



Universitat
de les Illes Balears

**Efectos del aumento de la temperatura sobre el metabolismo de praderas
de *Cymodocea nodosa* afectadas por la macroalga invasora
*Halimeda incrassata***

Júlia Barcons Roca

Memoria del Trabajo de Fin de Máster

Máster Universitario en Ecología Marina

de la

UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS

Curso Académico: 2017 / 2018

9 de noviembre del 2017

Tutora del Trabajo: Dra. Raquel Vaquer Sunyer

Cotutora: Dra. Iris Hendriks

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría dar las gracias a mis tutoras de esta tesis, Raquel Vaquer e Iris Hendriks. Gracias por vuestra confianza, apoyo y ayuda durante todo este tiempo. Un agradecimiento muy sincero a la gente de IMEDEA, a Sergio Ruiz y Alec Teucilide por su ayuda durante los experimentos de verano, a Joan Moranta y Guillem Roca por darnos una mano en las campañas y a mis compañeros de despacho por compartir conmigo sus altos conocimientos estadísticos. También me gustaría recordar todas aquellas personas que han estado a la sombra apoyándome en cada momento, a mis amigos, mis padres, mi hermano y a Marc por toda su paciencia y por haber confiado en mí más que nadie.

A TODOS, MUCHAS GRACIAS!

RESUMEN

Hoy en día el cambio climático es la principal amenaza para nuestro entorno, con el calentamiento global como una de sus principales consecuencias. El Mediterráneo es especialmente sensible a este calentamiento y su biodiversidad marina se está sometiendo a un proceso de tropicalización. En este estudio se ha evaluado experimentalmente la respuesta de las tasas metabólicas (respiración (CR), producción primaria bruta (GPP) y producción primaria neta (NCP)) de comunidades de la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* colonizada por la macroalga invasora *Halimeda incrassata* a lo largo de un rango de temperaturas actual y proyectado para finales del siglo XXI en el Mediterráneo, en dos estaciones del año. Las tasas metabólicas se obtuvieron a partir de los cambios en la concentración de oxígeno, medidos con sensores de oxígeno (IKS-Aquastar), dentro de cámaras de incubación cerradas a temperaturas que van de 17 a 23°C en primavera y de 25 a 33°C en verano. Usando medidas de alcalinidad y pH también se ha obtenido la concentración de $p\text{CO}_2$ (μatm) durante las incubaciones.

Las tasas metabólicas son sensibles al aumento de la temperatura, sobre todo en verano, mientras que en primavera la macroalga invasora parece no estar activa. A temperaturas más cálidas se produce un aumento de CR y GPP al estudiar los macrófitos por separado, aumento que es mayor para CR que para GPP. En las praderas invadidas, se confirma que la presencia de *Halimeda incrassata* disminuye las tasas metabólicas a partir de un óptimo de temperatura. Con el aumento de la temperatura estas comunidades también tienden a pasar de una NCP positiva donde la comunidad es autotrófica, a una NCP negativa donde la comunidad es heterotrófica con una tendencia a emitir CO_2 y agotar la concentración de oxígeno. En resumen, un efecto combinado de aumento de la temperatura y colonización por especies invasoras lleva a estos ecosistemas a ser una fuente de carbono, con sus consecuentes efectos negativos sobre el ambiente.

ABSTRACT

Nowadays, climate change is the most important threat to our global environment, with global warming as one of its main consequences. The Mediterranean area is especially sensitive to this warming and its marine biodiversity is undergoing rapid alteration and “tropicalization”. In this study we have experimentally evaluated response of the metabolic rates as Community Respiration (CR), Gross Primary Production (GPP) and Net Community Production (NCP), of seagrass communities consisting of *Cymodocea nodosa* colonized by the invasive macroalgae *Halimeda incrassata*. We assessed two different seasons with their ambient temperature ranges and temperature increases as expected towards the end of the 21st century in the Mediterranean. The metabolic rates were obtained from changes in oxygen concentration measured with oxygen-sensors (IKS-Aquastar) in incubation chambers at temperatures ranging from 17°C to 23°C in spring and from 25°C to 33°C in summer. Using point measurements of alkalinity and continuous pH_{NBS} values we also obtained the pCO_2 (μatm) concentration during this incubations.

Metabolic rates are sensitive to temperature increments, especially in summer, while during the spring the invasive macroalgae seem inactive. At higher temperatures there is an increase of CR and GPP when macrophytes were evaluated separately. This increase is higher for CR than for GPP. In invaded meadows, with both species present, the presence of *Halimeda incrassata* causes the reduction of metabolic rates starting from an optimum temperature. With temperature increases, these communities tend to shift from a positive NCP of an autotrophic community, to a negative NCP of a heterotrophic community, with a tendency to emit CO_2 and exhaust the oxygen concentration of the water column. In summary, the combined effect of a temperature increase and colonization by invasive species reverts these ecosystems to a carbon source instead of sink, with its consequent negative effects for the environment.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVO	7
3. MATERIALES Y MÉTODOS	8
3.1. Recolección de los macrófitos	8
3.2. Diseño y montaje del sistema experimental	9
3.3. Medida de oxígeno disuelto, temperatura y pH	11
3.4. Medida de la alcalinidad	12
3.5. Medida de DOC (Carbono orgánico disuelto, por sus iniciales en inglés) ...	13
3.6. Método Winkler	13
3.7. Determinación de los pesos frescos y secos de los macrófitos	15
3.8. Medida y cálculo de las tasas metabólicas (GPP, CR y NCP), Energías de activación (Ea) y coeficiente Q_{10}	16
3.9. Tratamiento de datos	17
4. RESULTADOS	18
4.1. Condiciones ambientales	18
4.2. $p\text{CO}_2$ (μatm) y DOC (mmol dia^{-1})	18
4.3. Tasas metabólicas	19
4.3.1. <i>Cymodocea nodosa</i>	19
4.3.2. <i>Halimeda incrassata</i>	21
4.3.3. Combinación de las dos especies	21
4.3.4. Óptimos de temperatura para las distintas tasas metabólicas	22
4.4. Energía de activación	23
4.4.1. Primavera	23
4.4.2. Verano	24
5. DISCUSIÓN	26
6. CONCLUSIONES	32
7. BIBLIOGRAFIA	33

1. INTRODUCCIÓN

Durante el último siglo las actividades humanas han provocado alteraciones de alcance global sobre los ambientes del planeta, con consecuencias sobre la maquinaria climática que actualmente se están empezando a conocer y, de rebote, sobre los ecosistemas (Chapin et al., 2000; Thomas et al., 2004).

El impacto antropogénico sobre el clima se debe básicamente al incremento de gases de efecto invernadero (entre los que destacan el CO₂, el N₂O, el CH₄ y algunos CFCs), que retienen o absorben la radiación térmica emitida por la superficie de la Tierra y evitan que regrese al espacio, hecho que produce un calentamiento del planeta. Concretamente, se espera que las concentraciones de CO₂ aumenten desde niveles pre-industriales inferiores a 350 hasta 540-970 ppm en los próximos cien años (IPCC, 2013).

El aumento de estos gases de efecto invernadero ha producido un incremento en la temperatura global del planeta. Cada una de las tres últimas décadas ha sido sucesivamente más cálida que cualquier otra década anterior y el verano de 2017 el más cálido desde 1880 (Fig. 1) (NASA, 2017). Los océanos también han absorbido alrededor de un 30% de carbono antropogénico emitido, hecho que está produciendo su acidificación (IPCC, 2013).

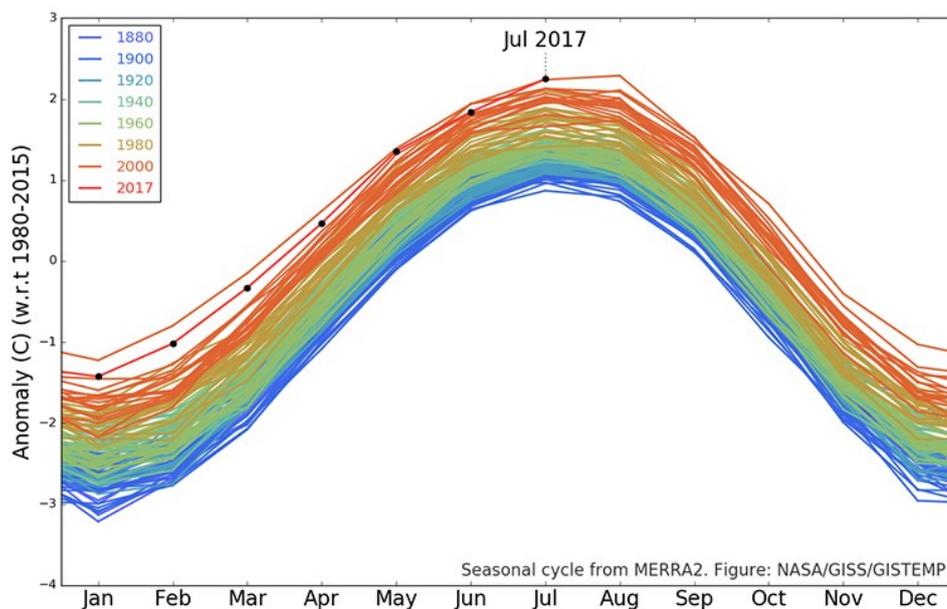


Figura 1: Las anomalías mensuales de temperatura del GISTEMP superpuestas a un ciclo estacional medio de 1980 – 2015.

