

Estudios experimentales sobre los efectos  
del cambio climático en *Cymodocea nodosa*  
(Ucria) Ascherson en las islas Canarias

Experimental studies on climate change  
effects on *Cymodocea nodosa* (Ucria)  
Ascherson in Canary Islands



Iago Peaguda Rodríguez

Máster en Biología Marina: Biodiversidad y  
Conservación

SEPTIEMBRE 2019



GONZALO LOZANO SOLDEVILLA, profesor titular del Departamento de Biología Animal, Edafología y Geología y ADRIANA RODRÍGUEZ HERNÁNDEZ, Investigadora Postdoctoral del Departamento de Biología Animal, Edafología y Geología de la Universidad de La Laguna.

CERTIFICAN:

Que la memoria presentada por el graduado en Biología Iago Peaguda Rodríguez, titulada “Estudios experimentales sobre los efectos del cambio climático en *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson en las islas Canarias”, ha sido realizada bajo nuestra dirección y consideramos que reúne todas las condiciones de calidad y rigor científico requeridas para optar a su presentación como Trabajo de Fin de Máster, en el Máster de Biología Marina: Biodiversidad y Conservación de la Universidad de La Laguna, curso 2017-2019.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en

San Cristóbal de La Laguna, a 9 de septiembre de 2019

Fdo. Dr. Gonzalo Lozano Soldevilla

Fdo. Dra. Adriana Rodríguez Hernández

## Resumen

El cambio global, como el calentamiento y la acidificación de los océanos, pueden tener profundos impactos en los organismos marinos. Cada vez son más conocidos los efectos del cambio climático sobre las praderas de fanerógamas. Sin embargo, diversos estudios han mostrado las diferentes respuestas que pueden presentar estas especies ante condiciones de cambio climático. En este estudio se evaluó el efecto de las condiciones de temperatura y pH previstas para el próximo centenario (25°C y 7.5 unidades de pH) y valores control de 21 °C y pH 8,1 sobre *Cymodocea nodosa* a través de experimentos manipulativos en el laboratorio durante un mes. Se analizó el crecimiento, la producción primaria bruta, la respiración, la producción primaria neta, la concentración de *clorofila-a* y la vulnerabilidad a la herbivoría. Los resultados obtenidos mostraron un efecto positivo de la disminución del pH en el crecimiento y la producción primaria bruta, así como una mayor vulnerabilidad a ser consumidas por *Paracentrotus lividus*. Por el contrario, el incremento de la temperatura limitó la producción primaria neta y bruta de las plantas. Este estudio pone de manifiesto las diferentes respuestas que presenta *C. nodosa* de Canarias frente a las observadas en *C. nodosa* del mediterráneo. En futuros escenarios *C. nodosa* de las islas Canarias se podría convertir en una especie perdedora ante el cambio climático.

**Palabras clave:** acidificación, temperatura, cambio climático, *Cymodocea nodosa*, herbivoría.

## ABSTRACT

Global change, such as warming and ocean acidification, can have profound impacts on marine organisms. The effects of climate change on seagrasses are becoming increasingly known. However, several studies have shown the different responses that these species can present to climate change conditions. In this study were evaluated, through laboratory manipulative experiments, the effects of increased ocean temperatures and pH levels expected for the end of century (25°C and 7.5 pH units) on *Cymodocea nodosa* for one month. Growth, net production, respiration, gross primary production, chlorophyll-a concentration and vulnerability to herbivory of *Cymodocea nodosa* were analysed. Results obtained showed a positive effect of decrease pH on growth and gross primary production as well as a greater vulnerability to be consumed by *Paracentrotus lividus*. In contrast, increased temperature limited net and gross primary production. This study shows the different responses observed in *C. nodosa* from Canary Islands and *C. nodosa* from Mediterranean. In future scenarios. *Cymodocea nodosa* from Canary Islands may considered a losing species in the climate change stake.

**Key words:** acidification, temperature, climate change, *Cymodocea nodosa*, herbivory

## Índice

1.INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 El cambio climático y el medio marino.....	1
1.2 Fanerógamas y cambio climático.....	2
1.3 Objetivos del estudio.....	5
2.MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
2.1 Especie de estudio y zona de recolección.....	5
2.2 Diseño experimental.....	7
2.3 Parámetros físico-químicos del agua.....	9
2.4 Variables estudiadas.....	10
2.4.1 Crecimiento.....	10
2.4.2 Actividad metabólica.....	10
2.4.3 Clorofila a.....	11
2.4.4 Ensayo de herbivoría.....	11
2.4.5 Análisis estadísticos.....	12
3. RESULTADOS.....	13
3.1 Parámetros físico-químicos del agua.....	13
3.2 Variables estudiadas.....	14
3.2.1 Crecimiento.....	14
3.2.2 Actividad metabólica.....	17
3.2.3 Clorofila a.....	20
3.2.4 Ensayo de herbivoría.....	21
DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIONES.....	26
AGRADECIMIENTOS.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	27

## 1. Introducción:

### 1.1 El Cambio climático y el medio marino

El clima es de los distintos factores ambientales, uno de los más importantes para la vida en la Tierra. Ha sufrido variaciones cíclicas a lo largo del tiempo, pero desde el boom de la época industrial, principios del siglo XIX, la actividad humana ha provocado que las condiciones climáticas hayan cambiado con mayor rapidez, provocando el aumento de la temperatura del planeta y cambios en las precipitaciones y perturbaciones en los sistemas marinos y terrestres (Callendar, 1938; Manabe y Wetherald, 1967; Held y Soden, 2006). Esta serie de fenómenos descrita anteriormente se denomina cambio climático global y es debido principalmente a las emisiones de gases de efecto invernadero a nuestra atmósfera, mayormente CO<sub>2</sub>. Por lo que el aumento de las concentraciones de CO<sub>2</sub> junto con el aumento de la temperatura dará lugar a toda una serie de cambios físicos y químicos en los sistemas marinos (Harley et al., 2006; Hoegh-Guldberg y Bruno, 2010).

En el medio marino el aumento de la temperatura se produce en la capa superficial que son los primeros 70 metros aproximadamente (Reynolds et al., 2002; Rayner, 2003). Parte del exceso de temperatura es absorbido por los océanos. Se estima que durante el periodo comprendido entre los años 1950-2009 se produjo un aumento de la temperatura media de unos 0,6°C en todo el océano superficial (Roemmich et al., 2012). Además, se pronostica un aumento entre  $1,3 \pm 0,6^\circ\text{C}$  y  $2,7 \pm 0,7^\circ\text{C}$  para el año 2100 (Collins et al., 2013; IPCC 2014; Jewett y Romanou, 2017). Esta capacidad de absorción del calor altera profundamente las propiedades en los sistemas marinos (Barnett et al., 2005; Cheng et al., 2017). Los océanos también tienen la capacidad de absorber parte del CO<sub>2</sub> emitido a la atmósfera, lo que provoca una disminución del pH del medio, conocida como acidificación marina (Parmesan y Yohe, 2003; Held y Soden, 2006). Se prevé un aumento de entre 280 a 480-936 ppm de CO<sub>2</sub> para 2100, lo que dará lugar a una disminución global de hasta 0,5 unidades de pH. Así, el pH de la superficie oceánica llegaría a ser el más bajo de los últimos 300 millones de años (Caldeira y Wickett, 2003).

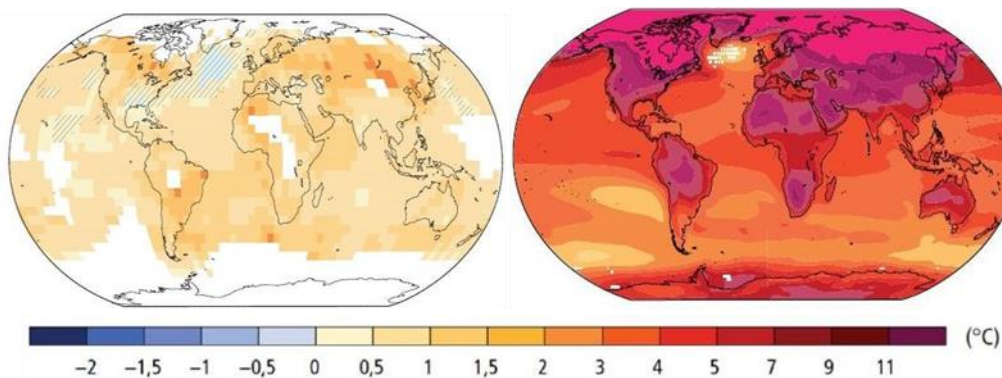


Figura 1. Incremento de las temperaturas superficiales (°C) entre los años 1901-2012 (izq.), y las esperadas para finales de siglo entre los años 2081-2100 bajo un escenario de concentraciones de gases de invernadero RCP8.5(dcha.). Imagen modificada de IPCC (2014).

La disminución del pH altera las condiciones fisicoquímicas del medio marino. El CO<sub>2</sub> al disolverse en el agua de mar forma ácido carbónico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), el cual se disocia rápidamente en iones hidrógeno (H<sup>+</sup>) y bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Los H<sup>+</sup> reaccionan con los

iones carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) presentes en el agua de mar para formar más aniones bicarbonato (Figura 2).

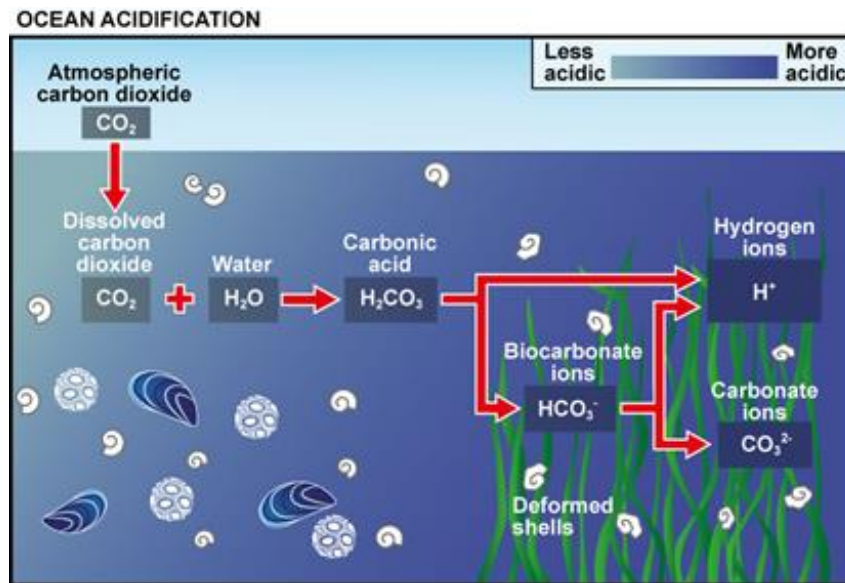


Figura 2. Relación entre el aumento de las concentraciones de  $\text{CO}_2$  en el océano y la disminución del pH. (Fuente: Hoegh-Guldberg et al., 2007).

El aumento de la concentración de iones hidrógeno ( $\text{H}^+$ ) provoca una reducción del pH. A la vez, se produce un incremento en la concentración de  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{HCO}_3^-$  y una disminución de la concentración de  $\text{CO}_3^{2-}$  que resulta en, además del descenso del pH, menores niveles de saturación de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) (Millero et al., 2002; Hoegh-Guldberg et al., 2007).

Muchos organismos han conseguido adaptarse, ajustando sus distribuciones, a los cambios térmicos de los últimos millones de años, pero los cambios esperados en el pH suponen un cambio muy brusco en comparación con las condiciones geoquímicas que han prevalecido en el océano (Petit et al., 1999; Caldeira y Wickett, 2003; Feely et al., 2004; Pelejero et al., 2010).

Los sistemas biológicos sufren alteraciones producidas por el cambio climático (Harley et al., 2006; Hoegh-Guldberg et al., 2007; Byrne, 2011; Doney et al., 2012). Estas alteraciones provocan un efecto dominó sobre los ecosistemas, de tal manera que los cambios físicos y químicos del agua de mar tiene efectos directos e indirectos tanto sobre la fisiología como el comportamiento de los organismos marinos, que a su vez pueden alterar la dinámica de los ecosistemas. La tolerancia de una especie al cambio climático viene determinada por la capacidad para responder a este fisiológicamente. Las condiciones de cambio pueden ser tolerables, permitiendo así a los individuos aclimatarse y terminar adaptándose a los nuevos escenarios ambientales tras algunas generaciones, o por el contrario pueden ser intolerables pudiendo provocar la migración o incluso la muerte y extinción a nivel local sobre todo de los organismos sésiles (Parmesan, 2006).

