

Photosynthetic activity estimated as *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence in calcareous red macroalgae

Actividad fotosintética estimada mediante fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* en macroalgas calcáreas rojas

Félix L Figueroa^{1*}, Maibe Hermoso-Beltrán¹, Paula SM Celis-Plá^{1,2}, José Bonomi-Baruffi³, Félix Álvarez-Gómez¹, Nathalie Korbee¹, Jorge López-Calderón⁴, Tania Cota-Lucero⁴, Rafael Riosmena-Rodríguez^{4†}

¹ Departamento de Ecología y Geología, Facultad de Ciencias, Campus de Excelencia Internacional Andalucía Tech, Universidad de Málaga, 29071 Málaga, España.

² Centro de Estudios Avanzados, Universidad de Playa Ancha, Calle Traslaviña 450, Viña del Mar, Provincia de Valparaíso, Chile.

³ Departamento de Botânica, Universidade Federal de Santa Catarina, 88040-970 Trindade, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.

⁴ Programa de Investigación en Botánica Marina, Departamento de Biología Marina, Universidad Autónoma de Baja California Sur, Km 5.5 carretera al sur, Col. El Mezquitito, 23080 La Paz, Baja California Sur, México.

* Corresponding author. E-mail: felix_lopez@uma.es

† *In memoriam* of Dr. Rafael Riosmena-Rodríguez

ABSTRACT. Photosynthetic activity was estimated, in 2 different sets of experiments, as *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence in 2 calcareous red macroalgae: *Neogoniolithon brassica-florida*, which forms vermetid reefs with *Dendropoma petraeum*, and the rhodolith-forming *Lithophyllum margaritae*. In the first set of experiments, vermetid reefs collected from the Cabo de Gata-Níjar Natural Park (Almería, Spain) were incubated for 6 months in outdoor mesocosms at 2 different temperatures: ambient temperature (T) and ambient temperature plus 2 °C (T+). Daily variations in effective quantum yields were related to the increase in solar radiation. Electron transport rate (ETR) was higher at T+ than at T. Oxygen production, estimated from ETR, was higher in *N. brassica-florida* growing in vermetid reefs in the coastal area than in those incubated in mesocosms or under laboratory conditions. In the second set of experiments, *L. margaritae* specimens with or without attached epifauna (mainly sponges) were collected at 2 sites (Pedregoso and CFE) on the Baja California Peninsula, Mexico, and at 2 depths (1 and 2 m). ETR values for rhodoliths collected at 1 m depth and with attached epifauna were higher than those for rhodoliths collected at 2 m depth, indicating the importance of greater incident radiation on photosynthetic activity. Photosynthetic activity was higher in *L. margaritae* collected from Pedregoso, the site with better water quality (high transparency and low pollution) and rocky substrate availability. In the CFE samples, the photosynthetic efficiency (α_{ETR}) was highest in rhodoliths with attached epifauna. The highest ETR values for *N. brassica-florida* at T+ and the highest α_{ETR} or ETR values for *L. margaritae* with attached sponges may be explained by the increase in CO₂ available for photosynthesis due to the respiration of the associated fauna. The usefulness of *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence for estimating photosynthetic production in calcareous macroalgae under multifactorial experiments is discussed.

Key words: *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence, red calcareous macroalgae, rhodoliths, temperature, vermetids.

RESUMEN. La actividad fotosintética fue estimada, en 2 series experimentales, mediante la fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* en 2 algas rojas calcáreas: *Neogoniolithon brassica-florida*, que forma arrecifes de verméticos con *Dendropoma petraeum*, y *Lithophyllum margaritae* (rodolitos). En la primera serie, verméticos recolectados en el Parque Natural Cabo de Gata-Níjar (Almería, España) fueron incubados en mesocosmos a diferentes temperaturas: temperatura ambiental (T) y temperatura ambiental más 2 °C (T+). Las variaciones diurnas en el rendimiento cuántico efectivo estuvieron relacionadas con el incremento de irradiancia solar. La tasa de transporte de electrones (ETR) fue más alta en el tratamiento T+ que en T. La producción de oxígeno, estimada a partir de la ETR, fue mayor en *N. brassica-florida* del medio natural que en verméticos incubados en mesocosmos o en el laboratorio. En la segunda serie experimental, *L. margaritae* con o sin epifauna (dominada por esponjas) fue recolectada en 2 sitios (Pedregoso y CFE) de la península de Baja California, México, a 2 profundidades (1 y 2 m). La ETR de rodolitos recolectados a 1 m de profundidad con epifauna asociada fue más alta que la de aquellos recolectados a 2 m de profundidad, indicando la importancia del incremento de la irradiancia sobre la producción fotosintética. La actividad fotosintética fue mayor en *L. margaritae* de Pedregoso, el lugar con mejor calidad de agua (alta transparencia y baja contaminación) y con disponibilidad de sustrato rocoso. En CFE, la eficiencia fotosintética (α_{ETR}) fue más alta en los rodolitos con epifauna. Los valores más altos de ETR para *N. brassica-florida* a T+ y de α_{ETR} o ETR para *L. margaritae* con esponjas fijadas podrían ser explicados por el incremento de CO₂ disponible para la fotosíntesis procedente de la respiración de la fauna asociada. En este trabajo se discute la utilidad de la fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* para estimar la fotosíntesis en macroalgas calcáreas en experimentos multifactoriales.

Palabras clave: fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a*, algas rojas calcáreas, rodolitos, temperatura, verméticos.

INTRODUCTION

Among macroalgae, the Rhodophyta constitute the group with the highest diversity in the sea. Calcareous red algae represent a high proportion of species within the Rhodophyta (Lüning 1990). According to Kelaher (2002), calcifying algae contribute significantly to the strength of the intertidal community structure because they provide refuge for many organisms, protecting them against wave action. Coralline algae are an ubiquitous algal group and they are dominant in coral reef communities (Littler 1973, Glynn 1996). However, the abundance of coralline algae in cryptic and shaded environments has been extensively underestimated (Littler 1973). Calcareous algae can grow in deep waters (200 m depth) at the limit of the photic zone ($0.0015 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and in surface waters exposed to high levels of photosynthetically active radiation (PAR) and ultraviolet (UV) radiation (Littler et al. 1991, Payri et al. 2001). The primary production of crustose coralline macroalgae is considered high due to their great abundance, although the contribution of organic carbon production rate is low (Larkum and Wood 1993). According to Chisholm et al. (1990), the organic productivity has been possibly underestimated since most studies on photosynthetic activity have been conducted using artificial light sources.

With the objective of increasing the knowledge of the performance of calcareous red macroalgae, photosynthetic activities were estimated by using *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence of photosystem II on samples obtained from 2 different geographical communities of calcareous red macroalgae: (1) *Neogoniolithon brassica-florida* (Harvey) Setchell & LR Mason 1943, forming the vermetid reefs with *Dendropoma petraeum* (Prosobranchia, Mollusca) off Almería, Spanish Mediterranean coast, and (2) rhodoliths formed by *Lithophyllum margaritae* (Hariot) Heydrich 1901, collected from 2 sites in the southern part of the Baja California Peninsula, Mexico. Our aim is to understand the responses of calcareous red macroalgae to changes in the environmental variables by carrying out experiments on the effects of solar radiation and/or temperature variations on the photosynthetic productivity, and, in addition, to evaluate the effect of animals associated or attached to the algae.

Vermetid reefs are formed by sessile marine gastropods and calcareous red macroalgae. The gregarious vermetid gastropod *D. petraeum* forms dense aggregations cemented by the encrusting red alga *N. brassica-florida* along the lower mid-littoral area in the warmest areas of the Mediterranean Sea, on the southeastern coast of Spain. They form compact and resistant crusts in moderately exposed zones of oligotrophic waters with low rates of sedimentation (Calvo et al. 1998). Despite their importance as biogenic constructors, modulators of morphological coastal processes, indicators of sea level changes, and ecological habitat promoters of biodiversity (Calvo et al. 1998), very few studies on these marine communities have been done (Keen and Morton 1960). In the case of vermetids, most studies have focused on the

INTRODUCCIÓN

Entre las macroalgas, las rodófitas constituyen el grupo con la mayor diversidad en el mar. Las algas rojas calcáreas representan una alta proporción de especies dentro de este filo (Lüning 1990). De acuerdo con Kelaher (2002), las algas calcáreas contribuyen al mantenimiento de la estructura de las comunidades intermareales, ya que proporcionan refugio para muchos organismos, protegiéndolos contra la acción de las olas. Las algas coralinas son un grupo de algas ubicuas y son dominantes en las comunidades de arrecifes de coral (Littler 1973, Glynn 1996). Sin embargo, la abundancia de las algas coralinas en ambientes crípticos y sombreados ha sido ampliamente subestimada (Littler 1973). Las algas calcáreas pueden crecer tanto en aguas profundas (200 m de profundidad) en el límite de la zona fótica ($0.0015 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) como en aguas superficiales expuestas a altos niveles de radiación fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en inglés) y radiación ultravioleta (UV) (Littler et al. 1991, Payri et al. 2001). La producción primaria de las macroalgas coralinas incrustantes se considera alta debido a su gran abundancia, aunque la contribución a las tasas de producción de carbono orgánico es baja (Larkum y Wood 1993). Según Chisholm et al. (1990), la productividad orgánica posiblemente ha sido subestimada, ya que la mayoría de los estudios sobre la actividad fotosintética se han llevado a cabo con fuentes de luz artificial.

Con el objetivo de aumentar el conocimiento sobre el estado funcional de las macroalgas rojas calcáreas, se estimó la actividad fotosintética a través del uso de la fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* asociada al fotosistema II en muestras de macroalgas rojas calcáreas obtenidas de 2 comunidades en diferentes localidades geográficas: (1) *Neogoniolithon brassica-florida* (Harvey) Setchell y LR 1943 Mason, obtenida de arrecifes de verméticos formados por *Dendropoma petraeum* (Prosobranchia, Mollusca) en Almería, en la costa mediterránea española, y (2) *Lithophyllum margaritae* (Hariot) Heydrich 1901, obtenida de rodolitos recolectados en 2 sitios de bahía Magdalena, Baja California Sur, México. Es de gran interés conocer las respuestas de las macroalgas rojas calcáreas a los cambios de las variables ambientales mediante experimentos sobre los efectos de la radiación solar y/o las variaciones de la temperatura sobre la productividad fotosintética, además de evaluar el efecto de animales asociados o fijados a las algas.

Los arrecifes de verméticos están formados por gasterópodos marinos sésiles y macroalgas rojas calcáreas. El gasterópodo vermético *D. petraeum* forma densas agregaciones cementadas por el alga roja *N. brassica-florida* a lo largo de la zona intermareal media en las zonas más cálidas del mar Mediterráneo, al sudeste de España. Ambas especies forman costras compactas y resistentes en zonas de aguas oligotróficas moderadamente expuestas y con bajas tasas de sedimentación (Calvo et al. 1998). A pesar de su importancia como constructores biogénicos, moduladores de los procesos

gastropods (Milazzo et al. 2014) or on the entire community and have not examined the algae or relationship between both organisms. In this context, it is important to know the factors affecting the associated algae to understand how the changes in the environment could affect the expected equilibrium in the reef. Here, we present the effect of increasing temperature on the photosynthetic activity of *N. brassica-florida* associated with *D. petraeum* collected from the Cabo de Gata-Níjar Natural Park (Almería, Spain) (Fig. 1a).

On the other hand, rhodoliths are non-geniculate free-living coralline algae that form extensive beds in some seabeds. They constitute important biogenic carbonate ecosystems (Foster 2001) and refuge for many organisms (Amado-Filho et al. 2007, Foster et al. 2007). In addition, they are also feed for invertebrate species and support species of commercial importance in many coastal areas (Kamenos et al. 2003, Steller et al. 2003). However, physiological knowledge of this algal community is scarce. At geological level, coralline algae play an important role in maintaining beach stability because they constitute a major source of carbonate sediment (Russell and Johnson 2000). In the Gulf of California, rhodoliths form extensive beds and can resist extremely variable physical conditions such as high temperature ranges, i.e., 8 to 32 °C (Foster et al. 1997, Riosmena-Rodríguez et al. 1999). *Lithophyllum margaritae* is the most abundant non-geniculate, rhodolith-forming coralline species in this region.