Fuente: Goddard Institute for Space Studies (GISS). (NASA, 2017).

El Mar Mediterráneo es particularmente vulnerable al calentamiento ya que la temperatura aumenta más rápido en comparación con el océano global (Vargas-Yáñez et al., 2010; Calvo et al., 2011). Está previsto que este aumento de la temperatura sea más pronunciado en los meses estivales que en los invernales, con incrementos medios de 3.8°C y 6°C respectivamente, valores previstos para finales del siglo XXI (IPCC 2013). Este calentamiento juega un papel clave en el metabolismo de las praderas de fanerógamas marinas y puede dar lugar a cambios en los patrones estacionales y geográficos de abundancia y distribución de especies (McMillan, 1984; Walker, 1991).

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples o para degradar las complejas y obtener las simples. Para esto, los organismos absorben recursos energéticos y materiales del medio, los convierten en otras formas dentro de sus cuerpos, los asignan a los procesos de supervivencia, crecimiento y reproducción y los excretan en formas alteradas en el medio ambiente (Brown et al., 2004). En comunidades bentónicas el metabolismo es un indicador muy importante (Fellows et al., 2006). Esto es así porque los procesos propios del metabolismo tales como la respiración (CR, por sus iniciales en inglés), la producción primaria bruta (GPP, por sus iniciales en inglés) y la producción primaria neta (NCP, por sus iniciales en inglés) responden delante de variables ambientales tan comunes como las perturbaciones de las cuencas, los regímenes de temperatura o las cargas de nutrientes (Bunn et al., 1999).

Las plantas, las algas y algunos tipos de bacterias realizan la fotosíntesis como principal proceso de producción primaria. La fotosíntesis es el proceso mediante el cual la energía procedente del sol, en forma de radiación de onda corta (radiación fotosintéticamente activa, PAR, por sus iniciales en inglés), es aprovechada como fuente de energía para una serie de reacciones químicas que resultan en la fijación de CO₂ y en la liberación de oxígeno (O₂) como subproducto. La cantidad de carbono fijado en la fotosíntesis es controlada principalmente por la radiación incidente y la temperatura. Las tasas de fotosíntesis aumentan con la temperatura antes de alcanzar una tasa máxima en el óptimo térmico (Marsh, et al., 1986; Lee et al., 2007), por lo tanto, el óptimo térmico puede advertir sobre la vulnerabilidad presente y futura al calentamiento oceánico durante períodos de temperatura elevada del agua (Collier et al., 2017). La temperatura controla directamente las tasas de producción primaria bruta y de respiración, ya que la actividad de las enzimas implicadas en estos procesos

dependen de la temperatura (Smith & Smith, 2007). CR corresponde a la respiración de los organismos, se mide a partir del consumo de oxígeno disuelto durante la noche y se extrapola para una respiración total de 24 horas. GPP corresponde a la tasa de oxígeno producido y NCP corresponde al resultado total neto de GPP y de CR. Las comunidades con NCP positiva tienen tasas de producción superiores a las de respiración (comunidades autotróficas), mientras que las comunidades con NCP negativa tienen tasas de respiración que exceden a las de producción (comunidades heterotróficas).

Una de las propiedades más importantes de los ecosistemas acuáticos es la concentración de oxígeno disuelto (Odum, 1956; Venkiteswaran et al., 2007), muchos de los organismos metazoos requieren altas concentraciones de oxígeno para mantener sus funciones vitales (Vaquer-Sunyer & Duarte, 2008). El cambio climático y la eutrofización producen efectos directos sobre el ciclo del oxígeno produciendo cambios drásticos sobre el oxígeno disuelto (Diaz & Rosenberg, 1995; Paerl, 2006; Conley et al., 2009). La dinámica del oxígeno y las tasas metabólicas dependen fuertemente de la temperatura del agua ya que el aumento de la temperatura disminuye la solubilidad del oxígeno (Carpenter, 1966; Garcia & Gordon, 1992) y aumenta las tasas de respiración de los organismos (Enquist et al., 2003). La teoría metabólica de la ecología (MTE, Brown et al., 2004) predice que el aumento de la temperatura produce un incremento exponencial de las tasas metabólicas, un aumento que se prevé que sea mayor para la respiración que para la producción primaria, ya que la energía de activación de los procesos autótrofos es la mitad de la de los procesos heterótrofos, así pues, la respiración heterótrofa debería aumentar el doble que la tasa de producción primaria por cada grado que aumenta la temperatura (Harris et al., 2006). Esto se ha evidenciado en diversos experimentos que han mostrado un mayor aumento en las tasas de respiración respecto a las de producción con el calentamiento (Lefevre et al., 1994; Müren et al., 2005; Vaquer-Sunyer et al., 2010).

En la zona marina costera encontramos uno de los sistemas socio-ecológicos más importantes del planeta. Este sistema actualmente está sometido a presiones antropogénicas intensas que provocan su deterioro (Halpern et al., 2008) y se encuentran dentro de los más amenazados por los efectos del cambio climático.

Entre las diferentes comunidades que forman parte de la zona costera, encontramos las praderas de fanerógamas marinas. Estas praderas son ecosistemas

altamente productivos, que alimentan complejas redes tróficas tanto locales como regionales y actúan como trampas de sedimentos y nutrientes de la columna de agua, de modo que ejercen un control importante sobre los procesos sedimentarios y biogeoquímicos, así como sobre la transparencia de las aguas. Se trata de uno de los ecosistemas de aguas someras más extensos del mundo, y constituyen un hábitat estructuralmente muy complejo, sobre todo si se tiene en cuenta que, normalmente ocupan un sedimento que, en ausencia de esta vegetación, albergarían comunidades más sencillas y menos diversas (Green & Short, 2003). Las praderas de fanerógamas marinas proporcionan hábitat a grandes cantidades de peces e invertebrados, muchos de ellos de gran interés comercial (Duarte, 2000; Heck & Valentine, 2006). Por todas estas razones estas comunidades tienen un alto valor ecológico (Green & Short, 2003). A pesar de su importancia, y de diversas figuras legales de protección de que son objeto (por ejemplo a la Directiva 92/43/CEE, Directiva Hábitat), durante los últimos años estas praderas han sido víctimas de un deterioro generalizado, ya que son comunidades muy vulnerables a los cambios ambientales (Marbà & Duarte, 2010) y concretamente a las perturbaciones antrópicas (Waycott et al., 2009). A estas perturbaciones se tienen que añadir los efectos del cambio climático y la presencia de especies exóticas invasoras. Algunas investigaciones indican que el aumento de la temperatura puede alterar los procesos metabólicos así como también sus tasas de crecimiento y provocar cambios en la distribución de las especies (Björk et al., 2008).

Este incremento de la temperatura también está favoreciendo el asentamiento y proliferación de especies exóticas de origen tropical y subtropical en áreas donde no son nativas, algunas de ellas con carácter invasor (ej. *Halophila stipulacea*, *Lophocladia lallemandii*, *Halimeda incrassata*) (Vergés et al., 2014).

Muchas especies no nativas de origen tropical y subtropical han colonizado el Mar Mediterráneo, llevando a una tropicalización de su biodiversidad (Bianchi, 2007; Zenetos et al., 2010). Actualmente, la actividad antrópica ha acelerado considerablemente la tasa de introducción de especies amenazando la conservación de la biodiversidad marina del Mediterráneo. Hasta el 2017, alrededor de 613 especies exóticas se han establecido en el Mediterráneo, no obstante el verdadero número de especies exóticas reportadas aquí se considera una subestima ya que este valor no incluye organismos planctónicos ni tampoco foraminíferos (Lipej et al., 2017). La presencia de dichas especies se puede explicar por cambios en las fluctuaciones climáticas, sin embargo, muchas de ellas aparecen en una nueva área geográfica debido a vectores o factores antrópicos tales como la interconexión de mares

mediante grandes obras de ingeniería (Canal de Suez), los vertidos de aguas de lastre, los cascos de los barcos (*fouling*), los fondeos no controlados de barcos, o los escapes accidentales de acuarios y la acuicultura. Además de estos vectores específicos, existen procesos globales relacionados con la eutrofización y el cambio climático que pueden estar contribuyendo a acelerar la tasa de introducción y expansión de especies exóticas en el Mediterráneo (Fernández et al., 2005).

Las especies no nativas se pueden convertir en especies dominantes, reemplazando a las especies nativas y perjudicando la biodiversidad local. Las especies exóticas invasoras (EEI) se caracterizan por una reproducción vegetativa prolífica, requerimientos de hábitat flexibles, elevada tolerancia al estrés ambiental, similitud entre los hábitats receptores y los de origen, ausencia de predadores o patógenos característicos de su hábitat nativo y producción de metabolitos secundarios que los defienden de herbívoros y epífitos del hábitat receptor (Boudouresque & Verlaque, 2002). Como resultado se produce una monopolización del espacio por la especie invasora con la consiguiente reducción de la riqueza de especies y la banalización del ecosistema original.

