis* Berthold y *Derbesia* Solier (van den Hoek et al., 1995). Se han descrito unas 100 especies que exhiben gran variación morfológica. La taxonomía del género *Codium*, como así también su anatomía y morfología, han sido estudiadas por Setchell & Gardner (1920), Silva (1951), Silva (1952), Silva & Womersley (1956), Silva (1957), Silva (1960), Van den heede & Coppejans (1996), Silva et al. (1997), Pedroche et al. (2002), entre otros. Silva (1951) indicó que la taxonomía del género es complicada por el alto grado de variabilidad anatómica y la diversidad de hábitos. La mayoría de las especies se han creado teniendo en cuenta caracteres morfológicos macroscópicos, combinados con detalles anatómicos, como el tamaño y la forma de utrículos y órganos reproductivos, la estructura del ápice del utrículo y la posición de pelos y septos (Chang et al., 2003).

La palabra *Codium*, propuesto por Stackhouse en 1795 (Setchell & Gardner, 1920), proviene del griego “kodion”, que significa piel de un animal o piel de oveja, haciendo referencia a la textura esponjosa que comparten las distintas especies del género (Bold & Wynne, 1985).

Por lo general, las especies de *Codium* habitan las zonas intermareales y submareales hasta profundidades de 200 m. Los talos se fijan al fondo rocoso o a conchillas por medio de un disco basal formado por una masa de rizoides (Silva, 1951, 1952; Goff et al., 1992; Pedroche, 2001; Pedroche et al., 2002). La mayoría de las especies de *Codium* que se han registrado en el mundo se encuentra en climas transicionales entre templados y tropicales. La especie más abundante y más ampliamente distribuida en el género es *C. fragile* (Suringar) Hariot; se la encuentra desde 29° a 54° de latitud S y de 33° a 70° de latitud N (Trowbridge, 1998). Dentro de esta especie se han descrito seis subespecies. De ellas *C. fragile* subsp. *tomentosoides* (van Goor) P. C. Silva, originaria de Japón, ha sido introducida accidentalmente en distintas costas del mundo, tanto en el Océano Pacífico como en el Océano Atlántico y es considerada una de las algas más invasivas en el mundo. Ha llamado la atención de gran cantidad de investigadores por su efecto perjudicial en ecosistemas recién invadidos (Trowbridge, 1999, 2002).

Las especies de *Codium* son usadas como alimento en la cría de abalones, son cultivadas para el consumo humano en algunas regiones de Asia y son una fuente importante de compuestos bioactivos entre los que se han citado potenciales agentes anticancerígenos, antibióticos, inmunosupresores y con actividad insecticida y antihelmíntica (Trowbridge, 1998; Verbruggen et al., 2007). También sus talos acumulan metales pesados, por lo que se los ha utilizado como indicadores de polución (Trowbridge, 1998). En las costas de Puerto Madryn se utilizan las algas *Codium vermilara* (Olivi) Delle Chiaje y *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar provenientes de arribazones,

principalmente en la época estival, para la obtención de compost para uso agrícola (Eyras & Sar, 2003; Piriz et al., 2003).

En una relación endosimbiótica característica, los cloroplastos de *Codium* son ingeridos por opistobranquios, quienes usan los productos fotosintéticos para sintetizar mucopolisacáridos (Trowbridge, 1998, 2004; Trowbridge & Todd, 2001). Los cloroplastos de *Codium* han sido estudiados ultraestructuralmente en relación con la simbiosis con el opistobranquio *Elysia viridis* Montagu, ya que soportan ser ingeridos e incorporados en el animal. Además sobreviven dentro del divertículo digestivo y son funcionales por un período de hasta siete días (Trench et al., 1973a, b; Gallop et al., 1980; Brandley, 1981).

La morfología de los talos de *Codium* es muy variable. Los mismos pueden ser erguidos, cilíndricos y ramificados dicotómicamente, o postrados en forma de costras aplanadas, digitiformes o globulares, petaloides y hasta membraniformes. Su tamaño puede variar desde unos pocos milímetros hasta varios metros (Silva, 1951, 1952; Pedroche, 2001; Pedroche et al., 2002).

Los talos de *Codium* tienen estructura sifonal. Están compuestos internamente por filamentos cenocíticos, tubulares, entremezclados y compactados que carecen, en general, de paredes transversales o septos. Los filamentos se entrelazan longitudinalmente formando una médula laxa. Hacia la periferia cada filamento se dilata en una vesícula, alineada horizontalmente que se denomina utrículo. El conjunto de utrículos forma una empalizada cortical compacta. Los utrículos y los filamentos medulares varían en tamaño en las diferentes especies (Silva, 1952; Bold & Wynne, 1985; Pedroche, 2001). Algunas especies, bajo determinadas condiciones ambientales, desarrollan pelos incoloros en las porciones apicales de los talos (van den Hoek et al., 1995;

Pedroche, 2001). En muchas ocasiones se forman centrípetamente septos transversales que separan el contenido citoplasmático (Trowbridge, 1998). Estos septos 1- separan utrículos de filamentos medulares, 2- separan utrículos secundarios de utrículos primarios, 3- se forman en la base de los pelos; 4- delimitan el lugar de formación de las gametas y 5- se forman en filamentos medulares. Estos septos no son paredes transversales derivadas de una citocinesis, sino que son “plugs” internos o engrosamientos completos o parciales de la pared, que mantienen los contenidos celulares en su lugar y evitan la pérdida del protoplasma si se produce alguna ruptura o daño del talo (Trowbridge, 1998).

Las poblaciones de *Codium* son generalmente dioicas; sólo se han registrado poblaciones monoicas en Japón y Canadá (Arasaki et al., 1956; Borden & Stein, 1969a) y Estados Unidos de Norte América (Prince & Trowbridge, 2004). Las gametas se forman en gametangios que se desarrollan sobre los utrículos a partir de protuberancias laterales (Silva, 1952, 1960). La reproducción sexual se produce por medio de anisogametas biflageladas, con una marcada diferencia en tamaño entre las gametas femeninas y masculinas (Arasaki et al., 1956; Borden & Stein, 1969a). Las gametas femeninas maduras se distinguen por su coloración verde y numerosos cloroplastos, mientras que las masculinas presentan un color amarillento y sólo uno o dos cloroplastos (Borden & Stein, 1969a). Las gametas son liberadas en su totalidad inmersas en una masa gelatinosa por una ruptura apical del gametangio. Arasaki et al. (1956) registran en sus esquemas la conjugación apical y lateral de las gametas. Los cigotos y plántulas aparecen en cultivo 4 a 7 días después de iniciado el cultivo (Borden & Stein, 1969a). En los estadios iniciales se forma una evaginación

postrada de la cual surgen, a su vez, evaginaciones verticales alargadas (Silva, 1952; Arasaki et al., 1956).

La reproducción vegetativa se verifica principalmente por la fragmentación del talo. La germinación partenogenética de las gametas femeninas se ha interpretado como un mecanismo de reproducción asexual (Trowbridge, 1998). La frecuencia de la reproducción vegetativa permite inferir que son los procesos asexuales los que regulan la biomasa en este género (Clifton & Clifton, 1999). Sin embargo, la profusa liberación de gametas indica que la reproducción sexual también juega un importante rol en la dinámica poblacional de estas algas (Clifton & Clifton, 1999).

A pesar de su ubicuidad se conoce muy poco de la biología reproductiva de las distintas especies de *Codium*. En la especie mejor estudiada, *Codium fragile*, numerosos autores han indicado la presencia de un solo tipo de gametas, que pueden germinar en forma partenogenética (Feldmann, 1956; Dangeard & Parriaud, 1956; Churchill & Moeller, 1972; Rico & Pérez, 1993), siendo esta la única forma de reproducción de la subespecie *tomentosoides*. En otras especies del género no es conocida su forma de reproducción (Arasaki et al., 1956; Dangeard & Parriaud, 1956; Churchill & Moeller, 1972; Prince, 1988; Prince & Trowbridge, 2004).

En la mayoría de los libros de texto el ciclo de vida de *Codium* es descrito como haplobionte diplonte con meiosis gamética (Smith, 1938; Fritsch, 1956; Bold & Wynne, 1985; O`Kelly & Floyd, 1984; Scagel et al., 1991; van den Hoek et al., 1995; Graham & Wilcox, 2000), tomando como referencia los trabajos de Arasaki et al. (1956) y Borden & Stein (1969a). Sin embargo, para

Kapraun et al. (1988) y van den Hoek et al. (1995) no hay evidencia convincente de que el ciclo sea igual para el resto de las especies.

Los estudios realizados en *Codium* hasta el momento en nuestro país incluyen una revisión taxonómica de las especies encontradas en las costas argentinas (Boraso & Piriz, 1975). En las costas atlánticas argentinas crecen *C. vermilara*, *C. decorticatum* (Woodward) Howe, *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* (J. Agardh) P. C. Silva y *C. subantarcticum* P. C. Silva (Silva, 1957, 1960; Silva & Womersley, 1956; Boraso & Piriz, 1975; Ricker, 1987; Boraso de Zaixso, 2004; Boraso et al., 2004). Además se han realizado un estudio sobre la composición química de *C. fragile* de Puerto Deseado (Delgado & Duville, 1977) y de los aspectos reproductivos de *C. fragile* de Punta Borja, provincia de Chubut (Rico & Pérez, 1993). Los epífitos que crecen sobre talos de *Codium vermilara* han sido identificados en San Antonio Oeste (D'Antoni, 1973, Boraso & Piriz, 1975). Se encontraron diatomeas, algas pardas y el alga roja *Ceramium strictum* Roth (D'Antoni, 1973). Sobre el talo de *C. decorticatum* recolectado a lo largo de la costa argentina, se hallaron cianófitas y *Ceramium* sp. (Boraso & Piriz, 1975), y sobre *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae*, distintas especies de cianófitas y *Callithamnion* sp. (Boraso & Piriz, 1975). En *Codium fragile* subsp. *tomentosoides* se identificaron diversos epífitos, siendo *Polysiphonia* Greville, *Ceramium* Roth, *Callithamnion* Lyngbye, *Ectocarpus* Lyngbye y *Neosiphonia* Kim & Lee los géneros más citados (Wilson, 1978; Trowbridge, 1993, 1998; Mathieson et al., 2003).

El estudio de *Codium* se presenta como un desafío para la investigación en diversos campos, pero la gran dificultad de cultivarlo en laboratorio y en analizar

los complejos taxonómicos es “frustrante” (van den Hoek et al, 1995; Silva, 1998).

Dado que el estado de conocimiento sobre las morfologías vegetativa y reproductiva de las especies de *Codium* de las costas argentinas y de la relación con sus epífitos es muy fragmentario, los objetivos que se plantearon para el desarrollo de esta tesis fueron:

- Hacer un estudio integral con microscopías óptica, electrónica de transmisión y electrónica de barrido de las morfologías vegetativa y reproductiva de las especies de *Codium* del área.
- Realizar observaciones fenológicas de los períodos reproductivos en las especies estudiadas en las distintas localidades.
- Estudiar las etapas de los ciclos de vida de las especies halladas, tanto con microscopía óptica como electrónica.
- Estudiar las distintas fases de división nuclear y determinar los cariotipos.
- Definir el ciclo de vida de cada una de las especies a partir de la información obtenida en los puntos anteriores.
- Identificar las especies epífitas que crecen sobre talos de *Codium*.
- Estudiar la variación estacional de los epífitos.
- Precisar la relación que existe entre los epífitos y el hospedante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecciones

Los ejemplares del género *Codium* estudiados fueron coleccionados en las costas de las provincias de Buenos Aires, Río Negro y Chubut (Fig. 1), entre julio de 1997 y enero de 2008. En la Provincia de Buenos Aires se coleccionaron en Mar del Plata ($37^{\circ} 59' S$ $57^{\circ} 34' O$), en Pehuen Có ($38^{\circ} 59' S$ $61^{\circ} 37' O$) y en Bahía San Blas ($40^{\circ} 35' S$ $62^{\circ} 14' O$); en la provincia de Río Negro en San Antonio Este ($40^{\circ} 49' S$ $64^{\circ} 45' O$), en San Antonio Oeste ($40^{\circ} 44' S$ $64^{\circ} 57' O$) y en Las Grutas ($40^{\circ} 45' S$ $65^{\circ} 00' O$); en la provincia de Chubut en Puerto Madryn ($42^{\circ} 46' S$ $65^{\circ} 02' O$), en Puerto Pirámides ($42^{\circ} 34' S$ $64^{\circ} 16' O$), en Rawson ($43^{\circ} 19' S$ $65^{\circ} 02' O$), en Bahía Bustamante ($45^{\circ} 07' S$ $66^{\circ} 32' O$), en Caleta Malaspina ($45^{\circ} 08' S$ $66^{\circ} 35' O$) y en Comodoro Rivadavia ($45^{\circ} 51' S$ $67^{\circ} 28' O$).

Tanto en la zona intermareal como en la submareal, los sustratos sobre los que crecían los talos de *Codium* eran variados: rocas calcáreas, canto rodado y conchillas de bivalvos, mejillones u ostras principalmente, adheridos a ellos con un disco basal por medio de rizoides (Fig. 2).

Codium vermilara se coleccionó en la Provincia de Río Negro en San Antonio Este (03–99), en San Antonio Oeste (11–02), y en Las Grutas (10–05, 03–06, 06–06, 08–06), en la Provincia de Chubut en Puerto Madryn (07–97, 09–97, 05–03, 08–06), en Puerto Pirámides (10–98, 11–01), en Rawson (04–06), en Bahía Bustamante (02–06, 05–06, 10–06, 02–07, 04–07, 06-07, 10-07) y en

Caleta Malaspina (02-07). Los talos de *C. vermilara* crecían en niveles inferiores del intermareal y en el submareal.

C. fragile subsp. *novae-zelandiae* se recolectó en la Provincia de Buenos Aires en Mar del Plata (01-08), en la Provincia de Río Negro en San Antonio Oeste y Las Grutas (09-99, 10-05), en la provincia de Chubut en Puerto Madryn (07-97, 05-03, 08-06), Puerto Pirámides (10-98), Rawson (04-06), Bahía Bustamante (02-06, 05-06, 08-06, 09-06, 10-06, 11-06, 02-07, 04-07, 05-07, 06-07) y Comodoro Rivadavia (07-99, 04-01). Los talos de *C. fragile* crecían en niveles inferiores del intermareal.

C. decorticatum se coleccionó en la Provincia de Buenos Aires en Mar del Plata (01-08), en Pehuen C6 (03-03; 03-07) y en Bahía San Blas (06-99), en la Provincia de Río Negro en San Antonio Oeste y en Las Grutas (12-98, 03-06, 06-06) y en la Provincia de Chubut en Puerto Madryn (07-97, 08-06). Se encontraron talos de *Codium decorticatum* desarrollando en la zona submareal.

Para estimar la variación estacional de los epífitos de *Codium vermilara*, se recolectaron en Las Grutas en pozas de marea cubiertas con agua, 50 talos en primavera (28-10-05), verano (13-03-06), otoño (04-06-06) e invierno (04-08-06) respectivamente. En primavera también se coleccionaron 23 talos provenientes de arribazones recientes.

En todos los casos se utilizaron bolsas plásticas y los ejemplares se transportaron húmedos en conservadoras de telgopor para su posterior procesamiento en laboratorio.



Figura 1. A: mapa de la República Argentina; B: detalle de la ubicación de los sitios de recolección de *Codium* spp. en la costa atlántica argentina.

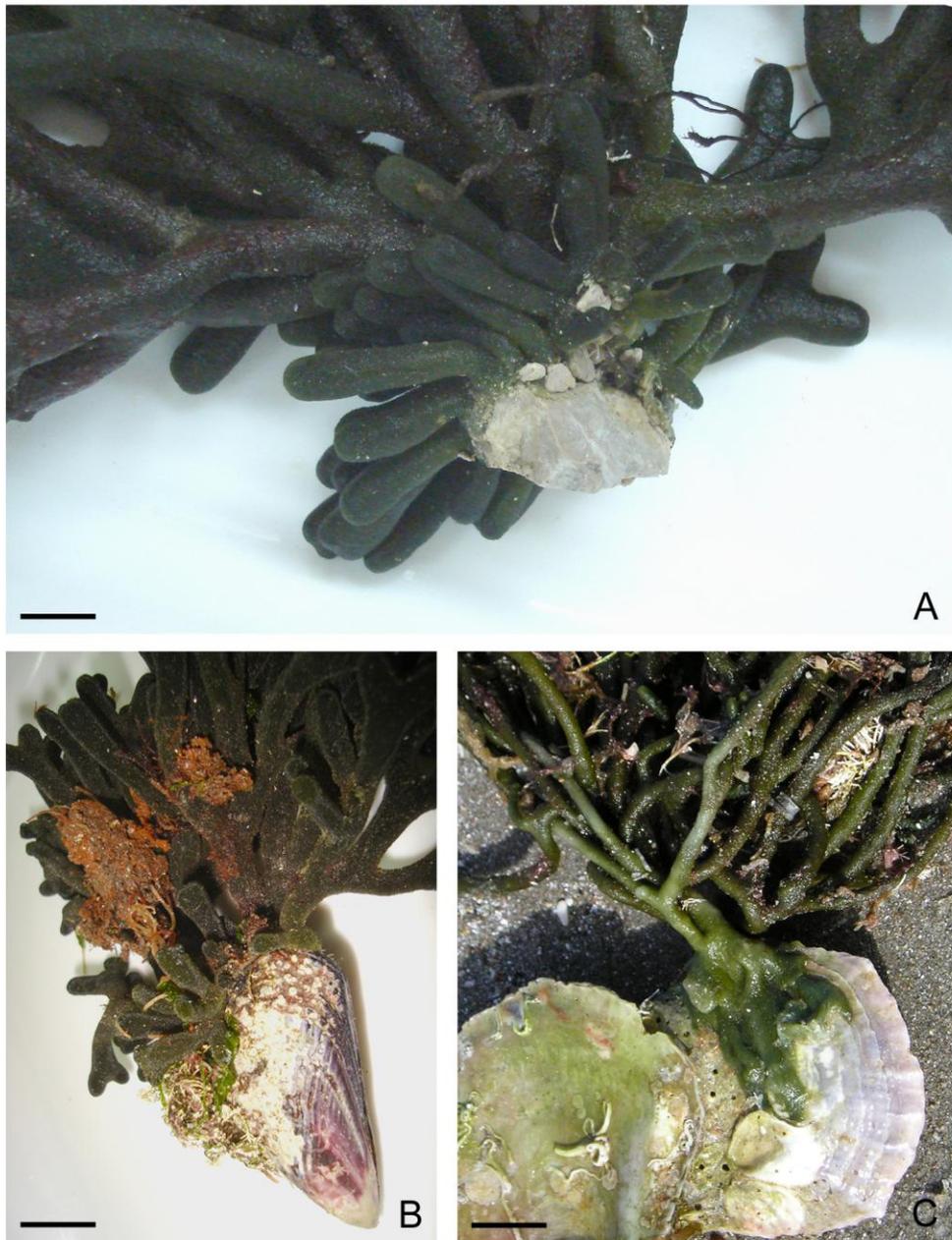


Figura 2. Sustratos sobre los que se encontraron creciendo talos de las distintas especies de *Codium* aheridos por medio de su disco basal. A: roca calcárea; B: mejillón; C: ostra. Escala: 2 cm.

Procesamiento de las muestras

Identificación: se identificaron las especies de *Codium* de acuerdo a Boraso & Piriz (1975) y Boraso de Zaixso (2004). Se midió el largo máximo de cada talo, el diámetro de las ramas en la parte basal, media y apical, y se contó el número de dicotomías. Se registró la forma, longitud, diámetro y tipo de ápice de los utrículos, el diámetro de los filamentos medulares, la presencia de pelos, su longitud, diámetro y distancia de inserción al ápice del utrículo y se anotó la presencia/ausencia de gametangios, su forma, longitud, diámetro y distancia de inserción al ápice del utrículo. También se analizó el sustrato sobre el que se encontraban los talos.

A partir de las recolecciones de las distintas especies, en diferentes localidades y en diferentes meses del año, se realizó un estudio preliminar de la fenología de los períodos reproductivos.

Algunos ejemplares de las distintas especies y de las diferentes localidades fueron herborizados y se mantienen en el herbario del Laboratorio de Ficología y Micología de la Universidad Nacional del Sur.

Microscopía óptica

Liberación de gametas: cuando la liberación de las gametas no se produjo naturalmente, se presionó el cubreobjetos para favorecer la ruptura de los gametangios y su expulsión.

Partenogénesis: para inducir la partenogénesis en laboratorio se cultivaron gametas femeninas en agua de mar estéril. Para ello se colocaron gametas recientemente liberadas y gametangios maduros en pequeñas cámaras para poder seguir su desarrollo al microscopio óptico. Se cambió el agua de mar

diariamente. Las cámaras de cultivo se confeccionaron con un portaobjetos al que se le adhirió un anillo de vidrio de 1 cm de diámetro y 3 mm de alto. Se colocó el material con el medio correspondiente hasta formar un menisco y se cubrió con un cubreobjetos.

Estudio anatómico: este estudio consistió en el análisis de secciones de talos hechas a 2 cm del ápice de las ramas, según lo sugerido por Silva (1957), ya que dentro de un mismo talo se observa una alta variación en los atributos de los utrículos (Trowbridge, 1998). Las secciones fueron hechas con pinzas y agujas para separar los utrículos, los filamentos medulares y las estructuras reproductivas. Las observaciones se hicieron en un microscopio Leitz SM Lux (campo claro) y en un Carl Zeiss Axiolab (campo claro y contraste de fases). Se tomaron fotomicrografías con un equipo Wild Semiphotomat MPS y con un equipo 15 MC 100 Spot en materiales tanto vivos como fijados en formol al 5 % en agua de mar filtrada. Se efectuaron mediciones con micrómetros oculares de 10X y 15X y dibujos a mano alzada.

Se realizaron preparados permanentes de material fijado en FAA (9 formol: 1 ácido acético: 80 etanol: 110 agua destilada) e incluidos en paramat, cortados con un espesor de 10 μm en un micrótomo rotatorio Reichert Jung con cuchillas de metal. Las tiras de Paramat con el material cortado fueron pegadas al portaobjetos con adhesivo de Haupt y colocados sobre una plancha caliente para favorecer su estirado y pegado. Los preparados fueron coloreados con safranina-fast green y montados en bálsamo de Canadá.

Se realizaron preparados semipermanentes de materiales pequeños o cortados a mano alzada, fijados en formol al 5 % en agua de mar, a los que se les fue agregando soluciones de jalea de maiz "Kero"- formol al 5 % preparadas

con cristales de fenol, en concentraciones crecientes sucesivas. Los preparados, una vez secos, fueron sellados con esmalte para uñas. En algunos casos, los preparados fueron coloreados con azul de anilina 1 % para resaltar las estructuras reproductivas de los organismos epifíticos (según una técnica de la Dra. Alicia Boraso, comunicación personal).

Se realizaron preparados permanentes de cortes semifinos de 0,5 - 1 µm de espesor, a partir de material procesado para microscopía electrónica de transmisión. Para la obtención de los cortes se utilizaron cuchillas de cristal en un ultramicrotomo Reichert-Jung Ultracut UM2. Las secciones fueron transferidas por medio de un ansa de cobre a un portaobjetos colocado sobre una plancha caliente a 60 - 80 °C, para facilitar su estiramiento y pegado. Fueron observados directamente en un microscopio con contraste de fases o bien fueron coloreados durante 15 minutos con azul de toluidina 1 % en agua destilada para su observación en campo claro. En este último caso, los preparados se lavaron con agua corriente para quitar el exceso de colorante y posteriormente con agua destilada. Luego de secar al aire los portaobjetos se realizó el montado con bálsamo de Canadá (Hayat, 1986).

Epifitismo: se estudiaron los distintos epífitos que crecían sobre el talo o entre los utrículos. Las identificaciones fueron realizadas de acuerdo a Halperín (1967), Mendoza (1969), Halperín (1970), D'Antoni (1973), Halperín (1974), Stegenga et al. (1997), Mateo Cid et al. (2003), Boraso (2004), Boraso et al. (2004), Komárek & Hauer (2004) y Boraso (comunicación personal). Se observaron y fotografiaron las estructuras de fijación del epífito y la relación

epífito-hospedante existente, con el objetivo de determinar el grado de daño que ocasionaba cada especie de epífito.

Se registró la variación estacional de los epífitos sobre *C. vermilara* de la localidad de Las Grutas.

Se hicieron preparados para microscopía óptica de la interacción de los distintos epífitos. Para determinar el tipo de interacción se realizaron cortes a mano alzada.

Con el fin de registrar alteraciones producidas por el epífito, se estudió la interfase entre los rizoides de los epífitos y el tejido del hospedante. Se fijaron trozos de talos de *Codium* con distintos epífitos, se realizaron cortes semifinos y ultrafinos y se observaron con microscopías óptica y electrónica de transmisión respectivamente.

Se agruparon a los epífitos hallados de acuerdo al grado de invasión de las estructuras de fijación de los epífitos al hospedante, pudiendo diferenciarse distintos modos de fijación de los epífitos al talo de *Codium* según lo sugerido por Trowbridge (1998).

Cultivos

Medio de cultivo SFC: este medio es una modificación del medio original descrito por McLachlan en 1982 (Correa, 1995):

Se prepararon soluciones madre según el siguiente esquema:

0,365 g EDTA Fe Na en 1000 ml de agua destilada

1,72 g Na H₂PO₄ · H₂O en 250 ml de agua destilada

21,2 g Na NO₃ en 250 ml de agua destilada

Se prepararon soluciones madre de metales:

- 1) 0,6927 g Mn Cl₂ · 4H₂O en 50 ml de agua destilada
- 2) 0,054 g Zn en 50 ml de agua destilada
- 3) 0,0024 g Co Cl₂ · 6H₂O en 50 ml de agua destilada
- 4) 0,00855 g Cu Cl₂ · 2H₂O en 50 ml de agua destilada
- 5) 1 ml de la solución 4) en 500 ml de agua destilada
- 6) 50 ml solución 5)
- 7) 4,36 g Na₂ EDTA en 700 ml de agua destilada

Se mezclaron las soluciones 7 + 1 + 2 + 3 + 6 = 900 ml. Se hirvió durante 10 minutos. Se dejó enfriar y se ajustó el pH a 7,5. Luego de aforar a 1 litro, se filtró a 0,45 µm.

Se prepararon las siguientes soluciones madre de vitaminas:

- 1) 0,025 g Biotina en 200 ml de agua bidestilada. Se calentó hasta antes del punto de ebullición. Se enfrió y llevó a un volumen de 250 ml. Se ajustó el pH a 4
- 2) 0,050 g Ácido fólico en 250 ml NaHCO₃ 1N
- 3) 0,030 g Timina en 75 ml de agua bidestilada. Se calentó hasta antes del punto de ebullición. Se enfrió y llevó a un volumen de 100 ml
- 4) 0,010 g Vitamina B12 en 100 ml de agua bidestilada

Se mezclaron 5 ml de cada una de las soluciones madre de vitaminas y se logró la solución vitamínica A = 20 ml

A continuación se mezclaron los 50 ml de cada una de las siguientes soluciones de vitaminas y se obtuvo la solución vitamínica B = 250 ml

- 1) 0,250 g Tiamina-HCl en 50 ml de agua bidestilada
- 2) 0,050 g Ácido pantoténico en 50 ml de agua bidestilada
- 3) 0,050 g Ácido Nicotínico en 50 ml de agua bidestilada

4) 0,005 g Ácido paraaminobenzoico en 50 ml de agua bidestilada

5) 2,5 g Inositol en 50 ml de agua bidestilada

Se mezclaron los 20 ml de A + los 250 ml de B y se lograron 270 ml de la solución vitamínica C. Se ajustó el pH a 5. Luego se aforó a 1 litro y se filtró a 0,45 μm .

Luego de filtrar y autoclavar 1 litro de agua de mar, se agregaron: 2ml de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ + 2 ml de NaNO_3 + 2 ml de EDTA Fe Na Salt + 2 ml de metales + 2ml de solución C de vitaminas.

Condiciones de cultivo: se mantuvieron cultivos en un rango de 12 a 15 °C de temperatura y en diferentes intensidades de luz y fotoperíodos, sin que se pudieran conservar los talos en estado saludable por mucho tiempo. El cultivo de estas algas en el laboratorio se hizo muy difícil, ya que su crecimiento fue lento y los requerimientos nutricionales no parecieron ser satisfechos. Hasta el presente nunca se han podido obtener talos completos en cultivo en ninguna especie de *Codium* (van den Hoek et al., 1995).

Cariología

Para el estudio cariológico se empleó el siguiente protocolo:

Fijación: se fijó el material con solución Carnoy en el momento de la recolección. La solución Carnoy (ácido acético: etanol absoluto, 1:3) se preparó en el momento de su utilización. El tiempo mínimo de fijación fue de 24 horas. Al día siguiente el material fue transferido a alcohol 70 % y mantenido a 4 °C hasta el momento de la coloración.

Coloración: se emplearon los siguientes colorantes:

a) Orceína acética (La Cour, 1941): se disolvieron 2,2 g de orceína en 100 ml de ácido acético glacial, se hirvió durante 30 minutos, se dejó enfriar y se filtró.

Procedimiento: se sometió el material a hidrólisis en HCl 1N durante 10 minutos a temperatura ambiente, se mantuvo en una solución de orceína acética al 2 % durante al menos 1 hora y hasta por 7 meses. Antes de realizar el aplastamiento (“squash”) se llevó el preparado a la llama hasta que se produjeran los primeros vapores, con el objeto de que se aclarara el citoplasma.

b) Orceína lacto-propiónica (Dyer, 1979): se disolvieron 2 g de orceína en 100 ml de ácido láctico-ácido propiónico (1:1) a temperatura ambiente y se filtró. La solución de trabajo se preparó al 45 – 60 % con agua destilada y se filtró.

Procedimiento: se hidrolizó el material en HCl 1N a 22 °C durante 5 minutos. Se colocó el material en colorante durante 5 - 20 minutos. Antes de realizar el aplastamiento se llevó el preparado a la llama hasta que se produjeran los primeros vapores, con el objeto de que se aclarara el citoplasma.

c) Fe-carmín acético (Johansen, 1940): se mezclaron 90 ml de ácido acético glacial y 110 ml de agua destilada y se llevó a ebullición. Se retiró del fuego y se agregó 1 g de carmín. Se dejó enfriar y decantar a 4 °C. Se agregaron 10 gotas de una solución de alumbre férrico al 4 % en ácido acético hasta que el color cambió a rojo oscuro.

Procedimiento: el material en alcohol 70 % fue lavado en agua destilada, se agregó alumbre férrico al 4 % y nuevamente fue lavado en agua destilada. Se colocó el colorante y se guardó en oscuridad durante 20 - 30 días a temperatura ambiente. El material se colocó en un vidrio de reloj con colorante nuevo y se lo llevó a la llama hasta que entrara en ebullición tres veces. Luego se colocó en un portaobjetos con colorante nuevo y se realizó el aplastamiento.

En todas las coloraciones luego de realizar el aplastamiento, se observó la preparación al microscopio óptico con objetivo de inmersión 63X o 100X y se fotografiaron distintas fases de la mitosis.

Se pudieron reconstruir las placas metafásicas y realizar los recuentos cromosómicos a partir de profases tardías y metafases en vista polar. Los cariotipos fueron realizados a partir de fotos digitalizadas y ampliadas y los cromosomas dibujados con Corel Draw a partir de distintos focos de un mismo núcleo.

Con carmín acético, se observaron únicamente núcleos en interfase. Tanto con orceína acética como con orceína lacto-propiónica se observaron distintas fases de división de los núcleos luego de varios meses de coloración. Con orceína acética se registraron mayor cantidad de figuras mitóticas que con orceína lacto-propiónica.

Microscopía Electrónica de Transmisión (Robinson et al., 1987; Cáceres, 1995).

Los talos cenocíticos de *Codium* ofrecen una gran dificultad para su fijación porque al seccionarlos se produce el colapso de los utrículos. Para prevenir este colapso es conveniente sumergir el material en el fijador primario antes de cortarlo en trozos menores.

Fijación primaria: se utilizaron distintas concentraciones de fijadores y vehículos de fijación: a) glutaraldehído al 2 - 2,5 % en agua de mar filtrada o en buffer cacodilato de sodio 0,05 M a temperatura ambiente, b) glutaraldehído al 3 %, paraformaldehído 1,5 % en buffer cacodilato de sodio 0,1 M en baño de hielo y c) glutaraldehído al 3 %, paraformaldehído 1,5 % en buffer cacodilato de sodio

0,1 M, sacarosa 0,25 M, en baño de hielo. El tiempo de fijación mínimo requerido fue en todos los casos de 2 horas. Los mejores resultados se obtuvieron con las soluciones b y c.

Lavados: se realizaron 4 lavados de 10 minutos en cada vehículo. En el caso de utilizar sacarosa, los lavados se realizaron en buffer cacodilato 0,1 M con concentraciones decrecientes de sacarosa: 0,25 M, 0,2 M, 0,1 M y sin sacarosa en baño de hielo durante 20 minutos cada uno.

Fijación secundaria: se postfijó en tetróxido de osmio al 2 % en cada vehículo a temperatura ambiente y en algunos casos en baño de hielo en oscuridad durante 2 horas. Al fijador se le agregó ferricianuro de potasio al 1 % para la mejor preservación de las membranas.

Lavados: se realizaron 4 lavados de 10 - 15 minutos en cada vehículo. En algunos casos a temperatura ambiente y otros en frío.

Deshidratación: el material fue deshidratado por inmersión en series de concentración crecientes de acetona: 10 %, 30 %, 50 %, 70 %, 90 %, 95 % (en baño de hielo hasta acetona 70 %) durante 15 minutos cada uno; dos pasajes de acetona 100 % durante 10 minutos cada uno y un cambio de 15 minutos.

Imbibición: se procedió a la imbibición del material en una serie de soluciones acetona - resina Spurr de baja viscosidad (Spurr, 1969) en concentraciones crecientes.

Preparación de la resina Spurr:

La resina Spurr consta de los siguientes elementos:

VCD: dióxido vinil ciclohexano (monómero)	10 gr
DER: éter de diglicidil polipropilenglicol (flexibilizador)	15 gr
NSA: anhídrido nonenil succínico (endurecedor)	41 gr

S1: dimetil amino etanol (acelerador)

41,4 gr

La imbibición se realizó por dos métodos:

1- Goteo: se goteó sobre el material las soluciones acetona - resina Spurr en concentraciones crecientes (25%-100%):

Spurr 25 %: 1 gota cada 5 minutos durante 1 hora y media; 2 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media; 4 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media; 8 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media.

Spurr 50 %: 2 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media; 4 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media; 8 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media.

Spurr 75 %: 2 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media; 4 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media; 8 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media.

Spurr 100 %: 2 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media; 4 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media; 8 gotas cada 5 minutos durante 1 hora y media.

Se dejó el material toda la noche en Spurr 100 % destapado bajo campana hasta la evaporación total de la acetona.

Cambio de Spurr 100 %.

2- En rotor: se colocó al material en rotación continua en las soluciones acetona - resina Spurr en concentraciones crecientes (25%-100%):

Spurr 25 % durante 8 horas

Spurr 50 % durante 15 horas

Spurr 75 % durante 6 horas

Spurr 100 % Tubos Eppendorf tapados durante 4 horas aproximadamente y destapados hasta la mañana siguiente

Cambio de Spurr 100 %

Inclusión: se acondicionó a material para su ulterior polimerización. Se utilizaron dos métodos:

a- Inclusión plana (Reymond & Pickett-Heaps, 1983): este método se usó con materiales pequeños y permitió elegir bajo microscopio la porción de material a cortar. Se lavaron portaobjetos nuevos, se secaron y flamearon para eliminar la humedad. Se rociaron con teflón en aerosol en una cara del portaobjetos y dejaron secar. Una vez secos, se frotaron con servilleta satinada hasta que estuvieron brillantes, para que quede sobre el vidrio una capa de teflón delgada y de espesor uniforme. Se ubicó bajo lupa el material sobre la cara teflonada del portaobjetos y luego se agregó resina para cubrir todo el portaobjetos. Se colocó otro portaobjetos teflonado encima, dejando parte de cada uno de los extremos sin superponer.

b- Inclusión en cápsulas BEEM: este método se usó cuando el material era grande y no era necesario elegir previamente la zona para cortar. Se colocó el material en el fondo de una cápsula BEEM y se acomodó con una aguja bajo lupa. Luego se llenó la cápsula con resina hasta completar su volumen.

Polimerización: se polimerizó en estufa a 70 °C durante 9 horas.

Preparación de las pirámides: se separaron los portaobjetos de la inclusión plana con ayuda de un bisturí y se eligió el material deseado al microscopio óptico. Bajo lupa binocular se cortó con trincheta el trozo de resina elegido y se pegó con pegamento instantáneo sobre una pirámide truncada de

resina Spurr previamente polimerizada en una cápsula BEEM. Se dejó secar un día a temperatura ambiente.

Tallado: bajo lupa binocular, con una hoja de afeitar nueva se fue tallando una pirámide de base trapezoidal alrededor del material elegido, tanto de inclusiones planas como de cápsulas BEEM.

Preparación de grillas

Limpieza de grillas: las grillas de cobre, nuevas o usadas, fueron lavadas en cloroformo, etanol, dos veces en agua bidestilada, etanol y dos veces en cloroformo. Se dejaron secar en cajas de Petri sobre papel de filtro.

Preparación de la película de formvar (polivinilformal): se lavaron, secaron y flamearon portaobjetos nuevos. En un recipiente se ubicó un portaobjetos sobre el que se hizo subir y bajar el formvar de forma rápida. Se dejó secar en forma horizontal. Se marcó un rectángulo de la película de formvar con una aguja. Se desprendió la película de formvar en un recipiente con agua destilada en forma inclinada hasta que quedó el trozo flotando. Sobre esta película se ubicaron las grillas de cobre (con la cara opaca hacia abajo) hasta cubrir con grillas la superficie disponible de la película. Con un portaobjetos de aluminio se recogió la película con las grillas hundiendo el portaobjetos de aluminio junto con la película con las grillas. Se dejó secar y estabilizar en posición vertical a temperatura ambiente.

Confección de cuchillas de cristal: para la obtención de cortes semifinos se utilizaron cuchillas de cristal que se confeccionaron a partir de barras de cristal de 25 mm de ancho, mediante un Knife-Maker LKB. En primer lugar se cortaron cuadrados de cristal para luego cortarlo en forma diagonal obteniendo dos piezas triangulares. En la zona del filo de la cuchilla se confeccionó una

pletita con cinta plateada, la cual se selló a la superficie del cristal con cera dental. La piletita se llenó con agua bidestilada luego de que la cuchilla se fijó al ultramicrotomo.

Ultramicrotomía: el material seleccionado y tallado se cortó en un ultramicrotomo Reichert-Jung Ultracut UM2 con cuchilla de diamante Diatom 45°, obteniendo cortes ultradelgados. Las tiras de cortes que flotaban en el agua de la piletita fueron estiradas con vapores de cloroformo. Se recogieron en grillas de cobre cubiertas con formvar aquellos cortes con colores de interferencia plata y oro, que indicaban un espesor de corte de 60 nm y 90 nm respectivamente.

Los cortes semifinos fueron obtenidos mediante cuchillas de cristal cortados a 0,5 - 1 μm que se corresponde con el color verde-rosado.

Contrastado: se contrastó con acetato de uranilo y citrato de plomo siguiendo el procedimiento en un soporte Iraoka. Para ello se colocaron las grillas en una placa plástica flexible con ranuras para poder contrastar hasta 40 grillas simultáneamente. Para poder colocar las grillas, la placa se colocó en un soporte curvado, permitiendo que las ranuras se abrieran. Una vez ubicadas todas las grillas se retiró la placa del soporte curvado, las ranuras se cerraron y sujetaron a las grillas.

Luego se preparó una solución sobresaturada de acetato de uranilo (0,05 g en 5 ml de agua bidestilada) y se filtró con filtro Watman 0,45 μm . Se colocó esta solución en un recipiente ad hoc sobre el que se ubicó la placa con las grillas hacia abajo durante 25 - 30 minutos en oscuridad. Se lavó rápidamente con agua bidestilada contenida en 4 vasos de precipitado y se secó minuciosamente cada grilla de la placa con papel de filtro.

Finalmente se preparó una solución de citrato de plomo en un tubo de hemólisis: 2,1 ml de nitrato de plomo (solución madre: 31,25 g en 500 ml de agua bidestilada a la que se agregaron 10 g de ácido nítrico para prevenir la hidrólisis), 2,1 ml de citrato de sodio (solución madre: 41,5 g en 500 ml de agua bidestilada filtrada a la que se agregaron 5 gotas de nitrato de plomo como preservante), se agitó y luego se agregó 0,8 ml de NaOH 1N, se agitó y se colocó la solución en el mismo recipiente ad hoc. Luego se colocó la placa con las grillas durante 20 - 25 segundos. Se lavó rápidamente por 4 vasos con agua bidestilada. Al primer vaso se le agregó 2 ml de NaOH 1 N. Se secó minuciosamente cada grilla con papel de filtro. Los tiempos que mejores resultados produjeron fueron 25 minutos en acetato de uranilo y 20 segundos en citrato de plomo.

El soporte flexible conteniendo las grillas se colocó nuevamente en el soporte curvado y las grillas fueron transferidas a un portagrillas hasta el momento de la observación.

Observación y fotografiado: las grillas fueron observadas y fotografiadas en un Microscopio Electrónico Jeol 100 CX-II operando a 80 kV, ubicado en el CCT-BB (Centro Científico Tecnológico de Bahía Blanca, ex CRIBABB).

Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Fijación: se fijaron porciones de talos en glutaraldehído 3 % en buffer cacodilato 0,05 M con el agregado de 0,25 M de sacarosa durante al menos 24 horas y se mantuvieron en heladera a 4 °C.

Lavados: se realizaron 4 lavados para eliminar el fijador: el primero en buffer cacodilato 0,05 M y 0,2 M de sacarosa; el segundo en buffer cacodilato

0,05 M y 0,1 M de sacarosa; el tercero en buffer cacodilato 0,05 M sin sacarosa y el cuarto en agua bidestilada. Cada lavado se realizó durante 15 minutos.

Deshidratación: se deshidrató en series de concentraciones crecientes de acetona: 10 %, 30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 100 % durante 15 minutos cada uno.

Punto crítico: se realizó el secado por punto crítico.

Metalizado: se colocaron los fragmentos sobre tacos de bronce y se metalizaron con oro-paladio en un “sputter” (Robinson et al., 1987).

Observación y fotografiado: el material se observó y fotografió digitalmente en un Microscopio Electrónico de Barrido EVO 40 XVP Leo en el CCT-BB.

RESULTADOS

1- MORFOLOGÍA VEGETATIVA

1.1- Morfología externa

Los talos de las especies estudiadas de *Codium* fueron erguidos y ramificados dicotómicamente y se fijaban al sustrato mediante rizoides que formaban un disco basal de aspecto esponjoso. En *C. decortdatum* los talos estudiados alcanzaron una longitud máxima de hasta 15 cm, los de *C. fragile* de hasta 30 cm y los de *C. vermilara* pudieron alcanzar más de 30 cm de altura (Fig. 3; Tabla 1).

En las tres especies de *Codium* se observaron diferencias en el número de dicotomías; para *C. decortdatum* de 3 a 13; para *C. fragile* de 5 a 11 y para *C. vermilara* de 6 a 18 (Tabla 1).

Las ramas de los talos de *C. decortdatum* eran cilíndricas, de 6,86 mm (4,1 – 10,6 mm) de diámetro en la porción basal, 4,55 mm de diámetro (4 – 5,2 mm) en la región media y 4,13 mm (3 – 5,1 mm) en la apical. Las ramas de *C. decortdatum* estaban aplanadas en las dicotomías. Las ramificaciones generalmente se ubicaban en la base del talo. Las ramas de *C. fragile* eran cilíndricas, no aplanadas en las dicotomías y con un diámetro medio de 8,7 mm en la parte basal (5,9 – 12,5 mm), de 6,8 mm en la región media (4,6 – 9,5 mm) y de 5 mm en la región apical (3,5 – 7,5 mm). En *C. vermilara* las ramas también eran cilíndricas y no se aplanaban en las dicotomías. El diámetro de las ramas

era de 6,7 mm en la porción basal (3,2 – 10,9 mm), 3,9 mm en la porción media (2,2 – 7 mm) y 2,6 mm en la región apical (1,9 – 3,8 mm) (Tabla 1).

En *C. vermilara* pudieron reconocerse al menos tres variantes morfológicas: **a**- talos de escaso tamaño (hasta 17 cm de altura), erguidos, muy ramificados y con ramas cortas; formando matas hemiesféricas; que crecían sobre sustratos duros (Fig. 4 A); **b**- talos de mayor porte (de hasta 30 cm de altura), erguidos, poco ramificados y con ramas largas, que crecían sobre sustratos duros (Fig. 4 B); **c**- talos de gran extensión (más de 30 cm de largo y hasta 9 cm de altura), postrados, rizomatosos, irregularmente ramificados, con gran cantidad de ramificaciones cortas y erguidas originadas en ángulo recto a partir del eje postrado. En este caso no fue posible observar los sustratos sobre los que los talos crecían, ya que estos últimos se desprendían por encima del disco basal y no quedaban restos de sustrato que permitieran discernir sobre su naturaleza (Fig. 4 C). Los talos tipo **a** crecían en pozas de marea en el intermareal con pocas corrientes; los talos tipo **b** en el submareal en ambientes expuestos y los de tipo **c** en el submareal en bahías cerradas con pocas corrientes como es el caso de Caleta Malaspina.

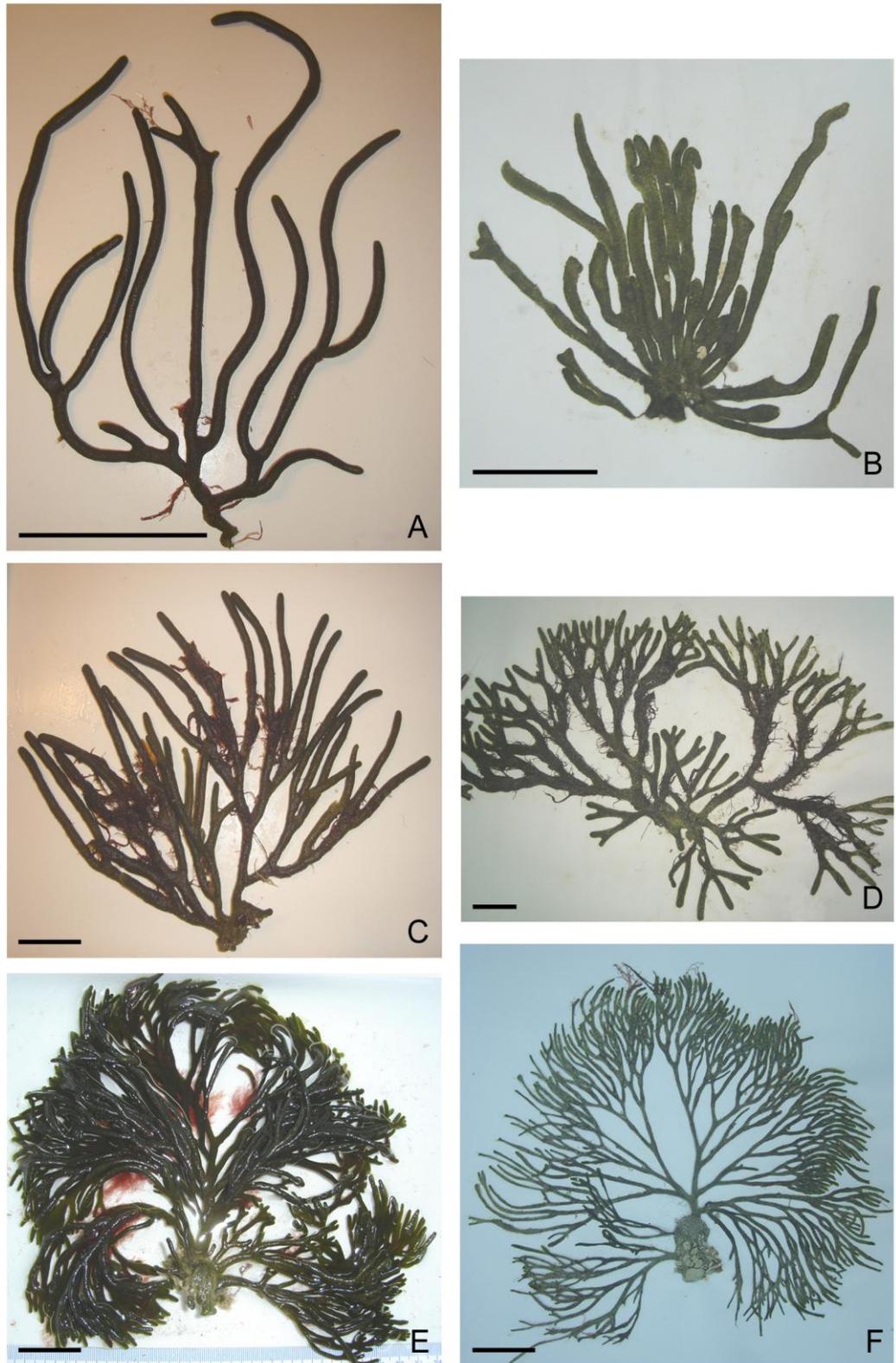


Figura 3. Morfología externa. A, B: *Codium decortatum*. C, D: *Codium fragile* subsp. *novae-zelandiae*. E, F: *Codium vermilara*. A, C, E: material fresco; B, D, F: material herborizado. Escala: 5 cm.

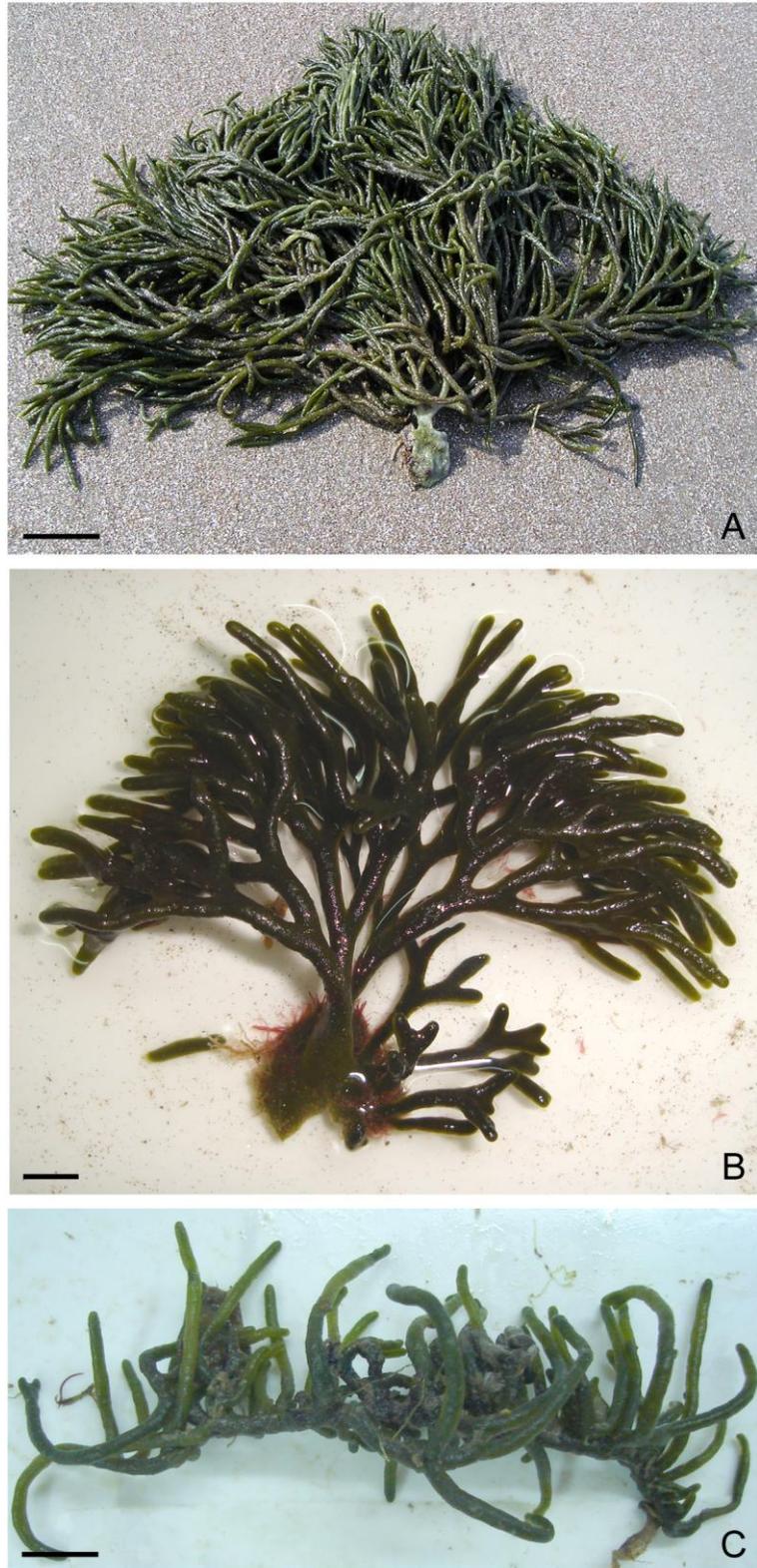


Figura 4. Morfologías externas de *Codium vermilara*. A: tipo a: talos de hábito erguido muy ramificados; B: tipo b: talos de hábito erguido poco ramificados; C: tipo c: talos de hábito postrado, rizomatoso. Escala: 3 cm.

1.2- Morfología interna

Utrículos: se observaron variaciones en la forma, diámetro y largo de los utrículos en las distintas especies (Tabla 1). Los cloroplastos estaban uniformemente distribuidos en los utrículos de todas las especies. Luego de dos días de cultivo en laboratorio, los cloroplastos se concentraban en grupos principalmente en la porción más apical de los utrículos.

Los utrículos de *C. decortcatum* eran claviformes o cilíndricos, con el extremo distal redondeado y de 880 – 1440 μm de largo (\bar{x} = 1126,5 μm). En la parte media medían 170 – 560 μm (\bar{x} = 245,26 μm) de diámetro (Fig. 5 A, B).

Los utrículos de los talos femeninos de *Codium fragile* eran cilíndricos, delgados, ligeramente ensanchados en el ápice, el que terminaba en una prominencia acuminada llamada mucrón. Dentro de un mismo talo se observaron utrículos de variadas dimensiones, principalmente el diámetro. No presentaban constricción en la parte media del utrículo. Los utrículos medían 985,6 – 1500 μm de largo (\bar{x} = 1256 μm) por 96 – 280 μm de diámetro en la parte media (\bar{x} = 179 μm) (Figs 6 A, 7 A). Los utrículos de los talos masculinos de *C. fragile* eran cilíndricos, delgados, ligeramente ensanchados en el ápice. También presentaban mucrón. Medían 850 – 1600 μm de largo (\bar{x} = 1329,5 μm) por 50 – 280 μm de diámetro en la parte media (\bar{x} = 177,3 μm) (Fig. 7 B).