## 1.2 Fanerógamas marinas y cambio climático.

Las fanerógamas marinas son plantas que viven en agua salada que evolucionaron de plantas terrestres hace unos 100 millones de años. Se conocen unas 60 especies y 4 grupos

principales (Judd et al., 2002). Tienen flores, raíces y células especializadas para transportar nutrientes, lo que las hace similares a las plantas terrestres y diferentes de las algas. Para su óptimo desarrollo necesitan mucha luz, la temperatura correcta y una pequeña cantidad de nutrientes. Habitan aguas costeras poco profundas, donde el agua es lo suficientemente superficial como para permitir que las plantas obtengan los nutrientes y la luz solar que necesitan (Kuo y McComb 1989).

Las praderas de fanerógamas marinas tienen una gran importancia económica y ecológica. Entre los principales servicios al ecosistema se encuentran: importantes productores primarios, producción adicional de las algas epífitas, importantes áreas de refugio y cría para diversidad de especies, absorción de nutrientes del agua de mar, se pueden utilizar para determinar la calidad de las aguas costeras, absorben CO<sub>2</sub>, y ayudan a eliminar el dióxido de carbono de la atmósfera, además de proporcionar protección contra la erosión costera (Gacia y Duarte 2001). Se les considera el tercer ecosistema más valioso del mundo, solo precedido por estuarios y humedales (Borum et al., 2004).

Las praderas de fanerógamas se están viendo muy amenazadas en las últimas décadas. Se ha comprobado que existe una disminución global de las praderas debido a perturbaciones naturales y humanas (Orth et al., 2006; Waycott et al., 2009). En las últimas dos décadas se han perdido un 18% de las áreas con praderas por impactos humanos directos e indirectos (Ambrosio et al., 2000). Existen amenazas de origen natural como pueden ser las catástrofes naturales, tales como tormentas, el forrajeo de animales, la eutrofización debida al exceso de nutrientes en el agua provocando un mayor crecimiento de epífitos sobre las plantas, etc. Pero las praderas de fanerógamas también se ven amenazadas por otros sucesos de origen antrópico como la contaminación costera, el dragado para puertos y vías de navegación (Tuya et al. 2002), el exceso de sedimentos, la pesca con redes de arrastre, el desarrollo de playas artificiales e instalaciones turísticas, los fondeos, la introducción de especies exóticas, el calentamiento global, aumento del nivel del mar, aumento de CO<sub>2</sub> y aumento de radiación ultravioleta (Tuya et al., 2015).

*Cymodocea nodosa* es una especie de fanerógama que se distribuye en las costas atlánticas y mediterráneas, incluyendo los archipiélagos de Canarias y Madeira y toda la costa africana occidental (Alberto et al., 2006; Mascaró et al., 2009; Cunha and Araújo 2009). Se distribuye desde aguas someras hasta los 50-60 metros de profundidad. Forman praderas de unos 30 cm de altura, con hojas acintadas, sésiles y finas de unos 3-4mm de anchura. Tienen un sistema estructurante compuesto por rizomas de los que salen tallos hacia arriba (Kuo & McComb, 1989), ver Figura 3. Es una especie estructurante, jugando un gran papel en los fondos arenosos (Reyes et al., 1995). En las islas Canarias se encuentran praderas de esta especie en todas las islas del archipiélago y reciben el nombre de seabadales. Las praderas de *Cymodocea nodosa* tienen un gran papel ecológico en las islas debido a que es la especie de mayor tamaño ya que otras como *Posidonia oceánica* no se encuentran en el archipiélago. Principalmente forma praderas monoespecíficas, aunque también puede formar praderas mixtas con otras fanerógamas marinas o junto a las algas *Caulerpa prolifera* y *Caulerpa racemosa*. Es la especie de fanerógama marina que predomina en los fondos blandos costeros de Canarias (Reyes et al., 1995a,b; Pavón-Sala et al., 2000; Barberá et al., 1995; Tuya et al., 2013) que más producción primaria genera, mayores áreas de refugio y cría para distintas especies y una de sus mayores funciones ecológicas es que gracias a su sistema de rizomas, proporcionan protección

contra la erosión costera siendo capaces de mantener el sustrato arenoso (Tuya et al. 2015). Presenta un patrón estacional, donde sus densidades de haces y biomasa aumentan en los meses de verano (Reyes et al., 1995a, b; Tuya et al., 2006) tal y como sucede en el mar Mediterráneo (Terrados y Ros 1993).

Actualmente se encuentra incluida en el catálogo Español de Especies Amenazadas con la categoría de vulnerable, publicado en el BOE núm. 190 del año 2016.

En la isla de Tenerife las praderas más destacadas se encuentran en la vertiente sur, debido a que es una costa más recogida de las inclemencias del mar, tiene mayor incidencia solar y las pendientes de profundidad son más suaves, ver Figura 3.

En los últimos años se ha observado un declive de las mismas (Tuya et al., 2014 a,b).

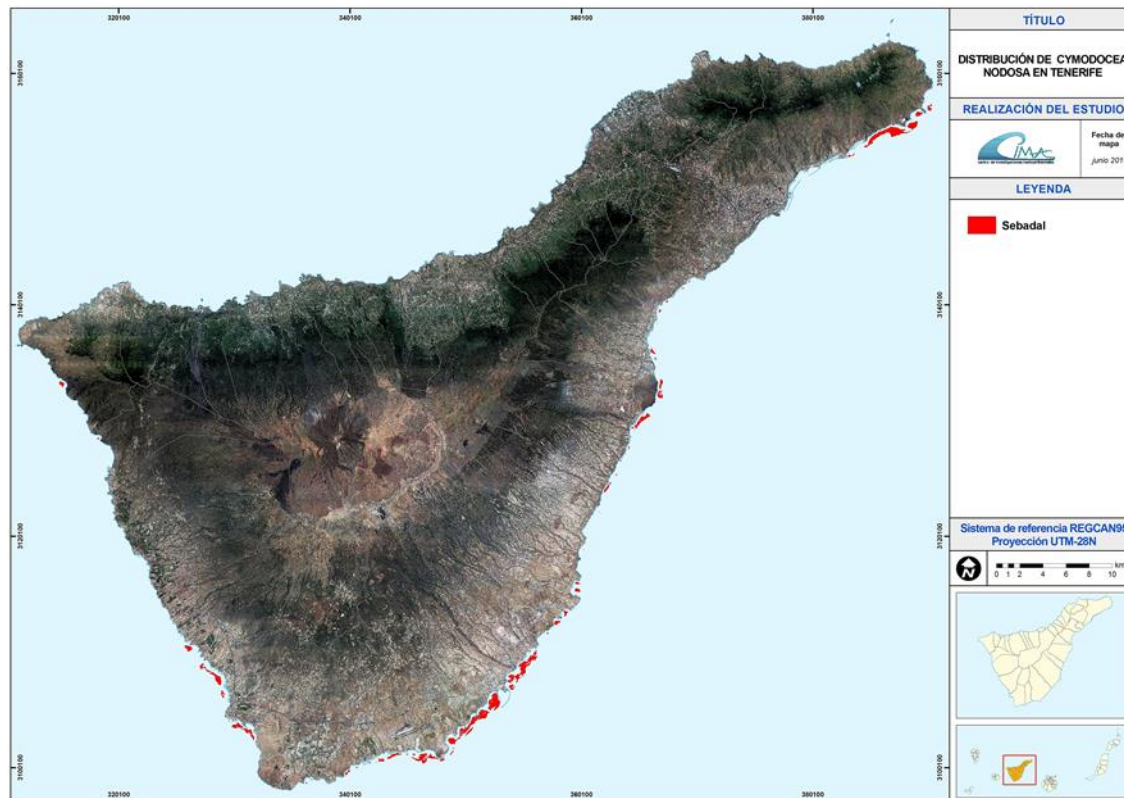


Figura 3. Distribución de praderas de *Cymodocea nodosa* en la isla de Tenerife. Fuente: Monterroso et al., 2018.

Las amenazas a *Cymodocea nodosa* no son distintas a la de las fanerógamas en general. Con respecto al cambio climático las praderas marinas siempre han sido consideradas “ganadoras” en este ámbito debido a que muestran unas tasas más altas de fotosíntesis, fijación de carbono y crecimiento cuando se exponen a niveles altos de acidificación oceánica (Egea et al., 2018). Sin embargo, sigue habiendo dudas sobre si dicha mejora del crecimiento compromete las propiedades biomecánicas de las plantas, alterando su vulnerabilidad al daño estructural y pérdida de la hoja tal y como sugieren varios estudios (De los Santos et al., 2017; Jiménez-Ramos et al., 2017; Tomas et al., 2015). Diversos estudios han tratado de evaluar los efectos del cambio climático sobre esta especie de fanerógama marina a través de experimentos manipulativos de laboratorio desde ejemplares adultos (Tomas et al., 2015; Jiménez-Ramos et al., 2017; Egea et al., 2018)



hasta plántulas (Hernán et al ., 2017) pero en todos los casos los ejemplares procedían bien de la región atlántica del estrecho de Cádiz, Portugal o del mediterráneo, es por ello que en este estudio se pretende a través de experimentos manipulativos de laboratorio valorar la respuesta de ejemplares de *Cymodocea nodosa* procedente de las islas Canarias antes condiciones de cambio climático previstas para el próximo centenario pues estudios recientes revelan las diferentes respuestas ante perturbaciones locales que pueden presentar las praderas de fanerógamas según su situación geográfica (Tuya et al., 2018).

### **Objetivos:**

1. Valorar los efectos directos del cambio climático sobre ejemplares de *Cymodocea nodosa* a través del crecimiento, contenido en *clorofila-a*, producción primaria neta, respiración y producción primaria bruta.
2. Valorar los efectos del cambio climático en la interacción planta-herbívoro, valorando si el hecho de estar pHsometidas a condiciones futuras de cambio climático cambia su vulnerabilidad a ser consumida por herbívoros.

## **2. Material y métodos:**

### **2.1 Zona de recolección.**

A finales de noviembre de 2018 fueron recolectadas mediante buceo autónomo, 90 unidades experimentales (ejemplares completos, raíz, tallo, hojas) de *C. nodosa* en la localidad de Abades 28°08'38"N 16°26'32"O (Figura 4), sur de Tenerife, a una profundidad de entre 10-15 metros.



Figura 4: Aspecto de la pradera de *Cymodocea nodosa* de Abades en el momento de la extracción de las plantas.

Previo a la colección de las plantas, se extrajo arena de la misma zona que fue trasladada al laboratorio y tamizada a través de un tamiz de 1mm. Esta arena se utilizó como sustrato

natural y fue distribuida en cada uno de los recipientes en los que ocupó 1/5 parte del recipiente. La arena permaneció en los recipientes, con el circuito de mangueras activado hasta que fue utilizada como sustrato natural en el sembrado.

Una vez que las plantas fueron extraídas del medio fueron transportadas hasta el laboratorio en húmedo y en oscuridad en un periodo inferior a 3 horas. Nada más llegar al laboratorio se procedió a la selección de aquellas plantas que estuvieran constituidas por al menos 3 unidades experimentales y presentaran un rizoma horizontal y vertical intacto (Figura 5).

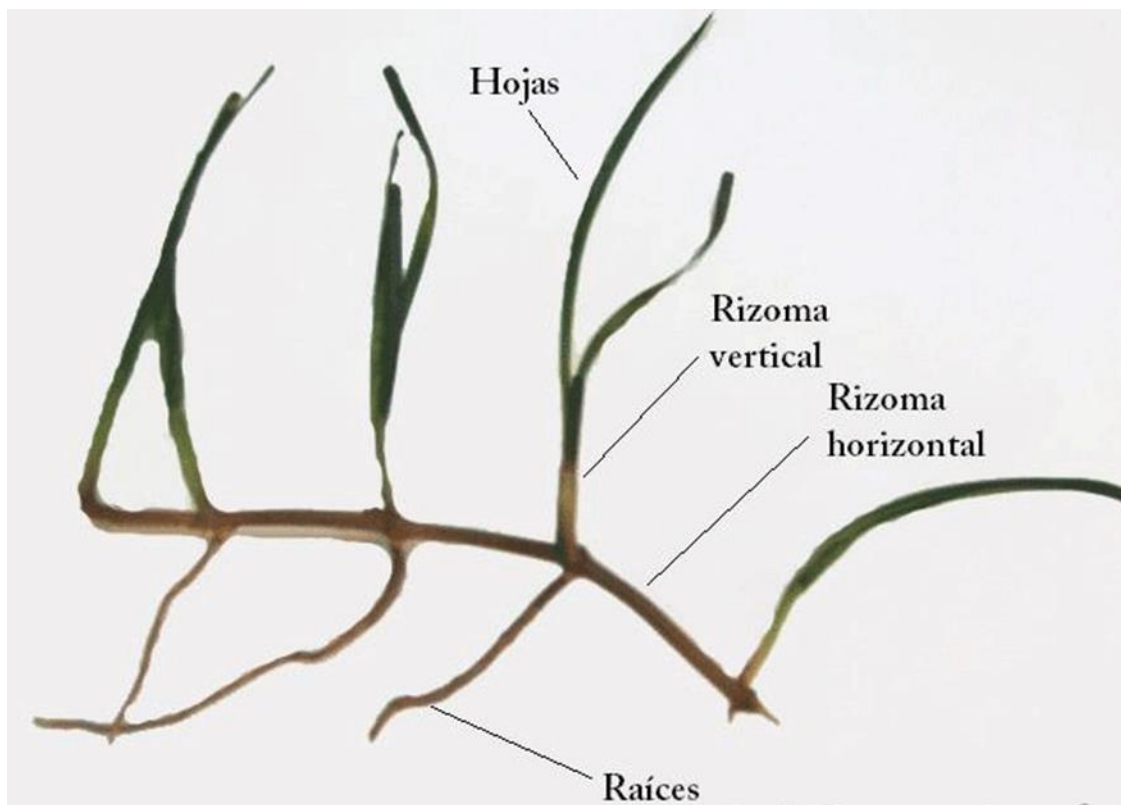


Figura 5: Esquema de la anatomía de *Cymodocea nodosa*. Fuente :José Navarro Leandro [www.marmenorenclave.blogspot.com](http://www.marmenorenclave.blogspot.com).