La macroalga invasora *Halimeda incrassata* (Bryopsidales, Chlorophyta) (Fig. 2) fue localizada por primera vez en el Mediterráneo el año 2011 en hábitats arenosos poco profundos de la Bahía de Palma en Mallorca (Alós et al., 2016). Es un alga de origen tropical que podría haber sido introducida mediante su uso en acuariofilia, turismo náutico o transporte marino. Desde su primera observación en la Bahía de Palma, esta alga se ha extendido rápidamente hasta llegar a cubrir en 2015 un 41% de la zona vigilada (Alós et al., 2016). *Halimeda incrassata* es una alga de porte mediano (10 – 15 cm de altura), posee un color verde muy vivo, a veces fluorescente, y está formada por series de discos que se ramifican en forma de abanico desde un único tallo que se une al sustrato. Su dinámica de invasión sugiere una rápida colonización, establecimiento y propagación de la especie a través de sustratos duros o blandos poco profundos. Esta alga tiene el potencial de cambiar el funcionamiento de los ecosistemas costeros poco profundos, produce una gran cantidad de materia orgánica y carbonato cálcico contribuyendo notablemente a la formación de sedimentos y forma densas praderas de crecimiento rápido durante el verano (Verbruggen et al. 2006). Así pues, es importante conocer como esta especie puede contribuir en la dinámica de los ecosistemas costeros, así como evaluar los efectos que puede producir sobre las especies nativas formadoras de praderas marinas como la *Posidonia oceanica* o la *Cymodocea nodosa*.



Figura 2: *Halimeda incrassata* en la Bahía de Palma
Foto: Iris Hendriks

A día de hoy se desconoce la superficie total cubierta por esta especie en las aguas de Mallorca, pero parece claro que estas aguas y la ausencia de predadores naturales han contribuido en su expansión. Al tratarse de una especie tropical, la temperatura es un factor importante y, a priori, podemos pensar que con el calentamiento de las aguas, en el futuro, va a estar más favorecida.

En este estudio hemos evaluado experimentalmente la respuesta de las tasas metabólicas (respiración y producción primaria neta y bruta) de comunidades de la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* colonizadas por el alga invasora *Halimeda incrassata* a lo largo del rango de temperaturas actual y proyectado para finales del siglo XXI en el Mediterráneo en dos estaciones del año. Para ello, se utilizaron mediciones de oxígeno disuelto para la estima de la producción primaria bruta, la producción primaria neta y la respiración de la comunidad para poder predecir la respuesta de estas comunidades frente el calentamiento global.

2. OBJETIVO

El objetivo general del presente trabajo es evaluar los efectos del incremento de temperatura en el Mediterráneo sobre las tasas metabólicas de ecosistemas afectados por especies invasoras y, ver si existe una respuesta diferencial entre las dos especies de macrófitos incubados por separado y en praderas invadidas, representadas con una combinación de la especie autóctona y la especie invasora. Se evaluaron las respuestas en dos estaciones (primavera y verano).

De este objetivo general derivan diferentes objetivos específicos, que se formulan como hipótesis.

- El calentamiento del agua modifica las tasas metabólicas de las plantas produciendo un aumento de la producción primaria y de la respiración.
- Las tasas metabólicas varían en función de la estación del año.
- Las tasas de respiración aumentan a un ritmo mayor que las de producción con el aumento de temperatura.
- La presencia de especies invasoras altera la capacidad de oxigenación de las aguas donde habitan las comunidades de macrófitos marinos.
- La presencia de especies invasoras altera la capacidad de captación de carbono de las aguas donde habitan las comunidades de macrófitos marinos.
- Las especies invasoras tropicales se verán favorecidas a temperaturas más altas.

Para verificar o refutar estas hipótesis, se realizaron experimentos con testigos de sedimento conteniendo toda la comunidad, sedimento y bacterias asociadas, de praderas de macrófitos autóctonos (*Cymodocea nodosa*) colonizados por algas invasoras (*Halimeda incrassata*) en condiciones controladas de luz y temperatura dentro de cámaras experimentales. Se evaluaron las respuestas de las tasas metabólicas según los cambios en las concentraciones de oxígeno.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para evaluar los efectos del calentamiento global sobre las tasas metabólicas de la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* afectada por la macroalga invasora *Halimeda incrassata* se realizaron tres experimentos en primavera y tres más en verano. Los experimentos se llevaron a cabo en cámaras de temperatura controlada con tres tipos de testigos de sedimento: conteniendo sólo la especie autóctona (*Cymodocea nodosa*), conteniendo sólo la especie invasora (*Halimeda incrassata*) y con una combinación de la especie autóctona colonizada por la especie invasora, todos ellos con sus sedimentos y bacterias asociadas.

Los testigos de sedimento se mantuvieron en incubaciones a cinco temperaturas en cámaras de temperatura controlada y se evaluaron las respuestas de las tasas metabólicas (respiración y producción primaria neta y bruta) de la comunidad a lo largo del rango de temperaturas actual y proyectado para finales del siglo XXI en el Mediterráneo.

3.1. Recolección de los macrófitos

En los meses de abril (experimento primavera) y julio (experimento verano) del año 2017 se recogieron individuos de la planta marina *Cymodocea nodosa* y de la macroalga *Halimeda incrassata*. Estos macrófitos se recolectaron realizando tres buceos científicos por experimento en es Caló Fort (39° 28' 58.42"N, 2° 44' 0.08"E), en la zona de Cala Blava, perteneciente al municipio de Lluçmajor (costa sur de Mallorca; Fig.3). Para cada experimento se recogieron aproximadamente 75 haces (agrupaciones de hojas al extremo de un tallo) a una profundidad aproximada de 3 metros y, en el mismo sitio, cuatro bolsas de sedimento y 60 litros de agua con una salinidad media de 38 psu.

Los macrófitos se guardaron dentro de bolsas de plástico a la misma temperatura registrada en el campo y se trasladaron inmediatamente al laboratorio para realizar el experimento.

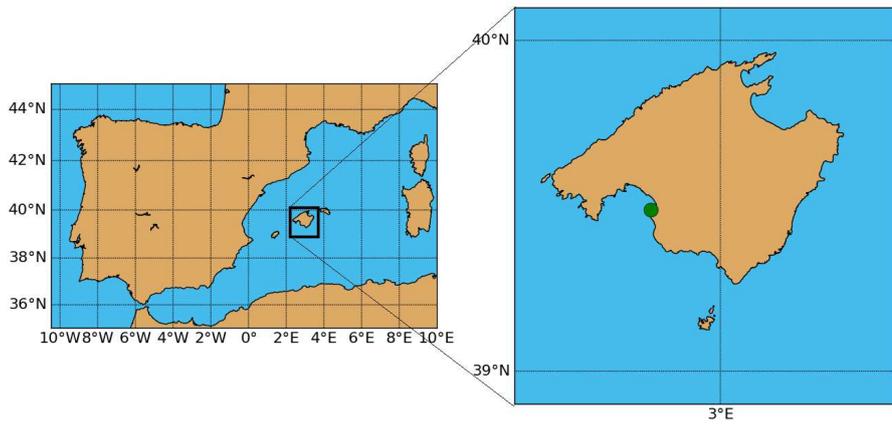


Figura 3: Mapa del lugar de muestreo. El punto corresponde a es Caló Fort (Mallorca).

3.2. Diseño y montaje del sistema experimental

Los experimentos se realizaron en las instalaciones del Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA) en Esporles (Mallorca). Se utilizó una cámara de temperatura controlada donde se fijó la temperatura ambiente 1 – 2 °C por debajo de la temperatura mínima experimental. En la cámara se distribuyeron 5 tanques, cada uno con un tratamiento de temperatura. En el primer tanque la temperatura correspondía a la del agua en el momento de la recolección (temperatura *in situ*), en el segundo se le aplicaba un aumento de 1.5°C respecto al anterior y así sucesivamente hasta llegar al tanque cinco con un aumento de temperatura de 6°C. La temperatura se reguló mediante un sistema de IKS-Aquastar (explicado a continuación). En cada tanque se colocaron tres testigos de sedimento de 30 cm de altura y 8 cm de diámetro (1.5 litros) con los individuos experimentales (Fig. 4) y se adaptó un sistema de aireadores con tres bombas para mantener el agua oxigenada (Fig. 4). La iluminación a la altura del testigo de sedimento fue de 240 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, con un fotoperiodo de 13 horas de luz en primavera y 16 horas de luz en verano.



Figura 4: Montaje de los 5 tanques con los testigos de sedimento y los aireadores.

Foto: Júlia Barcons

Una vez llegadas las plantas al laboratorio, se seleccionaron los especímenes que se introdujeron dentro de los testigos de sedimento donde previamente se habían introducido aproximadamente 15 cm de sedimento y 1 litro de agua recogida durante el muestreo (Figs. 5 y 6) y se colocaron los aireadores (Fig. 7).



