

Efecto de la temperatura sobre las tasas de fotosíntesis, crecimiento y calcificación del alga coralina de vida libre *Lithophyllum margaritae*

Effect of temperature on photosynthesis, growth and calcification rates of the free-living coralline alga *Lithophyllum margaritae*

DL Steller¹, JM Hernández-Ayón², R Riosmena-Rodríguez³, A Cabello-Pasini^{2*}

¹ Moss Landing Marine Laboratories, Moss Landing, CA. 95039, USA.

² Instituto de Investigaciones Oceanológicas, Universidad Autónoma de Baja California, Apartado postal 453, Ensenada, Baja California 22800, México. * E-mail: acabello@uabc.mx

³ Programa de Investigación en Botánica Marina, Universidad Autónoma de Baja California Sur, Apartado postal 19-B, La Paz Baja California Sur 23080, México

Resumen

Las praderas de rodolitos son la vegetación subacuática calcificante dominante en algunos ambientes costeros alrededor del mundo pero se cuenta con poca información cuantitativa acerca de su fisiología. *Lithophyllum margaritae* (Rhodophyta, Corallinaceae) es la especie de alga coralina no geniculada formadora de rodolitos más abundante en el Golfo de California (México). A lo largo de su distribución en el golfo, esta alga coralina está expuesta a un gran rango estacional de temperaturas (~8–32°C). Se desconoce el efecto de los cambios de temperatura sobre las tasas de fotosíntesis y de calcificación de esta especie. En este estudio se evalúa el efecto de la temperatura (10–30°C) sobre la fotosíntesis y las tasas de calcificación en los rodolitos de *L. margaritae* en el laboratorio y se examina el efecto de los cambios estacionales de temperatura sobre el crecimiento en el campo. Las tasas fotosintéticas se evaluaron polarográficamente y las tasas de calcificación en el laboratorio se determinaron utilizando los métodos de peso boyante y alcalinidad. Las tasas de calcificación en el campo fueron evaluadas mediante la tinción con alizarina. Según nuestro conocimiento, ésta es la primera vez que estos tres métodos se usan de forma simultánea para evaluar las tasas de crecimiento en algas coralinas. Las tasas fotosintéticas ($P_{\max}$) y respiratorias se quintuplicaron a medida que la temperatura se incrementó a 25–30°C. De manera similar, las tasas de calcificación en el laboratorio y las tasas de crecimiento en el campo se incrementaron con la temperatura. Los resultados de laboratorio sugieren que el crecimiento de los rodolitos está regulado por los cambios estacionales de temperatura. Las tasas de calcificación obtenidas por ambos métodos sólo coincidieron a bajas temperaturas, por lo que su discrepancia a altas temperaturas requiere de estudios adicionales. El crecimiento en el campo, representado por la extensión apical, fue significativamente mayor en verano ($5.02 \pm 1.16 \text{ mm año}^{-1}$) que en invierno ($0.83 \pm 0.16 \text{ mm año}^{-1}$), lo cual es consistente con los resultados obtenidos en el laboratorio. Los fuertes efectos de la temperatura sobre la fotosíntesis, calcificación y tasas de crecimiento de *Lithophyllum margaritae* en el Golfo de California sugieren que los cambios de temperatura superficial son un mecanismo regulador de la productividad de estos mantos.

Palabras clave: rodolito, algas coralinas, calcificación, fotosíntesis, *Lithophyllum margaritae*.

Abstract

Rhodolith beds are the dominant submerged calcifying aquatic vegetation in some coastal marine environments worldwide but few quantitative data are available regarding their physiology. In the Gulf of California (Mexico), *Lithophyllum margaritae* (Rhodophyta, Corallinaceae) is the most abundant nongeniculate, rhodolith-forming coralline species. Over their gulf-wide distribution, rhodoliths are exposed to a wide range of seasonal temperatures (~8–32°C). The effect of changes in temperature on the photosynthetic and calcification rates of this species is unknown. We therefore evaluated the effect of temperature (10–30°C) on the photosynthetic and calcification rates of *L. margaritae* rhodoliths in the lab and examined the effect of seasonal changes in temperature on growth rates in the field. Photosynthetic rates were evaluated polarographically and calcification rates were evaluated in the lab using both the buoyant weight technique and total alkalinity method, and in the field through alizarin staining. To the best of our knowledge, this is the first time that these three methods are used simultaneously to evaluate growth rates in coralline algae. Photosynthetic, calcification and growth rates showed wide fluctuations as a result of laboratory or field temperature. Photosynthetic ($P_{\max}$) and respiratory rates both increased five-fold as incubation temperature increased to 25–30°C. Similarly, calcification rates in the lab and growth rates in the field increased with higher temperatures. The lab data suggest that rhodolith growth is seasonally regulated by seawater temperature. The buoyant weight and total alkalinity techniques for determining calcification rate were comparable at low temperatures, but variability increased with temperature and this will be examined in further studies. Field growth rates, presented as apical tip extension, 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 lab results. The strong effects of temperature on photosynthetic, calcification and growth rates of *Lithophyllum margaritae* in the Gulf of California suggest that changes in sea surface temperature directly regulate bed production

Key words: rhodolith, coralline algae, calcification, photosynthesis, *Lithophyllum margaritae*.

Introducción

Los rodolitos forman importantes ecosistemas de carbonato biogénico y producen importantes hábitats costeros alrededor del mundo (Johansen 1981, Birkett *et al.* 1998, Foster 2001). Los rodolitos se producen cuando los talos coralinos no geniculados (Corallinaceae, Rhodophyta) se liberan y forman mantos extensos que sostienen varias comunidades de flora y fauna sobre, dentro y debajo de sus talos de ramificación compleja (Keegan 1974, Bosence 1979, Grall y Glemarec 1997, Giménez-Casalduero *et al.* 2001, Steller *et al.* 2003, Amado-Filho *et al.* 2007, Foster *et al.* 2007). También constituyen un componente principal de la dieta de algunos invertebrados asociados a ellos (James 2000), y mantienen especies de pectínicos de importancia comercial tanto en Escocia (Kamenos *et al.* 2003) como en el Golfo de California (Steller 2003). Los fragmentos de algas coralinas frecuentemente constituyen fuentes principales de sedimentos carbonatados para playas en todo el mundo (Potin *et al.* 1990, Russell y Johnson 2000). En Francia, por ejemplo, más de 450,000 toneladas de material rodolítico (conocido como *maerl*) son dragadas anualmente de las playas y aprovechadas comercialmente (Potin *et al.* 1990). A pesar de la importancia ecológica y económica de los rodolitos, no se conocen bien sus tasas de fotosíntesis y de calcificación, y en vista de que se encuentran bajo una creciente amenaza por perturbaciones debidas a su extracción y a la pesca (Hall-Spencer 1998, Hall-Spencer y Bamber 2007), se requiere información sobre su fisiología para evaluar la sustentabilidad de su aprovechamiento y manejo.

En el Golfo de California (México) los rodolitos forman mantos extensos a lo largo de las franjas de agua somera y persisten bajo condiciones físicas muy variables con temperaturas que van desde 8°C hasta 32°C (Foster *et al.* 1997, Riosmena-Rodríguez *et al.* en prensa). Algunos de los mantos de rodolitos cubren 100% del sustrato a lo largo de kilómetros de litoral y, entre ellos, *Lithophyllum margaritae* es la especie dominante en los hábitats arenosos (Riosmena-Rodríguez *et al.* en prensa). Se han asociado más de 100 especies de invertebrados marinos con los mantos de rodolitos del Golfo de California, incluyendo un coral hermatípico, tres nuevas especies de quitones y el único registro de *Diaperoformata californica* en el hemisferio norte (Reyes-Bonilla *et al.* 1997, Hinojosa-Arango y Riosmena-Rodríguez 2004, James *et al.* 2006). Un nuevo estudio de Foster *et al.* (2007) reporta 114 especies de criptofauna asociadas a un solo manto. A diferencia de otros ecosistemas dominados por macroalgas, en estos mantos hay poco material orgánico y recambio del mismo. No obstante, los restos coralinos o biocalcarenita de rodolitos fragmentados generan grandes cantidades de material carbonatado que son fuente de sedimentos costeros, amplias bermas de playa y mantos fósiles a lo largo de la Península de Baja California (Johnson *et al.* 2007, Kasper-Zubillaga *et al.* 2007, Sewell *et al.* 2007, Ledesma-Vázquez *et al.* 2007). A pesar de que las algas coralinas son esenciales para mantener los sedimentos de las playas, la mayoría de los estudios sobre los rodolitos de

Introduction

Rhodoliths form important biogenic carbonate ecosystems and create critical coastal habitats worldwide (Johansen 1981, Birkett *et al.* 1998, Foster 2001). Rhodoliths occur when non-geniculate coralline (Corallinaceae, Rhodophyta) thalli become free-living and form extensive beds. These beds support diverse communities of flora and fauna on, within and under their complex branching thalli (Keegan 1974, Bosence 1979, Grall and Glemarec 1997, Giménez-Casalduero *et al.* 2001, Steller *et al.* 2003, Amado-Filho *et al.* 2007, Foster *et al.* 2007). They also constitute a major component of the diet of some associated invertebrate species (James 2000), and support species of commercial importance such as scallops in Scotland (Kamenos *et al.* 2003) and in the Gulf of California (Steller 2003). Fragments of coralline algae often constitute major sources of carbonate sediment for beaches throughout the world (Potin *et al.* 1990, Russell and Johnson 2000). In France, for example, more than 450,000 tons of rhodolith material (known as *maerl*) are dredged annually from the beaches and commercially exploited (Potin *et al.* 1990). In spite of their ecological and economic importance, their photosynthetic and calcification rates are poorly understood. As extraction and fishing disturbances increasingly threaten rhodoliths (Hall-Spencer 1998, Hall-Spencer and Bamber 2007), information on their physiology is required to assess sustainability of extraction and to inform management.

In the Gulf of California (Mexico), rhodoliths form extensive beds throughout the shallow-water region and persist under extremely variable physical conditions with temperatures ranging from 8°C to 32°C (Foster *et al.* 1997, Riosmena-Rodríguez *et al.* in press). Some of these rhodolith beds cover 100% of the substrate over kilometers of coastline and among the known beds, *Lithophyllum margaritae* is the dominant species in sandy habitats (Riosmena-Rodríguez *et al.* in press). More than 100 species of marine invertebrates have been previously associated with rhodolith beds in the Gulf of California, including a hermatypic coral, three new species of chitons and the only report of the bryolith *Diaperoformata californica* in the Northern Hemisphere (Reyes-Bonilla *et al.* 1997, Hinojosa-Arango and Riosmena-Rodríguez 2004, James *et al.* 2006). A new study (Foster *et al.* 2007) reports 114 cryptofaunal species alone associated with one bed. Unlike other macroalgal-based ecosystems there is little organic material and low turnover. However, coralline debris or biocalcarinite from broken rhodoliths generates large amounts of carbonate material, contributing to coastal sediments, large beach berms and fossil beds along the Baja California Peninsula (Johnson *et al.* 2007, Kasper-Zubillaga *et al.* 2007, Sewell *et al.* 2007, Ledesma-Vázquez *et al.* 2007). Though coralline algae are critical for sustaining beach sediment, most studies of Baja California rhodoliths have focused on their taxonomy and ecology with little work on their growth and calcification physiology.

Similar to corals, growth rates of coralline algae are generally slow and, consequently, difficult to evaluate (Frantz *et al.*

Baja California se han enfocado en su taxonomía y ecología y se han realizado pocos trabajos sobre su crecimiento y calcificación.