Todas las unidades experimentales fueron limpiadas previamente al sembrado de los posibles epífitos que pudieran tener en las hojas. La limpieza de epífitos fue mecánicamente con ayuda de un papel y agua destilada (Figura 6). Posteriormente se registraron las variables morfológicas, descritas en el siguiente apartado, y se procedió al sembrado de forma manual, enterrando las raíces y el rizoma horizontal en cada recipiente experimental (Figura 7).



Figura 6: Compañeros realizando la limpieza de epífitos..



Figura 7: Detalle de tres recipientes experimentales con sustrato natural y los ejemplares de *C. nodosa* recién sembrados.

## 2.2 Diseño experimental.

La fase experimental se llevó a cabo en el laboratorio húmedo del departamento de Biología Marina de la Universidad de la Laguna. Se establecieron dos fases: un primer periodo de aclimatación de los individuos al laboratorio, que duró aproximadamente una semana y un segundo periodo de manipulación de las condiciones de pH y temperatura

del agua de mar para la simulación de las condiciones de cambio climático previstas para finales de siglo según el IPCC (2014) con una duración de 4 semanas.

Previo al sembrado de cada individuo distintas variables morfométricas fueron registradas. Con ayuda de una cinta métrica se midieron distintas partes de la planta y fueron pesadas con una báscula de precisión. Todos los datos fueron apuntados para ser procesados en Excel más tarde. En recipientes experimentales de 2 litros de volumen se introdujo arena previamente tamizada hasta llenar una quinta parte del recipiente y se plantaron los individuos, (Figura 8). Quince de estos recipientes experimentales fueron colocados en cada una de las cuatro mesas de agua de circuito cerrado del laboratorio. Las plantas estuvieron durante una semana aclimatándose al laboratorio sometidas a una temperatura de 20°C y una salinidad de 37,5. Las condiciones de cambio climático se consiguieron de manera gradual incrementando la temperatura 1°C cada día en los tratamientos de temperatura alta y disminuyendo 0.1 unidades de pH en los tratamientos con pH bajo.



Figura 8: Detalle de una de las mesas de agua donde se pueden observar algunos recipientes colocados en los soportes y el sistema de mangueras en funcionamiento.

Cada mesa de agua del laboratorio constaba de dos tanques de 300 l de capacidad; en el tanque superior se colocaron las muestras y el inferior funcionaba como reservorio de agua. El agua circulaba desde el tanque inferior al superior mediante bombas EHEIM compact +3000, pasando en su recorrido por dos filtros interconectados de 10  $\mu\text{m}$  y 50  $\mu\text{m}$  y distribuyéndose a través de un sistema de mangueras de riego de forma individualizada a los recipientes de 2 litros. Estos recipientes estaban abiertos en su parte superior y presentaban dos orificios laterales que aseguraba una renovación constante del agua. Para la iluminación se utilizaron 6 lámparas (Aquael Leddy Tube de 6W), estableciendo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad (Figura 9).

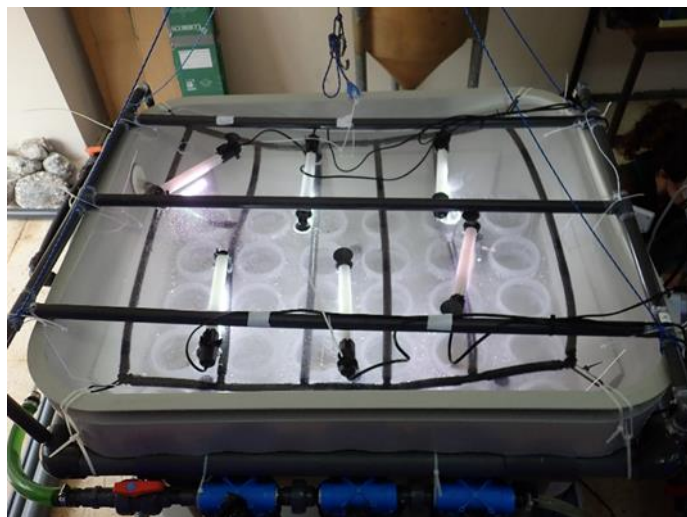


Figura 9: Mesa con las lámparas colocadas.

Durante las condiciones de cambio climático se tomaron como valores control las medias de temperatura y pH actuales en la región de las islas Canarias ( $T=21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{pH}=8,1$ ), como valor de temperatura elevada  $26\text{ }^{\circ}\text{C}$  y de pH bajo 7,5 según las previsiones del IPCC (2014) para la región de Canarias para el próximo centenario. De esta forma, las plantas fueron sometidos a 4 tratamientos diferentes, combinando los distintos niveles de temperatura y pH: temperatura alta y pH control, temperatura alta y pH bajo, temperatura control y pH bajo, y temperatura y pH control. Para ello, en el tanque inferior de las dos mesas de temperatura alta se utilizó un calentador (Tetra HT2000) para alcanzar los  $26^{\circ}\text{C}$ , además del enfriador (AquaEuro Chiller 1/10 HP y TECO Aquarium Chiller TR/TC 10) presente en todas las mesas de agua que mantenía la temperatura deseada constante. El mantenimiento de la temperatura en cada una de las réplicas de cada mesa se aseguró manteniendo inmersos en un baño de agua a la temperatura deseada, donde al menos  $\frac{3}{4}$  partes de cada recipiente quedaba sumergido. En las mesas de pH bajo se colocó un sistema de burbujeo automatizado de  $\text{CO}_2$  consistente en una consola de pH (AquaMedic GmbH;  $\pm 0,01$  unidades) con un electrodo de pH y una válvula solenoide conectada a una botella de  $\text{CO}_2$ . De esta forma, el pH del agua se modificaba en el tanque inferior de las mesas, para luego ser distribuida al pH adecuado a cada una de las muestras que estaban en el tanque superior a través del sistema de mangueras.

### 2.3 Parámetros físico-químicos del agua.

Durante el experimento, la salinidad y la temperatura fueron medidas diariamente utilizando un salinómetro portátil (ProfiLine Cond 3110). El pH del agua fue medido diariamente con un pH-metro portátil (Hannah 98919), tanto en el tanque superior como en el inferior. La alcalinidad total del agua ( $AT$ ) se midió semanalmente en cada una de las mesas de agua a lo largo del experimento. Para ello se tomaron dos réplicas de agua de 100ml de cada tratamiento siempre el mismo día de la semana y entre las 8.00 y las 14.00 horas y fueron fijadas con 2ml de  $\text{HgCl}_2$  y conservadas en oscuridad a  $4^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. La medición de  $AT$  se realizó mediante valoración con un titrador (Metrohm Dosimat 665) utilizando  $\text{HCL}$  0,01N. Los otros parámetros de la química del

carbono del agua de mar, como presión parcial de  $CO_2$  ( $pCO_2$ ), bicarbonato ( $HCO_3^-$ ), anión carbonato ( $CO_3^{2-}$ ), estado de saturación de calcita ( $\Omega_{Ca}$ ) y estado de saturación de aragonito ( $\Omega_{Ar}$ ), se calcularon a partir de la  $AT$  y del pH, usando el software CO2SYS (Lewis y Wallace, 1998).

## **2.4 Variables estudiadas.**

### **2.4.1 Crecimiento.**

El crecimiento se estimó mediante diferentes variables morfométricas y como el incremento en peso (modificado de Hernán et al., 2017) en 15 réplicas por tratamiento. Todas las variables morfométricas fueron expresadas como la diferencia registrada entre el periodo inicial y final del experimento. Los parámetros morfométricos registrados fueron: longitud máxima de la hoja, número de hojas, longitud del rizoma horizontal y peso. La longitud máxima fue registrada con una cinta métrica, registrándose la longitud de la hoja más larga de cada uno de los individuos. El número de hojas consistió en contabilizar las hojas que tenía cada unidad experimental. La longitud del rizoma horizontal fue registrada mediante una cinta métrica. En el caso de que las unidades experimentales no estuvieran unidas por el mismo rizoma horizontal, se midió cada uno por separado y luego se procedió a la suma total. El peso fue registrado con una balanza analítica (Sartorius) de precisión  $\pm 0,001$ . Para cada una de las variables se utilizaron 15 réplicas por tratamiento.

### **2.4.2 Actividad metabólica**

Después de 1 mes bajo condiciones experimentales, las medidas metabólicas fueron registradas en cada uno de los tratamientos, seleccionándose 8 réplicas por tratamiento y 3 blancos. El uso de blancos permitió descartar cualquier producción de oxígeno relacionada con microorganismos. La Producción Primaria Neta (PPN) fue calculada midiendo la diferencia en la concentración de  $O_2$  registrada en un periodo de incubación de 2 horas durante el día mientras que la Respiración fue registrada durante la noche, a las 2 horas de comenzar la fase oscura. En ambos casos, las aberturas laterales de los recipientes por donde rebosaba el agua fueron selladas totalmente con cinta americana y cada recipiente fue sellado con su respectiva tapa herméticamente. Se midió la concentración de oxígeno inicial, y tras el periodo de incubación de 2 horas se volvió a medir la concentración de oxígeno final. De esta forma los recipientes quedaban inmersos en el baño de agua a la temperatura correspondiente de cada tratamiento y cerrados herméticamente para que no existiera ningún intercambio gaseoso. Cada recipiente fue relleno con 2 litros de agua a su correspondiente pH hasta su totalidad, asegurándonos así que no quedaba nada de aire que pudiera interferir con la concentración de oxígeno. La respiración (R) fue medida durante la noche, y se expresó como la diferencia de oxígeno entre el periodo inicial y final de la incubación, registrado como  $\mu$ moles de  $O_2$  a través de un oxímetro portátil (Hanna 98193). La producción primaria neta y la respiración fueron calculadas siguiendo la metodología modificada de Legrant et al (2017) mediante la siguiente ecuación:

$$PPN \text{ ó } R = (\Delta O_2 \times V) / (\Delta t \times P)$$

Donde  $\Delta O_2$  es la diferencia entre las concentraciones de oxígeno inicial y final ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ L}^{-1}$ ), V el volumen del recipiente (L),  $\Delta t$  el tiempo de incubación (h), y P el peso húmedo del organismo incubado (g).

La producción primaria bruta (PPB) fue estimada como la diferencia entre la producción primaria neta y la respiración a través de la siguiente ecuación (Legrant et al., 2017)

$$PPB = PPN - R$$

### 2.4.3 *Clorofila-a*

Para la estimación de la concentración de *clorofila-a* por espectrofotometría se siguió la metodología empleada en Denninson (1995). Se seleccionaron 3 réplicas por tratamiento y fueron almacenadas a  $-20^\circ\text{C}$  hasta su análisis. De cada réplica se extrajo un centímetro cuadrado de las hojas más sanas de cada individuo. Posteriormente, fueron macerados y homogenizados con la ayuda de un mortero y acetona al 90% y añadido un volumen de hasta 10 ml de acetona. Cuando se consiguió una consistencia verde clara, se introdujo en un tubo de ensayo y fueron almacenados en oscuridad y frío hasta su lectura. Cada tubo de ensayo fue introducido en una centrifuga durante 10 min a 1000 revoluciones. Después de cada muestra se tomaron tres medidas de cada réplica, en las que se midió su turbidez en el espectrofotómetro (DU 800-Beckman Coulter). Cada medida fue estandarizada posteriormente previo al análisis estadístico. La fórmula para calcular la concentración de *clorofila-a* fue la utilizada por Denninson (1995).

$$Chl a (\mu\text{g/ml}) = 12,7 * A_{663} - 2,69 * A_{645}$$

Donde *Chl a* corresponde a la concentración de *clorofila-a*, expresada en microgramos por mililitro,  $A_{663}$  es la absorbancia corregida con la turbidez a 663nm ( $A_{663}-A_{725}$ ) y  $A_{645}$  es la absorbancia corregida con el valor de turbidez registrado ( $A_{645}-A_{725}$ ).