Los utrículos de *C. vermilara* eran ampuliformes a piriformes, algo dilatados en el extremo distal y con el ápice redondeado, sin mucrón. Los utrículos medían 250 – 720 μm (\bar{x} = 466,3 μm) de largo por 60 – 200 μm de diámetro (\bar{x} = 126,9 μm) en la parte media del utrículo (Fig. 8 A). En raras ocasiones se observaron utrículos secundarios, es decir, utrículos formados por crecimiento simpodial a partir de utrículos (Fig. 9 A).

En *C. decortdatum* las paredes laterales de los utrículos medían entre 1,12 y 3,6 μm de espesor ($\bar{x} = 2,54 \mu\text{m}$), mientras que las paredes apicales eran considerablemente más gruesas y medían 5 – 12,5 μm de espesor ($\bar{x} = 6,71 \mu\text{m}$). La pared lateral de los utrículos de *C. fragile* tenía un espesor de 3 – 8 μm ($\bar{x} = 4,51 \mu\text{m}$). El mucrón, variable en largo, medía 20 a 100 μm ($\bar{x} = 45 \mu\text{m}$) (Fig. 6 C). El grosor de la pared apical de los utrículos en *C. vermilara* era de 2,5 – 10 μm ($\bar{x} = 6,19 \mu\text{m}$).

Pelos: en las tres especies, los pelos eran producidos principalmente por utrículos ubicados en las porciones apicales de las ramas. Los pelos se formaban por una evaginación del utrículo; al principio permanecían en comunicación con el utrículo por medio de un canal a través del que pasaban las distintas organelas. Luego se formaba un septo transversal que separaba la base del pelo y el utrículo. La base del pelo era ensanchada y el resto del pelo más angosto y cilíndrico (Figs 6 B, 8 B, C). En todos los casos, en la pared del utrículo quedaba una cicatriz cuando los pelos eran desprendidos (Fig. 6 D). En *C. decortdatum*, se observaron pelos en escasas ocasiones. Los mismos eran delgados e incoloros, de hasta 950 μm de largo y de 25 – 42,5 μm de diámetro ($\bar{x} = 32,7 \mu\text{m}$), naciendo a 170 – 200 μm del ápice del utrículo ($\bar{x} = 185 \mu\text{m}$) (Fig. 5 A). En los utrículos de talos femeninos y masculinos de *C. fragile* se observaron 1 – 3 pelos por utrículo, de hasta 1570 μm de largo y 42,5 – 55 μm de diámetro, insertos a 250 – 350 μm del ápice del utrículo (Figs 6 A, B, 7 B). Los pelos en *C. vermilara* se formaban a una distancia de 80 – 240 μm del ápice del utrículo sobre una protuberancia. Medían hasta 2150 μm de longitud y entre 25 y

40 μm de diámetro. Se observaron varios pelos por utrículo (Fig. 8 B, C) y llegaron a observarse hasta 10 cicatrices (Fig. 8 D; Tabla 1).

Filamentos medulares: en *C. decorticatum* los filamentos medulares tenían un diámetro de 27,5 – 52,5 μm (\bar{x} = 41,25 μm) (Fig. 5 C, D); en los talos femeninos de *C. fragile* medían 24 – 52 μm de diámetro (\bar{x} = 35,21 μm) y en los masculinos 32,5 – 57,5 μm de diámetro (\bar{x} = 43,08 μm) (Fig. 7 B) y en *C. vermilara* un diámetro de 22,5 – 37,5 μm (\bar{x} = 28,92 μm) (Fig. 8 A) (Tabla 1).

Entre los utrículos y los filamentos medulares se observaba una continuidad a lo largo de todo el talo. En muchas ocasiones un septo transversal separaba el contenido del utrículo del contenido del filamento medular (Fig. 5 C, D). Los septos, además, eran evidentes al formarse las estructuras reproductivas (Figs 5 B, 7 A, 9 B) y en la base de los pelos (Figs 6 A, 8 C).

Disco basal: los talos de las distintas especies estaban fijados al sustrato por un disco basal, formado principalmente por filamentos medulares y menor cantidad de utrículos que en el resto del talo. Los utrículos del disco basal eran mucho más delgados y largos que los de la porción apical del talo (Fig. 10).

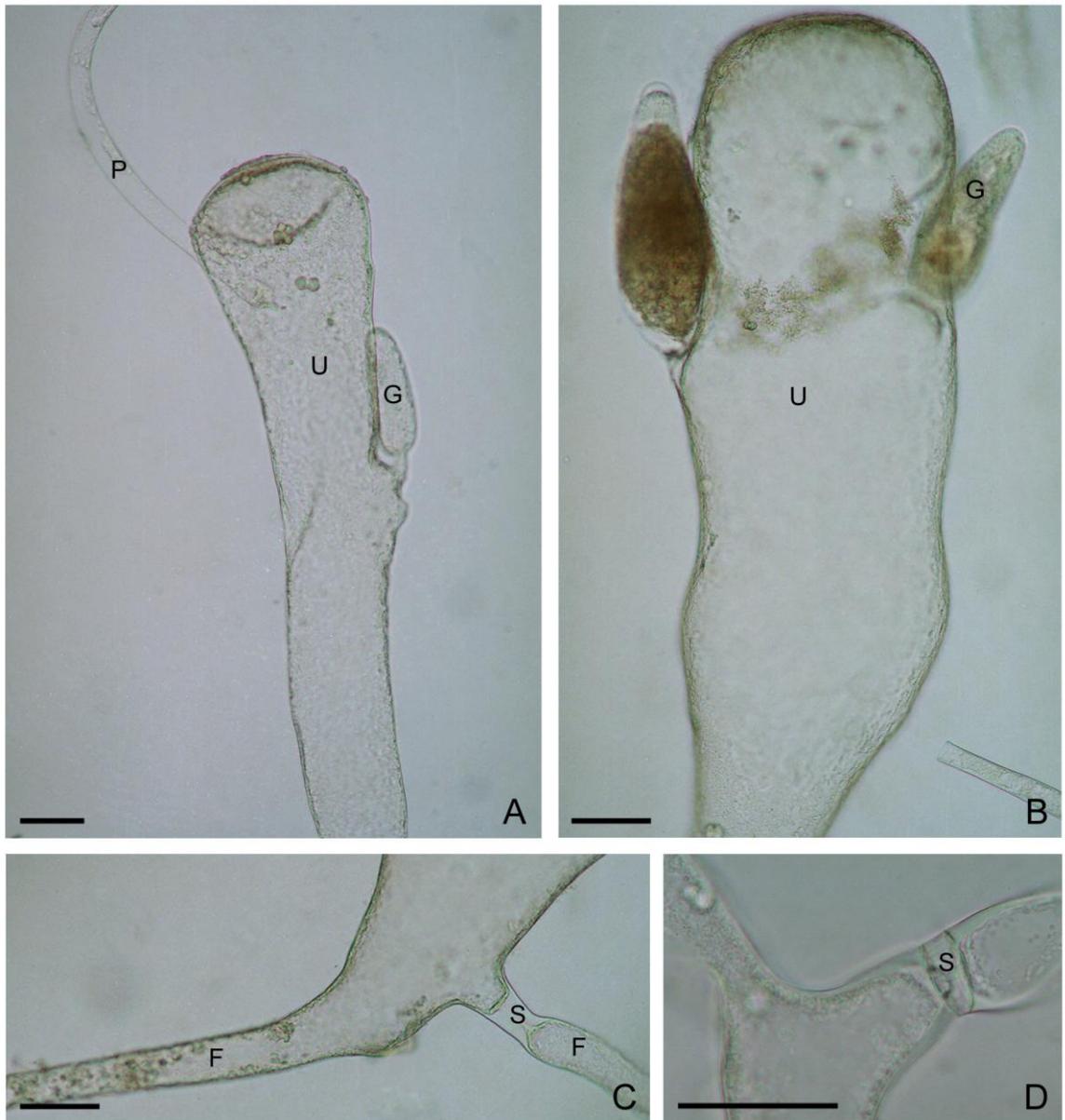


Figura 5. Morfología interna de *Codium decorticatum*. A: utrículo con un gametangio en desarrollo y un pelo; B: utrículo con dos gametangios en distinto estado de desarrollo; C: detalle de dos filamentos medulares y del septo que separa el utrículo del filamento medular; D: detalle del septo. A-D: fotomicrografías ópticas. Escala: 100 μm . F: filamento medular; G: gametangio; P: pelo; S: septo; U: utrículo.

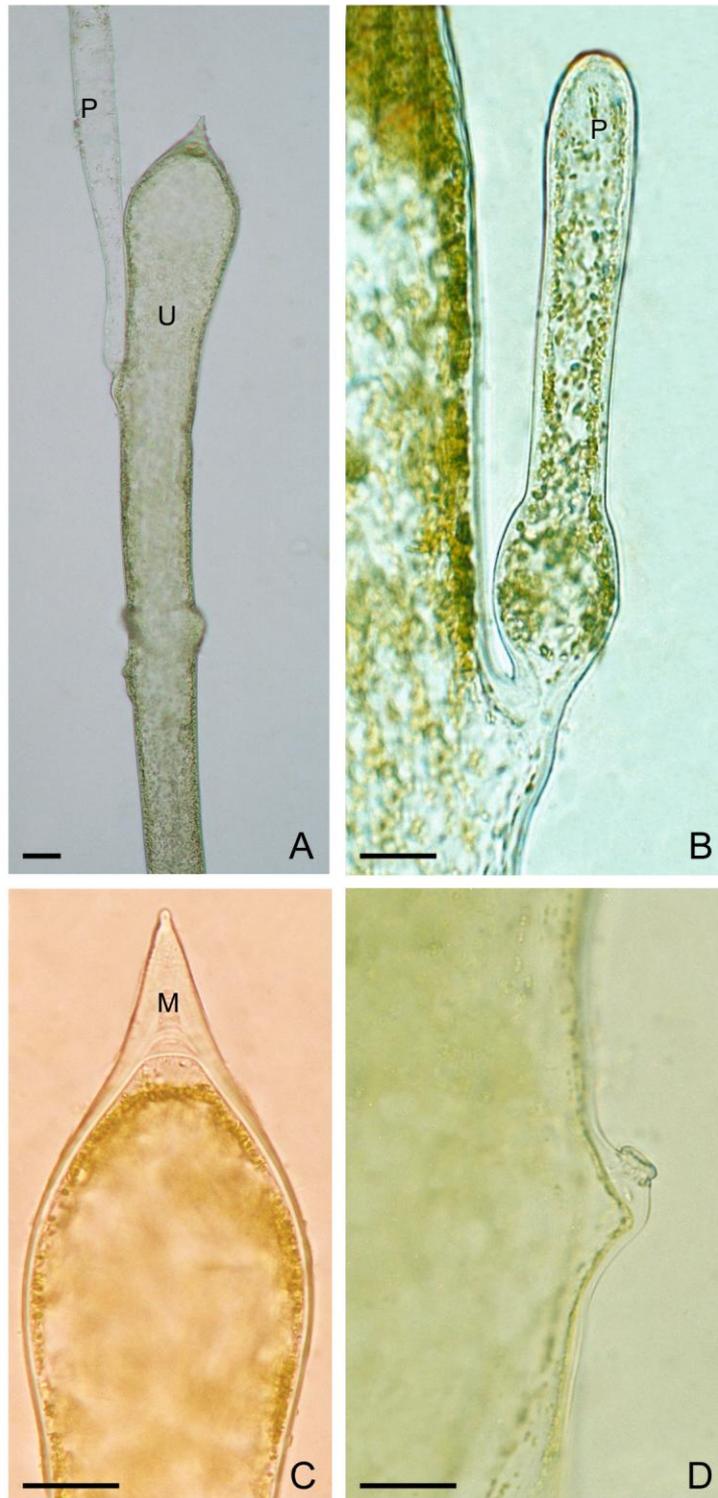


Figura 6. Morfología interna de *Codium fragile*. A: utrículo y porción basal de un pelo; B: detalle de la base de un pelo en comunicación con el utrículo; C: detalle del mucrón; D: detalle de la cicatriz que deja un pelo al caerse. A-D: fotomicrografías ópticas. Escala: 50 μm . M: mucrón; P: pelo; U: utrículo.



Figura 7. Morfología interna de *Codium fragile*. A: utrículo con un gametangio femenino maduro; B: utrículo con dos gametangios masculinos maduros. A-B: fotomicrografías ópticas. Escala: 80 μ m. C: cicatriz de gametangio; F: filamento medular; G: gametangio; P: pelo; U: utrículo.

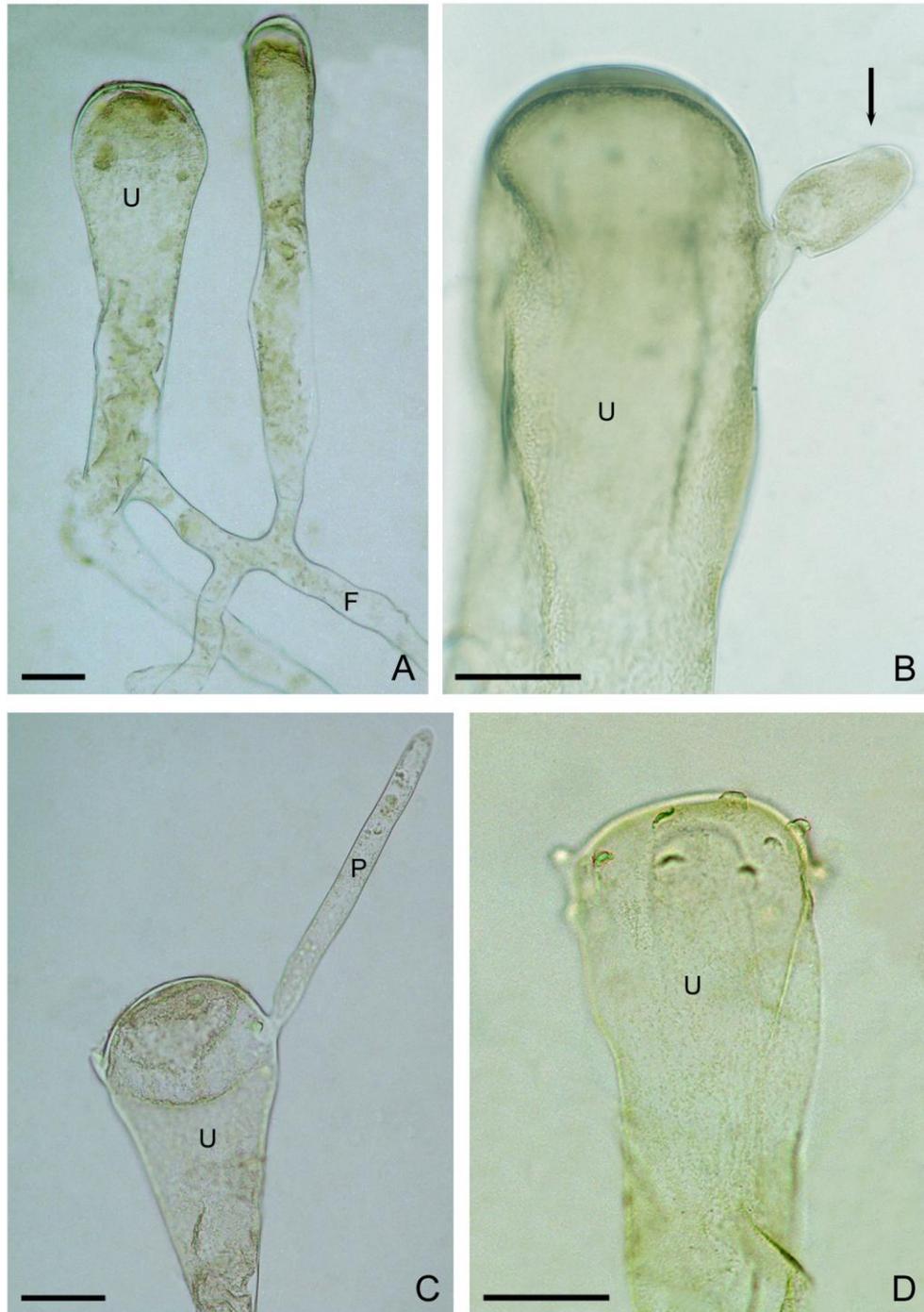


Figura 8. Morfología interna de *Codium vermilara*. A: dos utrículos unidos por filamentos medulares; B: utrículo con un pelo en el inicio de su desarrollo (flecha); C: utrículo con un pelo desarrollado; D: utrículo en el que se observan diez cicatrices de pelos. A-D: fotomicrografías ópticas. Escala: 60 μ m. F: filamento medular; P: pelo; U: utrículo.

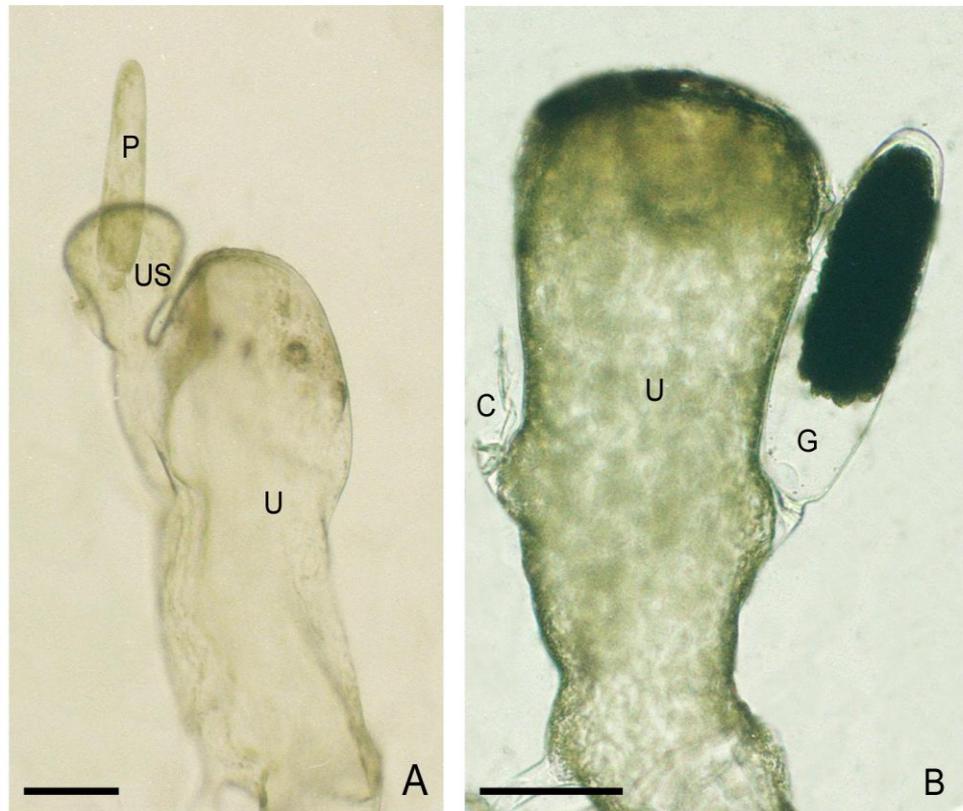


Figura 9. Morfología interna de *Codium vermilara*. A: utrículo con un utrículo secundario y un pelo en desarrollo; B: utrículo con un gametangio femenino maduro y la cicatriz que dejó otro al caer. A-B: fotomicrografías ópticas. Escala: 60 μm . C: cicatriz de gametangio; G: gametangio femenino; P: pelo; U: utrículo; US: utrículo secundario.



Figura 10. Morfología interna del disco basal. A: vista de varios utrículos; B: detalle de un utrículo. A-B: fotomicrografías ópticas. Escala: 70 μm . U: utrículo.

Tabla 1. Comparación de algunos caracteres morfológicos externos e internos de las tres especies de *Codium* estudiadas

	<i>C. decorticatum</i>	<i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i> Talos femeninos	<i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i> Talos masculinos	<i>C. vermilara</i> Talos femeninos
Longitud del talo	hasta 15 cm	hasta 30 cm		hasta 30 cm
Número de dicotomías	3 a 13	5 a 11		6 a 18
Diámetro de las ramas en la base	4,1 – 10,6 mm	5,9 – 12,5 mm		3,2 – 10,9 mm
Diámetro de las ramas en la parte media	4 – 5,2 mm	4,6 – 9,5 mm		2,2 – 7 mm
Diámetro de las ramas en el ápice	3 – 5,1 mm	3,5 – 7,5 mm		1,9 – 3,8 mm
Forma de utrículos	claviformes o cilíndricos	Cilíndricos		ampuliformes a piriformes
Longitud de utrículos	880 – 1440 μm	985,6 – 1500 μm	850 – 1600 μm	250 – 720 μm
Diámetro de utrículos	170 – 560 μm	96 – 280 μm	50 – 280 μm	60 – 200 μm
Ápice de utrículos	redondeado	mucrón de 20 a 100 μm		Redondeado
Longitud pelos	hasta 950 μm	hasta 1570 μm		hasta 2150 μm
Diámetro pelos	25 – 42,5 μm	42,5 – 55 μm		25 – 40 μm
Distancia de inserción al ápice del utrículo	170 – 200 μm	250 – 350 μm		80 – 240 μm
Filamentos medulares	27,5 – 52,5 μm	24 – 52 μm	32,5 – 57,5 μm	22,5 – 37,5 μm
Forma de gametangios	ovoides	ovoides, elípticos	ovoides	ovoides, ligeramente ensanchados en la base
Longitud de gametangios	212,5 – 475 μm	264 – 520 μm	275 – 430 μm	185 – 250 μm
Diámetro de gametangios	30 – 137,5 μm	50 – 138,6 μm	70 – 100 μm	55 – 110 μm
Distancia de inserción al ápice del utrículo	242,5 – 590 μm	600 – 700 μm	330 – 680 μm	250 – 320 μm

1.3- Ultraestructura

Utrículos: la pared celular de los utrículos en las tres especies de *Codium* estudiadas estaba formada por un solo estrato, cubierto por una delgada cutícula de borde aserrado. En *C. decortdatum* la pared medía 1,12 – 3,6 μm de espesor (\bar{x} = 1,90 μm) y en ella se observaban a intervalos regulares y perpendiculares a su superficie bandas claras rodeadas por un sector electrónicamente denso (Fig. 11 A-C). En *C. fragile* la pared del utrículo poseía un espesor de 0,85 – 1,1 μm (\bar{x} = 1 μm) (Fig. 13 A, C), mientras que en *C. vermilara* medía 1 – 3,12 μm de espesor (\bar{x} = 1,83 μm) (Fig. 14 A, C, D). A diferencia de *C. decortdatum*, ambas especies mostraban el único estrato de pared con aspecto uniforme, sin bandas claras perpendiculares.

Observadas con microscopio electrónico de barrido, las paredes de los utrículos de *C. decortdatum*, *C. vermilara* y *C. fragile* presentaban una superficie rugosa (Figs 11 E, F, 13 F, H, 14 G, H). En *C. fragile* los mucrones mostraban zonas anulares concéntricas de deposición de pared (Fig. 13 G).

En sección transversal, en el protoplasma de los utrículos de las tres especies pudieron diferenciarse dos zonas: una central ocupada por una gran vacuola y una marginal formada por una delgada capa de citoplasma.

La vacuola presentaba un contenido homogéneo y electrónicamente claro (Figs 12 A, 13 A, 14 A). En el citoplasma marginal se encontraban núcleos, cloroplastos, dictiosomas, retículo endoplásmico, mitocondrias, lomasomas y dos tipos de vesículas, unas con un contenido electrónicamente translúcido y otras con un contenido electrónicamente denso (Figs 11 B, D, 12 A-F, 13 A-E, 14 A-F).

Los núcleos se ubicaban adyacentes a la pared celular, con el eje mayor paralelo a la pared del utrículo. Poseían un nucléolo prominente que, en algunos casos, mostraba una región clara central. En *C. decorticatum* los núcleos eran polimórficos, con escasa heterocromatina dispersa (Fig. 12 C), y algunos poseían dos nucléolos. Medían 3,25 – 6,11 μm de largo ($\bar{x} = 4,77 \mu\text{m}$) por 1,5 – 3,43 μm de diámetro ($\bar{x} = 2,51 \mu\text{m}$). Los núcleos de *C. fragile* eran siempre ovoides, medían 4,4 μm de largo por 3,3 μm de diámetro (Fig. 13 B) y los de *C. vermilara* eran polimórficos y medían 3,71 – 7,12 μm de largo ($\bar{x} = 5,21 \mu\text{m}$) por 1,75 – 2,75 μm de diámetro ($\bar{x} = 2,40 \mu\text{m}$) (Fig. 14 C).

Los cloroplastos en las tres especies se ubicaban en la porción más interna del citoplasma marginal, haciendo protrusión en la vacuola, con una orientación de su eje mayor predominantemente perpendicular a la pared del utrículo (Figs 11 B, 12 A, B, 13 A, 14 A, D, E). Carecían siempre de pirenoide. Las lamelas poseían 2-3 tilacoides que se disponían en forma ordenada. En *C. decorticatum* los cloroplastos eran fusiformes u ovalados en sección longitudinal y circulares en sección transversal. Medían 1,75 – 4,5 μm de largo ($\bar{x} = 2,77 \mu\text{m}$) por 0,75 – 1,8 μm de diámetro ($\bar{x} = 1,41 \mu\text{m}$). Se observaron en el mismo utrículo cloroplastos con diferentes características: a) cloroplastos con el estroma principalmente ocupado por tilacoides, pequeños gránulos de almidón y glóbulos lipídicos; b) cloroplastos con tilacoides reducidos, glóbulos lipídicos y uno o más gránulos de almidón ovoides y c) cloroplastos con un gránulo de almidón que ocupaba casi por completo el estroma cloroplástico (Figs 11 B, 12 D-F). En *C. fragile* los cloroplastos eran fusiformes y medían 1,7 – 2,5 μm de largo ($\bar{x} = 2,15 \mu\text{m}$) por 0,78 – 1,2 μm de diámetro ($\bar{x} = 0,88 \mu\text{m}$); poseían un gránulo de almidón en la parte central que desplazaba a los tilacoides a la periferia y pequeños

glóbulos lipídicos (Fig. 13 A, C). En *C. vermilara* los cloroplastos eran fusiformes y medían 2,28 – 5,5 μm de largo (\bar{x} = 3,038 μm) por 0,5 – 0,9 μm de diámetro (\bar{x} = 0,69 μm), poseían numerosos tilacoides, uno o dos gránulos de almidón y glóbulos lipídicos con características similares a las descritas para *C. fragile* (Fig. 14 D-F).

La parte apical de los utrículos, zona de crecimiento del utrículo, carecía de cloroplastos y estaba ocupada por mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso, dictiosomas y vesículas.

Pelos: la ultraestructura de los pelos de los utrículos fue estudiada en *C. vermilara* (Fig. 15 A-D). Los pelos mostraban una pared delgada, de 0,35 μm de espesor y una cutícula delgada y con superficie rugosa (Fig. 15 B). En el protoplasma de la parte media y basal de los pelos se diferenciaban dos zonas con una disposición de las organelas similar a la de los utrículos. En la porción apical, en cambio, la vacuola presentaba un escaso desarrollo (Fig. 15 A). Los núcleos estaban ubicados en la región basal y media del pelo, eran polimórficos, de 4 – 4,18 μm de largo por 1,19 – 1,49 μm de diámetro y presentaban abundante heterocromatina dispersa y un nucléolo (Fig. 15 C). Los cloroplastos eran escasos, excepto en la porción apical (Fig. 15 A, B), medían 2,8 – 3,4 μm de largo (\bar{x} = 3,05 μm) por 0,6 – 1,7 μm de diámetro (\bar{x} = 1,12 μm) y mostraban escasas lamelas 2-3-tilacoidales y pequeños glóbulos lipídicos (Fig. 15 D).

Filamentos medulares: los filamentos medulares también fueron estudiados en *C. vermilara*. Normalmente medían 34 μm de diámetro y en su interior podían distinguirse escasos núcleos de 5,14 μm de largo por 2,5 μm de

diámetro y numerosos cloroplastos pequeños, de 1,5 – 5 μm de largo por 1 – 1,64 μm de diámetro, con uno o dos gránulos de almidón y escasas lamelas (Fig. 16 A, B).

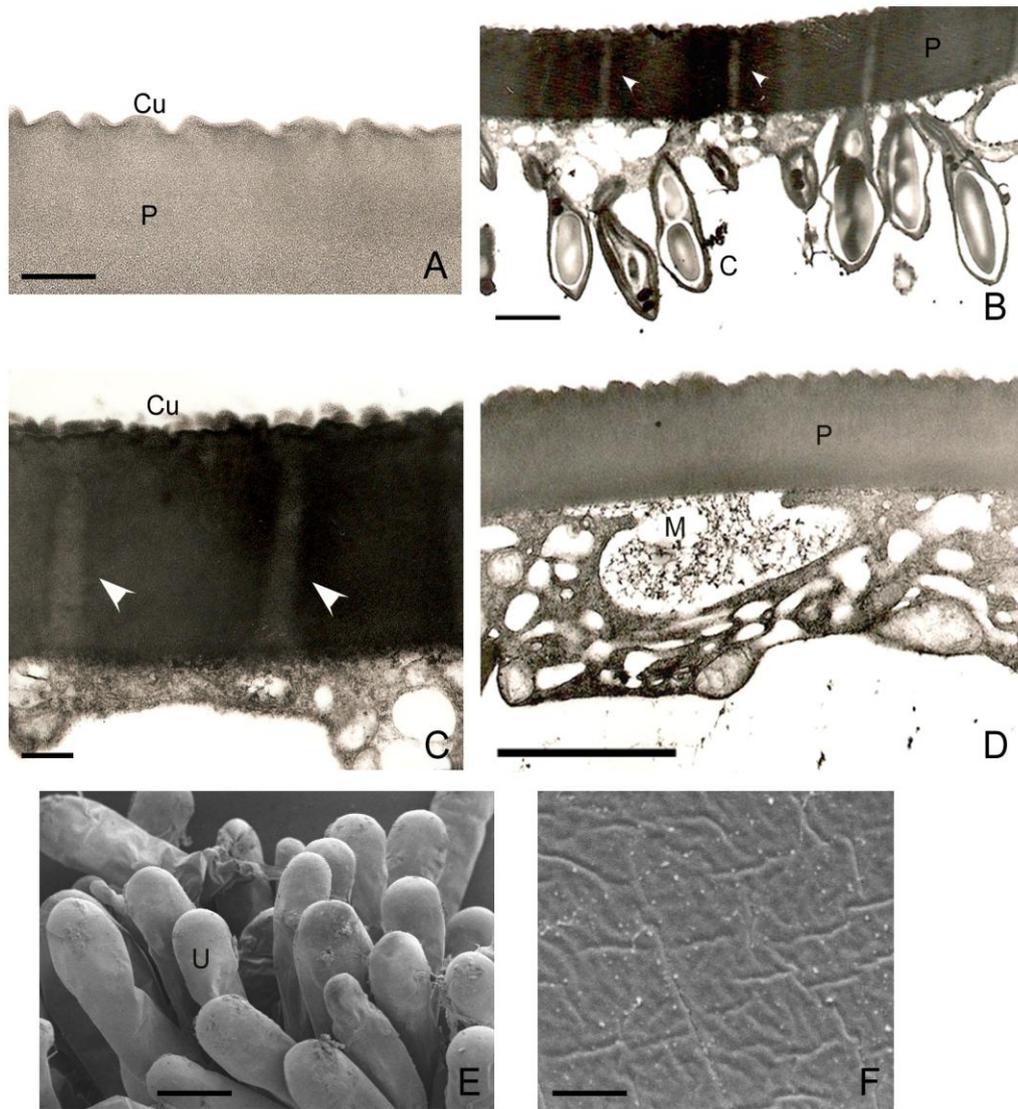


Figura 11. Pared celular de *Codium decortatum*. A: detalle de la pared del utrículo y la cutícula; B: bandas claras atraviesan el espesor de la pared (puntas de flecha); cloroplastos ubicados en forma perpendicular a la pared; C: detalle de una porción de B; D: vesículas con mucílago entre la membrana plasmática y la pared; E: vista general de varios utriculos; F: detalle de la pared del utrículo. A-F: fotomicrografías electrónicas. A-D: de transmisión; E-F: de barrido. Escala: A, C = 0,5 μm ; B, D, F = 2 μm ; E = 250 μm . C: cloroplasto; Cu: cutícula; M: mucílago; P: pared celular; U: utrículo.

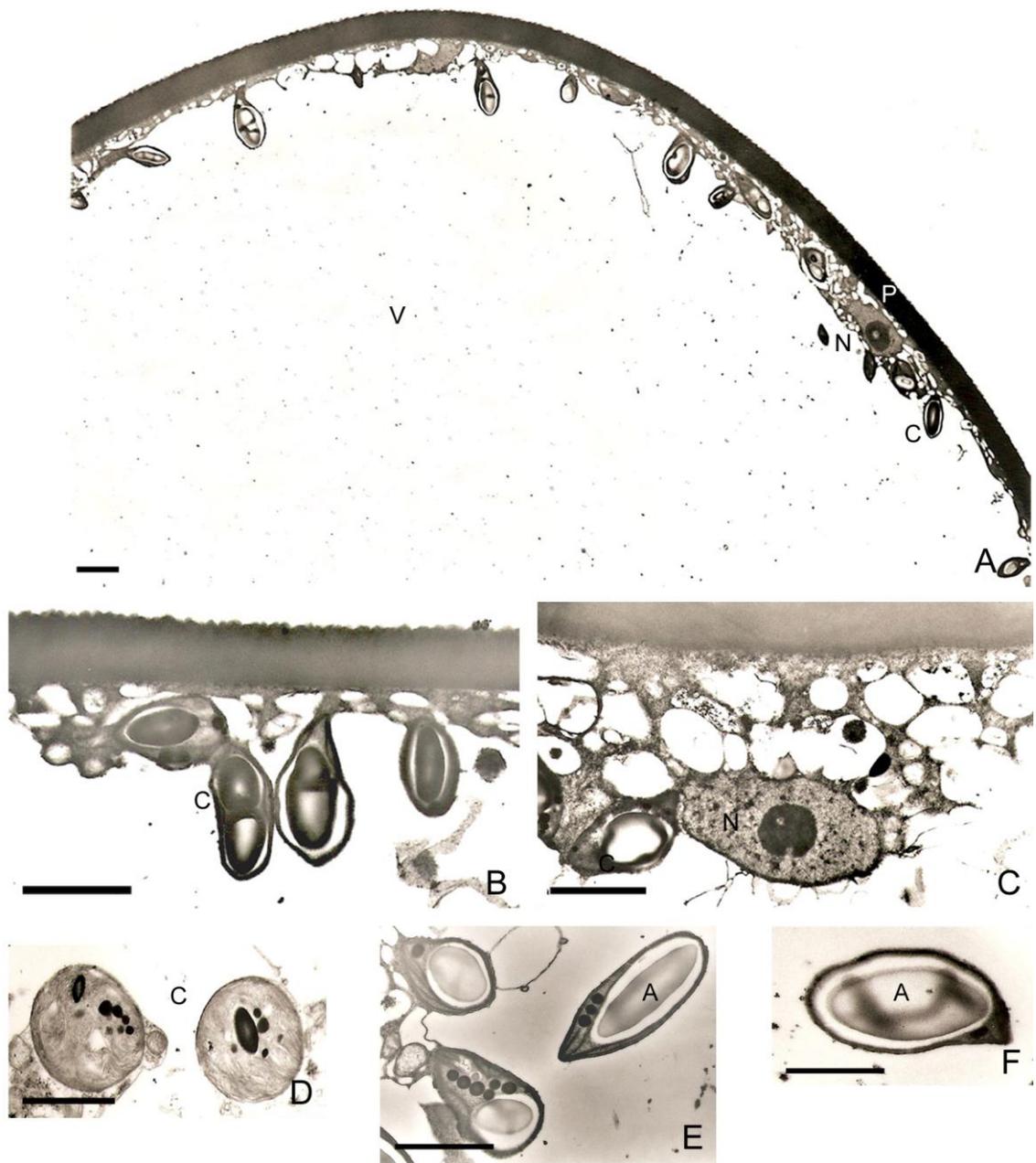


Figura 12. Ultraestructura vegetativa de *Codium decorticatum*. A: corte longitudinal de un utrículo; B: detalle de la capa externa de citoplasma con cloroplastos; C: detalle de la capa externa de citoplasma con un núcleo; D: detalle de cloroplastos con abundantes tilacoides; E: cloroplastos con escasos tilacoides, con glóbulos lipídicos y almidón; F: cloroplasto con un gran gránulo de almidón. A-F: fotomicrografías electrónicas. Escala: 2 μ m. A: almidón; C: cloroplasto; N: núcleo; P: pared; V: vacuola.

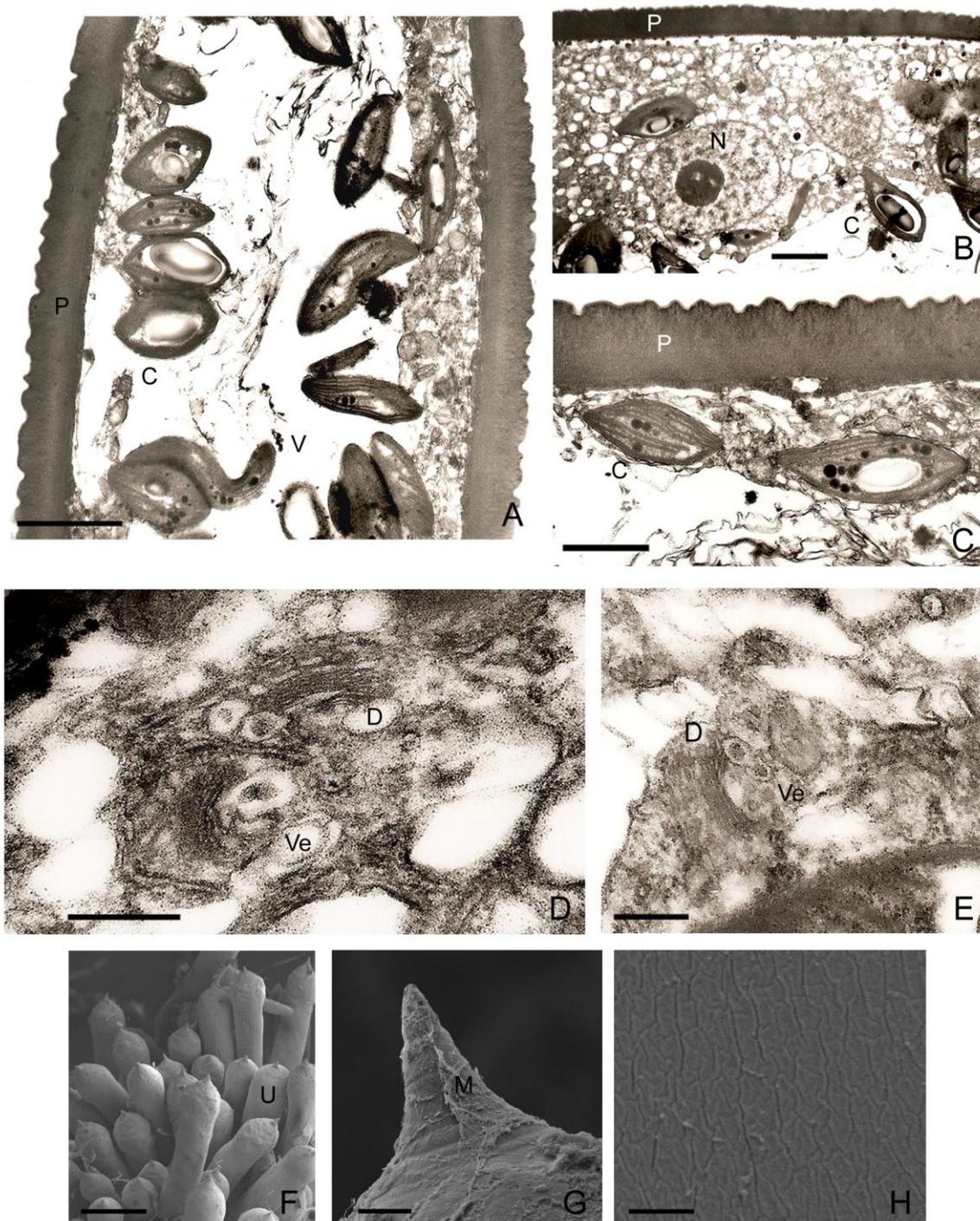


Figura 13. Ultraestructura vegetativa de *Codium fragile*. A: corte longitudinal de un utrículo; B: detalle de la capa externa de citoplasma con un núcleo; C: detalle de la capa externa de citoplasma con cloroplastos; D, E: vesículas con centro electrónicamente denso originadas por dictiosomas; F: vista general de utrículos; G: detalle del mucrón; H: detalle de la pared del utrículo. A-H: fotomicrografías electrónicas. A-E: de transmisión; F-H: de barrido. Escala: A, B, H = 2 μm ; C = 1 μm ; D, E = 0,5 μm ; F = 200 μm ; G = 10 μm . C: cloroplasto; D: dictiosoma; M: mucrón; N: núcleo; P: pared; U: utrículo; V: vacuola; Ve: vesícula.

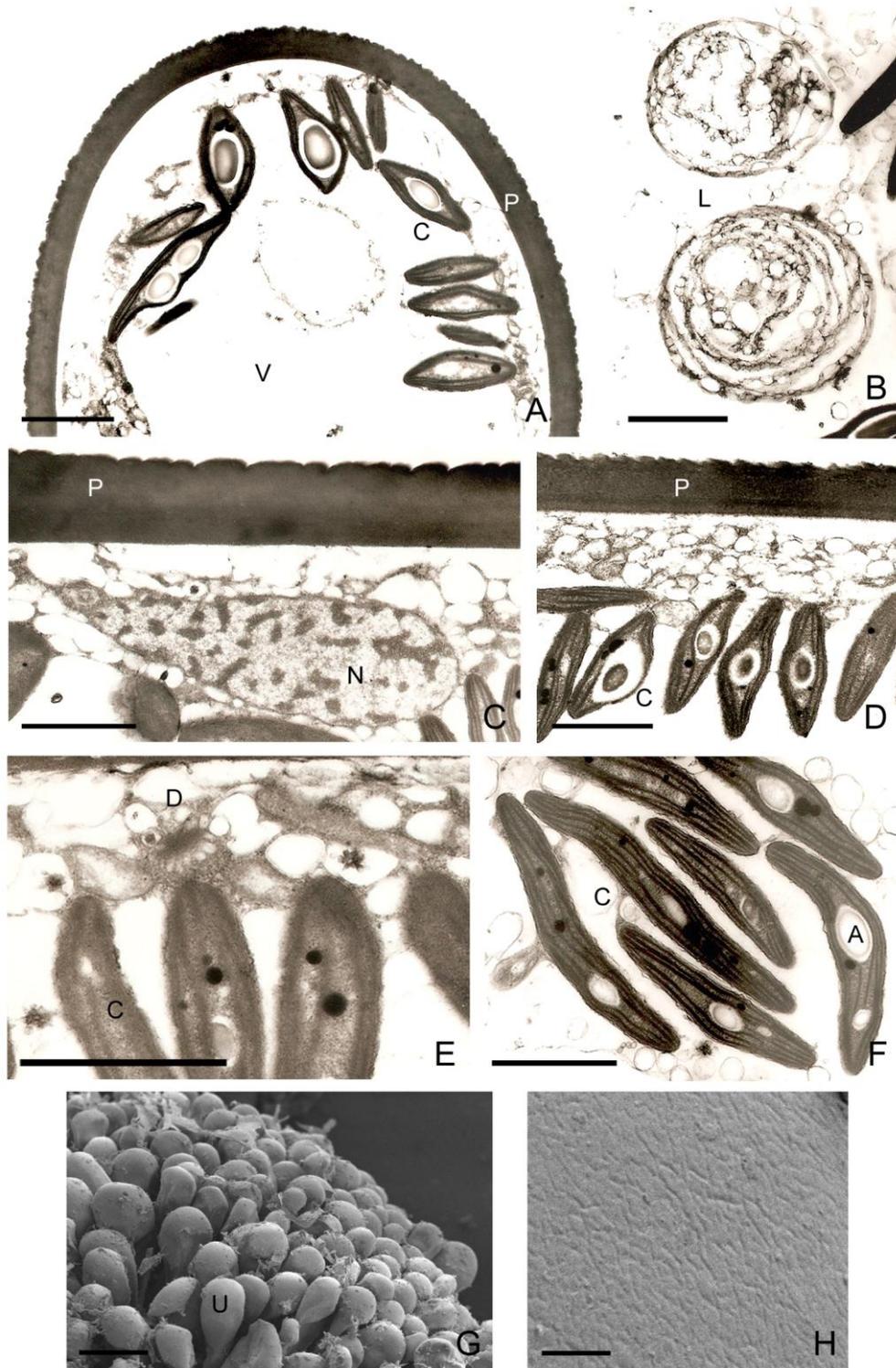


Figura 14. Ultraestructura vegetativa de *Codium vermilara*. A: corte longitudinal de un utrículo; B: detalle de lomasomas en el citoplasma; C: detalle de un núcleo; D: disposición de los cloroplastos en la capa externa de citoplasma; E: dictiosomas en la capa externa de citoplasma; F: detalle de cloroplastos; G: vista general de utrículos; H: detalle de la pared del utrículo. A-H: fotomicrografías electrónicas. A-F: de transmisión; G-H: de barrido. Escala: A-F, H = 2 μ m; G = 200 μ m. A: almidón; C: cloroplasto; D: dictiosoma; L: lomasoma; N: núcleo; P: pared; U: utrículo; V: vacuola.

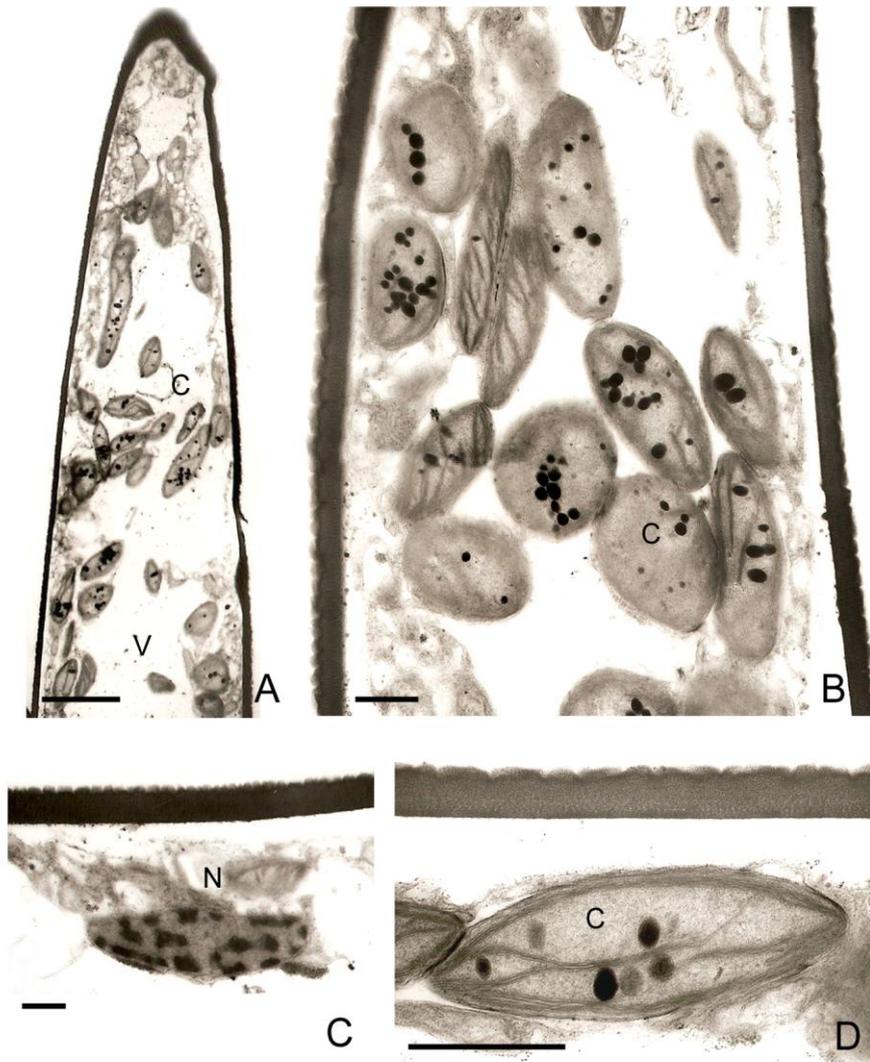


Figura 15. Ultraestructura de los pelos de *Codium vermilara*. A: porción apical de un pelo; B: parte media con numerosos cloroplastos; C: detalle de un núcleo con abundante heterocromatina; D: detalle de un cloroplasto. A-D: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 4 μ m; B-D = 1 μ m. C: cloroplasto; N: núcleo; V: vacuola.

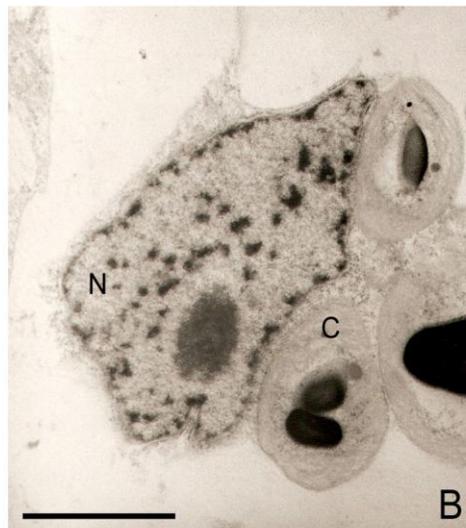
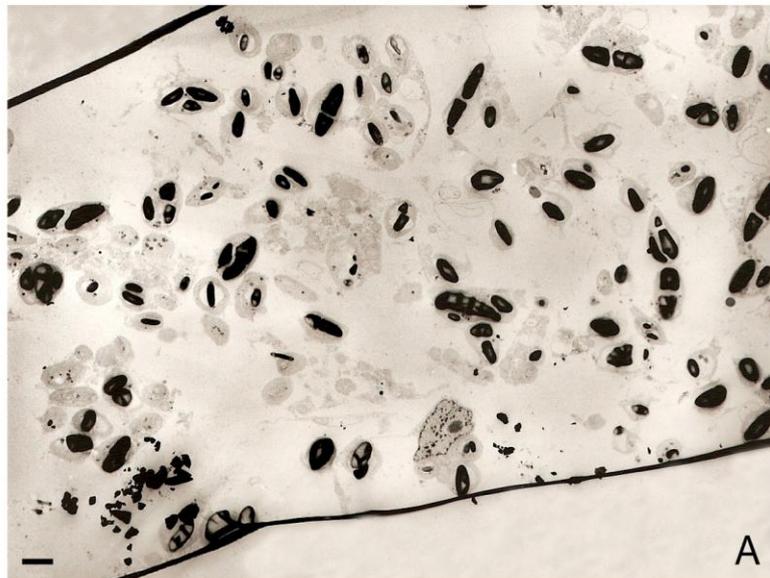


Figura 16. Ultraestructura de los filamentos medulares de *Codium vermilara*. A: corte longitudinal de una porción de un filamento medular; B: detalle de un núcleo y cloroplastos con escasas lamelas. A-B: fotomicrografías electrónicas. Escala: 2 μ m. C: cloroplasto; N: núcleo.

2- MORFOLOGÍA REPRODUCTIVA

2.1- REPRODUCCIÓN ASEXUAL

En las tres especies de *Codium* estudiadas la reproducción asexual ocurrió principalmente por ruptura de fragmentos de talos. En las ramas apicales de los talos se producían constricciones (Fig. 17 A, B) que, finalmente se desprendían.

Otro mecanismo observado fue la diferenciación de talos a partir de un disco basal. En este caso, a partir del disco de fijación de un talo adulto se desarrollaban varios talos pequeños, al principio sin ramificar y que luego crecían y se ramificaban. Estos talos permanecían unidos a su disco basal el que, a su vez, aumentaba de tamaño conforme los talos crecían (Fig. 17 C, D).

2.2- REPRODUCCIÓN SEXUAL

2.2.1- Estructuras reproductivas

En las tres especies de *Codium* estudiadas los gametangios aparecieron aproximadamente 1 cm por debajo del ápice de las ramas, distribuyéndose en todo el talo, principalmente en el tercio superior del mismo. Se formaban en utrículos jóvenes, sobre prominencias cortas y estaban separados de ellos por septos completos. Sus ápices nunca superaban el nivel apical de los utrículos y siempre nacían por debajo de la inserción de los pelos (Figs 5 A, 7 B, 38 A).

Todas las poblaciones de *C. decorticatum* y *C. vermilara* y las poblaciones de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* de Mar del Plata, San Antonio Oeste y Puerto Madryn sólo formaban gametangios femeninos, mientras que en las

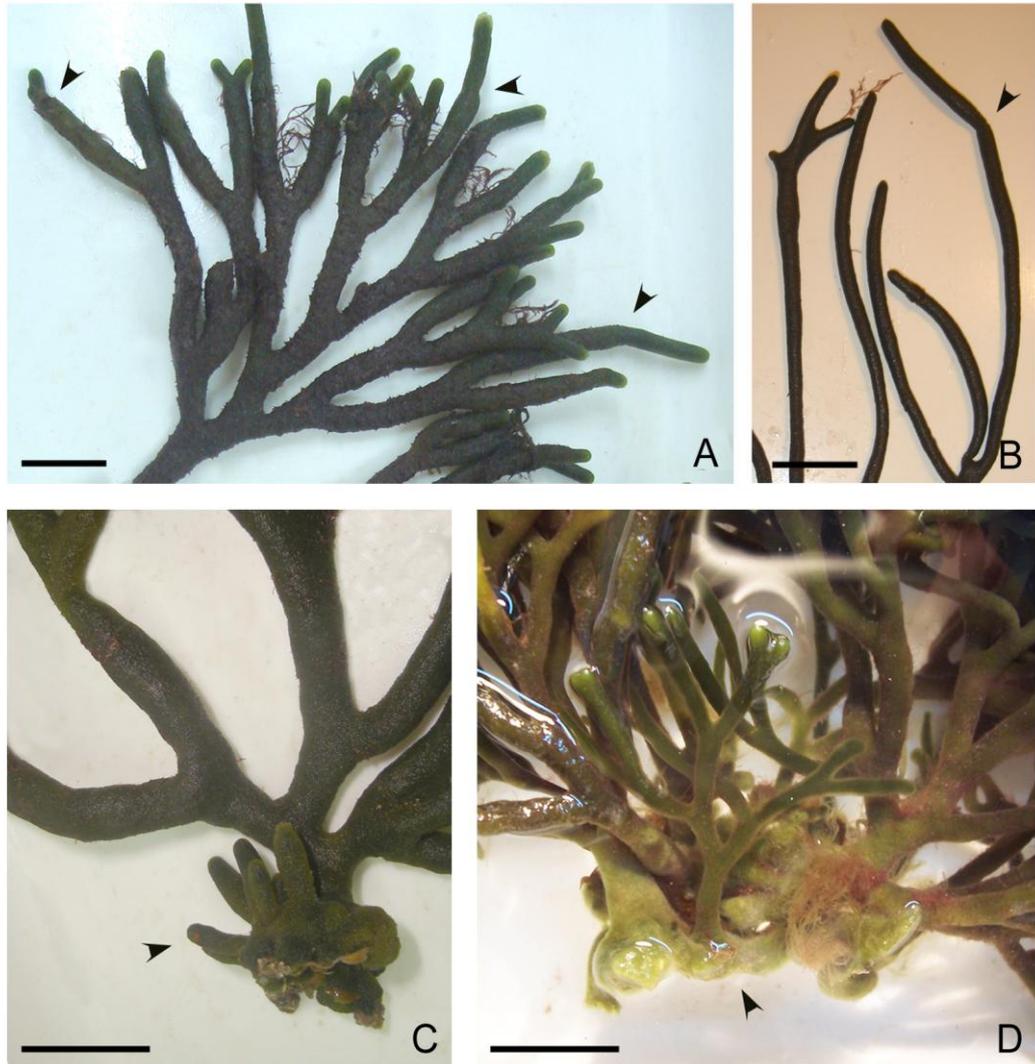


Figura 17. Reproducción asexual en las distintas especies de *Codium*. A y B: constricciones en la parte apical de las ramas (puntas de flecha); C y D: diferenciación de talos a partir del disco basal (puntas de flecha). C: talos sin ramificar; D: talos ramificados. Escala: 3 cm.

poblaciones de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* de Rawson y Bahía Bustamante se observaron tanto gametangios femeninos como masculinos (Tabla 1).