Al igual que las de los corales, las tasas de crecimiento de las algas coralinas tienden a ser lentas y, por tanto, difíciles de evaluar (Frantz *et al.* 2005). Potin *et al.* (1990) encontraron que las tasas de crecimiento de *Lithothamnion corallioides* en Francia son menores a 0.1% d⁻¹ durante casi todo el año, con valores máximos de aproximadamente 0.25% d⁻¹ en el verano. Asimismo, las algas coralinas incrustantes en el Atlántico Norte presentan tasas de extensión lineal o crecimiento apical extremadamente lentas, de 0.2 a 3 mm año⁻¹ (Adey 1970). En general, las tasas de crecimiento en las algas coralinas se determinan con base en el aumento lineal mediante micrómetros, microscopios o análisis de imágenes (Adey 1970, Garrabou y Ballesteros 2000, Rivera *et al.* 2004). Aunque estos métodos proporcionan estimaciones realistas de campo, se requieren largos periodos de incubación para establecer tasas precisas de crecimiento y sus resultados pueden ser equívocos ya que frecuentemente se ignoran los cambios en el grosor del talo (Adey 1970). Con el fin de determinar el aumento de biomasa en algas coralinas incrustantes, Potin *et al.* (1990) adaptaron un método de peso boyante empleado para corales que supone que los cambios en biomasa son resultado de la incorporación de CaCO₃. Consecuentemente, este método puede ser utilizado para evaluar las tasas de calcificación en algas coralinas marinas.

Las tasas de calcificación en organismos marinos frecuentemente se determinan mediante la incorporación de calcio radioactivo o la asimilación de Ca²⁺ a partir de muestras de agua (Gao *et al.* 1993, Tambutte *et al.* 1995). Sin embargo, el CaCO₃ es el principal compuesto que regula los cambios en la alcalinidad del agua de mar (Digby 1977). En consecuencia, los cambios de alcalinidad debidos a la remoción de CaCO₃ potencialmente pueden ser un medio para estimar indirectamente la calcificación en organismos marinos. De hecho, la alcalinidad está linealmente relacionada con la tasa de calcificación en el alga marina (cocolitofórido) *Emiliana huxleyi* (Buitenhuis *et al.* 1999). Además, los cambios en la alcalinidad del agua de mar han sido utilizados exitosamente para evaluar las tasas de calcificación en ecosistemas de arrecifes coralinos que incluyen algas coralinas (Gattuso *et al.* 1997). Por tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la temperatura sobre las tasas de fotosíntesis, crecimiento y calcificación del rodolito *Lithophyllum margaritae* en el laboratorio y en el campo, empleando tres métodos diferentes.

Material y métodos

Se recolectaron al azar muestras del alga coralina pigmentada de vida libre, *L. margaritae*, mediante buceo autónomo entre 5 y 8 m de profundidad del Manto El Requesón (26°38'34" N, 111°49'49" W) en Bahía Concepción, Baja California Sur, México (fig. 1). La densidad media del manto es de aproximadamente 3500 talos m⁻² (Steller 2003) y las

2005). Potin *et al.* (1990) found that growth rates for *Lithothamnion corallioides* in France are below 0.1% d⁻¹ throughout most of the year, with maximum values of approximately 0.25% d⁻¹ in the summer. Similarly, linear extension or apical growth rates for crustose coralline algae have been found to be extremely slow, ranging from 0.2 to 3 mm yr⁻¹ in the North Atlantic (Adey 1970). In general, growth rates in coralline algae are determined through linear increase using micrometers, microscopes or image analysis (Adey 1970, Garrabou and Ballesteros 2000, Rivera *et al.* 2004). While these methods help give realistic field estimates, they require long incubation periods to establish accurate growth rates and can render equivocal results since changes in the thickness of the thallus is often ignored (Adey 1970). Potin *et al.* (1990) adapted a buoyant weight method used in corals to determine biomass increase in crustose coralline algae. The buoyant weight method assumes that changes in biomass are the result of CaCO₃ incorporation and can therefore be used to assess calcification rates in marine coralline algae.

Calcification rates in marine organisms are often determined through the incorporation of radioactive calcium or the assimilation of Ca²⁺ from water samples (Gao *et al.* 1993, Tambutte *et al.* 1995). Calcium carbonate, however, is the major component regulating changes in seawater alkalinity (Digby 1977). Consequently, changes in alkalinity as a result of CaCO₃ removal could potentially be an indirect estimator of calcification by marine organisms. Indeed, alkalinity is linearly related to the calcification ratio in the cocolithophorid alga *Emiliana huxleyi* (Buitenhuis *et al.* 1999). Furthermore, changes in the alkalinity of seawater have been successfully used to evaluate calcification rates in coral reef ecosystems that include coralline algae (Gattuso *et al.* 1997). Hence, the objective of this study was to evaluate the effect of temperature on the photosynthetic, growth and calcification rates of the rodolith *L. margaritae* in the lab and in the field, using three different methods.

Material and methods

Pigmented free-living coralline algae, *L. margaritae*, were collected haphazardly using scuba from 5–8 m at Manto El Requesón (26°38'34" N, 111°49'49" W) in Bahía Concepción, Baja California Sur, Mexico (fig. 1). Average density is approximately 3500 thalli m⁻² (Steller 2003) and samples represented the population of thalli ranging from 5 to 40 mm in diameter. These samples were maintained in the lab in 10-L containers at approximately 25°C. Photosynthetically active radiation of approximately 150 μmol photon m⁻² s⁻¹ was supplied using fluorescent bulbs and a 16:8 h (L:D) photoperiod. Water was changed twice weekly and was kept in constant movement through aeration. Prior to experiments all samples were thoroughly cleaned of associated organisms. All specimens used in the experiments were identified using the definition of the species in Riosmena-Rodríguez *et al.* (1999, Harvey and Woelkerling 2007).

muestras representaron la población de talos de 5 a 40 mm de diámetro. En el laboratorio estas muestras se mantuvieron en contenedores de 10 L a aproximadamente 25°C. Se proporcionó radiación fotosintéticamente activa a una intensidad aproximada de $150 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ mediante focos fluorescentes y un fotoperiodo de 16:8 h (L:O). El agua se cambió dos veces por semana y se mantuvo en movimiento mediante aireación constante. Antes de los experimentos todas las muestras fueron lavadas cuidadosamente para eliminar organismos asociados. Todos los especímenes usados en los experimentos fueron identificados con base en la definición de la especie de Riosmena-Rodríguez *et al.* (1999, Harvey and Woelkerling 2007).

Contenido de materia orgánica y carbonato de calcio

Para establecer la relación entre el peso fresco y seco, se secaron individuos de *L. margaritae* con papel secante y se pesaron. Posteriormente se secaron las muestras en un horno a 60°C hasta obtener peso constante. Por otro lado, el contenido de materia orgánica y CaCO_3 en las algas coralinas se determinó mediante acidificación. Se secaron muestras hasta peso constante en un horno a 60°C y se colocaron individualmente en vasos de precipitado de 100 mL previamente pesados. A cada vaso se agregó aproximadamente 50 mL de HCl al 5% (v/v) y las muestras fueron incubadas durante 24 h a temperatura ambiente. La solución fue decantada después del periodo de incubación, y se agregó más ácido hasta disolver todo el CaCO_3 . Las muestras acidificadas fueron enjuagadas con agua destilada y secadas hasta obtener peso constante en un horno a 60°C. Los contenidos de materia orgánica y CaCO_3 fueron determinados por substracción del peso previo a la adición de ácido.

Fotosíntesis

Los rodolitos fueron recolectados de Bahía Concepción en el invierno y transportados al laboratorio. Las tasas fotosintéticas y respiratorias de *L. margaritae* en relación a la temperatura se determinaron polarográficamente a 10°C, 15°C, 20°C, 25°C y 30°C. Se incubaron seis réplicas de rodolitos pequeños e intactos (aproximadamente 0.1–0.2 g de tejido) en agua de mar filtrada (0.45 μm , pH 8.1, 2.1 mM de carbono inorgánico disuelto) para cada temperatura en cámaras cubiertas (5 mL) conectadas a una tina de agua circulante después de un periodo de preincubación de 0.5 h en la oscuridad. Se utilizó material fresco para cada prueba de temperatura y lámparas halógenas (Quartzline, 300 W) como fuente de luz, variando la irradiancia mediante filtros de densidad neutra. Se determinó la fotosíntesis oxigénica máxima (P_{max}), la pendiente inicial de la curva fotosíntesis vs irradiancia (α), el coeficiente de subsaturación (E_k) y la respiración mediante un algoritmo no lineal ajustado directamente (Sigma Plot, Jandel Scientific) de los datos a la función exponencial de Webb *et al.* (1974).

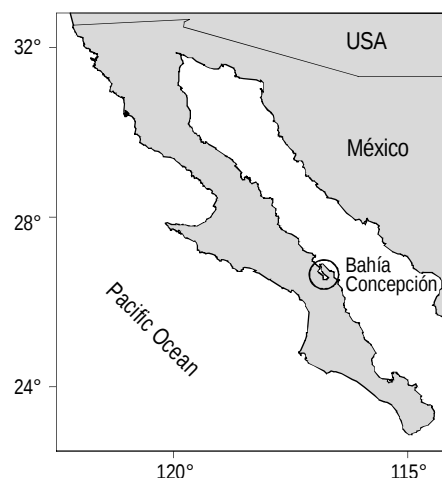


Figura 1. Sitio experimental y de recolección de los rodolitos de *Lithophyllum margaritae*. Los experimentos en el campo se realizaron en el Manto El Requesón del lado occidental de Bahía Concepción (Baja California Sur, México).

Figure 1. Collection and experimental site for the *Lithophyllum margaritae* rhodoliths. Field experiments were conducted at Manto El Requesón on the west side of Bahía Concepción (Baja California Sur, Mexico).

Calcium carbonate and organic matter content

The relationship between fresh and dry weight was established by blotting dry and weighing individuals of *L. margaritae*, then drying the samples in a 60°C oven until constant weight was obtained. Organic matter and CaCO_3 composition in the coralline alga were determined by eliminating CaCO_3 through acidification. Samples were dried to constant weight in a 60°C oven and individually placed in pre-weighed 100-mL beakers. Approximately 50 mL of 5% HCl (v/v) was added to each beaker and samples were incubated for 24 h at room temperature. The solution was decanted after the incubation period and more acid was added until all CaCO_3 was dissolved. Samples were rinsed with distilled water and dried to constant weight in an oven at 60°C. Organic matter and CaCO_3 composition was determined by subtraction from the pre-acidified weight.

Photosynthesis

Rhodoliths were collected from Bahía Concepción in winter and transported to the lab. Photosynthetic and respiratory rates relative to the temperature of *L. margaritae* were determined using polarographically-measured rates of steady-state O_2 evolution at 10°C, 15°C, 20°C, 25°C and 30°C. Six replicates of small, unbroken rhodoliths (approximately 0.1–0.2 g of tissue) were incubated in filtered seawater (0.45 μm , pH 8.1, 2.1 mM dissolved inorganic carbon) for each different temperature in jacketed chambers (5 mL) connected to a water-circulating bath after a 0.5-h pre-incubation period in darkness. Fresh material was used for each temperature trial. Quartzline halogen lamps (300 W) were used as a light source and

Crecimiento: técnica de peso boyante

El crecimiento del alga coralina fue determinado en el laboratorio usando la técnica de peso boyante propuesta para el crecimiento de corales por Jokiel *et al.* (1978). Se incubaron muestras de múltiples talos pesando aproximadamente 10 g en frascos de 1 L a 10°C y 25°C durante 60 h. Se suministró una irradiancia de aproximadamente 150 $\mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{s}^{-1}$ con focos fluorescentes, y el agua alrededor de las muestras se mantuvo en movimiento constante con un agitador magnético. El peso del tejido se determinó cada 12 h mediante la suspensión de la muestra en un vaso de laboratorio de 200 mL de agua de mar filtrada (1 μm) con un hilo de nilón sujeto a una balanza electrónica (Sartorius, 0.1 mg). El peso del CaCO_3 se calculó con base en el principio de Arquímedes empleando la siguiente ecuación:

$$W_{cc} = W_b + (V_{cc} \times D_w) \quad (1)$$

donde W_{cc} es el peso seco del CaCO_3 del alga coralina, W_b es el peso boyante de la muestra, V_{cc} es el volumen desplazado por el CaCO_3 del alga coralina y D_w es la densidad del agua de mar usada para suspender las muestras al pesarse (aprox. 1.03 g cm^{-3}). El producto $V_{cc} \times D_w$ es igual al peso del agua de mar desplazado por el CaCO_3 de la muestra.