In this study, the hypothesis is that the photosynthetic activity of calcareous algae will increase under the conditions favoring the respiration rate of the animals associated with the macroalgae (i.e., increased temperature in the case of *D. petraeum* [vermetids] in the first set of experiments and the presence of attached epifauna [dominated by sponges] in rhodoliths in the case of the second set of experiments), since the CO₂ available for photosynthesis will increase. Other variables like irradiance and nutrient availability were also considered.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

Specimens of *N. brassica-florida* associated with vermetid reefs (*D. petraeum*) were collected from Cabo de Gata-Níjar Natural Park (Almería, Spain: 36°48'N, 2°03'W) (Fig. 1a) and transported in temperature-controlled tanks to the mesocosm system at Malaga University's Unit for Microbiology, Ecophysiology and Genetics of Aquatic Organisms (UMEGOA). Twelve vermetid reef units of 10 × 10 cm² in size were collected.

On the other hand, *L. margaritae* samples were collected from 2 sites at Banderitas Estuary, a coastal lagoon located within Magdalena Bay on the Pacific side of the Baja California Peninsula (Mexico): (1) Pedregoso (24°54'12"N; 112°05'24"W) and (2) CFE (24°48'45"N; 112°05'59"W)

costeros morfológicos, indicadores de los cambios del nivel del mar y promotores de hábitats ecológicos de la biodiversidad (Calvo et al. 1998), se han realizado muy pocos estudios sobre los arrecifes de vermetidos (Keen y Morton 1960). La mayoría de los estudios se han centrado en los gasterópodos (Milazzo et al. 2014) o en toda la comunidad, pero no se han encontrado estudios sobre las algas ni sobre las relaciones entre ambos organismos. En este contexto, es importante conocer los factores que afectan a las algas asociadas para entender cómo los cambios en el medio ambiente podrían afectar al esperado equilibrio en el arrecife. En este estudio, presentamos el efecto del aumento de la temperatura sobre la actividad fotosintética de *N. brassica-florida* asociada con *D. petraeum* recolectada en el Parque Natural Cabo de Gata-Níjar (Almería, España) (Fig. 1a).

Por otro lado, los rodolitos son algas coralinas no geniculadas de vida libre que forman extensas praderas en algunos fondos marinos. Constituyen importantes ecosistemas biogénicos carbonatados (Foster 2001) y son refugio para muchos organismos (Amado-Filho et al. 2007, Foster et al. 2007). Además sirven de alimento para especies de invertebrados y sostienen especies de importancia comercial en muchas áreas costeras (Kamenos et al. 2003, Steller et al. 2003). Sin embargo, el conocimiento fisiológico de esta comunidad de algas es escaso. A nivel geológico, las algas coralinas son muy importantes para mantener la estabilidad de las playas, ya que constituyen una de las principales fuentes de sedimentos de carbonato (Russell y Johnson 2000). En el golfo de California, los rodolitos forman extensas praderas y resisten condiciones físicas extremadamente variables como, por ejemplo, los altos cambios de temperatura de 8 a 32 °C (Foster et al. 1997, Riosmena-Rodríguez et al. 1999). *Lithophyllum margaritae* es la especie formadora de rodolitos más abundante entre las especies coralinas no geniculadas de la región.

En este estudio, la hipótesis es que la actividad fotosintética de las algas calcáreas aumentará en las condiciones que favorezcan la tasa de respiración de los animales asociados a las macroalgas, lo que hará que el CO₂ disponible para la fotosíntesis se incremente (i.e., el aumento de temperatura en el caso de *D. petraeum* [vermetidos] en la primera serie experimental o la presencia de epifauna [dominada por esponjas] en los rodolitos en el caso de la segunda serie experimental). Otras variables como la irradiancia y la disponibilidad de nutrientes también fueron consideradas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

Especímenes de *N. brassica-florida* asociados a los arrecifes de vermetidos (*D. petraeum*) fueron recolectados en el Parque Natural Cabo de Gata-Níjar (Almería, España: 36°48'N, 2°03'W) (Fig. 1a) y fueron transportados, en tanques con temperatura controlada, a los mesocosmos de la

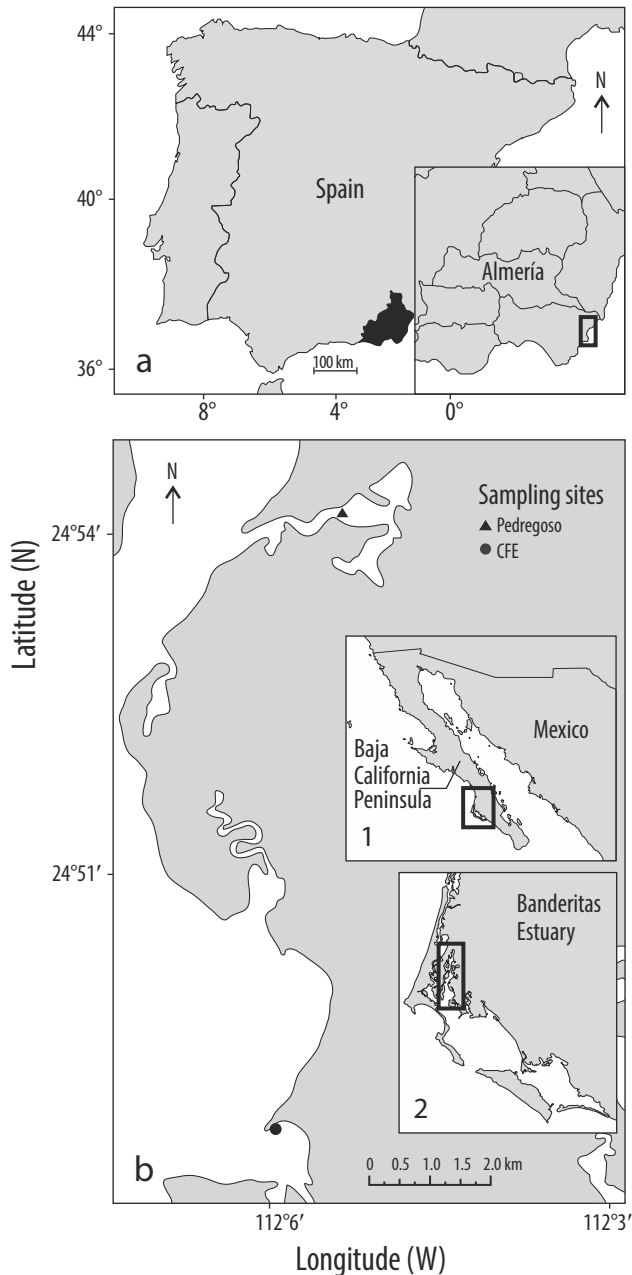


Figure 1. (a) Collection site of vermetids (*Dendropoma petraeum*) with the red macroalga *Neogoniolithon brassica-florida* in Cabo de Gata-Níjar Natural Park (southern Spain; 36°48'N, 2°03'W). **(b)** Collection sites (Pedregoso and CFE) of rhodoliths (*Lithophyllum margaritae*) in Banderitas Estuary within Magdalena Bay (Baja California Peninsula, Mexico): inset 1 shows the location of Magdalena Bay (black square) in northwestern Mexico and inset 2 shows the location of Banderitas Estuary (black square) within Magdalena Bay.

Figura 1. (a) Sitio de recolección de verméticos (*Dendropoma petraeum*) con macroalgas rojas *Neogoniolithon brassica-florida* en el Parque Natural Cabo de Gata-Níjar (sur de España; 36°48'N, 2°03'W). **(b)** Sitios de recolección de rodolitos (*Lithophyllum margaritae*) en el estuario Banderitas dentro de bahía Magdalena (Baja California Sur, México). Recuadro 1: ubicación de bahía Magdalena (cuadro negro) en el noroeste de México. Recuadro 2: ubicación del estuario Banderitas (cuadro negro) dentro de bahía Magdalena.

Unidad de Microbiología, Ecofisiología y Genética de Organismos Acuáticos (UMEGO) de la Universidad de Málaga. Se recolectaron 12 unidades de arrecifes de verméticos de 10 × 10 cm² de tamaño.

Por otro lado, se recolectaron muestras de *L. margaritae* en 2 sitios del estuario Banderitas, una laguna costera en bahía Magdalena situada en la vertiente del Pacífico de la península de Baja California, México: (1) Pedregoso (24°54'12"N, 112°05'24"W) y (2) CFE (24°48'45"N, 112°05'59"W) (Fig. 1b). En cada sitio, se muestrearon rodolitos a 2 profundidades (1 y 2 m) y se recolectó un total de 72 rodolitos, 36 cubiertos con epifauna (principalmente esponjas) y 36 sin epifauna epífita. Los experimentos de campo se llevaron a cabo en esta laguna costera.

Diseños experimentales y variables fisiológicas

Para las mediciones de fluorescencia, se utilizaron 2 fluorímetros diferentes: un equipo Water-PAM para las mediciones en mesocosmos al aire libre y para las mediciones *in situ* en la zona costera, y un equipo PAM-2000 para las mediciones de laboratorio. Ambos fluorímetros cuentan con luz roja como luz medida, pero la luz actínica es de color rojo en Water-PAM y suministrada por luz halógena en el caso del PAM-2000. Las características técnicas de estos fluorímetros pueden encontrarse en Figueroa et al. (2013).

Experimento 1

En el primer conjunto de experimentos realizados en España, el sistema de mesocosmos se compuso de 3 recipientes abiertos (0.094 m² de área de superficie, 14 L de volumen) por tratamiento, conectados en paralelo a un tanque diferente de 102 L de capacidad. El flujo de agua entre cada cuadro y su depósito de cabecera fue de 0.84 ± 0.05 L min⁻¹, lo que representa una tasa de renovación de 26 ± 1% h⁻¹ (según Stengel et al. 2014) con un sistema de regulación de la temperatura del agua (Titán, Aqua Medic, Bissendorf, Alemania). Las muestras fueron incubadas en depósitos individuales al aire libre durante un período de 6 meses (de febrero a agosto de 2013) bajo condiciones solares seminaturales (E_{PAR} [400–700 nm] reducida en un 37%; radiación UVA [320–400 nm] y UVB [280–320 nm] reducidas en un 41%) y a 2 temperaturas diferentes: temperatura ambiente (T) y temperatura ambiente incrementada 2 °C (T+) (Fig. 2a, b). Las variables fisicoquímicas (pH y temperatura) fueron controladas diariamente en cada tanque con un sistema de control de AT T 2001 HC (Aqua Medic). La radiación solar incidente se midió constantemente con un radiómetro multifiltro NILU-UV6 (Geminali AS, Noruega). En general, la irradiancia incidente *in situ* se midió con un radiómetro U12-UV Zippo Hobo y la irradiancia incidente puntual se midió utilizando un sensor PAR esférico LI-COR en un radiómetro (Walz GmbH, Effeltrich, Alemania) (Quintano et al. 2013).

(Fig. 1b). At each site, rhodoliths were sampled at 2 depths (1 and 2 m), and a total of 72 rhodoliths were collected, 36 covered with epifauna (mainly sponges) and 36 without attached epifauna. After collection, field studies were conducted at this coastal lagoon.

Experimental designs and physiological variables

In the present study, 2 sets of experiments were conducted to estimate both photosynthesis yield and production in calcareous red macroalgae. In the first, *N. brassica-florida* was incubated in a mesocosm system (Experiment 1) and in the second, rhodoliths were cultivated in tanks (Experiment 2).

For fluorescence measurements, 2 different fluorometers were used: a Water-PAM fluorometer for the measurements in the outdoor mesocosms and *in situ* in the coastal area, and a PAM-2000 fluorometer for laboratory measurements. Both fluorometers present red light as measured light, but the actinic light is red in Water-PAM and provided by a halogen lamp in PAM-2000. The technical characteristics of these fluorometers can be found in Figuroa et al. (2013).