Figura 5: *Cymodocea nodosa* dentro de los testigos de sedimento
Foto: Júlia Barcons



Figura 6: *Halimeda incrassata* dentro de los testigos de sedimento
Foto: Júlia Barcons

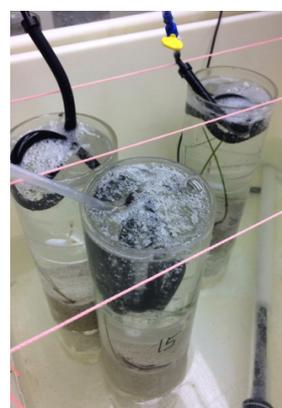


Figura 7: Sistema de aireadores
Foto: Júlia Barcons

A continuación se inició la fase de aclimatación (48 horas), manteniendo las plantas a las 5 temperaturas seleccionadas. Después de estas 48 horas se empezó la evaluación de la respuesta de las tasas metabólicas de las comunidades. Para esto, los testigos se taparon con tapas estancas que no permiten la entrada de aire. Estas tapas contienen tres agujeros con juntas tóricas, uno para el sensor de oxígeno, otro para el sensor de pH y el tercero para rellenar los testigos sin ninguna burbuja, tapándolo con un tapón de goma una vez que el testigo estaba lleno (Fig. 8). Cada testigo también contenía una estructura con un imán, que gracias a un motor colocado en el centro del tanque, permitía homogeneizar el agua (Fig. 9). Los testigos de sedimento que contenían las diferentes comunidades bentónicas se incubaron durante 48 horas, registrando en continuo oxígeno y pH en intervalos de 15 minutos.

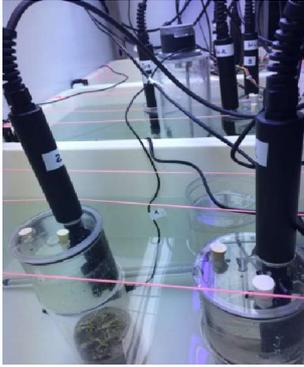


Figura 8: Montaje de los testigos con los sensores de oxígeno
Foto: Júlia Barcons

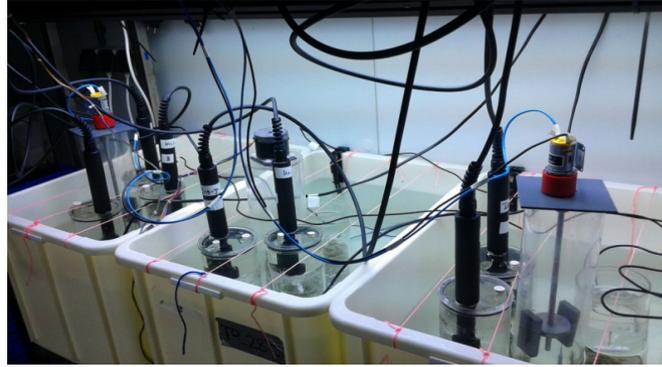


Figura 9: Montaje de los testigos con los sensores de oxígeno. Se pueden ver los motores dentro de cada tanque
Foto: Júlia Barcons

3.3. Medida de oxígeno disuelto, temperatura y pH

Los cambios en la concentración de oxígeno dentro de las cámaras de incubación y el pH se registraron con un sistema IKS-Aquastar (Fig. 10) igual que la temperatura en cada tanque que se reguló y registró con este mismo sistema. IKS-Aquastar es un sistema de construcción modular que permite medir diferentes parámetros (pH, temperatura, nivel de oxígeno disuelto) de forma rápida, continua y no destructiva, permitiendo una aproximación más detallada y precisa (según el manual del sistema). Cada sistema admite hasta ocho de estos módulos y todos los valores medidos quedan memorizados a intervalos seleccionados y pueden ser transferidos al ordenador.



Figura 10: Sistema de IKS-Aquastar
Foto: Júlia Barcons



En el presente experimento se utilizaron dos sistemas para medir el oxígeno disuelto (15 testigos de sedimento), un sistema para regular y registrar la temperatura (5 tanques) y otro sistema para medir el pH en 8 de los 15 testigos. Cada módulo de medida y control consta de un sensor y un módulo de adaptación (Fig. 11) alojado en una caja negra (similar a los conectores de ordenador). Este módulo tiene en un lado

un conector BNC para conectar el sensor, y en el otro un conector SUB-D de 25 patillas para conectarse al IKS-Aquastar (según el manual del sistema).

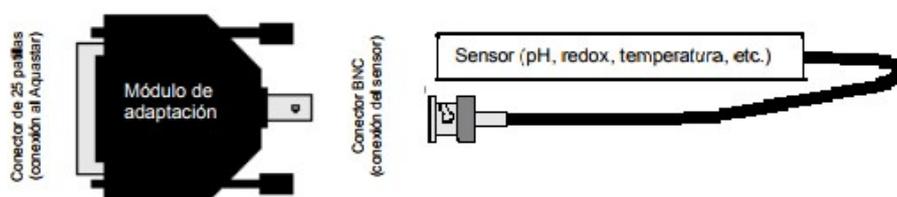


Figura 11: Módulo de medida y control
Fuente: manual IKS

Tanto los sensores de oxígeno como los de pH se calibraron antes de ser utilizados. La calibración de los sensores de oxígeno se realizó en una atmósfera saturada de vapor de agua. Dada la enorme dependencia del sensor de oxígeno respecto de la temperatura, fue necesario determinar exactamente la temperatura del punto de calibración antes de comenzar el proceso. También se debe tener en cuenta que el nivel de saturación depende de la presión atmosférica absoluta, que se introdujo manualmente al IKS-Aquastar. Los sensores de pH se calibraron con soluciones estándar de pH 4 y 9 usando la función de calibración con dos puntos del IKS-Aquastar. Finalmente, los sensores calibrados se colocaron en los testigos de sedimento para empezar las medidas.

3.4. Medida de la alcalinidad

Durante el experimento se tomaron muestras puntuales de alcalinidad (TA, por sus iniciales en inglés). La alcalinidad hace referencia a la capacidad del agua de mar para neutralizar ácidos (Dickson, 1981). Es un parámetro muy importante y útil en el contexto del sistema del carbonato en agua de mar que juntamente con pH, pCO_2 o carbono inorgánico disuelto permite determinar el resto de los parámetros (Dickson et al., 2007). Así pues, usando medidas de alcalinidad y pH con el programa Excel CO_2SYS (Pierrot et al., 2006), con las constantes K_1 y K_2 de Mehrbach et al. (1973) modificado por Dickson and Millero (1987) y la constante de $K_{H_2SO_4}$ de Dickson (1990), se puede obtener la concentración de pCO_2 (μatm) durante las incubaciones.

Para la medida se tomaron muestras de alcalinidad (50 ml) en cada tanque al comienzo de cada incubación, muestras que se fijaron con 20 μl de $HgCl_2$ y se midieron utilizando un sistema Metrohm Titrando 808 siguiendo el protocolo de titulación de célula abierta definido en SOP3b de Dickson et al., (2007). Para evaluar la

precisión de las estimas se utilizaron botes de agua de mar de referencia del laboratorio de Dickson en California, USA, lote CRM 101.

3.5. Medida de DOC (Carbono orgánico disuelto, por sus iniciales en inglés)

Para el análisis de DOC, se recogieron las muestras en viales de borosilicato de 24 ml previamente combustionados (4.5 h, 500°C) para eliminar restos de materia orgánica y se llenaron directamente con el agua de las incubaciones previamente filtrada con filtros GF/F precombustionados igual que los viales. El agua se acidificó mediante la adición de 15 µl de H₃PO₄ (85%) y los viales se sellaron con septos de teflón lavados con HCl al 10%. El análisis se realizó en el laboratorio en un analizador de carbono orgánico total (TOC) siguiendo el protocolo NPOC (Non-Purgeable Organic Carbon, Spyres et al., 2000). Para evaluar la precisión de las estimas se utilizaron materiales de referencia de 1 µmol C l⁻¹ y 44 µmol C l⁻¹ (proporcionado por D. A. Hansell y W. Chen de la Universidad de Miami).

3.6. Método Winkler

El metabolismo de la comunidad planctónica se midió con el método Winkler, que permite determinar la cantidad de oxígeno disuelto a través de una valoración química (Winkler, 1888).

Una vez recolectada el agua de mar en un recipiente apropiado, se llenaron 14 botellas BOD de 100 ml por cada tratamiento de temperatura, 7 de ellas envueltas con cinta negra para evitar su exposición a la luz y 7 transparentes. También se llenaron 10 botellas más, que se fijaron inmediatamente (como se explica a continuación) para conocer el oxígeno inicial presente en la muestra. Usando un tubo flexible de silicona se sifonó el agua desde el recipiente a cada una de las botellas, metiendo la punta del tubo en el fondo de la botella para que el flujo sea sin turbulencias y no gane oxígeno y, se dejó desbordar el volumen de las botellas antes de colocar el tapón. Estas 14 botellas se trasladaron dentro de los tanques de temperatura controlada, donde durante 24 horas se sometieron al fotoperiodo de horas de luz y horas de oscuridad (13 horas de luz en primavera y 16 horas de luz en verano) y a la temperatura del agua correspondiente a cada tanque (Fig. 12). De esta manera, se obtuvo por un lado, el oxígeno presente en el agua después de un día de respiración y de fotosíntesis (botellas claras) y por otro lado, sólo respiración (botellas oscuras).



Figura 12: Botellas BOD dentro de los tanques de temperatura controlada
Foto: Júlia Barcons

Tras la incubación de 24 horas, las muestras se fijaron añadiendo 1 ml de solución de Sulfato de Manganeso y seguidamente 1 ml de solución de Hidróxido de Sodio lodo con un dosificador. Las muestras se taparon para evitar la formación de burbujas y se agitaron vigorosamente hasta que la mezcla se homogeneizó completamente. Se dejó que el precipitado sedimentara al menos un tercio de la botella (aprox, 1.5 h) y se añadió un 1 ml de Ácido Sulfúrico 10 N. Las muestras se taparon y agitaron hasta disolver el precipitado y finalmente se analizaron midiendo la absorbancia a 466 nm con el espectrofotómetro (Labasque et al., 2004).