La ecuación (1) puede describirse como:

$$W_{cc} = W_b + (D_w \times W_{cc} \times D_{cc}^{-1}) \quad (2)$$

o

$$W_{cc} = W_b \times (1 - D_w \times D_{cc}^{-1})^{-1} \quad (3)$$

donde D_{cc} es la densidad del CaCO_3 (2.71 g cm^{-3}). Al sustituir las densidades del CaCO_3 y el agua de mar, se obtiene la siguiente ecuación general:

$$W_{cc} = 1.61 W_b \quad (4)$$

Este método supone, primero, que todo el esqueleto calcáreo del alga está compuesto de carbonatos; ya se ha mostrado que la composición de las algas coralinas puede variar según la especie, pero en este estudio resultó ser de 92% de CaCO_3 (ver la sección de resultados). Segundo, que no hay espacios de aire dentro del esqueleto de las algas coralinas ya que el atrapamiento de aire, especialmente en rodolitos muy ramificados, puede introducir errores de peso; este error puede minimizarse al eliminar las burbujas atrapadas dentro del esqueleto del rodolito. Tercero, que la densidad del tejido orgánico es igual a la del agua de mar; el agua puede constituir más de 80% de la materia orgánica en algas marinas, por lo que se puede suponer que la densidad del tejido de algas marinas es muy similar a la del agua de mar.

irradiancia was varied using neutral-density filters. Maximum oxygenic photosynthesis (P_{max}), the initial slope of the photosynthesis vs irradiance curve (α), the threshold for irradiance-saturated photosynthesis (E_k) and respiration were determined by a nonlinear direct fitting algorithm (Sigma Plot, Jandel Scientific) of the data to the exponential function of Webb *et al.* (1974).

Growth: buoyant weight technique

Growth of the coralline alga was determined in the lab using the buoyant weight technique proposed for coral growth by Jokiel *et al.* (1978). Eight replicas of multiple thalli weighing approximately 10 g were incubated in 1-L flasks at 10°C and 25°C for 60 h. Irradiance of approximately 150 $\mu\text{mol photon m}^{-2} \text{s}^{-1}$ was supplied with fluorescent bulbs and the water around the samples was constantly agitated using a magnetic stirrer. The weight of the tissue was determined every 12 h by suspending the sample in a beaker with 200 mL of filtered seawater (1 μm) by a nylon string attached to a electronic balance (Sartorius, 0.1 mg). The weight of CaCO_3 was calculated based on Archimedes' Principle using the following equation:

$$W_{cc} = W_b + (V_{cc} \times D_w) \quad (1)$$

where W_{cc} is the dry weight of the CaCO_3 of the coralline alga, W_b is the buoyant weight of the sample, V_{cc} is the volume displaced by the CaCO_3 of the coralline alga, and D_w is the density of the seawater used to suspend the samples during weighing (approx. 1.03 g cm^{-3}). The product of $V_{cc} \times D_w$ is equal to the weight of the seawater displaced by the sample's CaCO_3 .

Equation (1) can be rearranged as:

$$W_{cc} = W_b + (D_w \times W_{cc} \times D_{cc}^{-1}) \quad (2)$$

or

$$W_{cc} = W_b \times (1 - D_w \times D_{cc}^{-1})^{-1} \quad (3)$$

where D_{cc} is the density of CaCO_3 (2.71 g cm^{-3}). Substituting the density of CaCO_3 and seawater the following general equation is obtained:

$$W_{cc} = 1.61 W_b \quad (4)$$

This method assumes, first that the entire calcareous skeleton of the alga is composed of carbonates; it has been previously shown that the composition of coralline algae can vary relative to the species, but in the present study it was found to be 92% CaCO_3 (see results section). Second, that there are no air spaces within the skeleton of the coralline algae since the entrapment of air, especially in highly ramified rhodoliths, can introduce weighing errors; this error can be minimized by eliminating bubbles entrapped within the rhodolith skeleton.

Calcificación/alcalinidad

Se incubaron ocho muestras replicadas de múltiples rodolitos intactos, que pesaban aproximadamente 10 g, en frascos de 1 L a 10°C y 25°C durante 60 h. Se suministró una irradiancia de aproximadamente $150 \mu\text{mol fotón m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ mediante focos fluorescentes y el agua alrededor de las muestras se mantuvo en movimiento constante con un agitador magnético. Las determinaciones de alcalinidad total se realizaron en muestras de agua de mar aproximadamente cada 10 h usando un titulador automático según la técnica descrita por Hernández-Ayón *et al.* (1999). Se obtuvieron muestras usando jeringas de 50 mL y el volumen titulado fue pesado con una balanza analítica (aprox. 30 mL). La titulación comenzó después de registrarse el voltaje inicial (mV) y terminó después de que el segundo pico (bicarbonato) había sido claramente rebasado. El ácido se calibró contra agua de mar certificada como material de referencia para CO_2 total y alcalinidad total, obtenido del Dr. Andrew Dickson de la Institución de Oceanografía de Scripps. El cambio en alcalinidad total en el agua de mar fue convertido a μg de CaCO_3 fijado en los talos rodolíticos mediante la siguiente fórmula: calcificación ($\mu\text{mol gPS}^{-1} \text{ h}^{-1}$) = $\Delta\text{AT} \nu (2 \text{ PS } \Delta t)^{-1}$, donde ΔAT es el cambio de alcalinidad total, ν es el volumen de incubación, PS es el peso seco de la muestra y Δt es el tiempo de incubación. Se supone que la alcalinidad total disminuye en dos equivalentes por cada mol de CaCO_3 precipitado (Martin *et al.* 2006).

Crecimiento: tinción con alizarina en el campo

Para examinar el efecto de la estación del año sobre el crecimiento de los rodolitos en el campo, se estimaron las tasas de crecimiento *in situ* en intervalos oportunistas en el Manto El Requesón en Bahía Concepción durante dos veranos (1999 y 2000) y un invierno (1999). Al inicio de cada temporada se recolectaron aproximadamente 20 talos de rodolitos de 2 a 4 cm de diámetro, de entre 5 y 8 m de profundidad (fig. 2a). Se etiquetaron individualmente con una cinta delgada de plástico y se tiñeron en una solución de 0.025% (p/v) de alizarina roja en agua de mar con aireación durante 24 h (Andrake y Johansen 1980, Agegian 1985, Rivera *et al.* 2004). Se generó una banda detectable (línea de tiempo) en el momento de la tinción (fig. 2b), ya que la alizarina roja se adhiere al CaCO_3 de las células medulares terminales y la capa epitelial. Los rodolitos fueron recolocados a 8 m de profundidad dentro del manto, entre otros individuos no teñidos, en un contenedor destapado de $1 \times 1 \times 0.25$ m. El periodo de incubación varió por temporada, y fue de 70 días en el verano de 1999, de 160 días en el invierno de 1999 y de 84 días en el verano de 2000. Se midió la temperatura subsuperficial a 8 m de profundidad con un sistema digital de adquisición de datos de temperatura (Onset Comp., EUA).

Al recuperarlos, se midió el eje más ancho de cada planta y se incluyeron las puntas de diez ramas por planta paralelas al eje de crecimiento en resina epóxica y se lijaron para exponer

Third, that the density of organic tissue is equal to that of seawater; water can account for more than 80% of the organic matter in seaweeds, thus it is safe to assume that seaweed tissue density is very similar to that of seawater.

Calcification/alkalinity

Eight replicate samples of multiple unbroken rhodoliths weighing approximately 10 g were incubated in 1-L flasks at 10°C and 25°C for 60 h. Irradiance of approximately $150 \mu\text{mol photon m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ was supplied by fluorescent bulbs and the water around the samples was constantly agitated using a magnetic stirrer. Total alkalinity determinations were performed on seawater samples approximately every 10 h using an automatic titrator according to a technique described by Hernández-Ayón *et al.* (1999). Samples were obtained using 50-mL syringes and the titrated volume was weighed using an analytical balance (approx. 30 mL). The titration started after the initial mV value was recorded and stopped after the second peak (bicarbonate) had been clearly passed. The acid was calibrated against seawater certified as reference material (CRM) for total CO_2 and total alkalinity obtained from Dr. Andrew Dickson at the Scripps Institution of Oceanography. Change in total alkalinity in seawater was converted to μg CaCO_3 fixed in the rhodolith thallus using the following formula: calcification ($\mu\text{mol gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$) = $\Delta\text{TA} \nu (2 \text{ DW } \Delta t)^{-1}$, where ΔTA is the change in total alkalinity, ν is the incubation volume, DW is the dry weight of the sample and Δt is the incubation time. It is assumed that total alkalinity decreases by two equivalents for each mol of CaCO_3 precipitated (Martin *et al.* 2006).

Growth: field alizarin staining

To examine the effect of season on rhodolith growth in the field, growth rates were estimated *in situ* at opportunistic intervals at Manto El Requesón in Bahía Concepción for two summer seasons (1999 and 2000) and one winter season (1999). At the beginning of each time period, approximately 20 rhodolith thalli measuring 2–4 cm in diameter were collected from 5–8 m depth (fig. 2a), individually tagged with thin plastic tape and stained in an aerated 0.025% (w/v) alizarin red seawater solution for 24 h (Andrake and Johansen 1980, Agegian 1985, Rivera *et al.* 2004). A detectable band (time line) was created at the time of staining (fig. 2b), since the alizarin red adheres to the CaCO_3 of the terminal medullary cells and the epithelial layer. Rhodoliths were then replaced at 8 m depth within the bed in a $1 \times 1 \times 0.25$ m open-topped enclosure among other unstained individuals. The incubation period varied per time period and was 70 days in summer 1999, 160 days in winter 1999 and 84 days in summer 2000. Subsurface temperature was measured at 8 m with a digital temperature logger (Onset Comp., USA).

Upon recovery, the widest axis per plant was measured and ten branch tips per plant were embedded parallel to the growth axis in epoxy resin and mechanically ground to expose the

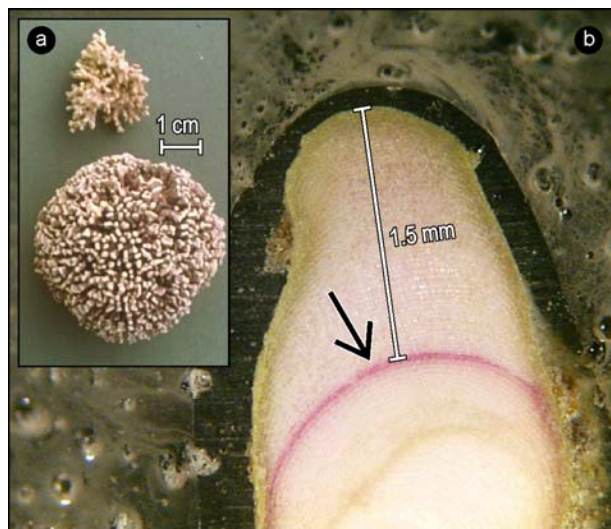


Figura 2. (a) Talos de rodolitos de *Lithophyllum margaritae* vivos y (b) corte de una ramificación apical con nuevo crecimiento rebasando la marca de alizarina roja (flecha).