Experiment 1

In the first set of experiments conducted in Spain, the mesocosm system consisted of 3 open vessels (0.094 m² surface area, 14 L volume) per treatment, connected in parallel to a separate tank of 102 L capacity. The water flow between each box and its header tank was 0.84 ± 0.05 L min⁻¹, representing a turnover rate of 26 ± 1% h⁻¹ (according to Stengel et al. 2014) with a system to regulate water temperature (Titan, Aqua Medic, Bissendorf, Germany). Samples were incubated in individual tanks during a 6-month period (February to August 2013) under outdoor semi-natural solar conditions (reduced by 37% of E_{PAR} [400–700 nm] and 41% of UVA [320–400 nm] and UVB [280–320 nm]) and at 2 different temperatures: ambient temperature (T) and ambient temperature plus 2 °C (T+) (Fig. 2a, b). Physicochemical variables (pH and temperature) were controlled daily in each tank with AT Control System (T2001HC, Aqua Medic). Solar incident radiation was measured constantly with a multifilter radiometer NILU-UV6 (Geminali AS, Norway). General *in situ* incident irradiance was measured with a Zipo Hobbo U12-UV radiometer and for punctual incident irradiance, a radiometer equipped with a LI-COR spherical PAR sensor (Walz GmbH, Effeltrich, Germany) was used (Quintano et al. 2013).

Photosynthetic activity was estimated using *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence, under 3 different conditions: in outdoor mesocosms, *in situ*, and in the laboratory.

Under outdoor conditions, daily cycles of photosynthetic responses were evaluated under natural solar radiation. The effective quantum yield ($\Delta F/F_m'$) was measured with a Water-PAM fluorometer approximately every 2 h on 6 days with different intensity of irradiance (19 and 25 April, 3 and

La actividad fotosintética estimada mediante el uso *in vivo* de fluorescencia de clorofila *a* se determinó para diferentes condiciones: en mesocosmos al aire libre, *in situ* y en el laboratorio.

En el caso de las condiciones en los mesocosmos al aire libre, los ciclos diarios de respuestas fotosintéticas fueron evaluados bajo radiación solar natural. El rendimiento cuántico efectivo ($\Delta F/F_m'$) se midió con un fluorímetro Water-PAM aproximadamente cada 2 h durante 6 días con diferente intensidad de radiación (19 y 25 de abril, 3 y 29 de mayo, 18 de julio y 3 de agosto de 2013). Este parámetro se calcula como

$$\Delta F/F_m' = (F_m' - F_t)/F_m' \quad (1)$$

donde F_t es la fluorescencia intrínseca de alga incubada en luz y F_m' es la fluorescencia máxima alcanzada después de un pulso de saturación cuando la algas se incuban en luz. La tasa de transporte electrónico (ETR, por sus siglas en inglés; $\mu\text{mol electrones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se calculó de acuerdo con Schreiber et al. (1995):

$$\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times E \times A \times F_{II} \quad (2)$$

donde E es la irradiancia incidente PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de fotones), A es la absorptancia del talo calculada como la fracción de la radiación incidente absorbida por las algas (ver Figuroa et al. 2003) y F_{II} es la fracción de clorofila *a* relacionada con el fotosistema II (400–700 nm), que es de 0.15 en macroalgas rojas (Figuroa et al. 2014a). Los valores calculados a partir de los datos de los ciclos diarios de ETR fueron designados ETR_{cd} y el valor máximo de ETR obtenido a partir de todos los datos de los ciclos diarios fue designado ETR_{máx(cd)}.

En la zona costera donde estaban creciendo los organismos (Cabo de Gata-Níjar), se realizaron mediciones *in situ* de $\Delta F/F_m'$ y ETR (ETR_{*in situ*}) con el fluorímetro Water-PAM.

En el laboratorio, mediante el uso de un fluorímetro PAM-2000, se realizaron curvas rápidas de luz (RLC, por sus siglas en inglés), es decir, el $\Delta F/F_m'$ frente a la irradiancia con una preincubación de la muestra durante 15 min en oscuridad. Cada réplica se sometió a un pulso de saturación con varios niveles progresivos de intensidades de luz durante 20 s en intervalos de 10 (55, 199, 258, 330, 488, 666, 891, 1260, 1830 y 2700 fotones $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). De las RLC, se obtuvo la máxima tasa de transporte electrónico (ETR_{máx}) a partir del ajuste de la función tangencial de acuerdo con Jassby y Platt (1976).

Los datos de ETR_{cd}, ETR_{*in situ*} y ETR_{máx} fueron convertidos en valores de producción de oxígeno con un factor de conversión de 0.1 (10 fotones necesarios para producir 1 mol de O₂), de acuerdo con Williams y Robertson (1991) y como se describe por Kromkamp et al. (2008) para microalgas.

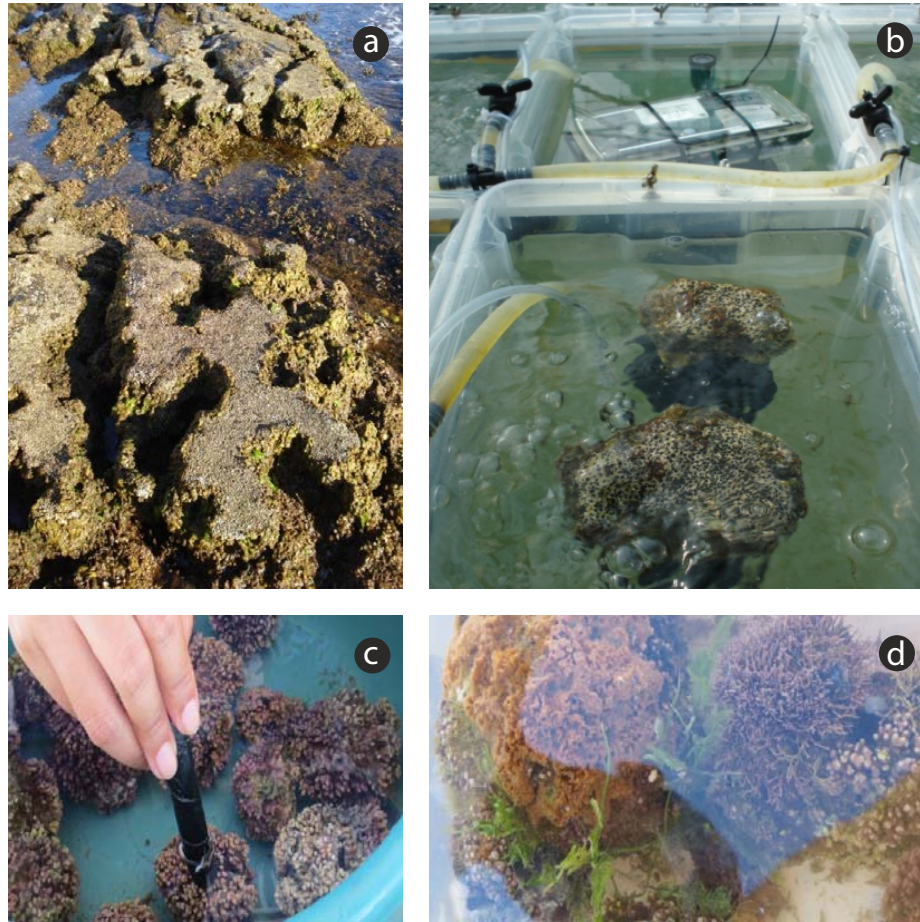


Figure 2. Photographs of vermetids at the harvesting site (Cabo de Gata-Níjar Natural Park, southern Spain) (a) and in the experimental containers (b), and of rhodoliths in the experimental containers without epifauna (c) and with attached animals, predominantly sponges (d).
Figura 2. Fotografías de verméticos en el sitio de recolección (Parque Natural Cabo de Gata-Níjar, sur de la Península Ibérica, España) (a) y en las cubetas experimentales (b), y de rodolitos en contenedores experimentales sin epifauna (c) y con los animales fijados, predominantemente esponjas (d).

29 May, 18 July, and 3 August 2013). This parameter was calculated as follows:

$$\Delta F/F_m' = (F_m' - F_t)/F_m' \quad (1)$$

where F_t is the intrinsic fluorescence of alga incubated in light and F_m' is the maximal fluorescence reached after a saturation pulse of algae incubated in light.

The electron transport rates (ETR, $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) were calculated according to Schreiber et al. (1995) as follows:

$$\text{ETR} = \Delta F/F_m' \times E \times A \times \text{PS}_{\text{II}} \quad (2)$$

where $\Delta F/F_m'$ is the effective quantum yield, E is the incident PAR irradiance ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), A is the thallus absorbance calculated as the fraction of incident irradiance that is absorbed by the algae (see Figueroa et al. 2003), and PS_{II} is the fraction of chlorophyll related to photosystem II

Experimento 2

En el experimento realizado en México, los rodolitos recolectados en Pedregoso y CFE (estuario Banderitas) se transportaron a una zona de sombra cerrada cerca de la orilla, y todos los talos fueron colocados en vasos de 4 L llenos de agua de mar (Fig. 3). Después de la aclimatación durante 6 h, los rodolitos fueron expuestos a 2 tratamientos: pleno sol y sombra (Figs. 2c, d; 3). Las RLC fueron evaluadas de acuerdo con Schreiber et al. (1995) utilizando un fluorímetro Water-PAM. La irradiancia solar se controló con 2 radiómetros U12-UV Zippo Hobo. Las muestras se colocaron en cámaras de 0.5 L y se incubaron durante 15 min en oscuridad para determinar el rendimiento cuántico máximo (F_v/F_m). Después de esto, las RLC se llevaron a cabo con 10 irradiaciones incrementales (7, 16, 23, 34, 51, 116, 166, 231, 315 y 564 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a intervalos de 20 s en cada irradiancia. Los valores de $\Delta F/F_m'$ y ETR se determinaron mediante el uso del fluorímetro Water-PAM de acuerdo con

(400–700 nm), which is 0.15 in red macroalgae (Figuroa et al. 2014a). The ETR data calculated from daily cycles were designated as ETR_{dc} and the the maximum ETR value obtained from all daily cycle data was designated as $ETR_{max(dc)}$.

In the coastal area where *N. brassica-florida* was growing (Cabo de Gata-Níjar), *in situ* measurements of $\Delta F/F_m'$ and ETR (designated as $ETR_{in situ}$) were taken using a Water-Pam fluorometer.

In the laboratory, using a PAM-2000 fluorometer, rapid light curves (RLCs), i.e., $\Delta F/F_m'$ versus irradiance, were obtained after preincubation of the sample for 15 min in the dark. Each replica was exposed to a saturation pulse with several progressive levels of light intensity for ten 20-s intervals (55, 199, 258, 330, 488, 666, 891, 1260, 1830, and 2700 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$). From the RLCs, maximum electron transport rate (ETR_{max}) was obtained from the tangential function reported by Jassby and Platt (1976).

ETR_{dc} , $ETR_{in situ}$, and ETR_{max} data were converted into oxygen production values with a conversion factor of 0.1 (10 photons are necessary to produce 1 mol O_2), according to Williams and Robertson (1991) and as described by Kromkamp et al. (2008) for microalgae.

Experiment 2

In the experiment conducted in Mexico, the rhodoliths collected at the Pedregoso and CFE sites (Banderitas Estuary) were transported to an area set up to provide shade. All thalli were placed in 4-L vessels filled with seawater (Fig. 3). After acclimation for 6 h, rhodoliths were exposed to 2 treatments, full sunlight and shade (Figs. 2c, d; 3), and RLCs were assessed according to Schreiber et al. (1995) using a Water-PAM fluorometer. Solar irradiance was monitored with 2 Zipo Hobbo U12-UV radiometers. Samples were placed in 0.5-L chambers and incubated for 15 min in darkness to determine maximum quantum yield (F_v/F_m). After that, RLCs were generated with 10 incremental irradiances (7, 16, 23, 34, 51, 116, 166, 231, 315, and 564 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) with 20-s intervals in each irradiance. The $\Delta F/F_m'$ and ETR values were determined using a Water-PAM fluorometer according to Figuroa et al. (2003). Both parameters were calculated as explained in experiment 1. From the RLCs, different ETR parameters, such as ETR_{max} , saturation irradiance ($E_{k_{ETR}}$), and the initial slope of ETR versus irradiance function (α_{ETR}) as estimator of photosynthetic efficiency, were obtained from the tangential function reported by Eilers and Peeters (1988).