Para conocer la concentración de oxígeno se usó una recta de calibración. Para esto, se llenaron 5 matraces aforado de 100 ml con agua destilada y se añadieron los reactivos en orden inverso, es decir: 1 ml de Ácido Sulfúrico 10 N, 1 ml de Hidróxido de Sodio lodo y 1 ml de Sulfato de Manganeso. Se agitaron y se añadió en cada uno una concentración diferente de Yodato Potásico (KIO_3). Cada concentración de KIO_3 corresponde a una concentración de O_2 , por lo tanto se obtuvo una recta que relaciona la absorbancia con la concentración de O_2 (Fig. 13). El valor de absorbancia de cada muestra se introdujo a la recta y se obtuvo el valor de concentración de oxígeno en cada tratamiento de temperatura.

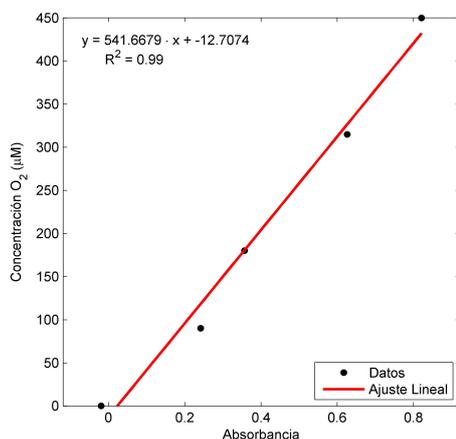


Figura 13: Recta de calibración del método Winkler.

NCP se calculó como la resta de la concentración de oxígeno en las botellas claras menos la concentración de oxígeno inicial. CR, es decir, el oxígeno consumido, se calculó como la diferencia entre la concentración inicial de oxígeno y la de las botellas oscuras, y GPP se obtuvo de la suma de NCP y CR.

3.7. Determinación de los pesos frescos y secos de los macrófitos

Una vez terminados los experimentos se determinaron los pesos frescos y secos de los macrófitos experimentales. Para esto, se extrajeron los macrófitos de los testigos, separada la parte aérea de la parte subterránea (Fig. 14) y se introdujeron por separado dentro de sobres de aluminio previamente pesados y etiquetados.



Figura 14: Parte aérea y parte subterránea de la macroalga *Halimeda incrassata* una vez terminado el experimento

Foto: Júlia Barcons

El peso de estos sobres nos indica peso fresco del macrófito. Para obtener los valores de peso seco, los sobres se introdujeron dentro de la estufa a 60°C durante 48 horas para que se evaporase la humedad. En todos los casos el peso se obtuvo de la diferencia entre el peso del sobre con la planta y el peso del sobre sin la planta.

Para *Halimeda incrassata* el proceso fue algo distinto, ya que se trata de un alga calcificadora que aparte de materia orgánica contiene una cantidad apreciable de carbonato cálcico. Para calcular la cantidad de materia orgánica dentro de cada testigo, la planta se incineró con la mufla. Para esto, las muestras de *Halimeda incrassata* se introdujeron dentro de crisoles previamente pesados que se muflaron a 550°C durante 4 horas y seguidamente a 1000°C durante otras 4 horas. En los dos casos las muestras se pesaron para obtener la materia orgánica (pérdida de peso entre *Halimeda* seca y quemada a 550°C) y el contenido en carbonatos (pérdida de

peso entre Halimeda quemada a 500°C y quemada a 1000°C). (Smith & Atkinson, 1984).

3.8. Medida y cálculo de las tasas metabólicas (GPP, CR y NCP), Energías de activación (Ea) y coeficiente Q_{10}

Durante las 48 horas que duraron las incubaciones, se tomaron medidas en continuo de concentración de oxígeno disuelto, pH y temperatura en intervalos de 15 minutos. Estas medidas se registraron en un ordenador y una vez terminados los experimentos se recogieron y procesaron.

Las tasas metabólicas se calcularon con los datos de oxígeno disuelto juntamente con la temperatura y la salinidad en cada tanque; las tasas de respiración se calcularon a partir de la diferencia entre la concentración de oxígeno antes de apagar las luces y la concentración de oxígeno en el momento que se encendían, y se extrapolaron para 24 horas. La producción primaria neta se obtuvo de la diferencia entre la concentración de oxígeno después de 24 horas y la concentración de oxígeno al principio del experimento. Finalmente, la producción primaria bruta se calculó con la suma de la producción neta más la respiración ($GPP = CR + NCP$) (Vaquer-Sunyer & Duarte, 2013).

Para corregir estos datos crudos se restó el metabolismo planctónico calculado con el método Winkler ($\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-3} \text{ día}^{-1}$) para eliminar el metabolismo producido por la comunidad planctónica. Para obtener los valores en $\text{mmol O}_2 \text{ m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ se corrigió por el volumen de agua de dentro de los testigos y el área de la base. Para obtener los valores en $\text{mmol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ también se multiplicaron los valores por el volumen de agua dentro de los testigos y se dividieron por el peso seco aéreo en *Cymodocea nodosa* o materia orgánica aérea en *Halimeda incrassata* en el caso de la producción primaria bruta y por el peso seco total o materia orgánica total en caso de la producción primaria neta y la respiración. Estas tasas también se convirtieron en unidades de carbono asumiendo una equivalencia de O:C de 1.25 (Williams et al., 1979).

Con las tasas metabólicas en cada tratamiento de temperatura se calcularon las temperaturas óptimas para los casos en que la relación entre la tasas metabólica y la temperatura seguía una función parabólica con un ajuste significativo ($p\text{-Valor} < 0.05$).

Para esto se utilizó el máximo de la función parabólica $y = ax^2 + bx + c$, donde y es la tasa metabólica y x representa la temperatura del tratamiento, con la ecuación $-b / 2a$.

La dependencia de la temperatura sobre las tasas metabólicas fue descrita con las energías de activación para CR y GPP (E_a , J mol^{-1}). La energía de activación proviene de la pendiente de la ecuación de Arrhenius y relaciona el logaritmo neperiano de las tasas metabólicas ($\text{mmol O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) con $1 / kT$, donde k es la constante de Boltzmann ($8.62 \times 10^{-5} \text{ eV K}^{-1}$) y T corresponde a la temperatura (Kelvin).

La tasa relativa de aumento de las tasas metabólicas esperada para un aumento de la temperatura de 10°C fue descrita con el coeficiente Q_{10} y calculada usando la siguiente ecuación (Raven & Geider 1988):

$$Q_{10} = e^{\left(\frac{10 E_a}{RT^2}\right)}$$

Donde R es la constante de gas ($8.314472 \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T la temperatura absoluta medida a lo largo del intervalo donde se ha medido Q_{10} (K), y E_a la energía de activación (J mol^{-1}), derivada de la pendiente de la ecuación de Arrhenius.

3.9. Tratamiento de datos

Para la evaluación de la significación estadística de las diferencias encontradas entre las distintas variables entre condiciones experimentales se ajustó un modelo lineal de efectos mixtos (lmer) en el paquete lme4, utilizando el software estadístico R (R Development Core Team 2014). Todos los datos de la misma tasa metabólica se combinaron en un solo análisis para mirar la relación entre su logaritmo neperiano y $1 / kT$. La pendiente de esta relación representa la inversa de la energía de activación. Para calcular esta energía de activación se consideraron sólo los datos comprendidos en la parte lineal de esta relación. Para tener en cuenta la pseudoreplicación espacial y la autocorrelación, los sensores y los días del año se trataron como variables aleatorias. En todos los análisis de efectos mixtos se utilizó un enfoque de arriba hacia abajo, comenzando con el modelo más complejo, para determinar la importancia de cada una de las variables y se eliminaron sucesivamente variables no significativas hasta llegar al modelo deseado. Se consideraron significativas las diferencias con un $p\text{-Valor} < 0.05$.

4. RESULTADOS

4.1. Condiciones ambientales

La temperatura dentro de los tanques fue regulada por el sistema de IKS-Aquastar, que mantuvo las plantas a las 5 temperaturas seleccionadas (Tabla A1 del anexo). La iluminación al nivel de los testigos fue de $240 \mu\text{mols m}^{-2}\text{s}^{-1}$, con un fotoperiodo de 13 horas de luz en primavera y 16 horas de luz en verano, y una salinidad de 38 psu medida *in situ*. Los promedios de alcalinidad iniciales en verano fueron $2468.64 \mu\text{eq}$ para el experimento con *Cymodocea nodosa*, $2476.85 \mu\text{eq}$ para el experimento con *Halimeda incrassata* y $2458.29 \mu\text{eq}$ para el experimento con la combinación de las dos especies. Los datos de oxígeno muestran una tendencia clara de respiración durante la noche (disminuye la concentración de oxígeno) y producción durante el día (aumenta la concentración de oxígeno) (Fig. A1 del anexo), concentración que varía en función de la temperatura.