### 2.4.4 Ensayo de herbivoría

Para estimar las tasas de consumo sobre *Cymodocea nodosa* cultivada en diferentes tratamientos de cambio climático se eligió al herbívoro *Paracentrotus lividus*. Este erizo se encuentra presente en las praderas de *C. nodosa* y varios estudios confirman el consumo de *C. nodosa* por este equinodermo (Tomas et al., 2015; Hernán et al., 2017). Se capturaron del medio natural ejemplares adultos de esta especie de erizo. Los ejemplares fueron capturados en la localidad de Punta Larga, Candelaria, por presentar una alta densidad de esta especie. Los ejemplares fueron cogidos mediante snorkel y transportados al laboratorio en condiciones húmedas donde permanecieron en ayunas durante 48 horas. Para cada uno de los tratamientos se establecieron 5 réplicas. Tres réplicas adicionales por tratamiento se utilizaron como controles sin erizos, necesarios para estimar los cambios de biomasa en ausencia de herbívoros (Roa, 1992; Tomas et al., 2015). En cada una de las réplicas fue introducido aleatoriamente un erizo que previamente fue medido su diámetro horizontal con un calibrador (Figura 9). Las tallas de los erizos estuvieron comprendidas entre 3,1-4.6 cm. La talla del erizo fue registrada para luego ser incluida en los análisis, con el objetivo de saber si la talla del erizo influía en el consumo. Los ejemplares de *Cymodocea nodosa* fueron pesados antes del ensayo

de herbivoría y tras las 48 horas, donde los erizos fueron retirados y las plantas volvieron a ser pesadas en una balanza analítica (Sartorius) de precisión  $\pm 0,001$ .



Figura 9: Ejemplar de *Paracentrotus lividus* durante el ensayo de herbivoría.

Las tasas de consumo fueron estimadas en cada uno de los tratamientos con la siguiente ecuación (Rodríguez et al., 2018):

$$C_{tot} = T_i * \left( \frac{C_f}{C_i} \right) - T_f$$

Donde  $C_{tot}$  es el consumo total en gramos (g),  $T_i$  es el peso inicial de la planta (g) y  $T_f$  es el peso final de la planta en los tratamientos que había erizos.  $C_i$  es el peso inicial y  $C_f$  es el peso final en los controles (sin erizos) expresado en gramos.

#### 2.4.5 Análisis estadísticos.

Las diferencias en el crecimiento, tanto para cada una de las variables morfométricas seleccionadas en este estudio (longitud máxima hoja, número de hojas, longitud rizoma horizontal) tomadas al inicio y al final del experimento, así como la diferencia en las concentraciones de oxígeno registradas en la producción primaria neta, respiración y producción primaria bruta en las diferentes condiciones experimentales, fueron analizadas mediante un ANOVA por permutaciones de dos vías con los factores “temperatura” y “pH” tratados como fijos, con dos niveles de variación (20°C vs 25°C; 8,1 vs. 7,5 respectivamente). El contenido en *clorofila-a* siguió el mismo análisis que el de las variables morfométricas.



Los rangos de consumo del erizo *Paracentrotus lividus* sobre *Cymodocea nodosa* cultivada en los diferentes tratamientos experimentales se analizaron mediante un ANCOVA por permutaciones donde la talla del erizo (diámetro horizontal) fue introducido como covariable, con el mismo diseño de dos vías ejecutado en el resto de los análisis.

En todos los análisis de la varianza se realizaron 9999 permutaciones de los datos. Los términos significativos en los modelos, fueron analizados, cuando fue necesario, con comparaciones a posteriori dos a dos ejecutadas por permutaciones (Anderson, 2005). Cuando el número de permutaciones fue insuficiente, los p-valores fueron corregidos por el método de Monte Carlo (Anderson y Robinson, 2003). Se utilizó el programa estadístico Primer 6 & Permanova +.

### **3. Resultados**

#### **3.1 Parámetros fisicoquímicos del agua**

Durante la semana de aclimatación, las plantas estuvieron sometidas a una temperatura de  $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , a un pH de 8,1, una salinidad de aproximadamente  $37,5 \pm 0,6$  ups y una intensidad lumínica de 86,2 lúmenes/fotones<sup>2</sup> en el periodo de iluminación y 15,3 lúmenes/fotones<sup>2</sup> en el periodo de oscuridad.

Cuando las condiciones de cambio climático fueron establecidas, en el tratamiento control, la temperatura osciló en torno a  $21 \pm 0,55^{\circ}\text{C}$  y el pH obtuvo valores de  $8,2 \pm 0,05$  unidades. En el tratamiento de pH bajo, este se mantuvo en  $7,5 \pm 0,1$  unidades, con una temperatura control de  $20,9 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . En el tratamiento de temperatura alta, la temperatura osciló entre  $25,7 \pm 1,4^{\circ}\text{C}$ , y el pH  $8,1 \pm 0,05$  unidades. En el tratamiento que simuló las condiciones de cambio climático la temperatura se mantuvo a  $25,8 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$  y el pH a  $7,5 \pm 0,2$  unidades. La salinidad presentó valores comprendidos entre 37,9 y 38,6 ups. En los tratamientos con pH bajo se registró una mayor presión parcial de  $\text{CO}_2$  ( $\text{pCO}_2$ ), con menores niveles de saturación de calcita ( $\Omega_{\text{Ca}}$ ) y aragonito ( $\Omega_{\text{Ar}}$ ) (Tabla 1).

Tabla 1. Valores medios ( $\pm$  DE) de los parámetros fisicoquímicos del agua de mar durante el experimento de laboratorio para los diferentes tratamientos de temperatura (T) y pH. Los valores de temperatura, pH y salinidad fueron calculados a partir de las medidas obtenidas durante las 4 semanas de experimentación. Los valores de alcalinidad total (TA), presión parcial de CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>), bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>), anión carbonato (CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>) y los niveles de saturación de la calcita ( $\Omega_{Ca}$ ) y el aragonito ( $\Omega_{Ar}$ ) fueron calculados usando CO<sub>2</sub>SYS.

Tratamiento	T (°C)	AT (mmol·kg <sup>-1</sup> )	pH	Salinidad	pCO <sub>2</sub> (µatm)	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mmol·kg <sup>-1</sup> )	CO <sub>3</sub> <sup>-2</sup> (mmol·kg <sup>-1</sup> )	$\Omega_{Ca}$	$\Omega_{Ar}$
<i>T alta - pH bajo</i>	25,8 $\pm 1,5$	2805,2 $\pm 81,91$	7,5 $\pm 0,2$	38,47 $\pm 0,32$	1964,1 $\pm 87,25$	2564,1 $\pm 113,78$	100,92 $\pm 4,40$	2,36 $\pm 0,10$	1,57 $\pm 0,06$
<i>T alta - pH control</i>	25,7 $\pm 1,4$	2864,8 $\pm 378,4$	8,1 $\pm 0,05$	38,47 $\pm 0,32$	401,3 $\pm 55,47$	2085,2 $\pm 288,27$	326,16 $\pm 45,09$	7,63 $\pm 1,05$	5,06 $\pm 0,69$
<i>T control - pH bajo</i>	20,9 $\pm 0,1$	3230,4 $\pm 370,7$	7,5 $\pm 0,1$	38,07 $\pm 0,32$	2237,3 $\pm 259,4$	3003,1 $\pm 348,2$	97,04 $\pm 11,25$	2,27 $\pm 0,26$	1,48 $\pm 0,17$
<i>T control - pH control</i>	21 $\pm 0,55$	2645,2 $\pm 24,46$	8,2 $\pm 0,05$	38,00 $\pm 0,26$	282,3 $\pm 2,74$	1898,9 $\pm 18,48$	307,55 $\pm 2,99$	7,20 $\pm 0,07$	4,70 $\pm 0,04$

## 3.2 Variables estudiadas

### 3.2.1 Crecimiento

El crecimiento se calculó a través del incremento en peso y a través de las variables morfométricas estudiadas (longitud máxima, número de hojas y longitud del rizoma).

En el crecimiento no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en ninguna de las variables morfométricas estudiadas (Tabla 2). En la variable longitud máxima de la hoja encontramos un decrecimiento en todos los tratamientos excepto en el tratamiento control donde encontramos casi 1 cm de crecimiento de media (Figura 10A). En la variable del número de hojas nuevas existió una tendencia de mayor número de hojas nuevas en los tratamientos con pH bajo, mostrando una mayor diferencia a 26°C (Figura 10B). En la variable longitud del rizoma horizontal todos los tratamientos mostraron decrecimiento, observándose el más severo en el tratamiento de temperatura alta y pH normal (Figura 10C).

Tabla 2. Resultados del ANOVA de 2 vías, ejecutado por permutaciones, del crecimiento de *Cymodocea nodosa* en las diferentes variables morfométricas registradas, en los diferentes tratamientos de temperatura y pH.: Valores significativos ( $p < 0,05$ ). A) Longitud máxima de la hoja, B) número de hojas y B) Longitud máxima del rizoma horizontal

**A) Longitud máxima**

<i>Factor</i>	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
pH	1	17,092	17,092	2,4999	0,1132
T	1	7,4366	7,4366	1,0877	0,3035
pHxT	1	3,33	3,33	0,48706	0,4942
Res	56	382,86	6,8369		
Total	59	410,72			

**B) Número de hojas**

<i>Factor</i>	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
pH	1	0,11852	0,11852	0,52188	0,4698
T	1	0,16713	0,16713	0,73593	0,3894
pHxT	1	3,33	3,33	0,48706	0,4942
Res	56	12,718	0,2271		
Total	59	13,026			

**C) Longitud rizoma horizontal**

<i>Factor</i>	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
pH	1	7,6505	7,6505	1,7243	0,1895
T	1	1,403	1,403	0,31621	0,5782
pHxT	1	9,7003	9,7003	2,1862	0,1472
Res	56	248,47	4,437		
Total	59	267,22			

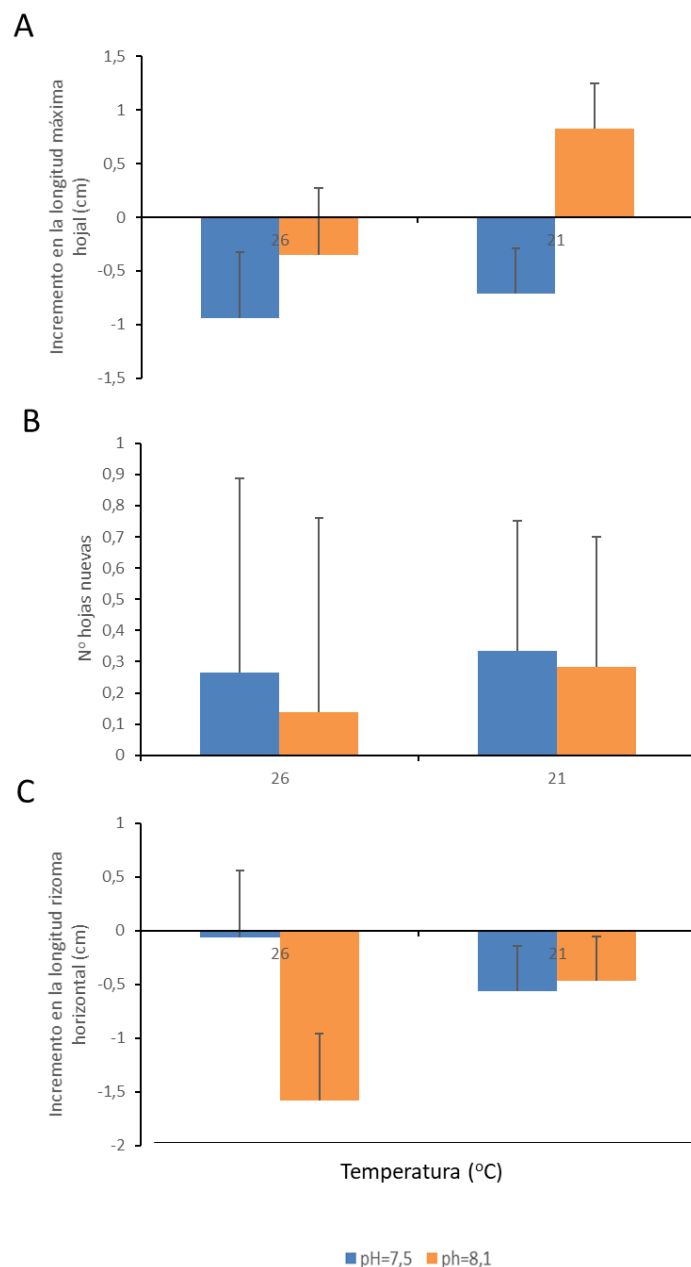


Figura 10. Valores medios ( $\pm$  DE) de las variables morfométricas registradas en los ejemplares de *Cymodocea nodosa* cultivados en los diferentes tratamientos de pH y temperatura. A: Longitud máxima de la hoja registrada como la diferencia entre el periodo final e inicial, B: Número de hojas nuevas, registrado como la diferencia entre las hojas observadas al final de experimento y en el periodo inicial, y C: Longitud del rizoma horizontal registrado como la diferencia registrada entre el periodo inicial y final.