Los gametangios femeninos de *C. decorticatum* se formaban generalmente uno, a veces dos por utrículo (Figs 5 B, 23 A) y nacían a 242,5 – 590 μm (\bar{x} = 423,7 μm) del ápice del utrículo, sobre un pedicelo de 7,5 – 17,5 μm de alto (\bar{x} = 12 μm). Los mismos eran ovoides y medían 212,5 – 475 μm de largo (\bar{x} = 287,5 μm) y 30 – 137,5 μm de diámetro máximo (\bar{x} = 87 μm).

En *C. vermilara* los gametangios femeninos generalmente se formaban uno por utrículo sobre un pedicelo de 10 – 15 μm de alto (\bar{x} = 12,5 μm) (Figs 9 B, 27 A). También eran ovoides, ligeramente ensanchados en la base, de 185 – 250 μm de largo (\bar{x} = 226,8 μm) y 55 – 110 μm de diámetro (\bar{x} = 81,75 μm). Estaban localizados a 250 – 320 μm (\bar{x} = 290 μm) del ápice del utrículo.

En *C. fragile* los gametangios femeninos se formaban generalmente uno o dos por utrículo, aunque también se observaron hasta tres gametangios o sus cicatrices (Figs 7 B, 38 A). Estaban dispuestos a 600 – 700 μm del ápice del utrículo, sobre una pequeña protuberancia (Figs 7 A). Los mismos eran ovoides, de sección longitudinal elíptica y medían 264 – 520 μm de largo (\bar{x} = 377,95 μm) y 50 – 138,6 μm (\bar{x} = 96,11 μm) de diámetro máximo en la parte media. Los gametangios masculinos estaban dispuestos a 330 – 680 μm del ápice del utrículo. Eran también ovoides, medían 275 – 430 μm de largo (\bar{x} = 345,83 μm) y 70 – 100 μm (\bar{x} = 83,14 μm) de diámetro máximo en la parte media.

El mecanismo de liberación de las gametas fue similar en las tres especies. El ápice de los gametangios mostraba un engrosamiento diferenciado de la pared (Fig. 31 A). La liberación de las gametas comenzaba con la ruptura

del extremo del ápice del gametangio y la formación de un canal a través del cual salían las gametas inmersas en una masa mucilaginosa (Figs 31 B, C, 38 B). Cuando atravesaban el canal, las gametas adelgazaban para retomar su forma normal luego de ser liberadas. La expulsión de la totalidad de las gametas no tomaba más de un minuto. Una vez expulsadas, las gametas permanecían juntas e inmóviles durante 3 a 5 minutos y luego comenzaban a moverse por acción flagelar. Después de la liberación de las gametas, los gametangios, tanto femeninos como masculinos, se caían dejando una cicatriz en la pared del utrículo (Fig. 7 B).

2.2.2- Gametogénesis

Codium decortatum

Gametogénesis femenina

El desarrollo de los gametangios comenzó con la formación de una proyección en forma de mamelón en la pared del utrículo. Los progametangios eran ovoides, pequeños y de color verde pálido (Fig. 18 A). Los gametangios aumentaron progresivamente su tamaño hasta duplicarlo. Vistos al microscopio óptico, poseían una porción apical refringente y su contenido homogéneo presentaba un color verde brillante (Fig. 20 A). Los gametangios maduros eran de color verde oscuro y al microscopio óptico se podían individualizar las gametas y en la porción apical, el mucílago que acompañaría la salida de las mismas (Fig. 23 A).

Ultraestructura de la gametogénesis femenina

El proceso de gametogénesis femenina fue estudiado con microscopía electrónica de transmisión en talos de *Codium decorticatum* provenientes de Puerto Madryn, Las Grutas y Bahía San Blas.

Los progametangios mostraban una porción apical muy vacuolada (Fig. 18 B) y una porción basal en la que se encontraba el protoplasma particionado por un sistema de vesículas que formaban un retículo de aspecto fenestrado (Fig. 18 C). El protoplasma contenía núcleos en interfase con escasa heterocromatina, algunos de ellos muy próximos entre sí y con la membrana externa de ambas cariotecas en contacto (Fig. 18 D). En el citoplasma se encontraba escasa cantidad de cloroplastos pequeños y circulares en sección, con escasos tilacoides y ocupados principalmente por gránulos de almidón (Fig. 18 E). Numerosos dictiosomas se presentaban con su cara *cis* en asociación con el retículo endoplásmico rugoso y su cara *trans* con vesículas con material electrónicamente translúcido en su interior (Fig. 19 A), las que se fusionaban, formando vesículas de mayor tamaño (Fig. 19 C). Material fibrilar, ubicado entre la membrana plasmática y la pared del gametangio (Fig. 19 B, C), era volcado a estas vesículas (Fig. 19 D).

El protoplasma de los gametangios más desarrollados era más homogéneo, no particionado, comparado con el de los progametangios (Fig. 20 B). La porción apical clara estaba formada por abundante mucílago (Fig. 20 C). En la región periférica, en contacto con la pared del gametangio, se encontró gran cantidad de retículo endoplásmico liso y rugoso, dictiosomas y vesículas con un contenido electrónicamente translúcido (Fig. 20 D, E). En esa zona también había vesículas con material fibrilar que se fusionaban con la membrana

plasmática y volcaban su contenido en el espacio comprendido entre ésta y la pared del gametangio (Fig. 20 F). El resto del gametangio estaba ocupado por núcleos esféricos con heterocromatina dispersa (Fig. 21 A), a los que se asociaban sacos de retículo endoplásmico rugoso (Fig. 20 B) y numerosos y pequeños cloroplastos con escasas lamelas 2-3-tilacoidales y uno o dos gránulos grandes de almidón (Figs 20 F, 21 A, B). La pared del gametangio era más delgada que la del utrículo, de 0,6 – 0,7 μm de espesor. En este estado de desarrollo, es decir, cuando el gametangio tenía aproximadamente 2/3 de su longitud, comenzaba a formarse un anillo de pared en la base del gametangio (Fig. 21 C), que iba a separar completamente el protoplasto gametangial del utrículo, formando un septo. Este septo comenzaba a formarse a partir de porciones de citoplasma sin cloroplastos. El crecimiento se producía en forma centrípeta por el aporte de material por parte de vesículas electrónicamente claras que se congregaban en ese nivel (Fig. 21 D).

Posteriormente, en la porción apical y periférica del gametangio se formaba una gran cantidad de mucílago (Fig. 22 A). La delimitación de las gametas se produjo por la acción de vesículas electrónicamente claras (Fig. 22 E) que separaban porciones de protoplasma esféricas uninucleadas y con numerosos cloroplastos (Fig. 22 B). Algunas gametas permanecían parcialmente unidas entre sí (Fig. 22 D).

La porción apical del gametangio casi maduro estaba ocupada por un prominente tapón de mucílago, que luego se retraía desde el ápice, formando inicialmente una concavidad (Fig. 22 C) y posteriormente el canal de salida de las gametas.

Dentro de un mismo gametangio se han observado gametas en distinto grado de desarrollo: algunas parcialmente unidas con sus vecinas (Fig. 22 D), otras completamente formadas (Fig. 22 B) y gametas piriformes y esféricas recubiertas por un delgado estrato de mucílago (Fig. 24 F). Entre las gametas completamente formadas quedaban restos celulares, entre los que se observaban membranas concéntricas, vesículas y mucílago (Fig. 22 E).

Morfología de las gametas femeninas maduras

Las gametas que se liberaban de los gametangios eran piriformes y medían 12 – 16 μm de largo y 8 – 11 μm de diámetro. Poseían una papila hialina de la que emergían los flagelos y el resto de la gameta estaba ocupado por numerosos cloroplastos (Fig. 23 B).

Ultraestructura de las gametas femeninas maduras

La porción anterior de las gametas maduras estaba ocupada por un núcleo esférico, con un nucléolo homogéneo (Fig. 24 A, B, D, E). El núcleo estaba rodeado anteriormente por una mitocondria prominente con forma de V invertida en sección longitudinal (Fig. 24 B), cuyos brazos, en sección transversal, mostraban forma bicóncava (Fig. 24 C). La membrana externa de la carioteca estaba asociada en diversos puntos con varias pilas de cinco a diez sacos de retículo endoplásmico rugoso (Fig. 24 D). Próximas a la carioteca se observaban numerosas vesículas con un contenido electrónicamente denso de 0,18 – 0,37 μm de diámetro (Fig. 24 E). La mayor parte de la célula estaba

ocupada por numerosos cloroplastos discoides (Fig. 24 A, E). En este estado del desarrollo los flagelos ya estaban formados (Fig. 24 A, B).

El aparato basal de las gametas femeninas ocupaba una prominente papila y los flagelos emergían hacia atrás (Fig. 25 A). Los cuerpos basales presentaban una disposición 11/5, con sus extremos proximales solapados (Fig. 25 B). El aparato flagelar mostró 4 raicillas microtubulares. El par de raicillas “s” tenía aproximadamente 7 microtúbulos (Fig. 25 C) y el par “d” estaba formado siempre por un número menor de microtúbulos (Fig. 25 D). Las raicillas “s” descendían muy próximas a los brazos de la mitocondria que rodeaba al núcleo (Fig. 25 C, D). Los cuerpos basales estaban conectados anteriormente por una prominente placa anterior (“capping plate”) electrónicamente densa (Fig. 25 A, B), formada por dos mitades unidas en su parte media por un material de la misma densidad electrónica (Fig. 25 E-F). Además cada cuerpo basal estaba asociado lateralmente con un cuerpo electrónicamente denso (“lateral body”) (Fig. 25 B, flechas) y apicalmente con un casquete terminal (“terminal cap”), que consistía en dos subunidades dispuestas perpendicularmente una con otra; una subunidad ocluía el extremo proximal del cuerpo basal y la otra se disponía sobre la superficie anterior del mismo (Fig. 25 A, E, H). Una vaina proximal se presentaba en la superficie posterior de cada cuerpo basal (Fig. 25 E, F, G, H).

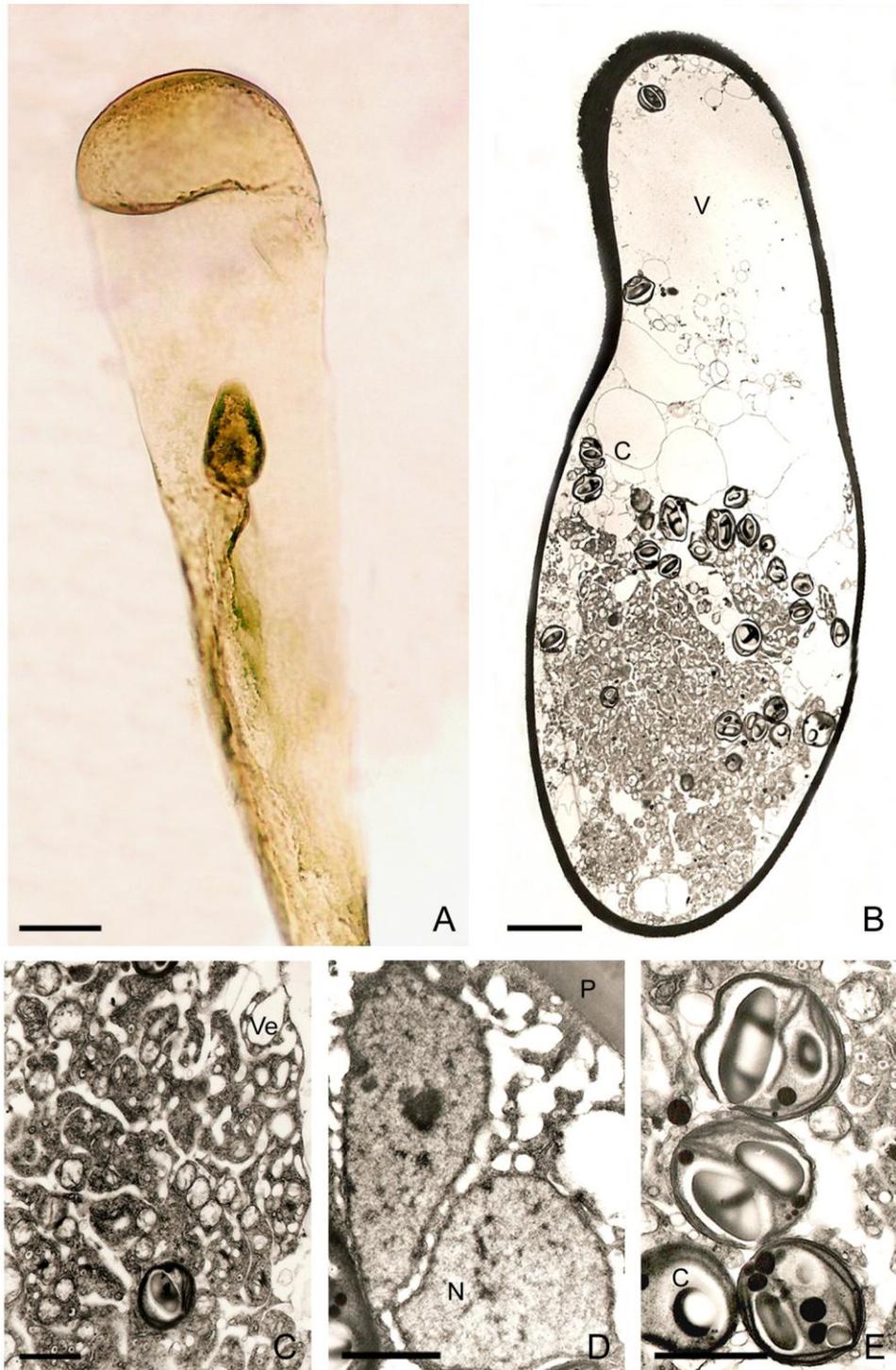


Figura 18. Gametogénesis femenina de *Codium decortcatum*. A: vista de un progametangio; B: corte longitudinal de un progametangio formado por una porción apical vacuolada y una basal ocupada por el citoplasma; C: detalle del citoplasma basal particionado; D: detalle de dos núcleos con las membranas de sus cariotecas en contacto; E: detalle de cloroplastos. A: fotomicrografía óptica; B-E: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 150 μm ; B = 5 μm ; C-E = 1,5 μm . C: cloroplasto; N: núcleo; P: pared del gametangio; V: vacuola; Ve: vesículas.

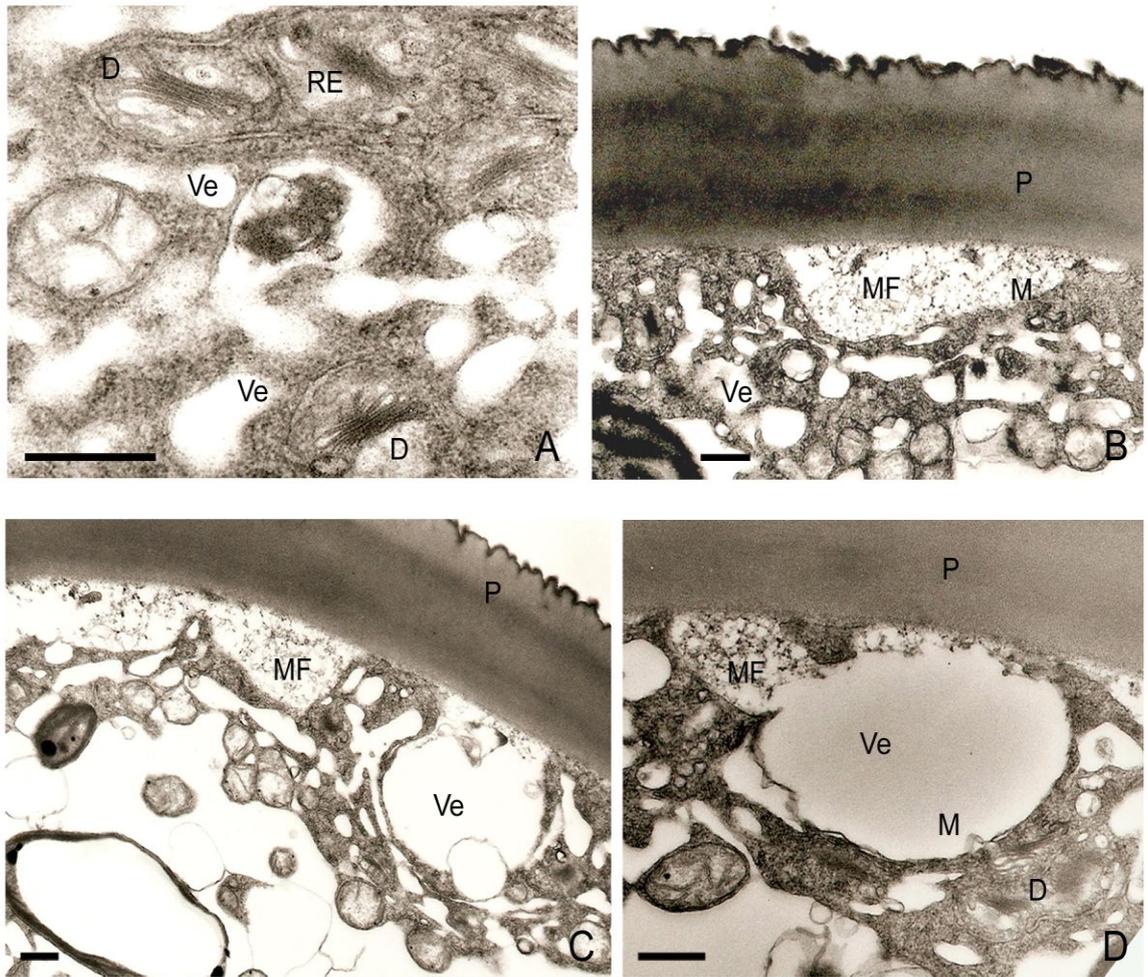


Figura 19. Gametogénesis femenina de *Codium decorticatum*. A: detalle de dictiosomas y retículo endoplásmico rugoso asociado; B: material fibrilar entre la membrana plasmática y la pared; C: vesículas que se fusionan para formar vesículas mayores; D: el material fibrilar es volcado a las vesículas entre la membrana plasmática y la pared del gametangio. A-D: fotomicrografías electrónicas. Escala: 0,5 μ m. D: dictiosomas; M: membrana plasmática; MF: material fibrilar; P: pared del gametangio; RE: retículo endoplásmico rugoso; Ve: vesículas.

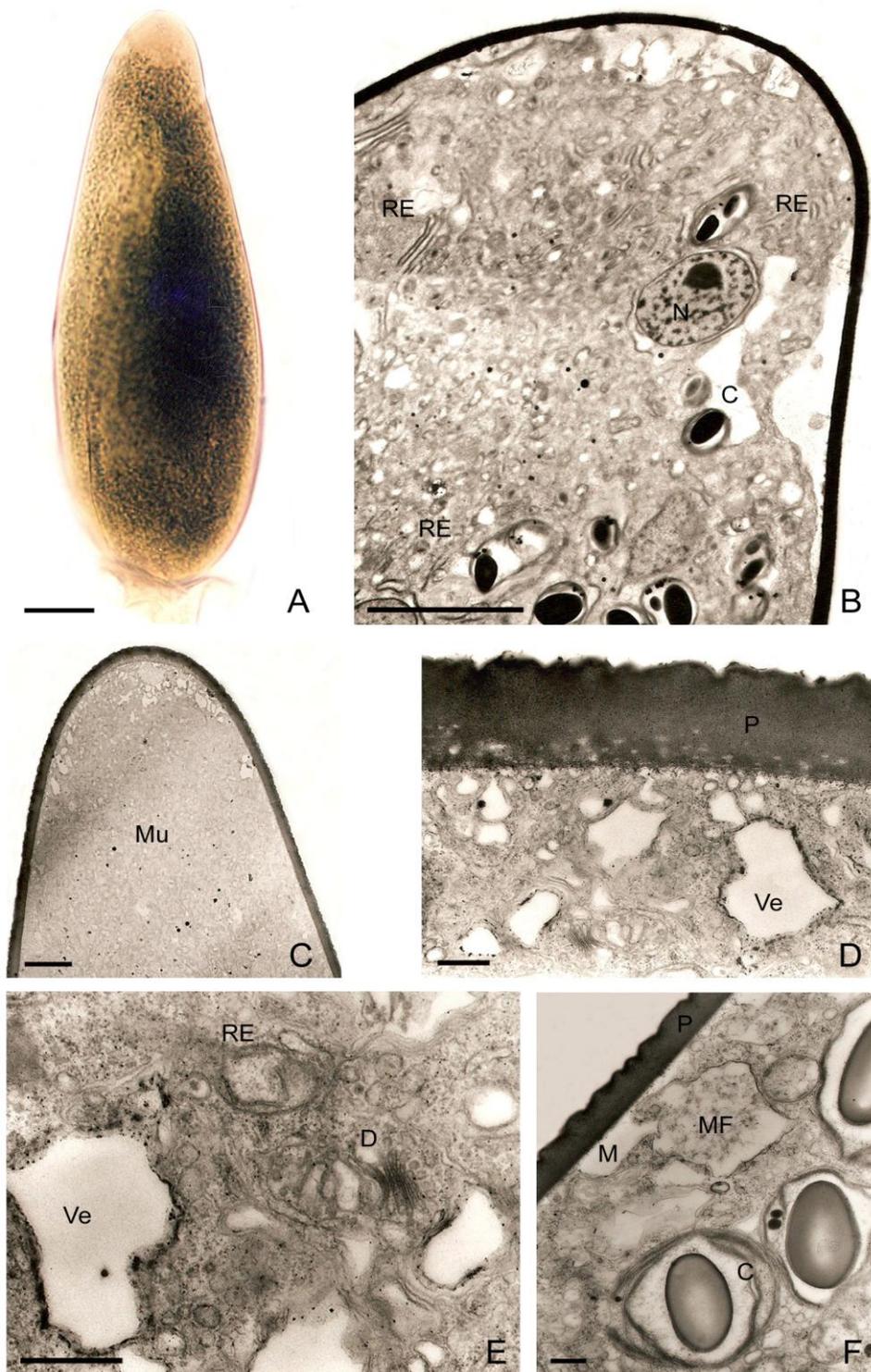


Figura 20. Gametogénesis femenina de *Codium decorticatum*. A: gametangio inmaduro; B: citoplasma del gametangio inmaduro; C: porción apical del gametangio con abundante mucílago; D: vista del citoplasma periférico; E: detalle de dictiosomas, retículo endoplásmico rugoso y vesículas; F: liberación de mucílago entre el plasmalema y la pared. A: fotomicrografía óptica; B-F: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 20 μm ; B, C = 5 μm ; D-F = 0,5 μm . C: cloroplasto; D: dictiosomas; M: membrana plasmática; MF: material fibrilar; Mu: mucílago; N: núcleo; P: pared del gametangio; RE: retículo endoplásmico; Ve: vesículas.

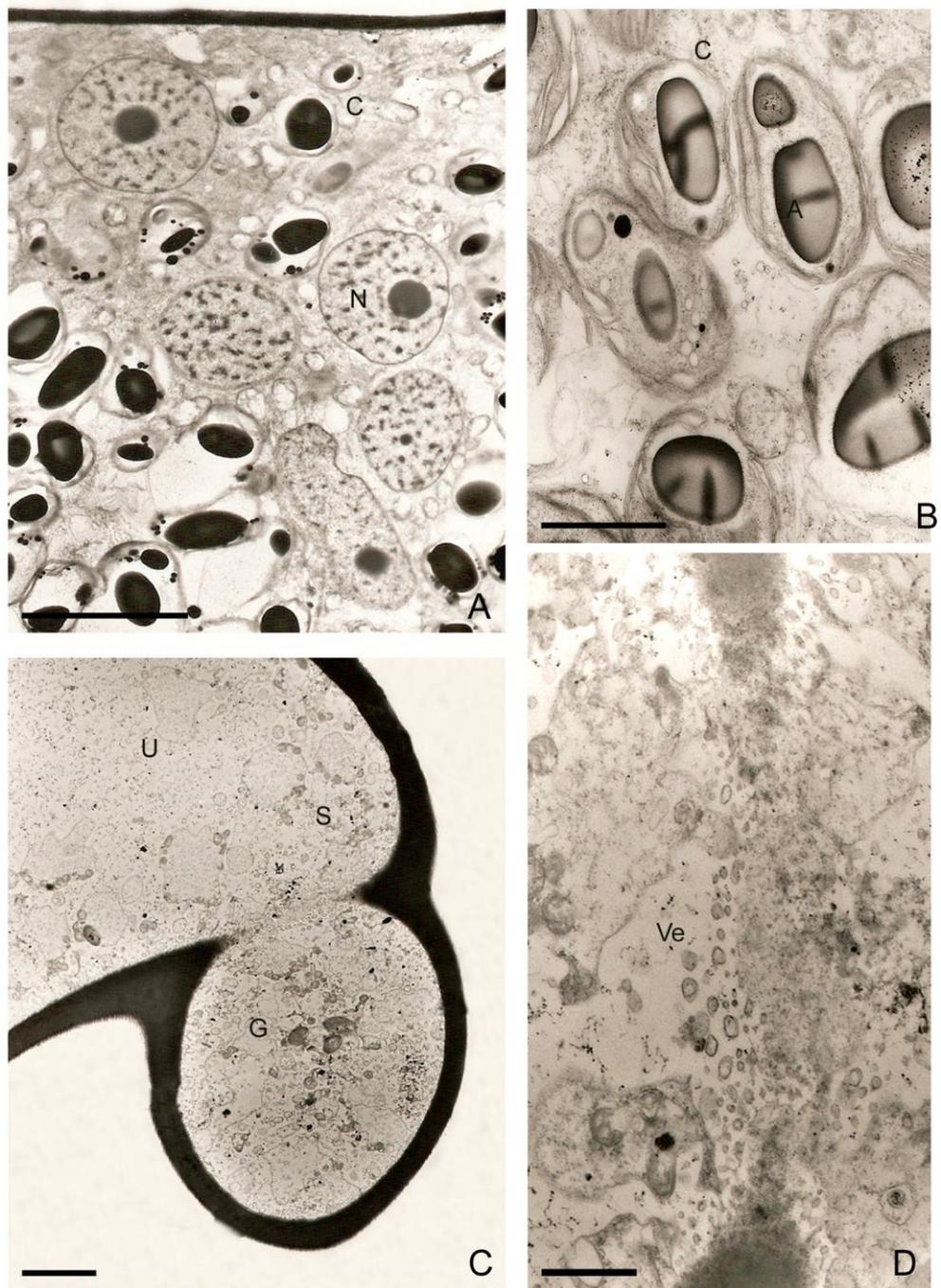


Figura 21. Gametogénesis femenina de *Codium decorticatum*. A: gametangio con numerosos núcleos en interfase; B: detalle de los cloroplastos con escasos tilacoides; C: inicio de formación del septo que va a separar el gametangio del utrículo; D: detalle de las vesículas que formarán el septo. A-D: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, C = 5 μm ; B, D = 1,5 μm . A: almidón; C: cloroplasto; G: gametangio; N: núcleo; S: septo; U: utrículo; Ve: vesículas.

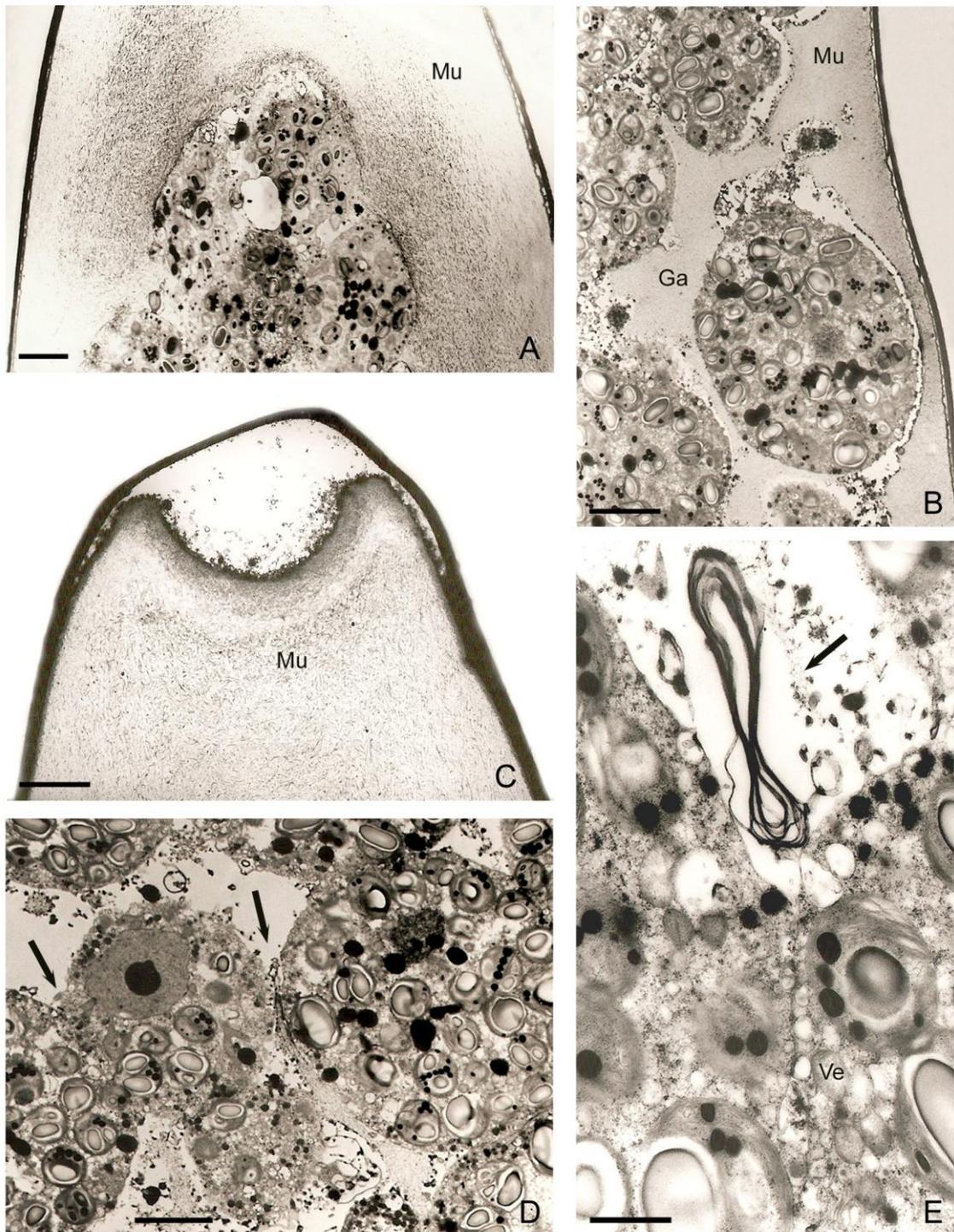


Figura 22. Gametogénesis femenina de *C. decorticatum*. A: porción apical y periférica del gametangio con mucílago; B: gametas en formación rodeadas de gran cantidad de mucílago; C: mucílago retraído en el canal de salida de las gametas; D: gametas parcialmente unidas (flechas); E: vesículas alineadas durante la separación de las gametas. La flecha señala un lomasoma. A-E: fotomicrografías electrónicas. Escala: A-D = 4 μ m; E = 1 μ m. Ga: gameta; Mu: mucílago; Ve: vesículas.

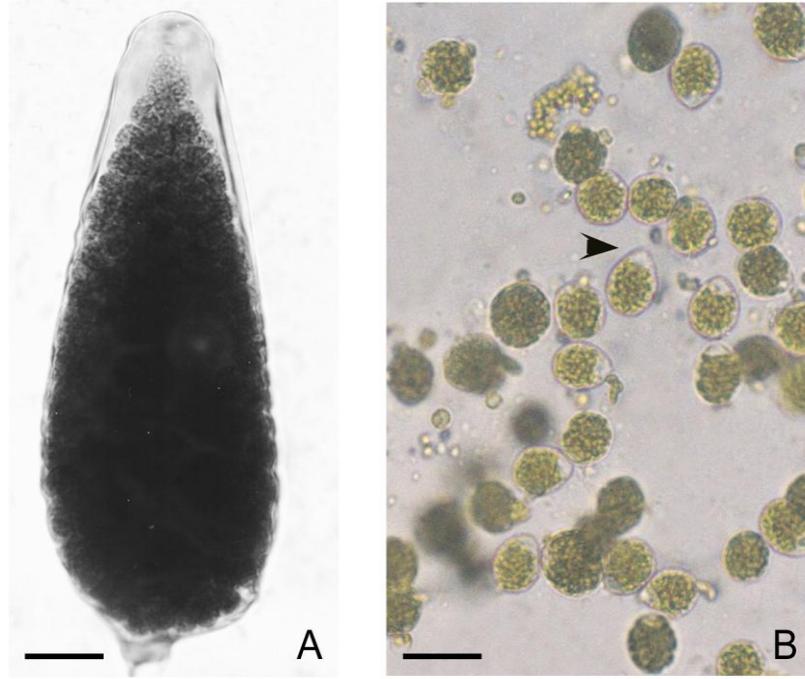


Figura 23. *Codium decorticatum*. A: gametangio con gametas maduras próximas a ser liberadas; B: gametas femeninas recién liberadas. La punta de flecha señala una papila apical. A-B: fotomicrografías ópticas. Escala: A = 50 μm ; B = 16 μm .

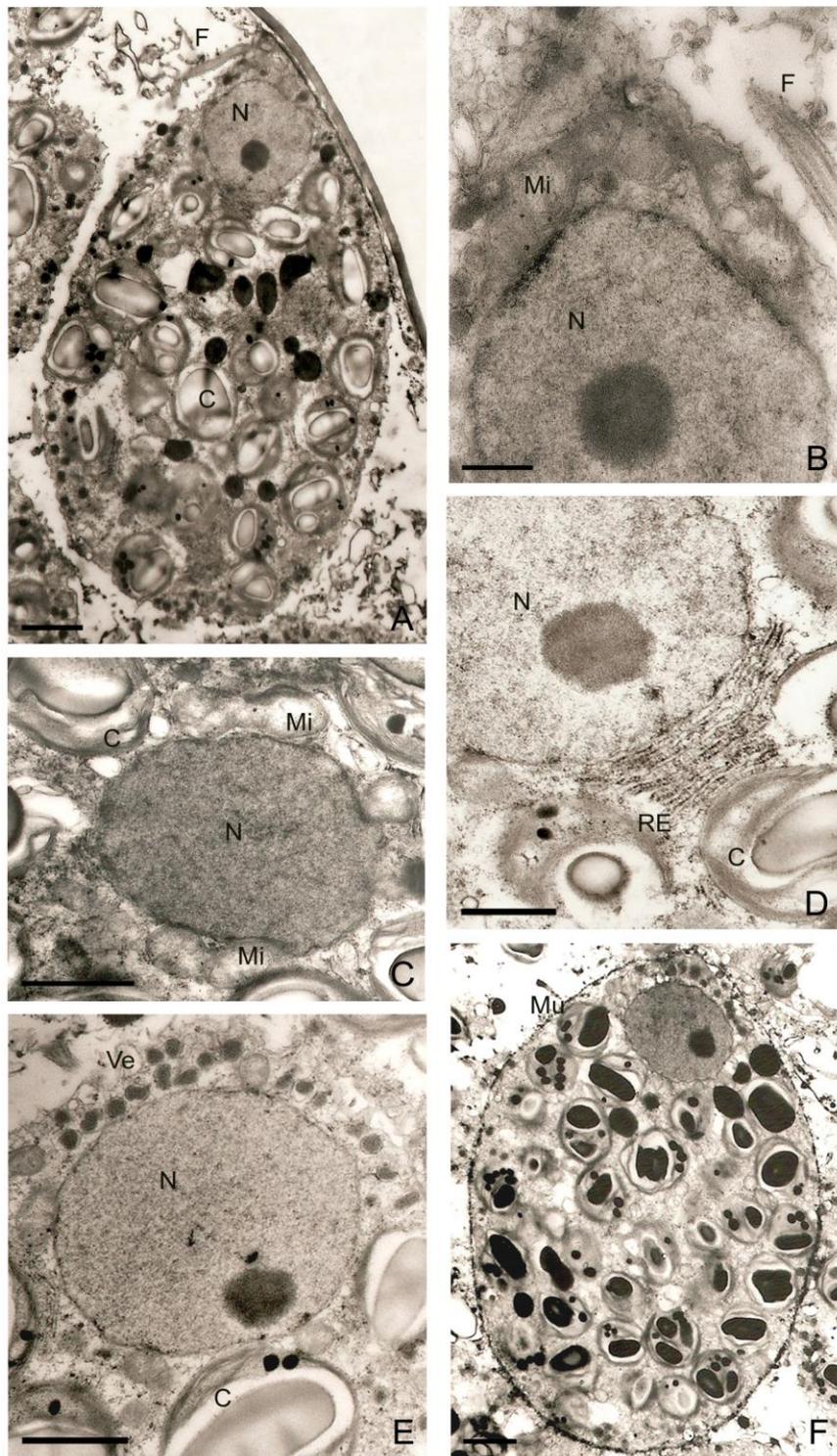


Figura 24. Ultraestructura de la gameta femenina de *C. decortatum*. A: vista general de una gameta femenina; B: detalle del núcleo con la mitocondria en forma de V invertida; C: corte transversal de la mitocondria en forma de disco bicóncavo; D: detalle de la asociación del RE con la carioteca; E: vesículas con contenido electrónicamente denso asociadas al núcleo; F: gameta piriforme con una cubierta delgada de mucílago. A-F: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, C-F = 1,5 μ m; B = 0,5 μ m. C: cloroplasto; F: flagelo; Mi: mitocondria; Mu: mucílago; N: núcleo; RE: retículo endoplásmico; Ve: vesículas.

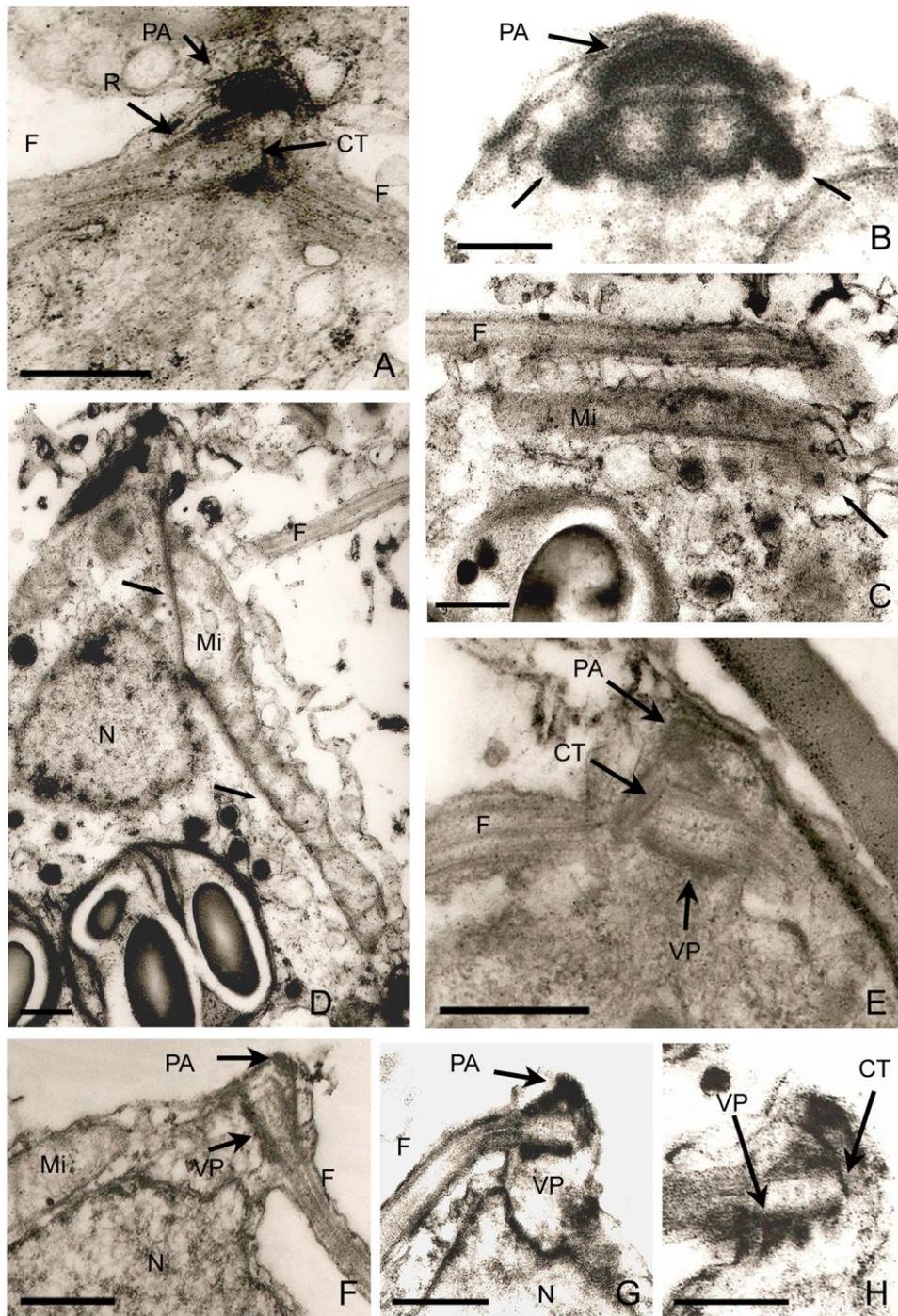


Figura 25. Aparato flagelar de la gameta femenina de *Codium decorticatum*. A: papila de la que emergen los flagelos; notar la placa anterior y el casquete terminal; B: cuerpos basales con sus extremos proximales solapados y conectados anteriormente por una placa anterior; las flechas indican los cuerpos laterales; C: detalle de la raicilla microtubular de mayor número de microtúbulos (flecha); D: la raicilla microtubular de menor número de microtúbulos desciende acompañando la mitocondria (flechas); E: detalle de los casquetes terminales dispuestos en forma perpendicular; vaina proximal y placa anterior; F, G: detalle de la vaina proximal y placa anterior; H: detalle de la vaina proximal y casquetes terminales. A-H: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, B, D-H = 0,5 μ m; C = 0,25 μ m. CT: casquete terminal; F: flagelo; Mi: mitocondria; N: núcleo; PA: placa anterior; R: raicilla; VP: vaina proximal.

Codium vermilara

Gametogénesis femenina

Algunos estadios de la gametogénesis femenina también fueron observados con microscopio electrónico de transmisión en talos de *C. vermilara* provenientes de Las Grutas y Bahía Bustamante. Al igual que en *C. decorticutum*, el extremo apical del gametangio presentaba abundante mucílago (Fig. 26 A). En uno de los estadios iniciales las gametas todavía se encontraban parcialmente unidas entre sí y estaban delimitadas por espacios electrónicamente translúcidos, ocupados por mucílago y restos celulares (Fig. 26 B). En estas gametas se podían diferenciar el núcleo anterior, con escasa heterocromatina, una mitocondria flanqueando al núcleo y numerosos cloroplastos (Fig. 26 C, D).

En un estadio más avanzado, el extremo apical de los gametangios maduros estaba lleno de mucílago (Fig. 27 D) y las gametas se encontraban completamente separadas unas de otras y bien diferenciadas (Fig. 27 D-F).

Morfología de las gametas femeninas maduras

Las gametas liberadas (Fig. 27 B, C), vistas con el microscopio óptico, presentaban una coloración verde debido a la presencia de cloroplastos y en la porción apical, una papila refringente. Eran piriformes, biflageladas y medían 14 – 20 μm (\bar{x} = 16 μm) de largo por 8 – 12 μm (\bar{x} = 10,8 μm) de diámetro.

Ultraestructura de las gametas femeninas maduras

Al igual que en *C. decortdatum*, en la porción anterior de las gametas se encontraba un núcleo con abundante heterocromatina, un nucléolo y una gran mitocondria con forma de V invertida en sección longitudinal, por encima del núcleo (Fig. 27 E, F). Los cloroplastos eran esférico-ovoides y poseían escasas lamelas 2-3-tilacoidales (Fig. 27 E, F). El aparato flagelar no fue observado en detalle.

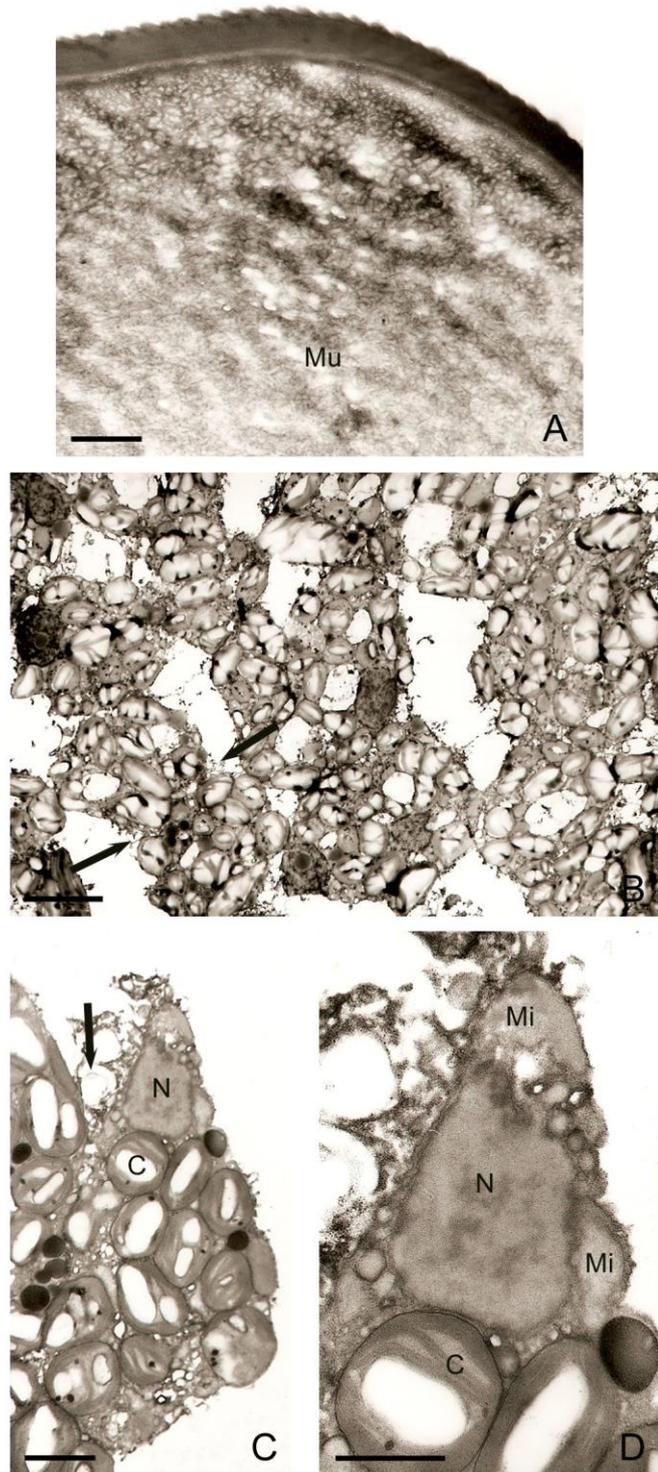


Figura 26. Gametogénesis femenina de *Codium vermilara*. A: extremo apical del gametangio lleno de mucílago; B: gametas femeninas parcialmente unidas (flechas); C: vista general de una gameta femenina piriforme todavía unida a sus vecinas (flecha); D: detalle de la porción apical de la gameta. A-D: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, C = 1,5 μm ; B = 4 μm ; D = 1 μm . C: cloroplasto; Mi: mitocondria; Mu: mucílago; N: núcleo.

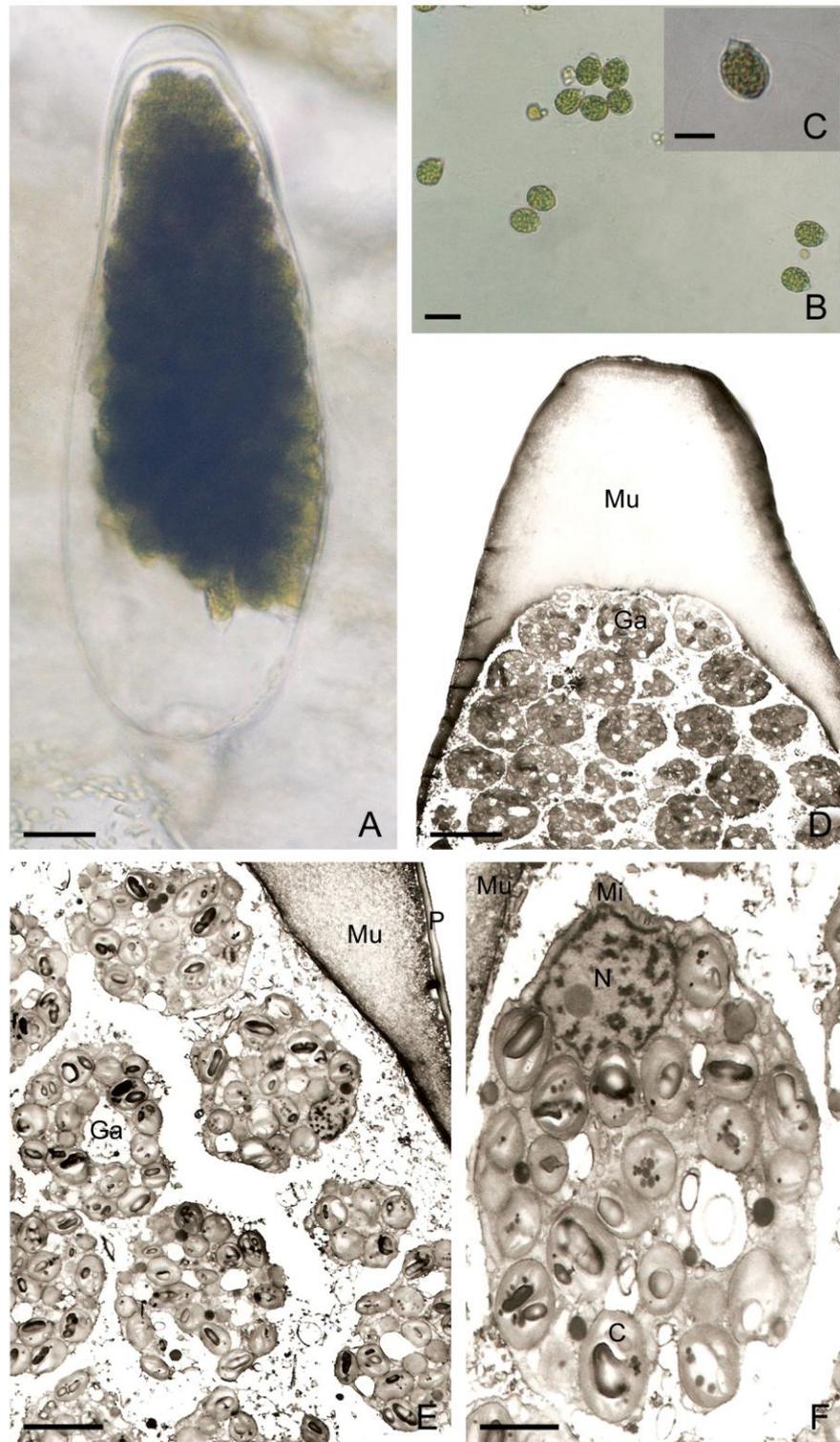


Figura 27. Gameta femenina de *Codium vermilara*. A: gametangio maduro; B: gametas recién liberadas; C: detalle de una gameta; D: ápice del gametangio maduro lleno de mucílago; E: vista del gametangio con gametas maduras; F: gameta madura. A-C: fotomicrografías ópticas; D-F: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, B = 20 μm ; C, D = 10 μm ; E = 4 μm ; F = 1,5 μm . C: cloroplasto; Ga: gameta; Mi: mitocondria; Mu: mucílago; N: núcleo; P: pared del gametangio.

Codium fragile* subsp. *novae-zelandiae

En *C. fragile* se observaron tanto gametangios femeninos como masculinos.

Gametogénesis femenina

Los gametangios femeninos, ovoides, cuando maduros presentaron un contenido verde oscuro correspondiente a las gametas y el extremo apical hialino ocupado por abundante mucílago estratificado (Figs 7 A, 31 A). La pared del gametangio medía 0,55 – 1 μm de espesor.

Ultraestructura de la gametogénesis femenina

La ultraestructura del proceso de gametogénesis femenina fue estudiada en talos provenientes de Puerto Pirámides. En gametangios de 200 μm de largo aproximadamente (Fig. 28 A), el protoplasma estaba particionado en pequeñas porciones uninucleadas, con varios cloroplastos fusiformes en sección y escasos tilacoides y con un único gránulo de almidón que ocupaba casi todo su volumen (Fig. 28 B), dictiosomas, retículo endoplásmico, vesículas con contenido electrónicamente denso y vesículas con contenido electrónicamente claro (Fig. 28 C). Los núcleos poseían heterocromatina dispersa y un nucléolo que, en algunos casos, mostraba un espacio electrónicamente claro, circular o con forma de anillo en una sección media, de menor densidad electrónica (Fig. 28 D, E). Se observaba una asociación entre la carioteca y el retículo endoplásmico rugoso (Fig. 28 E). En este estadio de la gametogénesis, todavía no se había formado el septo que separaría finalmente el gametangio del utrículo (Fig. 28 F). En la zona

de formación del septo se observaban porciones de citoplasma con abundante retículo endoplásmico rugoso, dictiosomas y vesículas con el centro electrónicamente denso, derivadas de la cara *trans* de los dictiosomas (Fig. 28 G).

En un estadio posterior, en el que los gametangios alcanzaban 250 μm de largo aproximadamente (Fig. 29 A), se observó un mayor número de cloroplastos (Fig. 29 B). Los núcleos, dictiosomas, retículo endoplásmico y mitocondrias estaban ubicados fundamentalmente en la región periférica, cercanos a la pared del gametangio (Fig. 29 C). Los dictiosomas y el retículo endoplásmico estaban en estrecha asociación con el núcleo (Fig. 29 D). El resto del gametangio era más vacuolado (Fig. 29 C).