Figure 2. (a) Live *Lithophyllum margaritae* rhodolith thalli, and (b) cross-section of branch tip with new growth extending beyond the alizarin stain (arrow).

la banda interna de alizarina roja. Se midió el nuevo crecimiento apical entre la línea de alizarina roja proximal y el ápice en tres talos individuales por temporada (fig. 2b). El crecimiento medio a través de todas las ramas dentro de un talo generaron una extensión apical o crecimiento radial medio. Los valores se estandarizaron al número de días en el campo y las tasas de crecimiento anual se presentan como extensión apical en mm año⁻¹ con relación a la temporada.

Análisis estadístico

Se examinaron las diferencias significativas de $P_{\max}$, α , E_k y respiración mediante un análisis de varianza de una vía después de comprobar la normalidad y homoscedasticidad de los datos (Sokal y Rohlf 1994). Todas las comparaciones múltiples por pares se realizaron con la prueba de Tukey. La significancia de las correlaciones entre el contenido de CaCO₃ y el peso seco y contenido de materia orgánica, así como el incremento de peso y alcalinidad vs el tiempo de incubación se verificaron mediante la correlación del movimiento del producto de Pearson. El nivel mínimo de significancia se estableció en $P < 0.05$. Se graficaron las regresiones lineales de mejor ajuste usando SigmaPlot (Systat Software, Inc., EUA) y el coeficiente de determinación (r^2) se calculó de acuerdo con Sokal y Rohlf (1994). Las estimaciones estacionales de crecimiento en el campo fueron comparadas mediante una prueba t . Los valores se expresaron como media $\pm$ desviación estándar.

Resultados

Con base en los experimentos realizados en el laboratorio, se encontró una fuerte correlación ($r^2 = 0.99$, $P < 0.05$) entre el peso fresco y seco de las algas coralinas en la que el peso seco

internal alizarin red-dye band. New apical growth extending beyond the proximal alizarin red line to the apex was measured from three individual thalli per time period (fig. 2b). The average growth across all branches within a thallus generated a mean radial growth or tip extension. Values were standardized by the number of days in the field and annual growth rates are presented as tip extension in mm yr⁻¹ relative to the season.

Statistical analysis

Significant differences of $P_{\max}$, α , E_k and respiration were examined using a one-way ANOVA after testing for normality and homoscedasticity of the data (Sokal and Rohlf 1994). All pairwise multiple comparisons were conducted using Tukey's test. The significance of correlations between CaCO₃ content and dry weight and organic matter content, as well as weight increase and alkalinity vs incubation time were tested using Pearson's product-movement correlations. Minimum significance level was established at $P < 0.05$. Best-fit linear regressions were drawn in the figures using SigmaPlot (Systat Software, Inc., USA) and the coefficient of determination (r^2) was calculated according to Sokal and Rohlf (1994). Seasonal field growth estimates were compared using a t -test. Values were expressed as mean $\pm$ standard deviation.

Results

Based on the experiments done in the lab we found that there was a strong correlation ($r^2 = 0.99$, $P < 0.05$) between fresh and dry weight of the coralline alga in which dry weight represented 82% of the fresh weight of the tissue (fig. 3a). The CaCO₃ content in the rhodolith thallus also followed a strong, linear correlation ($r^2 = 0.99$, $P < 0.05$) in which the CaCO₃ content represented approximately 92% of the dry weight of the thallus (fig. 3b). There was also a positive correlation ($r^2 = 0.96$, $P < 0.05$) between the CaCO₃ content and organic matter in the tissue of *L. margaritae* (fig. 3c).

Photosynthetic rates of *L. margaritae* fluctuated significantly ($P < 0.05$) as a result of incubation temperature (fig. 4). Maximum photosynthetic rates were observed at 25–30°C, while minimum rates were observed at 10–20°C (fig. 5a). Photosynthetic rates increased approximately five-fold ($P < 0.05$) as the temperature increased, from 3.45 ± 0.28 $\mu\text{mol O}_2$ gDW⁻¹ h⁻¹ at 10°C to 15.9 ± 0.62 $\mu\text{mol O}_2$ gDW⁻¹ h⁻¹ at 25°C (table 1). In contrast to the $P_{\max}$ values, the initial slope of the photosynthesis vs irradiance curve (α) did not change significantly ($P > 0.05$) in tissue samples incubated from 10°C to 30°C (fig. 5b). Similar to $P_{\max}$, the E_k values increased significantly, more than four-fold ($P < 0.05$), in tissue incubated at 10°C (63 ± 13 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) compared with tissue incubated at 25°C (290 ± 36 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (fig. 5c). Respiratory rates increased five-fold ($P < 0.05$), from 0.33 ± 0.28 to 1.59 ± 0.49 $\mu\text{mol O}_2$ gDW⁻¹ h⁻¹ at 10–15°C and 30°C, respectively (fig. 6). In general, photosynthetic rates were

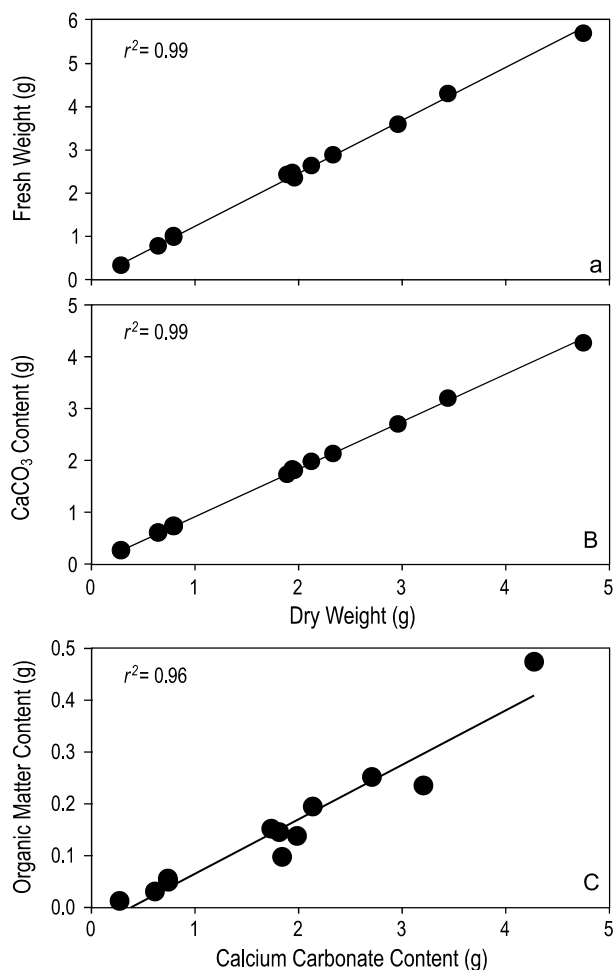


Figura 3. (a) Peso seco vs. peso fresco, (b) peso seco vs. contenido de carbonato de calcio y (c) carbonato de calcio vs. contenido de materia orgánica en el talo de *Lithophyllum margaritae*.

Figure 3. (a) Dry weight vs fresh weight, (b) dry weight vs calcium carbonate content, and (c) calcium carbonate vs organic matter content in the thallus of *Lithophyllum margaritae*.

representó 82% del peso fresco del tejido (fig. 3a). El contenido de CaCO_3 en el talo rodolítico también presentó una fuerte correlación lineal ($r^2 = 0.99$, $P < 0.05$) en la que el contenido de CaCO_3 representó aproximadamente 92% del peso seco del talo (fig. 3b). También se observó una correlación positiva ($r^2 = 0.96$, $P < 0.05$) entre el contenido de CaCO_3 y materia orgánica en el tejido de *L. margaritae* (fig. 3c).

Las tasas fotosintéticas de *L. margaritae* fluctuaron significativamente ($P < 0.05$) en relación con la temperatura de incubación (fig. 4), observándose valores máximos a 25–30°C y mínimos a 10–20°C (fig. 5a). Las tasas fotosintéticas se quintuplicaron ($P < 0.05$) a medida que la temperatura se incrementó, desde $3.45 \pm 0.28 \mu\text{mol O}_2 \text{ gPS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 10°C hasta $15.9 \pm 0.62 \mu\text{mol O}_2 \text{ gPS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 25°C (tabla 1). En contraste con los valores de P_{max} , la pendiente inicial de la curva de fotosíntesis vs irradiancia (α) no cambió significativamente ($P > 0.05$) para las muestras de tejido incubadas a temperaturas de 10°C a

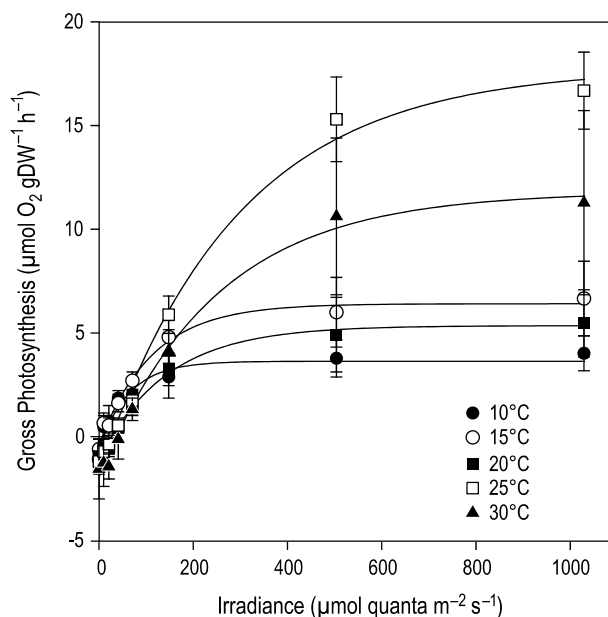


Figura 4. Relación entre irradiancia y fotosíntesis neta en *Lithophyllum margaritae* en función de la temperatura.

Figure 4. Irradiance vs net photosynthesis relationship in *Lithophyllum margaritae* as a function of temperature.

approximately ten-fold greater than respiratory rates (table 1).

There was a positive linear relationship between incubation time and weight increase of the rhodoliths, as determined by the buoyant weight method. There were clear differences in growth rates between *L. margaritae* incubated at 10°C and 25°C (fig. 7). Growth rates were approximately six-fold greater ($P < 0.05$) in samples incubated for 60 h at 25°C ($6.30 \pm 0.65 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$, 0.24% d⁻¹) than at 10°C ($0.96 \pm 0.05 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$, 0.03% d⁻¹) (table 1).

Alkalinity in the seawater decreased linearly ($P < 0.05$) as a function of time when samples of *L. margaritae* were incubated for up to 60 h in the light (fig. 8a). In contrast, samples incubated in the dark did not change the alkalinity of the seawater throughout the incubation period (fig. 8b). The calcification rate for samples incubated at 10°C was $1.02 \pm 0.34 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$, but for samples incubated at

Tabla 1. Tasas de fotosíntesis y de calcificación de *Lithophyllum margaritae* incubada a dos temperaturas (10°C y 25°C) en el laboratorio.

Table 1. Photosynthetic and calcification rates of *Lithophyllum margaritae* incubated at two temperatures (10°C and 25°C) in the laboratory.