Sin embargo, sí se detectaron diferencias significativas en el incremento de peso entre los diferentes tratamientos de pH ( $F= 6,4478$ ;  $p=0,011$ , Tabla 3), donde se observó un incremento de peso de  $0,27 \pm 0,165$  g en el tratamiento de pH bajo frente a  $0,131 \pm 0,145$  g en el pH control (Figura 11).

Tabla 3. Resultados del ANOVA de 2 vías, ejecutado por permutaciones, del crecimiento de *Cymodocea nodosa* estimado como incremento en peso, en los diferentes tratamientos de temperatura y pH.: Valores significativos: \* ( $p < 0,05$ ).

### Incremento en peso ( $\Delta$ peso)

Factor	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
pH	1	0,31716	0,31716	12,684	0,0009*
T	1	3,5394E-3	3,5394E-3	0,14155	0,7062
pH x T	1	1,0475E-3	1,0475E-3	4,1892E-2	0,8362
Res	55	1,3753	2,5005E-2		
Total	58	1,6989			

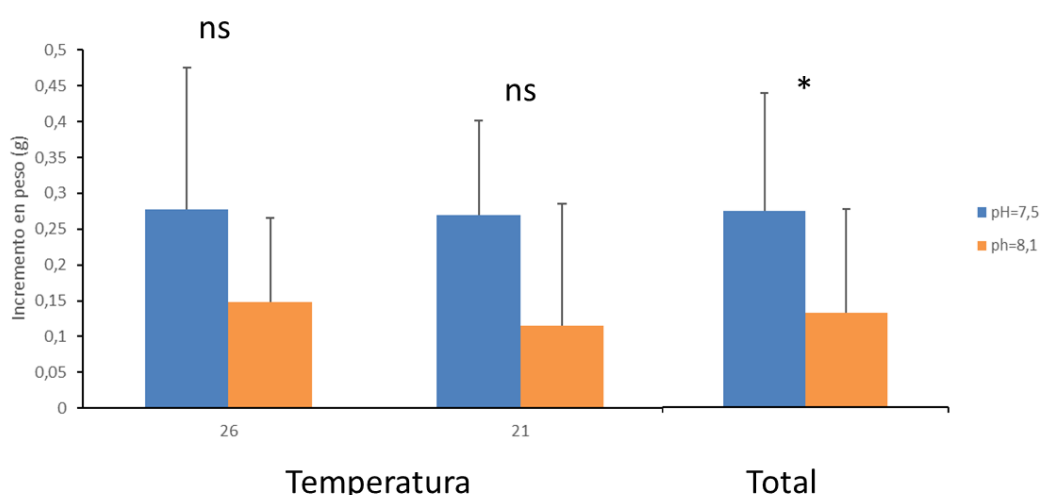


Figura 11. Valores medios ( $\pm$  DE) del incremento en peso de los ejemplares de *Cymodocea nodosa* en los diferentes tratamientos de pH y temperatura. Se incluyen los valores medios registrados entre los tratamientos de pH bajo (7,5) y pH control (8,1) para la totalidad de condiciones de temperatura. Valores significativos: \* ( $p < 0,05$ ); valores no significativos: ns ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.2. Actividad metabólica

#### 3.2.2.1. Producción primaria neta

En la producción primaria neta se observaron diferencias significativas entre los tratamientos de pH ( $F = 11,842$ ;  $p = 0,001$ ) y temperatura ( $F = 16,559$ ;  $p = 0,0002$ ) (Tabla 4A). Se observó una mayor concentración de  $O_2$  en el tratamiento de pH bajo que en el tratamiento control. En el tratamiento de pH bajo se registraron concentraciones de oxígeno de  $0,23 \pm 0,15$ , por el contrario, en el tratamiento de PHpH control la producción de oxígeno alcanzó valores de  $0,01 \pm 0,04 \mu\text{mol}$  (Figura 12A) En el caso de la temperatura, la mayor concentración de oxígeno se observó a temperatura control, donde se registraron concentraciones de  $O_2$  de  $0,268 \pm 0,324 \mu\text{mol}$  frente a los  $-0,027 \pm 0,132$

μmol registrados a temperatura control (Figura 12B). No se observaron diferencias significativas en la interacción de ambos factores (Tabla 4A).

Tabla 4. Resultados del ANOVA de 2 vías, ejecutado por permutaciones, de la concentración de oxígeno en la producción primaria neta (A), la respiración (B) y producción primaria bruta (C) de *Cymodocea nodosa*, en los diferentes tratamientos de temperatura y pH.

A) Producción primaria neta (PPN)					
<i>Factor</i>	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
pH	1	0,50086	0,50086	11,842	0,0014*
<i>T</i>	1	0,70036	0,70036	16,559	0,0001*
<i>pH x T</i>	1	0,15794	0,15794	3,734	0,0664
<i>Residual</i>	28	1,1843	4,2295E-2		
<i>Total</i>	31	2,5434			

B) Respiración (R)

<i>Factor</i>	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
pH	1	3,2742E-2	3,2742E-2	0,96169	0,3486
<i>T</i>	1	3,8191E-2	3,8191E-2	1,1217	0,2973
pH x T	1	1,3372E-4	1,3372E-4	3,9277E-3	0,9528
Res	28	0,9533	3,4046E-2		
Total	31	1,0244			

C) Producción primaria bruta (PPB)

<i>Factor</i>	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
pH	1	6,9371E-2	6,9371E-2	3,3726	0,0788
<i>T</i>	1	0,26641	0,26641	12,952	0,0009*
pHxT	1	3,722E-2	3,722E-2	1,8095	0,1939
Res	28	0,57592	2,0569E-2		
Total	31	0,94893			

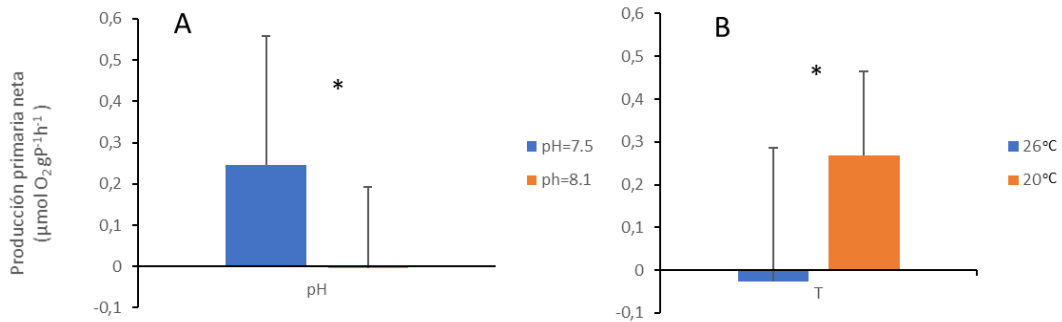


Figura 12. Valores medios ( $\pm$  DE) de las concentraciones de oxígeno registradas durante la producción primaria neta en los diferentes tratamientos experimentales. (A) Se incluyen los valores medios registrados entre los tratamientos de temperatura alta (26°C) y temperatura control (21°C) para la totalidad de condiciones de pH. (B) Se incluyen los valores medios registrados entre los tratamientos de pH bajo (7,5) y pH control (8,1) para la totalidad de condiciones de temperatura. Valores significativos: \* ( $p < 0,05$ ).

### 3.2.2.2. Respiración

En la respiración no se detectaron diferencias significativas en ninguno de los factores, ni en la interacción de factores (Tabla 4B). Los valores de oxígeno oscilaron entre (-0,728)  $\mu\text{mol O}_2$  y 0,137  $\mu\text{mol O}_2$ , observándose siempre valores más bajos en el tratamiento de pH control y temperatura control (Figura 13).

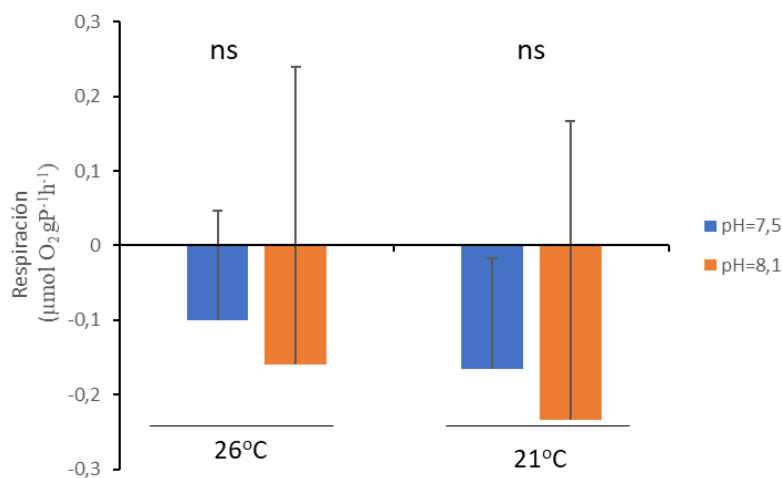


Figura 13. Valores medios ( $\pm$  DE) de las concentraciones de oxígeno registradas durante la respiración de *Cymodocea nodosa* en los diferentes tratamientos de pH y temperatura. Valores significativos: \* ( $p < 0,05$ ); valores no significativos :ns ( $p > 0,05$ )

### 3.2.2.3. Producción Primaria Bruta

En la producción primaria bruta, las diferencias estadísticas se observaron tan sólo entre los tratamientos de temperatura ( $F = 12,952$ ;  $p = 0,0009$ ) donde se observó una mayor producción de oxígeno en el tratamiento control (21 °C), con valores de 0,468  $\mu\text{mol O}_2$ , frente a los 0,103  $\mu\text{mol}$  registrados en el tratamiento de temperatura alta (26°C) (Ver Tabla 4c y Figura 14).

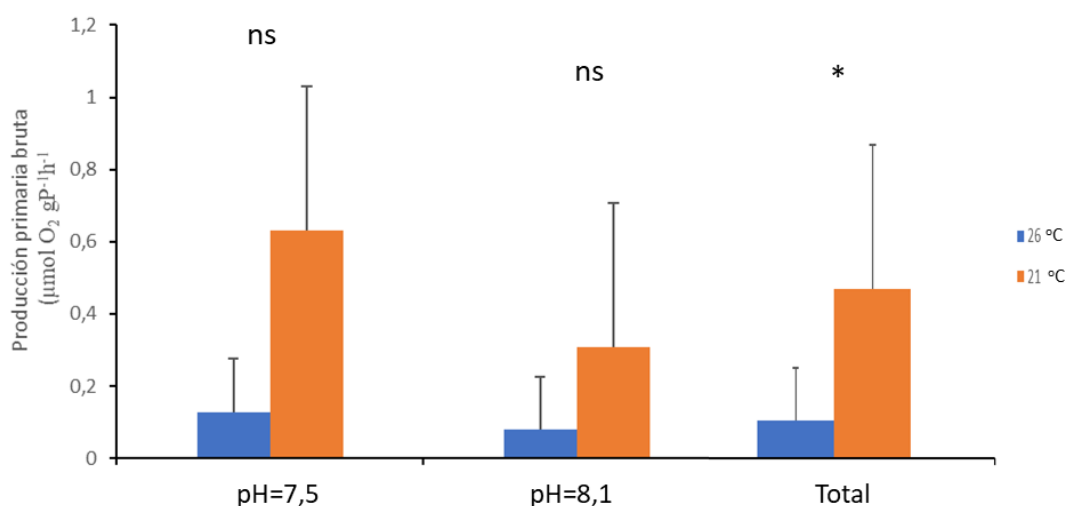


Figura 14. Valores medios ( $\pm$  DE) de la producción primaria bruta, registrada en los ejemplares de *Cymodocea nodosa* en los diferentes tratamientos de pH y temperatura. Se incluyen los valores medios registrados entre los tratamientos de temperatura control (21°C) y temperatura alta (26°C) para la totalidad de condiciones de pH. Valores significativos: \* ( $p < 0,05$ ); valores no significativos :ns ( $p > 0,05$ )

### 3.2.3. Clorofila-a

Los resultados del análisis de la variable *clorofila-a* no mostraron diferencias significativas relacionadas con ninguno de los tratamientos estudiados (Tabla 4). Los valores medios de *clorofila-a* registrados en los diferentes tratamientos fueron: en pH bajo y temperatura alta ( $0,50 \pm 0,23$ ), en temperatura alta-pH control ( $0,52 \pm 0,14$ ), en temperatura control-pH bajo ( $0,70 \pm 0,14$ ) y en temperatura control y pH control ( $1 \pm 0,27$ ). Las concentraciones más altas se dieron en el tratamiento de pH control y temperatura control y en temperatura control y pH bajo. Sin embargo, las menores concentraciones de pigmento se registraron en aquellas plantas que habían estado sometidas al tratamiento de temperatura alta y pH bajo y temperatura alta y pH control (Figura 15).