En este estadio se observaban tanto núcleos en interfase (Fig. 29 C) como en división. La carioteca era persistente durante toda la división y no se presentaban centríolos (Fig. 30 A-H). En profase temprana los núcleos aumentaban de tamaño de 4,55 μm de largo por 2,5 μm de ancho a 6,9 μm de largo por 4 μm de ancho (Fig. 30 A, D, H). En profase tardía los núcleos eran ovoides. En este estado el nucléolo desaparecía (Fig. 30 A). En algunos núcleos profásicos se observaron zonas electrónicamente densas dispuestas en forma paralela, en general asociadas a la carioteca (Fig. 30 B, C). Cada línea medía aproximadamente 0,04 μm de espesor y las dos líneas estaban separadas por un espacio de 0,02 μm . Posteriormente, los núcleos empezaban a hacerse fusiformes; llegando a medir 5,8 – 8,9 μm de largo por 3,2 – 4,4 μm de ancho en la parte central. En metafase tardía-anafase temprana se observaban numerosos microtúbulos del huso y cinetocóricos (Fig. 30 D, H). En esta etapa la carioteca presentaba dos fenestras polares por las que emergían microtúbulos del huso

(Fig. 30 D, E). A partir de cortes seriados de 10 núcleos, se pudieron contar hasta 20 cromosomas empezando a separarse (Fig. 30 F, H). En algunos de estos núcleos se observó una estructura de mayor densidad electrónica, de 0,9 μm de diámetro, con una porción central de una densidad electrónica similar a la de los cromosomas (Fig. 30 G). En el citoplasma, próximos a la carioteca, se observaron numerosos perfiles mitocondriales, retículo endoplásmico rugoso (Fig. 30 E-G), dictiosomas y vesículas con contenido electrónicamente denso, derivadas de la cara *trans* de los dictiosomas.

Morfología de las gametas femeninas maduras

Las gametas femeninas de *C. fragile* se liberaban por ruptura del extremo apical de la pared del gametangio maduro, acompañadas por abundante mucílago (Fig. 31 B, C). Se observó la liberación masiva de gametas femeninas piriformes, de color verde oscuro, de 15 μm de largo por 10 - 11 μm de diámetro, con el extremo anterior hialino del que emergían los dos flagelos (Fig. 31 D).

Ultraestructura de las gametas femeninas maduras

La ultraestructura de las gametas femeninas de *C. fragile* coincidió con la descrita para las gametas femeninas de *C. decorticatum* (Fig. 33 A).

Partenogénesis de las gametas femeninas

La germinación partenogenética de las gametas femeninas fue observada en talos femeninos provenientes de Las Grutas y Bahía Bustamante.

Tras la liberación al medio, luego de unos minutos de movilidad, las gametas femeninas perdían sus flagelos, se redondeaban y se rodeaban de mucílago (Fig. 32 A). Luego las células progresivamente aumentaban de tamaño (Fig. 32 B-D) y se alargaban, para formar plántulas que podían llegar a medir, después de 3 días, 30 – 32 μm de largo por 24 – 27,5 μm de ancho (Fig 32 E). En cultivo, luego de aproximadamente una semana, estas plántulas se desorganizaban.

Ultraestructuralmente se observó la germinación intragametangial. En el inicio se formó una delgada capa de mucílago alrededor de las gametas (Fig. 33 A). Luego, cuando estas habían alcanzado forma esférica y tamaños de 11 – 13 μm de diámetro, se observó la síntesis de la pared celular con aspecto fibrilar, por debajo del estrato de mucílago (Fig. 33 B). En este estadio se presentaban numerosas vesículas electrónicamente claras, próximas al plasmalema, que protruían en el espacio periplasmático (Fig. 33 C, D). Las células poseían un núcleo central con uno o dos nucléolos (Fig. 33 B), sacos de retículo endoplásmico rugoso ordenados en hileras y asociados en diversos puntos con la membrana externa de la carioteca (Fig. 33 F) y peroxisomas esféricos de 1,8 μm de diámetro, con inclusiones paracristalinas (Fig. 33 E). Gran parte del citoplasma estaba ocupado por retículo endoplásmico (Fig. 33 C, F), numerosos cloroplastos fusiformes, con lamelas 2-3-tilacoidales ordenadas, gránulos de almidón y glóbulos lipídicos pequeños (Fig. 33 B, E, F). Luego siguió un estadio en el cual las células se alargaban, el núcleo migraba a una ubicación lateral (Fig. 34 A, B) y se observaban cloroplastos en división (Fig. 34 C, flechas). La germinación intragametangial fue sincrónica (Fig. 34 A-C) para todas las gametas de un mismo gametangio.

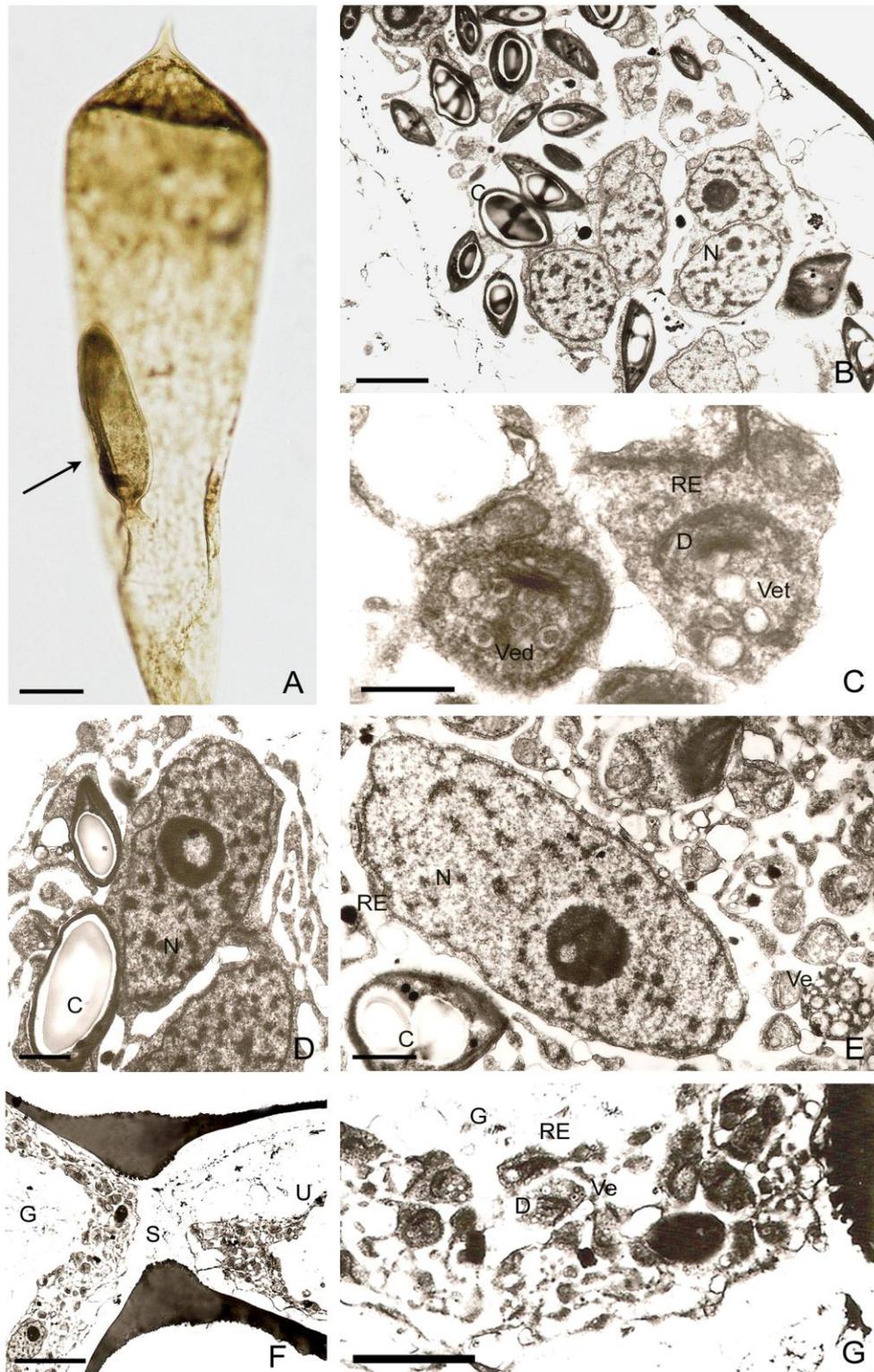


Figura 28. Gametogénesis femenina de *C. fragile*. A: gametangio inmaduro; B: citoplasma particionado; C: porciones de citoplasma con dictiosomas, RE y vesículas; D: detalle de un núcleo con el nucléolo vacuolado; E: núcleo con RER asociado a la carioteca; F: sector donde se formará el septo entre gametangio y utrículo; G: detalle de vesículas, dictiosomas, RER asociados a la formación del septo. A: fotomicrografía óptica; B-G: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 70 μm ; B, G = 2,5 μm ; C = 0,5 μm ; D, E = 1 μm ; F = 6 μm . D: dictiosomas; G: gametangio; N: núcleo; RE: retículo endoplásmico; S: septo; U: utrículo; Ve: vesículas; Ved: vesículas densas; Vet: vesículas translúcidas.

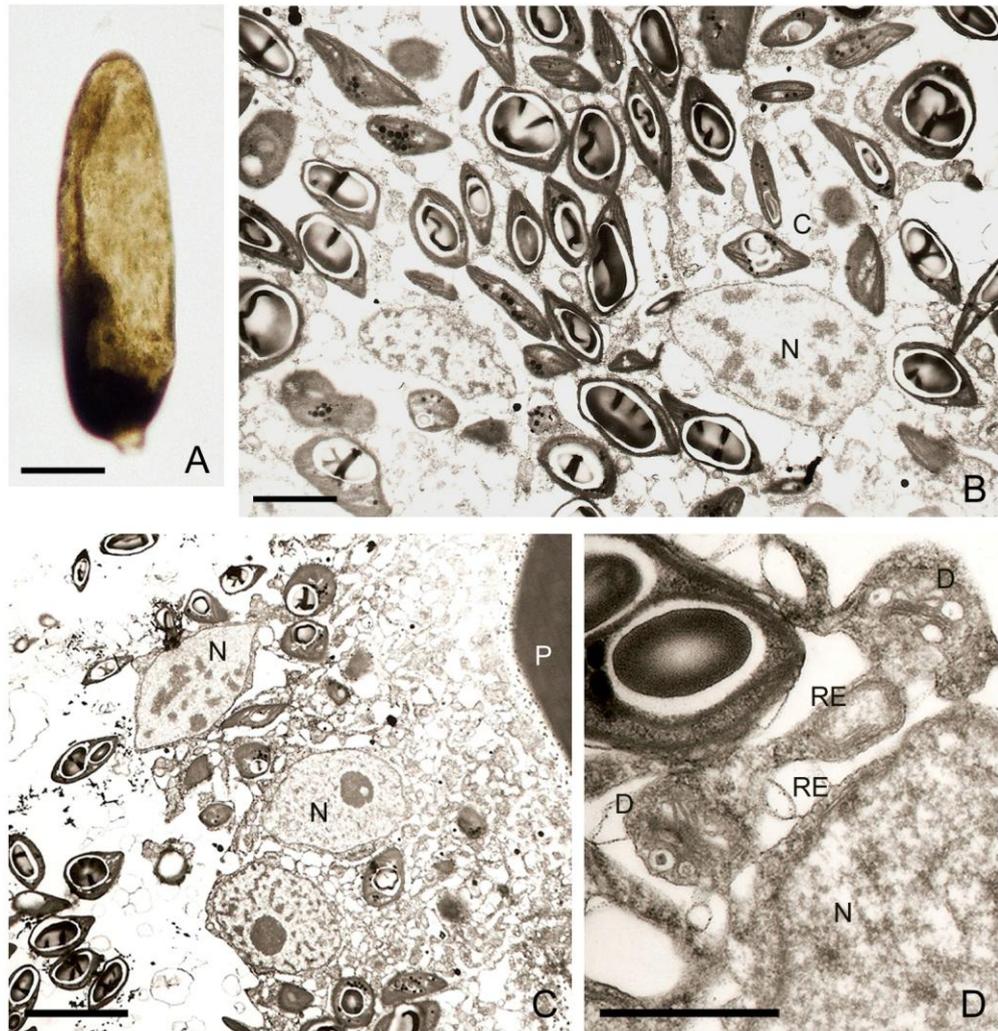


Figura 29. Gametogénesis femenina de *Codium fragile*. A: gametangio inmaduro; B: citoplasma con núcleos y gran cantidad de cloroplastos fusiformes; C: citoplasma cercano a la pared del gametangio con gran cantidad de núcleos en interfase y en división; D: detalle de la asociación de dictiosomas y RER con la carioteca. A: fotomicrografía óptica; B-D: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 60 μm ; B = 2 μm ; C = 5 μm ; D = 1 μm . C: cloroplasto; D: dictiosomas; N: núcleo; P: pared del gametangio; RE: retículo endoplásmico rugoso.

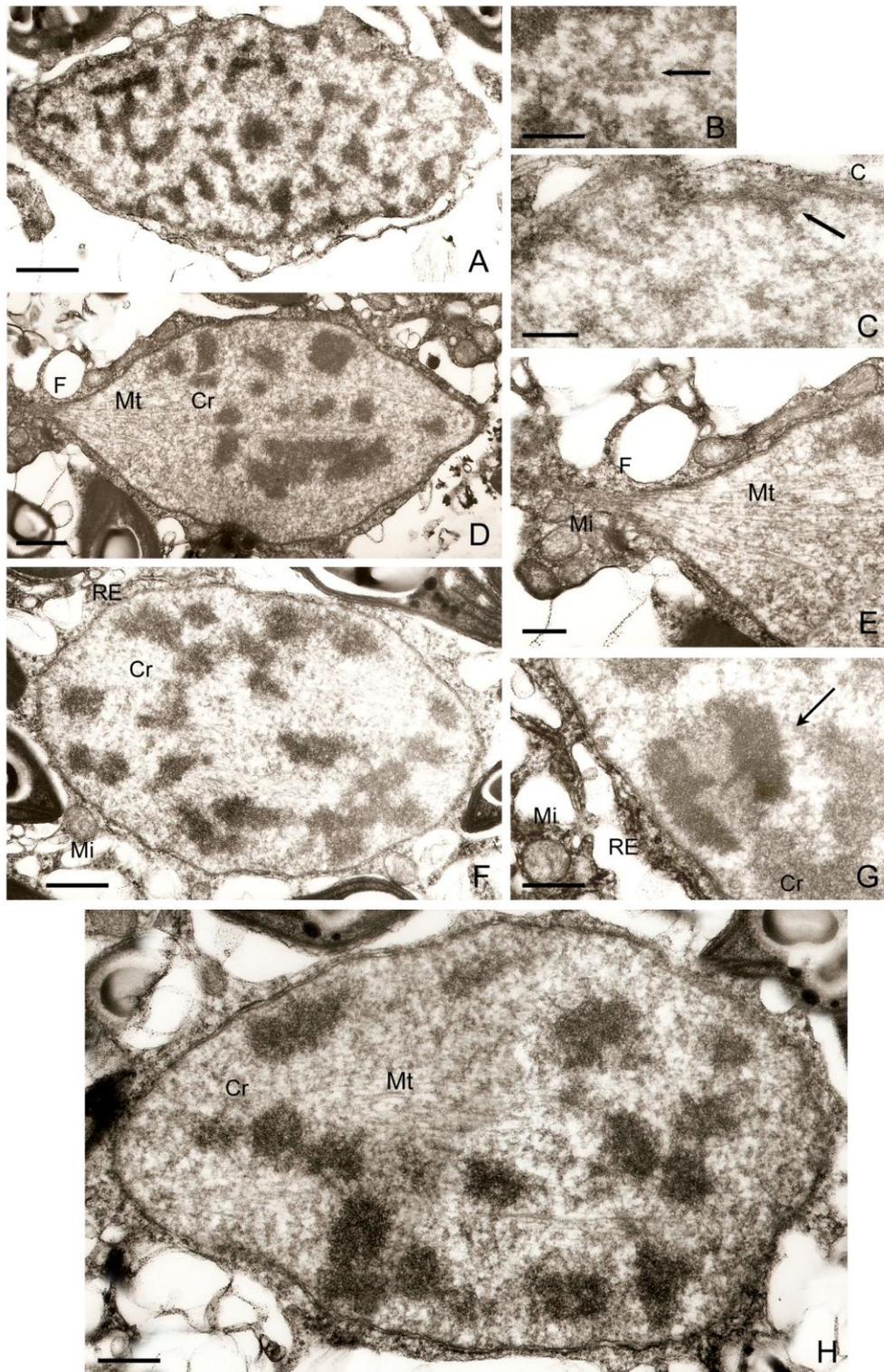


Figura 30. Gametogénesis femenina de *C. fragile*. A: núcleo en profase; B y C: pares de líneas electrónicamente densas (flechas); D: núcleo en metafase tardía-anafase temprana; E: fenestra polar por la que emergen microtúbulos del huso; F: metafase tardía-anafase temprana; G: estructura de mayor densidad electrónica que los cromosomas (flecha); H: núcleo en metafase tardía-anafase temprana. F, H: cortes seriados no consecutivos. A-H: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, D, F=1 μm ; B, C= 0,25 μm ; E, G, H=0,5 μm . C: carioteca; Cr: cromosoma; F: fenestra polar; Mi: mitocondria; Mt: microtúbulos; RE: retículo endoplásmico.

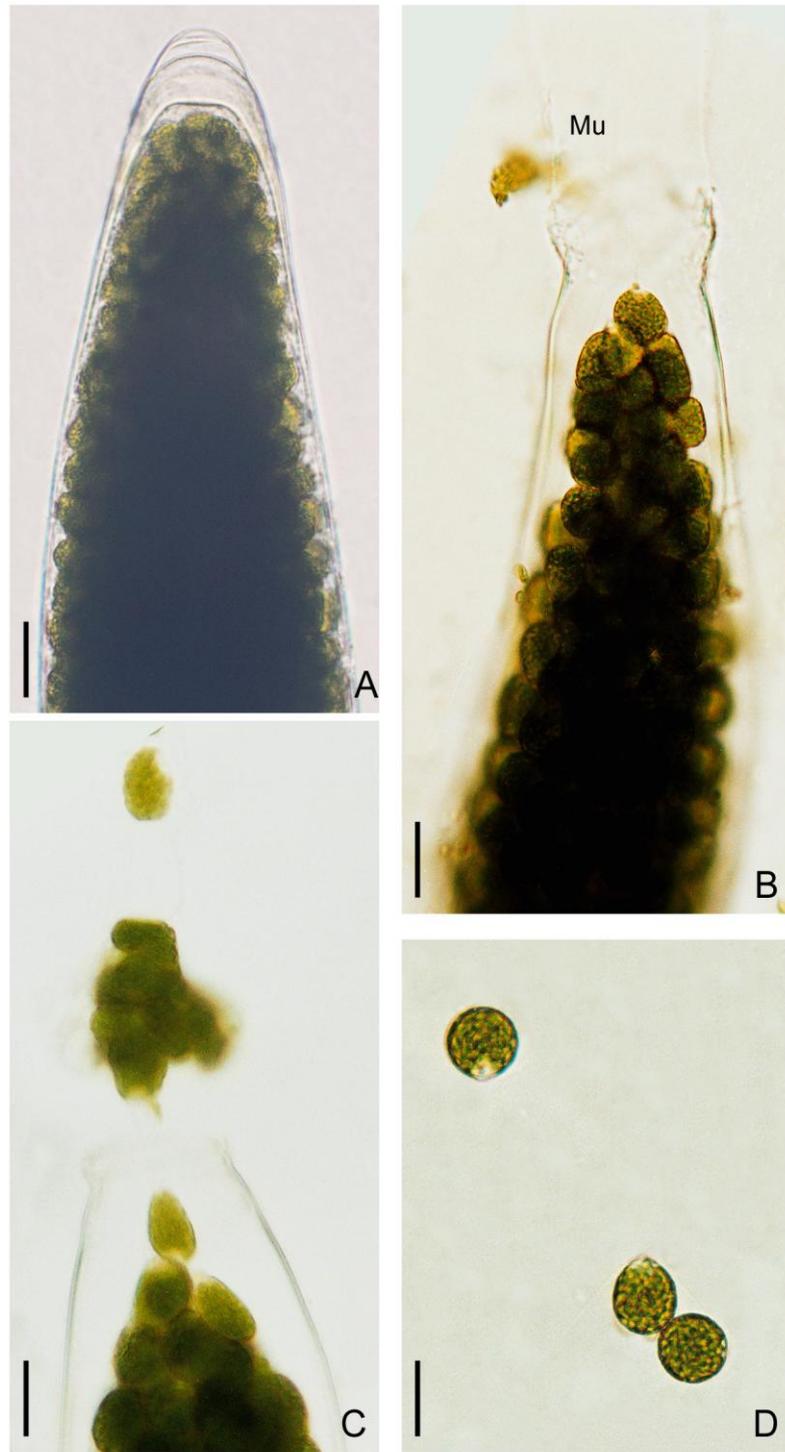


Figura 31. Gametas femeninas de *Codium fragile*. A: gametangio maduro previo a la salida de las gametas; B: salida de las gametas acompañadas por abundante mucílago; C: detalle de la porción apical; D: gametas femeninas recién liberadas. A-D: fotomicrografías ópticas. Escala: A, B = 25 μ m; C, D = 15 μ m. Mu: mucílago.

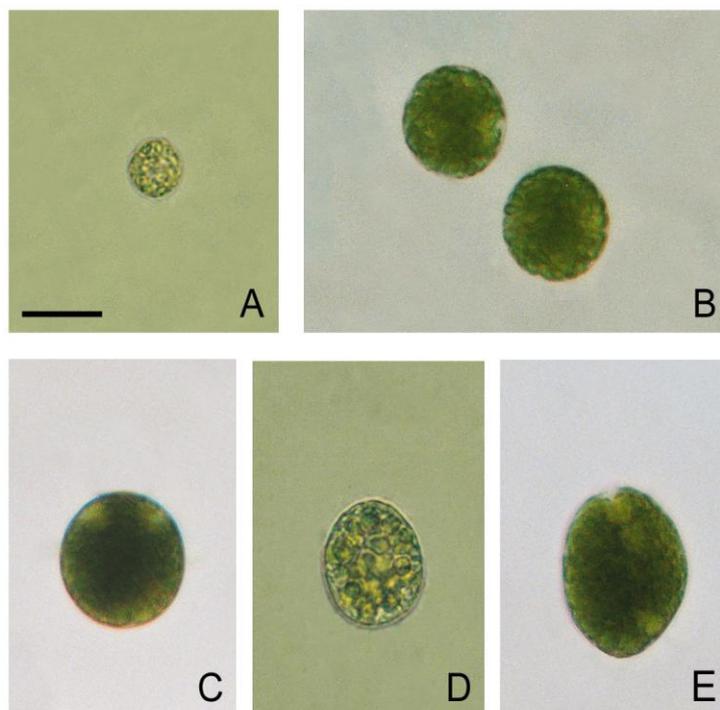


Figura 32. Reproducción asexual: partenogénesis de gametas femeninas de *Codium fragile*. A: gameta partenogénica de 16 μm ; B: gameta de 22,5 μm ; C: gameta de 27,5 μm ; D: plántula de 32 μm de largo por 24 μm de ancho; E: plántula de 32 μm de largo por 27,5 μm de ancho. A-E: fotomicrografías ópticas. Escala: A-E = 20 μm .

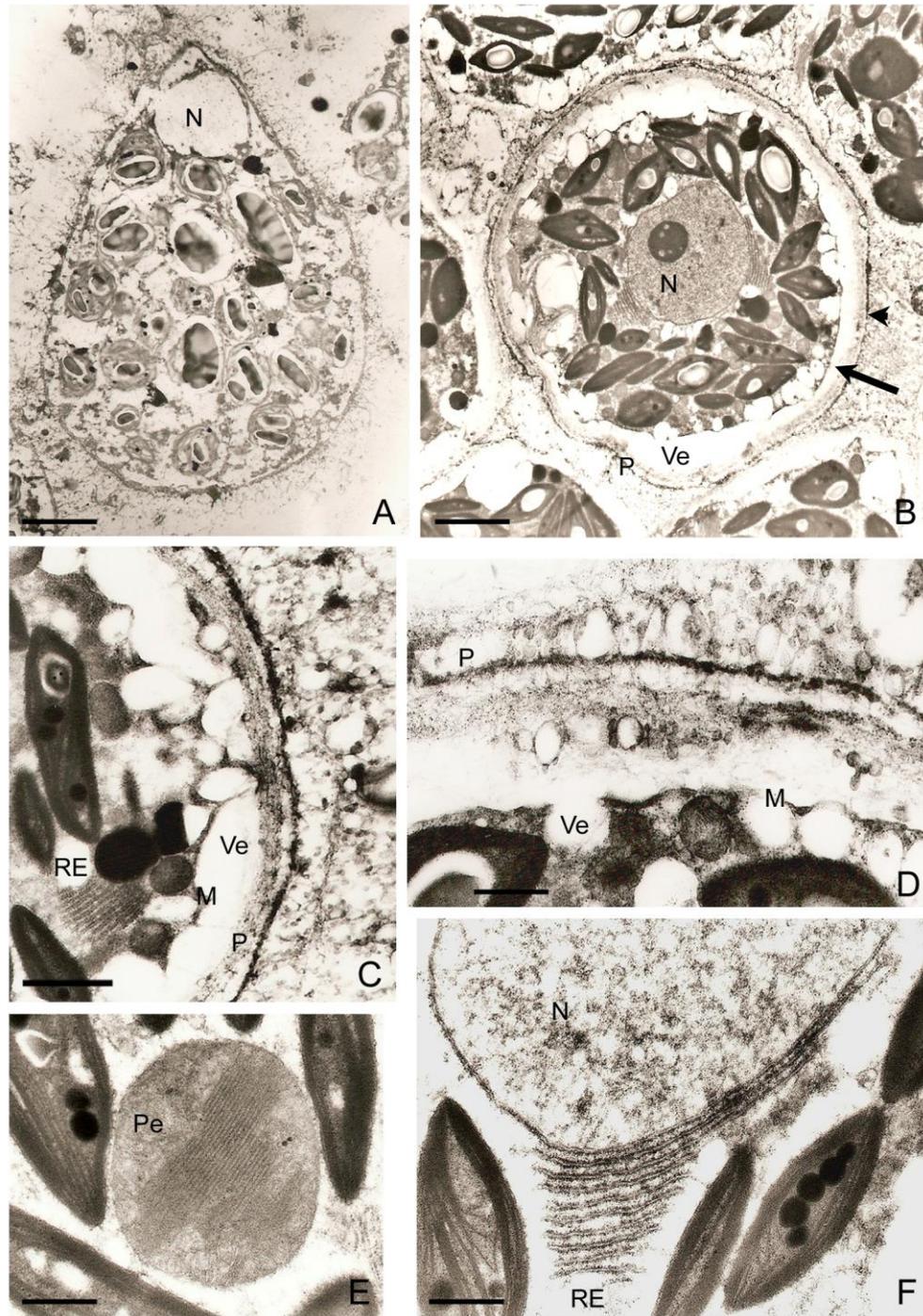


Figura 33. Germinación partenogenética de gametas femeninas de *Codium fragile* dentro del gametangio. A: gameta piriforme con una incipiente pared celular; B: gameta esférica con un estrato fibrilar en la pared (flecha) por debajo de su estrato externo (punta de flecha); C: detalle de vesículas haciendo protrusión en el plasmalema y en el espacio periplasmático; D: detalle de vesículas translúcidas liberando material de pared; E: peroxisoma; F: detalle de la asociación del RER con la carioteca. A-F: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, B = 2,5 μm ; C = 1 μm ; D-F = 0,5 μm . M: membrana plasmática; N: núcleo; P: pared; Pe: peroxisoma; RE: retículo endoplásmico rugoso; Ve: vesículas.

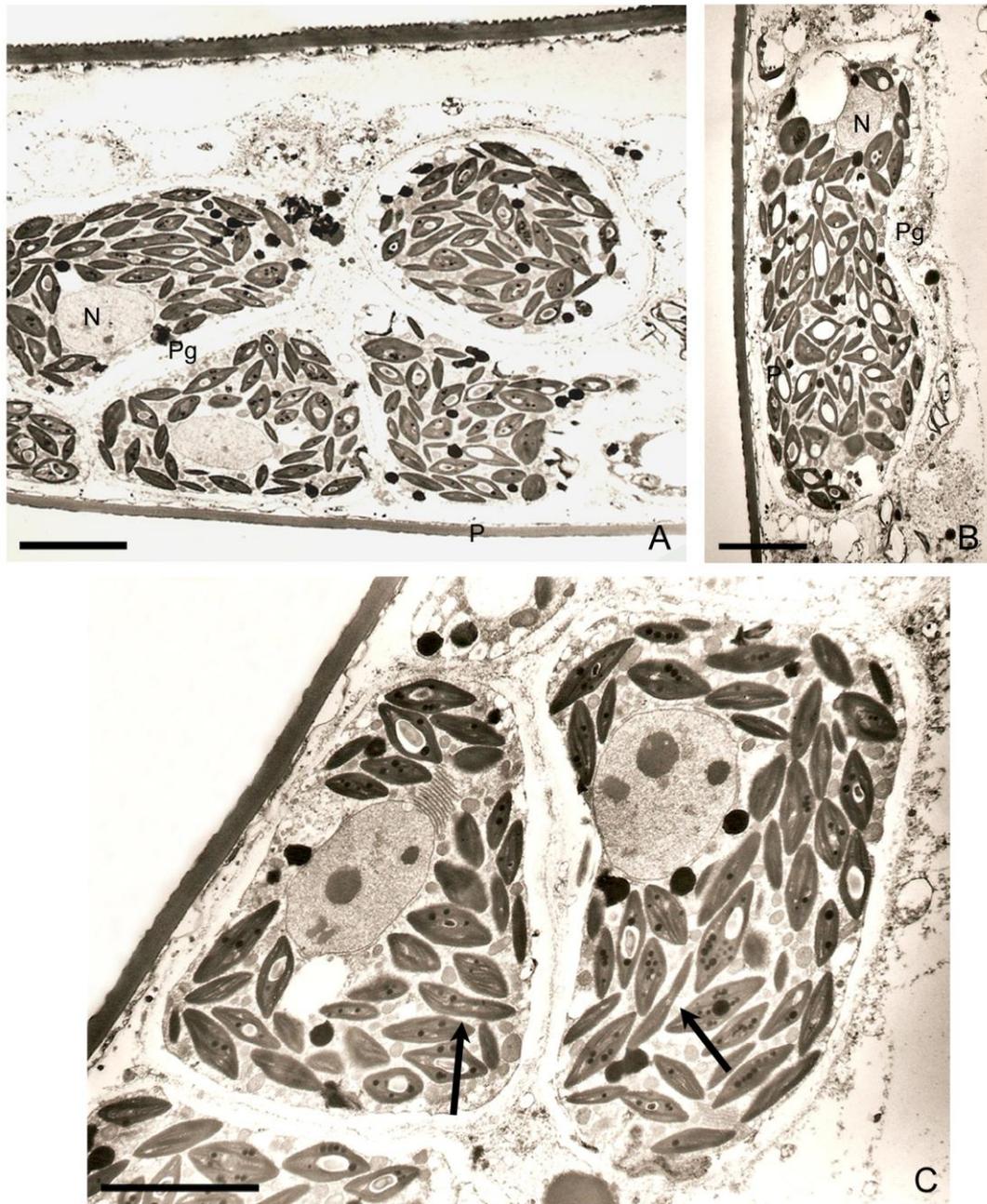


Figura 34. Germinación de gametas femeninas de *Codium fragile* dentro del gametangio. A: las células cambian de forma y el núcleo migra; B: células alargadas, con núcleo lateral y numerosos cloroplastos pequeños; C: células en las que se observan cloroplastos en división (flechas). A-C: fotomicrografías electrónicas. Escala: A-C = 5 μ m. N: núcleo; P: pared del gametangio; Pg: pared de la gameta; Ve: vesículas.

Gametogénesis masculina

Los gametangios masculinos, más delgados que los femeninos, mostraron un contenido finamente granular, de color verde amarillento, en el que se hacía difícil distinguir las gametas por su gran número y su pequeño tamaño (Figs 7 B, 38 A). La pared del gametangio medía 0,6 – 0,85 μm de espesor. Al igual que las gametas femeninas, las masculinas se liberaban rodeadas por abundante mucílago por una apertura apical (Fig. 38 B).

Ultraestructura de la gametogénesis masculina

Se observaron cuatro etapas de la gametogénesis masculina de talos masculinos provenientes de Bahía Bustamante.

En la primera etapa los núcleos de los gametangios en desarrollo observados mostraban heterocromatina dispersa en el nucleoplasma y medían 3,8 μm de longitud por 3,14 μm de diámetro (Fig. 35 A). Parte de la heterocromatina estaba asociada con la membrana interna de la carioteca. En reiteradas ocasiones se observaron núcleos muy próximos entre sí y en algunos con las membranas externas de sus cariotecas en contacto (Fig. 35 B). El resto de las organelas se disponían en forma regular en el gametangio. Los cloroplastos presentaban escaso desarrollo, contenían escasas lamelas y un único gránulo de almidón. Cerca de la pared del gametangio se presentaron vesículas de variado tamaño con un contenido electrónicamente claro (Fig. 35 C).

En un segundo estadio se observó una gran proliferación de núcleos (Fig. 36 A-D). Numerosos núcleos estaban en interfase (Fig. 36 A, B) y otros en división. Durante metafase (Fig. 36 C) la carioteca permanecía intacta. El

proceso de delimitación de porciones uninucleadas de protoplasma comenzaba por la acción de numerosas y diminutas vesículas que inicialmente formaban “racimos” o cadenas largas (Fig. 36 D-F). Algunos grupos de vesículas se ubicaban adyacentes a la carioteca (Fig. 36 E), otros formando cadenas asociadas a la membrana de las mitocondrias (Fig. 36 F), del cloroplasto (Fig. 36 E) o sin vinculación aparente con organelas. En la proximidad de estas agrupaciones de vesículas se observaban numerosos dictiosomas (Fig. 36 D). Los núcleos en anafase tardía/telofase temprana, presentaban forma de pesa (Fig. 37 A), de 8,87 μm de largo, 1,37 μm de ancho en la región más dilatada de los extremos y 0,5 μm de ancho en la región central. Gran parte del nucleoplasma estaba formado por cromatina muy condensada (Fig. 37 A) y en algunos sectores todavía se observaban los microtúbulos del huso (Fig. 37 B, flecha). Las vesículas del estadio anterior se fusionaban y formaban vesículas más grandes que delimitaban claramente las porciones uninucleadas de protoplasma (Fig. 37 A). La mayoría de los núcleos se encontraban ya en interfase en este estadio y mostraban abundante heterocromatina (Fig. 37 A, C). En este estadio, además, en cada porción uninucleada se observaban un gran perfil mitocondrial y dos cloroplastos muy próximos a cada núcleo (Fig. 37 C).

Morfología de las gametas masculinas maduras

Las gametas masculinas (Fig. 38 C) tenían forma ovoide alargada, presentaban 2 ó 3 cloroplastos de color verde amarillento y eran más pequeñas que las gametas femeninas, ya que medían 5 – 7,5 μm de largo y 4 – 5 μm de diámetro. Presentaban una papila apical hialina con dos flagelos.

Ultraestructura de las gametas masculinas maduras

Entre las gametas se observó abundante mucílago, vesículas con membranas y flagelos de las distintas gametas cortados transversal y longitudinalmente (Fig. 39 A).

En cada gameta el núcleo se ubicaba en posición medio anterior, medía 1,8 μm de diámetro y mostraba abundante heterocromatina (Fig. 39 A). Los cloroplastos, generalmente dos por gameta, se ubicaban en la parte posterior de la célula; poseían un prominente gránulo de almidón que desplazaba las escasas lamelas 2-3-tilacoidales hacia la periferia y numerosos glóbulos lipídicos (Fig. 39 A). En algunos cloroplastos los glóbulos lipídicos se disponían en forma ordenada, en número de 5 a 9, formando una hilera (Fig. 39 B). Una gran mitocondria con forma de V invertida se ubicaba sobre el núcleo en la región anterior de la gameta (Fig. 39 A, C) y se extendía hacia el interior de la papila, tomando contacto con la porción basal del aparato flagelar (Fig. 39 A). Los brazos de la mitocondria se extendían hasta más de la mitad de la gameta por detrás del nivel del núcleo (Fig. 39 A, C).

Los flagelos estaban insertos en una papila apical prominente por medio de los cuerpos basales (Fig. 40 A, C, D). El aparato basal presentaba la configuración 11/5 característica de la clase. Las raicillas microtubulares “d” y “s” descendían adyacentes al plasmalema (Fig. 40 B, flecha). No se pudo determinar el número de microtúbulos de cada raicilla “d” y “s”. Los cuerpos basales estaban conectados distalmente por una gran placa anterior electrónicamente densa (“capping plate”), formada por dos mitades unidas en la parte media por una reducida fibra de conexión (Fig. 40 A, D); y en su parte inferior, los cuerpos basales estaban conectados por material electrónicamente

denso unido a la mitocondria (Fig. 40 C, D). En el extremo proximal y en la superficie anterior de cada cuerpo basal se observaban casquetes terminales característicos de la clase, que consistían en dos subunidades dispuestas perpendicularmente una con otra (Fig. 40 E). Una fibra estriada se originaba de la parte inferior del extremo proximal de cada cuerpo basal (Fig. 40 F, G, flechas).

Reabsorción flagelar

En el interior de algunos gametangios masculinos con gametas maduras se observaron numerosas gametas con los cuerpos basales y axonemas reabsorbidos. La reabsorción se iniciaba en gametas piriformes (Fig. 41 A). Luego las gametas se hacían esféricas (Fig. 41 B) y los cuerpos basales y axonemas reabsorbidos permanecían en ellas. Los axonemas reabsorbidos se observaban adyacentes al plasmalema (Fig. 41 A-C). La reabsorción de los cuerpos basales y axonemas se producía en forma cruzada, es decir el cuerpo basal primero y el axonema después del flagelo de un lado eran reabsorbidos hacia el lado opuesto de la gameta y viceversa (Fig. 41 D, E). En este estadio el único cambio evidente en las organelas era la presencia de numerosas vacuolas de diversos tamaños, con vesículas y membranas concéntricas en su interior (Fig. 41 F).

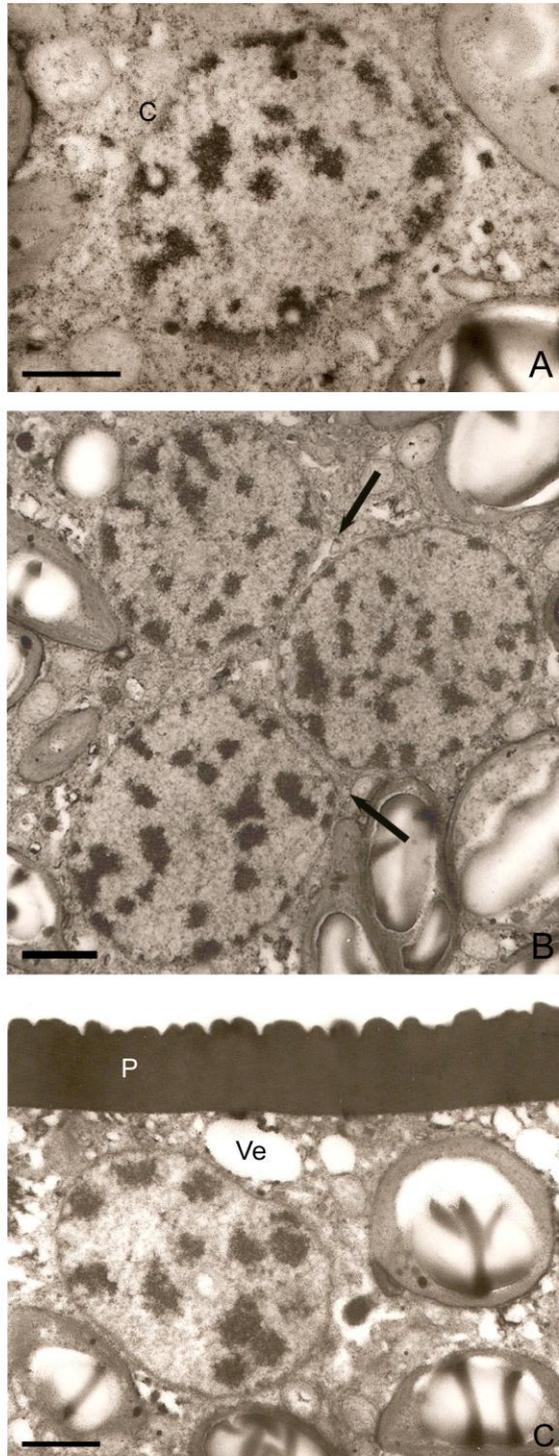


Figura 35. Gametogénesis masculina de *Codium fragile*. A: detalle de un núcleo con heterocromatina dispersa; B: observación de tres núcleos con las membranas externas de sus cariotecas en contacto (flechas); C: detalle de vesículas electrónicamente claras cercanas a la pared. A-C: fotomicrografías electrónicas. Escala: A-C = 1 μ m. C: carioteca; P: pared del gametangio; Ve: vesícula.

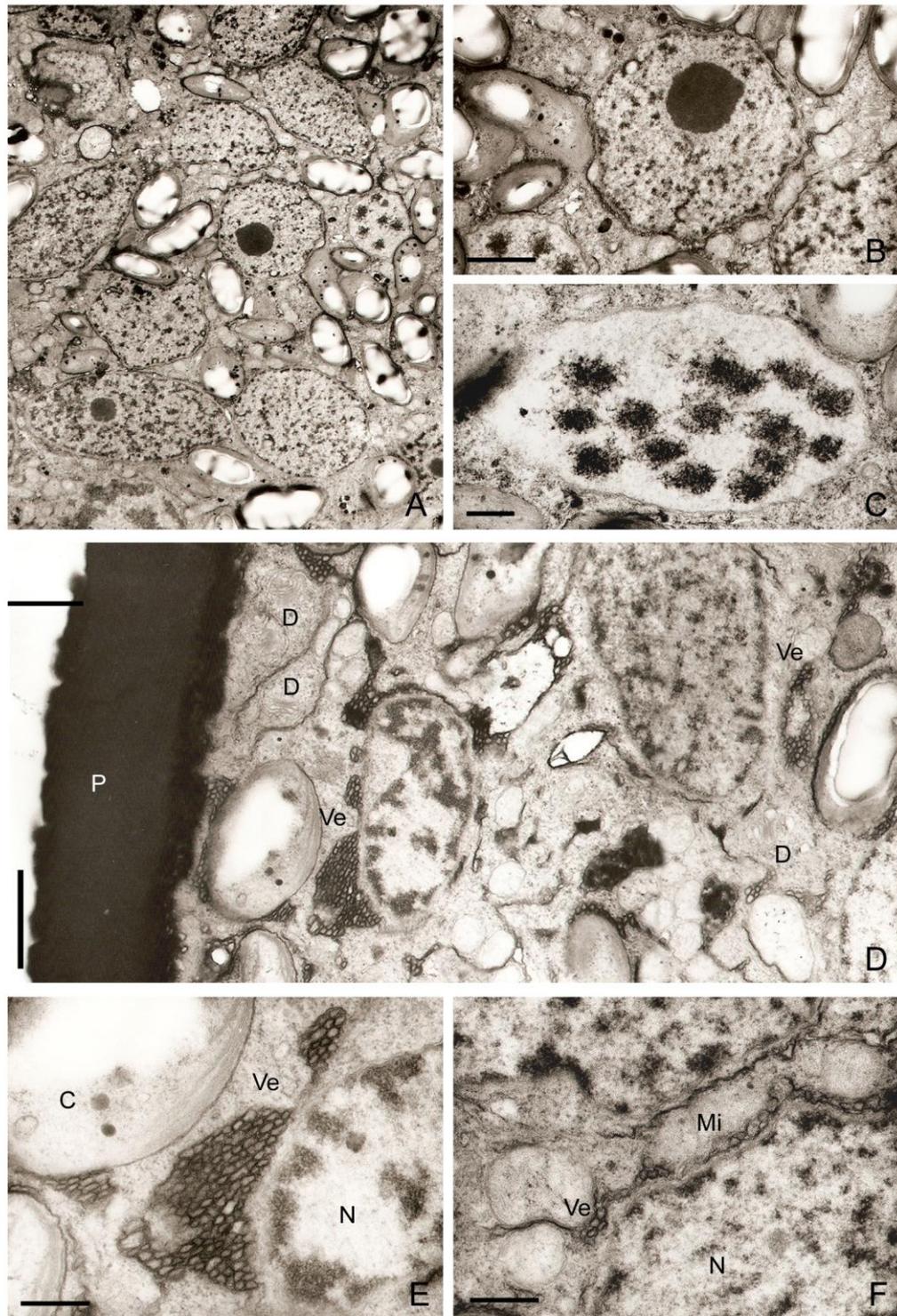


Figura 36. Gametogénesis masculina de *Codium fragile*. A: etapa de proliferación nuclear; B: núcleo en interfase; C: núcleo en metafase; D: porción de gametangio en el que se observan núcleos, cloroplastos, vesículas; E: detalle de agrupaciones de vesículas asociadas a la carioteca; F: vesículas asociadas a la mitocondria. A-F: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 3 μm ; B, D = 1,5 μm ; C, E, F = 0,5 μm . C: cloroplasto; D: dictiosomas; Mi: mitocondria; N: núcleo; P: pared del gametangio; Ve: vesículas.

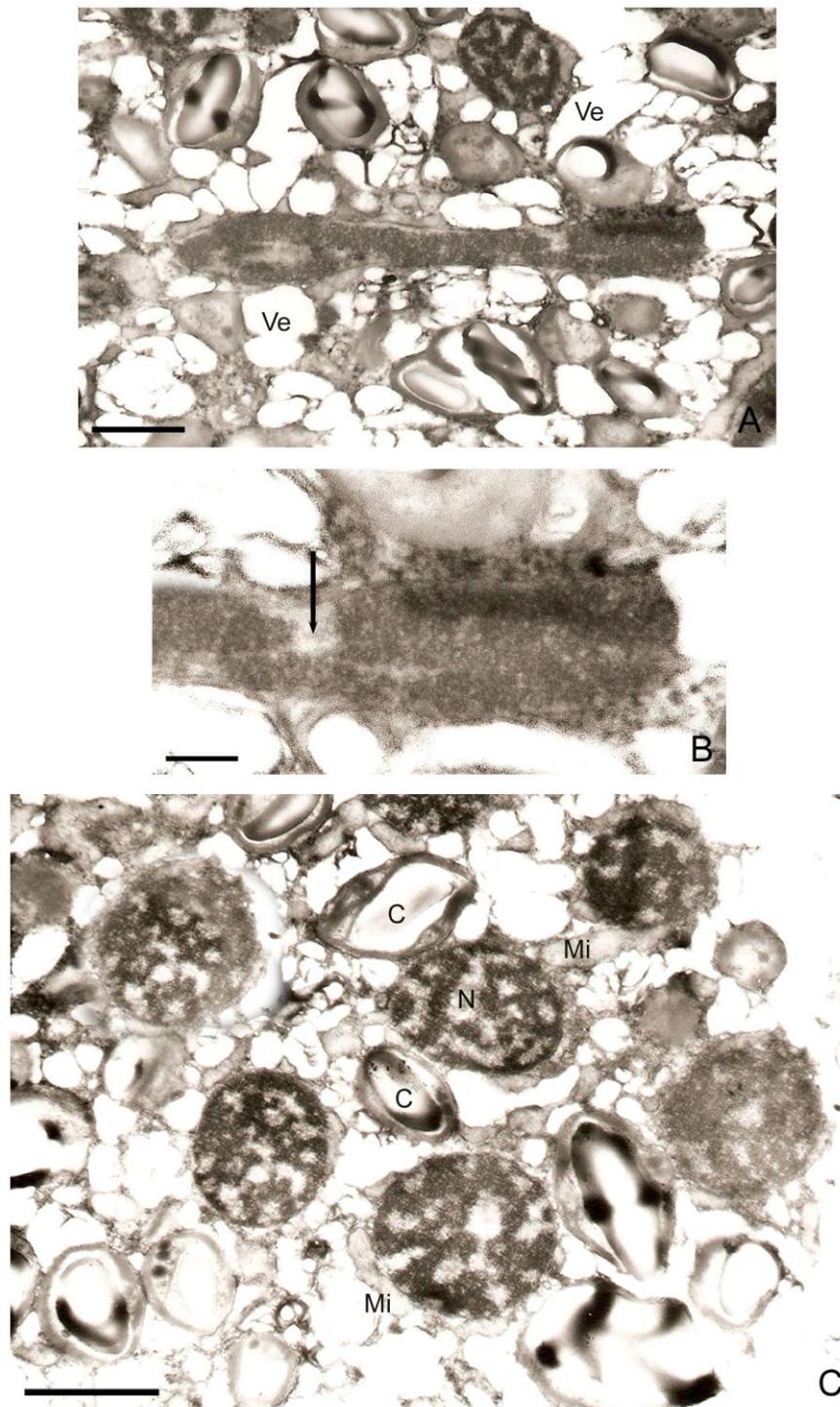


Figura 37. Gametogénesis masculina de *Codium fragile*. A: núcleo en anafase tardía/telofase temprana con forma de pesa; B: detalle de uno de los extremos del núcleo mostrado en A. La flecha indica microtúbulos del huso; C: detalle de una porción de citoplasma en la que se están delimitando las futuras gametas. A-C: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, C = 1,5 μm ; B = 0,5 μm . C: cloroplasto; Mi: mitocondria; N: núcleo; Ve: vesículas.

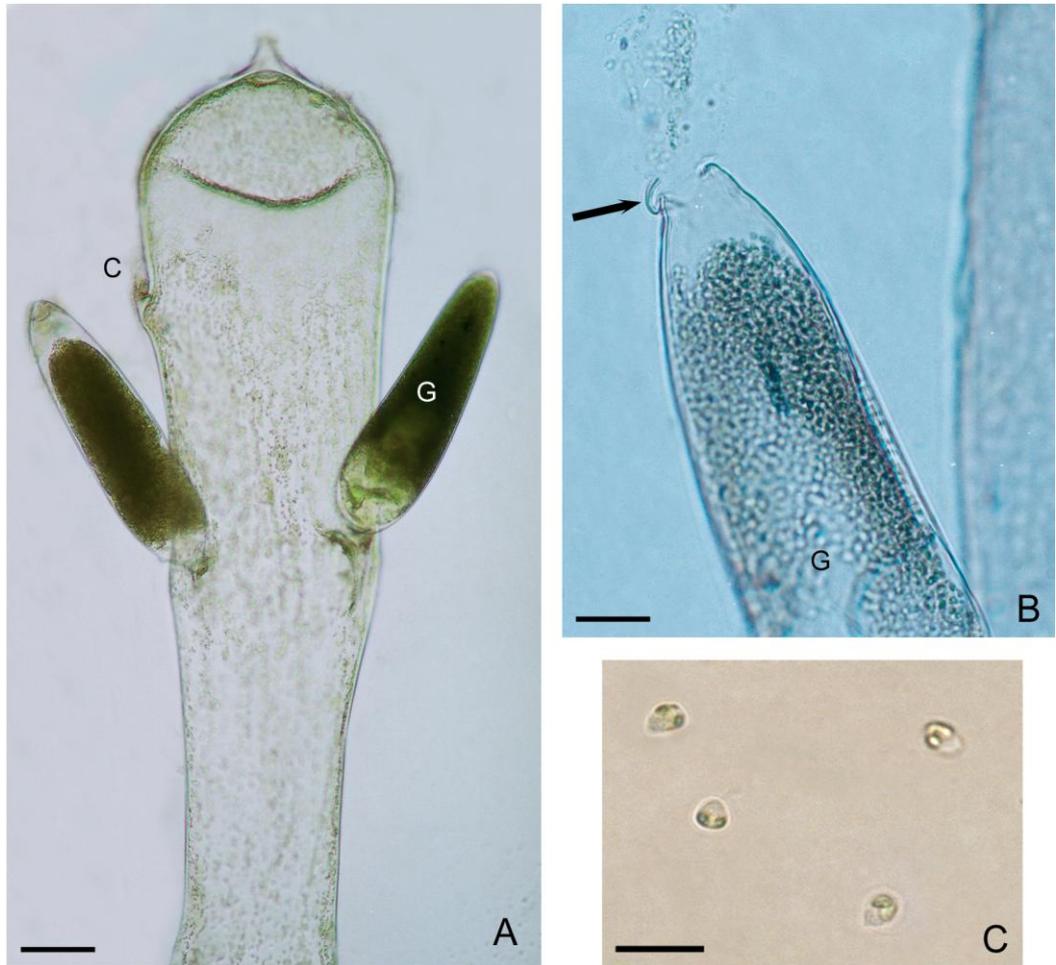


Figura 38. Gametangio masculino de *Codium fragile*. A: vista general de un utrículo con dos gametangios masculinos maduros; B: detalle de un gametangio en el momento de la liberación de gametas masculinas por ruptura del extremo apical (flecha); C: gametas masculinas recién liberadas. A-C: fotomicrografías ópticas. Escala: A = 90 μm ; B = 35 μm ; C = 15 μm . C: cicatriz de pelo; G: gametangio.