En general los pesos secos de las plantas no presentan diferencias significativas entre distintos tanques (ANOVA, p-Valor < 0.05) por lo que dentro de todos los testigos se encuentra un peso similar de macrófitos (Tabla A1 del anexo). Esto no fue así en el experimento con *Cymodocea nodosa* en verano donde se observan diferencias significativas entre el peso de las plantas en los distintos tanques (ANOVA, p-Valor > 0.05).

4.2. $p\text{CO}_2$ (μatm) y DOC (mmol día^{-1})

La $p\text{CO}_2$ (μatm) muestra una relación con la concentración de oxígeno, relación que se observa en *Cymodocea nodosa* y no en *Halimeda incrassata* ya que es una alga calcificadora (Figs. A2, A3 y A4 del anexo). Los datos de $p\text{CO}_2$ muestran también variabilidad en función del momento del día, durante la noche $p\text{CO}_2$ aumenta mientras que disminuyen durante el día (Fig. A5 del anexo). Esta relación también se observa mejor en el experimento con *Cymodocea nodosa*. En el experimento con *Halimeda incrassata* se puede observar una alta producción de CO_2 durante el primer día de incubación, producción que es más alta a temperaturas más altas (Fig. A5 del anexo).

El DOC en los experimentos de los macrófitos por separado aumenta con la temperatura. Este aumento es mayor para *Cymodocea nodosa*, $0.0091 \text{ mmol día}^{-1} \text{ °C}^{-1}$ ($R^2 = 0.8929$) con un máximo de $0.12 \pm 0.02 \text{ mmol día}^{-1}$ a 31°C (Fig A6. del anexo),

que para *Halimeda incrassata* que aumenta $0.003 \text{ mmol día}^{-1} \text{ °C}^{-1}$ ($R^2 = 0.5052$), con un máximo de $0.07 \pm 0.01 \text{ mmol día}^{-1}$ a 33°C (Fig A6. del anexo). El experimento con una combinación de las dos especies presenta valores de DOC más altos ($0.28 \pm 0.01 \text{ mmol día}^{-1}$) a 29.5°C que luego disminuyen al aumentar la temperatura.

4.3. Tasas metabólicas

4.3.1. *Cymodocea nodosa*

Las tasas metabólicas medidas a cinco temperaturas en dos estaciones distintas presentan variaciones. En el experimento con la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* (Fig. 15) CR aumenta de $0.10 \pm 0.01 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a temperatura *in situ* (17°C) a $0.16 \pm 0.02 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a 23°C en el experimento de primavera (Fig. 15, Tabla 1). CR también aumenta de $0.31 \pm 0.03 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a temperatura *in situ* (25°C) a $0.48 \pm 0.08 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a 31.1°C en el experimento de verano (Fig. 15, Tabla 1). GPP presenta un aumento insignificante con la temperatura en el experimento de primavera, mientras que en verano GPP aumenta hasta $1.05 \pm 0.11 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a 27.6°C (temperatura óptima 28.2°C , Tabla 2) y baja a temperaturas más altas (Fig. 15, Tabla 1).

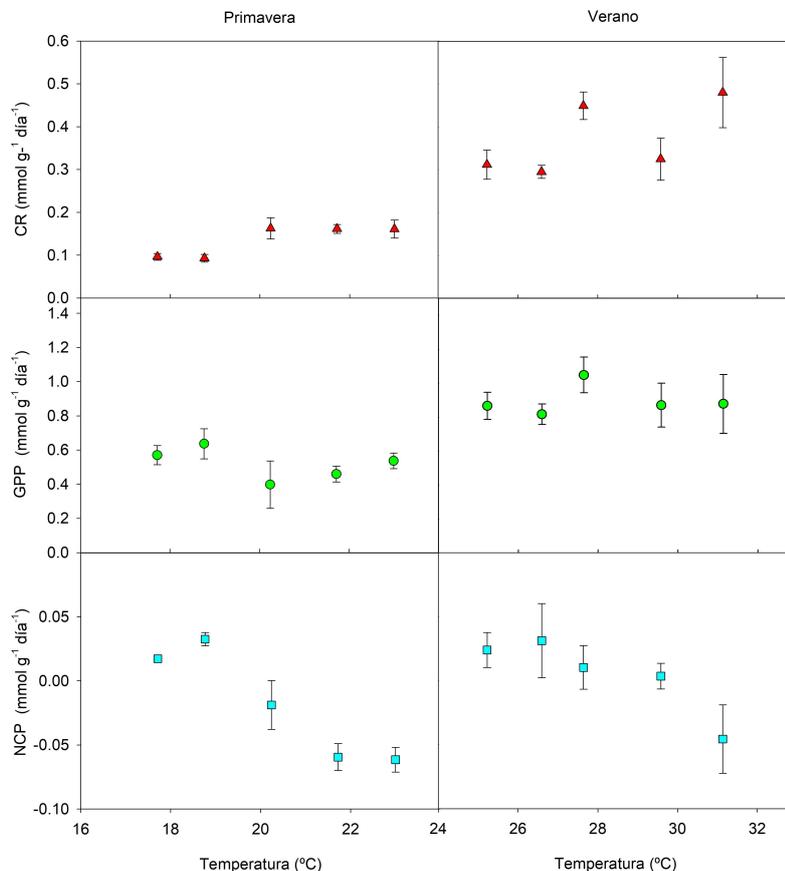


Figura 15: Tasas metabólicas (CR, GPP y NCP) en $\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ correspondientes a los experimentos de primavera y verano con testigos de sedimento que contienen la fanerógama marina *Cymodocea nodosa*.

NCP disminuye con el aumento de la temperatura de $0.02 \pm 0.00 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a temperatura *in situ* a una tasa negativa de $-0.06 \pm 0.01 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a 23°C en el experimento de primavera y de $0.02 \pm 0.01 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a temperatura *in situ* a $-0.05 \pm 0.03 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a 31.1 °C (Fig. 15, Tabla 1). La comunidad pasa de ser autótrofa a heterótrofa con el aumento de temperatura.

Tabla 1: Experimentos y macrofitos incubados junto con las temperaturas de incubación (°C), las tasas de respiración (CR, en $\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ y $\text{mgC g}^{-1} \text{ día}^{-1}$), las tasas de producción primaria bruta (GPP, $\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ y $\text{mgC g}^{-1} \text{ día}^{-1}$), las tasas de producción primaria neta (NCP, $\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ y $\text{mgC g}^{-1} \text{ día}^{-1}$) y su error estándar asociado (SE).

Exp.	Esp.	Temp. (°C)	CR ($\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	SE	CR ($\text{mg C g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	SE	GPP ($\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	SE	GPP ($\text{mg C g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	SE	NCP ($\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	SE	NCP ($\text{mg C g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	SE
Primavera	<i>Cymodocea nodosa</i>	17.7	0.10	0.01	0.92	0.08	0.57	0.06	5.47	0.53	0.02	0.00	0.16	0.02
		18.8	0.09	0.01	0.89	0.09	0.64	0.09	6.11	4.24	0.03	0.01	0.31	0.05
		20.2	0.16	0.02	3.82	0.24	0.40	0.14	3.82	1.33	-0.02	0.02	-0.18	0.18
		21.7	0.16	0.01	4.41	0.10	0.46	0.05	4.41	0.45	-0.06	0.01	-0.57	0.10
		23.0	0.16	0.02	1.54	0.20	0.54	0.05	5.15	0.44	-0.06	0.01	-0.59	0.09
	<i>Halimeda incrassata</i>	18.5	0.03	0.01	0.31	0.05	0.02	0.00	0.20	0.03	-0.01	0.00	-0.14	0.03
		19.8	0.03	0.01	0.30	0.07	0.02	0.00	0.17	0.03	-0.02	0.00	-0.16	0.04
		21.2	0.04	0.02	0.36	0.15	0.02	0.01	0.22	0.06	-0.02	0.01	-0.19	0.11
		22.7	0.03	0.01	0.33	0.14	0.02	0.01	0.19	0.09	-0.02	0.01	-0.21	0.08
		24.1	0.03	0.01	0.24	0.07	0.02	0.01	0.16	0.06	-0.02	0.00	-0.15	0.04
	Cymodocea + Halimeda	17.5	0.04	0.01	0.40	0.05	0.04	0.01	0.42	0.28	-0.01	0.00	-0.14	0.04
		18.7	0.06	0.00	0.58	0.03	0.08	0.00	0.79	0.04	0.00	0.00	0.00	0.01
		20.4	0.05	0.01	0.45	0.09	0.06	0.01	0.56	0.07	0.00	0.01	-0.02	0.06
		21.6	0.05	0.03	0.47	0.31	0.04	0.01	0.43	0.12	-0.02	0.02	-0.20	0.24
		23.1	0.05	0.01	0.50	0.11	0.07	0.02	0.70	0.16	-0.01	0.01	-0.12	0.08
Verano	<i>Cymodocea nodosa</i>	25.2	0.31	0.03	2.99	0.33	0.87	0.08	8.32	0.76	0.02	0.01	0.23	0.13
		26.6	0.30	0.02	2.83	0.15	0.82	0.06	7.85	0.58	0.03	0.03	0.30	0.28
		27.6	0.45	0.03	4.31	0.31	1.05	0.11	10.07	1.01	0.01	0.02	0.10	0.16
		29.6	0.32	0.05	3.12	0.47	0.87	0.13	8.37	1.24	0.00	0.01	0.03	0.10
		31.1	0.48	0.08	4.61	0.79	0.88	0.17	8.44	1.66	-0.05	0.03	-0.44	0.26
	<i>Halimeda incrassata</i>	27.4	0.09	0.02	0.82	0.22	0.15	0.04	1.45	0.41	0.02	0.01	0.23	0.09
		28.6	0.08	0.03	0.81	0.31	0.18	0.07	1.72	0.65	0.03	0.02	0.29	0.16
		27.7	0.10	0.04	1.00	0.42	0.18	0.09	1.77	0.91	0.04	0.04	0.41	0.41
		31.6	0.12	0.01	1.19	0.13	0.17	0.03	1.63	0.27	-0.01	0.01	-0.07	0.06
		33.1	0.13	0.01	1.26	0.09	0.20	0.03	1.88	0.31	-0.01	0.01	-0.06	0.10
	Cymodocea + Halimeda	25.0	0.13	0.01	1.25	0.11	0.29	0.07	2.76	0.59	0.02	0.01	0.17	0.07
		26.6	0.17	0.01	1.67	0.13	0.26	0.02	2.48	0.20	0.03	0.01	0.26	0.07
		27.6	0.21	0.02	1.99	0.16	0.42	0.00	4.05	0.04	0.02	0.01	0.22	0.14
		29.5	0.17	0.03	1.63	0.31	0.21	0.03	2.02	0.31	-0.01	0.01	-0.06	0.07
		31.1	0.12	0.06	1.18	0.61	0.20	0.08	1.91	0.77	-0.03	0.02	-0.30	0.19