	10°C	25°C
P_{max} ($\mu\text{mol O}_2 \text{ gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	3.45 ± 0.28	15.90 ± 0.62
Respiration ($\mu\text{mol O}_2 \text{ gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	0.47 ± 0.22	1.41 ± 0.30
Calcification:		
Buoyant weight ($\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	0.96 ± 0.05	6.30 ± 0.65
Alkalinity ($\mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$)	1.02 ± 0.34	3.26 ± 0.49

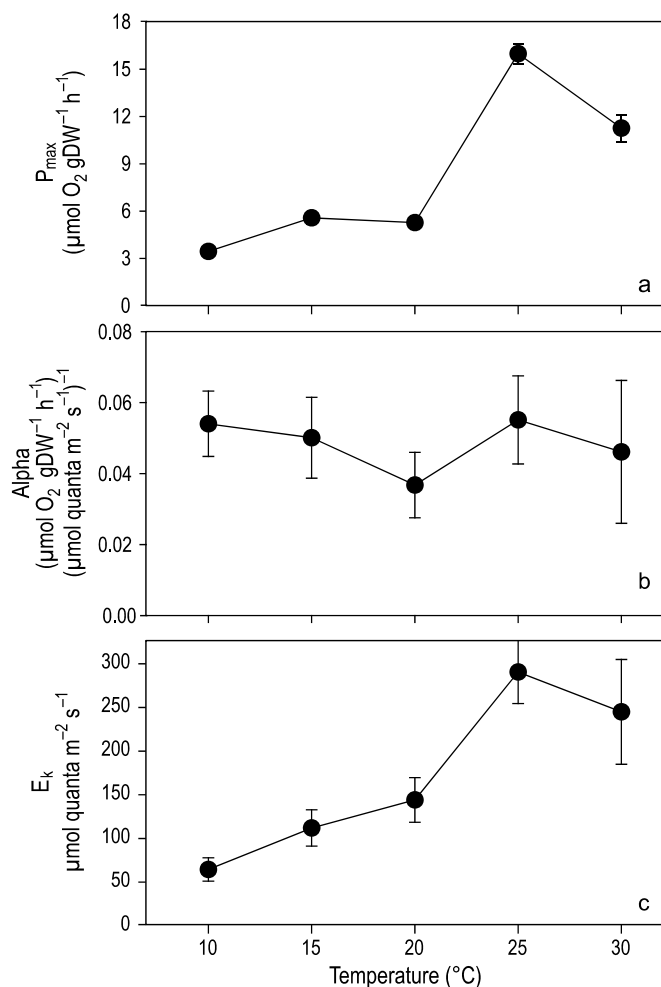


Figura 5. (a) Fotosíntesis máxima ($P_{\max}$), (b) pendiente inicial de la curva P vs. E (α) y (c) coeficiente de subsaturación (E_k) en función de la temperatura en *Lithophyllum margaritae*. Los valores ($X \pm DE$, $n = 6$) se determinaron mediante electrodos de oxígeno. Las barras de error que no se muestran son menores que el tamaño del símbolo.

Figure 5. (a) Maximum photosynthesis ($P_{\max}$), (b) initial slope of the P vs E curve (α), and (c) threshold for irradiance-saturated photosynthesis (E_k) as a function of temperature in *Lithophyllum margaritae*. Values ($X \pm SD$, $n = 6$) were determined using oxygen electrodes. Error bars not shown are smaller than symbol size.

30°C (fig. 5b). Al igual que $P_{\max}$, los valores de E_k se incrementaron significativamente (más de cuatro veces, $P < 0.05$) en el tejido incubado a 10°C ($63 \pm 13 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en comparación con el tejido incubado a 25°C ($290 \pm 36 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (fig. 5c). Las tasas respiratorias se quintuplicaron ($P < 0.05$) desde 0.33 ± 0.28 hasta $1.59 \pm 0.49 \mu\text{mol O}_2 \text{ gPS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ a 10–15°C y 30°C, respectivamente (fig. 6). En general, las tasas fotosintéticas fueron aproximadamente diez veces mayores que las respiratorias (tabla 1).

Con base en el método de peso boyante se encontró una relación lineal positiva entre el tiempo de incubación y el incremento de peso de los rodolitos. Se observaron claras diferencias en las tasas de crecimiento obtenidas para *L. margaritae* incubada a 10°C y 25°C (fig. 7), las cuales fueron

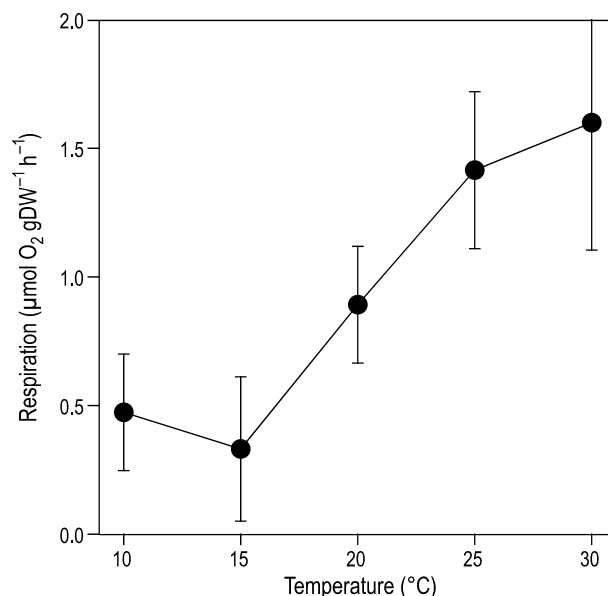


Figura 6. Tasas respiratorias ($X \pm DE$, $n = 6$) en función de la temperatura de incubación de *Lithophyllum margaritae*.

Figure 6. Respiratory rates ($X \pm SD$, $n = 6$) as a function of incubation temperature in *Lithophyllum margaritae*.

25°C it was three-fold greater ($P < 0.05$), $3.26 \pm 0.49 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gDW}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (table 1).

During the 1999–2000 field growth measurements, seawater temperatures at 8 m depth in Bahía Concepción ranged from 18°C in winter to 30.5°C in summer. New growth beyond the alizarin stain was often a combination of apical and lateral. Apical tip extension rates were significantly greater in summer than in winter (5.02 ± 1.16 vs $0.83 \pm 0.28 \text{ mm yr}^{-1}$ respectively, $t = 2.45$, d.f. = 7, $P < 0.05$).

Discussion

Rhodolith beds along the Gulf of California play a critical role in the ecology of shallow coastal environments (Riosmena-Rodríguez *et al.* in press) and this study establishes the dynamic physiology of a subtropical rhodolith species. Here we demonstrate that the photosynthetic and respiratory potential, and the calcification rates of the coralline alga *L. margaritae* are strikingly different at varying temperatures and may be strongly regulated by changes in seawater temperature. These results also suggest that growth of *L. margaritae* likely follows seasonal patterns strongly regulated by changes in seawater temperature. To the best of our knowledge, this is the first time the buoyant weight, alizarin and alkalinity methods are used simultaneously to determine growth and calcification rates in marine coralline algae.

Calcium carbonate deposition in the thalli of coralline algae is species dependent, and in this study it was found to represent more than 90% of the *L. margaritae* mass. A consequence of the large amount of CaCO_3 in their thalli is that rhodoliths, through fragmentation and death, contribute great quantities of

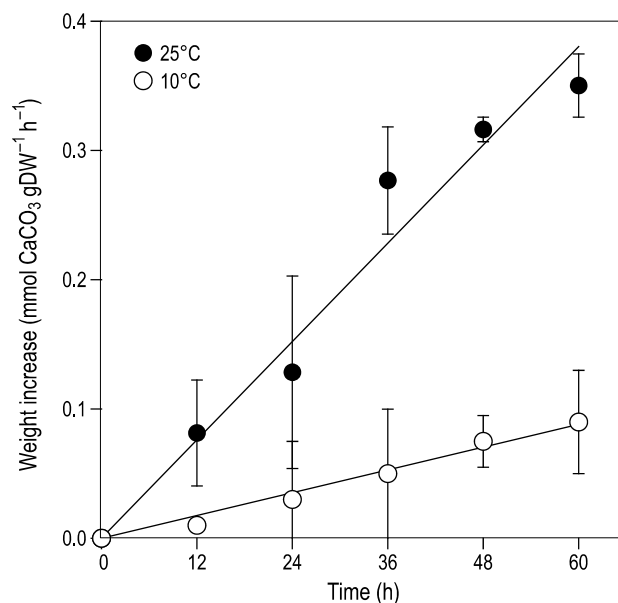


Figura 7. Incremento de peso boyante en función del tiempo de incubación del tejido de *Lithophyllum margaritae* incubado a 10°C y 25°C. Los símbolos representan la media ($n = 8$) $\pm$ desviación estándar. Las barras de error que no se muestran son menores que el tamaño del símbolo.

Figure 7. Buoyant weight increase as a function of incubation time of *Lithophyllum margaritae* tissue incubated at 10°C and 25°C. Symbols represent mean ($n = 8$) $\pm$ standard deviation. Error bars not shown are smaller than symbol size.

aproximadamente seis veces mayores ($P < 0.05$) en las muestras incubadas durante 60 h a 25°C ($6.30 \pm 0.65 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gPS}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $0.24\% \text{ d}^{-1}$) que en las incubadas a 10°C ($0.96 \pm 0.05 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gPS}^{-1} \text{ h}^{-1}$, $0.03\% \text{ d}^{-1}$) (tabla 1).

La alcalinidad del agua de mar decreció linealmente ($P < 0.05$) en función del tiempo en las muestras de *L. margaritae* incubadas durante 60 h con luz (fig. 8a). En contraste, en las muestras incubadas en la oscuridad no se observó ningún cambio en la alcalinidad del agua de mar a lo largo del periodo de incubación (fig. 8b). La tasa de calcificación para las muestras incubadas a 10°C fue de $1.02 \pm 0.34 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gPS}^{-1} \text{ h}^{-1}$, pero fue tres veces mayor ($P < 0.05$) en las muestras incubadas a 25°C, de $3.26 \pm 0.49 \mu\text{mol CaCO}_3 \text{ gPS}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (tabla 1).

Durante las mediciones de crecimiento en el campo en 1999 y 2000, las temperaturas del agua de mar a 8 m de profundidad en Bahía Concepción fluctuaron entre 18°C en invierno y 30.5°C en verano. El nuevo crecimiento rebasando la marca de alizarina, frecuentemente fue una combinación de crecimiento apical y lateral. Las tasas de extensión apical fueron significativamente mayores en verano que en invierno (5.02 ± 1.16 vs $0.83 \pm 0.28 \text{ mm a}^{-1}$ respectivamente, $t = 2.45$, g.l. = 7, $P < 0.05$).

Discusión

Los mantos de rodolitos a lo largo del Golfo de California juegan un papel importante en la ecología de los ambientes costeros someros (Riosmena-Rodríguez *et al.* en prensa) y el

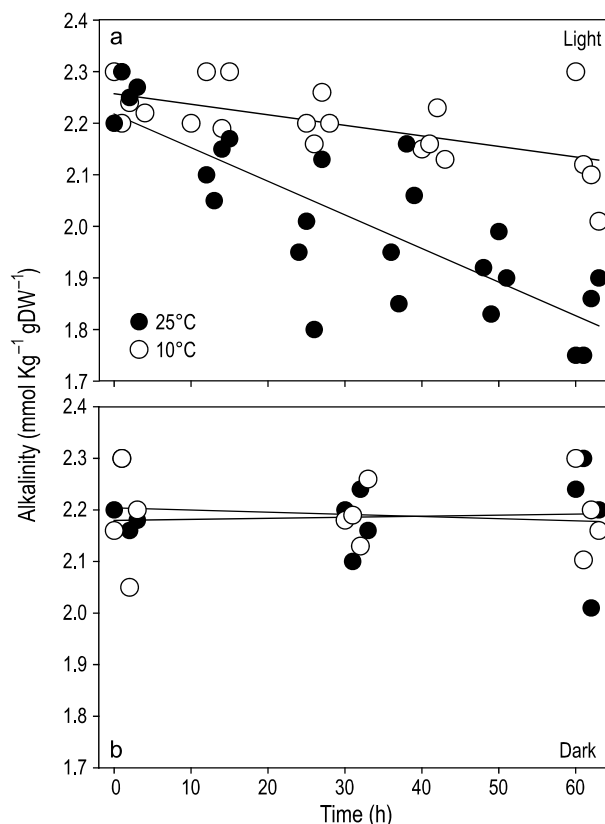


Figura 8. Cambios en la alcalinidad del agua de mar en función del tiempo en el tejido de *Lithophyllum margaritae* incubado a 10°C y 25°C bajo condiciones de luz (a) y oscuridad (b).