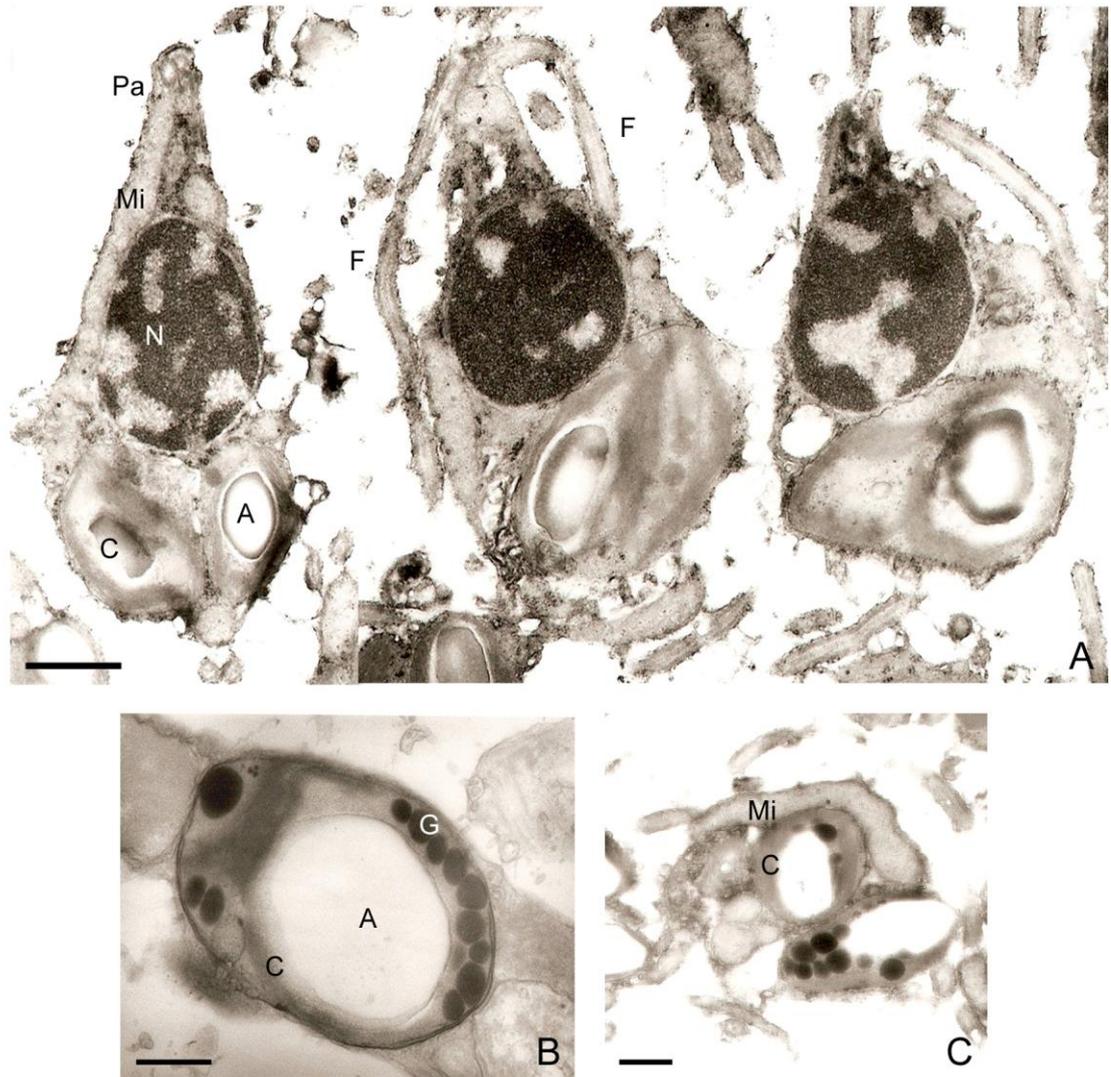


Figura 39. Ultraestructura de la gameta masculina de *Codium fragile*. A: vista general de tres gametas; B: detalle de un cloroplasto con glóbulos lipídicos ordenados; C: detalle de la mitocondria con forma de V invertida. A-C: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 1 μ m; B, C = 0,5 μ m. A: almidón; C: cloroplasto; F: flagelo; G: glóbulos lipídicos; Mi: mitocondria; N: núcleo; Pa: papila apical.

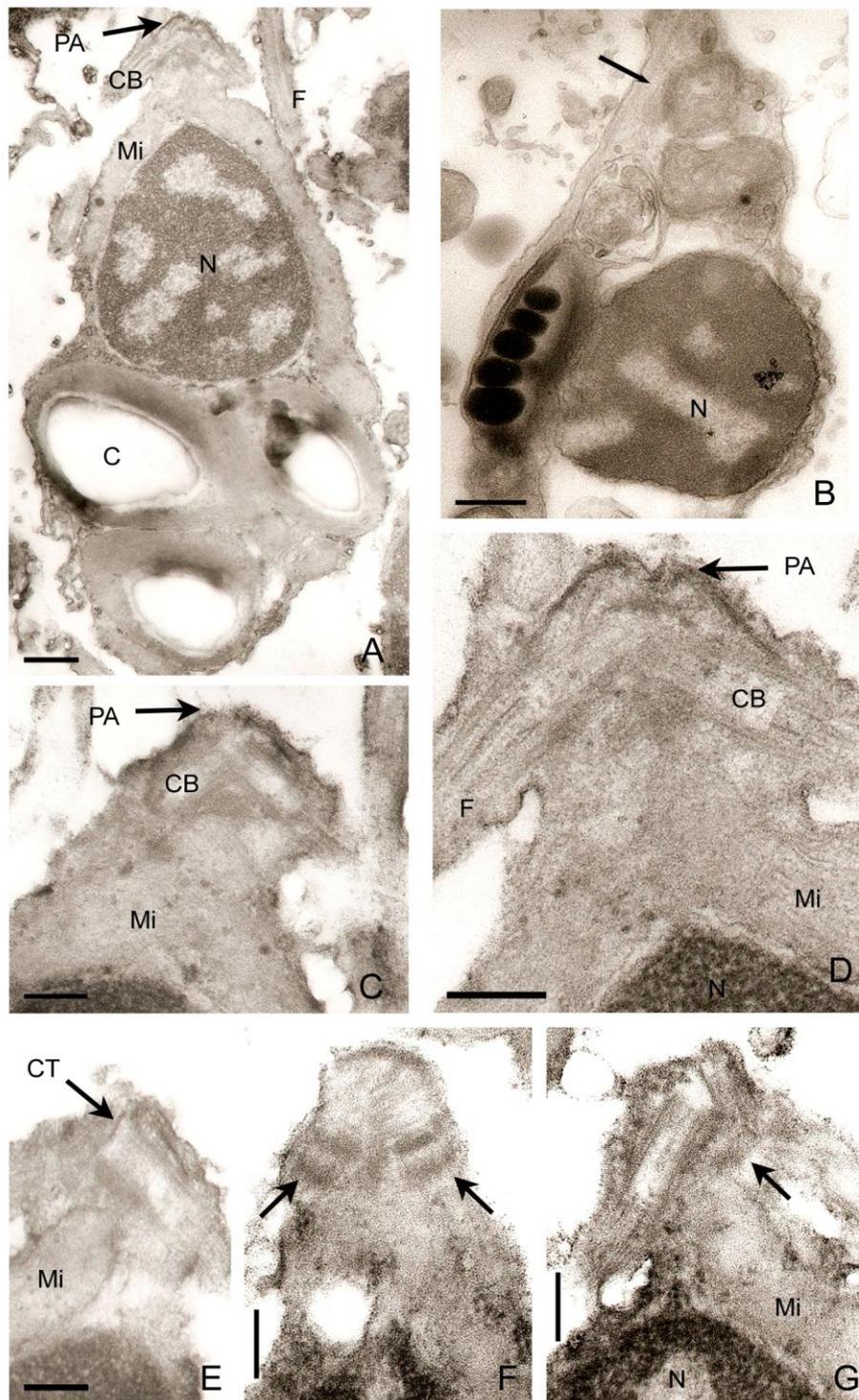


Figura 40. Ultraestructura de la gameta masculina de *C. fragile*. Aparato flagelar. A: vista general de una gameta masculina; B: raicilla microtubular adyacente al plasmalema (flecha); C-D: detalle de la placa anterior formada por dos mitades y material electrónicamente denso en la parte inferior de los cuerpos basales en conexión con la mitocondria (flecha); E: detalle para mostrar los casquetes terminales; F: detalle para mostrar la fibra estriada debajo de cada cuerpo basal (flechas); G: vista de la fibra estriada (flecha). A-G: fotomicrografías electrónicas. Escala: A, B = 0,5 μ m; C-G = 0,25 μ m. C: cloroplasto; CB: cuerpo basal; CT: casquete terminal; F: flagelo; Mi: mitocondria; N: núcleo; PA: placa anterior.

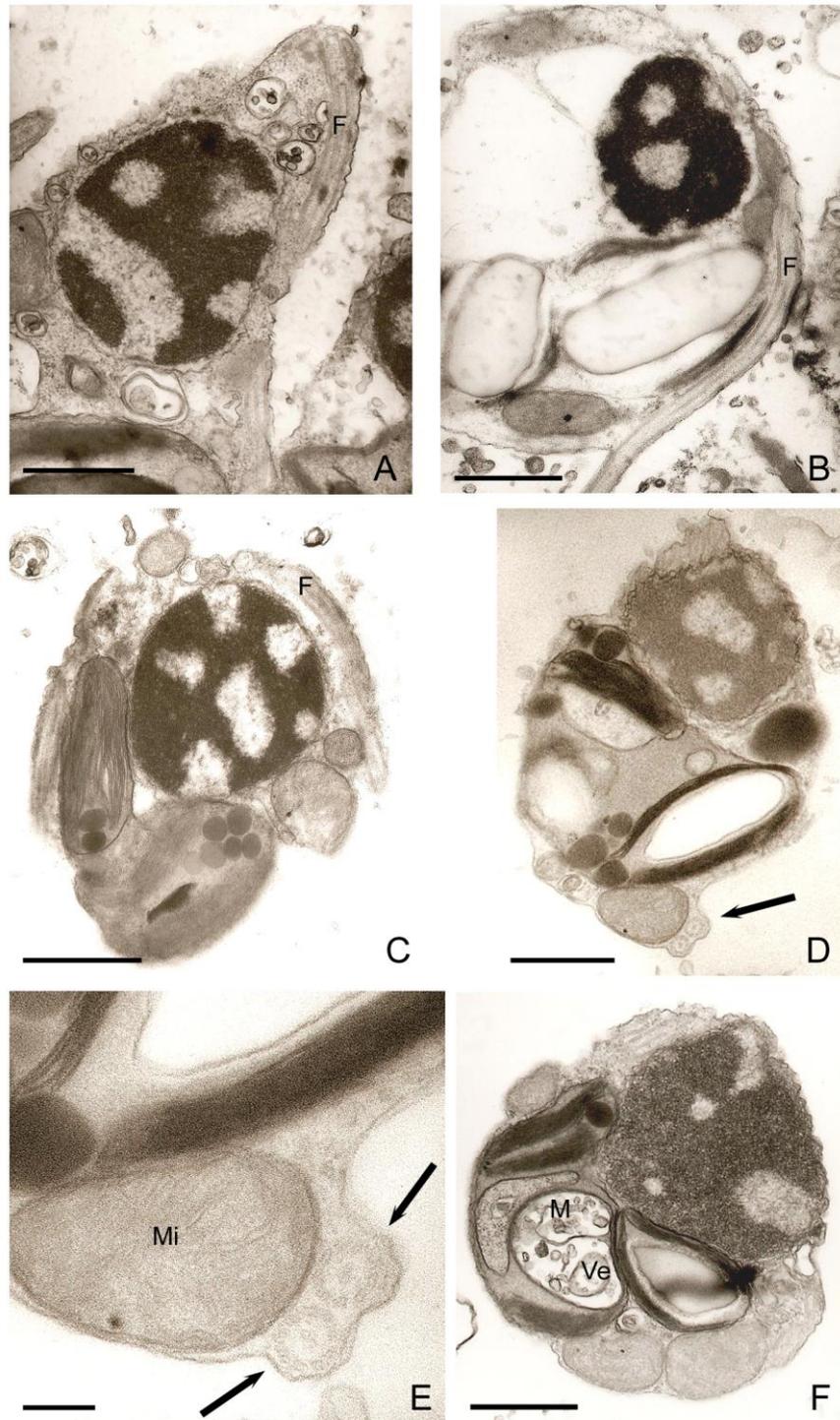


Figura 41. Ultraestructura de las gametas masculinas de *Codium fragile*. Reabsorción flagelar. A: detalle de uno de los primeros estadios de reabsorción en el que la gameta se mantiene piriforme; B-F: gameta esférica; B, C: detalle de un axonema cortado longitudinalmente adyacente al plasmalema; D: vista general en la que se observa la superposición de los axonemas reabsorbidos cortados transversalmente en la parte inferior de la gameta (flecha); E: detalle de D; F: detalle de una vacuola con vesículas y membranas concéntricas en su interior. A-F: fotomicrografías electrónicas. Escala: A-D, F = 1 μ m; E = 0,2 μ m. F: flagelo; M: membranas; Mi: mitocondria; Ve: vesículas.

2.2.3- Singamia

La singamia se verificó *in vitro* en el laboratorio en presencia de ambos tipos de gametas a partir de talos de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* provenientes de Bahía Bustamante. Se observaron cigotos inicialmente tetraflagelados (Fig. 42 A), de forma esférica y 20 - 30 μm de diámetro. Los cigotos luego perdían los flagelos y al cabo de 24 - 48 horas comenzaba a sintetizarse una pared delgada refringente (Fig. 42 B, C). En este estado los cigotos medían de 37 a 47 μm de diámetro. Posteriormente comenzaban a alargarse y formaban pequeñas plántulas (Fig. 42 D). A pesar de reiterados intentos, no se pudo obtener un mayor desarrollo de los talos en el laboratorio.

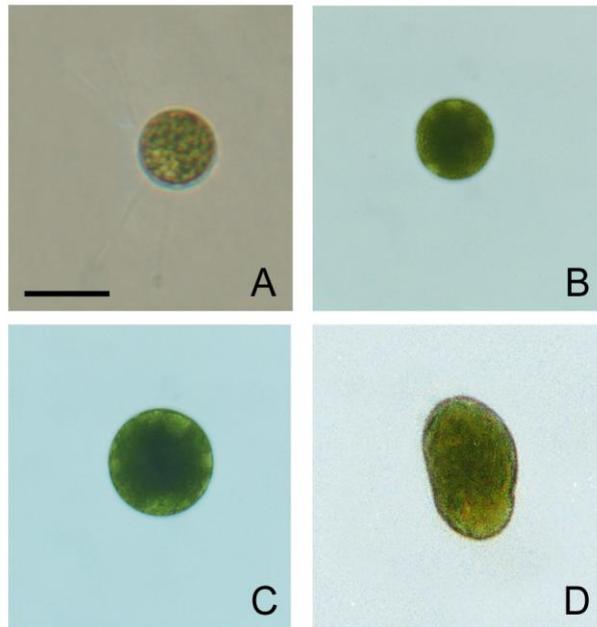


Figura 42. Cigoto de *Codium fragile*. A: cigoto tetraflagelado; B: cigoto de dos días; C: cigoto de tres días; D: desarrollo de una plántula a los cuatro días. A-D: fotomicrografías ópticas. Escala: A-D= 40 μ m.

2.3- OBSERVACIONES FENOLÓGICAS DE LOS PERÍODOS REPRODUCTIVOS EN LAS ESPECIES ESTUDIADAS EN LAS DISTINTAS LOCALIDADES

Se realizaron observaciones preliminares de los períodos de aparición de órganos reproductivos en las tres especies en las distintas localidades y durante los años que abarcó este estudio.

C. fragile subsp. *novae-zelandiae* (Tabla 2)

En todas las localidades estudiadas fueron encontrados talos femeninos. Además, en Rawson, Bahía Bustamante y Comodoro Rivadavia también se hallaron talos masculinos. En estas últimas localidades, se observaron talos fértiles todo el año: femeninos y masculinos a fines de la primavera, verano y otoño; sólo femeninos en invierno y principios de la primavera.

C. decorticatum (Tabla 3)

En escasas oportunidades se encontraron talos de *C. decorticatum*. Los talos observados formaron gametangios en verano, excepto en Puerto Madryn en donde lo hicieron en julio.

C. vermilara (Tabla 4)

La mayoría de los talos de *C. vermilara* hallados no poseían gametangios; sin embargo, se encontraron algunos talos con gametangios femeninos a fines de verano y principios de otoño.

Tabla 2. Aparición de gametangios en *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* en las distintas localidades estudiadas.

S: sin gametangios; F: femenino; M: masculino; *: sin observaciones

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Mar del Plata	S	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
San Antonio Oeste (Las Grutas)	*	*	*	*	*	*	*	*	S	F	*	*
Puerto Madryn	*	*	*	F	S	*	F	F	*	F	*	*
Rawson	*	*	*	F-M	*	*	*	*	*	*	*	*
B. Bustamante, Comodoro Rivadavia	*	F-M	*	F-M	F-M	F	F	F	S	F	F-M	*

Tabla 3. Aparición de gametangios en *C. decortcatum* en las distintas localidades estudiadas.

S: sin gametangios; F: femenino; M: masculino; *: sin observaciones

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Mar del Plata	F	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Pehuen C6	*	*	F	*	*	*	*	*	*	*	*	*
San Blas	*	*	*	*	*	S	*	*	*	*	*	*
San Antonio Oeste (Las Grutas)	*	*	F	*	*	S	*	*	*	*	*	F
Puerto Madryn	*	*	*	*	*	*	F	S	*	*	*	*

Tabla 4. Aparición de gametangios en *C. vermilara* en las distintas localidades estudiadas.

S: sin gametangios; F: femenino; M: masculino; *: sin observaciones

	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
San Antonio Oeste (Las Grutas)	*	*	F	*	*	*	*	S	*	S	S	*
Puerto Madryn	*	*	*	S	S	*	S	*	F	S	S	*
Rawson	*	*	*	S	*	*	*	*	*	*	*	*
B. Bustamante, Comodoro Rivadavia	*	F	*	F	S	S	S	S	*	S	*	*

3- CARIOLOGÍA

Las observaciones cariológicas se realizaron en utrículos y gametangios de las tres especies de *Codium* estudiadas. La principal dificultad encontrada fue la baja frecuencia con que se observaron placas metafásicas en vista polar.

Los núcleos de las tres especies eran ovoides. En *C. decorticatum* medían 7 μm de largo por 5 μm de ancho, con un nucléolo de 3 μm de diámetro (Fig. 43 A); en *C. fragile* 6 μm de largo por 4 μm de ancho y el nucléolo 2 μm de diámetro (Fig. 44 A) y en *C. vermilara* 9 μm de largo por 5 μm de ancho y el nucléolo 3 μm de diámetro (Fig. 45 A).

La membrana nuclear era persistente durante toda la mitosis y el nucléolo desaparecía. Las placas metafásicas medían entre 3 μm y 6 μm de diámetro.

En utrículos de *C. decorticatum* se observaron núcleos en interfase (Fig. 43 A), profase (Fig. 43 B), metafase (Fig. 43 D-F) y anafase (Fig. 43 C). Las placas metafásicas presentaban forma circular en vista polar, con un diámetro de 4 μm . Se hicieron 10 recuentos cromosómicos y en la mayoría de ellos se contaron 10 cromosomas (Fig. 43 G); en algunos casos se observaron 8 ó 9 cromosomas.

En los gametangios femeninos también se observaron metafases (Fig. 43 H-J) y se pudo determinar un número cromosómico de 10 (Fig. 43 K). El tamaño de los cromosomas presentó un rango entre 1,2 μm a 0,5 μm .

En utrículos de *C. fragile* se observaron núcleos en interfase (Fig. 44 A), profase (Fig. 44 B) y en metafase (Fig. 44 C-E). Las placas metafásicas medían 4,5 μm de diámetro. En 14 recuentos se determinó un número cromosómico $n =$

10 cromosomas (Fig. 44 F), aunque en algunos casos se observaron 8 y 9 cromosomas.

En una sola ocasión se observó en utrículos una placa metafásica de 4 μm por 8 μm , con 20 cromosomas (Fig. 44 G-I, J).

En ambos casos el tamaño de los cromosomas era de 1,15 μm a 0,4 μm .

En utrículos de *C. vermilara* se observaron placas metafásicas de 4 μm a 5,5 μm de diámetro. En cuatro recuentos se determinó un número cromosómico $n = 10$ cromosomas (Fig. 45 E, I), con dimensiones variables de los cromosomas entre 1,5 μm y 0,66 μm . Se pudieron distinguir dos tipos de placas metafásicas diferentes: uno con cromosomas ovalados, reniformes (Fig. 45 B-E) y otro con cromosomas con forma de media luna, semicirculares y de menor tamaño (Fig. 45 F-I).

En las tres especies el tamaño de los cromosomas presentó una variación gradual de mayor a menor; siendo los cromosomas menores en general puntiformes.

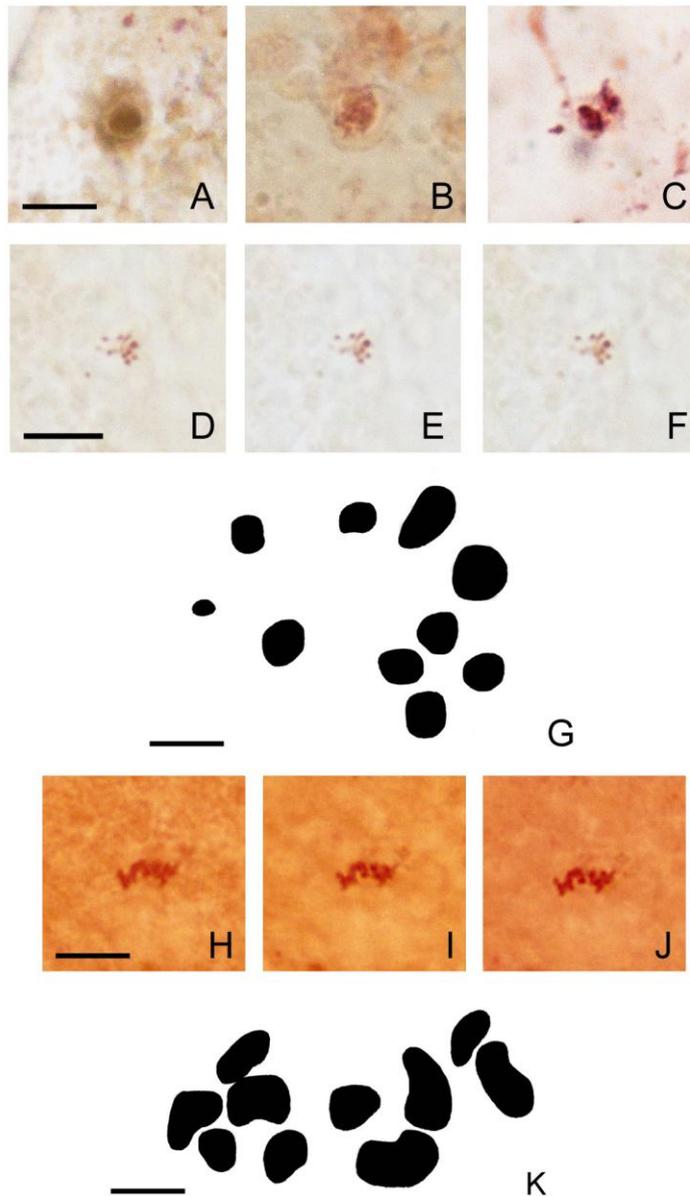


Figura 43. Cariología de *Codium decorticatum*. A: núcleo en interfase; B: núcleo en profase; C: núcleo en anafase; D-F: distintos focos de un núcleo de un utrículo en metafase en vista polar; G: representación diagramática de la placa metafásica; H-J: distintos focos de un núcleo de gametangio femenino en metafase; K: representación diagramática de la placa metafásica. Coloraciones: A: carmín acético; B-F, H-J: orceína acética. A-F, H-J: fotomicrografías ópticas. Escala: A-C = 7 μm ; D-F, H-J = 8 μm ; G, K = 1 μm .

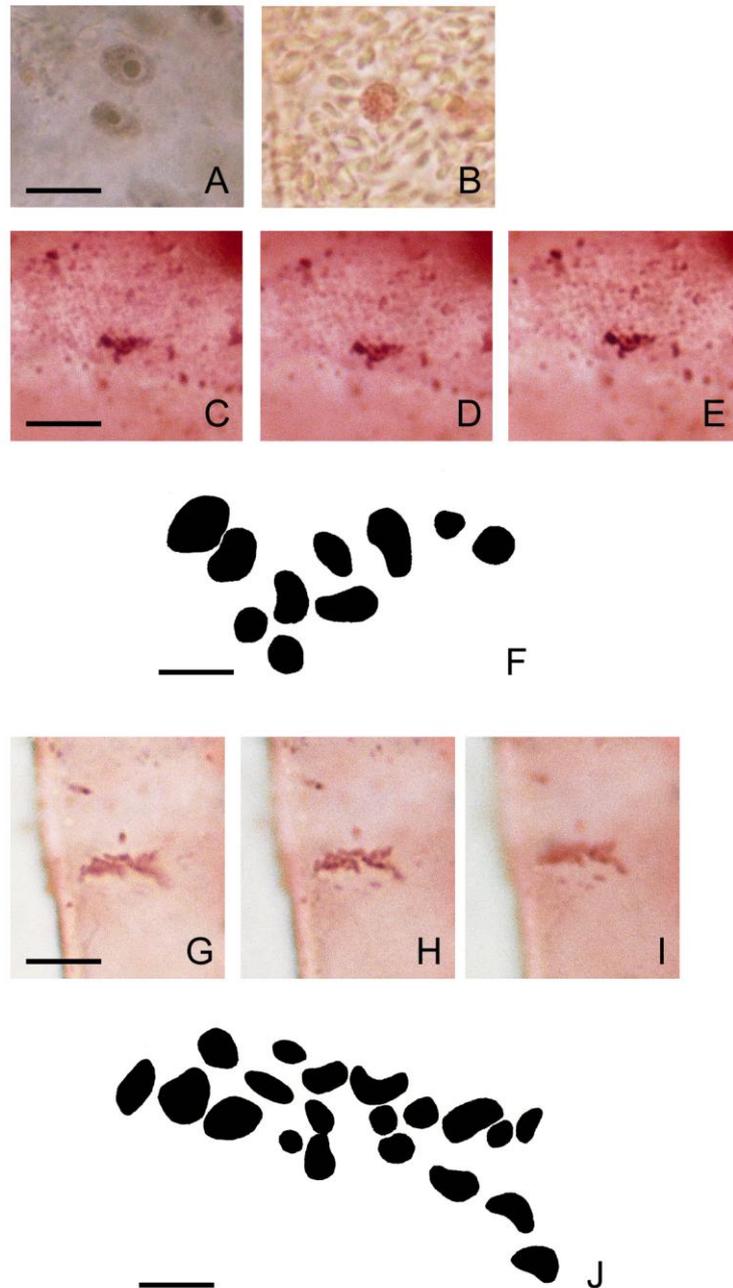


Figura 44. Cariología de *Codium fragile*. A: núcleo en interfase; B: núcleo en profase; C-E: distintos focos de un núcleo de un utrículo en metafase; F: representación diagramática de la placa metafásica; G-I: distintos focos de un núcleo de un utrículo en metafase; J: representación diagramática de la placa metafásica. Coloraciones: A: carmín acético; B-E, G-I: orceína acética. A-E, G-I: fotomicrografías ópticas. Escala: A-B, G-I = 8 μ m; C-E = 7 μ m; F, J = 1 μ m.

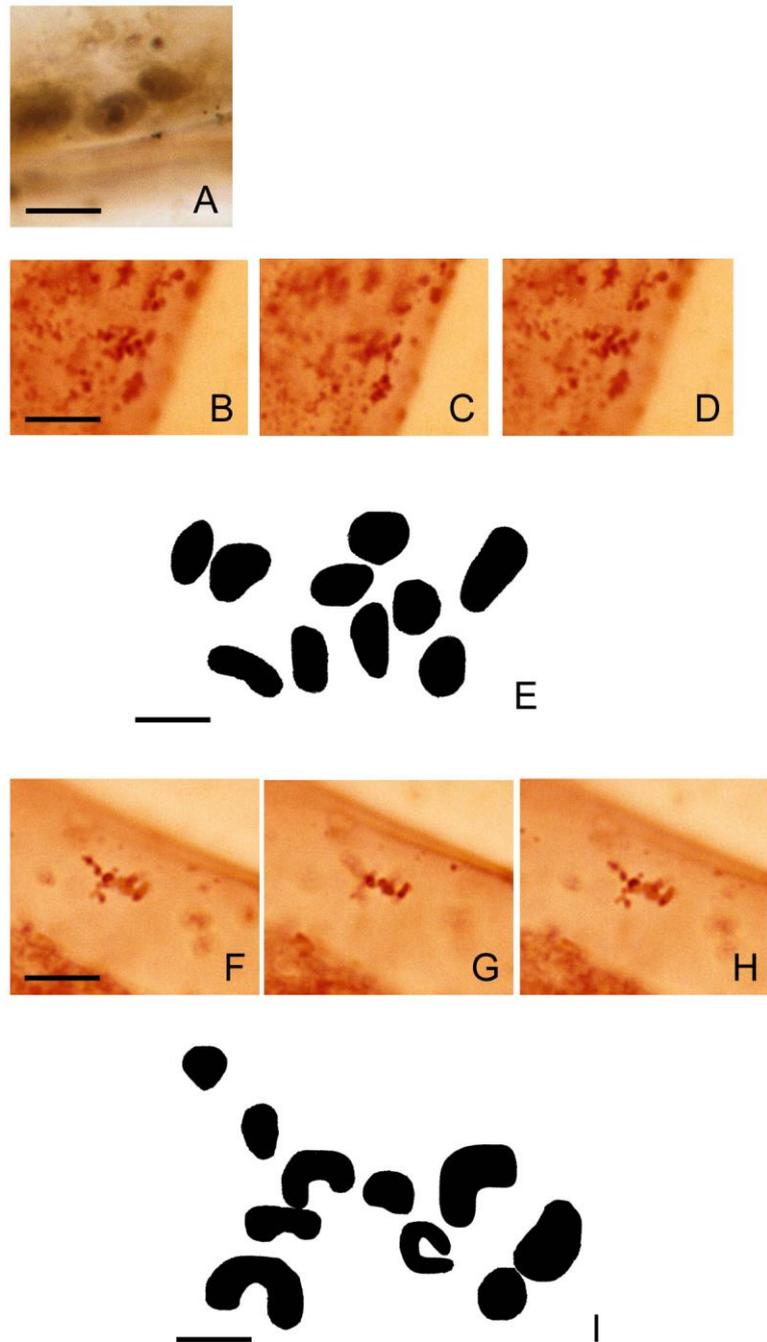


Figura 45. Cariología de *Codium vermilara*. A: núcleo en interfase; B-D: distintos focos de un núcleo de un utrículo en metafase; E: representación diagramática de la placa metafásica; F-H: distintos focos de un núcleo de un utrículo en metafase; I: representación diagramática de la placa metafásica. Coloraciones: A: carmín acético; B-D, F-H: orceína acética. A-D, F-H: fotomicrografías ópticas. Escala: A = 10 μm ; B-D, F-H = 7 μm ; E, I = 1 μm .

4- EPÍFITOS SOBRE LOS TALOS DE CODIUM

Los talos de las tres especies de *Codium* estudiadas estaban frecuentemente cubiertos por epífitos. *C. vermilara* fue la especie más susceptible al ataque de los epífitos y *C. decorticatum* la menos colonizada por epífitos. La mayor cantidad de especies epífitas eran algas rojas, aunque también se encontraron cianobacterias, algas pardas y algas verdes. Los epífitos de *C. decorticatum* no fueron identificados.

4.1- EPÍFITOS DE CODIUM VERMILARA

Se estudió la variación estacional de las especies epífitas de *C. vermilara* durante el año 2006, en la localidad de Las Grutas. Se hallaron 25 especies, 13 correspondientes a la División Rhodophyta, 4 a la División Cyanophyta, 2 a la División Chlorophyta y 6 a la Clase Phaeophyceae (Tabla 5).

Se hallaron algunas especies de epífitos con estructuras reproductivas: *Callithamnion* sp. durante todo el año; *Ectocarpus* sp. en primavera, otoño e invierno; *Feldmannia* sp. en otoño e invierno y *Lomentaria* sp. y *Polysiphonia* sp. sólo en primavera.

Tabla 5. Distribución estacional de los epífitos de *C. vermilara*.

	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
CYANOPHYTA				
<i>Kyrtuthrix maculans</i> (Gomont) Umezaki	X	X	X	X
<i>Calothrix crustacea</i> Thuret		X		X
<i>Hydrocoleum confluens</i> (Setchell et Gardner) Drouet	X	X	X	X
<i>Lyngbya</i> sp. Agardh		X	X	X
CHLOROPHYTA				
<i>Ulva</i> sp. Linnaeus	X			X
<i>Cladophora</i> sp. Kützing	X			
PHAEOPHYCEAE				
<i>Aglaozonia</i> sp. Zanardini	X			
<i>Sphacelaria furcigera</i> Kützing	X	X		
<i>Ectocarpus confervoides</i> (Roth) Le Jolis	X		X	X
<i>Feldmannia simplex</i> (Crouan) Hamel			X	X
<i>Microsyphar</i> sp. Kuckuck	X	X		
<i>Myrionema incommodum</i> Skottsberg	X		X	X
Diatomeas solitarias	X	X		X
Diatomeas filamentosas	X	X		
RHODOPHYTA				
<i>Callithamnion montagnei</i> Hooker & Harvey	X	X	X	X
<i>Callithamnion gaudichaudii</i> C. Agardh		X		

<i>Anotrichium furcellatum</i> (J. Agardh) Baldock			X	
<i>Lomentaria clavellosa</i> (Turner) Gaillon	X		X	X
<i>Polysiphonia brodiaei</i> (Dillwyn) Greville	X			X
<i>Polysiphonia abscissa</i> Hooker & Harvey			X	
<i>Corallina officinalis</i> Linnaeus	X			
<i>Antithamnion densum</i> (Suhr) Howe	X			
<i>Acrochaetium</i> sp. Nägeli			X	
<i>Ceramium strictum</i>	X			X
<i>Ceramium rubrum</i> Agardh	X			X
<i>Audouinella</i> sp. Bory de Saint-Vincent			X	X
<i>Erythrotrichia carnea</i> (Dillwyn) Agardh				X

4.2- EPÍFITOS DE *CODIUM FRAGILE*

Los epífitos hallados en diferentes muestras de *C. fragile* de distintas localidades correspondieron en su gran mayoría a rodófitas: *Polysiphonia* sp., *Ceramium strictum*, *Ceramium rubrum*, *Callithamnion montagnei*, *Acrochaetium* sp., *Antithamnionella ternifolia* (Hooker & Harvey) Lyle y *Anotrichium furcellatum*. También se encontraron algunas cianófitas, entre ellas *Calothrix crustacea* y feofíceas como *Feldmannia simplex*.

4.3- RELACIÓN EPÍFITO–HOSPEDANTE

La mayoría de los epífitos de *Codium* anclaban sus estructuras de fijación, discos basales o rizoides, entre los utrículos y sin ingresar a los mismos. De acuerdo al grado de invasión de las estructuras de fijación de los epífitos, se diferenciaron distintos modos de fijación a los talos de *Codium vermilara*:

1. Especies que carecían de estructuras de fijación. Se hallaban alrededor de los pelos de los utrículos o sobre y entre los utrículos, sin fijarse a ellos; este tipo de epífito se desprendía con facilidad por acción de las olas. Se observaron epífitos apoyados sobre los utrículos y entremezclados con los utrículos y filamentos medulares. Ejemplos: *Kyrtuthrix maculans* (Fig. 46 A, B), *Calothrix crustacea* (Fig. 47 A), *Lyngbya* sp. (Fig. 47 B) e *Hydrocoleum confluens*.

Se estudió la ultraestructura de la interacción entre *Kyrtuthrix maculans* y los utrículos de *C. vermilara*. Los filamentos del epífito estaban apoyados en ciertos sectores sobre el utrículo, aunque el contacto entre

ambas paredes celulares era débil (Fig. 46 C). En la interfase hospedante-epífito se observaron ambas cutículas en contacto (Fig. 46 D). El utrículo no presentó alteraciones por la presencia del epífito.

2. Especies que carecían de estructuras de fijación, pero que se adherían y permanecían fuertemente unidas a los utrículos. Ejemplos: *Microsyphar* sp., *Erythrotrichia carnea* y *Lomentaria clavellosa*. En algunos casos se observaron bacterias y cianófitas entre el epífito y el hospedante.

El talo de *Microsyphar*, formado por un disco uniestratificado, se observó cubriendo el extremo apical de los utrículos (Fig. 48 A, B). En secciones semifinas de la interacción se evidenció la cutícula del utrículo de *Codium* engrosada (Fig. 48 C, D).

Lomentaria clavellosa apoyaba su disco basal sobre el talo de *Codium vermilara* (Fig. 49 A, B) y también penetraba entre los utrículos (Fig. 49 C, D). En algunos sectores de la interfase, entre el disco basal y el utrículo que lo soportaba, se observaron bacterias y cianófitas (Fig. 49 E, F); en otros sectores el propio disco estaba en estrecha unión con el utrículo (Fig. 49 D, G). *Lomentaria clavellosa* también fue observada creciendo sobre el disco basal de *Codium vermilara*.

3. Especies que carecían de estructuras de fijación, pero que se adherían fuertemente al utrículo produciendo lesiones en su pared. Entre el epífito y el hospedante crecían bacterias y cianófitas.

Myrionema incommodum siempre se observó creciendo en la parte apical de los utrículos (Fig. 50 A, B). En la zona de contacto entre la

porción postrada de *Myrionema* y el utrículo se presentaron bacterias y cianófitas del género *Xenococcus* Thuret (Fig. 50 B, C, F). Tanto las bacterias como las células de *Xenococcus* mostraron estrecha unión con el utrículo. La pared celular de *Codium vermilara* estaba aquí engrosada y en algunos sectores levantada (Fig. 50 C, D). En la zona de contacto entre el epífito y el hospedante se observaban sectores electrónicamente claros y discontinuos en la pared (Fig. 50 E).

4. Especies que poseían estructuras de fijación o rizoides y crecían entre los utrículos y los filamentos medulares. Los rizoides hacían contacto con los utrículos sin provocarles daño. Este tipo de epífito puede ser desprendido de la superficie del hospedante sin causar daño al talo. Ejemplos: *Callithamnion* sp., *Polysiphonia* sp., *Ceramium* sp., *Anotrichium furcellatum*, *Antithamnion densum*, *Audouinella* sp., *Aglaozonia* sp., *Sphacelaria furcigera*, *Ectocarpus confervoides*, *Cladophora* sp., *Ulva* sp.

En *Callithamnion* los rizoides ingresaban entre los utrículos llegando hasta la médula (Fig. 51 A, C). Los rizoides multicelulares se ramificaban entre los utrículos y los filamentos medulares (Fig. 51 A-D), haciendo contacto en ciertos sectores de los mismos, sin causar daño alguno (Fig. 51 E).

Los rizoides de *Polysiphonia* sp. envolvían porciones del talo de *Codium vermilara* (Fig. 52 A), se ramificaban ingresando entre los utrículos y llegaban hasta la médula, ocupando gran parte de ella (Fig. 52 B-E). En la interfase epífito-hospedante ambas paredes celulares estaban en íntimo contacto (Fig. 52 F, G).

Los rizoides de *Ceramium*, al igual que los de *Polysiphonia* sp., penetraban y se ramificaban entre los utrículos hasta llegar a la médula (Fig. 53 A, B). En la interfase hospedante-epífito la cutícula de la pared de *Codium vermilara* no se diferenciaba claramente (Fig. 53 C-E). No se observó daño en el interior del utrículo (Fig. 53 C-E).

Los filamentos de *Ectocarpus confervoides* también penetraban hasta la médula (Fig. 54 A). En algunos sectores ambas paredes presentaban un íntimo contacto (Fig. 54 B-E).

Sphacelaria furcigera formaba rizoides delgados que ingresaban entre los utrículos hasta la médula (Fig. 55 A).

En *Audouinella* sp. los filamentos delgados de la porción basal estaban anclados sobre (Fig. 55 B) y entre los utrículos (Fig. 55 C), sin llegar hasta la médula.

Los rizoides de *Cladophora* sp. también ingresaban entre los utrículos, en este caso haciendo un íntimo contacto en una gran superficie entre ambas paredes (Fig. 56 A, B).

En escasas ocasiones se observaron pequeñas láminas de *Ulva* sp. creciendo sobre el talo de *Codium* (Fig. 57 A), anclando sus rizoides entre los utrículos (Fig. 57 B) y haciendo contacto con una reducida superficie del hospedante (Fig. 57 C, D).

Los talos de *Aglaozonia* sp. cubrían parte de los utrículos. De la capa inferior de células del epífito se proyectaban rizoides digitiformes cortos que alcanzaban sólo las capas superficiales de la corteza del hospedante (Fig. 58 A, B) entre los utrículos (Fig. 58 C, D).

En *Antithamnion densum* los rizoides sólo envolvían la parte superior del utrículo (Fig. 59 A).

También se observaron bacterias dentro de gametangios, inmersas en el mucílago. Estas bacterias endofíticas eran fusiformes de 5 – 7,5 μm de largo por 0,5 μm de diámetro (Fig. 59 B). Los gametangios infectados presentaban un aspecto saludable.

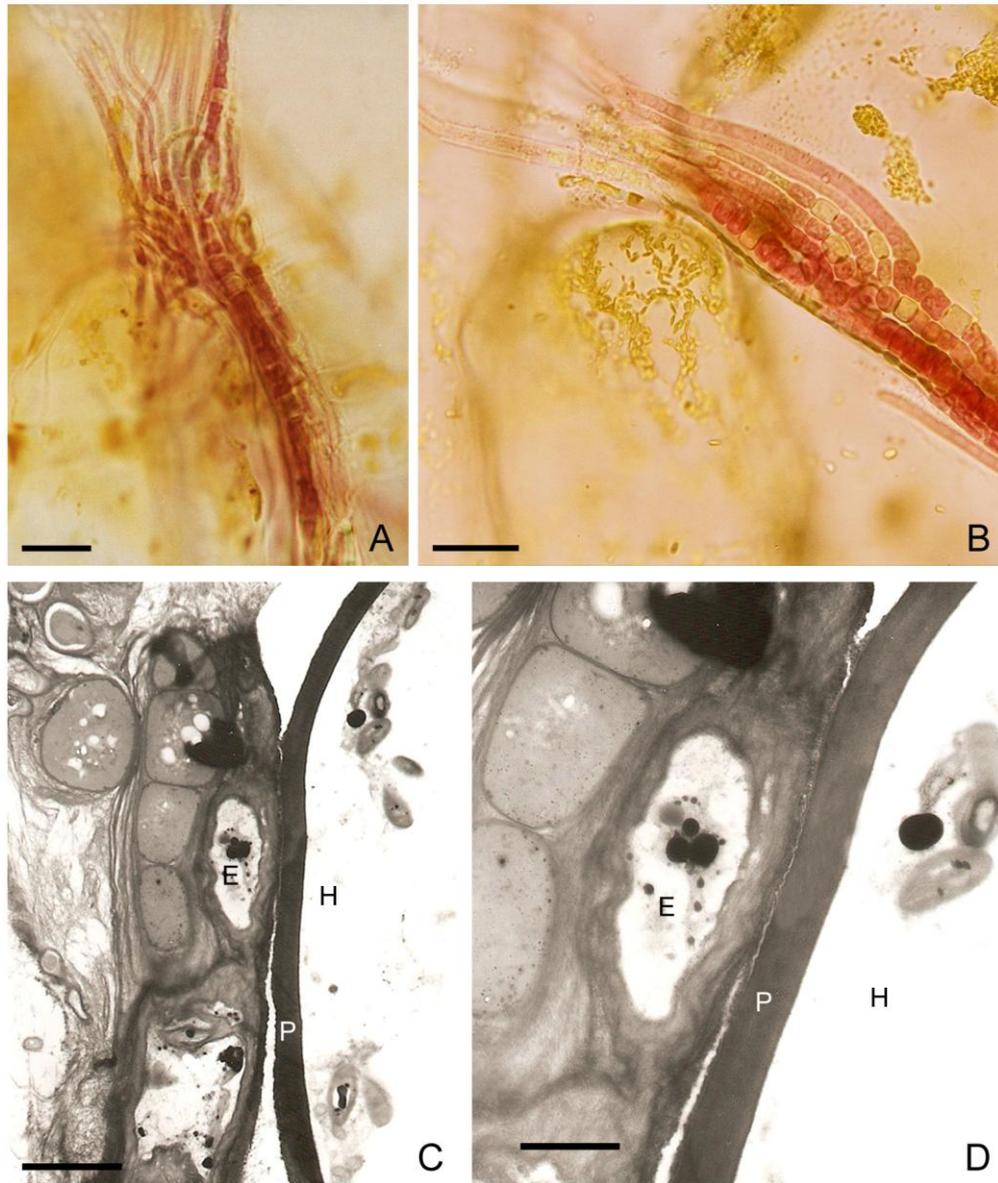


Figura 46. Epífitos tipo 1. *Kyrtothrix maculans*. A: vista del epífito en contacto con un utrículo; B: vista del epífito en contacto débil con un utrículo; C: interacción entre *Kyrtothrix* y *Codium*; el filamento está apoyado sobre el utrículo; D: detalle de la interfase; ambas cutículas están en contacto. A-B: fotomicrografías ópticas; C-D: fotomicrografías electrónicas. Escala: A-B = 25 μm ; C = 4 μm ; D = 2 μm . E: epífito; H: hospedante; P: pared celular de *Codium*.

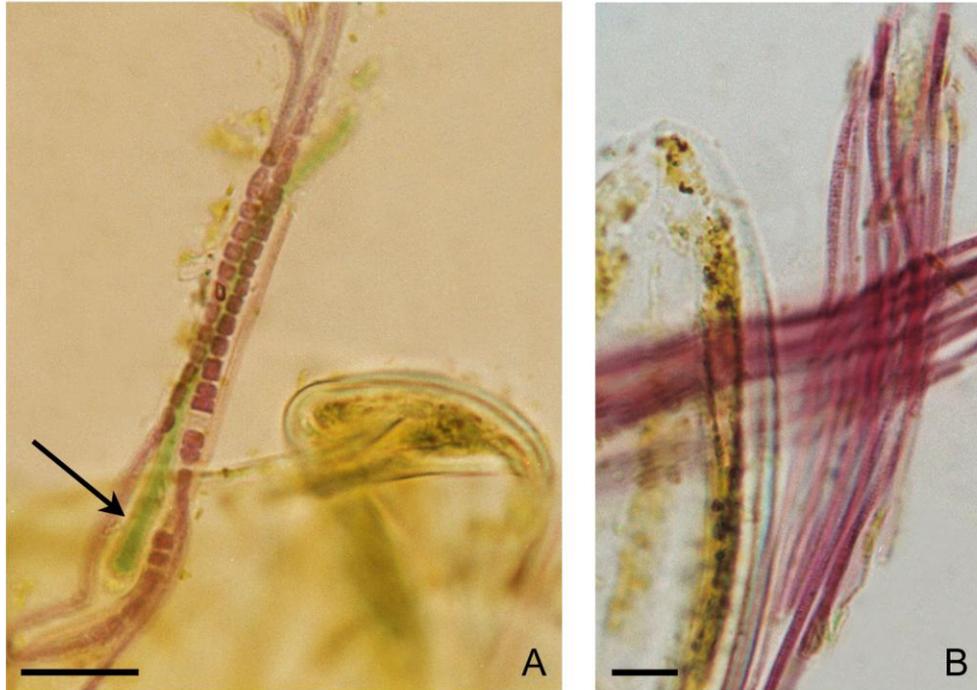


Figura 47. Epífitos tipo 1. A: *Calothrix crustacea* (flecha) entre utrículos de *Codium*; el epífito se desprende con facilidad del hospedante; B: *Lyngbya* sp. entre los utrículos de *Codium*. A-B: fotomicrografías ópticas. Escala: A, B = 25 μ m.

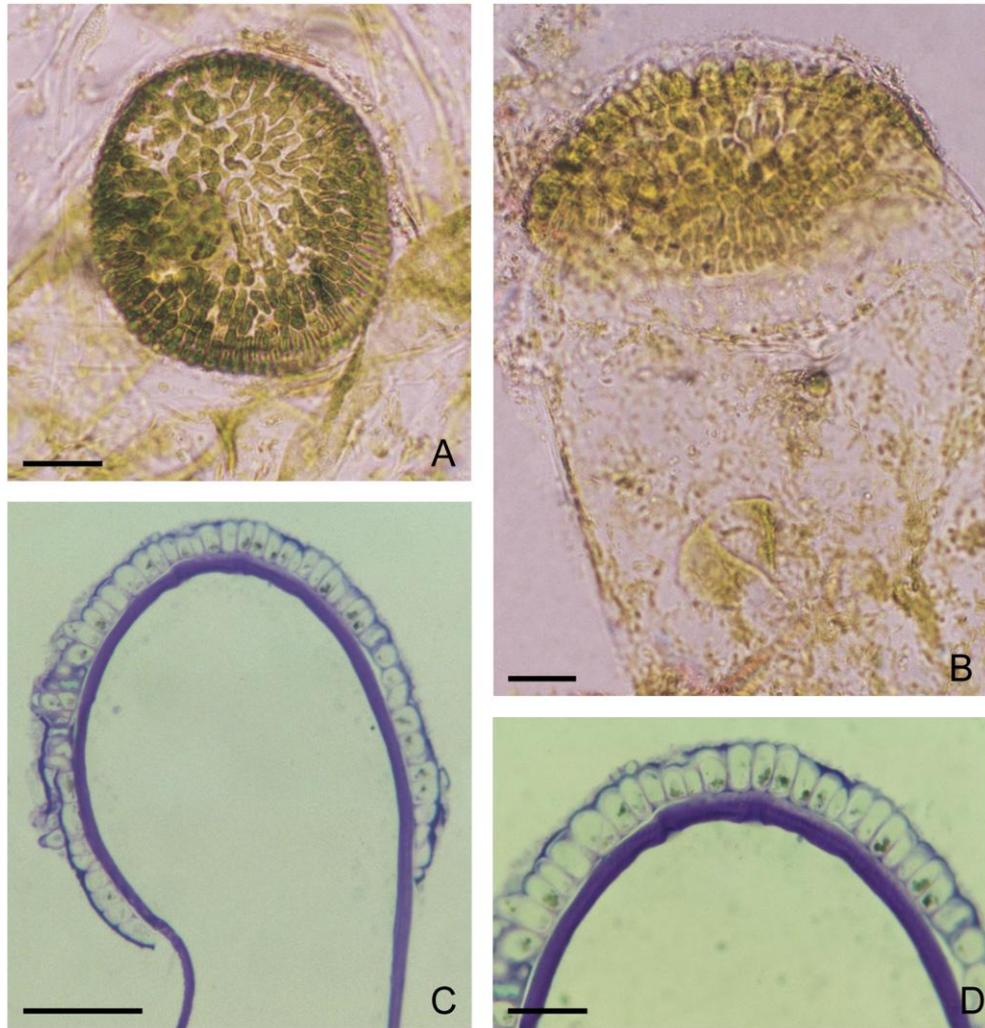


Figura 48. Epífitos tipo 2. *Microsyphar* sp. A: vista general del epífito en la porción apical del utrículo; B: vista lateral del epífito sobre el utrículo; C: vista general de la interacción entre epífito y hospedante. El disco cubre gran parte del utrículo; D: detalle de la interfase. La cutícula de *Codium* está engrosada. Coloración: C-D: azul de toluidina. A-D: fotomicrografías ópticas. Escala: A = 50 μm ; B, C = 30 μm ; D = 10 μm .

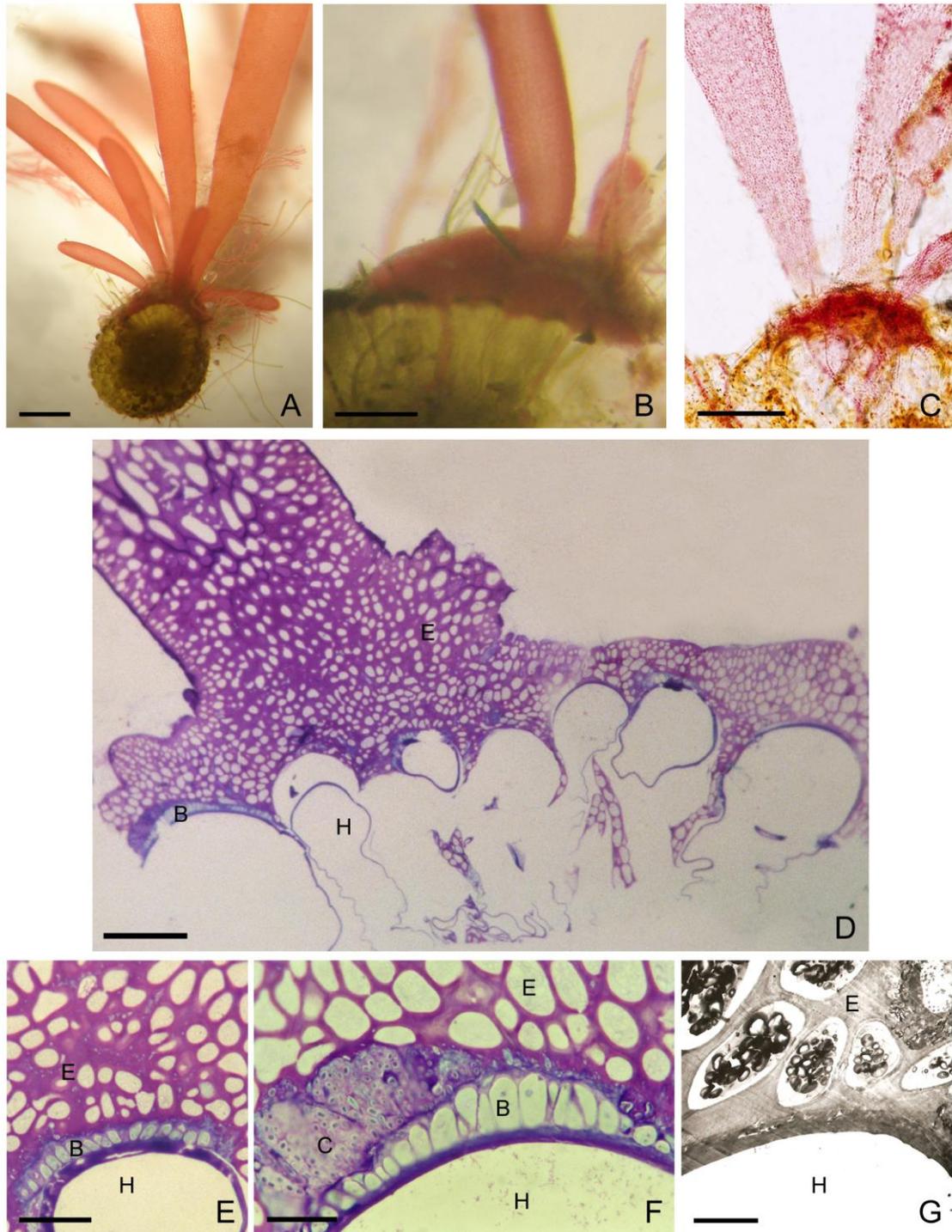


Figura 49. Epífitos tipo 2. *Lomentaria clavellosa*. A: vista general del epífito sobre el talo de *Codium*; B: detalle del disco del epífito sobre varios utrículos; C: disco basal sobre y entre los utrículos; D: corte del disco basal que crece sobre y entre los utrículos; E: bacterias entre el epífito y el utrículo; F: bacterias y cianófitas entre el epífito y el hospedante; G: detalle de la interfase entre *Codium* y *Lomentaria*. Las paredes están en estrecha asociación. Coloración: D-F: azul de toluidina. C-F: fotomicrografías ópticas; G: fotomicrografía electrónica. Escala: A-C = 4 mm; D = 90 μ m; E = 30 μ m; F = 10 μ m; G = 6 μ m. B: bacterias; C: cianófitas; E: epífito; H: hospedante.