<i>Clorofila-a</i>					
Factor	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
pH	1	7,005E-2	7,01E-2	0,57316	0,4765
T	1	0,3079	0,309	2,4947	0,1581
pHxT	1	5,215E-2	5,21E-2	0,42681	0,5386
Res	7	0,85521	0,127		
Total	10	1,3352			

Tabla 5. Resultados del ANOVA de 2 vías, ejecutado por permutaciones, del contenido en *clorofila-a* de *Cymodocea nodosa*, en los diferentes tratamientos de temperatura y pH.



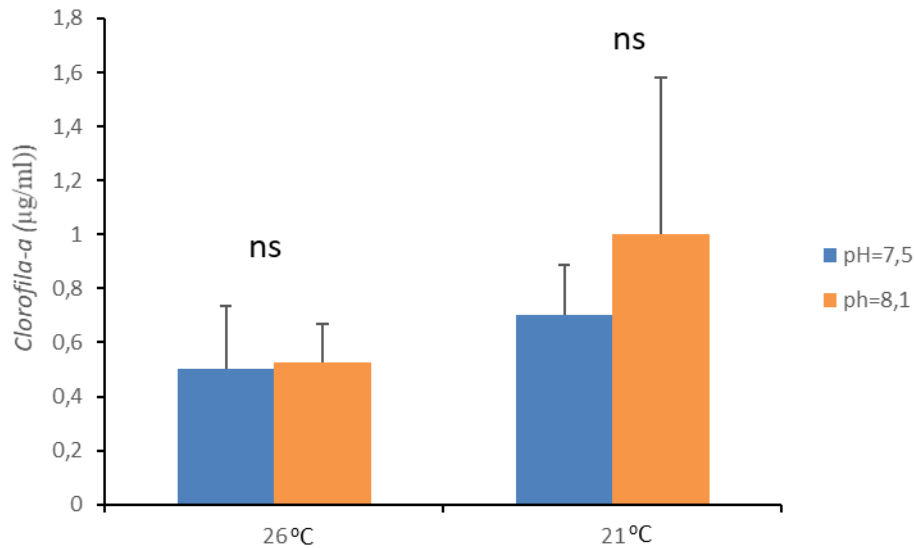


Figura 15. Valores medios ( $\pm$  DE) del contenido en *clorofila-a* ( $\mu\text{g/ml}$ ) de los ejemplares de *Cymodocea nodosa* en los diferentes tratamientos de pH y temperatura. Valores significativos: \* ( $p < 0,05$ ); valores no significativos :ns ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.4. Herbivoría

Se observaron diferencias significativas en el consumo de *Cymodocea nodosa* por el erizo *Paracentrotus lividus* entre los tratamientos de pH, detectándose diferencias significativas entre los tratamientos de pH 8,1 vs 7,5 ( $F = 12,394$ ;  $p = 0,0023$ ; ver tabla 6). Se registró un mayor consumo sobre aquellas plantas que estuvieron cultivadas en condiciones de pH bajo, registrándose un consumo por *P. lividus* de  $0,253 \pm 0,017\text{g}$  en el tratamiento de pH bajo frente a los  $0,099 \pm 0,109\text{g}$  consumidos en el tratamiento control (Figura 16). No se observó efecto de la talla del erizo en las tasas de consumo.

Tabla 6. Resultados del ANCOVA de 2 vías, ejecutado por permutaciones, del consumo en gramos por el erizo *Paracentrotus lividus* durante el experimento de herbivoría, en los diferentes tratamientos de temperatura y pH. La talla del erizo (Ta), medida como el diámetro horizontal del caparazón, se seleccionó como covariable: Valores significativos: \* ( $p < 0,05$ ).

<b>Herbivoría</b>					
Factor	gl	SS	MS	Pseudo-F	p(perm)
Ta	1	1,5091E-2	1,5091E-2	0,79126	0,3865
pH	1	0,23638	0,23638	12,394	0,0023*
T	1	1,5059E-2	1,5059E-2	0,78955	0,3799
pHxT	1	3,8352E-3	3,8352E-3	0,20109	0,6561
Res	15	0,28609	1,9072E-2		
Total	19	0,55645			

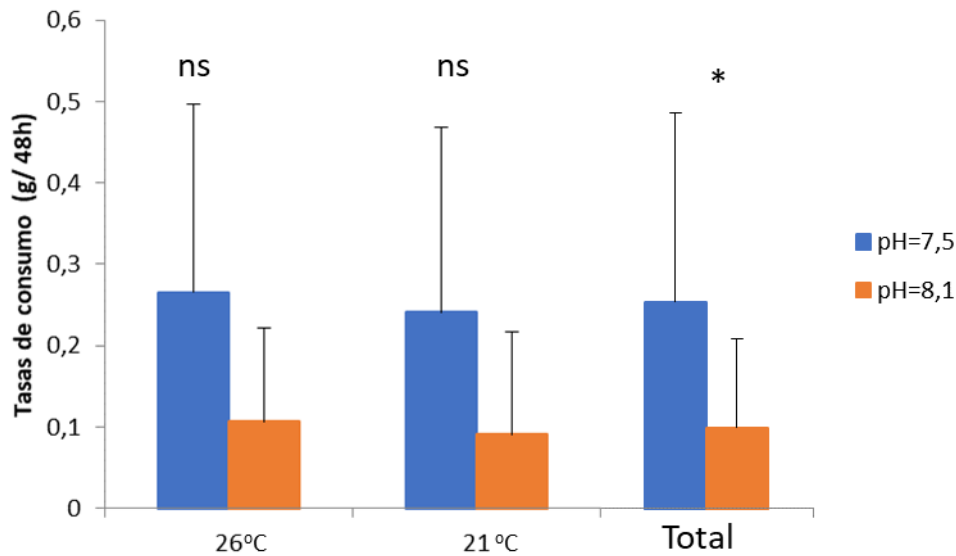


Figura 16. Valores medios ( $\pm$  DE) de las tasas de consumo (g) de los ejemplares de *Paracentrotus lividus* sobre *Cymodocea nodosa* en los distintos tratamientos de temperatura y pH. Se incluyen los valores medios registrados entre los tratamientos de pH bajo I (7,5) y pH control (8,1) para la totalidad de condiciones de temperatura. Valores significativos: \* ( $p < 0,05$ )

## DISCUSIÓN

Este estudio destaca los diferentes efectos que presentaron la temperatura y el pH sobre *Cymodocea nodosa*. El pH bajo provocó un mayor crecimiento (basado  $\Delta$  peso) en *C. nodosa*, así como un aumento de la producción primaria neta (PPN), independientemente de la temperatura. Sin embargo, la temperatura tuvo un papel muy relevante en la producción primaria bruta (PPB), ya que aquellas plantas sometidas a altas temperaturas, equivalentes a las presentes en un posible escenario de cambio climático, mostraron una menor PPB. Además, las plantas que fueron cultivadas bajo un pH bajo, también fueron las que estuvieron sometidas a una mayor presión por parte del erizo *Paracentrotus lividus*. Estos resultados muestran que, al menos la especie *Cymodocea nodosa* presente en esta zona de Tenerife, sería una de las especies perjudicadas en un ambiente de cambio climático. Estos resultados van en la línea con los obtenidos por Collier et al., (2018), en el que sometieron a condiciones de cambio climático de  $pCO_2$  (401, 1014 y 1949  $\mu atm$ ) y temperatura (21, 25, 23 y 35°C) a 3 especies de fanerógamas (*C. serrulata*; *Halodule uninervis* y *Zostera muelleri*) durante 7 semanas, en el que concluyeron que las altas temperaturas de un ambiente de cambio climático contrarrestarán las pequeñas mejorías en crecimiento y producción primaria neta causadas por la acidificación oceánica. Esto contrasta con las creencias anteriores incluidas en trabajos como Egea et al., (2018) en el que se sugiere que la especie *Cymodocea nodosa* sería una especie ganadora en un ambiente de cambio climático y De los Santos et al., (2017), donde se muestran resultados de mejoría en el crecimiento de *Cymodocea nodosa* bajo condiciones de cambio climático en un experimento de corto plazo. Similares resultados se han obtenido en otros estudios con otras fanerógamas (Palacios y Zimmerman, 2007; Ow et al., 2015; Borun et al., 2016).

El crecimiento, como incremento en peso, como se mencionó anteriormente, estuvo marcado solo por el pH, observándose un aumento significativo en aquellos individuos sometidos a pH bajo. Estos resultados coinciden con diversos estudios en los que también se vio favorecido el crecimiento de *C. nodosa* bajo pH bajos (De los Santos et al., 2017; Egea et al., 2018) o de otras fanerógamas marinas (Palacios y Zimmerman, 2007; Ow et al., 2015; Borun et al., 2016). Sin embargo, otros trabajos han puesto de manifiesto el efecto de la temperatura en el crecimiento, como el de Traboni et al., (2018) en el que se trabajó con otra especie de fanerógama (*Posidonia oceanica*) que fue expuesta a altos niveles de temperatura, en el que se mostraron que bajo niveles de temperatura altos (mucho mayores que los nuestros) se observó un menor crecimiento en las hojas de esta especie. En nuestro estudio la temperatura no jugó ningún papel sobre el crecimiento de la planta, incremento en peso o en las diferentes variables morfométricas registradas. Sin embargo, el pH tampoco influyó en las variables morfométricas, coincidiendo con los resultados obtenidos en Tomas et al., (2015) en el caso de *Cymodocea nodosa*, donde tampoco registraron diferencias en el alargamiento del rizoma o elongación de las hojas. Similares resultados se han observado en especies próximas como puede ser *Posidonia oceanica* (Hernán et al 2017).

Los efectos de la acidificación de los océanos sobre el crecimiento de las fanerógamas marinas se han estudiado para muchas especies en escalas a corto y largo plazo. A corto plazo, al igual que en nuestro estudio, Tomas et al., (2015) no encontraron ningún efecto en el crecimiento de las hojas o elongación del rizoma en *C. nodosa*, coincidiendo con los resultados obtenidos por Ow et al., (2015) con *C. serrulata*. o en períodos experimentales más largos (ver Alexandre et al., 2012; Campbell y Fourqurean, 2013). En nuestro caso la falta de efecto en esos rasgos podría explicarse por la corta duración del experimento, aunque también puede ser atribuido a la dificultad de la toma de medidas morfométricas, pues aunque otros estudios realizaron similares metodologías para evaluar el crecimiento en otras especies de fanerógamas muy similares a *C. nodosa*, como es el caso de Hernán et al.,(2017) con *P. oceánica*, la metodología empleada en el registro de las variables morfométricas no parece ser la más adecuada, existiendo metodologías alternativas que no fueron usadas, que podrían haber dado datos más precisos acerca del crecimiento, como es la descrita por Zieman (1974),empleada en diversos estudios (ver Hernán et al., 2017; Traboni et al., 2018) para la estimación del crecimiento en la hoja, basándose en la perforación y anclaje de un alfiler en una de las hojas, a la altura de la lígula.