Figure 8. Changes in seawater alkalinity as a function of time in *Lithophyllum margaritae* tissue incubated at 10°C and 25°C under light (a) and dark (b) conditions.

carbonate sediments to coastal areas in the Gulf of California and worldwide (Bosence 1983, Foster *et al.* 1997). Regardless of their slow growth rates, the CaCO_3 from these coralline algae have contributed to geologic features along the Baja California Peninsula in the form of coastal dunes (Sewell *et al.* 2007) and uplifted fossil deposits (Johnson *et al.* 2007). Prior to this study, there were no data on the calcification rates of *L. margaritae* in the Gulf of California.

Photosynthetic curves for *L. margaritae* followed the typical photosynthetic vs irradiance relationship observed for other marine algae (King and Schramm 1976). Photosynthetic rates of *L. margaritae*, however, were much lower than those observed for noncoralline seaweeds. Though *L. margaritae* photosynthesizes and grows across seasonal conditions, optimal conditions appear to occur at $\sim 25^\circ\text{C}$. Maximum photosynthesis and respiration showed the greatest fluctuations as a result of changes in water temperature. These metabolic processes are enzymatically regulated and consequently are temperature sensitive. Growth integrates photosynthetic carbon incorporation, respiratory losses, calcification and other enzymatically-regulated processes; thus, it is also temperature sensitive, as observed in our experiments. Our experiments suggest that lower photosynthetic and growth rates under

presente estudio establece la fisiología dinámica de una especie de rodolito subtropical. Aquí se demuestra que el potencial fotosintético y respiratorio, así como las tasas de calcificación del alga coralina *L. margaritae* son notablemente diferentes a temperaturas fluctuantes y pueden ser fuertemente reguladas por cambios en la temperatura del agua de mar. Estos resultados también sugieren que el crecimiento de *L. margaritae* probablemente esté relacionado con los patrones estacionales controlados por los cambios en la temperatura del agua. Según nuestro conocimiento, ésta es la primera vez que se utilizan simultáneamente los métodos de peso boyante, tinción con alizarina y alcalinidad para determinar las tasas de crecimiento y calcificación en algas coralinas marinas.

El depósito de CaCO_3 en los talos de las algas coralinas depende de la especie; en este estudio representó más de 90% de la masa de *L. margaritae*. Una consecuencia de esta gran cantidad de CaCO_3 en sus talos es que los rodolitos, tras su fragmentación y muerte, aportan grandes cantidades de sedimentos de carbonato a las zonas costeras del Golfo de California y otras partes del mundo (Bosence 1983, Foster *et al.* 1997). A pesar de sus lentas tasas de crecimiento, el CaCO_3 producido por estas algas coralinas ha contribuido a ciertos rasgos geológicos a lo largo de la Península de Baja California como dunas costeras (Sewell *et al.* 2007) y depósitos fósiles levantados (Johnson *et al.* 2007). Hasta este estudio no existían datos sobre las tasas de calcificación de *L. margaritae* en el Golfo de California.

Las curvas fotosintéticas obtenidas para *L. margaritae* mostraron la típica relación entre fotosíntesis e irradiación encontrada para otras algas marinas (King y Schramm 1976); sin embargo, las tasas fotosintéticas de *L. margaritae* fueron mucho menores que las observadas en algas marinas no coralinas. Aunque *L. margaritae* fotosintetiza y crece durante las diferentes épocas del año, sus condiciones óptimas parecen darse a $\sim 25^\circ\text{C}$. La P_{max} y la respiración presentaron mayor fluctuación como resultado de los cambios en la temperatura del agua. Como tales procesos metabólicos están regulados enzimáticamente son sensibles a la temperatura. El crecimiento integra la incorporación fotosintética de carbono, las pérdidas respiratorias, la calcificación y otros procesos regulados enzimáticamente, por lo que también es sensible a la temperatura, como demostró este estudio. Nuestros experimentos sugieren que las reducidas tasas de fotosíntesis y crecimiento a temperaturas altas ($\geq 30^\circ\text{C}$) o bajas ($\leq 20^\circ\text{C}$) podrían tener efectos perjudiciales sobre las poblaciones de rodolitos que se recuperan de perturbaciones o excavaciones, ya que se podrían predecir menores tasas de recuperación. La temperatura anual media en Bahía Concepción es $\sim 24.8^\circ\text{C}$, pero las temperaturas mínimas pueden ser menores a 8°C en invierno y las máximas pueden rebasar los 30°C en verano (base de datos de 20 años del Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste [CIBNOR]; Steller 2003). Los resultados de nuestros experimentos de fotosíntesis y respiración indican claramente que la productividad primaria de *L. margaritae* es regulada por las

elevated ($\geq 30^\circ\text{C}$) or reduced ($\leq 20^\circ\text{C}$) temperatures could have detrimental effects on rhodolith populations recovering from disturbance or excavation due to predicted slower recovery rates. The mean annual temperature in Bahía Concepción is $\sim 24.8^\circ\text{C}$, but minimum temperatures reach below 8°C in the winter and maximum temperatures are above 30°C in the summer (Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste [CIBNOR] 20-year data set; Steller 2003). Thus, the photosynthetic and respiratory results of our lab experiments clearly indicate that primary productivity of *L. margaritae* is regulated by seawater temperature fluctuations, as has been observed in a number of calcifying and noncalcifying algae (Cabello-Pasini *et al.* 2003, Martin *et al.* 2006). Furthermore, these results are consistent with the faster calcification and growth rates observed in the field for this species in summer relative to winter. Martin *et al.* (2006) reported similar strong seasonal differences in the primary production, respiration and calcification rates of the North Atlantic species *Lithothamnion corallioides* when temperature varied between summer (16.5°C) and winter (10°C). In contrast, optimum quantum yield of photosystem II (PSII) using PAM fluorometry on another North Atlantic species showed no “seasonal” temperature effect when comparing *Phymatolithon calcareum* at 9°C and 17°C (Wilson *et al.* 2004). These results are consistent with our observations in which the initial slope of the photosynthesis vs irradiance curve (α) remained relatively stable across all assayed temperatures. This can be explained by the fact that while P_{max} and respiration are enzymatically-regulated processes, α (oxygenic method) and optimum quantum yield of PSII are photochemical processes that are generally insensitive to temperature.

Carbon incorporation rates through photosynthesis and calcification can show different patterns depending on the species, location, dissolved inorganic carbon and study method. Primary production and calcification rates measured in *L. corallioides* and *Corallina pilulifera*, for example, were relatively similar (Gao *et al.* 1993, Martin *et al.* 2006). In our study, however, photosynthetic rates were two- to three-fold greater than calcification rates. This suggests that photosynthetic vs calcification rates are species-specific and that calcification rates evaluated through alkalinity, as an increase of buoyant weight and/or staining methods, may better represent the overall productivity of these rhodoliths.

The buoyant weight technique as well as the evaluation of total seawater alkalinity changes were shown to be effective methods for determining calcification in *L. margaritae* over relatively short incubation periods (< 60 h). This technique was previously used to estimate growth rates in the coralline alga *L. corallioides* in France using incubation periods of over 250 d (Potin *et al.* 1990). Our results are very similar to those observed in *L. corallioides* (approx. $0.025\text{--}0.25\%$ d^{-1}), but the incubation period in our experiments was 60 h. Both techniques (buoyant weight and alkalinity) provided similar calcification rates in samples incubated at 10°C ; however, the buoyant weight method gave two-fold greater rates than the

fluctuaciones en la temperatura del agua de mar, tal y como ha sido registrado para varias algas coralinas y no coralinas (Cabello-Pasini *et al.* 2003, Martin *et al.* 2006). Asimismo, estos resultados coinciden con las mayores tasas de crecimiento y calcificación observadas en el campo en el verano para esta especie que en el invierno. Martin *et al.* (2006) también encontraron marcadas diferencias estacionales en las tasas de producción primaria, respiración y calcificación de la especie del Atlántico Norte *Lithothamnion corallioides* con los cambios en temperatura entre verano (16.5°C) e invierno (10°C). Por otro lado, el rendimiento cuántico óptimo del fotosistema II (FSII) usando fluorometría PAM en otra especie del Atlántico Norte no mostró ningún efecto de temperatura “estacional” al comparar *Phymatolithon calcareum* a 9°C y 17°C (Wilson *et al.* 2004). Estos resultados coinciden con nuestras observaciones en el sentido de que la pendiente inicial de la curva fotosíntesis vs irradiancia (α) permaneció relativamente estable a todas las temperaturas usadas. Esto puede explicarse por el hecho de que $P_{\max}$ y la respiración son procesos regulados enzimáticamente, mientras que α (método oxigénico) y el rendimiento cuántico óptimo del FSII son procesos fotoquímicos generalmente insensibles a la temperatura.

Las tasas de incorporación de carbono mediante la fotosíntesis y la calcificación muestran diferentes patrones según la especie, la localización, el carbono inorgánico disuelto y el método de estudio. Por ejemplo, las tasas de producción primaria y de calcificación que se han medido para *L. corallioides* y *Corallina pilulifera* son relativamente similares (Gao *et al.* 1993, Martin *et al.* 2006), pero en nuestro estudio las tasas fotosintéticas fueron de dos a tres veces mayores que las de calcificación. Esto sugiere que las tasas fotosíntesis vs calcificación son específicas para cada especie y que las tasas de calcificación evaluadas mediante la alcalinidad, como un incremento del peso boyante y/o por métodos de tinción, pueden resultar más representativas de la productividad total de estos rodolitos.

Tanto la técnica del peso boyante como la evaluación de los cambios de alcalinidad total en el agua de mar resultaron ser métodos efectivos para determinar la calcificación de *L. margaritae* en periodos de incubación relativamente cortos (<60 h). Esta técnica fue utilizada para estimar las tasas de crecimiento en la alga coralina *L. corallioides* en Francia usando periodos de incubación de más de 250 d (Potin *et al.* 1990). Nuestros resultados son muy similares a los obtenidos para *L. corallioides* (aprox. 0.025–0.25% d⁻¹), pero nosotros utilizamos un periodo de incubación de 60 h. Ambas técnicas (peso boyante y alcalinidad) proporcionaron tasas de calcificación similares para las muestras incubadas a 10°C; sin embargo, para las muestras incubadas a 25°C se obtuvieron tasas dos veces mayores con el método de peso boyante que con el de alcalinidad y esta discrepancia requiere estudios adicionales. El método de peso boyante es un procedimiento muy sencillo para evaluar el incremento en CaCO₃ en algas coralinas vivas. La gran variabilidad observada en las mediciones de alcalinidad

alkalinity method in samples incubated at 25°C and needs further research. The buoyant weight method is a very simple procedure to evaluate the increase of CaCO₃ mass in living coralline algae. The large variability observed in alkalinity measurements is likely the result of differences in photosynthetic/calcification surface area among samples. Rhodoliths show large fluctuations in ramification structure (Riosmena-Rodríguez *et al.* 1999), so the photosynthetic/calcification surface area of these coralline algae can also fluctuate widely.

Studies have reported positive but smaller calcification rates in the dark than in the light for *Corallina pilulifera*, while the dissolution of CaCO₃ thalli in crustose coralline algae incubated in darkness resulted in an increase in total alkalinity (Gattuso *et al.* 1997). However, we did not observe an increase in total alkalinity when rhodolith thalli were incubated in darkness for 60 h, indicating that CaCO₃ dissolution in darkness may not be occurring in *L. margaritae*. Clearly, light plays a key role in the calcification metabolism of *L. margaritae*. In the Gulf of California, rhodolith debris or biocalcarinite from modern beds form substrates several meters thick, while living rhodolith thalli generally form surface layers 2–20 cm thick (Foster *et al.* 1997). Periodically some living pigmented individuals, can partially or completely be buried 5–20 cm below the surface (Steller unpublished data). It is therefore possible that within rhodolith populations variation occurs in the rate of CaCO₃ precipitation relative to the vertical location within the superficial layers in the bed, with surface rhodoliths actively precipitating CaCO₃ onto their thalli at a higher rate than deeper or buried individuals. Living rhodoliths are likely buried and unburied by the occasional strong currents generated by high winds in the area (Jiménez *et al.* 2005) or bioturbation (Marrack 1999).