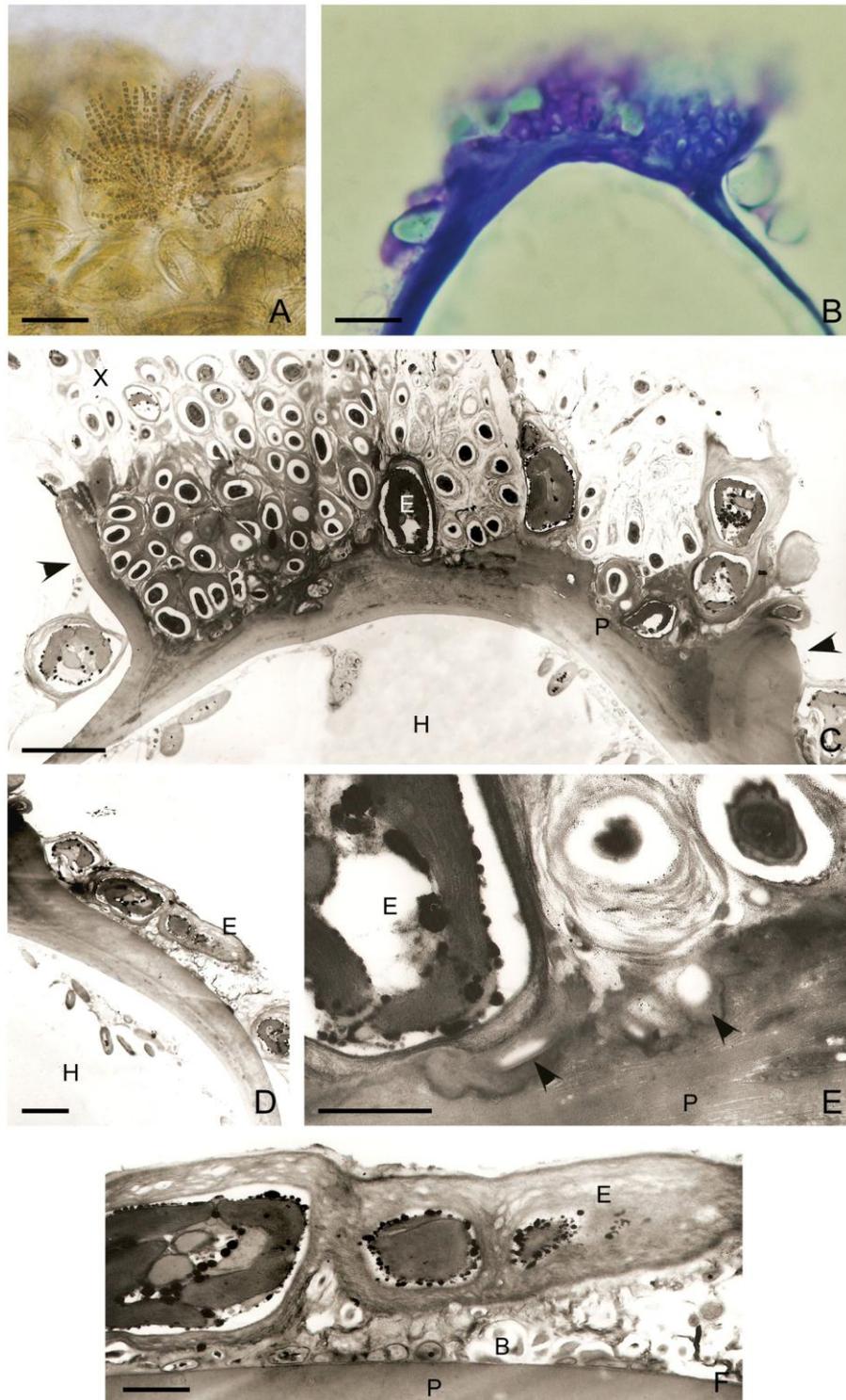


Figura 50. Epífitos tipo 3. *Myrionema incommodum*. A: vista general del epífito sobre el utrículo; B: la pared apical del utrículo está afectada por el epífito; C: detalle de la interacción en la que también está presente *Xenococcus*. La pared de *Codium* está engrosada y levantada (puntas de flecha); D: vista general del epífito sobre el utrículo; E: detalle de la interfase; la pared de *Codium* está parcialmente digerida (puntas de flecha); F: detalle de bacterias entre el epífito y el hospedante. Coloración: B: azul de toluidina. A-B: fotomicrografías ópticas; C-F: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 75 μm ; B = 10 μm ; C, D = 5 μm ; E, F = 1,5 μm . B: bacterias; E: epífito; H: hospedante; P: pared de *Codium*; X: *Xenococcus*.

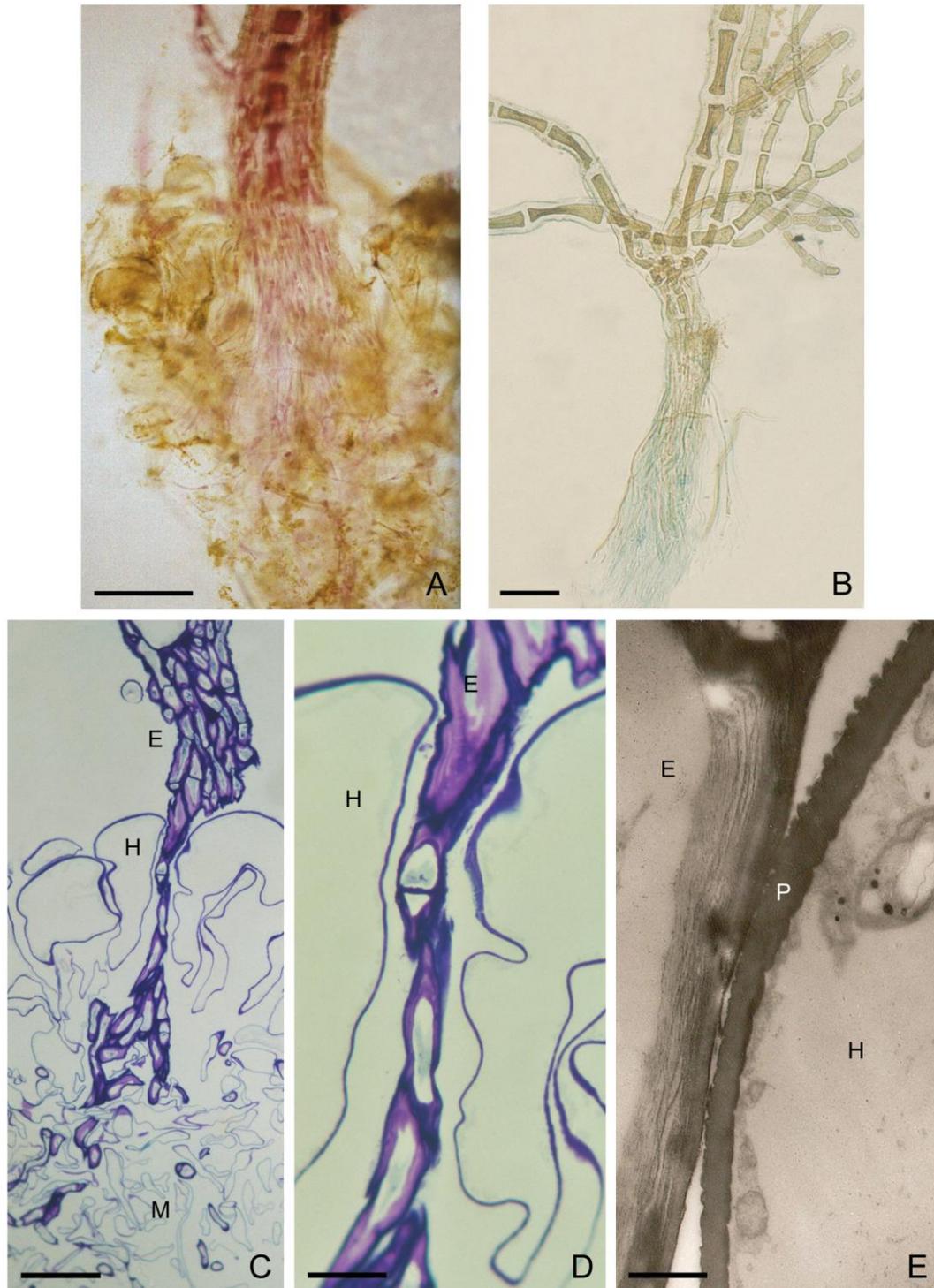


Figura 51. Epífitos tipo 4. *Callithamnion* sp. A: vista general de los rizoides del epífito entre los utrículos; B: detalle de los rizoides; C: rizoides ingresando entre los utrículos hasta llegar a la médula; D: detalle de C; E: detalle de la interfase en la que las paredes hacen contacto. Coloración: C-D: azul de toluidina. A-D: fotomicrografías ópticas; E: fotomicrografía electrónica. Escala: A, B = 150 μm ; C = 70 μm ; D = 10 μm ; E = 2 μm . E: epífito; H: hospedante; M: médula; P: pared celular de *Codium*.

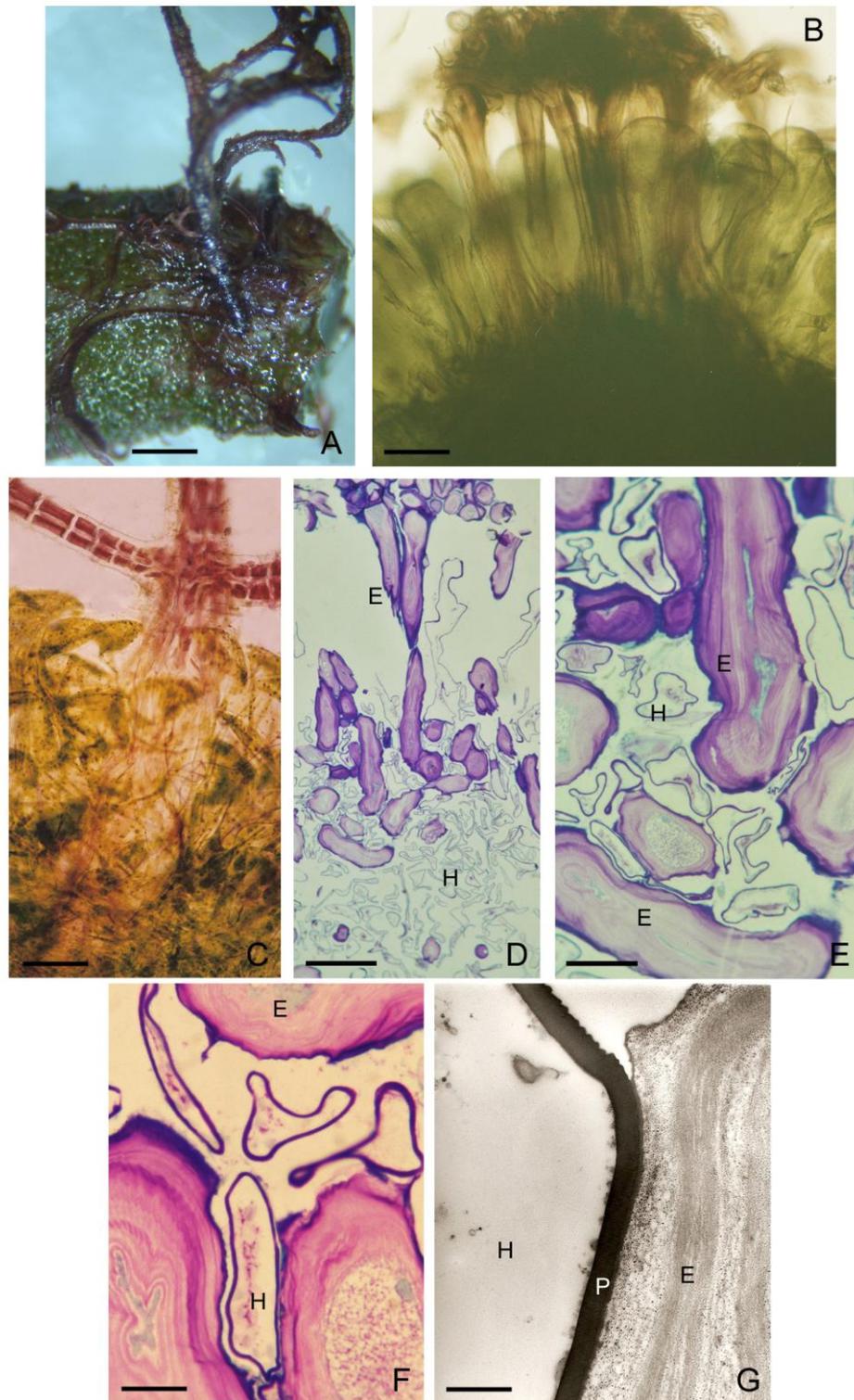


Figura 52. Epífitos tipo 4. *Polysiphonia* sp. A: vista de los rizoides de *Polysiphonia* que envuelven el talo de *Codium*; B: vista general de los rizoides creciendo entre los utrículos hasta llegar a la médula; C: detalle de los rizoides ingresando hasta la médula; D: rizoides cortados transversal y longitudinalmente entre los utrículos y filamentos medulares; E: detalle de D; F: interacción entre los rizoides y los utrículos; G: detalle de la interfase en la que las paredes están en contacto. Coloración: D-F: azul de toluidina. B-F: fotomicrografías ópticas; G: fotomicrografía electrónica. Escala: A = 2 mm; B-D = 100 μ m; E = 25 μ m; F = 10 μ m; G = 1 μ m. E: epífito; H: hospedante; P: pared celular de *Codium*.

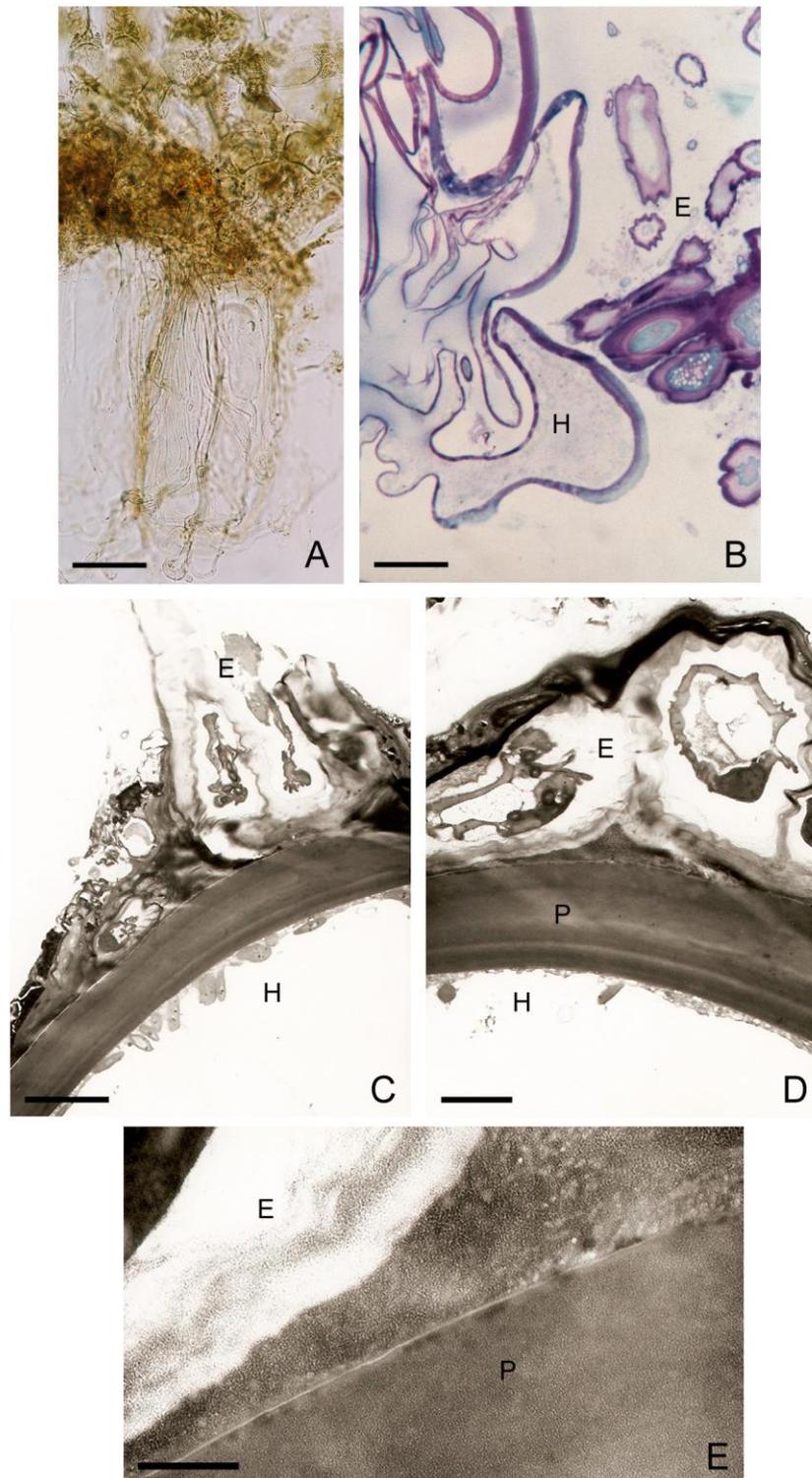


Figura 53. Epífitos tipo 4. *Ceramium* sp. A: vista general de los rizoides de *Ceramium* ingresando entre los utrículos hasta la médula; B: interacción entre rizoides y utrículos; C: vista general del rizoide apoyado sobre el utrículo; D: porción de *Ceramium* sobre el utrículo; E: detalle de la interfase en la que no se diferencia la cutícula. Coloración: B: azul de toluidina. A-B: fotomicrografías ópticas; C-E: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 100 μm ; B = 40 μm ; C = 6 μm ; D = 3 μm ; E = 0,5 μm . E: epífito; H: hospedante; P: pared celular de *Codium*.

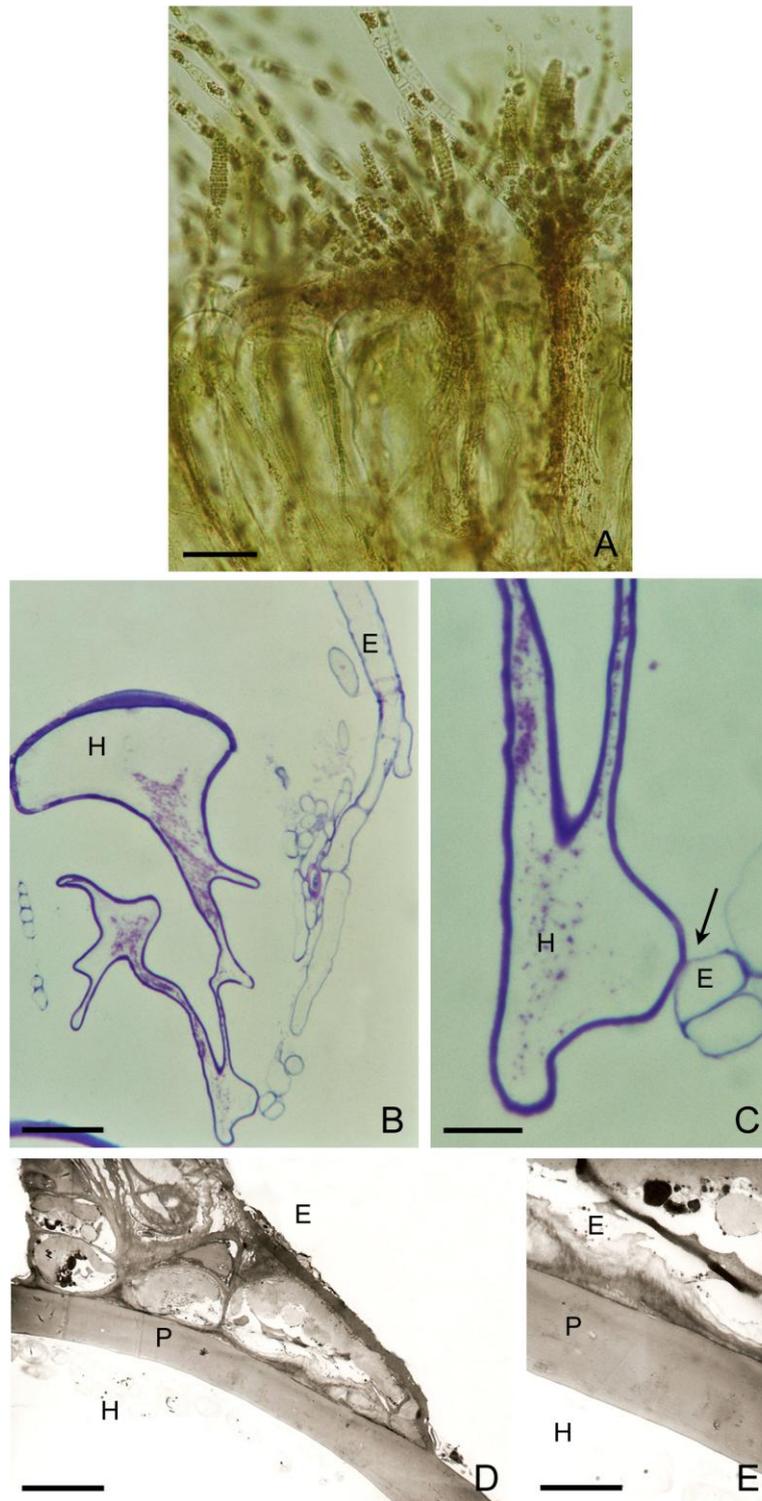


Figura 54. Epífitos tipo 4. *Ectocarpus confervoides*. A: vista general de los rizoides del epífito entre los utrículos de *Codium*; B: detalle de la interacción; C: detalle de la zona de contacto entre un rizoide cortado transversalmente y el utrículo (flecha); D: vista general de un rizoide apoyado sobre el utrículo; E: detalle de la interfase en la que ambas paredes están en contacto. Coloración: B-C: azul de toluidina. A-C: fotomicrografías ópticas; D-E: fotomicrografías electrónicas. Escala: A = 100 μm ; B = 30 μm ; C = 10 μm ; D = 6 μm ; E = 2,5 μm . E: epífito; H: hospedante; P: pared celular de *Codium*.

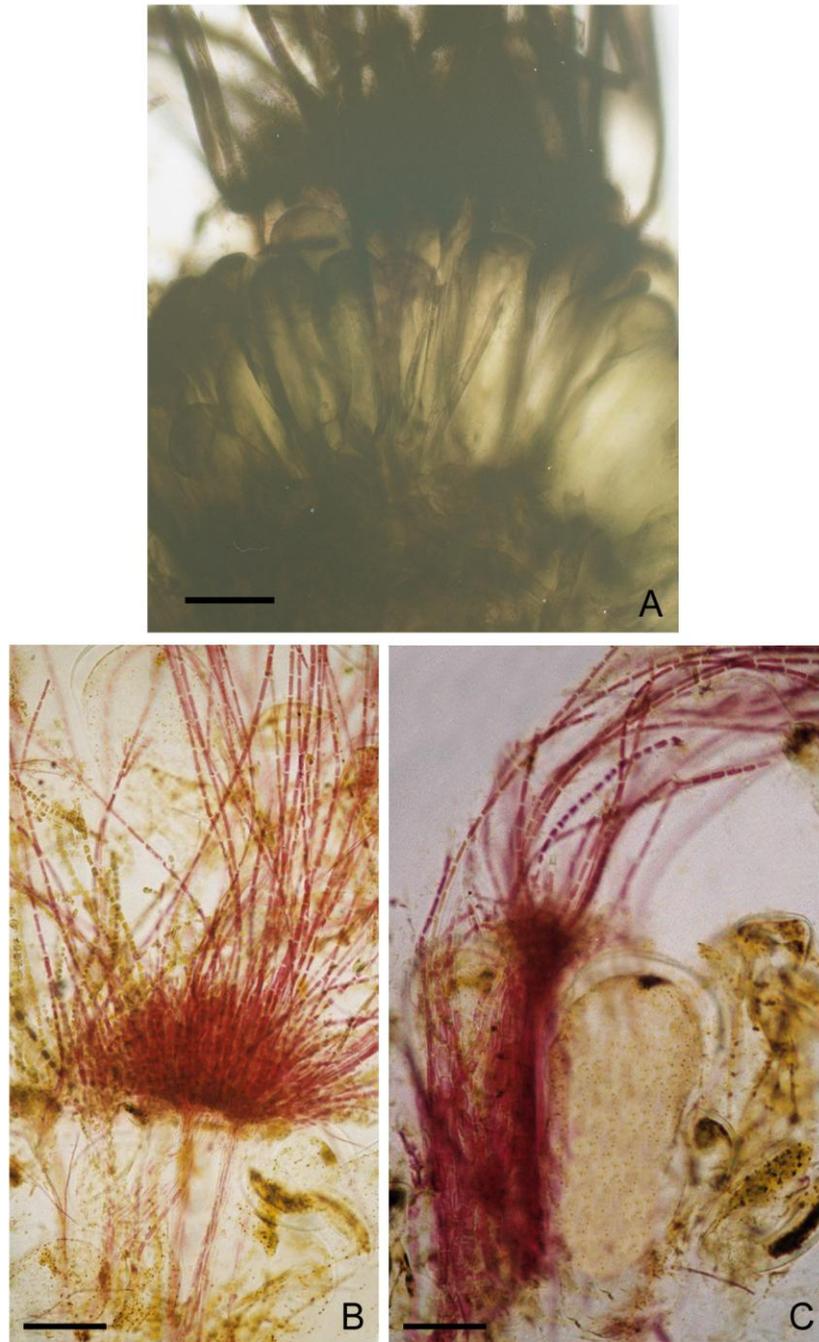


Figura 55. Epifitos tipo 4. A: vista general de los rizoides de *Sphacelaria furcigera* entre los utrículos de *Codium*; B: vista general de *Audouinella* sp. en la parte apical de un utrículo; C: vista general de los rizoides de *Audouinella* entre los utrículos. A-C: fotomicrografías ópticas. Escala: A, B = 100 μm ; C = 50 μm .

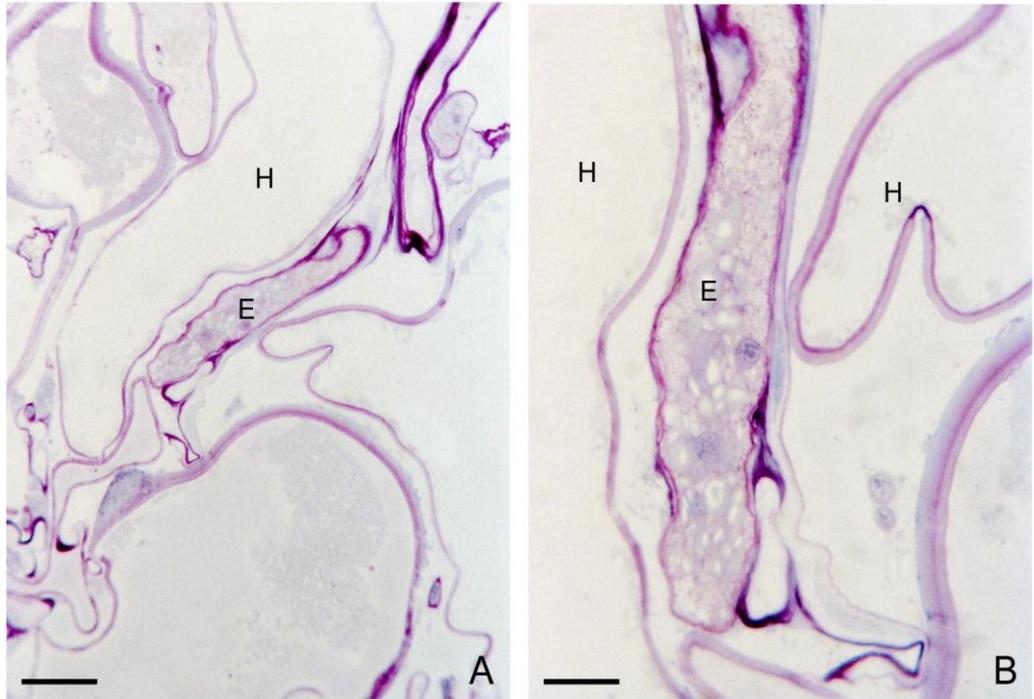


Figura 56. Epifitos tipo 4. *Cladophora* sp. A: vista general de los rizoides ingresando entre los utrículos; B: detalle de la interacción. En algunos sectores ambas paredes hacen contacto. Coloración: A-B: azul de toluidina. A-B: fotomicrografías ópticas. Escala: A = 20 μ m; B = 10 μ m. E: epífito; H: hospedante.

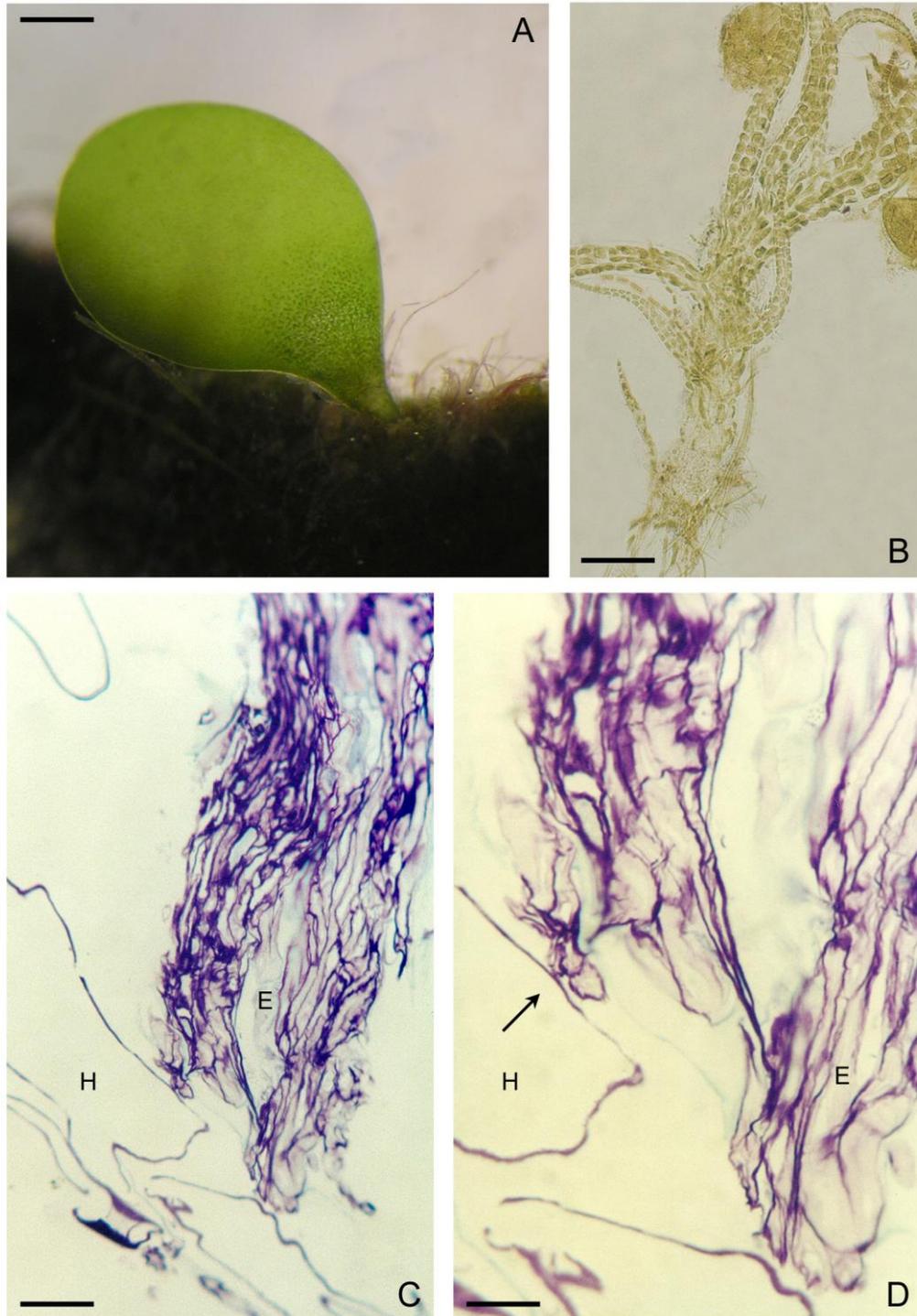


Figura 57. Epífitos tipo 4. *Ulva* sp. A: vista general de una lámina sobre el talo de *Codium*; B: detalle de los rizoides de *Ulva*; C: rizoides creciendo entre los utriculos; D: detalle de la interacción(flecha). Coloración: C-D: azul de toluidina. B-D: fotomicrografías ópticas. Escala: A = 4 mm; B = 100 μ m; C = 25 μ m; D = 10 μ m. E: epífito; H: hospedante.

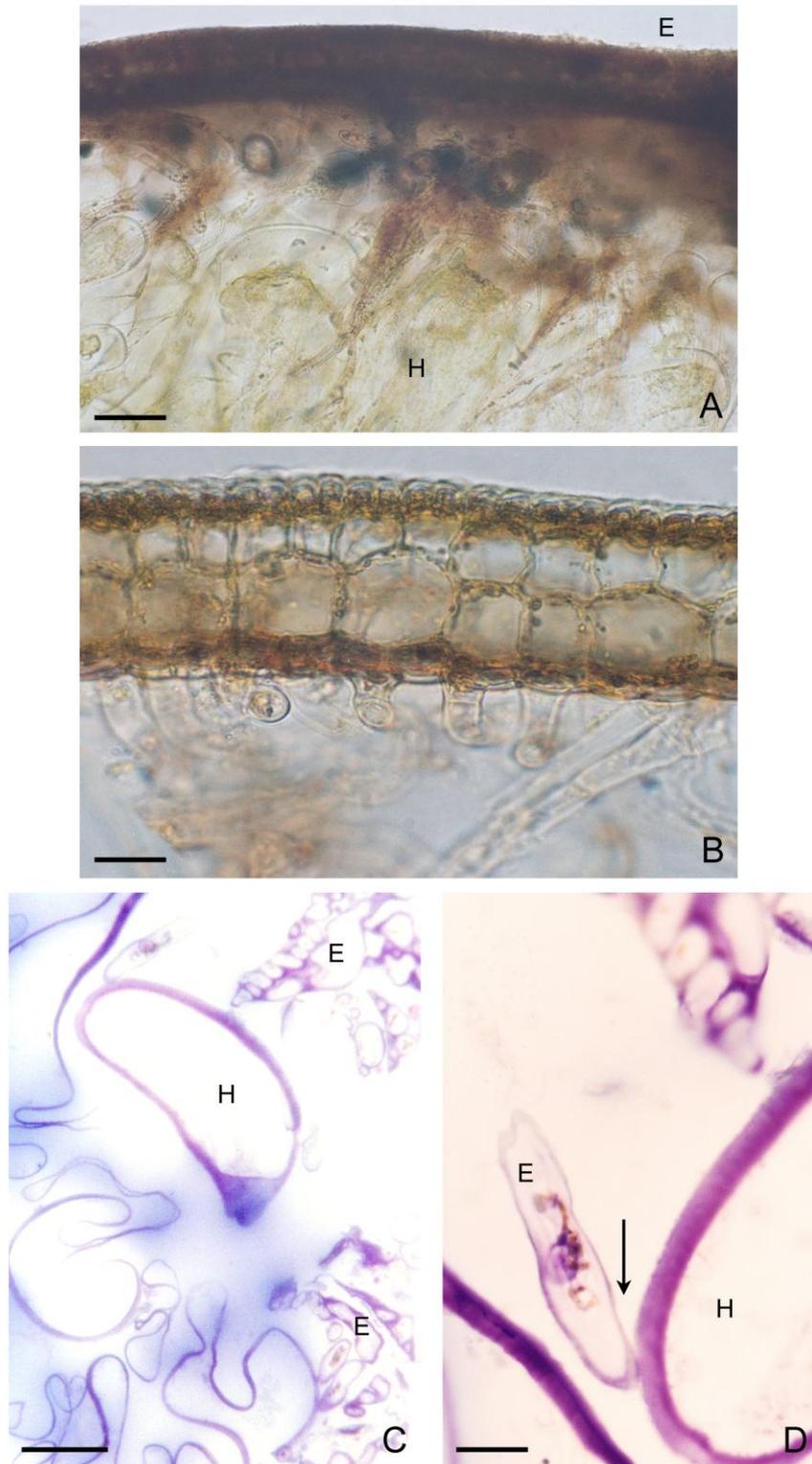


Figura 58. Epífitos tipo 4. *Aglaozonia* sp. A: vista general de *Aglaozonia* sobre y entre los utrículos; B: detalle de los rizoides digitiformes del epífito; C: vista de la interfase; D: detalle de la interfase en la que las paredes hacen contacto (flecha). Coloración: C-D: azul de toluidina. A-D: fotomicrografías ópticas. Escala: A = 80 μ m; B, C = 30 μ m; D = 10 μ m. E: epífito; H: hospedante.

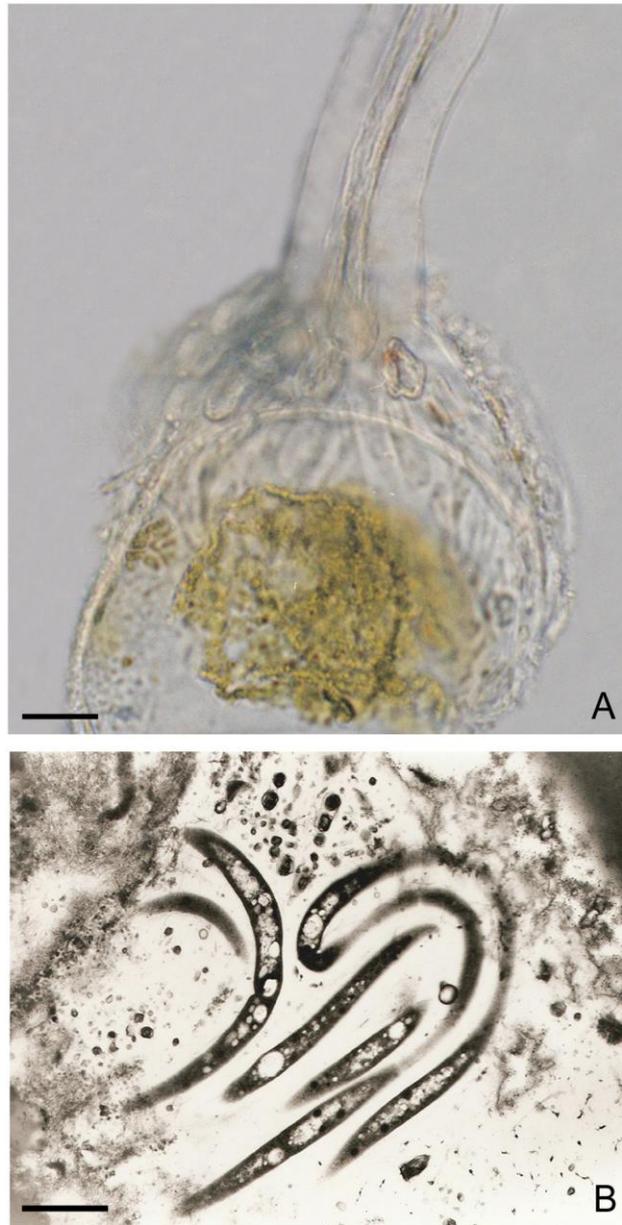


Figura 59. Epífitos tipo 4. A: *Antithamnion densum*. Vista general de la interacción entre los rizoides del epífito y la parte apical del utrículo; B: bacterias endofíticas en el interior de un gametangio femenino. A: fotomicrografía óptica; B: fotomicrografía electrónica. Escala: A = 25 μm ; B = 1,5 μm .

DISCUSIÓN

DISTRIBUCIÓN Y HÁBITAT

Silva (1957, 1960) estudió ejemplares de *C. decorticatum* de Mar del Plata, Bahía San Blas (provincia de Buenos Aires) y Puerto Madryn (Chubut); de *C. vermilara* de Puerto Madryn y San Julián (Santa Cruz) y de *C. fragile* con una distribución desde Mar del Plata hasta Tierra del Fuego, Islas Malvinas y Antártida. Además Boraso & Piriz (1975), Ricker (1987) y Boraso de Zaixso (2004) citaron a *C. subantarcticum* con una distribución restringida a Tierra del Fuego e Islas Malvinas. En este estudio se amplía la distribución de *C. decorticatum* a Pehuen Có (Buenos Aires) y San Antonio Oeste (Río Negro), de *C. fragile* a San Antonio Oeste y de *C. vermilara* a Bahía Bustamante y Comodoro Rivadavia (Chubut).

En nuestras costas los talos aparecieron asociados a piedras y conchillas del nivel intermareal. Esto estuvo en concordancia con otras especies de aguas templadas, como es nuestro caso, que son principalmente intermareales y están generalmente restringidas a sustratos duros (DeWreede, 2006). En aguas tropicales, en cambio, las especies de *Codium* son predominantemente submareales. Con menos frecuencia también se han encontrado especies creciendo sobre tallos y rizomas de plantas acuáticas (Garbary et al., 2004). El nivel de marea en el cual vive una especie de *Codium* está relacionado con la tolerancia de esa especie a los cambios de temperatura y a la desecación de los talos (Trowbridge, 1998).

MORFOLOGIA EXTERNA

Existe una gran diversidad en formas de talos en el género *Codium*, desde postrados, globosos, procumbentes, cilíndricos, con forma de soga, erguidos y aplanados, hasta erguidos y ramificados dicotómicamente (Trowbridge, 1998). Las tres especies que crecen en las costas de las provincias de Buenos Aires, Río Negro y Chubut son erguidas y ramificadas dicotómicamente. Sin embargo, *C. vermilara* en Caleta Malaspina también presentó talos postrados e irregularmente ramificados.

Silva (1960), Boraso & Piriz (1975) y Boraso de Zaixso (2004) en su descripción de las especies que crecen en la costa atlántica argentina, encontraron talos de *C. decortdatum* de mayor longitud (hasta 1 m) que los encontrados en este estudio (hasta 15 cm). En las costas de Sudáfrica (Lluch, 2002), esta especie produce talos de alrededor de 50 cm. La variación de tamaño se debe a que tanto el hábito como la anatomía están muy influenciados por la edad del talo y por factores ambientales (Silva, 1960). En los ejemplares de *C. decortdatum* estudiados en Carolina del Norte por Williams (1948) se observó asimismo una gran variación morfológica. Los talos que crecían en condiciones favorables eran más largos, ramificados dicotómicamente, con las dicotomías muy aplanadas; en cambio, los que crecían bajo condiciones de escasa iluminación eran pequeños, muy ramificados y frecuentemente no aplanados. En el caso de los talos aquí estudiados la diferencia de tamaño encontrada con relación a los tamaños observados por Silva (1960), Boraso & Piriz (1975) y Boraso de Zaixso (2004), podría deberse a que nuestros ejemplares son más jóvenes e incluso, en algunos casos, se trataba de talos fragmentados llegados con las arribazones (Tabla 6).

Los talos de *C. vermilara*, en cambio, presentaron un tamaño intermedio (30 cm) entre los citados por Boraso & Piriz (1975), que midieron hasta 16 cm de alto y los estudiados por Silva (1957), con una longitud máxima de 45 cm (Tabla 8). Con respecto a los ejemplares de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae*, la longitud máxima de los talos fue similar a la de los encontrados en nuestras costas por Boraso & Piriz (1975), Rico & Pérez (1993) y Boraso de Zaixso (2004), en Nueva Zelanda por Dellow (1952) y en el sur de Australia por Silva & Womersley (1956) (Tabla 7).

Los talos de *C. vermilara* que crecían en pozas de marea tuvieron menor tamaño comparado con los que crecían en el submareal. Asimismo la densidad de talos en estas pozas fue mayor. Bulleri et al. (2007) habían indicado en *C. fragile* que en habitats protegidos las poblaciones adquirirían grandes densidades de talos de gran tamaño, los que incluso desarrollan estructuras reproductivas desde la mitad del verano hasta el otoño. El menor tamaño de los talos hallado en las poblaciones de *C. vermilara* aquí estudiadas, comparado con las que crecen en habitats expuestos, podría deberse al pequeño tamaño de las pozas de marea donde desarrollaban.

En cuanto al número de dicotomías, Boraso & Piriz (1975) citan como máximos 4 y 8 para *C. decorticatum* y *C. vermilara* respectivamente, mientras que en este estudio los máximos fueron 13 y 18 respectivamente. En el caso de *C. fragile*, el número máximo de dicotomías fue similar, es decir de 10 en los talos encontrados por Boraso & Piriz (1975) y de 11 en los encontrados en este estudio (Tablas 6-8). La gran diferencia en número de dicotomías en *C. decorticatum* y *C. vermilara* podría deberse a que los talos analizados por Boraso

& Piriz (1975) eran más jóvenes o bien eran talos fragmentados y por lo tanto de menor número de dicotomías.

En *C. fragile* subsp. *tomentosoides* se han registrado dos variantes morfológicas diferentes (Garbary et al., 2004) similares a las observadas aquí para *C. vermilara*. En el primer caso, los talos fijados a un sustrato identificable, como piedras o conchillas, tuvieron una morfología típica de disco basal y eje erguido ramificado dicotómicamente. En el segundo caso, los talos no fijados a un sustrato consistieron en un eje postrado que formaba muchas ramificaciones en ángulo recto. Estos autores (Garbary et al., 2004) sugieren que este último crecimiento rizomatoso podría ser una adaptación relacionada con la absorción de nutrientes. La proximidad de los ejes postrados al sedimento ayudaría a una toma de nutrientes directamente del sedimento, además de los nutrientes de la columna de agua. En *C. vermilara* se observaron tipos de crecimiento similares, dos formas de diferente tamaño de hábito erguido, que crecen sobre sustratos duros y una forma rizomatosa de la que se desconoce el sustrato sobre el que crecía. En *C. decorticatum* y en *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* se observó sólo el tipo de crecimiento erguido.

En el caso de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* los talos femeninos no pudieron diferenciarse de los talos masculinos. En otras especies, en cambio, como en *C. isthmocladum* Vickers (Prince & Trowbridge, 2004) se observa dimorfismo sexual, ya que los talos masculinos son de color verde amarillento, más ramificados y con ramas más angostas y los femeninos de color verde oscuro, de mayor longitud y con un modelo de ramificación más abierto, con ramas más gruesas.

MORFOLOGIA INTERNA

Los detalles anatómicos que incluyen tamaño y forma de los utrículos y gametangios son las principales características usadas para diferenciar las especies en el género. Las modificaciones en los ápices de los utrículos, la presencia o ausencia de pelos o sus cicatrices también son criterios taxonómicos importantes (Ricker, 1987). En las Tablas 6-8 se comparan los datos obtenidos en este trabajo en cuanto a utrículos, pelos y gametangios, con las observaciones realizadas por otros autores en las mismas especies. En general, las características aquí observadas son similares a las de estudios previos; sin embargo, la longitud máxima de los utrículos de *C. decortdatum* descritos por Boraso & Piriz (1975) duplica a la encontrada en los especímenes aquí estudiados y en los descritos por Silva (1960) y por Lluch (2002) (Tabla 6). En cuanto al mucrón en los ejemplares estudiados de *C. fragile* su tamaño es mayor que el señalado por Boraso & Piriz (1975), Silva & Womersley (1956) y por Rico & Pérez (1993) (Tabla 7).

En las tres especies estudiadas se observaron pelos. En los ejemplares observados los pelos fueron producidos principalmente por utrículos ubicados en las porciones apicales de las ramas. Silva (1957) menciona que los pelos son formados por utrículos juveniles y que en algunas especies están restringidos a los ápices de las ramas, aunque en otras los utrículos viejos continúan produciéndolos. Silva (1960) indicó que su presencia en *C. decortdatum* no era constante, mientras que Boraso & Piriz (1975) y Lluch (2002) no los encontraron en esta especie. Trowbridge (1998) describe las posibles funciones de los pelos: protección contra la intensa luz, facilitación en la toma de nutrientes en ambientes en los que la concentración es baja y eliminación de epífitos.

Tabla 6. Comparación de los datos morfológicos de *C. decorticans* de este estudio con los de estudios anteriores

<i>C. decorticans</i>				
	Este estudio	Boraso & Piriz, 1975	Silva, 1960	Lluch, 2002
Longitud del talo	hasta 15 cm	1 m	1-1,5 m	8,5-18 cm
Número de dicotomías	3 a 13	4		3-7
Forma de utrículos	claviformes o cilíndricos	cilíndricos	cilíndricos o clavados	cilíndricos o clavados
Longitud de utrículos	880–1440 μm	700-3000 μm	1100-1750 μm	1000-1400 μm
Diámetro de utrículos	170–560 μm	130-700 μm	220-500 μm	200-680 μm
Ápice de utrículos	redondeado	dilatado, redondeado	redondeado, truncado	aplanado, redondeado
Longitud pelos	hasta 950 μm	ausentes	variable	ausentes
Diámetro pelos	25–42,5 μm			
Distancia de inserción al ápice del utrículo	170–200 μm		145-330 μm	
Filamentos medulares	27,5–52,5 μm		35-85 μm	40-60 μm
Forma de gametangios	ovoides	ovoides a ampuliformes	lanceovoides	cónicos, elipsoidales
Longitud de gametangios	212,5–475 μm	230-360 μm	185-300 μm	300-460 μm
Diámetro de gametangios	30–137,5 μm	50-150 μm	70-125 μm	60-140 μm
Distancia de inserción al ápice del utrículo	242,5–590 μm	430-650 μm	430-650 μm	420-575 μm

Tabla 7. Comparación de los datos morfológicos de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* de este estudio con los de estudios anteriores

<i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i>					
	Este estudio	Boraso & Piriz, 1975	Dellow, 1952	Silva & Womersley, 1956	Rico & Pérez, 1993
Longitud del talo	hasta 30 cm	30 cm	10-25 cm	10-30 cm	30 cm
Número de dicotomías	5 a 11	10			10
Forma de utrículos	cilíndricos	cilíndricos	clavados o cilíndricos	cilíndricos, alargados, clavados	subcilíndricos
Longitud de utrículos	femeninos 985,6–1500 μm masculinos 850–1600 μm	800-1700 μm	750-1500 μm	1000-1450 μm	800-1000 μm
Diámetro de utrículos	femeninos 96–280 μm masculinos 50–280 μm	70-400 μm	30-350 μm	130-330 μm	100-300 μm
Ápice de utrículos	mucrón 20-100 μm	mucrón 10-48 μm		mucrón 77 μm	mucrón
Longitud de pelos	hasta 1570 μm	1300 μm	150-500 μm	largos	
Diámetro pelos	42,5–55 μm		25-40 μm	52-104 μm	
Distancia de inserción al ápice del utrículo	250–350 μm	tercio superior		185-450 μm	
Filamentos medulares	24–57,5 μm	20-55 μm	40-60 μm	26-46 μm	
Forma de gametangios	ovoides, elípticos		ovados a fusiformes	lanceovoides, elipsoides o cilíndricos	
Longitud de gametangios	femeninos 264–520 μm masculinos 275–430 μm	180-600 μm	300-500 μm	260-450 μm	250-550 μm
Diámetro de gametangios	femeninos 50–138,6 μm masculinos 70–100 μm	80-140 μm	90-120 μm	90-130 μm	58-155 μm
Distancia de inserción al ápice del utrículo	femeninos 600–700 μm masculinos 330–680 μm	320-890 μm		460-850 μm	

Tabla 8. Comparación de los datos morfológicos de *C. vermilara* de este estudio con los de estudios anteriores

<i>C. vermilara</i>			
	Este estudio	Boraso & Piriz, 1975	Silva, 1957
Longitud del talo	hasta 30 cm	16 cm	10-45 cm
Número de dicotomías	6 a 18	8	10
Forma de utrículos	ampuliformes a piriformes	cilíndricos a piriformes	clavados a piriformes
Longitud de utrículos	250–720 μm	325-650 μm	400-650 μm
Diámetro de utrículos	60–200 μm	175-275 μm	90-240 μm
Ápice de utrículos	redondeado		redondeado
Longitud pelos	hasta 2150 μm	3000 μm	
Diámetro pelos	25-40 μm		
Distancia de inserción al ápice del utrículo	80–240 μm	30-100 μm	60-110 μm
Filamentos medulares	22,5–37,5 μm	15-45 μm	18-45 μm
Forma de gametangios	ovoides, ligeramente ensanchados en la base	fusiformes	oblongos a fusiformes
Longitud de gametangios	185–250 μm	200-330 μm	200-290 μm
Diámetro de gametangios	55–110 μm	80-180 μm	60-80 μm
Distancia de inserción al ápice del utrículo	250–320 μm	270-340 μm	

ULTRAESTRUCTURA

Los estudios ultraestructurales en el género son muy escasos y sólo se han hecho observaciones sobre las características de los cloroplastos (Hori & Ueda, 1967; Ben Shaul et al., 1975) y núcleos (Roth & Friedmann, 1980). El colapso de los utrículos, debido a que el 93 – 95 % del volumen del utrículo está ocupado por un gran sistema vacuolar central (Trowbridge, 1998), la presencia de escasos septos y la gran cantidad de mucílago son importantes obstáculos en el momento de lograr buenas fijaciones. Por otro lado, debido a la imposibilidad de cultivar o de mantener a los talos en buenas condiciones en laboratorio, las fijaciones deben realizarse necesariamente en el sitio de recolección.

En términos generales la organización ultraestructural de los utrículos de las tres especies de *Codium* es similar al modelo presente en otras algas sifonales, como *Bryopsis hypnoides* Lamouroux (Burr & West, 1970), *Derbesia tenuissima* (De Notaris) Crouan (Wheeler & Page, 1974), *Caulerpa prolifera* (Forsskål) Lamouroux (Sabnis & Jacobs, 1967; Sabnis, 1969, Dawes & Barilotti, 1969), *Udotea petiolata* (Turra) Børgesen (Mariani Colombo, 1978b), *Halimeda tuna* (Ell. et Sol.) Lamouroux (Palandri, 1972), *Penicillus capitatus* Lamark, *P. pyriformis* A. y E. S. Gepp (Turner & Friedmann, 1974), *Blastophysa rhizopus* Reinke (Sears, 1967), *Avrainvillea asarifolia* Børgesen, *A. longicaulis* (Kützinger) Murray et Boodle, *A. nigricans* Decaisne, *A. rawsonii* (Dickie) Howe y *Cladocephalus luteofuscus* (Crouan) Børgesen (Roth & Friedmann, 1987). En todas estas especies el citoplasma forma una capa delgada periférica alrededor de una gran vacuola central que penetra en el citoplasma adyacente y que se extiende a lo largo de todo el sifón.

La cutícula está generalmente presente en la clase (Roth & Friedmann, 1987). Una cutícula de borde aserrado, similar a la aquí observada en las tres especies de *Codium* fue descrita en *Bryopsis hypnoides* (Burr & West, 1970) y *Udotea petiolata* (Mariani Colombo, 1978b); por el contrario en *Derbesia tenuissima* y en *Penicillus* sp. la cutícula es lisa (Wheeler & Page, 1974; Turner & Friedmann, 1974).

La ultraestructura de la pared celular de las algas de estructura sifonal también presenta variaciones. En *Codium*, al igual que en *Penicillus capitatus* y *Udotea petiolata*, la pared posee un aspecto homogéneo (Turner & Friedmann, 1974; Mariani Colombo, 1978b); mientras que en *Bryopsis hypnoides*, *Caulerpa sertularioides* (Gmelin) Howe y *Derbesia tenuissima* presenta un aspecto fibrilar (Burr & West, 1970; Mishra, 1969; Wheeler & Page, 1974) y es granular a fibrilar en *Avrainvillea* spp. y *Cladocephalus* sp. (Roth & Friedmann, 1987). También varían el número de estratos y su disposición. En las tres especies de *Codium*, al igual que en *Udotea petiolata*, la pared es uniestratificada; sin embargo, en *Codium* se presenta un estrato adicional delgado en la zona cercana al punto de unión del gametangio con el utrículo. Algo similar ocurre en *Bryopsis hypnoides*, donde la mayor parte del talo también es uniestratificada, presentando la pared longitudinal adyacente al “plug” estratos electrodensos que alternan con estratos electrónicamente claros (Burr & West, 1970). La pared celular de *Derbesia tenuissima* posee una capa interna gruesa, formada por varias subcapas y una capa externa electrónicamente densa (Wheeler & Page, 1974). *Penicillus capitatus* posee estratificación sólo en las áreas maduras del filamento (Turner & Friedmann, 1974).