Statistical analyses

Interactive effects between physiological variables were analyzed using ANOVA. In the case of *L. margaritae*, site, depth, and presence of animals were included as fixed factors

Figuroa et al. (2003), y se calcularon como se explica en el experimento 1. A partir de las RLC, los diferentes parámetros de ETR, tales como ETR_{max} , la irradiancia de saturación ($E_{k_{ETR}}$) y la pendiente inicial de ETR frente a la función de irradiancia (α_{ETR}) como estimador de eficiencia fotosintética, se obtuvieron a partir de ajustes de la función tangencial de acuerdo con Eilers y Peeters (1988).

Análisis estadístico

Los efectos interactivos entre las variables fisiológicas se evaluaron mediante el análisis de varianza (ANOVA). En el caso de *L. margaritae*, el sitio, la profundidad y la presencia de animales se incluyeron como factores fijos para las variables fotosintéticas, y en el caso de *N. brassica-florida* asociada a los arrecifes de verméticos, la temperatura y la ubicación se incluyeron como factores fijos para la tasa de producción de oxígeno. La homogeneidad de la varianza se probó mediante pruebas de Cochran y por inspección visual de los residuos. Se realizaron pruebas de Student–Newman–Keuls (SNK) después de encontrar interacciones significativas (ANOVA, Underwood 1997). Todos los datos se ajustaron a la homogeneidad de la varianza. Los análisis se llevaron a cabo con el programa SPSS v21 (IBM, EUA).

RESULTADOS

Experimento 1

La temperatura del agua durante el periodo experimental fue de aproximadamente 19.0 ± 2.3 °C en el tratamiento con T y 21.5 ± 2.3 °C en el tratamiento con T+.

Los valores del $\Delta F/F_m'$ obtenidos para *N. brassica-florida* como parte de los verméticos y *N. brassica-florida* incubada en mesocosmos al aire libre disminuyeron desde la mañana hasta el mediodía y aumentaron del mediodía a la tarde (Fig. 4a). La disminución fue mayor en los días con altas irradiancias diarias (Fig. 4b). La $ETR_{max(cd)}$ fue similar en el experimento con T+ (32.5 ± 0.65 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y el experimento con T (29.4 ± 0.62 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$). La producción de oxígeno estimada a partir de la ETR_{max} en condiciones de laboratorio fue de 29 a 53 $\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ en el experimento con T y de 24 a 55 $\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ en el experimento con T+ (Tabla 1). Sin embargo, la producción de oxígeno estimada a partir de los valores de $ETR_{max(cd)}$ en condiciones al aire libre fue mayor en el experimento con T+ que en el experimento con T (Tabla 1); la producción de oxígeno estimada para los mesocosmos bajo radiación solar (48 – 196 $\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) fue aproximadamente 2 veces mayor que la producción estimada a partir de las mediciones en el laboratorio bajo iluminación artificial (31 – 108 $\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$; lámpara halógena, fluorímetro PAM-2000) (Tabla 1). La producción de oxígeno estimada a partir de la $ETR_{in situ}$

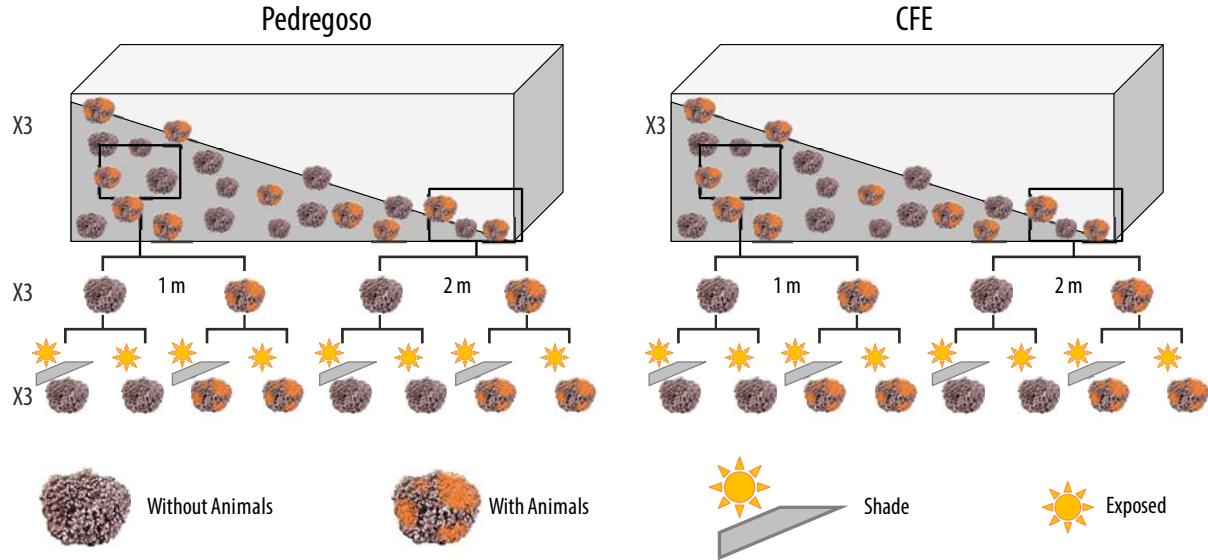


Figure 3. Diagram of collection sites, depths, and types of rhodoliths (with or without attached animals [epibionts]) in the experiments conducted (in triplicate) in Magdalena Bay (Baja California Peninsula, Mexico).

Figura 3. Diagrama de los sitios de recolección, profundidades y tipos de rodolitos (con o sin animales fijados [epibiontes]) en los experimentos llevados a cabo (por triplicado) en bahía Magdalena (península de Baja California, México).

for photosynthetic variables. In the case of *N. brassica-florida* associated with vermetid reefs, temperature and location were included as fixed factors for oxygen production rate. Homogeneity of variance was tested using Cochran's tests and by visual inspection of the residuals. Student–Newman–Keuls tests (SNK) were performed after significant ANOVA interactions (Underwood 1997). All data conformed to homogeneity of variance. Analyses were carried out using SPSS v21 (IBM, USA).

RESULTS

Experiment 1

Seawater temperature during the experimental period was about 19.0 ± 2.3 °C in the T treatment and 21.5 ± 2.3 °C in the T+ treatment.

The $\Delta F/F_m'$ values obtained for *N. brassica-florida* forming vermetid reefs and incubated in outdoor mesocosms decreased from the morning to noon and increased from noon to the afternoon (Fig. 4a). The decrease was greater on the days with high daily irradiances (Fig. 4b). $ETR_{max(dc)}$, determined from daily cycle data, was similar in the T+ (32.5 ± 0.65 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and the T (29.4 ± 0.62 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$) treatments. Oxygen production, estimated from laboratory ETR_{max} , ranged from 29 to 53 $\text{mmol O}_2 \text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$ in T and from 24 to 55 $\text{mmol O}_2 \text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$ in T+ (Table 1). However, oxygen production estimated from outdoor $ETR_{max(dc)}$ values was higher in T+ than that in T (Table 1). The oxygen production estimated under solar radiation in the mesocosms ($48\text{--}196$ $\text{mmol O}_2 \text{m}^{-2} \text{h}^{-1}$) was about 2 times higher than that

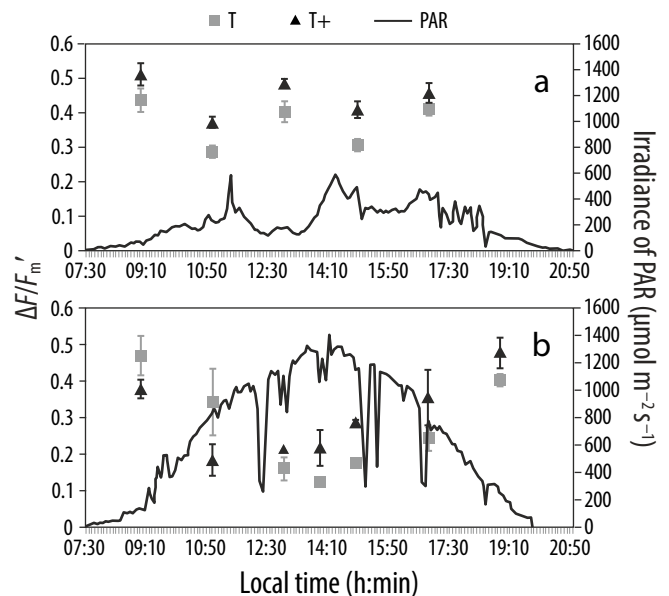


Figure 4. Effective quantum yield ($\Delta F/F_m'$, symbols) of *Neogoniolithon brassica-florida* in the experimental tanks throughout the day (h:min) on 3 May (a) and 29 May 2013 (b). Data for ambient temperature (gray squares, T) and ambient temperature plus 2 °C (black triangles, T+) are presented. Dashed lines represent photosynthetically active radiation (PAR) irradiance (400–700 nm; $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Figura 4. Rendimiento cuántico efectivo ($\Delta F/F_m'$, símbolos) de *Neogoniolithon brassica-florida* en los tanques experimentales a lo largo del día (h:min) durante el 3 de mayo (a) y 29 de mayo de 2013. Los datos se presentan según la temperatura ambiente (cuadros grises, T) y la temperatura ambiente más 2 °C (triángulos negros, T+). Las líneas discontinuas representan la irradiancia de la radiación fotosintéticamente activa (400–700 nm; $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Table 1. Oxygen production rate ($\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) estimated from the electron transport rate values for *Neogoniolithon brassica-florida* in vermetid reefs *in situ* in the coastal area (field, 0 m depth) and incubated in outdoor mesocosms and under laboratory conditions at 2 different temperatures: ambient temperature (T) and ambient temperature plus 2 °C (T+). The data are compared to data from another study (Chisholm 2003) on free-living *N. brassica-florida* at 3 and 6 m depth.

Tabla 1. Tasa de producción de oxígeno ($\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) estimada a partir de la tasa de transporte de electrones para *Neogoniolithon brassica-florida in situ* en la zona costera (campo, 0 m de profundidad) e incubada en mesocosmos al aire libre y en condiciones de laboratorio a 2 temperaturas diferentes: temperatura ambiente (T) y temperatura ambiente incrementada 2 °C (T+). Los datos se comparan con los datos de otro estudio (Chisholm 2003) para *N. brassica-florida* a 3 y 6 m de profundidad.

	Oxygen production ($\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$)			
	<i>N. brassica-florida</i> in vermetid reefs (this study)		Free <i>N. brassica-florida</i> (Chisholm 2003)	
	T	T+	3 m	6 m
Field	216–230	–	–	–
Laboratory conditions	29–53	24–55	13.6	12.8
Outdoor mesocosms	31–108	48–196	28.0	14.0

determined in the laboratory ($31\text{--}108 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) under artificial illumination (halogen lamp, PAM-2000 fluorometer) (Table 1). Finally, oxygen production estimated from $\text{ETR}_{in situ}$ (using the Water-PAM fluorometer) under ambient temperature was 4 times higher ($216\text{--}230 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) than that under laboratory conditions and about 2 times higher than that in the mesocosm (outdoor) trial (Table 1).

Experiment 2

The photosynthetic activities estimated as *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence of rhodoliths (*L. margaritae*) collected in Magdalena Bay (Mexico) are shown in Figures 5 and 6. ETR_{max} in rhodoliths with attached epifauna collected from 1 m depth was higher than in rhodoliths collected from 2 m, but no significant differences were observed between the 2 collection sites (Fig. 5a, Table 2). Pooled data show that ETR_{max} was higher in rhodoliths collected at 1 m depth in Pedregoso than at 1 m depth in CFE regardless of the presence or absence of animals attached to them (Fig. 5b, Table 2), whereas no significant differences were observed between sites for the rhodoliths collected at 2 m depth. This indicates spatial heterogeneity in productivity expressed as ETR of rhodoliths. As expected, productivity was significantly ($P < 0.05$) higher in Pedregoso, the site with better water quality and rocky substrate, than at CFE, an embayment that is closer to urban and industrial activities, and has a greater percentage of muddy sediments in comparison to Pedregoso (Fig. 1b). ETR_{max} was 2 times higher at Pedregoso than at CFE (Fig. 5b, Table 2), meaning that the Pedregoso rhodoliths have a higher photosynthetic capacity. In rhodoliths from Pedregoso (representing a pristine area) with animals attached to them, saturation irradiance (E_k) was much higher in algae collected at 1 m compared to 2 m depth

(utilizando el fluorímetro Water-PAM) a temperatura ambiente fue 4 veces mayor (216 a $230 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) que la producción en condiciones de laboratorio y aproximadamente 2 veces mayor que la producción en condiciones al aire libre (mesocosmos) (Tabla 1).