4.3.2. *Halimeda incrassata*

En primavera la macroalga invasora *Halimeda incrassata* no presenta variaciones en las tasas metabólicas en función de la temperatura (Fig. 16). En el experimento de verano CR aumenta de $0.09 \pm 0.02 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a temperatura *in situ* (27°C) a $0.13 \pm 0.01 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a 33.1°C (Fig. 16, Tabla 1). GPP también aumenta de $0.15 \pm 0.04 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a temperatura *in situ* a $0.20 \pm 0.03 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a 33.1°C (Fig. 16, Tabla 1), mientras que NCP disminuye de $0.02 \pm 0.01 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a una tasa negativa de $-0.01 \pm 0.01 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ cuando se incuban las algas a temperaturas más altas (Fig. 16, Tabla 1).

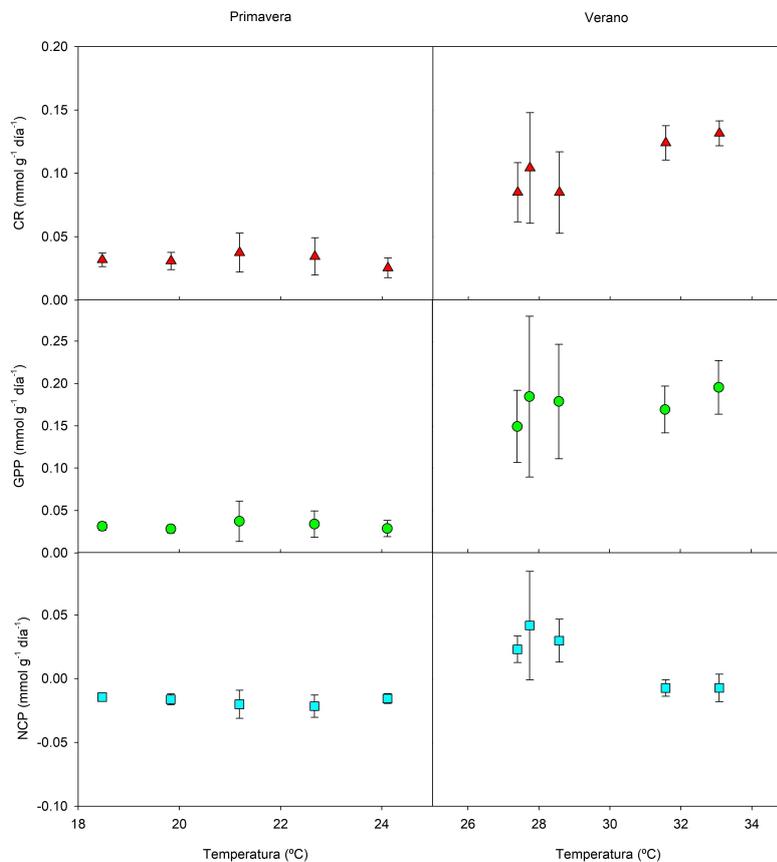


Figura 16: Tasas metabólicas (CR, GPP y NCP) en $\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ correspondientes a los experimentos de primavera y verano con testigos de sedimento que contienen la macroalga invasora *Halimeda incrassata*.

4.3.3. Combinación de las dos especies

Las tasas metabólicas del experimento con una combinación de la especie autóctona *Cymodocea nodosa* colonizada por la especie invasora *Halimeda incrassata* (Fig. 17) en la estación de primavera no presentan variaciones. En el experimento de verano CR aumenta de $0.13 \pm 0.01 \text{ mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$ a 25°C (temperatura *in situ*) hasta

0.21 ± 0.02 mmol g⁻¹ día⁻¹ a 27.6°C (temperatura óptima 27.9°C, Tabla 2) y disminuye a 0.12 ± 0.06 mmol g⁻¹ día⁻¹ en la máxima temperatura a la que se ha sometido (Fig. 17, Tabla 1). GPP aumenta hasta 0.42 ± 0.00 mmol g⁻¹ día⁻¹ a 27.6°C y disminuye a mayores temperaturas (Fig. 17, Tabla 1). NCP disminuye al aumentar la temperatura de 0.02 ± 0.01 mmol g⁻¹ día⁻¹ a una tasa negativa de -0.03 ± 0.02 mmol g⁻¹ día⁻¹ cuando se someten los macrófitos a temperaturas más altas (Fig. 17, tabla 2).

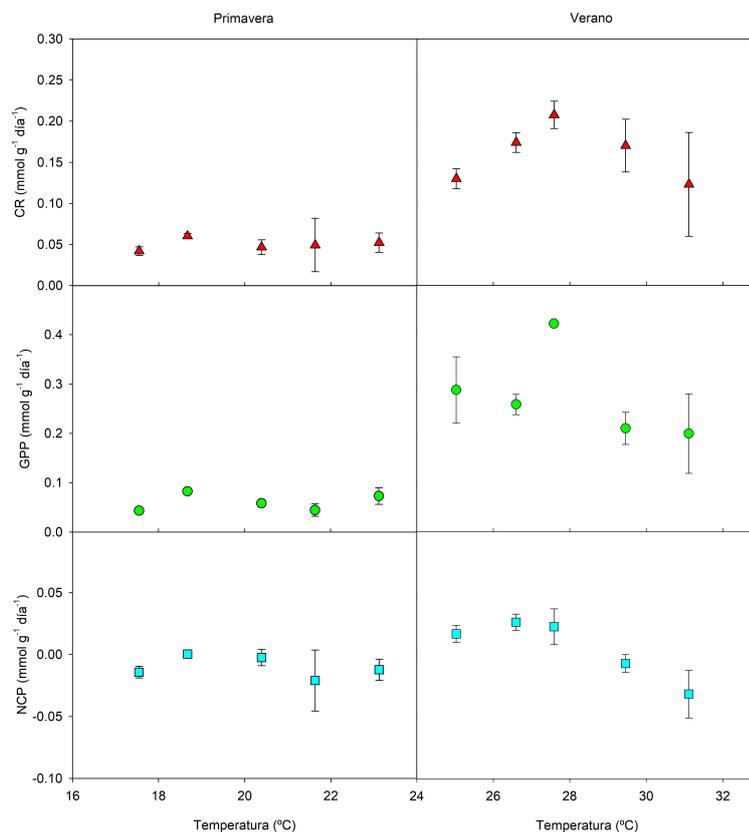


Figura 17: Tasas metabólicas (CR, GPP y NCP) en mmol g⁻¹ día⁻¹ correspondientes a los experimentos de primavera y verano con testigos de sedimento que contienen la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* juntamente con la macroalga invasora *Halimeda incrassata*.

4.3.4. Óptimos de temperatura para las distintas tasas metabólicas

Se han calculado las temperaturas óptimas para los casos en que la relación entre la tasa metabólica y la temperatura seguía una función parabólica, con un ajuste significativo (p -Valor < 0.05). Las temperaturas óptimas calculadas (Tabla 2) son mayores para la respiración que para la producción. Estas temperaturas óptimas varían en función de la especie. En el experimento de verano, la temperatura óptima para la respiración fue de 28.8°C en *Cymodocea nodosa*, mientras que ésta disminuyó cuando la planta se encontraba en compañía de la alga invasora *Halimeda incrassata*

a 27°C. Lo mismo ocurrió para las temperaturas óptimas de GPP y NCP, que se vieron reducidas con la presencia del alga invasora (Tabla 2).

Tabla 2: Temperaturas óptimas (°C) para las tasas metabólicas ($\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$) y ($\text{mmol m}^{-2} \text{ día}^{-2}$) en los distintos experimentos y en las distintas estaciones.