Respecto a la actividad metabólica, son varios los trabajos que han abarcado el efecto de la acidificación o el calentamiento sobre la actividad metabólica en fanerógamas marinas (Marsh et al., 1986; Terrados y Ros ,1995; Hernán et al., 2017; Hernán et al 2017) pero son pocos los que han abordado ambos factores para conocer su interacción (Egea et al., 2018; Moreno-Marin et al., 2018). En el presente estudio se observó una mayor producción de oxígeno en la producción primaria neta en las plantas sometidas a los tratamientos de pH bajo, coincidiendo con los resultados de otros trabajos realizados con la misma especie (De los Santos et al., 2017). En nuestro estudio la producción bruta se

vio condicionada por la temperatura, existiendo un limitante en aquellos tratamientos donde la temperatura fue de 26°C, al contrario que los resultados obtenidos por Egea et al., (2018) donde los valores máximos de producción primaria neta (PPN) y de producción primaria bruta en *C. nodosa* fueron registrados en los tratamientos en los que las plantas estuvieron cultivadas bajo 26°C. Las diferentes respuestas obtenidas en la misma especie pueden deberse principalmente a que *C. nodosa* del mediterráneo mantiene su rango de producción entre los 10-32°C (Drew, 1978; Pérez y Romero, 1992) donde la temperatura alta favorece la acción enzimática de la fotosíntesis (Pérez y Romero, 1992; Terrados y Ros, 1995). Por el contrario, en nuestro caso, la *Cymodocea nodosa* presente en las islas no tenga el mismo rango térmico óptimo de producción siendo una temperatura de 26°C limitante para la producción primaria bruta, a pesar que la producción primaria neta se vea favorecida con la disminución del pH. Otros trabajos como los realizados por Guilini et al., (2017), en los que se trabajó con *Posidonia oceánica*, muestran que bajo condiciones de acidificación oceánica (7,6; 6,6) esta fanerógama alcanza unos niveles mayores de fotosíntesis. Las tasas fotosintéticas netas de *T. testudinum*, *Z. marina*, *Halodule wrightii* y *Syringodium filiforme* también respondieron positivamente a las disminuciones a corto plazo del pH (Campbell y Fourqurean, 2013; Thom, 1996; Zimmerman et al., 1997). Por lo tanto, las respuestas fotosintéticas al CO<sub>2</sub> parecen ser específicas de la especie y también es posible que en los experimentos de laboratorio a corto plazo no se consigan mostrar los efectos potenciales de la exposición y adaptación a largo plazo. En Collier et al., (2018) en el que se trabajó con otras tres especies diferentes de fanerógamas (*Cymodocea serrulata*, *Halodule uninervis* y *Zostera muelleride*) los resultados muestran que, bajo condiciones de cambio climático, la acidificación aumenta la producción primaria neta, mientras que la temperatura alta la disminuye. Los resultados obtenidos en este trabajo nos muestran que las plantas sometidas a los tratamientos de temperatura alta tienen una producción primaria bruta menor que las que están a temperatura control, no coincidiendo con Egea et al., (2018) donde la producción primaria bruta se vio favorecida por la temperatura alta, explicándose nuevamente por las diferentes respuestas que da *C. nodosa* en Canarias y en el Mediterráneo. Este estudio nos indica que, en Canarias, bajo condiciones de cambio climático a largo plazo, la alta temperatura sería el factor que más dañaría a las plantas contrarrestando así las pequeñas mejorías causadas por la acidificación. Estos resultados, una vez más ponen en evidencia las diferentes respuestas de las especies ante condiciones de cambio climático según las especies, la tolerancia térmica que tengan, el rango de distribución, el entorno en el que se encuentren y la variabilidad genética que presenten (Tuya et al., 2018; Alberto et al., 2008).

A pesar de obtener diferencias en la actividad metabólica en los diferentes tratamientos de pH y temperatura esto no se vio reflejado en el contenido de *clorofila-a*, pues a pesar que a bajo pH la actividad fotosintética incrementó, no se detectó ningún incremento en la concentración de *clorofila-a* de forma significativa, pero sí se observó una tendencia, donde la mayor concentración de *clorofila-a* se observaron en la temperatura control independiente del pH. Estos resultados coinciden con otros obtenidos por Hernán et al (2017) en el que sometió a *Posidonia oceanica* a diferentes tratamientos de temperatura

(25, 27 y 29°C) o también con los obtenidos para *C. nodosa* por Jiménez-Ramos et al., (2017), donde tampoco encontraron diferencias significativas en el contenido en *clorofila-a* tras someterá a diferentes tratamientos de pH, temperatura y nutrientes durante 1 mes de experimentación. Lo razonable en estos casos sería pensar que, si la producción primaria neta de las plantas sometidas a cambio climático fue mayor, debería ser porque tienen más cantidad de clorofila a, ya sea porque ha habido un crecimiento y las plantas tienen una mayor superficie o porque tienen una mayor cantidad de *clorofila-a* en sí; Sin embargo esto no sucedió en ninguno de los trabajos mencionados, ni en nuestro experimento, pudiendo deberse a que las plantas bajo los tratamientos de temperaturas elevadas aumentan sus demandas metabólicas, provocándose un estrés en ellas que puede causar la necrosis de los tejidos (Hernán et al., 2017). Otros estudios realizados con otras especies de fanerógamas muestran respuestas similares, como las observadas en *Thalassia. hemprichii*, donde la disminución del pH condujo a una mejora significativa del rendimiento fotosintético, aunque sin aumento concurrente en contenido de *clorofila-a* (Jiang et al., 2010). En trabajos realizados en el medio natural sí que se ha detectado un aumento de la *clorofila-a* acorde al incremento en las tasas fotosintéticas bajo el enriquecimiento de CO<sub>2</sub> (ver Apostolaki et al., 2014 para *C. nodosa*), permitiendo a las plantas invertir en rutas bioquímicas para la fijación de C y electrones. Todo ello apunta a que el tiempo de experimentación podría ser un factor limitante, necesitando quizás un mayor tiempo de exposición para poder apreciar estos cambios.,.

La vulnerabilidad de las plantas cultivadas a un pH bajo a ser consumidas por el erizo *P. lividus* también se vio reflejada en Jiménez-Ramos et al., (2017) y Tomas et al., (2015) donde se observó un consumo mayor por parte de los herbívoros en las plantas sometidas a pH ácido ( $7.87 \pm 0.01$ ). Otros trabajos como Hernán et al., (2017) donde se trabajó con *Posidonia oceánica* solo con tratamientos con temperatura alta, también muestran un mayor consumo por parte de los herbívoros, seguramente debido a un contenido menor de la fibra de la hoja. Este mayor consumo por parte de los erizos en los experimentos de acidificación oceánica, podría ser debido a que estas plantas tengan un menor valor energético, por lo que tendrían que consumir más para saciarse o, por otro lado, que estructuralmente sean más débiles y más fáciles de consumir. Todo parece indicar que el contenido nutricional es indispensable para la interpretación de estos datos, así como la química y el contenido en fibra, tal y como sugieren diversos estudios (Hernán et al., 2017; Jiménez-Ramos et al., 2017, De los Santos et al., 2012, 2017).

Las distintas especies de fanerógamas actúan de forma diferente ante los cambios, pudiendo existir, incluso, diferentes respuestas dentro de una misma especie dependiendo de las regiones en las que se encuentre (Tuya et al., 2018). Las diferencias genéticas son también importantes, dando lugar a diferentes mecanismos de resistencia y adaptación a los cambios, como es el caso de *Cymodocea nodosa* en el Mediterráneo y el Atlántico, mostrando como un rango alto de variabilidad genética da lugar a diferentes respuestas al cambio. Este es el caso de las praderas de *C. nodosa* del Mediterráneo, que debido a la mayor variabilidad genética que presentan son más resistente a las altas temperaturas (Alberto et al., 2008). Como los resultados de este

estudio lo reflejan, *C. nodosa* de la región de Canarias parece tener una menor resistencia a las altas temperaturas coincidiendo con la baja variabilidad genética que presentan las praderas de *C. nodosa* de la región de canarias (Alberto et al., 2008).

La realización de este tipo de estudios es muy necesaria para predecir y comprender los escenarios futuros a los que se enfrentará el planeta, las praderas de fanerógamas marinas en particular. De este modo, se pretende encontrar soluciones a las desoladoras previsiones que auguran una pérdida de hasta un 75% de las praderas de *Posidonia oceanica* para el año 2050 debido al cambio climático, siendo catalogada como prácticamente extinta en el año 2100 (Chefaoui et al., 2018).

En estudios futuros, sería interesante poder alargar estos mismos tratamientos para ver la respuesta prolongada en el tiempo, a largo plazo. También sería útil un ensayo donde se recolectarían plantas de distintas zonas de la isla, así como de diferentes islas, para estudiar las posibles diferencias en las respuestas frente a condiciones de cambio climático. Por otro lado, un estudio incluyendo otros factores, además del pH y la temperatura, también sería interesante. Por último, y para poder completar y aportar más información acerca del ensayo de herbivoría, sería importante realizar un estudio de la composición estructural de carbono y nitrógeno, así como de la química y del contenido en fibra, para poder determinar la importancia de la celulosa y la susceptibilidad al consumo por parte de otros herbívoros.

## CONCLUSIONES

1. El efecto de la acidificación oceánica jugó un papel importante en el crecimiento, estimado como incremento en peso, de los individuos de *Cymodocea nodosa*, que se vio favorecido bajo un pH de 7,5 unidades. Las demás variables morfométricas no mostraron diferencias significativas, seguramente por la inexactitud en las medidas o por la limitación del tiempo de experimentación.
2. La producción primaria neta se vio favorecida en condiciones de pH bajo, observándose unas concentraciones de O<sub>2</sub> mayores, coincidiendo con el incremento en peso registrado también a pH bajo.
3. La respiración no varió entre los tratamientos estudiados a pesar de lo sensible que es a la temperatura, tal y como lo demuestran otros estudios.
4. La producción primaria bruta se vio limitada por el incremento de temperatura, de 26°C, donde se observó que las plantas de *Cymodocea nodosa* tienen una caída en la producción primaria bruta.
5. La *clorofila-a* no mostró diferencias entre ninguno de los tratamientos de este estudio, pudiendo necesitarse más tiempo de experimentación para observar cambios en los pigmentos fotosintéticos.
6. Se registró un mayor consumo por parte de *Paracentrotus lividus* de aquellas plantas que habían estado sometidas a pH bajo.

7. Los individuos de *C. nodosa* pertenecientes a la pradera de Abades, en Tenerife, tenderían a mostrar un retroceso frente a condiciones de cambio climático, debido a que, aunque tuvieran un mayor crecimiento, la producción primaria bruta se vería reducida; además, también aumentaría el consumo por herbívoros como el erizo *Paracentrotus lividus*.
8. Se sugieren futuras investigaciones donde el tiempo de estudio sea mayor, se estudien individuos de otras zonas o se introduzcan otras variables (eutrofización, luz) que puedan estar actuando sinérgicamente junto a las variables estudiadas (temperatura y pH). Por otro lado, no se descarta el estudio de la composición estructural de carbono y nitrógeno, el contenido en fibra y la composición química para determinar la susceptibilidad al consumo por parte de los herbívoros.

### **Agradecimientos:**

Este estudio se ha desarrollado dentro del proyecto MIMAR MAC / 4.6.d / 066 (INTERREG MAC 2014-2020). Gracias a Sonia Fernández, Cristina Villanova, Beatriz Vinha, Martí Vilanova, Dida Cristina Almeida y Teresa Añón y Sergio Moreno por su apoyo en el montaje del experimento de laboratorio y a la Dra. Marta Sansón y al Dr. Carlos Sangil por los consejos recibidos para el cultivo de *C. nodosa*.

### **Bibliografía:**

Alberto, F., Massa, S., Manent, P., Diaz-Almela, E., Arnaud-Haond, S., Duarte, C., Serrao, E., 2008 Genetic differentiation and secondary contact zone in the seagrass *Cymodocea nodosa* across the Mediterranean–Atlantic transition region

Alberto, F., Arnaud-Haond, S., Duarte, C.M., Serrão, E.A., 2006. Genetic diversity of a clonal angiosperm near its range limit: the case of *Cymodocea nodosa* at the Canary Islands. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 309, 117e129.

Alexandre A, Silva J, Buapet P, Björk M, Santos R (2012) Effects of CO<sub>2</sub> enrichment on photosynthesis, growth, and nitrogen metabolism of the seagrass *Zostera noltii*. *Ecol Evol* 2: 2625–263

Anderson, M. J. 2005. PERMANOVA: a FORTRAN computer program for permutational multivariate analysis of variance Permutational multivariate analysis of variance, a computer program. Department of Statistics, University of Auckland. 24 pp. Auckland, Nueva Zelanda.

Anderson, M. J. y Robinson, J. 2003. Generalised discriminant analysis based on distances. *Australian and New Zealand Journal of Statistics*, 45 (3): 301-318.

Apostolaki, E., Vizzini, S., Hendriks, I., Olsen, Y. 2014. Seagrass ecosystem response to long-term high CO<sub>2</sub> in a Mediterranean volcanic vent.

Barnett, T. P., Pierce, D. W., Achutarao, K. M., Gleckler, P. J., Santer, B. D., Gregory, J. M., y Washington, W. M. 2005. Penetration of Human-Induced Warming into the World's Oceans. *Science*, 284(July), 284–287. <https://doi.org/10.1126/science.1112418>

Borum, J., Duarte, C., Krause-Jensen, D., y Greve, T. 2004 European seagrasses: an introduction to monitoring and management.

Borum J, Pedersen O, Kotula L, Fraser MW, Statton J, Colmer TD, Kendrick GA. 2016. Photosynthetic response to globally increasing CO<sub>2</sub> of co-occurring temperate seagrass species. *Plant, Cell & Environment* 39: 1240–1250.

Byrne, M. 2011. Impact of ocean warming and ocean acidification on marine invertebrate life history stages: vulnerabilities and potential for persistence in a changing ocean. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 49, 1–42. <https://doi.org/10.1016/j.marevres.2011.10.00>

Caldeira, K., y Wickett, M. E. 2003. Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature*, 425(6956), 365. <https://doi.org/10.1038/425365a>

Callendar, G. S. 1938. the Artificial Production of Carbon Dioxide. *Quarterly Journal of the Royal Meteorological Society*, 64(1909), 223–240. <https://doi.org/10.1002/qj.49706427503>.