En varias especies de *Codium* Setchell (1940) y Silva (1951) observaron al microscopio óptico intrusionas de la pared hacia la vacuola en las porciones apicales de los utrículos que denominaron, de acuerdo a su morfología, trabéculas, cribas o engrosamientos escalariformes. En este trabajo no se observó ninguna de estas modificaciones al microscopio óptico, en cortes semifinos o al microscopio electrónico.

La vacuola central en las tres especies de *Codium* siempre presentó un contenido homogéneo y translúcido; en cambio en otras sifonales estudiadas, como *Caulerpa prolifera* (Sabnis, 1969), *Bryopsis hypnoides* (Burr & West, 1970, 1971b) *Avrainvillea* sp., *Cladocephalus* sp. (Roth & Friedmann, 1987), *Halimeda tuna* (Palandri, 1972), *Udotea petiolata* (Mariani Colombo, 1978b), *Penicillus capitatus* (Turner & Friedmann, 1974), *Chlorodesmis fastigiata* (Agardh) Ducker (Menzel, 1987), se han descrito diferentes inclusiones vacuolares, como gránulos osmiofílicos, cuerpos proteicos, cristales, etc., que juegan un papel importante en la reparación de lesiones mediante la cicatrización de daños mecánicos y la formación de tapones y septos (Burr & West, 1970, 1971b; Menzel, 1987).

En las tres especies de *Codium* estudiadas, al igual que en *Bryopsis hypnoides* (Burr & West, 1970) y en *Caulerpa prolifera* (Sabnis & Jacobs, 1967; Sabnis, 1969), se diferenciaron en el citoplasma periférico claramente dos zonas, una externa o ectoplasma, contigua a la pared que contenía las organelas excepto los cloroplastos y una interna o endoplasma en la que se encontraban los cloroplastos.

Los núcleos de *C. fragile* fueron similares en tamaño y forma a los descritos por Roth & Friedmann (1980) para *C. isthmocladum*. También fueron

similares a los núcleos de *Derbesia* spp., *Bryopsis hypnoides*, *Dichotomosiphon* spp. y *Caulerpa prolifera* (Burr & West, 1970; Sabnis, 1969; Roth & Friedmann, 1980) aunque en estos últimos géneros los núcleos son, en general, de menor tamaño. Por su parte, los núcleos de *C. decorticatum* y de *C. vermilara* aquí estudiados presentaron una gran diversidad de formas y tamaños.

Una característica relevante de los núcleos de *Codium*, también observada en los núcleos de las 3 especies aquí estudiadas es que, a diferencia del resto de los géneros de Bryopsidophyceae, la heterocromatina condensada está distribuida por todo el nucleoplasma en interfase (Roth & Friedmann, 1980). Además en los nucléolos de *Codium*, al igual que en *Bryopsis*, *Caulerpa*, *Chlorodesmis*, *Derbesia*, *Dichotomosiphon*, *Halimeda*, *Penicillus*, *Udotea* (Roth & Friedmann, 1981), no se distinguen las zonas granular y fibrilar como, por el contrario, sí se distinguen en los nucléolos de *Avrainvillea*, *Cladocephalus* y *Blastophysa* (Roth & Friedmann, 1987).

Los cloroplastos son los únicos plástidos presentes en las Bryopsidales *Codium*, *Derbesia* y *Bryopsis*; en cambio, otras algas sifonales como *Caulerpa*, *Halimeda*, *Udotea*, *Avrainvillea*, *Cladocephalus* y *Dichotomosiphon* tienen cloroplastos y amiloplastos (Hori & Ueda, 1967; Sabnis, 1969; Borowitzka, 1976; Mariani Colombo, 1978b; Roth & Friedmann, 1987).

En *C. decorticatum* se observaron diferentes tipos de cloroplastos, algunos con numerosas lamelas y escaso almidón, similares a los descritos por Hori & Ueda (1967) para *Codium fragile* y *C. repens* Vickers, otros con lamelas reducidas, con uno o más gránulos de almidón ovalados y glóbulos lipídicos y finalmente otros con sólo un gránulo de almidón que ocupaba la mayor parte del cloroplasto y muy escasas lamelas. Si bien esta variación no puede considerarse

una heteroplastía del tipo de la descrita en *Caulerpa*, *Dichotomosiphon*, *Avrainvillea*, *Cladocephalus*, *Chlorodesmis*, *Halimeda*, *Udotea*, donde hay cloroplastos y amiloplastos y un sistema lamelar concéntrico característico (Hori & Ueda, 1967; Borowitzka, 1976; Roth & Friedmann, 1987), es digno de notar la gran variación que se presenta en la proporción de lamelas y gránulos de almidón en los distintos plástidos en un mismo utrículo en *Codium*. Las otras dos especies estudiadas mostraron sólo el primer tipo de cloroplastos, es decir, con bandas de 2 a 7 lamelas ordenadas, uno o dos gránulos de almidón pequeños y glóbulos lipídicos, también descrito para *C. fragile*, *C. repens* (Hori & Ueda, 1967) y *C. vermilara* (Ben Shaul et al., 1975).

La mayoría de los autores sugieren que tanto los pelos como los filamentos medulares de *Codium* son incoloros y sin cloroplastos (Silva, 1952; Boraso, 2004; Guiry & Guiry, 2008); Trowbridge (1998) observó en *Codium* algunos cloroplastos. En este estudio se demostró que los pelos y los filamentos medulares tienen la misma estructura básica que el utrículo, sin embargo, contienen menor proporción de cloroplastos.

REPRODUCCIÓN ASEXUAL

La reproducción vegetativa es el tipo de reproducción más común en las distintas especies de *Codium* (Silva, 1957). Es una importante estrategia reproductiva para algas verdes cenocíticas que facilita su rápida diseminación. Las fragmentaciones ocurren en diferentes estaciones del año, por ejemplo en poblaciones de *C. fragile* subsp. *tomentosoides* del NO del Océano Atlántico, la fragmentación ocurre en invierno, quedando sólo los discos basales y luego en primavera se inicia un nuevo crecimiento (Churchill & Moeller, 1972; Fralick &

Mathieson, 1972; Wilson, 1978); en Oregon y en el este de Canadá estas fragmentaciones ocurren en primavera (Garbary et al., 2004). La fragmentación se puede producir por acción de las olas (Dromgoole, 1975; Trowbridge, 1999), por disminución de la temperatura (Fralick & Mathieson, 1972) o como consecuencia de la herbivoría (Trowbridge, 1993, 2002). Los fragmentos no consumidos por los opistobranquios pueden potencialmente fijarse o pueden morir (Trowbridge, 1993). Los talos fragmentados por el oleaje y por herbívoros mantienen y diseminan las poblaciones a través de la fragmentación durante el período de condiciones ambientales desfavorables para los talos erguidos ramificados (Nanba et al., 2005). En la bibliografía se mencionan otros mecanismos de reproducción vegetativa: 1- a partir de utrículos aislados en *C. fragile* (Park & Sohn, 1992; Nanba et al., 2000, 2002, 2005), en *C. adhaerens* (Cabr.) C. Ag., *C. bursa* (L.) C. Ag., *C. tomentosum* (Huds.) Stackhouse, *C. vermilara*, *C. fragile* subsp. *atlanticum* (Cotton) Silva, *C. fragile* subsp. *tomentosoides* (Yang et al., 1997), pueden formarse filamentos que originan masas postradas y luego de un mes de cultivo se diferencian los talos filamentosos compuestos por filamentos erguidos ramificados finos; 2- a partir de filamentos vegetativos no ramificados de 1 mm de longitud de *C. fragile* probablemente subsp. *tomentosoides*, Ramus (1972) obtuvo masas verdes de filamentos postrados entrelazados que originan filamentos libres erguidos que luego forman primordios del talo bajo condiciones de cultivo agitado, pero no se observó más crecimiento de los primordios durante un cultivo de 12 semanas; 3- a partir de estructuras similares a gametangios que actúan como yemas de propagación, originando protuberancias de las que crecen filamentos y utrículos en *C. edule* Silva (Chang et al., 2003), en *C. fragile* (Silva, 1957) y en *C.*

isthmocladum (Silva, 1960). Los dos primeros modos de reproducción vegetativa ocurren en la naturaleza y en cultivo; en cambio, el último fue comprobado sólo en laboratorio. Todas estas estructuras pueden desdiferenciarse y regenerar (Ramus, 1972; Borden & Stein, 1969a). Los modos de reproducción vegetativa varían en función de la especie, la ubicación geográfica (Chang et al., 2003) y el habitat (Trowbridge, 1998).

Uno de los tipos de reproducción vegetativa de los talos descrito en este estudio para las tres especies de *Codium* fue la ruptura de cortos fragmentos apicales. En otras especies del género estos propágulos tienen aproximadamente 10 cm de largo y se producen a partir de zonas de abscisión ubicadas en la base de las ramas (Garbary et al., 2004). En el caso de las especies aquí estudiadas, los fragmentos eran de menor longitud y pudieron ser producidos por la acción de opistobranquios que habitan los talos o bien por acción del oleaje. Según Malinowski & Ramus (1973) los fragmentos, una vez libres, sufren una desdiferenciación en la porción basal, como paso inicial en la formación de un nuevo disco. Este modo también fue observado en *C. fragile* subsp. *scandinavicum* Silva y en *C. fragile* subsp. *tomentosoides* (Silva, 1957; Fralick & Mathieson, 1972; Dromgoole, 1975; Garbary et al., 2004), sin embargo, en estos casos la fragmentación del talo es casi total, quedando sólo el disco de fijación.

El crecimiento de varios a muchos ejes erguidos con morfología y anatomía típicas a partir de un disco basal, observado en las tres especies de *Codium* en este estudio, es a mi entender un tipo de reproducción vegetativa ya descrito por Silva & Irvine (1960), Trowbridge (1998) y Garbary et al. (2004) para *C. fragile*, aunque en ninguno de los casos interpretado como tal.

REPRODUCCIÓN SEXUAL

En este estudio todos los talos de *Codium* analizados fueron dioicos. Existen escasos reportes de talos monoicos de *C. fragile* de Japón y Canadá (Arasaki et al., 1956; Borden & Stein, 1969a) y de *C. isthmocladum* de Estados Unidos (Prince & Trowbridge, 2004). En estos casos los gametangios femeninos y masculinos están en los mismos talos e incluso en las mismas ramas, pero no ocurren juntos en un utrículo (Borden & Stein, 1969a). Arasaki et al. (1956), Friedmann & Roth (1977) y Trowbridge (1998) han sugerido que los talos monoicos de *Codium* se originan por el entrelazamiento de filamentos cuando germinan varias plántulas femeninas y masculinas, produciendo al principio una porción basal postrada y luego una o más porciones erguidas. Un talo con diferentes utrículos forma gametangios de diferentes sexos (Prince & Trowbridge, 2004). En este caso el talo es un mosaico genético y reproductivo. La coalescencia de plántulas en estados de desarrollo tempranos se ha registrado en algunas especies de algas rojas y pardas (Friedmann & Roth, 1977; Paine, 1990; Maggs & Cheney, 1990). En *Codium dimorphum* Svedelius se comprobó la coalescencia de individuos próximos (González & Santelices, 2005). En *C. fragile* subsp. *tomentosoides* se ha indicado la producción de gametas masculinas y femeninas dentro de un mismo gametangio (Prince, 1988); sin embargo, según Trowbridge (1998), podría tratarse de un desarrollo anormal de gametas, ya que no existen otros registros de este fenómeno. La reproducción monoica aumenta el éxito de la fertilización porque asegura la proximidad espacial y temporal de las gametas femeninas y masculinas (Brawley & Johnson, 1992).

Las descripciones de talos, gametangios y gametas masculinas de las especies de *Codium* son escasas e incompletas. Los gametangios masculinos descritos en este trabajo y en estudios anteriores son de color amarillo-marrón y cuando están maduros es difícil distinguir las gametas dentro del gametangio, debido a la cantidad y a su pequeño tamaño. Anteriormente fueron descritos talos masculinos de *C. fragile* subsp. *tomentosoides* (Arasaki et al., 1956), *C. isthmocladum*, *C. contractum* Kjellman, *C. subtubulosum* Okamura, *C. coactum* Okamura (Prince & Trowbridge, 2004), *C. cylindricum* Holmes, *C. divaricatum* Holmes, *C. minus* (Schmidt) Silva (Oh et al., 1987) y *C. fragile* (Borden & Stein, 1969a; Prince & Trowbridge, 2004).

Los gametangios de las tres especies de *Codium* estudiadas liberan sus gametas por la ruptura del extremo apical, inmersas en abundante mucílago. Numerosas funciones se le atribuyen a este mucílago, tales como favorecer la descarga de las gametas, lubricación de las mismas, resistencia a la desecación, flotabilidad, entre otras (Clayton, 1992). Un proceso similar de liberación de gametas ha sido descrito para *C. fragile* subsp. *tomentosoides*, *C. bursa*, *C. tomentosum* y *C. elongatum* Berthold (Arasaki et al., 1956; Borden & Stein, 1969a; Prince, 1988) y también en *Pseudobryopsis myura* (J. Ag.) Berth. (Feldmann, 1969). No ocurre lo mismo en otras sifonales, tales como *Derbesia*, *Bryopsis* y *Caulerpa* en las que se forma una papila en la pared, que luego se abre por disolución de la misma y formación de un poro (Page & Kingsbury, 1968; Burr & West, 1970; Wheeler & Page, 1974; Enomoto & Ohba, 1987).

De acuerdo a las observaciones realizadas en este estudio, los rangos de tamaño de los gametangios de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* citados por

Dellow (1952), Silva & Womersley (1956), Boraso & Piriz (1975) y Rico & Pérez (1993) corresponderían a gametangios femeninos.

Gametogénesis

Divisiones nucleares

Las características de las divisiones observadas en los núcleos durante las gametogénesis femenina y masculina de *Codium fragile* subsp. *novae-zelandiae* son similares a las mencionadas para otras Bryopsidophyceae estudiadas: a) ausencia de centriolos, b) huso persistente en telofase que da al núcleo la forma característica de pesa, c) ausencia de material que nuclea los microtúbulos del huso, d) retención casi total de la envoltura nuclear a lo largo de toda la división, con presencia de fenestras polares por las que emergen los microtúbulos del huso, e) cinetocoros, f) retículo endoplásmico rodeando el núcleo en división. Estos caracteres fueron anteriormente observados en los últimos estadios de la gametogénesis masculina en *Caulerpa* spp. (Hori, 1981), *Bryopsis hypnoides* (Burr & West, 1970) y *Pseudobryopsis* spp. (van den Hoek et al., 1995). Sin embargo, en *Pseudobryopsis* las primeras mitosis que originan gametas biflageladas son acéntricas y las siguientes son céntricas (van den Hoek et al., 1995). Otra diferencia fue observada en *B. hypnoides* en el que el nucléolo persiste durante la división nuclear (Burr & West, 1970).

Durante la gametogénesis femenina de *C. fragile*, en algunos núcleos en profase, se observaron pares de líneas electrónicamente densas generalmente asociadas a la carioteca, las cuales probablemente representen los complejos sinaptonémicos, característicos de la meiosis. Además, en anafase temprana el huso interzonal desapareció y en cortes seriados de un mismo núcleo se

contaron 20 cromosomas. Distintos autores han propuesto a la gametogénesis como el sitio de la meiosis; sin embargo, hasta el momento no había sido demostrado (Silva, 1952; Churchill & Moeller, 1972; Trowbridge, 1998). Las imágenes de las líneas paralelas de alrededor de 100 nm de espesor observadas en *C. fragile* son similares a las de los elementos laterales de los complejos sinaptinémicos observados en la zoosporogénesis de *Derbesia tenuissima* (Lee et al., 2003), de *Bryopsis plumosa* (Minamikawa et al., 2005) y de *Ulva mutabilis* Föyn (Bråten & Nordby, 1973). Además el espesor de los mismos también es similar al indicado para los complejos sinaptinémicos de las meiosis de células eucariotas en general (Alberts et al., 1996). Una diferencia observada dentro de las algas verdes es que en las zoósporas de *B. plumosa* estos complejos están asociados al nucléolo; en cambio, en las gametas de *C. fragile* y *U. mutabilis* están asociados a la carioteca, ya que el nucléolo está ausente en los núcleos en división.

Durante una etapa temprana de la gametogénesis masculina de *C. fragile* los núcleos se observaron muy próximos entre sí y unidos por la membrana externa de la carioteca. Esta disposición podría interpretarse como resultado de la meiosis.

Diferenciación de gametangios y gametas

En algunas algas sifonales, como *Caulerpa*, *Halimeda*, *Penicillus*, *Rhizocephalus* Kützing y *Udotea*, se pueden detectar macroscópicamente cambios en el color o la morfología del talo que indican una futura reproducción sexual (Enomoto & Ohba, 1987; Ohba et al., 1992; Clifton & Clifton, 1999); en cambio, en *Codium* no hay ningún signo morfológico macroscópico en el talo que

demuestre que está ocurriendo gametogénesis. En este género los gametangios se deben observar al microscopio óptico para determinar, por su tamaño y color y por la visualización de las gametas en su interior, el grado de desarrollo.

La formación de los gametangios ha sido estudiada en pocas especies de Bryopsidophyceae: con microscopía óptica en *Codium decorticatum* (Schussnig, 1950), *Pseudobryopsis* spp. (Henne & Schnetter, 1999), *Caulerpa racemosa* (Enomoto & Ohba, 1987; Ohba et al., 1992), *Bryopsis maxima* (Kuroiwa et al., 1991); con microscopía óptica y electrónica en *Bryopsis hypnoides* (Burr & West, 1970), *Derbesia tenuissima* (Lee et al., 2002), y con microscopía electrónica en *Derbesia tenuissima* (Wheeler & Page, 1974) y *Caulerpa racemosa* (Forsskal) Agardh (Hori, 1981). En *Codium*, *Derbesia*, *Bryopsis* y *Pseudobryopsis* las gametas desarrollan dentro de gametangios (Wheeler & Page, 1974; Burr & West, 1970; Henne & Schnetter, 1999); en cambio, en *Caulerpa* el protoplasma migra a los extremos terminales de algunas ramas que transforman su contenido en gametas (Enomoto & Ohba, 1987; Ohba et al., 1992; Clifton & Clifton, 1999).

La ultraestructura de las distintas fases de la formación de las gametas femeninas fue estudiada en las tres especies de *Codium*. Se observaron diferencias en el proceso de gametogénesis entre el género *Codium* y otros géneros de Bryopsidales.

Las gametas femeninas de *Codium* se forman a partir del protoplasma que ocupa la porción basal del gametangio, mientras que en *Bryopsis hypnoides*, como es monoico y las gametas femeninas y masculinas desarrollan dentro del mismo gametangio, el protoplasma mantiene la ubicación periférica en el gametangio y a partir de allí comienzan a diferenciarse las gametas, en la parte basal las masculinas y en la apical las femeninas (Burr & West, 1970). En

Derbesia tenuissima las gametas también se forman a partir de protoplasma periférico en los gametofitos femeninos y masculinos (Wheeler & Page, 1974; Lee et al., 2002) y a partir del protoplasma apical en los gametangios masculinos y femeninos de *Pseudobryopsis* spp. (Feldmann, 1969; Henne & Schnetter, 1999).

La división de los núcleos en *Codium* ocurre en los gametangios inmaduros; posteriormente se dividen los cloroplastos. En cambio, en *Bryopsis hypnoides* la multiplicación de los cloroplastos y de los núcleos es simultánea (Burr & West, 1970). En *Caulerpa* las divisiones nucleares ocurren en una etapa tardía, cuando el protoplasma está particionándose en gametas (Hori, 1981).

La presencia de diferentes tipos de vesículas dictiosómicas, algunas con contenido electrónicamente translúcido, otras con contenido fibrilar que se anastomosan con vesículas de mayor tamaño en la zona entre la membrana plasmática y la pared del gametangio en *Codium*, indicaría un proceso de síntesis de la pared del gametangio similar al observado en *Derbesia tenuissima* (Wheeler & Page, 1974).

Durante la gametogénesis en *Codium* las porciones de protoplasma, que van a originar las gametas, se encuentran delimitadas por vesículas esféricas de origen dictiosómico, electrónicamente translúcidas y alineadas; en cambio, en *Bryopsis hypnoides* el particionado se produce por invaginación de la membrana plasmática que rodea las porciones de protoplasma correspondientes a las gametas y forma vesículas de clivaje (Burr & West, 1970). De acuerdo a Wheeler & Page (1974) en *Derbesia tenuissima* y *D. marina* (Lyngbye) Solier el clivaje del protoplasma ocurre por proliferación de vacuolas entre las organelas.

En *Codium* el septo que separa el gametangio del utrículo se forma de una manera similar a la descrita en *Pseudobryopsis oahuensis* Egerod (Henne & Schnetter, 1999). Este proceso no fue estudiado en otros géneros de sifonales.

La presencia de un nucléolo vacuolado parece ser una característica de las algas sifonales. Durante la gametogénesis femenina de *C. fragile*, el nucléolo vacuolado es similar al que describen durante la zoosporogénesis de zoósporas estefanocontas de *Bryopsis plumosa* (Minamikawa et al., 2005) y en plántulas de *B. hypnoides* (Burr & West, 1971a). En plántulas de *Acetabularia* el nucléolo contiene varias “vacuolas” pequeñas, de las cuales algunas están conectadas al nucleoplasma por invaginaciones. Estas “vacuolas” tienen contenidos similares al nucleoplasma (Burr & West, 1971a).

En las gametas masculinas de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* como en las gametas masculinas de *D. tenuissima* (Lee et al., 2002) se advierte la gran mitocondria rodeando al núcleo en un estado temprano de la gametogénesis.

En la etapa de proliferación nuclear, en la gametogénesis masculina de *C. fragile*, los dictiosomas están implicados en la formación de las vesículas que delimitarán las organelas de las futuras gametas.

En las etapas iniciales de la gametogénesis de *Codium* hay gran cantidad de vesículas electrónicamente translúcidas cercanas a la pared que se fusionan entre sí y luego vuelcan el mucílago que contienen en la zona entre la membrana plasmática y la pared gametangial. El origen de estas vesículas es probablemente dictiosómico. Estas vesículas son similares a las descritas en la esporogénesis de *Enteromorpha* (Fletcher & Callow, 1992) que contienen el mucílago que acompaña la liberación de las esporas y es importante en las etapas iniciales de fijación al sustrato. En las últimas etapas de la formación de

las gametas femeninas de *Codium* se desarrollan otro tipo de vesículas con el centro electrónicamente denso y rodeadas de un halo electrónicamente translúcido. Estas vesículas son similares a las vesículas de zoósporas de distintas algas como *Chondria*, *Gigartina*, *Ceramium*, *Palmaria*, *Laminaria*, *Nereocystis*, *Enteromorpha*, *Ulva* y *Bulbochaete* (Chamberlain, 1976; Clayton, 1992). Estas vesículas de origen dictiosómico, compuestas por polisacáridos y proteínas, están involucradas en la adhesión de las zoósporas al sustrato (Oliveira et al., 1980; Henry & Cole, 1982). En *Codium* se desconoce su origen y su función; sin embargo, podrían estar involucradas en el asentamiento de las gametas femeninas cuando van a germinar en forma partenogenética.

Durante la gametogénesis masculina de *C. fragile* es visible una reducción gradual en la cantidad de tilacoides presentes en los cloroplastos y un aumento en la cantidad de almidón en su interior. Kuroiwa et al. (1991) y Lee et al. (2002) han indicado que, durante las etapas tardías de la gametogénesis masculina de *Derbesia*, *Bryopsis* y *Caulerpa* se produce la destrucción del ADN presente en los cloroplastos y en las mitocondrias, junto con la degeneración de los cloroplastos. Por lo tanto en estos casos ocurre la herencia materna del ADN de estas organelas (Miyamura & Nagumo, 2007).

Morfología de las gametas

En este estudio los talos de *C. decortdatum* y *C. vermilara* produjeron sólo gametas femeninas, mientras que los talos de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* recolectados en Rawson y en Bahía Bustamante formaron gametas femeninas y masculinas.

Las gametas femeninas observadas en las tres especies de *Codium* en este estudio fueron siempre piriformes; sin embargo en la bibliografía se han descrito también las formas esférica y ovoide. Prince & Trowbridge (2004) han indicado que la forma esférica es debida probablemente a gametas observadas desde su extremo basal o bien inmediatamente después de ser liberadas del gametangio. Las gametas masculinas, tanto las observadas en *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* como las descritas por otros autores (Prince & Trowbridge, 2004), son siempre ovoides, alargadas y con una papila hialina anterior de la que emergen los dos flagelos.

De acuerdo con la bibliografía los rangos de tamaño de las gametas femeninas de las distintas especies de *Codium* son muy amplios, entre 7 y 30 μm de largo y entre 7 y 37 μm de diámetro, y rangos más estrechos para las masculinas, entre 2 y 4 μm de largo y entre 3 y 7 μm de diámetro (Tabla 9). Los tamaños señalados en este estudio para las gametas femeninas de *C. vermilara* se encuentran dentro de los rangos indicados en la misma especie por Dangeard (1958), Deléphine (1959) y Prince & Trowbridge (2004) para gametas del Atlántico Norte (Francia e Irlanda). No se encontraron talos masculinos de *C. vermilara* en este estudio ni en anteriores.

Con respecto a *C. decorticatum*, en este estudio se hallaron sólo gametas femeninas. Gametas masculinas han sido descritas en la costa atlántica de Estados Unidos (Williams, 1948) y en el Mar Mediterráneo (Schussnig, 1950). Los rangos de tamaño de las gametas femeninas en ambos estudios son similares a los aquí hallados.

Las gametas femeninas de *C. fragile*, de *C. fragile* subsp. *tomentosoides* y de la subsp. *novae-zelandiae* descritas presentan gran variación de tamaños

entre 7 y 30 μm de largo y entre 9 y 37 μm de diámetro. Se ha observado que las gametas femeninas son más grandes en los lugares en que no se encontraron talos masculinos (Feldmann, 1956; Churchill & Moeller, 1972; Prince & Trowbridge, 2004). Sin embargo, en este estudio las gametas femeninas tenían el mismo tamaño tanto en lugares en que se encontraban sólo talos femeninos como en lugares en los que se encontraron ambos tipos de talos.

El tamaño de las gametas masculinas descritas en este trabajo es similar al encontrado en gametas del mismo sexo de *C. fragile* descritas por otros autores (Arasaki et al., 1956; Borden & Stein, 1969a; Prince & Trowbridge, 2004).

Rico & Pérez (1993) encontraron, en una localidad cercana a Comodoro Rivadavia, sólo talos con gametangios femeninos de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae*. Las gametas femeninas que observaron presentaban una gran variación de tamaños: medían entre 7 y 26 μm de largo y entre 7 y 21 μm de diámetro. En este estudio, por el contrario, se observaron en una localidad cercana al sitio en que Rico & Pérez (1993) recolectaron los talos, gametas femeninas con escasa variación de tamaños (15 μm de largo y entre 10 y 11 μm de diámetro) y gametas masculinas de menor tamaño que las femeninas. Churchill & Moeller (1972) también observaron en *C. fragile* subsp. *tomentosoides* sólo gametas femeninas pero con tan amplio rango de tamaños entre 9 y 37 μm que sugirieron la posibilidad de representaran diferentes tipos de células reproductivas.

Tabla 9. Comparación de tamaño de las gametas de diferentes especies de *Codium*

Especie	Gameta Femenina	Gameta Masculina	Localización	Referencia
<i>C. fragile</i>		6–7 μm diámetro	NO Pacífico (Japón)	Okamura 1914 en Prince & Trowbridge 2004
<i>C. fragile</i>	12–16 μm^*	–	NE Pacífico (Canadá)	Hurd 1916 en Prince & Trowbridge 2004
<i>C. fragile</i>	26–30 μm largo 21–25 μm diámetro	–	Mediterráneo (Francia)	Feldmann 1956
<i>C. fragile</i>	18–30 μm^*	5–8 μm^*	NO Pacífico (Japón)	Arasaki et al. 1956
<i>C. fragile</i>	20 μm largo	3–4 μm largo	NE Pacífico (Canadá)	Borden & Stein 1969a
<i>C. fragile</i>	13,3 μm diámetro	3,1 μm diámetro	NO Atlántico (Canadá)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. fragile</i>	20 μm diámetro	–	NO Pacífico (Japón)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i>	9–37 μm diámetro	–	NO Atlántico (Estados Unidos)	Churchill & Moeller 1972
<i>C. fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i>	23,4 μm diámetro	13,1 μm diámetro	NO Atlántico (Estados Unidos)	Prince 1988
<i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i>	7–26 μm largo 7–21 μm diámetro	–	SO Atlántico (Argentina)	Rico & Pérez 1993
<i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i>	15 μm largo 10–11 μm diámetro	5–7,5 μm largo 4–5 μm diámetro	SO Atlántico (Argentina)	Este estudio
<i>C. tomentosum</i>	20–22 μm largo 10–12 μm diámetro	–	NE Pacífico (Estados Unidos)	Setchell & Gardner 1920
<i>C. tomentosum</i>		5–7 μm diámetro	NE Atlántico (Francia)	Deléphine 1959 en Prince & Trowbridge 2004

<i>C. bursa</i>	12µm *		NE Atlántico (Francia)	Dangeard 1958 en Prince & Trowbridge 2004
<i>C. vermilara</i>	15 µm*		NE Atlántico (Francia)	Dangeard 1958 en Prince & Trowbridge 2004
<i>C. vermilara</i>	22 µm*		NE Atlántico (Francia)	Deléphine 1959 en Prince & Trowbridge 2004
<i>C. vermilara</i>	22 µm diámetro	–	NE Atlántico (Irlanda)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. vermilara</i>	14–20 µm largo 8–12 µm diámetro	–	SO Atlántico (Argentina)	Este estudio
<i>C. coactum</i>	10,5 µm diámetro	2,2 µm diámetro	NO Pacífico (Japón)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. contractum</i>	10 µm diámetro	2,8 µm diámetro	NO Pacífico (Japón)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. subtubulosum</i>	9,9 µm diámetro	2,1 µm diámetro	NO Pacífico (Japón)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. intricatum</i> Okamura	12 µm diámetro	–	NO Pacífico (Japón)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. isthmocladum</i>	10,7 µm diámetro	2,4 µm diámetro	NO Atlántico (Estados Unidos)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. latum</i> Suringar	10,5 µm diámetro	–	NO Pacífico (Japón)	Prince & Trowbridge 2004
<i>C. decorticatum</i>	17–18 µm largo 11–12 µm diámetro	3–4 µm largo 3 µm diámetro	NO Atlántico (Estados Unidos)	Williams 1948
<i>C. decorticatum</i>	12–16 µm largo 8–11 µm diámetro	–	SO Atlántico (Argentina)	Este estudio

* en la bibliografía no se aclara si se refiere al largo o al diámetro

Ultraestructura de las gametas

Este es el primer estudio ultraestructural de las gametas del género *Codium*, razón por la cual sólo pueden hacerse comparaciones con gametas de otros géneros del Orden Bryopsidales. Las características ultraestructurales de las gametas femeninas en las tres especies de *Codium* fueron similares.

El ápice hialino que muestran Borden & Stein (1969a) y Prince & Trowbridge (2004) tanto para las gametas femeninas como masculinas, corresponde ultraestructuralmente a la zona del núcleo, retículo endoplásmico, dictiosomas y la gran mitocondria con forma de V invertida que se ubica sobre el núcleo.

En las gametas femeninas de *Codium*, al igual que en *Derbesia tenuissima* (Roberts et al., 1981; Lee et al., 1998), el núcleo está ubicado en la parte anterior de la célula; en cambio, en *Bryopsis hypnoides* (Burr & West, 1970) y *Pseudobryopsis* sp. (Roberts et al., 1982) el núcleo está localizado centralmente.

Las gametas femeninas de *Codium* poseen muchos cloroplastos pequeños sin pirenoide y no tienen estigma. Algunas gametas femeninas de Bryopsidales poseen un cloroplasto grande basal con pirenoide y estigma, como es el caso de *Bryopsis hypnoides* (Burr & West, 1970) y *Pseudobryopsis* sp. (Roberts et al., 1982); otras, como en *Pseudobryopsis myura* (Feldmann, 1969), tienen dos o raramente tres cloroplastos y uno de ellos con un estigma lateral formado por dos bandas paralelas de glóbulos lipídicos. En *Derbesia tenuissima* las gametas poseen muchos cloroplastos pequeños con gránulos de almidón, abundantes lamelas tilacoidales y uno o dos pirenoides por plástido atravesados

por un tilacoide modificado (Wheeler & Page, 1974; Roberts et al., 1981; Lee et al., 1998, 2002).

Las gametas femeninas de *Codium* tienen una sola mitocondria grande con forma de V invertida sobre el núcleo; en cambio, las gametas femeninas de otras Bryopsidales poseen varias mitocondrias pequeñas con una localización similar, es decir, en la región anterior de la célula entre el núcleo y la papila (Burr & West, 1970; Wheeler & Page, 1974; Roberts et al., 1981; 1982; Lee et al., 1998, 2002). Sin embargo, según Lee et al. (2002) se podrían estar observando muchas secciones de una única gran mitocondria. La disposición particular de numerosos sacos de retículo endoplásmico asociados con la carioteca aquí descrita en las gametas de *Codium*, también ha sido también observada en las gametas femeninas de *Bryopsis hypnoides* (Urban, 1969; Burr & West, 1970). En *Derbesia tenuissima* el retículo endoplásmico se ubica en la periferia de la célula (Roberts et al., 1981).

Las características ultraestructurales observadas en las gametas masculinas de *Codium fragile* subsp. *novae-zelandiae* son compartidas con las descritas para otras gametas masculinas de representantes del orden. Estas células poseen relativamente escasas organelas: un núcleo anterior en *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* y en *Derbesia tenuissima* (Wheeler & Page, 1974; Roberts et al., 1981; Lee et al., 1998, 2002) o central en *Bryopsis hypnoides*, *B. maxima* y *Pseudobryopsis* sp. (Urban, 1969; Burr & West, 1970; Hori, 1977; Roberts et al., 1982); uno a tres cloroplastos pequeños, de escaso desarrollo en el extremo posterior con reducidas lamelas, sin pirenoide y estigma (Urban, 1969; Burr & West, 1970; Roberts et al., 1982; Lee et al., 1998) y una gran mitocondria con forma de V invertida sobre el núcleo, ocupando la mayor parte

del citoplasma. En el caso de *Bryopsis hypnoides* la mitocondria ha sido descrita con forma de J invertida (Burr & West, 1970).

Configuración absoluta del aparato flagelar de las gametas

Roberts et al. (1982) habían indicado que la estructura básica del aparato flagelar de las Bryopsidales estudiadas hasta ese momento era conservador, siendo la diferencia más notable la variación en los detalles estructurales de la gran placa anterior (“capping plate”). Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio permiten concluir que, si bien en términos generales los componentes principales presentes en el aparato flagelar de las gametas femeninas de *Codium decortdatum* y masculinas de *C. fragile* se corresponden con los descritos para el aparato flagelar de las gametas femeninas y masculinas de *Bryopsis maxima* (Hori, 1977), *Pseudobryopsis* sp. (Roberts et al., 1982) y *Derbesia tenuissima* (Roberts et al., 1981), existen algunas diferencias dignas de notar. En las gametas femeninas de *Codium decortdatum* la placa anterior está formada por dos mitades unidas en su parte media por una porción electrónicamente densa. Una placa similar ha sido descrita para las gametas masculinas de *Derbesia tenuissima*, continua, con forma sigmoide y con extensiones cercanas a las raicillas microtubulares (Roberts et al., 1981). Si bien la placa anterior de las gametas femeninas de *Pseudobryopsis* sp. está compuesta por dos piezas, a diferencia de lo que ocurre en *C. decortdatum*, estas están unidas por una porción media estriada (Roberts et al., 1982).

Con respecto a los casquetes terminales, en las gametas femeninas de *C. decortdatum* están formados por dos subunidades perpendiculares que ocluyen el extremo proximal y la superficie anterior de cada cuerpo basal. Esta

característica se presenta también en las gametas masculinas de *Pseudobryopsis* sp. (Roberts et al., 1982) y *Derbesia tenuissima* (Roberts et al., 1981) pero no en las femeninas, los cuales están formados por una única pieza que cubre parcialmente el extremo proximal de cada cuerpo basal. Vainas proximales con forma de dos cuerpos laterales hemisféricos como las observadas en las gametas femeninas de *Codium decortatum* sólo han sido descritas en gametas del mismo sexo de *Pseudobryopsis* sp. Los cuerpos laterales observados en las gametas femeninas de *Codium decortatum* se describen por primera vez en el orden Bryopsidales.

En las gametas masculinas de *C. fragile* estudiadas y de *Pseudobryopsis* sp. (Roberts et al., 1982) la gran placa anterior está formada por dos mitades superpuestas y unidas por una reducida fibra de conexión en su parte media. Tanto en *C. fragile*, en *Pseudobryopsis* sp. (Roberts et al., 1982) como en *Derbesia tenuissima* (Roberts et al., 1981), los casquetes terminales están formados por dos subunidades perpendiculares electrónicamente densas que ocluyen el extremo proximal y la superficie anterior de cada cuerpo basal. Además en las tres especies una fibra estriada está presente en la parte inferior del extremo proximal de cada cuerpo basal.

La conexión de la mitocondria con material electrónicamente denso asociado con la parte inferior de los cuerpos basales indicada aquí en *C. fragile* se describe por primera vez en el orden Bryopsidales.

Partenogénesis

La partenogénesis de gametas femeninas y masculinas es un mecanismo de reproducción asexual por el que desarrollan talos adultos reproductivos

(Brawley & Johnson, 1992). La partenogénesis ha sido citada en, al menos, tres especies de *Codium*: *C. fragile*, *C. tomentosum* y *C. vermilara* (Dangeard & Parriaud, 1956; Dangeard, 1958; Prince & Trowbridge, 2004). *C. fragile* subsp. *tomentosoides* produce en las costas atlánticas de América del Norte y mediterránea un solo tipo de célula reproductiva, similar a las gametas femeninas de las poblaciones que desarrollan los dos tipos de gametangios en la costa pacífica de América del Norte, en Japón y Australia (Borden & Stein, 1969a; Churchill & Moeller, 1972). Esas gametas, llamadas por algunos autores zoósporas (Borden & Stein, 1969a; Churchill & Moeller, 1972), germinan regularmente en forma partenogenética (Feldmann, 1956; Dangeard & Parriaud, 1956; Dangeard, 1958; Ramus, 1972; Churchill & Moeller, 1972; Malinowski & Ramus 1973; Dromgoole, 1975).

Rico & Pérez (1993) postulan que la reproducción partenogenética femenina en las poblaciones de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* de las costas de Chubut es su única forma de reproducción, ya que lograron la germinación de las gametas femeninas y no encontraron talos masculinos. En este estudio, las gametas femeninas de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* germinaron en forma partenogenética en ausencia de las gametas masculinas; sin embargo, también se encontraron talos masculinos y se produjo la fusión de gametas masculinas y femeninas. La presencia regular de partenogénesis en *Codium fragile* subsp. *novae-zelandiae* indicaría que en estas poblaciones la fertilización ocurre raramente. En el caso de *C. vermilara* y *C. decortdatum* se sugiere aquí partenogénesis de gametas femeninas.

Con respecto a las gametas masculinas, se observó la reabsorción de los flagelos, lo cual estaría indicando el inicio de la germinación partenogenética de

estas gametas. La reabsorción flagelar ha sido indicada en la germinación de zoósporas de *Enteromorpha flexuosa* (Wulfen) Agardh (Leonardi & Cáceres, 1991), de *Klebsormidium nitens* (Meneghini) Lokhorst (Sánchez Puerta & Leonardi, 2001), de *Cladophora* (Cáceres & Parodi, 1998) y de Laminariales (Henry & Cole, 1982; Clayton, 1992).

La germinación intragametangial, observada en este estudio al microscopio electrónico en gametas femeninas de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae*, fue citada en una única oportunidad por Dangeard & Parriaud (1956) en *C. tomentosum*, con su contenido particionado en masas verdes que se prolongaban en filamentos. Este particionado fue interpretado como plántulas en crecimiento.

Singamia

En trabajos previos (Arasaki et al., 1956; Borden & Stein, 1969a; van den Hoek et al., 1995; Trowbridge, 1998, Prince & Trowbridge, 2004) se muestran esquemas de la fusión de las gametas de *C. fragile*, en los que no queda claro si las gametas masculinas son funcionales o si la reproducción sexual realmente ocurrió, ya que no se basan en observaciones directas (Trowbridge, 1998; Prince & Trowbridge, 2004). Además Silva (1957) había indicado que la presencia de ambos tipos de gametas no es un indicativo de la recombinación sexual.

En este trabajo se observaron cigotos tetraflagelados de *C. fragile* provenientes de cultivos con porciones de talos con gametangios conteniendo gametas femeninas y masculinas maduras. También pudo verificarse su posterior germinación y crecimiento.

Períodos reproductivos

Las tablas presentadas de los períodos de aparición de órganos reproductivos de las tres especies (Tablas 2-4) son observaciones preliminares. Los datos fueron tomados en distintos meses de distintos años y en diferentes lugares, no corresponden a muestreos mensuales consecutivos. Por lo expuesto, no pueden sacarse conclusiones sobre la fenología reproductiva. Sin embargo, se pueden destacar algunos puntos:

1. En Bahía Bustamante se encontraron talos masculinos de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* a fines de primavera, verano y otoño, y femeninos todo el año. Talos sin gametangios fueron encontrados sólo en septiembre.
2. En el resto de las localidades estudiadas se encontraron talos femeninos de *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* en forma esporádica.
3. En las distintas localidades estudiadas fueron encontrados talos femeninos de *C. vermilara* sólo a fines de verano y principio de otoño. En los meses restantes los talos no presentaron gametangios.
4. En las recolecciones realizadas se hallaron escasos talos de *C. decortdatum*, por lo que no pueden hacerse generalizaciones. Se encontraron talos femeninos en verano y sin gametangios en invierno.

Rico y Pérez (1993) encontraron para *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae*, en una localidad cercana a Comodoro Rivadavia, sólo gametangios femeninos. En el período de enero a mayo encontraron mayor cantidad de talos con gametangios y en julio y agosto, un mínimo de fertilidad.

Para *C. vermilara* y *C. decortcatum* hay muy poca información sobre la sexualidad. Dangeard (1958) ha indicado que *C. vermilara* en Francia es fértil de mayo a noviembre y hay sólo pies femeninos, al igual que *C. vermilara* en Irlanda (Prince & Trowbridge, 2004). Williams (1948) ha mencionado que *C. decortcatum* en Carolina del Norte produce gametangios femeninos y masculinos funcionales durante el verano y otoño, cuando las temperaturas del agua son altas.

En el caso de *C. vermilara* se encontraron sólo gametangios femeninos en escasas oportunidades, por lo que el modo de reproducción propuesto para esta especie es el partenogenético.

CARIOLOGÍA

Los estudios cariológicos en el género son muy escasos, principalmente por las dificultades técnicas asociadas con el pequeño tamaño de los núcleos (entre 2 y 6 μm) y cromosomas (Kapraun & Martin, 1987; Kapraun et al., 1988), por la dificultad para obtener una tinción nuclear adecuada, por las escasas divisiones nucleares en material coleccionado (Kapraun & Martin, 1987; Kapraun, 1993) y por la asincronía de las divisiones mitóticas, característica de las algas sifonales (Puisseux Dao, 1966; Borden & Stein, 1969b). La información obtenida en este estudio referente a los números cromosómicos se compara con los registros obtenidos por otros autores en la tabla 10.

Al igual que en otras especies del género *Codium*, las tres especies estudiadas en la costa atlántica argentina tienen un número haploide básico de 10 cromosomas. En algunos casos se registraron 8 ó 9 cromosomas, esto puede ser debido al pequeño tamaño de los cromosomas (que quedarían ocultos o se

verían como uno siendo dos) o por ser una placa con una falla en la separación cromosómica.

Las especies de *Codium* tienen un cariotipo constante caracterizado por una gradual gradación de tamaño de los cromosomas. El tamaño de los cromosomas de *C. decorticatum* de la costa atlántica argentina es similar a los tamaños citados por Kapraun & Martin (1987) para la misma especie creciendo en el Océano Atlántico norte. El tamaño de los cromosomas de *C. fragile* subsp. *tomentosoides* (Kapraun & Martin, 1987) es similar a los de la subsp. *novae-zelandiae*. En el caso de *C. vermilara* no existen otros estudios cariológicos que permitan comparaciones.

En este estudio no se observó el nucléolo durante las divisiones en las tres especies de *Codium*. Por el contrario, Kapraun et al. (1988) indicaron un nucléolo persistente en la mitosis de *C. intertextum* y Borden & Stein (1969b) observaron en *C. fragile* un cuerpo persistente, similar a un nucléolo, en todas las etapas de la mitosis.

Tabla 10. Comparación de números cromosómicos de distintas especies de *Codium*

Especie	Número cromosómico			Localización	Referencia
	N	2N	4N		
<i>C. decortdatum</i>	10	20		Carolina del Norte	Kapraun & Martin 1987
<i>C. decortdatum</i>		20	40	Italia	Schussnig 1950
<i>C. decortdatum</i>	10	20		Bermuda	Kapraun et al. 1988
<i>C. decortdatum</i>	10			Argentina	Este estudio
<i>C. dwarkense</i> Børgesen	10	20		India	Singh & Chowdary 1982
<i>C. elongatum</i>		40			Schussnig 1932 en Sarma 1982
<i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i> (como <i>C. tomentosum</i> Stackhouse)	10	20		Australia	Williams 1925 en Kapraun & Martin 1987
<i>C. fragile</i> subsp. <i>novae-zelandiae</i>	10	20		Argentina	Este estudio
<i>C. fragile</i> subsp. <i>tomentosoides</i>	10			Carolina del Norte	Kapraun & Martin 1987
<i>C. isthmocladum</i>	9	18		Carolina del Norte	Kapraun & Martin 1987
<i>C. intertextum</i> Collins et Hervey		20		Bermuda	Kapraun et al. 1988
<i>C. taylori</i> P. C. Silva		20		Bermuda	Kapraun et al. 1988
<i>C. vermilara</i>	10			Argentina	Este estudio

CICLO DE VIDA

Sobre la base de los estudios de la gametogénesis, reproducción sexual y cariológicos de las tres especies de *Codium* que crecen en la costa de la República Argentina es posible inferir el ciclo de vida de cada una de ellas.

En el ciclo de vida de las especies de *Codium* estudiadas predominan las fases de reproducción asexual por partenogénesis y reproducción vegetativa por fragmentación del talo, mientras que la fase de reproducción sexual, presente sólo en *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* está reducida en tiempo y espacio.

En *C. vermilara* y *C. decorticatum* los talos maduros son haploides ($n=10$). Estos talos producen gametangios dentro de los que se forman por mitosis gametas femeninas. Cuando se liberan estas gametas germinan en forma partenogenética originando nuevos talos haploides. En estos casos el ciclo de vida es haplobionte haplonte (Fig. 60).

En *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* la mayoría de los talos son haploides y producen sólo gametas femeninas por mitosis (igual que las otras dos especies) que germinan en forma partenogenética. Este tipo de ciclo se produce en localidades en las que se encontraron sólo talos femeninos (Fig. 61 N).

En Bahía Bustamante talos diploides femeninos producen por meiosis gametas femeninas y talos masculinos (de los que no se estudió su nivel de ploidía) producen gametas masculinas. Al ser liberadas estas gametas se fusionan originando un cigoto diploide que germina para formar el talo diploide (Fig. 61 P). Asimismo, las gametas femeninas, aún en presencia de gametas masculinas, tienen la capacidad de germinar en forma partenogenética, originando talos haploides femeninos. La reabsorción intragametangial de los flagelos de las gametas masculinas, indica también la capacidad de la

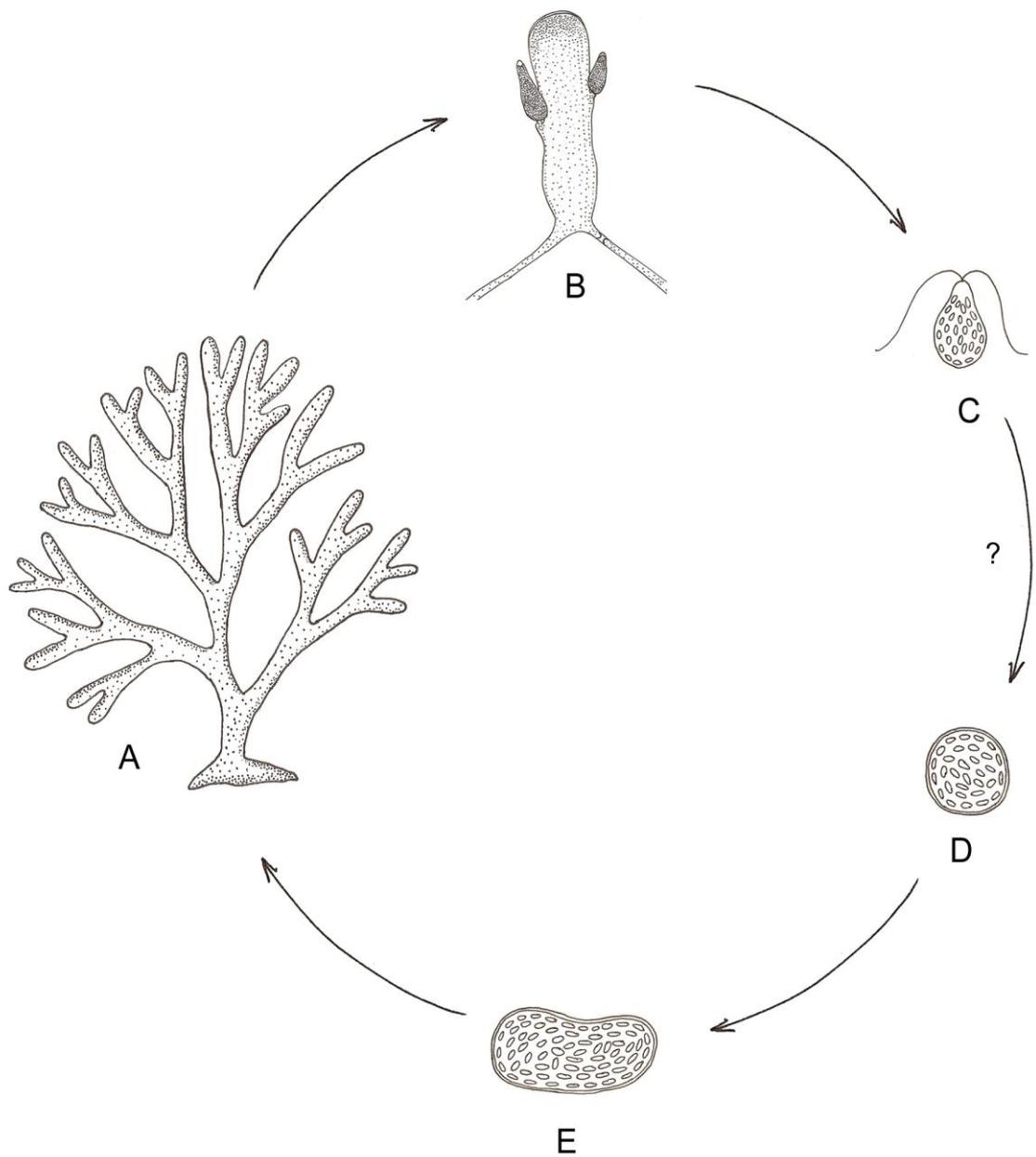


Figura 60. Representación esquemática del ciclo de vida hipotético de *Codium decorticatum* y *C. vermilara*. A: talo adulto haploide; B: utrículo con gametangios femeninos; C: gameta femenina; D: germinación partenogénica de gameta femenina; E: plántula.

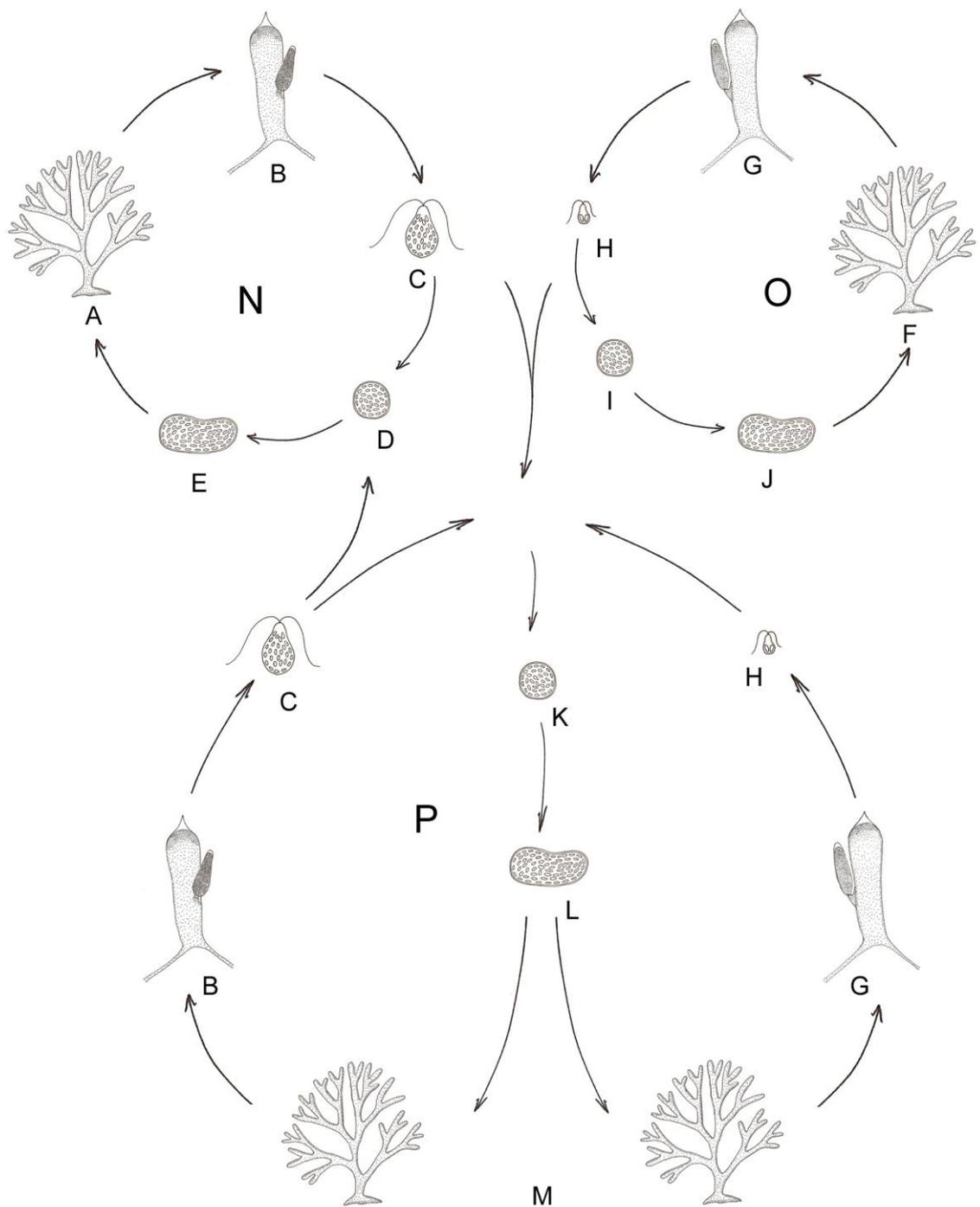


Figura 61. Representación esquemática del ciclo de vida hipotético de *Codium fragile* subsp. *novae-zelandiae*. A: talo adulto haploide; B: utrículo con gametangio femeninos; C: gameta femenina; D: germinación partenogénica de gameta femenina; E: plántula; F: talo adulto haploide; G: utrículo con gametangio masculino; H: gameta masculino; I: germinación partenogénica de gameta masculino; J: plántula; K: cigoto diploide; L: plántula; M: talo adulto diploide; N: partenogénesis femenina; O: partenogénesis masculina; P: reproducción sexual.

germinación partenogenética de las mismas para formar talos masculinos (Fig. 61 O). La baja ocurrencia de este último proceso muy probablemente se deba al reducido número de talos masculinos presentes en la naturaleza ya que sólo en escasas ocasiones se registró la aparición de talos masculinos en Rawson y en Bahía Bustamante.