Experimento 2

La actividad fotosintética estimada a partir de la fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* para los rodolitos (*L. margaritae*) recolectados en bahía Magdalena (México) se muestra en las Figuras 5 y 6. La ETR_{max} para los rodolitos con epifauna adjunta recolectados a 1 m de profundidad fue mayor que la de los rodolitos recolectados a 2 m de profundidad, pero no se observaron diferencias significativas entre los 2 sitios de recolección (Fig. 5a, Tabla 2). La agrupación de datos muestra que la ETR_{max} fue mayor en los rodolitos recolectados a 1 m de profundidad en Pedregoso que a 1 m de profundidad en CFE, independientemente de la presencia o ausencia de animales fijados a los rodolitos (Fig. 5b, Tabla 2). No se observaron diferencias significativas entre los 2 sitios para los rodolitos recolectados a 2 m de profundidad. Esto indica la heterogeneidad espacial de la productividad expresada como ETR en rodolitos. Como era de esperar, la productividad fue significativamente ($P < 0.05$) mayor para Pedregoso, el sitio con mejor calidad del agua y con sustrato rocoso, que para CFE, una ensenada que está más próxima a vertidos urbanos e industriales y presenta un mayor porcentaje de sedimentos fangosos en comparación con Pedregoso (Fig. 1b). La ETR_{max} fue 2 veces mayor en Pedregoso que en CFE (Fig. 5b, Tabla 2), lo que significa que los rodolitos en Pedregoso tienen una capacidad fotosintética superior. En los rodolitos de Pedregoso (que representa un área pristina), la saturación de la irradiancia (E_k) fue mucho mayor en las

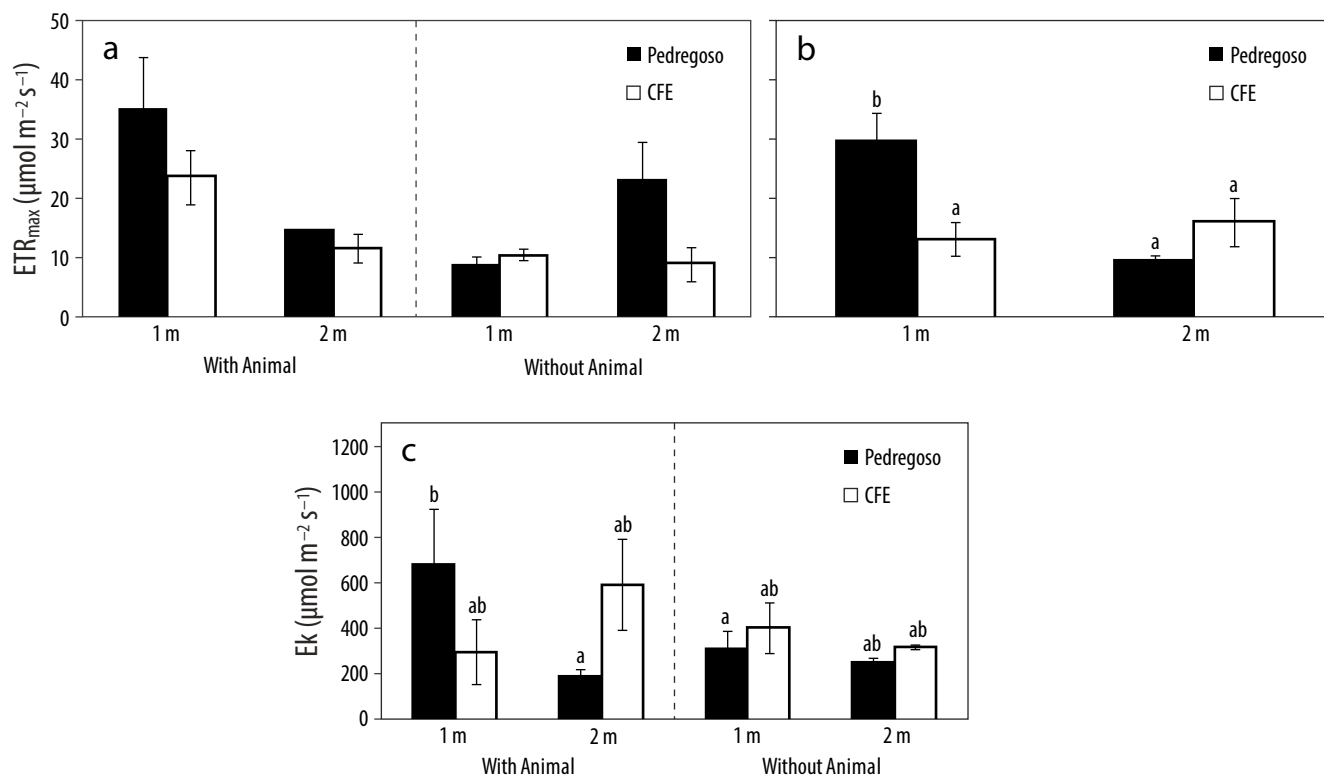


Figure 5. Maximum electron transport rate (ETR_{max} , $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (a), ETR_{max} pooled data (b), and saturation irradiance (E_k , $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (c) for rhodoliths (*Lithophyllum margaritae*) with or without epifauna attached collected at the Pedregoso (white bars) and CFE (black bars) sampling stations in Magdalena Bay at 2 different depths (1 and 2 m). Treatments with significant differences are shown with different letters ($P < 0.05$).

Figura 5. Tasa máxima de transporte de electrones (ETR_{max} , $\mu\text{mol electrons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (a), datos de ETR_{max} agrupados (b) e irradiancia de saturación (E_k , $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (c) para los rodolitos (*Lithophyllum margaritae*) recolectados en las estaciones de muestreo Pedregoso (barras blancas) y CFE (barras negras) en bahía Magdalena a diferentes profundidades (1 y 2 m), con o sin epifauna fijada. Los tratamientos que presentan diferencias significativas se muestran con letras diferentes ($P < 0.05$).

(Fig. 5c, Table 2). This confirms that rhodoliths growing at 1 m depth presented a full sunlight photosynthetic pattern compared to that of rhodoliths collected at 2 m depth (dimmed sunlight). However, no significant differences were observed in E_k in rhodoliths collected from both depths at CFE (Fig. 5c, Table 2). The presence of animals attached to rhodoliths did not show significant differences by site and depth. There were no significant differences in photosynthetic efficiency (α_{ETR}) by depth (Fig. 6a, Table 2), but α_{ETR} was higher in the CFE rhodoliths with animals attached to them than in those without epifauna (Fig. 6b, Table 2).

DISCUSSION

In the present study, ETR values in daily cycles of *N. brassica-florida*, considered as an estimator of algal productivity, were higher under temperature conditions increased by 2 °C (T+) compared to those obtained under ambient temperature conditions (T). The increase in photosynthetic activity could be explained by the increase in the

algas recolectadas a 1 m en comparación con aquellas recolectadas a 2 m de profundidad (Fig. 5c, Table 2). Esto confirma que los rodolitos que crecen a 1 m presentan un patrón de luz solar fotosintético completo en comparación con la de los rodolitos recolectados a 2 m de profundidad (luz solar atenuada). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en la E_k en rodolitos recolectados a ambas profundidades en CFE (Fig. 5c, Table 2). La presencia de animales fijados a los rodolitos no mostró diferencias significativas por sitio y profundidad. No se observaron diferencias significativas en la eficiencia fotosintética (α_{ETR}) entre profundidades (Fig. 6a, Table 2), pero α_{ETR} fue mayor en los rodolitos de CFE con epifauna fijada que en los rodolitos sin epifauna (Fig. 6b, Table 2).

DISCUSIÓN

En el presente estudio, los valores de ETR, considerada como indicador de la productividad algal, para *N. brassica-florida* durante ciclos diarios fueron más altos en el

available CO₂ due to the increase in respiration of the mollusc *D. petraeum* in the vermetid reefs exposed to the 2 °C increase in temperature.

On the other hand, α_{ETR} in *L. margaritae* from the CFE site was higher in rhodoliths with animals attached to them than in rhodoliths without epifauna. In the case of the CFE site, animals attached to rhodoliths can probably provide CO₂ through respiration for photosynthetic activity, as also reported by Mercado et al. (1998) for another red alga, *Gelidium sesquipedale*, with epifauna (bryozoans) attached to thalli. Mercado et al. (1998) showed that the presence of animals (*Electra pilosa*) attached to *G. sesquipedale* increased photosynthetic activity by about 40% compared to algae from which the bryozoan had been removed. Mercado et al. (1998) attributed this result to the higher amount of CO₂ available for the red algae. In the case of the rhodolith populations in Magdalena Bay, the attached epifauna mainly consisted of sponges (Ávila and Riosmena-Rodríguez 2011). Ávila et al. (2012) found 13 species of sponges living associated with these non-geniculate macroalgal beds, forming a complex and diverse habitat. They found that sponges function as a connectivity tissue that contributes to bed stability.

The ETR and consequently oxygen production was higher in *N. brassica-florida* under *in situ* conditions in coastal waters compared to vermetids incubated both in the outdoor mesocosms or under laboratory conditions. Probably, both natural light and nutrient natural conditions favored photosynthetic production when compared to the results obtained with samples maintained in mesocosms or under laboratory conditions. Oxygen production in *N. brassica-florida* forming part of the vermetid reef was higher than that reported by Chisholm (2003) for free-living *N. brassica-florida* (Table 1). Most studies about calcareous algae have used artificial radiation (Burdet et al. 2012); however, in recent years an increased number of studies have combined both laboratory and *in situ* measurements (Irving et al. 2004, Burdett et al. 2012). According to Chisholm (2003), net photosynthesis was variable between different tropical coralline algae: the highest *in situ* values corresponded to species of the genus *Hydrolithon* (24–28 mmol O₂ m⁻² h⁻¹) and *N. brassica-florida* (28–14 mmol O₂ m⁻² h⁻¹), whereas the lowest values corresponded to *N. brassica-florida* (13.6–12.8 mmol O₂ m⁻² h⁻¹), *Neogoniolithum conicum* (10.5 mmol O₂ m⁻² h⁻¹), and *Hydrolithon* spp. (16.9–14.4 mmol O₂ m⁻² h⁻¹) under laboratory conditions. The oxygen production values obtained by Chisholm (2003) and in the present study are higher than those reported for calcareous algae in previous studies (Littler and Littler 1980, Littler et al. 1983).

The ETR in rhodoliths was affected by the collection site due to the different environmental characteristics of the sites, the depth, and the presence of animals attached to rhodoliths. The ETR_{max} values (photosynthetic capacity) were 2 times

Table 2. ANOVA results for the experiments using *Lithophyllum margaritae* collected in Magdalena Bay at 2 sites (S, Pedregoso and CFE), at 2 depths (D, 1 and 2 m), and with or without epifauna (E), with respect to photosynthesis parameters: maximal electron transport rate (ETR_{max}), ETR saturation irradiance (Ek_{ETR}), and photosynthetic efficiency (α_{ETR}). Significant differences at $P < 0.01$ and $P < 0.05$ are shown in bold.

Table 2. Resultados del análisis de varianza para los experimentos con *Lithophyllum margaritae* en bahía Magdalena recolectados en 2 sitios (S, Pedregoso y CFE), a 2 profundidades (D, 1 y 2 m) y con o sin epifauna (E), respecto a los parámetros de la fotosíntesis: tasa máxima de transporte de electrones (ETR_{max}), irradiancia de saturación del ETR (Ek_{ETR}) y eficiencia fotosintética (α_{ETR}). Las diferencias significativas con valores $P < 0.01$ y $P < 0.05$ se muestran en negrita.