Campbell JE, Fourqurean JW (2013) Effects of in situ CO<sub>2</sub> enrichment on the structural and chemical characteristics of the seagrass *Thalassia testudinum*. *Mar Biol* 160: 1465–147

Chefaoui, R., Duarte, C., Serrão, E. 2018 Dramatic loss of seagrass habitat under projected climate change in the Mediterranean Sea

Cheng, L., Trenberth, K. E., Fasullo, J., Boyer, T., Abraham, J., y Zhu, J. 2017. Improved estimates of ocean heat content from 1960 to 2015. *Science Advances*, 3(3), 1–11.

Collins, M., R. Knutti, J. Arblaster, J.-L. Dufresne, T. Fichet, P. Friedlingstein, X. Gao, W.J. Gutowski, T. Johns, G. Krinner, M. Shongwe, C. Tebaldi, A.J. Weaver and M. Wehner, 2013: Long-term Climate Change: Projections, Commitments and Irreversibility. In: *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA

Collier, C., Xiang, Y., Langlons, L., Charlotte, J. 2018 Losing a winner: thermal stress and local pressures outweigh the positive effects of ocean acidification for tropical seagrasses

Cunha, A.H., Araújo, A., 2009. New distribution limits of seagrass beds in West Africa. *J. Biogeogr.* 36, 1621e1622.

De los Santos, C., Brun, F., Onoda, Y., Cambridge, M., Bouma, T., Vergara, J., Pérez-Lloréns, J., 2012 Leaf-fracture properties correlated with nutritional traits in nine Australian seagrass species: implications for susceptibility to herbivory



- De los Santos, C., Jasmin, A. Solan, M. 2017 Short-term growth and biomechanical responses of the temperate seagrass *Cymodocea nodosa* to CO<sub>2</sub> enrichment.
- Denninson, W. C. 1995. Chlorophyll content. Seagrass research methods. Edited by Ronald C. Phillips and C. Peter McRoy 83-86. Fontenoy Paris
- Doney, S. C., Ruckelshaus, M., Emmett Duffy, J., Barry, J. P., Chan, F., English, C. A., ... Talley, L. D. 2012. Climate Change Impacts on Marine Ecosystems. *Annual Review of Marine Science*, 4(1), 11–37. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-041911-111611>
- De los Santos, C., Godbold, J., Solan, M., 2017 Short-term growth and biomechanical responses of the temperate seagrass *Cymodocea nodosa* to CO<sub>2</sub> enrichment
- Egea, L. G., Jiménez-Ramos, R., Vergara, J.J., Hernández, I., Brun, F. J. 2018 Interactive effect of temperature, acidification and ammonium enrichment on the seagrass *Cymodocea nodosa*
- Feely, R. A., Sabine, C. L., Lee, K., Berelson, W., Kleypas, J., Fabry, V. J. y Millero, F. J. 2004. Impact of anthropogenic CO<sub>2</sub> on the CaCO<sub>3</sub> system in the oceans. *Science*. 305:362-366.
- Gacia & Duarte 2001. Sediment Retention by a Mediterranean *Posidonia oceanica* Meadow: The Balance between Deposition and Resuspension. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 52: 505–514.
- Guilini, K., Beer, D., Weber, M., Schneider, M., 2017 Response of *Posidonia oceanica* seagrass and its epibiont communities to ocean acidification
- Harley, C. D. G., Hughes, A. R., Hultgren, K. M., Miner, B. G., Sorte, C. J. B., Thornber, C. S., ... Williams, S. L. 2006. The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters*, 9(2), 228–241. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00871.x>
- Held, I. M., y Soden, B. J. 2006. Robust responses of the hydrological cycle to global warming. *Journal of Climate*, 19(21), 5686–5699. <https://doi.org/10.1175/JCLI3990.1>
- Hernán G., Ramajo L., Basso L., Delgado A., Terrados J., Duarte CM., Tomas F. 2016. Seagrass (*Posidonia oceánica*) seedlings in a high-Co<sub>2</sub> world: from physiology to herbivory. *Scientific Reports*, DOI: 10.1038/srep38017
- Hernán, G., Ortega, M., Gándara, A., Castejón, I., Terrados, J., y Tomas, F. 2017. Future warmer seas: increased stress and susceptibility to grazing in seedlings of a marine habitat-forming species
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A. J., Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C. D., Sale, P. F., Edwards, A. J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C. M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R. H., Dubi, A. y Hatziolos, M. E. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*. 318:1737-1742
- Hoegh-Guldberg, O. y Bruno, J. F. 2010. The impact of climate change on the world's marine ecosystems. *Science*. 328:1523-1528.

J. Coast. Res. 16, 329e335. Barberá, C., Tuya, F., Boyra, A., Sánchez-Jerez, P., Blanch, I., Haroun, R., 2005. Spatial variation in the structural parameters of *Cymodocea nodosa* seagrass meadows in the Canary Islands: a multiscaled approach. *Bot. Mar.* 48, 122e126.

Jewett, L., y Romanou, A. 2017. Ocean Acidification and Other Ocean Changes. *Climate Science Special Report: Fourth National Climate Assessment, Volume I, I(10)*, 364–392. <https://doi.org/10.7930/J0QV3JQB>

Jiang, Z.J., Huang, X.P., Zhang, J.P., 2010. Effects of CO<sub>2</sub> enrichment on photosynthesis, growth, and biochemical composition of seagrass *Thalassia hemprichii* (Ehrenb.) Aschers. *J. Integr. Plant Biol.* 52, 904e913.

Jiménez-Ramos, R., Egea, L., Ortega, M., Hernandez, I., Vergara, J. J., Brun, F. G., 2017 Global and local disturbances interact to modify seagrass palatability

Kuo & McComb. 1989. Seagrass taxonomy, structure and development. In Larkum et al. *Biology of Seagrasses*. pp. 6-73. Elsevier.

Legrand, E., Riera, P., Lutier, M., Coudret, J., Grall, J. y Martin, S. 2017. Species interactions can shift the response of a maerl bed community to ocean acidification and warming.

Manabe, S., y Wetherald, R. T. 1967. Thermal Equilibrium of the Atmosphere with a Given Distribution of Relative Humidity. *Journal of the Atmospheric Sciences*. [https://doi.org/10.1175/1520-0469\(1967\)024<0241:TEOTAW>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1175/1520-0469(1967)024<0241:TEOTAW>2.0.CO;2)

Marsh, J. A., Dennison, W. C., Alberte, R. S., & Alberte, S. (1986). Effects of temperature on photosynthesis and respiration in eelgrass (*Zostera marina* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 101, 257–267. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(86\)90267-4](https://doi.org/10.1016/0022-0981(86)90267-4)

Mascaró, O., Oliva, O., Pérez, M., Romero, J., 2009. Spatial variability in ecological attributes of the seagrass *Cymodocea nodosa*. *Botán. Marina* 52, 429e438.

Millero, F. J., Pierrot, D., Lee, K., Wanninkhof, R., Feely, R., Sabine, C. L., ... Takahashi, T. 2002. Dissociation constants for carbonic acid determined from field measurements. *Deep-Sea Research*, 49, 1705–1723.

Moreno-Marin, F., Brun, F.G., Pedersen, M.F., 2018. Additive response to multiple environmental stressors in the seagrass *Zostera marina* L. *Limnol. Oceanogr.* <http://dx.doi.org/10.1002/lno.10789>.

O. Monterroso, M. Rodríguez, O. Pérez, E. Ramos O. Álvarez, L. Cruces, M. Ruiz, A. Miguel y M. González. Memoria final del estudio “Cartografía de *Cymodocea nodosa* en Tenerife y La Gomera”. Viceconsejería de Medio Ambiente del Gobierno de Canarias. Dirección General de Protección de la Naturaleza. Diciembre 2018. Cima -Informe Técnico 2018-30: 164 pp

Palacios SL, Zimmerman RC. 2007. Response of eelgrass *Zostera marina* to CO<sub>2</sub> enrichment: possible impacts of climate change and potential for remediation of coastal habitats. *Marine Ecology Progress Series* 344: 1–13.

- Parmesan, C. 2006. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37(1), 637–669. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110100>
- Parmesan, C. y Yohe, G. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*. 421:37-42.
- Pavón-Salas, N., Herrera, R., Hernández-Guerra, A., Haroun, R., 2000. Distributional pattern of seagrasses in the Canary Islands (Central-East Atlantic Ocean).
- Pelejero, C., Calvo, E. y Hoegh-Guldberg, O. 2010. Paleo-perspectives on ocean acidification. *Trends in Ecology & Evolution*. 25:332-344.
- Petit, J. R., Jouzel, J., Raynaud, D., Barkov, N. I., Barnola, J. M., Basile, I., Bender, M., Chappellaz, J., Davis, M., Delaygue, G., Delmotte, M., Kotlyakov, V. M., Legrand, M., Lipenkov, V. Y., Lorius, C., Pépin, L., Ritz, C., Saltzman, E. y Stievenard, M. 1999. Climate and atmospheric history of the past 420,000 years from the Vostok ice core, Antarctica. *Nature*. 399:429-436.
- Rayner, N. A. 2003. Global analyses of sea surface temperature, sea ice, and night marine air temperature since the late nineteenth century. *Journal of Geophysical Research*, 108(D14), 4407. <https://doi.org/10.1029/2002JD002670>
- Reyes, J., Sansón, M., Afonso-Carrillo, J., 1995a. Distribution and reproductive phenology of the seagrass *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson in the Canary Islands. *Aquat. Bot.* 50, 171e180.
- Reyes, J., Sansón, M., Afonso-Carrillo, J., 1995b. Leaf phenology, growth and production of the seagrass *Cymodocea nodosa* at El Médano (South of Tenerife, Canary Islands). *Bot. Mar.* 38, 457e465.
- Reynaud, S., Leclercq, N., Romaine-Lioud, S., Ferrier-Pagés, C., Jaubert, J. y Gattuso, J.-P. 2003. Interacting effects of CO<sub>2</sub> partial pressure and temperature on photosynthesis and calcification in a scleractinian coral. *Global Change Biology*. 9:1660-1668.
- Roa, R., 1992. Design and analysis and multiple-choice feeding-preference experiments. *Oecologia* 89, 509–515.
- Roemmich, D., John Gould, W., y Gilson, J. 2012. 135 years of global ocean warming between the Challenger expedition and the Argo Programme. *Nature Climate Change*, 2, 425. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1038/nclimate1461>
- Orth R.J., Carruthers T.J.B., Dennison W.C., et al. 2006. A global crisis for seagrass ecosystems. *Biosciences* 56: 987-996.
- Ow YX, Collier CJ, Uthicke S (2015) Responses of three tropical seagrass species to CO<sub>2</sub> enrichment. *Mar Biol* 162: 1005–101
- Terrados, J., & Ros, J. D. (1995). Temperature effects on photosynthesis and depth distribution of the seagrass *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson in a Mediterranean coastal lagoon: The Mar Menor (SE Spain). *Marine Ecology*, 6(43), 133–144. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.1995.tb00400.x>

- Traboni, C., Ruocco, M., Mammola, S., Ontoria, Y. 2018 Investigating cellular stress response to heat stress in the seagrass *Posidonia oceanica* in a global change scenario.
- Tomas, F., Martinez-Creco, B., Hernán, G., y Santos, R. 2015 Responses of seagrass to anthropogenic and natural disturbances do not equally translate to its consumers
- Thom, R.M., 1996. CO<sub>2</sub>-enrichment effects on eelgrass (*Zostera marina* L.) and bull kelp (*Nereocystis luetkeana* (Mert.) P & R). *Water Air Soil Pollut.* 88, 383e391.
- Tuya, F., Herrera, R., Ruiz, M. y Moro, L. 2015 Praderas de angiospermas marinas de las Islas Canarias.
- Tuya, F., Espino, F., Terrados, J., 2013. Preservation of seagrass clonal integration buffers against burial stress. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 439, 42e46.
- Tuya, F., Ribeiro-Leite, L., Arto-Cuesta, N., Coca, J., Haroun R., Espino, F. 2014. Decadal changes in the structure of *Cymodocea nodosa* seagrass meadows: Natural vs. human influences
- Tuya, F., Espino, F., Fernandez-Torrequemada, Y. y Manent, P. 2018. Biogeographical scenarios modulate seagrass resistance to small-scale perturbations
- Waycott M., Duarte C.M., Carruthers T.J.B., et al. 2009. Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 12377-12381.
- Zieman, J. (1974). Methods for the study of the growth and production of Turtlegrass, *Thalassia Testudinum* Konig. *Aquaculture*, 4, 139–143.  
<https://doi.org/www.sciencedirect.com/science/article/pii/0044848674900295>
- Zimmerman, R.C.A., Kohrs, D.G.A., Steller, D.L.B., Alberte, R.S.A., 1997. Impacts of CO<sub>2</sub> enrichment on productivity and light requirements of eelgrass. *Plant Physiol.* 115, 599e607.