The alizarin stain proved to be an effective technique for evaluating the growth of *L. margaritae*. Growth rates reported here (0.83–5.02 mm yr⁻¹) are among the highest recorded for unattached rhodoliths (review in Foster 2001), and those evaluated in the field represent a more accurate record of the overall calcification rate than those obtained in the laboratory since field experiments incorporate natural abrasion due to current-induced movement and grazing. The growth rates obtained here for *L. margaritae* are in the upper range of the lab-derived calcification rates found for the temperate species *Phymatolithon calcareum* (0.5–2.7 mm yr⁻¹ tip extension, Bohm *et al.* 1978). The rates measured in this study are also greater than the estimates for another Gulf of California rhodolith species, *Lithothamnion muelleri* (was *crassiusculum*), measured using Mg:Ca relative to growth bands (0.3–0.5 mm yr⁻¹, Halfar *et al.* 2000), alizarin staining (0.68 mm yr⁻¹, Rivera *et al.* 2004; 0.6 mm yr⁻¹, Foster *et al.* 2007), and C¹⁴ dating (0.6 mm yr⁻¹, Frantz *et al.* 2000). Slower rates for *L. muelleri* are not surprising since this species has a less ramified morphology with wide, short branches and thus growth may be a combination of radial and apical growth.

probablemente sea resultado de las diferencias en área superficial para la fotosíntesis/calcificación entre muestras. Los rodolitos muestran fluctuaciones en su estructura de ramificación (Riosmena-Rodríguez *et al.* 1999), por lo que el área para fotosíntesis/calcificación de este tipo de algas coralinas también puede variar ampliamente.

En otros estudios se han registrado menores tasas de calcificación en la oscuridad que con luz para *Corallina pilulifera*, mientras que la disolución de CaCO_3 en los talos de algas coralinas incrustantes incubadas en la oscuridad dio como resultado un incremento en la alcalinidad total (Gattuso *et al.* 1997). En nuestros experimentos, sin embargo, no se observó un incremento en la alcalinidad total al incubar los talos rodolíticos durante 60 h en la oscuridad, lo que indica que posiblemente el CaCO_3 en *L. margaritae* no esté disolviéndose en la oscuridad. La luz evidentemente juega un papel importante en el metabolismo de calcificación de *L. margaritae*. En el Golfo de California, la biocalcarenita o restos de rodolitos de mantos modernos forman sustratos de varios metros de espesor, mientras que los talos de rodolitos vivos generalmente forman capas superficiales de 2 a 20 cm (Foster *et al.* 1997). Periódicamente algunos individuos pigmentados vivientes pueden estar parcial o totalmente enterrados de 5 a 20 cm por debajo de la superficie (Steller datos no publicados). Por tanto, es posible que entre las poblaciones de rodolitos exista una variación en la tasa de precipitación de CaCO_3 en relación con la localización vertical entre las capas superficiales del manto, de manera que los rodolitos superficiales precipitan más activamente el CaCO_3 sobre sus talos que los que se encuentran a mayores profundidades o enterrados. Los rodolitos vivos probablemente sean enterrados y desenterrados por las fuertes corrientes ocasionalmente generadas por vientos fuertes en la región (Jiménez *et al.* 2005) o por la bioturbación (Marrack 1999).

La tinción con alizarina resultó ser una técnica efectiva para la evaluación del crecimiento de *L. margaritae*. Las tasas de crecimiento aquí reportadas ($0.83\text{--}5.02\text{ mm año}^{-1}$) son de las más altas registradas para rodolitos sueltos (para una revisión ver Foster 2001), y las obtenidas en el campo respresentan un dato más preciso de la tasa de calcificación global que las que se obtienen en el laboratorio ya que los experimentos *in situ* incorporan la abrasión natural debida al movimiento generado por las corrientes y el pastoreo. Nuestras tasas de crecimiento para *L. margaritae* se ubican en el intervalo mayor de las tasas de calcificación obtenidas en el laboratorio para la especie de clima templado *Phymatolithon calcareum* (extensión apical: $0.5\text{--}2.7\text{ mm año}^{-1}$, Bohm *et al.* 1978). Las tasas obtenidas en este estudio también son mayores que las estimadas para otra especie de rodolito del Golfo de California, *Lithothamnion muelleri* (antes *crassiusculum*), utilizando Mg:Ca en relación con las bandas de crecimiento ($0.3\text{--}0.5\text{ mm año}^{-1}$, Halfar *et al.* 2000), tinción con alizarina (0.68 mm año^{-1} ; 0.6 mm año^{-1} , Foster *et al.* 2007), y fechado con C^{14} (0.6 mm año^{-1} , Frantz *et al.* 2000). No es sorprendente encontrar tasas más lentas para *L. muelleri* ya que esta especie tiene una

Seaweeds generally show strong seasonal growth patterns influenced by light, nutrient availability and water temperature (Norton *et al.* 1981). The nearly two-fold greater growth in summer relative to winter observed in *L. margaritae* in Bahía Concepción is similar to seasonal growth patterns reported for other temperate and tropical crustose coralline species (Adey and McKibben 1970, Adey and Vassar 1975, Edyvean and Ford 1987, Potin *et al.* 1990). Higher summer growth and interspecies differences in field growth rates in the temperate maerl species *Phymatolithon calcareum* and *Lithothamnion corallioides* were attributed to variation in light and temperature (Adey and McKibben 1970). Curiously, in the slow-growing Gulf of California species *L. crassiusculum*, winter growth was more than two-fold greater than summer growth, perhaps resulting from a combination of temperature, light and nutrient stress associated with elevated El Niño water temperatures around La Paz when these estimates were made (Rivera *et al.* 2004). In Bahía Concepción, circulation is primarily wind- and sun-driven with limited tidal exchange (Lechuga-Deveze *et al.* 2000). Wind-driven waves are more common in winter, increasing agitation of rhodoliths (Jiménez *et al.* 2005). Thus, the combined effects of elevated nutrients (Lechuga-Deveze *et al.* 2000), more light and lower abrasion during summer may explain the elevated summer growth rates in this shallow wave-driven bed. The strong seasonality of oceanographic conditions in the Gulf of California suggests that growth in other species and *L. margaritae* in other locations will follow these seasonal trends.

The photosynthetic characteristics and growth rates of coralline algae have been studied throughout the world; however, data on the physiology, including calcification rates, were unavailable for the Gulf of California. Despite their low photosynthetic and calcification rates, rhodolith beds contribute extensively to the ecology, beach formation and geology of this body of water. Our findings suggest that rhodoliths follow seasonal patterns of photosynthesis and calcification as they grow. Likely, photosynthetic and calcification rates are greater during the summer when higher temperatures are observed in the Gulf of California. In synthesis, the strong effects of temperature on photosynthesis, calcification and growth rates of *Lithophyllum margaritae* in the Gulf of California suggest that changes in seawater surface temperature regulate the productivity of the beds. It is clear that the calcification rates of these coralline algae can be studied using the buoyant weight technique or the calcification method by evaluating total alkalinity. Nevertheless, the discrepancy between these two methods needs to be further studied.

Acknowledgements

Our sincere thanks to R Dunn, M Ranelletti and M Rivera for their help with the growth analyses, and to BCSES members for field support. Funding was provided by UC MEXUS, and through a UC GAANN fellowship to D Steller. We thank R Riosmena-Rodríguez who provided field support and positive

morfología menos ramificada, con ramas anchas y cortas, por lo que el crecimiento puede ser una combinación de crecimiento vertical y apical.

Las algas marinas generalmente muestran patrones de crecimiento estacionales influenciados por la luz, la disponibilidad de nutrientes y la temperatura del agua (Norton *et al.* 1981). El casi doble de crecimiento observado en verano que en invierno para *L. margaritae* en Bahía Concepción es similar a los patrones estacionales de crecimiento encontrados para otras especies coralinas de zonas templadas y tropicales (Adey y McKibben 1970, Adey y Vassar 1975, Edyvean y Ford 1987, Potin *et al.* 1990). En las especies de *maerl* de zonas templadas *Phymatolithon calcareum* y *Lithothamnion corallioides* se encontraron un mayor crecimiento estival y diferencias intraespecíficas en las tasas de crecimiento *in situ* que fueron atribuidas a variaciones en luz y temperatura (Adey y McKibben 1970). Curiosamente, en la especie del Golfo de California de lento crecimiento *L. crassiusculum*, el crecimiento invernal fue dos veces mayor que el estival, probablemente como resultado de una combinación de estrés nutritivo, temperatura y luz, asociada con las altas temperaturas del agua alrededor de La Paz debido a un evento El Niño cuando se realizaron las estimaciones (Rivera *et al.* 2004). En Bahía Concepción la circulación se rige principalmente por el viento y el sol, y hay poco intercambio mareal (Lechuga-Deveze *et al.* 2000). El oleaje generado por el viento es más común en invierno e incrementa la agitación de los rodolitos (Jiménez *et al.* 2005). Por tanto, el efecto combinado de nutrientes elevados (Lechuga-Deveze *et al.* 2000), más luz y menor abrasión durante el verano puede explicar las mayores tasas de crecimiento estival en este manto somero expuesto al oleaje. La fuerte estacionalidad de las condiciones oceanográficas en el Golfo de California sugiere que el crecimiento de otras especies y de *L. margaritae* en otras localidades mostraría tendencias estacionales similares.

Las características fotosintéticas y las tasas de crecimiento de algas coralinas han sido estudiadas a nivel mundial; sin embargo, no existían datos sobre su fisiología, ni siquiera sobre sus tasas de calcificación, para el Golfo de California. A pesar de sus bajas tasas de fotosíntesis y calcificación, los mantos de rodolitos contribuyen ampliamente a la ecología, formación de playas y geología de este cuerpo de agua. Nuestros resultados sugieren que los rodolitos siguen patrones estacionales de fotosíntesis y calcificación durante su crecimiento. Las tasas de fotosíntesis y calcificación son mayores durante el verano cuando las temperaturas en el Golfo de California son más altas. En síntesis, los fuertes efectos de la temperatura sobre la fotosíntesis, calcificación y tasas de crecimiento de *Lithophyllum margaritae* en el Golfo de California sugiere que los cambios de temperatura superficial son un mecanismo regulador de la productividad de estos mantos. Es evidente que las tasas de calcificación de estas algas coralinas pueden ser estudiadas con la técnica de peso boyante o con el método de calcificación mediante la evaluación de la alcalinidad total; no obstante, la discrepancia entre estos dos métodos requiere de más estudios.

species identification, and are grateful to two anonymous reviewers who made extremely helpful comments on the original manuscript.

Agradecimientos

Nuestro sincero agradecimiento a R Dunn, M Ranelletti y M Rivera por su ayuda con los análisis de crecimiento, y a los miembros de BCSES por su apoyo en el campo. Este trabajo recibió financiamiento de UC MEXUS, y a través de una beca de UC GAANN a D Steller. Agradecemos a R Riosmena-Rodríguez su identificación de las especies, y a dos revisores anónimos sus valiosos comentarios al manuscrito original.

Traducido al español por Christine Harris.