Tradicionalmente, los miembros de la Clase Bryopsidophyceae han sido interpretados como diplontes con meiosis gamética. Esta visión estaba basada en antiguos estudios cariológicos que en la actualidad son considerados poco confiables (Rietema, 1972; van den Hoek et al., 1995). En las especies de la clase se describen diferentes tipos de ciclos de vida que varían de acuerdo a la especie, ubicación geográfica, temperatura, etc., muy diferentes a los ciclos descritos para las especies de *Codium*. Por ejemplo, el ciclo de vida de *Derbesia marina* en general es con alternancia de generaciones heteromórficas (*Derbesia-Halicystis*), aunque en los casos en que no puede formar el estado sexual, pueden reproducirse directamente por zoósporas (Sears & Wilce, 1970). La cariogamia tiene lugar dentro de esporangios y esos núcleos diploides sufren meiosis para originar meiósporas estefanocontas (van den Hoek et al., 1995). Una parte del ciclo de *Bryopsis* se asemeja al de *Codium* por presentar anisogamia. Sin embargo, en *Bryopsis* luego de la meiosis se producen zoósporas estefanocontas.

La información sobre los ciclos de vida de distintas especies de *Codium* es fragmentaria y, en general, se describen con fusión de anisogametas biflageladas y meiosis en la gametogénesis, como el ciclo normal compartido por todas las especies. En poblaciones del Atlántico Norte y Mar Mediterráneo de *C. fragile* subsp. *tomentosoides* el ciclo es haplobionte diplonte con partenogénesis

de gametas femeninas diploides (Dangeard & Parriaud, 1956; Feldmann, 1956; Parriaud, 1957; Churchill & Moeller, 1972). También se describió para esta subespecie un ciclo haplobionte haplonte con partenogénesis de gametas femeninas (Kapraun & Martin, 1987). Este último ciclo se corresponde con parte del ciclo descrito para *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* en este estudio (Fig. 61 N). En poblaciones de *C. fragile* probablemente subsp. *tomentosoides* del Pacífico se observaron talos diploides que producen gametas femeninas y masculinas por meiosis que se fusionan para originar el cigoto diploide (Arasaki et al., 1956; Borden & Stein, 1969a). Este ciclo coincide con el proceso de reproducción sexual descrito aquí en *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* (Fig. 61 P). En la costa atlántica Prince (1988) encontró una población de *C. fragile* subsp. *tomentosoides* con gametas femeninas y masculinas desarrollando en el mismo gametangio; sin embargo, Trowbridge (1998) interpretó que el menor tamaño de las gametas masculinas se debía a un desarrollo anormal de las mismas. Rico & Pérez (1993) han propuesto para *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* que crecen al sur de Comodoro Rivadavia (localidad cercana al sitio donde fueron encontrados gametangios y gametas masculinos en este estudio), la existencia de reproducción asexual por partenogénesis de gametas femeninas, sin aclarar su nivel de ploidía.

En su caracterización de gametas de distintas especies de *Codium*, Prince & Trowbridge (2004) describen algunas especies sólo con gametas femeninas: *C. fragile* subsp. *tomentosoides*, *C. intricatum*, *C. latum*, *C. fragile* y *C. vermilara*, que se reproducen asexualmente por germinación partenogénica.

En *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae*, en las localidades en que se encontraron talos femeninos y masculinos, se observó mayor cantidad de talos

femeninos que de masculinos. Los talos masculinos aparecen después de la aparición de los femeninos y desaparecen mientras los femeninos permanecen en la población. Esta diferencia en los períodos de aparición de los talos ya fue encontrada para *C. isthmocladum* (Prince & Trowbridge, 2004) y para *C. fragile* en Tokyo (Arasaki et al., 1956). Este intervalo durante el que las gametas femeninas están presentes en ausencia de las masculinas aumenta la posibilidad de que las gametas femeninas sólo germinen en forma partenogénica. En los casos mencionados podría darse una alternancia de ciclos similar al observado en *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae*, con una preponderancia de reproducción asexual (Fig. 61N) y con la reproducción sexual reducida en tiempo y espacio debido al reducido número de talos masculinos.

Feldmann (1956) sugiere que la partenogénesis ocurre en gametas producidas con ausencia de meiosis, por lo que la misma conduce a la formación de talos diploides. Sin embargo, Kapraun & Martin (1987) demostraron que los talos de *C. fragile* subsp. *tomentosoides* del Atlántico norte, al igual que la mayoría de los talos aquí estudiados, eran haploides con un número de cromosomas de 10 y producían gametas por mitosis. Esto explicaría la ausencia de reproducción sexual, aún cuando se hayan registrado gametangios femeninos y masculinos. Estos autores también sugirieron que *C. fragile* subsp. *tomentosoides* es un caso claro de partenogénesis, condición rara en poblaciones vegetales y que no es consistente con el comportamiento competitivo y oportunístico de la subespecie. Kapraun & Martin (1987) han indicado que el entrecruzamiento con otras subespecies es posible y también es posible que se revierta a la sexualidad (Trowbridge, 1999). Las poblaciones del Pacífico de *C. fragile* se reproducen sexualmente y aparentemente son diploides

con un número de 20 cromosomas (Arasaki et al., 1956; Borden & Stein, 1969a; Kapraun & Martin, 1987).

En determinadas circunstancias la partenogénesis puede estar acompañada por autodiploidización, en la que las gametas haploides producidas por el gametofito germinan sin singamia pero duplican el genoma para producir un esporofito diploide homocigota (Otto & Marks, 1996). Las células haploides son favorecidas bajo condiciones de bajos nutrientes. Los talos diploides que aparecen en una población de haploides tienen ventaja porque enmascaran mutaciones deletéreas existentes. Sin embargo, tienen el efecto negativo que permite la persistencia de esas mutaciones (Otto & Marks, 1996).

En este estudio se encontraron sólo talos haploides en *C. decorticatum* que producían gametangios femeninos. Williams (1948) y Schussnig (1950) observaron en Carolina del Norte (costa del Atlántico norte) y en el Mar Mediterráneo respectivamente, gametangios femeninos y masculinos de esta especie; Kapraun & Martin (1987) y Kapraun et al. (1988) también observaron fases nucleares haploides y diploides en talos de la costa norte del Océano Atlántico.

Con respecto a *C. vermilara* no hay otros estudios cariológicos que permitan comparaciones. En este caso los talos son haploides y probablemente se reproduzcan por partenogénesis de las gametas femeninas, como fue sugerido por Prince & Trowbridge (2004) y Trowbridge & Farnham (2004) en poblaciones del NE del océano Atlántico. Hasta el presente no se han reportado talos masculinos por lo que en esta especie la reproducción sexual estaría ausente.

EPIFITISMO

La estructura del talo de *Codium* permite que se fijen organismos epífitos. Las paredes apicales y los intersticios en la corteza constituyen un sustrato ideal que aloja a numerosas algas pequeñas. Asimismo, los utrículos proveen una superficie esponjosa que permite el asentamiento de las esporas y el desarrollo de rizoides entre los espacios.

Los epífitos son definidos como vegetales que, aunque crecen sobre otros vegetales, no obtienen de ellos su nutrición (Font Quer, 1975; Ducker & Knox, 1984). Existen distintos tipos de epifitismo que involucran a algas. Entre las interacciones alga/alga, algunas especies epífitas se fijan a la superficie de sus hospedantes sin penetrar el talo; otras especies producen células que penetran en las capas superficiales de su hospedante, en algunos casos restringidos sólo a la pared celular externa y, finalmente, otras tienen rizoides que penetran profundamente en el hospedante (Goff, 1983; Leonardi et al., 2006). De acuerdo a Linskens (1963) holoepífitos son los que están unidos a las capas superficiales del hospedante, mientras que los anfiepífitos están anclados profundamente en el hospedante. En el caso de los epífitos estudiados de *Codium*, todos son holoepífitos.

Entre las ventajas que obtienen los epífitos de la relación con su hospedante se pueden citar: 1- el hospedante provee un sustrato colonizable, 2- el hospedante distribuye al epífito dentro de la columna de agua, maximizando su exposición a la luz, nutrientes y acción de las olas, 3- el hospedante permite al epífito escapar de potenciales herbívoros (Goff, 1983), 4- el hospedante ofrece al epífito un lugar seguro (Wilson, 1978). La relación entre hospedante y epífito puede no ser siempre mutuamente benéfica o, por el contrario, ser perjudicial

para el hospedante ya que: 1- el crecimiento de los epífitos atrapa finos sedimentos sobre la superficie del hospedante, disminuyendo la intensidad de luz y actuando como una barrera en la absorción de carbono (Wilson, 1978; Carpenter, 1990), 2- en algunos casos los epífitos compiten con sus hospedantes por nutrientes y afectan las velocidades de corrientes que rodean al hospedante, interfiriendo su productividad (Goff, 1983), 3- impiden el desarrollo de tejido reproductivo del hospedante (Arrontes, 1990), 4- añaden peso al hospedante por lo que la acción de las olas favorece el desprendimiento de parte o toda la planta (Wilson, 1978), 5- pueden liberar exudados potencialmente dañinos para el hospedante (Buschmann & Gómez, 1993), 6- la presencia de epífitos favorece la aparición de predadores (Trowbridge, 1998; Wilson, 1978), 7- la penetración de los epífitos en los tejidos podría proveer una entrada a otros microorganismos, eventualmente patógenos (Goff, 1983).

Sólo se conocen pocos efectos benéficos para el hospedante: 1- los epífitos reducen el estrés a la desecación durante marea baja, 2- la fotoinhibición del hospedante puede ser reducida debido al sombreado que provoca el epífito (Belegatis et al., 1999).

Los epífitos que crecen sobre *Codium* no ingresan a los utrículos para obtener un sitio de anclaje. Esto los diferencia de los epífitos de especies de *Gracilaria* Greville, *Chondrus* Stackhouse o *Ascophyllum* Stackhouse entre otros, que ingresan a las células del hospedante, en algunos casos ingresando sólo la pared celular y en otros como endófitos (Rawlence, 1972; Correa & McLachlan, 1991, 1992, 1994; Leonardi et al., 2006).

Los epífitos que crecen sobre *Codium vermilara* son pequeños, delicados y no producen el sombreado que causan en general los epífitos ni tampoco

restringen su crecimiento. Bégin & Scheibling (2003) han indicado que el gran crecimiento de algunos epífitos, como *Polysiphonia harveyi* Bailey, puede ser perjudicial para la supervivencia de talos de *Codium* por aumentar su peso y así, la posibilidad de desprendimiento del talo por acción de las olas. Sin embargo, en nuestro caso las especies de *Polysiphonia* que crecen sobre *C. vermilara* no alcanzan un tamaño tan importante como para afectar su supervivencia.

Si bien la mayoría de las especies epífitas de *C. vermilara* se hallaron durante todo el año (Tabla 5), otras aparecieron esporádicamente como *Cladophora* sp. y *Aglaozonia* sp. sólo en primavera y *Ulva* sp. en invierno y en primavera.

Las especies de Ectocarpales encontradas creciendo entre los utrículos de *Codium vermilara* y *C. fragile*, *Ectocarpus confervoides* (Roth) Le Jolis y *Feldmannia simplex* (Crouan) Hamel penetran hasta la médula aunque, en general, estas especies no tienen requerimientos especializados (Ducker & Knox, 1984).

Los epífitos que se encontraron creciendo sobre *Codium vermilara* y *C. fragile* también se observaron creciendo sobre otras algas y como flora acompañante. Este tipo de especies son oportunistas y utilizan una amplia variedad de hospedantes algales además de otros sustratos disponibles (Goff, 1983). De los estudios realizados hasta el presente en epífitos de *Codium*, sólo se cita a *Ceramium codicola* Agardh como epífito específico de *C. fragile* en las costas del NE del Pacífico (Trowbridge, 1998; Cho et al., 2003). Esta especie tiene rizoides multicelulares, uniseriados, pigmentados, delgados y bulbosos en el extremo, que se fijan entre los utrículos y no pueden ser fácilmente removidos.

Ceramium codicola no fue hallada creciendo sobre talos de *Codium* en este estudio.

En las costas de Argentina, las cianófitas *Kyrtuthrix maculans* e *Hydrocoleum confluens* fueron citadas por Halperín (1970) como endófitas intercelulares, creciendo entre los utrículos de *Codium*. Halperín (1970) los interpreta como endófitos porque crecen dentro del talo aunque no penetren en los utrículos; también aclara que aparentemente no hay relación metabólica entre el epífito y el hospedante; sin embargo, en este estudio se los considera como epífitos por las razones antes expuestas. Halperín (1970) cita otras cianófitas como epífitas de *Codium* en Chubut, como *Hydrocoleum glutinosum* (Agardh) Gomont, *H. lyngbyaceum* Kützing, *Oscillatoria nigroviridis* Thwaites ex Gomont, *O. pulchra* Lindstedt, *Schizothrix calcicola* (Agardh) Gomont ex Gomont, *Spirulina labyrinthiformis* (Linnaeus) Gomont, las cuales no fueron halladas en este estudio.

Los talos recolectados de *C. decortdatum* se observaron con muy pocos epífitos. Para esta especie Boraso & Piriz (1975) citan como epífitos a *Calothrix crustacea*, *Ceramium* sp., *Hydrocoleum lyngbyaceum* y *Kyrtuthrix maculans*.

D'Antoni (1973) y Boraso & Piriz (1975) también mencionan a *Ceramium strictum*, *Hydrocoleum confluens* y *Sphacelaria* sp. como epífitos de *C. vermilara*. En las recolecciones de esta especie en Las Grutas se encontraron además otras 22 especies de epífitos (Tabla 5).

A diferencia de lo observado en *C. fragile* subsp. *novae-zelandiae* en este estudio, donde la mayoría de los epífitos fueron algas rojas, Boraso & Piriz (1975) y Boraso et al. (2004) sólo indicaron *Callithamnion gaudichaudii* en la misma subespecie y numerosas cianófitas epífitas, como por ejemplo

Hydrocoleum lyngbyaceum, *Kyrtuthrix maculans*, *Oscillatoria corallinae* (Kützing) Gomont, *O. nigroviridis*, *Spirulina subsalsa* Ørsted y *S. labyrinthiformis*.

Los epífitos de *Codium* han sido estudiados por distintos autores (Silva, 1951; D'Antoni, 1973; Boraso & Piriz, 1975; Wilson, 1978; Benson et al., 1983; Trowbridge, 1998, 1999; Bégin & Scheibling, 2003; Mathieson et al., 2003), aunque la atención fue centrada principalmente en epífitos de *C. fragile*. Los epífitos más comunes en las distintas especies de *Codium* y en distintas regiones del mundo son *Ceramium*, *Polysiphonia* y *Ectocarpus*. De los epífitos de *C. vermilara* en este estudio, *Lyngbya*, *Aglaozonia*, *Microsyphar*, *Myrionema*, *Anotrichium* y *Corallina* se citan por primera vez en el género *Codium*. Muchas otras especies de epífitos descritas por otros autores no estuvieron presentes en los talos de *C. vermilara* aquí estudiados (Silva, 1951; D'Antoni, 1973; Boraso & Piriz, 1975; Wilson, 1978; Benson et al., 1983; Trowbridge, 1998, 1999; Bégin & Scheibling, 2003; Mathieson et al., 2003). En los lugares donde el talo de *Codium* sufre fragmentaciones invernales, permaneciendo sólo el disco basal, la colonización de los epífitos ocurre normalmente en conjunción con el ciclo de vida anual del hospedante (Wilson, 1978). En nuestras costas en cambio, como los talos de *Codium* no sufren fragmentación en invierno, los epífitos permanecen sobre el hospedante durante todo el año y por ende alcanzan a formar estructuras reproductivas.

De acuerdo al grado de invasión de las estructuras de fijación de los epífitos, se diferenciaron distintos modos de fijación a los talos de *Codium*.

En este estudio se propusieron cuatro modos de fijación de los epífitos, teniendo en cuenta: i) los modos de fijación del epífito al hospedante sugeridos por Trowbridge (1998) y ii) las relaciones observadas entre los distintos epífitos y

C. vermilara, es decir, la ausencia o presencia de estructuras de fijación, el grado de adhesión del epífito al hospedante y la producción de algún tipo de daño en la pared de *Codium*.

Los tipos 1 y 4 de este estudio se corresponden con el tipo a) descrito por Trowbridge (los rizoides del epífito se enroscan con los pelos o los utrículos). En el tipo 1 los epífitos no tienen estructuras de fijación sino que el propio epífito crece entre los utrículos. Todos los epífitos de tipo 4 tienen rizoides que ingresan en algunos casos hasta la corteza, en otros hasta la médula. En el caso de *C. vermilara* la mayoría de las especies de epífitos pertenecen al tipo 4, ya que desarrollan sus rizoides entre los utrículos, con un leve contacto entre ambas paredes. De acuerdo a la naturaleza del contacto con el sustrato o con un hospedante determinado, la morfología del rizoide del epífito cambia, indicando un potencial adaptativo para asegurar el anclaje a muchos sustratos distintos (Wilson, 1978). Los rizoides de los epífitos que se encontraron en este estudio que ingresaban entre los utrículos y los filamentos medulares fueron delgados y alargados, con la punta adelgazada. En algunos casos los rizoides se adhirieron a la pared de los utrículos por mucílago que facilitaba el anclaje del epífito sobre el hospedante. Por el contrario, Rawlence & Taylor (1970) han indicado que algunas especies de *Polysiphonia* epífitas forman rizoides con forma de saco que se extienden entre los utrículos.

El tipo 2 de este estudio se corresponde con el tipo b) descrito por Trowbridge (los epífitos están cementados sobre los utrículos).

El tipo 3, epífitos que se adhieren al hospedante dañando su pared, correspondería a un tipo intermedio entre el b) y c) descrito por Trowbridge, ya que el c) incluye especies que crecen dentro de la pared. No se han encontrado

epífitos en el interior de utrículos en este estudio. En el tipo 3 se observaron daños en la pared de *Codium* representados por engrosamientos, rupturas y áreas de digestión de la misma. La digestión de la pared e incluso del contenido celular del hospedante fue evidenciada con el microscopio electrónico de transmisión como áreas de baja densidad electrónica. La misma ha sido indicada previamente en *Ascophyllum nodosum* (Linnaeus) Le Jolis, *Chondrus crispus* Stackhouse y *Gracilaria chilensis* Bird, McLachlan & Oliveira (Rawlence, 1972; Rawlence & Taylor, 1972; Correa & McLachlan, 1994; Leonardi et al., 2006). En el caso particular de los epífitos *Lomentaria* y *Myrionema*, se observaron bacterias y cianófitas en la interfase con el talo de *Codium*. Wilson (1978) indicó dos formas bacterianas diferentes en la interfase entre los rizoides de *Ceramium pedicellatum* Agardh y *C. fragile*, una por fuera del mucílago del rizoide y la segunda embebida en él, sugiriendo que su presencia es necesaria en la relación hospedante-epífito.

En este estudio se encontraron además bacterias inmersas en el mucílago de la parte apical del gametangio en *C. vermilara*. Los gametangios presentaron un aspecto saludable, lo cual indicaría que las bacterias no afectaban el normal desarrollo y la maduración de las gametas. En numerosas algas verdes sifonales se han hallado bacterias endofíticas en vacuolas y en el citoplasma (Burr & West, 1970; Turner & Friedmann, 1974; Mariani Colombo, 1978a, b; Roth & Friedmann, 1987; Menzel, 1987) y, si bien tampoco producen alteraciones ni daños en la estructura de las algas, hasta el momento no se conoce su posible función ni la regulación de su crecimiento (Mariani Colombo, 1978a; Menzel, 1987).

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Watson, J. D. 1996. *Biología molecular de la célula*. 3^o Ed. Barcelona, 1387 pp.
- Arasaki, S., Tokuda, H. & Fujiyama, K. 1956. The reproduction and morphogeny in *Codium fragile*. *Botanical Magazine Tokyo* 69: 39–44.
- Arrontes, J. 1990. Composition, distribution on host, and seasonality of epiphytes on three intertidal algae. *Botanica Marina* 33: 205–211.
- Bégin, C. & Scheibling, R. E. 2003. Growth and survival of the invasive green alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* in tide pools on a rocky shore in Nova Scotia. *Botanica Marina* 46: 404–412.
- Belegratis, M. R., Bitis, I., Economou Amilli, A. & Ott, J. A. 1999. Epiphytic patterns of macroalgal assemblages on *Cystoseira* species (Fucales, Phaeophyta) in the east coast of Attica (Aegean Sea, Greece). *Hydrobiologia* 412: 67–80.
- Ben Shaul, Y., Schönfeld, M. & Neumann, J. 1975. Photosynthetic reactions in the marine alga *Codium vermilara* II. Structural studies. *Plant Physiology* 55: 899–905.
- Benson, E. E., Rutter, J. C. & Cobb, A. H. 1983. Seasonal variation in frond morphology and chloroplast physiology of the intertidal alga *Codium fragile* (Suringar) Hariot. *New Phytologist* 95: 569–580.
- Bold, H. C. & Wynne, M. J. 1985. *Introduction to the Algae. Structure and reproduction*. 2^o Ed. Prentice Hall, New Jersey, 720 pp.

- Boraso de Zaixso, A. L. 2004. Chlorophyta marinas de la Argentina. *Historia Natural (Segunda Serie)* 3: 95–119.
- Boraso, A. L. & Piriz de Nuñez de la Rosa, M. L. 1975. Las especies del género *Codium* (Chlorophycophyta) en la costa Argentina. *Physis* 34: 245–256.
- Boraso, A. L., Rico, A. E., Perales, S., Pérez, L. & Zalazar, H. 2004. *Algas marinas de la Patagonia. Una guía ilustrada*. Buenos Aires, 54 pp.
- Borden, C. A. & Stein, J. R. 1969a. Reproduction and early development in *Codium fragile* (Suringar) Hariot: Chlorophyceae. *Phycologia* 8: 91–99.
- Borden, C. A. & Stein, J. R. 1969b. Mitosis and mitotic activity in *Codium fragile* (Suringar) Hariot (Chlorophyceae). *Phycologia* 8: 149–156.
- Borowitzka, M. A. 1976. Some unusual features of the ultrastructure of the chloroplasts of the green algal order Caulerpales and their development. *Protoplasma* 89: 129–147.
- Brandley, B. K. 1981. Ultrastructure of the envelope of *Codium australicum* (Silva) chloroplasts in the alga and after acquisition by *Elysia maoria* (Powell). *New Phytologist* 89: 679–686.
- Bråten, T. & Nordby, Ø. 1973. Ultrastructure of meiosis and centriole behaviour in *Ulva mutabilis* Foyn. *Journal of Cell Science* 13: 69–81.
- Brawley, S. H. & Johnson, L. E. 1992. Gametogenesis, gametes and zygotes: an ecological perspective on sexual reproduction in the algae. *British Phycological Journal* 27: 233–252.
- Bulleri, F., Branca, M. G., Abbiati, M. & Airoldi, L. 2007. Development of reproductive structures in the introduced green alga, *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*, in the northern Adriatic Sea. *European Journal of Phycology* 42: 137–144.

- Burr, F. A. & West, J. A. 1970. Light and electron microscope observations on the vegetative and reproductive structures of *Bryopsis hypnoides*. *Phycologia* 9: 17–37.
- Burr, F. A. & West, J. A. 1971a. Comparative ultrastructure of the primary nucleus in *Bryopsis* and *Acetabularia*. *Journal of Phycology* 7: 108–113.
- Burr, F. A. & West, J. A. 1971b. Protein bodies in *Bryopsis hypnoides*: their relationship to wound-healing and branch septum development. *Journal of Ultrastructural Research* 35: 476–498.
- Buschmann, A. H. & Gómez, P. 1993. Interaction mechanisms between *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) and epiphytes. *Hydrobiologia* 260/261: 345–351.
- Cáceres, E. J. 1995. *Métodos de preparación de algas para su observación con Microscopía Electrónica de Transmisión Convencional (METC)*. Alveal, K., Ferrario, M. E., Oliveira, E. C. & Sar, E. (eds). En: *Manual de Métodos Ficológicos*, pp. 147-168, Universidad de Concepción, Chile.
- Cáceres, E. J. & Parodi, E. R. 1998. Fine structure of the zoosporogenesis, zoospore germination and early gametophyte development in *Cladophora surera* (Cladophorales, Chlorophyta). *Journal of Phycology* 34: 825-834.
- Carpenter, R. C. 1990. Competition among marine macroalgae: A physiological perspective. *Journal of Phycology* 26: 6–12.
- Chamberlain, A. H. L. 1976. Algal settlement and secretion of adhesive materials. *Proceedings of the Third International Biodegradation Symposium* 3: 417–432.

- Chang, J. S., Dai, C. F. & Chang, J. 2003. Gametangium-like structures as propagation buds in *Codium edule* Silva (Bryopsidales, Chlorophyta). *Botanica Marina* 46: 431–437.
- Cho, T. O., Fredericq, S., Murray, S. N., Boo, S. M. 2003. New insights on the taxonomy of the *Ceramium sinicola* complex: resurrection of *Ceramium interruptum* (Ceramiaceae, Rhodophyta). *Journal of Phycology* 39: 775–788.
- Churchill, A. C. & Moeller, H. W. 1972. Seasonal patterns of reproduction in New York populations of *Codium fragile* (Sur.) Hariot subsp. *tomentosoides* (van Goor) Silva. *Journal of Phycology* 8: 147–152.
- Clayton, M. N. 1992. Propagules of marine macroalgae: structure and development. *British Phycological Journal* 27: 219–232.
- Clifton, K. E. & Clifton, L. M. 1999. The phenology of sexual reproduction by green algae (Bryopsidales) on Caribbean coral reefs. *Journal of Phycology* 35: 24–34.
- Correa, J. A. 1995 *Aislamiento y cultivo de algas endófitas que infectan macroalgas marinas*. Alveal, K., Ferrario, M. E., Oliveira, E. C. & Sar, E. (eds). En: *Manual de Métodos Ficológicos*, pp. 505-512, Universidad de Concepción, Chile.
- Correa, J. A. & McLachlan, J. L. 1991. Endophytic algae of *Chondrus crispus* (Rhodophyta). III. Host specificity. *Journal of Phycology* 27: 448–459.
- Correa, J. A. & McLachlan, J. L. 1992. Endophytic algae of *Chondrus crispus* (Rhodophyta). IV. Effects on the host following infections by *Acrochaete operculata* and *A. heteroclada* (Chlorophyta). *Marine Ecology Progress Series* 81: 73–87.

- Correa, J. A. & McLachlan, J. L. 1994. Endophytic algae of *Chondrus crispus* (Rhodophyta). V. Fine structure of the infection by *Acrochaete operculata* (Chlorophyta). *European Journal of Phycology* 29: 33–47.
- Dangeard, P. 1958. Sur la sexualité de quelques *Codium* dichotomes dans la région atlantique. *Compte Rendu Academie des Sciences de Paris* 247: 1425–1427.
- Dangeard, P. & Parriaud, H. 1956. Sur quelques cas de développement apogamique chez deux espèces de *Codium* de la région du Sud-Ouest. *Compte Rendu Academie des Sciences de Paris* 243: 1981–1983.
- D'Antoni, E. 1973. Sobre un interesante complejo epifítico en *Codium vermilara* (Chlorophyta). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 15: 157–174.
- Dawes, C. J. & Barilotti, D. C. 1969. Cytoplasmic organization and rhythmic streaming in growing blades of *Caulerpa prolifera*. *American Journal of Botany* 56: 8–15.
- Delépine, R. 1959. Observations sur quelques *Codium* (Chlorophycées) des côtes françaises. *Rev. Gen. Bot.* 66: 366–394.
- Delgado, A. M. & Duville, C. A. 1977. Estudio de la composición química de *Codium fragile* (Suringar) Hariot (Chlorophyta) de Puerto Deseado (Provincia de Santa Cruz, Argentina). *Contribución técnica. Centro de Investigación de Biología Marina* 31: 1-9.
- Dellow, V. 1952. The genus *Codium* in New Zealand. Part I. Systematics. *Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand* 80: 119–141.
- DeWreede, R. 2006. Biomechanical properties of coenocytic algae (Chlorophyta, Caulerpales). *Science Asia* 32: 57–62.

- Dromgoole, F. I. 1975. Occurrence of *Codium fragile* subspecies *tomentosoides* in New Zealand waters. *New Zealand Journal of Marine and freshwater research*, 9: 257–264.
- Ducker, S. C. & Knox, R. B. 1984. Epiphytism at the cellular level with special reference to algal epiphytes. En: *Encyclopedia of Plant Physiology* 17 (Linskens, H. F. and Heslop-Harrison, J., eds.), pp. 113–133. Springer, Berlin.
- Dyer, A. F. 1979. *Investigating chromosomes*. Edward Arnold (ed.) Ltd., London, 138 pp.
- Enomoto, S. & Ohba, H. 1987. Culture studies on *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyceae) I. Reproduction and development of *C. racemosa* var. *laetevirens*. *The Japanese Journal of Phycology* 35: 167–177.
- Eyras, M. C. & Sar, E. A. 2003. Arribazones estivales en Puerto Madryn, Argentina, como materiales para la obtención de compost. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 38: 105–111.
- Feldmann, M. J. 1956. Sur la parthénogénèse du *Codium fragile* (Sur.) Hariot dans la Méditerranée. *Compte Rendu Academie des Sciences de Paris* 243: 305–307.
- Feldmann, J. 1969. *Pseudobryopsis myura* and its reproduction. *American Journal of Botany* 56: 691–695.
- Fletcher, R. L. & Callow, C. M. E. 1992. The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. *British Phycological Journal* 27: 303–329.
- Font Quer, P. 1975. *Diccionario de botánica*. Ed. Labor, Barcelona, 1244 pp.

- Fralick, R. A. & Mathieson, A. C. 1972. Winter fragmentation of *Codium fragile* (Suringar) Hariot ssp. *tomentosoides* (van Goor) Silva (Chlorophyceae, Siphonales) in New England. *Phycologia* 11: 67–70.
- Friedmann, E. I. & Roth, W. C. 1977. Development of the siphonous green alga *Penicillus* and the *Espera* state. *Botanical Journal of the Linnean Society* 74: 189–214.
- Fritsch, F. E. 1956. *The structure and reproduction of the algae*. Vol I. Cambridge University Press, London, 791 pp.
- Gallop, A., Bartrop, J. & Smith, D. C. 1980. The biology of chloroplast acquisition by *Elysia viridis*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 207: 335–349.
- Garbary, D. J., Fraser, S. J., Hubbard, C. & Kim, K. Y. 2004. *Codium fragile*: rhizomatous growth in the *Zostera* thicket of eastern Canada. *Helgoland Marine Research* 58: 141–146.
- Goff, L. J. 1983. Marine algal interactions: epibiosis, endobiosis, parasitism and disease. In: Tseng, C. K. (Ed) *Proceedings of the Joint China-U. S. Phycology Symposium*. Science Press, Beijing, pp. 221–274.
- Goff, L. J., Liddle, L., Silva, P. C., Voytek, M. & Coleman, A. W. 1992. Tracing species invasion in *Codium*, a siphonous green alga, using molecular tools. *American Journal of Botany* 79: 1279–1285.
- González, A. & Santelices, B. 2005. Coalescence in *Codium dimorphum* Svedelius from central Chile. 8th International Phycological Congress. Durban, South Africa. *Phycologia* 44: 38.
- Graham, L. E. & Wilcox, L. W. 2000. *Algae*. Prentice Hall, New Jersey, 640 pp.

- Guiry, M. D. & Guiry, G. M. 2008. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; búsqueda realizada el 21 de enero de 2008.
- Halperín, D. R. de 1967. Cianofíceas marinas de Puerto Deseado (Provincia de Santa Cruz, Argentina). II. *Darwiniana* 14: 273–354.
- Halperín, D. R. de 1970. Cianofíceas marinas del Chubut (Argentina). I. Golfo San José, Golfo Nuevo y alrededores de Rawson. *Physis* 30: 33–96.
- Halperín, D. R. de 1974. Cianofíceas marinas de Puerto Deseado (Provincia de Santa Cruz, Argentina). III. *Physis* 33: 465–482.
- Hayat, M. A. 1986. *Basic techniques for transmission electron microscopy*. Academic Press, Orlando, 411 pp.
- Henne, K. D. & Schnetter, R. 1999. Revision of the *Pseudobryopsis/Trichosolen* complex (Bryopsidales, Chlorophyta) based on features of gametangial behavior and chloroplasts. *Phycologia* 38: 114–127.
- Henry, E. C. & Cole, K. M. 1982. Ultrastructure of swarmers in the Laminariales (Phaeophyceae). I. Zoospores. *Journal of Phycology* 18: 550–569.
- Hori, T. 1977. Electron microscope observations on the flagellar apparatus of *Bryopsis maxima* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology* 13: 238–243.
- Hori, T. 1981. Ultrastructural studies on nuclear division during gametogenesis in *Caulerpa* (Chlorophyceae). *Japanese Journal of Phycology* 29: 163–170.
- Hori, T. & Ueda, R. 1967. Electron microscope studies on the fine structure of plastids in siphonous green algae with special reference to their phylogenetic relationships. *Science Reports, Tokyo Kyoiku Daigaku* 12: 225–244.

- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company Inc, New York, 523 pp.
- Kapraun, D. F. 1993. Karyology of marine green algae. *Phycologia* 32: 1–21.
- Kapraun, D. F. & Martin, D. J. 1987. Karyological studies of three species of *Codium* (Codiales, Chlorophyta) from coastal North Carolina. *Phycologia* 26: 228–234.
- Kapraun, D. F., Gargiulo, M. G. & Tripodi, G. 1988. Nuclear DNA and karyotype variation in species of *Codium* (Codiales, Chlorophyta) from the North Atlantic. *Phycologia* 27: 273–282.
- Komárek, J. & Hauer, T. 2004. CyanoDB.cz - On-line database of cyanobacterial genera. - <http://www.cyanodb.cz>
- Kuroiwa, T., Kawano, S., Watanabe, M. & Hori, T. 1991. Preferential digestion of chloroplast DNA in male gametangia during the late stage of gametogenesis in the anisogamous alga *Bryopsis maxima*. *Protoplasma* 163: 102–113.
- La Cour, L. F. 1941. Acetic orcein: a new stain fixative for chromosomes. *Stain technology* 16: 169–174.
- Lee, S. H., Motomura, T. & Ichimura, T. 1998. Karyogamy follows plasmogamy in the life cycle of *Derbesia tenuissima* (Chlorophyta). *Phycologia* 37: 330–333.
- Lee, S. H., Motomura, T. & Ichimura, T. 2002. Light and electron microscopic observations of preferential destruction of chloroplast and mitochondrial DNA at early male gametogenesis of the anisogamous green alga *Derbesia tenuissima* (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 38: 534–542.

- Lee, S. H., Motomura, T. & Ichimura, T. 2003. Ultrastructural study of zoosporogenesis in the siphonous green alga *Derbesia tenuissima* (Chlorophyta). *Botanica Marina* 46: 438–449.
- Leonardi, P. I. & E. J. Cáceres. 1991. Ultrastructure of the fresh-water alga *Enteromorpha flexuosa* subsp. *pilifera*. I. Germination of biflagellate zoospores. (Ulvophyceae, Chlorophyta). *Nova Hedwigia* 53: 115–126.
- Leonardi, P. I., Miravalles, A. B., Faugeron, S., Flores, V., Beltrán, J. & Correa, J. A. 2006. Diversity, phenomenology and epidemiology of epiphytism in farmed *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta) in northern Chile. *European Journal of Phycology* 41: 247–257.
- Linskens, H. F. 1963. Beitrag zur Frage der Beziehungen zwischen Epiphyt und Basiphyt bei marinen Algen. *Pubbl. Staz. Zool. Napoli*. 33: 274–293.
- Lluch, J. R. 2002. Marine benthic algae of Namibia. *Scientia Marina* 66: 1–258.
- Maggs, C. A. & Cheney, D. P. 1990. Competition studies of marine macroalgae in laboratory culture. *Journal of Phycology* 26: 18–24.
- Malinowski, K. C. & Ramus, J. 1973. Growth of the green alga *Codium fragile* in a Connecticut estuary. *Journal of Phycology* 9: 102–110.
- Mariani Colombo, P. 1978a. Occurrence of endophytic bacteria in siphonous algae. *Phycologia* 17: 148–151.
- Mariani Colombo, P. 1978b. An ultrastructural study of thallus organization in *Udotea petiolata*. *Phycologia* 17: 227–235.
- Mateo Cid, L. E., Mendoza González, A. C. & Searles, R. B. 2003. La Tribu Callithamnidae (Ceramiaceae, Rhodophyta) en la costa del Atlántico de México. *Hidrobiológica* 13: 39–50.

- Mathieson, A. C., Dawes, C. J., Harris, L. G. & Hehre, E. J. 2003. Expansion of the Asiatic green alga *Codium fragile* subsp. *tomentosoides* in the Gulf of Maine. *Rhodora* 105: 1–53.
- Mendoza, M. L. 1969. Estudio sistemático y ecológico de las Ceramiaceae (Algae-Rhodophyta) de Puerto Deseado. Provincia de Santa Cruz (Argentina). *Darwiniana* 15: 287–372.
- Menzel, D. 1987. Fine structure of vacuolar inclusions in the siphonous green alga *Chlorodesmis fastigiata* (Udoteaceae, Caulerpales) and their contribution to plug formation. *Phycologia* 26: 205–221.
- Minamikawa, B., Yamagishi, T., Hishinuma, T. & Ogawa, S. 2005. Behavior of nuclei during zoosporogenesis in *Bryopsis plumosa* (Bryopsidales, Chlorophyta). *Journal of Plant Research* 118: 43–48.
- Mishra, A. K. 1969. Fine structure of the growing point of the coenocytic alga, *Caulerpa sertularioides*. *Canadian Journal of Botany* 47: 1599–1603.
- Miyamura, S. & Nagumo, T. 2007. Inheritance pattern of chloroplast DNA is correlated with gamete types based on sex-specific arrangement of the cell fusion site in *Caulerpa* (Ulvophyceae, Chlorophyta). *Phycological Research* 55: 47–57.
- Nanba, N., Kado, R., Ogawa, H. & Toyama, K. 2000. Assays for evaluating seaweed attachment using isolated utricles of *Codium fragile* (Codiales, Chlorophyceae). I. Selection of suitable utricles for assays. *Sessile Organisms* 17: 23–30.
- Nanba, N., Kado, R., Ogawa, H. & Komuro, Y. 2002. Formation and growth of filamentous thalli from isolated utricles with medullary filaments of *Codium fragile* spongy thalli. *Aquatic Botany* 73: 255–264.

- Nanba, N., Kado, R., Ogawa, H., Nakagawa, T. & Sugiura, Y. 2005. Effects of irradiance and water flow on formation and growth of spongy and filamentous thalli of *Codium fragile*. *Aquatic Botany* 81: 315–325.
- Oh, Y. S., Lee, Y. P. & Lee, I. K. 1987. A taxonomic study on the genus *Codium*, Chlorophyta, in Cheju Island. *The Korean Journal of Phycology* 2: 61–72.
- Ohba, H., Nashima, H. & Enomoto, S. 1992. Culture studies on *Caulerpa* (Caulerpales, Chlorophyceae) III. Reproduction, development and morphological variation of laboratory-cultured *C. racemosa* var. *peltata*. *The Botanical Magazine, Tokyo* 105: 589–600.
- O`Kelly, C. J. & Floyd, G. L. 1984. *Correlations among patterns of sporangial structure and development, life histories, and ultrastructural features in the Ulvophyceae*. En: Irvine, D. E. G. & John, D. M. (eds.): *Systematics of the green algae*, pp. 121–156, London and Orlando:
- Oliveira, L., Walker, D. C. & Bisalputra, T. 1980. Ultrastructural, cytochemical, and enzymatic studies on the adhesive "plaques" of the brown algae *Laminaria saccharina* (L.) Lamour. and *Nereocystis luetkeana* (Mert.) Postels. et Rupr. *Protoplasma* 104: 1–15.
- Otto, S. P. & Marks, J. C. 1996. Mating systems and the evolutionary transition between haploidy and diploidy. *Biological Journal of the Linnean Society* 57: 197–218.
- Page, J. Z. & Kingsbury, J. M. 1968. Culture studies on the marine green alga *Halicystis parvula*-*Derbesia tenuissima*. II. Synchrony and periodicity in gamete formation and release. *American Journal of Botany* 55: 1–11.
- Paine, R. T. 1990. Benthic macroalgal competition: complications and consequences. *Journal of Phycology* 26: 12–17.

- Palandri, M. 1972. Aspetti ultrastrutturali dell'inviechiamento dei filamenti cenocitici in *Halimeda tuna* (Ell. et Sol.) Lamour. *Caryologia* 25: 211–235.
- Park, C. S. & Sohn, C. H. 1992. Effects of light and temperature on morphogenesis of *Codium fragile* (Suringar) Hariot in laboratory culture. *The Korean Journal of Phycology* 7: 213–223.
- Parriaud, H. 1957. Biologie du *Codium fragile* (Sur.) Hariot (Chlorophycées) dans le bassin d'Arachon. *Congr. Soc. Savantes. Sect. Sci.* 57: 195–196.
- Pedroche, F. F. 2001. Estudios filogenéticos del género *Codium* (Chlorophyta) en el Pacífico mexicano. Uso de ADNr mitocondrial. *Anales de la Escuela Nacional de Ciencias biológicas, México* 47: 109–123.
- Pedroche, F. F., Silva, P. C. & Chacana, M. 2002. El género *Codium* (Codiaceae, Chlorophyta) en el Pacífico de México. *Monografías Ficológicas*: 11–74.
- Piriz, M. L., Eyra, M. C. & Rostagno, C. M. 2003. Changes in biomass and botanical composition of beach-cast seaweeds in a disturbed coastal area from Argentine Patagonia. *Journal of Applied Phycology* 15: 67–74.
- Prince, J. S. 1988. Sexual reproduction in *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* (Chlorophyceae) from the Northeast coast of North America. *Journal of Phycology* 24: 112–114.
- Prince, J. S. & Trowbridge, C. D. 2004. Reproduction in the green macroalga *Codium* (Chlorophyta): characterization of gametes. *Botanica Marina* 47: 461–470.
- Puiseux Dao, S. 1966. Siphonales and Siphonocladales. En: Godward, M. B. E. (ed), *The chromosomes of the algae*. Ed. Arnold Ltd., London, pp. 52–77.
- Ramus, J. 1972. Differentiation of the green alga *Codium fragile*. *American Journal of Botany* 59: 478–482.

- Rawlence, D. J. 1972. An ultrastructural study of the relationship between rhizoids of *Polysiphonia lanosa* (L.) Tandy (Rhodophyceae) and tissue of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis (Phaeophyceae). *Phycologia* 11: 279–290.
- Rawlence, D. J. & Taylor, A. R. A. 1970. The rhizoids of *Polysiphonia lanosa*. *Canadian Journal of Botany* 48: 607–611.
- Rawlence, D. J. & Taylor, A. R. A. 1972. A light and electron microscopic study of rhizoid development in *Polysiphonia lanosa* (L.) Tandy. *Journal of Phycology* 8: 15–24.
- Reymond, O. L. & Pickett Heaps, J. D. 1983. A routine flat embedding method for electron microscopy of microorganisms allowing selection and precisely orientated sectioning of single cells by light microscopy. *Journal of Microscopy* 130: 79–84.
- Ricker, R. W. 1987. *Taxonomy and biogeography of Macquarie Island Seaweeds*. British Museum, London 344 pp.
- Rico, A. & Pérez, L. 1993. *Codium fragile* var. *novae-zelandiae* (Chlorophyta, Caulerpales) en Punta Borja, Chubut, Argentina: aspectos reproductivos. *Naturalia patagónica* 1: 1–7.
- Rietema, H. 1972. A morphological, developmental and caryological study on the life-history of *Bryopsis halymeniae* (Chlorophyceae). *Netherlands Journal of Sea Research* 5: 445–457.
- Roberts, K. R., Sluiman, H. J., Stewart, K. D. & Mattox, K. R. 1981. Comparative cytology and taxonomy of the Ulvophyceae. III. The flagellar apparatuses of the anisogametes of *Derbesia tenuissima* (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 17: 330–340.

- Roberts, K. R., Stewart, K. D. & Mattox, K. R. 1982. Structure of the anisogametes of the green siphon *Pseudobryopsis* sp. (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 18: 498–508.
- Robinson, D. G., Ehlers, U., Herken, R., Herrmann, B., Mayer, F. & Schürmann, F. W. 1987. *Methods of Preparation for Electron Microscopy*. Springer Verlag, Berlin, 190 pp.
- Roth, W. C. & Friedmann, E. I. 1980. Taxonomic significance of nucleus–microbody associations, segregated nucleoli and other nuclear features in siphonous green algae. *Journal of Phycology* 16: 449–464.
- Roth, W. C. & Friedmann, E. I. 1981. Persistent macrosegregated nucleoli in the siphonous green algae *Avrainvillea*, *Cladocephalus* and *Blastophysa* and possible implications concerning ribosomal RNA synthesis, nuclear cycles and life histories. *Phycologia* 20: 193–198.
- Roth, W. C. & Friedmann, E. I. 1987. Ultrastructure of the siphonous green algae *Avrainvillea* and *Cladocephalus*. *Phycologia* 26: 70–81.
- Sabnis, D. D. 1969. Observations on the ultrastructure of the coenocytic marine alga *Caulerpa prolifera*, with particular reference to some unusual cytoplasmic components. *Phycologia* 7: 24–42.
- Sabnis, D. D. & Jacobs, W. P. 1967. Cytoplasmic streaming and microtubules in the coenocytic marine alga, *Caulerpa prolifera*. *Journal of Cell Science* 2: 465–472.
- Sánchez Puerta, M. V. & Leonardi, P. I. 2001. Ciclo de vida, desarrollo y cariólogía de *Klebsormidium nitens* (Klebsormidiales, Charophyta). *Darwiniana* 39: 223-230.
- Sarma, Y. S. R. K. 1982. Chromosome number in algae. *Nucleus* 25: 66–108.

- Scagel, R. F., Bandoni, R. J., Maze, J. R., Rouse, G. E., Schofield, W. B. & Stein, J. R. 1991. *Plantas no vasculares*. Omega (Ed), Barcelona, 548 pp.
- Schussnig, B. 1950. Die Gametogenese von *Codium decorticatum* (Woodw.) Howe. *Svensk Botanisk Tidskrift* 44: 55–71.
- Sears, J. R. 1967. Mitotic waves in the green alga *Blastophysa rhizopus* as related to coenocyte form. *Journal of Phycology* 3: 136–139.
- Sears, J. R. & Wilce, R. T. 1970. Reproduction and systematics of the marine alga *Derbesia* (Chlorophyceae) in New England. *Journal of Phycology* 6: 381–392.
- Setchell, W. A. 1940. Some trabeculate *Codiums* (including two new species). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 26: 443–448.
- Setchell, W. A. & Gardner, N. L. 1920. The marine algae of the Pacific coast of North America. Part II. Chlorophyceae. *University of California publications in Botany* 8: 139–374.
- Silva, P. C. 1951. The genus *Codium* in California, with observations on the structure of the walls of the utricles. *University of California publications in Botany* 25: 79–114.
- Silva, P. C. 1952. *Codium* Stackhouse. Egerod, L. E. *An analysis of the Siphonous Chlorophycophyta*. *University of California publications in Botany* 25: 325–454.
- Silva, P. C. 1957. *Codium* in Scandinavian waters. *Svensk Botanisk Tidskrift* 51: 117–134.
- Silva, P. C. 1960. *Codium* (Chlorophyta) in the tropical western Atlantic. *Nova Hedwigia* 1: 497–536.

- Silva, P. C. 1998. *Codium*, a genus of challenge and frustration. Abstracts of papers scheduled for the 52nd annual meeting of the Phycological Society of America at Northern Arizona University; Flagstaff, Arizona. p. 50.
- Silva, P. C. & Irvine, D. E. G. 1960. *Codium amphibium*: a species of doubtful validity. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 39: 631-636.
- Silva, P. C. & Womersley, H. B. S. 1956. The genus *Codium* (Chlorophyta) in southern Australia. *Australian Journal of Botany* 4: 261–298.
- Silva, P. C., Yoshida, T. & Shimada, S. 1997. Typification of species of *Codium* (Bryopsidales, Chlorophyta) described by Okamura. *Phycological Research* 45: 23–27.
- Smith, G. M. 1938. *Cryptogamic botany*. Vol I Algae and fungi. McGraw-Hill Book Company, Inc. New York and London. 545 pp.
- Spurr, A. R. 1969. A low–viscosity epoxy embedding medium for electron microscopy. *Journal of Ultrastructural Research* 26: 31–43.
- Stegenga, H., Bolton, J. J. & Anderson, R. J. 1997. *Seaweeds of the South African West Coast*. Hall, A. V. (Ed). University of Cape Town, Cape Town, 655 pp.
- Trench, R. K., Boyle, J. E. & Smith, D. C. 1973a. The association between chloroplasts of *Codium fragile* and the mollusc *Elysia viridis*. I. Characteristics of isolated *Codium* chloroplasts. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 184: 51–61.
- Trench, R. K., Boyle, J. E. & Smith, D. C. 1973b. The association between chloroplasts of *Codium fragile* and the mollusc *Elysia viridis*. II. Chloroplast

- ultrastructure and photosynthetic carbon fixation in *E. viridis*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 184: 63–81.
- Trowbridge, C. D. 1993. Interactions between an ascoglossan sea slug and its green algal host: branch loss and role of epiphytes. *Marine Ecology Progress Series* 101: 263–272.
- Trowbridge, C. D. 1998. Ecology of the green macroalga *Codium fragile* (Suringar) Hariot 1889: invasive and non-invasive subspecies. *Oceanography and Marine Biology: an annual review* 36: 1–64.
- Trowbridge, C. D. 1999. An assessment of the potential spread and options for control of the introduced green macroalga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* on Australian shores. *Centre for research on introduced marine pests*: 43pp.
- Trowbridge, C. D. 2002. Invasion ecology of *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*: Implications for *Caulerpa taxifolia* incursions. *International Caulerpa taxifolia conference proceedings*. San Diego, California, USA: 1–9.
- Trowbridge, C. D. 2004. Emerging associations on marine rocky shores: specialist herbivores on introduced macroalgae. *Journal of Animal Ecology* 73: 294–308.
- Trowbridge, C. D. & Farnham, W. F. 2004. Spatial variation in littoral *Codium* assemblages on Jersey, Channel Islands (southern English Channel). *Botanica Marina* 47: 501–503.
- Trowbridge, C. D. & Todd, C. D. 2001. Host-plant change in marine specialist herbivores: ascoglossan sea slugs on introduced macroalgae. *Ecological monographs* 71: 219–243.

- Turner, J. B. & Friedmann, E. I. 1974. Fine structure of capitular filaments in the coenocytic green alga *Penicillus*. *Journal of Phycology* 10: 125–134.
- Urban, P. 1969. The fine structure of pronuclear fusion in the coenocytic marine alga *Bryopsis hypnoides* Lamouroux. *Journal of Cell Biology* 42: 606-611.
- Van den heede, C. & Coppejans, E. 1996. The genus *Codium* (Chlorophyta, Codiales) from Kenya, Tanzania (Zanzibar) and the Seychelles. *Nova Hedwigia* 62: 389–417.
- van den Hoek, C., Mann, D. G. & Jahns, H. M. 1995. *Algae. An introduction to phycology*. Cambridge University Press, 623 pp.
- Verbruggen, H., Leliaert, F., Maggs, C. A., Shimada, S., Schils, T., Provan, J., Booth, D., Murphy, S., De Clerck, O., Lillter, D. S., Littler, M. M. & Coppejans, E. 2007. Species boundaries and phylogenetic relationships within the green algal genus *Codium* (Bryopsidales) based on plastid DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 240–254.
- Wheeler, A. E. & Page, J. Z. 1974. The ultrastructure of *Derbesia tenuissima* (De Notaris) Crouan. I. Organization of the gametophyte protoplast, gametangium, and gametangial pore. *Journal of Phycology* 10: 336–352.
- Williams, L. G. 1948. The genus *Codium* in North Carolina. *Journal of the Elisha Mitchell Scientific Society* 64: 107–116.
- Wilson, L. 1978. *Epiphytes on Codium fragile (Chlorophyceae): an ecological and structural perspective*. MSc thesis, University of Rhode Island.
- Yang, M. H., Blunden, G., Huang, F. L. & Fletcher, R. L. 1997. Growth of a dissociated, filamentous stage of *Codium* species in laboratory culture. *Journal of Applied Phycology* 9: 1–3.

Durante el período de realización de esta tesis parte de los resultados obtenidos fueron presentados en congresos y publicados:

Comunicaciones a Congresos.

Se realizaron 2 presentaciones en congresos latinoamericanos y 1 en un congreso nacional.

Miravalles, A. B., Leonardi, P. I. y Cáceres E. J.

Estructura fina de la gametogénesis femenina de *Codium decorticatum* (Chlorophyta).

V Congreso Latinoamericano de Ficología. Osorno (Chile), nov. 1999.

Miravalles, A. B., Leonardi P. I. y Cáceres E, J.

Estructura fina de los estadios tempranos de la germinación de zooides de *Codium fragile* (Ulvophyceae, Chlorophyta).

XXVIII Jornadas Argentinas de Botánica. Santa Rosa, La Pampa, octubre 2001.

Miravalles, A. B., Leonardi P. I. y Cáceres E, J.

Presencia de talos masculinos de *Codium fragile* ssp. *novae-zelandiae* en la costa atlántica Argentina

XII Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Florianópolis (Brasil). Abril 2007.

Publicaciones en revistas de aparición periódica.

A. B. Miravalles, P. I. Leonardi & E. J. Cáceres. 2003. Fine structure of the utricles and gametogenesis of *Codium decorticatum* (Caulerpales, Chlorophyta). *Hydrobiológica* 13 (1): 1-8.