<i>Lithophyllum margaritae</i>				
	df	MS	F	P
ETR_{max}				
S	1	193.37	2.05	0.16
D	1	592.99	6.29	0.02
E	1	371.26	3.94	0.06
S*D	1	1062.60	11.28	<0.01
S*E	1	28.93	0.31	0.58
D*E	1	2.55	0.03	0.87
S*D*E	1	303.88	3.23	0.09
Residual	24	94.22		
Ek_{ETR}				
S	1	13786.87	0.20	0.66
D	1	59653.37	0.86	0.36
E	1	113982.33	1.65	0.21
S*D	1	290326.52	4.21	0.05
S*E	1	9145.34	0.13	0.72
D*E	1	1448.09	0.02	0.89
S*D*E	1	338688.27	4.91	0.04
Residual	24	68987.59		
α_{ETR}				
S	1	0.00185	7.11	0.01
D	1	0.00341	13.10	<0.01
E	1	0.00081	3.10	0.09
S*D	1	0.00010	0.39	0.54
S*E	1	0.00281	10.81	<0.01
D*E	1	0.00105	4.03	0.06
S*D*E	1	0.00003	0.13	0.73
Residual	24	0.00026		

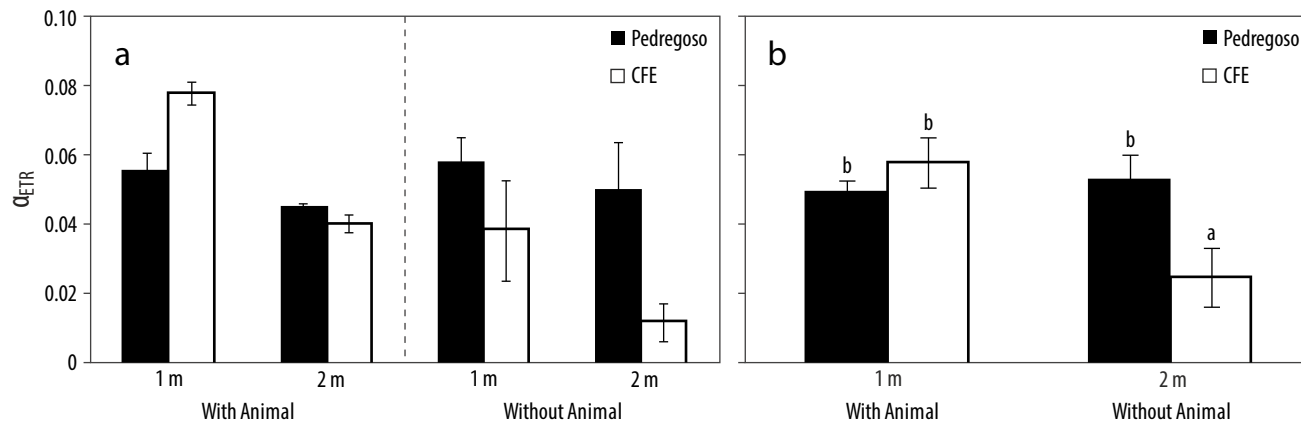


Figure 6. Photosynthetic efficiency (α_{ETR} , relative units) for *Lithophyllum margaritae* with or without epifauna attached collected at 2 different depths (1 and 2 m) at the Pedregoso (white bars) and CFE (black bars) sampling stations in Magdalena Bay (a), and pooled data of the 2 stations and different depths (b). Treatments with significant differences are shown with different letters ($P < 0.05$).

Figura 6. Eficiencia fotosintética (α_{ETR} , unidades relativas) para *Lithophyllum margaritae* con o sin epifauna adjunta recolectada a diferentes profundidades (1 y 2 m) en las estaciones de muestreo Pedregoso (barras blancas) y CFE (barras negras) en bahía Magdalena (a), y los datos agrupados de las 2 estaciones y diferentes profundidades (b). Los tratamientos que presentan diferencias significativas se muestran con letras diferentes ($P < 0.05$).

higher at Pedregoso than at CFE, which could be associated with a greater transparency of the water column and consequently enhanced light availability for photosynthesis. The same result was found in ultraoligotrophic waters (Cabo de Gata-Níjar Natural Park, Spain) by Celis-Plá et al. (2014). They recorded high ETR_{max} values for *Ellisolandia elongata* collected at 2 m depth in full light conditions. Photosynthetic efficiency (α_{ETR}) in rhodoliths from Pedregoso was higher than in those collected at CFE but only in rhodoliths without epifauna. Multivariate ANOVA confirms that spatial variability was the major factor influencing photosynthetic yield, the highest values corresponding to Pedregoso. Sunlight exposure (full sunlight vs shade) and the presence of attached epifauna (epibionts vs no epibionts) had an equally significant effect on photosynthetic efficiency; the least significant factor in this analysis was depth. Ávila and Riosmena-Rodríguez (2011) and Ávila et al. (2012) also reported that rhodolith beds at CFE, compared to those at Pedregoso, have higher densities per square meter, higher species diversity, greater branching of thalli, and higher sphericity, which are indicators of a dynamic zone, with strong tidal currents at the entrance of Banderitas Estuary (where the Pedregoso and CFE sites are located, Fig. 1b).

In addition, Steller et al. (2007) reported that biological stressors and physical variables such as temperature had an effect on the photosynthetic and calcification rates of *L. margaritae*; rhodolith photosynthetic, calcification, and growth rates showed wide fluctuations as a result of changes in laboratory or field temperatures. Maximum photosynthetic and respiratory rates both increased 5-fold as incubation temperature increased from 25 to 30 °C (Steller et al. 2007). Laboratory data suggest that rhodolith growth is regulated

tratamiento con temperatura incrementada en 2 °C (T+) en comparación con aquellos obtenidos en el tratamiento con temperatura ambiente (T). El incremento en la actividad fotosintética podría ser explicado por el incremento en la disponibilidad de CO_2 debido al aumento esperado en la respiración del molusco *D. petraeum* en los arrecifes de vermetidos sometidos al experimento con T+.

Por otro lado, la α_{ETR} en *L. margaritae* del sitio CFE fue mayor en rodolitos con animales adheridos a ellos que en los rodolitos sin epifauna. En el caso de CFE, los animales adheridos a los rodolitos pueden probablemente proveer de CO_2 , a través de la respiración, a las algas para la actividad fotosintética, como ha sido reportado por Mercado et al. (1998) para otra alga roja, *Gelidium sesquipedale*, con epifauna (briozoarios) adherida a su talo. Mercado et al. (1998) mostraron que la presencia de animales adheridos (*Electra pilosa*) a *G. sesquipedale* incrementó la actividad fotosintética del alga en alrededor del 40% en comparación con las algas de las cuales los briozoarios habían sido removidos, y atribuyeron este incremento al incremento de CO_2 disponible para las algas rojas. En el caso las poblaciones de rodolitos en bahía Magdalena, la epifauna dominante adherida estuvo formada por esponjas (Ávila y Riosmena-Rodríguez 2011). Ávila et al. (2012) encontraron 13 especies de esponjas viviendo asociadas a estos mantos de macroalgas no geniculadas, formando un hábitat complejo y diverso; estos autores encontraron que la función de las esponjas es formar un tejido conectivo que contribuye a la estabilidad del manto.

El ETR, y consecuentemente la producción de oxígeno, fue mayor en *N. brassica-florida* bajo condiciones *in situ* en las aguas costeras en comparación con los vermetidos incubados bajo condiciones al aire libre (mesocosmos) y bajo

seasonally by seawater temperature. Field growth rates were significantly higher in summer ($5.02 \pm 1.16 \text{ mm yr}^{-1}$) than in winter ($0.83 \pm 0.16 \text{ mm yr}^{-1}$), supporting the laboratory results (Steller et al. 2007). According to Steller et al. (2007), the strong effects on the photosynthetic, calcification, and growth rates of *L. margaritae* in the Gulf of California suggest that changes in sea surface temperature directly regulate bed production.

Studies on the effect of climate change on aquatic organisms have mainly been conducted with 1 or 2 variables, and studies considering interactions of 3 or more factors are scarce (Bischof et al. 2006, Häder et al. 2007). The responses of photoautotrophs to a single factor depend on other factors (Breitburg et al. 1998, Stengel et al. 2014). This is probably the reason for the high variability of responses to high CO_2 found among algae (Koch et al. 2013). The combination of an increase in both CO_2 and light exposure negatively impacts photosynthesis and growth of marine primary producers (Gao et al. 2012). Photosynthetic activity increases as a result of an increase in CO_2 both in calcified (Reiskind et al. 1988, Semesi et al. 2009) and non-calcified macroalgae (Connell and Russell 2010, Russell et al. 2011). On the other hand, under elevated CO_2 levels, the calcification rate decreased and affected the growth of *Corallina pilulifera* (Gao et al. 1993). In contrast, increases in CO_2 may enhance photosynthesis in calcifying algae such as *Halimeda discoidea* (De Beer and Larkum, 2001) and *C. pilulifera* (Gao et al. 1993), but these effects will be offset against those of decreased calcification as a result of decreased carbonate saturation state; however, this effect is difficult to predict.

If nutrient availability increases due to higher terrestrial inputs, there is a possibility of synergistic increases in the growth of turf algae (due to increased CO_2 and nutrients), which promotes an increase in turf algae in relation to calcifying macroalgae. For example, little is known about how calcifying algae respond to solar UV radiation in combination to acidification. UV radiation may act synergistically, antagonistically or independently with ocean acidification (high CO_2 /low pH of seawater) to affect the calcification process (Gao and Zheng 2010). In *Corallina sessilis*, the presence of UV radiation inhibited growth, photosynthetic O_2 evolution, and calcification rates, reflecting a synergistic effect of CO_2 enrichment with UV radiation (Gao and Zheng 2010). Nevertheless, UV-induced inhibition of photosynthesis increased when the ratio of particulate inorganic carbon to particulate organic carbon decreased under the influence of CO_2 -acidified seawater. Thus, coralline algae can suffer more damage from UVB rays as they calcify less and less with progressing ocean acidification. In combination with other stress factors, such as global warming, increased storm frequencies, and pollution, the impact on littoral seaweeds will increase even at an exponential rate, so that several species might become endangered or be pushed to seek shelter in deeper waters from near-surface UV radiation (Wahl et al. 2004,

condiciones de laboratorio. Probablemente, las condiciones de luz natural y nutrientes naturales favorecieron la producción fotosintética del alga, en comparación con la actividad fotosintética de las muestras mantenidas en los mesocosmos o en condiciones de laboratorio. La producción de oxígeno en *N. brassica-florida* que formaba parte de los arrecifes de vermetidos fue mayor que aquella reportada por Chisholm (2003) para *N. brassica-florida* de vida libre (Tabla 1). La mayoría de los estudios acerca de algas calcáreas han utilizado radiación artificial (Burdet et al. 2012); sin embargo, en años recientes, un número creciente de estudios de algas calcáreas ha utilizado una combinación de mediciones en laboratorio e *in situ* (Irving et al. 2004, Burdet et al. 2012). En el estudio de Chisholm (2003), la fotosíntesis neta fue variable entre distintas algas coralinas tropicales: los valores *in situ* más altos correspondieron a especies de *Hydrolithon* ($24\text{--}28 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) y *N. brassica-florida* ($28\text{--}14 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) en vida libre, mientras que los valores más bajos correspondieron a *N. brassica-florida* ($13.6\text{--}12.8 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$), *Neogoniolithum conicum* ($10.5 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) y diversas especies del género *Hydrolithon* ($16.9\text{--}14.4 \text{ mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) en condiciones de laboratorio. Los valores de producción de oxígeno de algas calcáreas obtenidos por Chisholm (2003) y los del presente estudio fueron mayores que aquellos reportados en estudios previos (Littler y Littler 1980, Littler et al. 1983).