Referencias

- Adey WH. 1970. The effect of light and temperature on growth rates of boreal-subarctic crustose corallines. *J. Phycol.* 6: 269–276.
- Adey WH, McKibben DL. 1970. Studies on the maerl species *Phymatolithon calcareum* (Pallas) nov. comb. and *Lithothamnion corallioides* Crouan in the Rio de Vigo. *Bot. Mar.* 13: 100–106.
- Adey WH, Vassar JM. 1975. Colonization, succession and growth rates of tropical crustose coralline algae (Rhodophyta, Cryptonemiales). *Phycologia* 14: 55–69.
- Alegian CR. 1985. The biogeochemical ecology of *Porolithon gardineri* (Foslie). Dissertation. University of Hawaii, Honolulu.
- Álvarez-Borrego S. 1983. Gulf of California. In: Ketchum B (ed.), *Ecosystems of the World*. Elsevier Scientific, New York.
- 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. *Cienc. Mar.* 33: 399–410.
- Andrake W, Johansen HW. 1980. Alizarin red dye as a marker for measuring growth in *Corallina officinalis* L. (Corallinaceae, Rhodophyta). *J. Phycol.* 16: 620–622.
- Birkett D, Maggs C, Dring M. 1998. Maerl (Vol. V). An overview of dynamic and sensitivity characteristics for conservation management of marine SACs. Scottish Association for Marine Science (UK Marine SACs Project).
- Bohm L, Schramm W, Rabsch U. 1978. Ecological and physiological aspects of some coralline algae from the Western Baltic. Calcium uptake and skeleton formation in *Phymatolithon calcareum*. *Kiel. Meeresforsch.* 4: 282–288.
- Bosence DWJ. 1979. Live and dead faunas from coralline algal gravels, Co. Galway. *Palaeontology* 22: 449–478.
- Bosence DWJ. 1983. The occurrence and ecology of recent rhodoliths—a review. In: MP Tadeusz (ed.), *Coated grains*. Springer-Verlag, pp. 225–242.
- Buitenhuis ET, de Baar HJW, Veldhuis MJW. 1999. Photosynthesis and calcification by *Emiliania huxleyi* (Prymnesiophyceae) as a function of inorganic carbon species. *J. Phycol.* 35: 949–959.
- Cabello-Pasini A, Zertuche-González JA, Pacheco-Ruiz I. 2003. Photosynthesis, growth and nitrogen uptake of competing marine macrophytes in the Gulf of California. *Bot. Mar.* 46: 503–512.
- Digby PSB. 1977. Growth and calcification in the coralline algae *Clathromorphum circumscriptum* and *Corallina officinalis* and the significance of pH in relation to precipitation. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 57: 1095–1110.

- Edyvean RGJ, Ford H. 1987. Growth rates of *Lithophyllum incrustans* (Corallinales, Rhodophyta) from south-west Wales (UK). *Br. Phycol. J.* 22: 139–146.
- Foster MS. 2001. Rhodoliths: Between rocks and soft places. *J. Phycol.* 37: 659–667.
- Foster MS, Riosmena-Rodríguez R, Steller DL, Woelkerling WJ. 1997. Living rhodolith beds in the Gulf of California and their implications for paleoenvironmental interpretation. In: Johnson ME, Ledesma-Vázquez J (eds.), *Pliocene Carbonates and Related Facies Flanking the Gulf of California, Baja California, Mexico*. Geological Society of America Spec. Pap. No. 318, Boulder, Colorado.
- Foster MS, McConnico LM, Lundsten L, Wadsworth T, Kimball T, Brooks LB, Medina-López M, Riosmena-Rodríguez R, Hernández-Carmona G, Vázquez-Elizondo RM, Johnson S, Steller DL. 2007. Diversity and natural history of a *Lithothamnion muelleri*-*Sargassum horridum* community in the Gulf of California. *Cienc. Mar.* 33: 367–384.
- Frantz BR, Kashgarian M, Coale KH, Foster MS. 2000. Growth rate and potential climate record from a rhodolith using ^{14}C accelerator mass spectrometry. *Limnol. Oceanogr.* 45: 1773–1777.
- Frantz BR, Foster MS, Riosmena-Rodríguez R. 2005. *Clathromorphum nereastratum* (Corallinales, Rhodophyta): The oldest alga? *J. Phycol.* 41: 770–773.
- Gao K, Aruga Y, Asada K, Ishihara T, Akano T, Miyohara M. 1993. Calcification in the articulated coralline alga *Corallina pilulifera*, with special reference to the effect of elevated CO_2 concentration. *Mar. Biol. (Berlin)* 117: 129–132.
- Garrabou J, Ballesteros E. 2000. Growth of *Mesophyllum alternans* and *Lithophyllum frondosum* (Corallinales, Rhodophyta) in the northwestern Mediterranean. *Eur. J. Phycol.* 35: 1–10.
- Gattuso JP, Payri CE, Pichon M, Delesalle B, Frankignoulle M. 1997. Primary production, calcification, and air-sea CO_2 fluxes of a macroalgal-dominated coral reef community (Moorea, French Polynesia). *J. Phycol.* 33: 729–738.
- Giménez-Casaldueiro F, Rodríguez-Ruiz S, Vivas M, Ramos-Espla, AA. 2001. Variation in the structural parameters of the Polychaeta community of maerl beds from the Alicante littoral (southeast Iberian Peninsula). *Bol. Inst. Esp. Oceanogr.* 17: 191–201.
- Grall J, Glemarec M. 1997. Biodiversité des fonds de maerl en Bretagne: Approche fonctionnelle et impacts anthropogéniques. *Vie Milieu* 47: 339–349.
- Halfar JZT, Kronz A, Zachos JC. 2000. Growth and high-resolution paleoenvironmental signals of rhodoliths (coralline red algae): A new biogenic archive. *J. Geophys. Res. (Oceans)* 105: 22107–22116.
- Hall-Spencer J. 1998. Conservation issues relating to maerl beds as habitats for molluscs. *J. Conchol. Spec. Publ.* 2: 271–286.
- Hall-Spencer J, Bamber R. 2007. Effects of salmon farming on benthic Crustacea. *Cienc. Mar.* 33: 353–366.
- Harvey AS, Woelkerling WJ. 2007. A guide to nongeniculate coralline red algal (Corallinales, Rhodophyta) rhodolith identification. *Cienc. Mar.* 33: 411–426.
- Hernández-Ayón JM, Belli SL, Zirino A. 1999. pH, alkalinity and total CO_2 in coastal seawater by potentiometric titration with a difference derivative readout. *Anal. Chim. Acta* 394: 101–108.
- Hinojosa-Arango G, Riosmena-Rodríguez R. 2004. Influence of rhodolith-forming species and growth form on associated fauna of rhodolith beds in the central west Gulf of California, Mexico. *PSZN Mar. Ecol.* 25.
- James DW. 2000. Diet, movement, and covering behavior of the sea urchin *Toxopneustes roseus* in rhodolith beds in the Gulf of California, Mexico. *Mar. Biol.* 137: 913–923.
- James DW, Foster MS, O'Sullivan J. 2006. Bryoliths (Bryozoa) in the Gulf of California. *Pac. Sci.* 60: 117–124.
- Jiménez A, Marinone SG, Parés-Sierra A. 2005. Effect of the spatial and temporal variability of winds on the circulation in the Gulf of California. *Cienc. Mar.* 31: 357–368.
- Johansen HW. 1981. *Coralline Algae: A First Synthesis*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Johnson ME, López-Pérez R, Ransom C, Ledesma-Vázquez J. 2007. Late Pleistocene coral-reef development on Isla Coronados, Gulf of California. *Cienc. Mar.* 33: 105–120.
- Jokiel PL, Maragos JE, Franzisket L. 1978. Coral growth buoyant weight technique. In: Stoddart DR, Johannes RE (eds.), *Coral Reefs: Research Methods*. UNESCO, Paris, pp. 529–541.
- 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.
- Kasper-Zubillaga JJ, Carranza-Edwards A, Morales de la Garza E. 2007. Textural characterization of beach sands from the Gulf of California, Mexico: Implications for coastal processes and relief. *Cienc. Mar.* 33: 83–94.
- Keegan BF. 1974. The macrofauna of maerl substrates on the west coast of Ireland. *Cah. Biol. Mar.* IV: 513–530.
- King RJ, Schramm W. 1976. Photosynthetic rates of benthic marine algae in relation to light intensity and seasonal variations. *Mar. Biol.* 37: 215–222.
- Lechuga-Deveze CH, Morquecho-Escamilla ML, Reyes-Salinas A, Hernández-Alfonso JR. 2000. Environmental natural disturbances in Bahía Concepción, Gulf of California. In: Munawar SGLM, Munawar IF and Malley DF, (eds.), *Aquatic Ecosystems of Mexico: Status and Scope*. Ecovision World Monograph Series. Backhuys Publishers, Leiden, pp. 245–255.
- Ledesma-Vázquez J, Johnson ME, Backus DH, Mirabal-Davila C. 2007. Coastal evolution from transgressive barrier deposit to marine terrace on Isla Coronados, Baja California Sur, Mexico. *Cienc. Mar.* 33: 335–351.
- Marrack EC. 1999. The relationship between water motion and living rhodoliths beds in the southwestern Gulf of California, Mexico. *Plaios* 14: 159–171.
- Martin S, Castets MD, Clavier J. 2006. Primary production, respiration and calcification of the temperate free-living coralline alga *Lithothamnion corallioides*. *Aquat. Bot.* 85: 121–128.
- Norton TA, Mathieson AC, Neushul M. 1981. Morphology and environment. In: Lobban S, Wynne MJ (eds.), *The Biology of Seaweeds*. Blackwell Scientific Publications, UK.
- Potin P, Floch JY, Augris C, Cabioch J. 1990. Annual growth rates of the calcareous red alga *Lithothamnion corallioides* (Corallinales, Rhodophyta) in the Bay of Brest, France. *Hydrobiologia* 204/205: 263–267.
- Reyes-Bonilla H, Riosmena-Rodríguez R, Foster MS. 1997. Hermatypic corals associated with rhodolith beds in the Gulf of California, Mexico. *Pac. Sci.* 51: 328–337.
- Riosmena-Rodríguez R, Woelkerling WJ, Foster MS. 1999. Taxonomic reassessment of rhodolith-forming species of *Lithophyllum* (Corallinales, Rhodophyta) in the Gulf of California, Mexico. *Phycologia* 38: 401–417.
- Riosmena-Rodríguez R, Steller DL, Hinojosa-Arango G, Foster MS. Reefs that rock and roll: Biology and conservation of rhodolith beds in the Gulf of California. In: Brusca RC (ed.), *The Gulf of California: Biodiversity and Conservation*. Series ASDM studies in natural history. ASDM Press and University of Arizona Press, Tuscon. In press.
- Rivera MG, Riosmena-Rodríguez R, Foster MS. 2004. Edad y crecimiento de *Lithothamnion muelleri* (Corallinales,

- Rhodophyta) en el suroeste del Golfo de California, México. *Cienc. Mar.* 30: 235–249.
- 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: 709–723.
- Sewell A, Johnson M, Backus D, Ledesma-Vázquez J. 2007. Rhodolith detritus impounded by a coastal dune on Isla Coronados, Gulf of California. *Cienc. Mar.* 33: 485–496.
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1994. *Biometry*. WH Freeman and Co., New York.
- Steller DL. 2003. Rhodoliths in the Gulf of California: Growth, demography, disturbance and effects on population dynamics of catarina scallops. Ph.D. University of California, Santa Cruz, 143 pp.
- 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.: Mar. Freshwat. Ecosyst.* 13: S5–S20.
- Tambutte E, Allemand D, Bourge I, Gattuso JP, Jaubert J. 1995. An improved ^{45}Ca protocol for investigating physiological mechanisms in coral calcification. *Mar. Biol. (Berlin)* 122: 453–459.
- Webb WL, Newton M, Starr D. 1974. Carbon dioxide exchange of *Alnus rubra*. A mathematical model. *Oecologia* 17: 281–291.
- Wilson S, Blake C, Berges JA, Maggs CA. 2004. Environmental tolerances of free-living coralline algae (maerl): Implications for European marine conservation. *Biol. Conserv.* 120: 279–289.

*Recibido en abril de 2007;
aceptado en noviembre de 2007.*