La ETR en rodolitos fue afectada por el sitio de recolección debido a las características ambientales y la profundidad, y por la presencia de animales adheridos a los rodolitos. Los valores de $\text{ETR}_{\text{máx}}$ (capacidad fotosintética) fueron 2 veces mayores para Pedregoso que para CFE, lo cual puede estar asociado a una mayor transparencia de la columna de agua y, consecuentemente, mayor disponibilidad de luz para la fotosíntesis. El mismo resultado fue encontrado en aguas ultraoligotróficas (Parque Natural Cabo de Gata-Níjar, España) por Celis-Plá et al. (2014). Ellos registraron altos valores de $\text{ETR}_{\text{máx}}$ para *Ellisolandia elongata* recolectada a 2 m de profundidad en condiciones de luz. La α_{ETR} en rodolitos de Pedregoso fue mayor que la de aquellos recolectados en CFE, pero sólo en rodolitos sin epifauna. El análisis de varianza multivariado confirma que la variabilidad espacial fue el principal factor que influyó en el rendimiento fotosintético, ya que los valores más altos fueron para Pedregoso. La exposición a la luz solar (luz directa vs sombra) y la presencia de epifauna adherida (epibionte vs sin epibionte) tuvieron un efecto igualmente significativo en la eficiencia fotosintética; el factor menos significativo en este análisis fue la profundidad. Ávila y Riosmena-Rodríguez (2011) y Ávila et al. (2012) también reportaron que los mantos de rodolitos en CFE, en comparación con los de Pedregoso, tienen mayores densidades por metro cuadrado, mayor diversidad de especies, mayor ramificación del talo, y mayor esfericidad, que son indicadores de una zona dinámica, con corrientes de marea intensas, como la entrada del estero Banderitas (donde los sitios Pedregoso y CFE están localizados, Fig. 1b).

Connell and Russell 2010, Figueroa et al. 2014b). Most research has been conducted at species level and there is still scarce information on the interactive effect of climate change variables on the structure, diversity, and primary production of the algal and aquatic macrophyte communities (Wahl et al. 2004, Bischof et al. 2006). Consequently, identification of how alternate conditions modify resource availability and limitations may facilitate anticipation of the future sustainability of major ecosystem components and the communities they support (Falkenberg et al. 2013). According to Harley et al. (2012), relative to present-day conditions, future warming will favor grazers and have direct and indirect negative effects on canopy-forming kelps. Future increases in CO₂ will have strong negative effects on crustose coralline algae and positive effects on non-calcifying seaweeds both directly via improved growth and indirectly via reduced consumption by calcified herbivores.

In order to evaluate the vulnerability and acclimation of red calcareous macroalgae to climate change factors (IPCC 2014), it is necessary to conduct multifactorial experiments under controlled conditions simulating climate change scenarios (Martin and Gattuso 2009, McElhany and Busch 2013, Stengel et al. 2014) and using functional indicators for the non-intrusive estimation of photosynthesis such as *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence techniques (Figueroa and Korbee 2010).

ACKNOWLEDGMENTS

The financial contribution made by Project Interacid (RNM5750) of the Regional Government of Andalusia (Junta de Andalucía, Spain) to the research on vermetids conducted in the Cabo de Gata-Níjar Natural Park (Spain) and in the mesocosms of Málaga University is gratefully acknowledged. PSMCP acknowledges financial support through a scholarship granted by the National Commission for Scientific and Technical Research (CONICYT, Chile). RRR thanks the Marisla Foundation for supporting the work in Magdalena Bay (Baja California Peninsula, Mexico).

REFERENCES

- Amado-Filho GM, Maneveldt G, Manso RCC, Marins-Rosa BV, Pacheco MR, Guimarães SMPB. 2007. Structure of rhodolith beds from 4 to 55 meters deep along the southern coast of Espírito Santo State, Brazil = Estructura de los mantos de rodolitos de 4 a 55 metros de profundidad en la costa sur del estado de Espírito Santo, Brasil. *Cienc. Mar.* 33(4): 399–410.
- Ávila E, Riosmena-Rodríguez R. 2011. A preliminary evaluation of shallow-water rhodolith beds in Bahía Magdalena, Mexico. *Braz. J. Oceanogr.* 59(4): 365–375.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1679-87592011000400007>
- Ávila E, Riosmena-Rodríguez R, Hinojosa-Arango G. 2012. Sponge–rhodolith interactions in a subtropical estuarine system. *Helgoland Mar. Res.* 67(2): 349–357.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10152-012-0327-y>
- Adicionalmente, Steller et al. (2007) registraron que los estresantes biológicos y las variables físicas, como la temperatura, tuvieron un efecto en las tasas fotosintéticas y de calcificación en *L. margaritae*; las tasas fotosintéticas, tasas de calcificación y tasas de crecimiento en los rodolitos mostraron amplias variaciones como resultado de cambios de temperatura en laboratorio o en campo. Las tasas máximas de fotosíntesis y respiración incrementaron 5 veces al incrementar la temperatura de 25 a 30 °C (Steller et al. 2007). Los datos de laboratorio sugieren que el crecimiento de los rodolitos está regulado estacionalmente por la temperatura del agua de mar. Las tasas de crecimiento en campo fueron significativamente mayores en verano (5.02 ± 1.16 mm año⁻¹) que en invierno (0.83 ± 0.16 mm año⁻¹), apoyando los resultados de laboratorio (Steller et al. 2007). De acuerdo con Steller et al. (2007), los fuertes efectos en las tasas fotosintéticas, la calcificación y el crecimiento de *L. margaritae* en el golfo de California sugieren que los cambios en la temperatura regulan directamente la producción de estos mantos.
- Los estudios del efecto del cambio climático en organismos acuáticos han sido realizados principalmente con 1 o 2 variables, y aquellos que consideran las interacciones de 3 o más factores son más escasos (Bischof et al. 2006, Häder et al. 2007). Las respuestas de los fotoautótrofos a un solo factor dependen de otros factores (Breitburg et al. 1998, Stengel et al. 2014). Esto es probablemente la razón de la alta variabilidad en las respuestas al incremento de CO₂ entre las algas (Koch et al. 2013). La combinación de un incremento en la concentración de CO₂ y la exposición a la luz impacta de manera negativa la fotosíntesis y el crecimiento de los productores primarios marinos (Gao et al. 2012). La actividad fotosintética incrementa debido al aumento de CO₂ tanto en macroalgas calcáreas (Reiskind et al. 1988, Semesi et al. 2009) como no calcáreas (Connell y Russell 2010, Russell et al. 2011). Se ha encontrado que las concentraciones elevadas de CO₂ disminuyen la tasa de calcificación y, por tanto, afectan el crecimiento de *Corallina pilulifera* (Gao et al. 1993). En contraste, también se ha encontrado que los incrementos de CO₂ pueden incrementar la fotosíntesis en algas calcáreas como *Halimeda* (De Beer y Larkum, 2001) y *C. pilulifera* (Gao et al. 1993), pero estos efectos son enmascarados al compararlos con la disminución en la calcificación como resultado de la disminución en la tasa de saturación de carbonatos; sin embargo, este efecto es difícil de predecir.
- Si la disponibilidad de nutrientes incrementa debido a mayores aportes terrestres, existe una posibilidad de incrementos sinérgicos en el crecimiento de algas cespitosas (debido a un incremento de CO₂ y nutrientes), lo que promueve un incremento en algas cespitosas en relación con macroalgas calcáreas. Por ejemplo, se conoce poco acerca de cómo las algas calcáreas responden a la radiación UV en combinación con la acidificación. La radiación UV puede actuar sinérgicamente, antagonicamente o independientemente con la acidificación del océano (alto CO₂/bajo pH del agua de mar) y afectar el proceso de calcificación (Gao y

- Bischof K, Gómez I, Molis M, Hanelt D, Karsten U, Lüder U, Roleda MY, Zacher K, Wiencke C. 2006. Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 51: 141–166.
- Breitburg DL, Baxter JW, Hatfield CA, Howarth RW, Jones CG, Lovett GM, Wigand C. 1998. Understanding effects of multiple stressors: Ideas and challenges. In: Pace ML, Groffman PM (eds.), *Successes, Limitations, and Frontiers in Ecosystem Science*. Springer, New York, USA, pp. 416–431.
- Burdet HL, Hennige SJ, Francis FTY, Kamenos NA. 2012. The photosynthetic characteristics of coralline alga determined by using pulse amplitude modulation PAM fluorometry. *Bot. Mar.* 55: 499–509.
- Calvo M, Templado J, Penchaszadeh PE. 1998. Reproductive biology of the gregarious Mediterranean vermetid gastropod *Dendropoma petraeum*. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 78: 525–549.
- Celis-Plá PSM, Martínez B, Quintano E, García-Sánchez M, Pedersen A, Navarro NP, Copertino M, Mangaiyarkarasi N, Mariath R, Figueroa FL, Korbee N. 2014. Short-term ecophysiological and biochemical responses of *Cystoseira tamariscifolia* and *Ellisolandia elongata* to changes in solar irradiance and nutrient levels. *Aquat. Biol.* 22: 227–243.
- Chisholm JRM. 2003. Primary productivity of reef-building crustose coralline algae. *Limnol. Oceanogr.* 48: 1376–1387.
- Chisholm JRM, Collingwood JC, Gill EF. 1990. A novel *in situ* respirometer for investigating photosynthesis and calcification in crustose coralline algae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 141: 15–29.
- Connell SD, Russell BD. 2010. The direct effects of increasing CO₂ and temperature on non-calcifying organisms: Increasing the potential for phase shifts in kelp forests. *Proc. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 277: 1409–1415. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2009.2069>
- De Beer D, Larkum AWD. 2001. Photosynthesis and calcification in the calcifying algae *Halimeda discoidea* studied with microsensors. *Plant Cell Environ.* 24(11): 1209–1217.
- Eilers PHC, Peeters JCH. 1988. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton. *Ecol. Model.* 42: 199–215.
- Falkenberg LJ, Rusell BD, Connell SD. 2013. Contrasting resource limitations of marine primary producers: Implications for competitive interactions under enriched CO₂ and nutrient regimes. *Oecologia* 172(2): 575–583. <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-012-2507-5>
- Figueroa FL, Conde-Álvarez R, Gómez I. 2003. Relations between electron transport rates determined by pulse amplitude modulated fluorescence and oxygen elution in macroalgae under different light conditions. *Photosynthesis Res.* 75: 259–275.
- Figueroa FL, Bonomi-Barufi J, Malta EJ, Conde-Álvarez R, Nitschke U, Arenas F, Mata M, Connan S, Abreu MH, Marquardt R, Vaz-Pinto F, Konotchick T, Celis-Plá PSM, Hermoso M, Ordoñez G, Ruiz E, Flores P, de los Ríos J, Kirke D, Chow F, Nassar CAG, Robledo D, Pérez-Ruzafa A, Bañares-España E, Altamirano M, Jiménez C, Korbee N, Bischof K, Stengel DB. 2014a. Short-term effects of increasing CO₂, nitrate and temperature on three Mediterranean macroalgae: Biochemical composition. *Aquat. Biol.* 22: 177–193.
- Figueroa FL, Domínguez-González B, Korbee N. 2014b. Vulnerability and acclimation to increased UVB in the three intertidal macroalgae of different morpho-functional groups. *Mar. Environ. Res.* 101: 8–21.
- Figueroa FL, Jerez CG, Korbee N. 2013. Use of *in vivo* chlorophyll fluorescence to estimate photosynthetic activity and biomass productivity in microalgae grown in different culture systems. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 41: 801–819.
- Zheng 2010). En *Corallina sessilis*, la presencia de radiación UV inhibió el crecimiento, la evolución de O₂ fotosintético y las tasas de calcificación, lo que refleja un efecto sinérgico del enriquecimiento de CO₂ con la radiación UV (Gao y Zheng 2010). Sin embargo, la inhibición de la fotosíntesis inducida por radiación UV incrementa cuando la proporción de carbono inorgánico particulado/carbono orgánico particulado disminuye por la influencia de agua acidificada por CO₂. Así, las algas coralinas pueden sufrir más daño por radiación UVB al disminuir la calcificación con el aumento de la acidificación del océano. En combinación con otros factores de estrés, tales como calentamiento global, incremento en la frecuencia de tormentas y la contaminación, un aumento de radiación UV en aguas superficiales incrementará el impacto en las macroalgas litorales incluso a una tasa exponencial, de tal forma que diversas especies puedan estar en riesgo o forzadas a buscar refugio en aguas más profundas (Wahl et al. 2004, Connell y Russell 2010, Figueroa et al. 2014b). La mayoría de las investigaciones han sido realizadas a nivel de especie y aún hay información escasa del efecto interactivo del cambio climático en la estructura, diversidad y producción primaria de comunidades algales y macrófitas (Wahl et al. 2004, Bischof et al. 2006). Consecuentemente, la identificación de cómo las condiciones alternantes modifican la disponibilidad de recursos y las limitaciones puede facilitar la anticipación de la sostenibilidad futura de componentes principales del ecosistema y las comunidades que soporta (Falkenberg et al. 2013). De acuerdo con Harley et al. (2012), el calentamiento futuro favorecerá a los herbívoros y tendrá impactos negativos indirectos en los mantos de macroalgas formadores de dosel. Incrementos futuros en CO₂ tendrán efectos negativos fuertes en algas costosas coralinas y efectos positivos en macroalgas no calcificantes tanto de manera directa vía crecimiento mejorado como de manera indirecta vía el consumo por herbívoros calcáreos.

Para poder evaluar la vulnerabilidad y aclimatación de las macroalgas rojas calcáreas a factores del cambio climático (IPCC 2014), es necesario realizar experimentos multifactoriales bajo condiciones controladas simulando escenarios de cambio climático (Martin y Gattuso 2009, McElhany y Busch 2013, Stengel et al. 2014) y usando indicadores funcionales de la fotosíntesis no intrusivos, como lo son las técnicas de fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* (Figueroa y Korbee 2010).

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la financiación del Proyecto Interacid (RNM5750) de la Junta de Andalucía para las investigaciones realizadas con verméticos en el Parque Natural Cabo de Gata-Níjar (España) y en los mesocosmos de la Universidad de Málaga. PSMCP agradece la beca otorgada por la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT, Chile). RRR agradece a la Fundación Marisla el apoyo para los estudios en bahía Magdalena (Baja California, México).

- Figueroa FL, Korbee N. 2010. Interactive effects of UV radiation and nutrients on ecophysiology: Vulnerability and adaptation to climate change. In: Seckbach J, Einav R, Israel A (eds.), *Seaweeds and their Role in Globally Changing Environments*. Springer, Heidelberg, Germany, pp. 157–182
http://dx.doi.org/10.1007/978-90-481-8569-6_10
- Foster MS. 2001. Rhodoliths: Between rocks and soft places. *J. Phycol.* 37(5): 659–667.
- Foster MS, McConnico LM, Lundsten L, Wadsworth T, Kimball T, Brooks LB, Steller DL. 2007. Diversity and natural history of a *Lithothamnion muelleri*–*Sargassum horridum* community in the Gulf of California = Diversidad e historia natural de una comunidad de *Lithothamnion muelleri* y *Sargassum horridum* en el golfo de California. *Cienc. Mar.* 33(4): 367–384.
- Foster MSR, Riosmena-Rodríguez R, Steller DL, Woelkerling WJ. 1997. Living rhodolith beds in the Gulf of California and their implications. In: Johnson ME, Ledesma-Vázquez J (eds.), *Pliocene Carbonates and Related Facies Flanking the Gulf of California, Baja California, Mexico*. Geological Society of America Special paper no. 318, Boulder, Colorado, pp. 127–139.
- Gao K, Aruga Y, Asada K, Ishihara T, Akano T, Kiyohara M. 1993. Calcification in the articulated coralline alga *Corallina pilulifera*, with special reference to the effect of elevated CO₂ concentration. *Mar. Biol.* 117: 129–132.
- Gao K, Xu J, Gao G, Li Y, Hutchin SDA, Huang B, Wang L, Zheng Y, Peng Jin P, Cai X, Häder D-P, Li W, Xu K, Liu N, Riebesell U. 2012. Rising CO₂ and increased light exposure synergistically reduce marine primary productivity. *Nature Climate Change* 2: 519–523.
- Gao K, Zheng Y. 2010. Combined effects of ocean acidification and solar UV radiation on photosynthesis, growth, pigmentation and calcification in the coralline alga *Corallina sessilis* Rhodophyta. *Global Change Biol.* 16: 2388–2398.
- Glynn PW. 1996. Coral reef bleaching: Facts, hypotheses and implications. *Global Change Biol.* 26: 495–509.
- Häder DP, Kumar HD, Smith RC, Worrest RC. 2007. Effects of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochem. Photobiol. Sci.* 6: 267–285.
- Harley CDG, Anderson KM, Demes KW, Jorve JP, Kordas JR, Coyle TA. 2012. Effects of climate change on global seaweed communities. *J. Phycol.* 48: 1064–1078.
- [IPCC] Intergovernmental Panel on Climate Change. 2014. The Physical Science Basis. Working Group I Contribution to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Irving AD, Connell SD, Elsdon TS. 2004. Effects of kelp canopies on bleaching and photosynthetic activity of encrusting coralline algae. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 310(1): 1–12.
- Jassby AD, Platt T. 1976. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 21: 540–547
- Kamenos NA, Moore PG, Hall-Spencer JM. 2003. Substratum heterogeneity of dredged vs un-dredged maerl grounds. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 83: 411–413.
- Keen AM, Morton JE. 1960. Some new African species of *Dendropoma* (Vermetidae: Mesogastropoda). *J. Molluscan Stud.* 34(1): 36–51.
- Kelamer B. 2002. Influence of physical characteristics of coralline turf on associated macrofaunal assemblages. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 232: 141–148.
- Koch M, Bowes G, Ross C, Zhang XH. 2013. Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Global Change Biol.* 19: 103–132.
- Kromkamp JC, Dijkman NA, Peene J, Simis SGH, Gons HJ. 2008. Estimating phytoplankton primary production in Lake IJsselmeer (the Netherlands) using variable fluorescence (PAM-FRRF) and C-uptake techniques. *Eur. J. Phycol.* 43: 327–344.
- Larkum AWD, Wood WF. 1993. The effect of UV-B radiation on photosynthesis and respiration of phytoplankton, benthic macroalgae and seagrasses. *Photosynthesis Res.* 36(1): 17–23.
<http://dx.doi.org/10.1007/BF00018071>
- Littler MM. 1973. The productivity of Hawaiian fringing-reef crustose Corallinaceae and an experimental evaluation of production. *Limnol. Oceanogr.* 18: 949–952.
- Littler MM, Littler DS. 1980. The evolution of thallus form and survival strategies in benthic marine macroalgae: Field and laboratory tests of a functional form model. *Am. Nat.* 116: 25–44.
- Littler MM, Littler DS, Hanisak MD. 1991. Deep-water rhodolith distribution, productivity, and growth history at sites of formation and subsequent degradation. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 150 (2): 163–182.
- Littler MM, Littler DS, Taylor PR. 1983. Evolutionary strategies in a tropical barrier reef system: Functional form groups of marine macroalgae. *J. Phycol.* 19: 229–237.
- Lüning K. 1990. *Seaweeds: Their Environment, Biogeography and Ecophysiology*. John Wiley, New York, USA, 525 pp.
- Martin S, Gattuso JP. 2009. Response of Mediterranean coralline algae to ocean acidification and elevated temperature. *Global Change Biol.* 15: 2089–2100.
- McElhany P, Busch DS. 2013. Appropriate pCO₂ treatments in ocean acidification experiments. *Mar. Biol.* 160: 1807–1812.
- Mercado JM, Carmona R, Niell FX. 1998. Epiphytic bryozoans enhance the inorganic carbon acquisition in *Gelidium sesquipedale*. *J. Phycol.* 34: 925–927.
- Milazzo M, Rodolfo-Metalpa R, Chan VBS, Fine M, Alessi C, Thiyagarajan V, Hall-Spencer JM, Chemello R. 2014. Ocean acidification impairs vermetid reef recruitment. *Sci. Rep.* 4: 4189.
- Payri CE, Maritorea S, Bizeau C, Rodiere M. 2001. Photoacclimation in the tropical coralline alga *Hydrolithon onkodes* (Rhodophyta, Corallinaceae) from a French Polynesian reef. *J. Phycol.* 37: 223–234.
<http://dx.doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.037002223.x>
- Quintano E, Ganzedo U, Diez I, Figueroa FL, Gorostiaga JM. 2013. Solar radiation (PAR and UVA) and water temperature in relation to biochemical performance of *Gelidium corneum* (Gelidiales, Rhodophyta) in subtidal bottoms off the Basque coast. *J. Sea Res.* 83: 47–55.
<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.seares.2013.05.008>
- Reiskind, JB, Seamon PT, Bowes G. 1988. Alternative methods of photosynthetic carbon assimilation in marine macroalgae. *Plant Physiol.* 87(3): 686–692.
- Riosmena-Rodríguez R, Woelkerling WmJ, Foster MS. 1999. Taxonomic reassessment of rhodolith-forming species of *Lithophyllum* (Corallinales, Rhodophyta) in the Gulf of California, Mexico. *Phycologia* 38: 401–417.
<http://dx.doi.org/10.2216/i0031-8884-38-5-401.1>
- Russell P, Johnson ME. 2000. Influence of seasonal winds on coastal carbonate dunes from the Recent and Plio-Pleistocene at Punta Chivato, Baja California Sur, Mexico. *J. Coast. Res.* 16 (3): 709–723.
- Russell BD, Passarelli CA, Connell SD. 2011. Forecasted CO₂ modifies the influence of light in shaping subtidal habitat. *J. Phycol.* 47: 744–752.
- Semesi IS, Kangwe J, Björk M. 2009. Alterations in seawater pH and CO₂ affect calcification and photosynthesis in the tropical

- coralline alga, *Hydrolithon* sp. (Rhodophyta). *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 84: 337–341.
<http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.ecss.2009.03.038>
- Schreiber U, Endo T, Mi H, Asada K. 1995. Quenching analysis of chlorophyll fluorescence by saturation pulse method: Particular aspects relating to the study of eukaryotic algae and cyanobacteria. *Plant Cell Physiol.* 36: 873–882.
- Steller DL, Hernández-Ayón JM, Riosmena-Rodríguez R, Cabello-Pasini A. 2007. Effect of temperature on photosynthesis, growth and calcification rates of the free-living coralline alga *Lithophyllum margaritae* = Efecto de la temperatura sobre las tasas de fotosíntesis, crecimiento y calcificación del alga coralina de vida libre *Lithophyllum margaritae*. *Cienc. Mar.* 33(4): 441–456.
- Steller DL, Riosmena-Rodríguez R, Foster MS, Roberts CA. 2003. Rhodolith bed diversity in the Gulf of California: The importance of rhodolith structure and consequences of disturbance. *Aquat. Conserv.* 13(S1): S5–S20.
- Stengel DB, Conde-Álvarez R, Connan S, Nitschke U, Arenas F, Abreu H, Bonomi J, Chow F, Robledo D, Malta EJ, Mata M, Konotchick T, Nassar C, Pérez-Ruzafa Á, López D, Marquardt D, Vaz-Pinto F, Celis-Plá PSM, Hermoso M, Ruiz E, Ordoñez G, Flores P, Zanolta M, Bañares-España E, Altamirano M, Korbee N, Bischof K, Figueroa FL. 2014. Short-term effects of CO₂, nutrients and temperature on three marine macroalgae under solar radiation. *Aquat. Biol.* 22: 159–176.
- Underwood T. 1997. *Experiments in Ecology. Their logical design and interpretation using analysis of variance.* Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Wahl M, Molis M, Davis A, Drobestov S, Durr ST, Johansson J, Kinley J, Kirugara, D, Langer M, Lotze HK, Thiel M, Thomanson JC, Word B, Ben-Yosef DZ. 2004. UV effects that come and go: A global comparison of marine benthic community level impacts. *Global Change Biol.* 10: 1962–1972.
- Williams PI, Robertson JE. 1991. Overall planktonic oxygen and carbon dioxide metabolisms: The problem of reconciling observations and calculations of photosynthetic quotients. *J. Plankton Res.* 13(S1): 153–169.

*Received October 2015,
accepted May 2016.*