Experimento	Especie	Tasa metabólica	T. Óptima (°C) ($\text{mmol g}^{-1} \text{ día}^{-1}$)	T. Óptima (°C) ($\text{mmol m}^{-2} \text{ día}^{-1}$)
Primavera	<i>Cymodocea nodosa</i>	CR	22.4	21.1
		GPP	*	19.2
	<i>Halimeda incrassata</i>	CR	21.8	22.5
Verano	<i>Cymodocea nodosa</i>	CR	*	28.8
		GPP	28.2	28.2
		NCP	26.1	26.2
	<i>Cymodocea + Halimeda</i>	CR	27.9	27.0
		GPP	*	26.7
		NCP	26.3	25.6

4.4. Energía de activación

La energía de activación, la energía mínima que necesita un sistema para poder iniciar un determinado proceso, cambia en cada uno de los experimentos. En conjunto, las energías de activación tienden a ser mayores en verano que en primavera, siendo las calculadas para CR más altas que las calculadas para GPP (Tabla 3).

4.4.1. Primavera

En primavera, la energía de activación calculada para CR es más alta en el experimento con *Cymodocea nodosa* (0.86 ± 0.24 eV, Tabla 3) que las calculadas en los experimentos con *Halimeda incrassata* y con la combinación de las dos especies (-0.29 ± 0.63 y 0.10 ± 0.36 eV respectivamente, Tabla 3). Al contrario que las calculadas para GPP, que son más altas en los experimentos con *Halimeda incrassata* y con la combinación de las dos especies (0.32 ± 0.26 y 0.29 ± 0.26 eV respectivamente, Tabla 3) que para el experimento con *Cymodocea nodosa* (0.23 ± 0.26 eV, Tabla 3). Para los experimentos que contienen *Halimeda incrassata*, las energías de activación para la GPP son mayores que para las tasas de respiración.

Los resultados del modelo que ajusta el logaritmo neperiano de la tasa de respiración frente a la inversa de la temperatura muestran que hay diferencias significativas entre especies en la pendiente del modelo (Figura 18 y Tabla A2 del anexo, p-valor < 0.02). Para GPP también existen diferencias significativas en la

pendiente entre especies (Figura 18 y Tabla A2 del anexo, p-valor < 0.01). Por lo tanto, la energía de activación, que se obtiene de la menos pendiente de la relación en la ecuación de Arrhenius, es diferente para cada una de las especies.

Los valores de Q_{10} calculados para CR son de 3.60 ± 1.28 en el experimento con *Cymodocea nodosa* (Tabla 3) y bajan en los experimentos con *Halimeda incrassata* y con la combinación de las dos especies (0.65 ± 0.61 y 1.16 ± 0.63 respectivamente, Tabla 3). Para GPP los valores de Q_{10} son similares en los tres experimentos (1.40 ± 0.55 para *Cymodocea nodosa*, 1.60 ± 0.62 para *Halimeda incrassata* y 1.54 ± 0.60 para la combinación de las dos especies, Tabla 3).

4.4.2. Verano

En verano, las energías de activación calculadas tanto para CR como para GPP son más altas en el experimento con *Halimeda incrassata* (0.62 ± 0.18 y 0.53 ± 0.27 eV respectivamente, Tabla 3), seguidas por las calculadas en el experimento con el conjunto de las dos especies (0.60 ± 0.18 y 0.51 ± 0.27 eV respectivamente, Tabla 3) y finalmente las calculadas en el experimento con *Cymodocea nodosa* (0.58 ± 0.18 y 0.48 ± 0.27 eV respectivamente, Tabla 3).

En los dos casos (GPP y CR) los resultados del modelo muestran diferencias significativas en la pendiente entre especies, por lo tanto, las energías de activación son diferentes para cada especie (Figura 18 y Tabla A2 del anexo, p-valor < 0.01).

Los valores de Q_{10} no presentan mucha variación. En los tres experimentos los valores obtenidos para CR son mayores que los obtenidos para la GPP y, a diferencia de los experimentos de primavera, Q_{10} es más alta en el experimento con la macroalga invasora (Tabla 3).

Tabla 3: Energías de activación y sus errores estándar (calculados usando error de propagación). Ea se calcula a partir de la ecuación ajustada de Arrhenius entre el logaritmo neperiano de la tasa metabólica (CR y GPP) y la inversa de la temperatura de incubación ($1/kT$). También aparecen los valores de Q_{10} de las comunidades con su error estándar (SE).

Estación	Planta	Tasa metabólica	Ea (eV)	SE	R2	Q10	SE
Primavera	<i>Cymodocea nodosa</i>	CR	0.86	0.24	0.90	3.60	1.28
		GPP	0.23	0.26	0.94	1.40	0.55
	<i>Halimeda incrassata</i>	CR	-0.29	0.63	0.90	0.65	0.61
		GPP	0.32	0.26	0.94	1.60	0.62
	Cymodocea + Halimeda	CR	0.10	0.36	0.90	1.16	0.63
		GPP	0.29	0.26	0.94	1.54	0.60
Verano	<i>Cymodocea nodosa</i>	CR	0.58	0.18	0.82	2.38	0.65
		GPP	0.48	0.27	0.92	2.03	0.80
	<i>Halimeda incrassata</i>	CR	0.62	0.18	0.82	2.51	0.69
		GPP	0.53	0.27	0.92	2.20	0.87
	Cymodocea + Halimeda	CR	0.60	0.18	0.82	2.44	0.67
		GPP	0.51	0.27	0.92	2.12	0.84

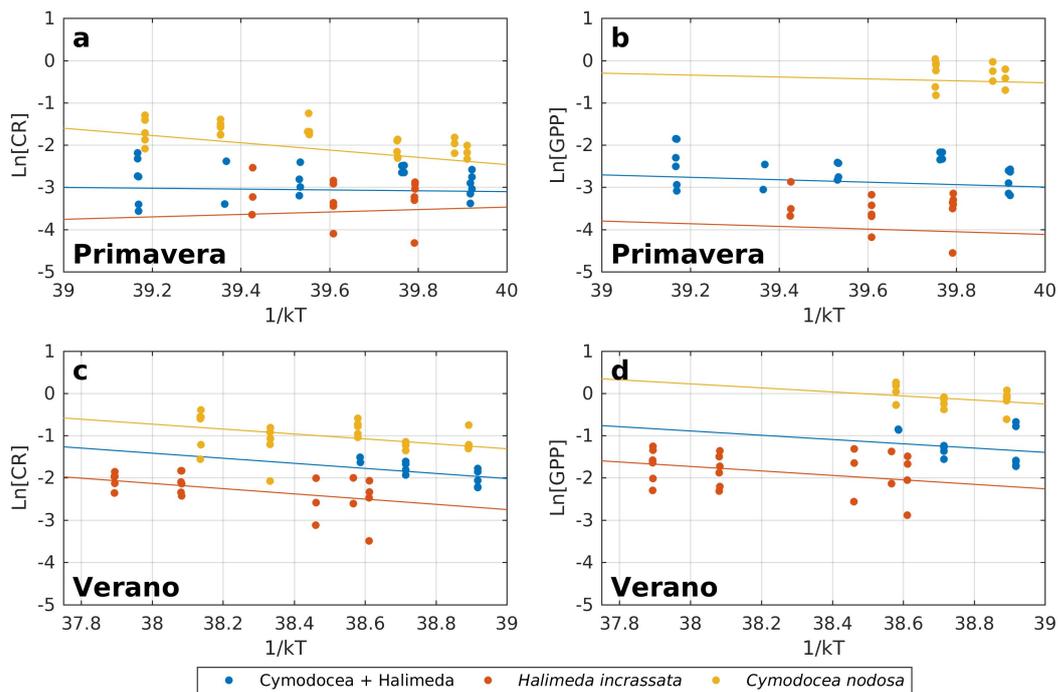


Figura 18: Resultado de los modelos de efectos mixtos que muestran el efecto de la temperatura ($1 / kT$) sobre **a)** respiración bentónica en primavera, **b)** producción primaria bruta bentónica en primavera, **c)** respiración bentónica en verano, y **d)** producción primaria bruta bentónica en verano. Los puntos en amarillo representan los datos de *Cymodocea nodosa*, los puntos en rojo representan los datos de *Halimeda incrassata* y los puntos en azul representan los datos de la combinación de las dos especies. Las líneas representan la relación entre los logaritmos neperianos de las tasas metabólicas y la inversa de la temperatura ($1 / kT$).

5. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio respaldan la hipótesis de que el calentamiento modifica las tasas metabólicas de los macrófitos estudiados, produciendo un aumento de la producción primaria y de la respiración, resultados apreciados básicamente en verano.

La concentración de oxígeno muestra un claro patrón diurno, con una disminución de la concentración durante la noche, debido a la respiración y un aumento de la concentración durante el día, debido a la producción primaria (Fig. A1 del anexo). Los sensores captan las variaciones de oxígeno causadas por el metabolismo de estos macrófitos, por lo tanto su uso es apropiado para estimar las tasas de metabolismo en estas comunidades bentónicas. En el experimento con *Halimeda incrassata* en primavera no se observa esta tendencia, aquí la concentración de oxígeno disminuye a medida que pasan las 48 horas de incubación. Esto puede ser debido a que esta macroalga en primavera no está activa, solo hay respiración de su comunidad microbiana asociada y por lo tanto hay un consumo de oxígeno.

Las tasas metabólicas son sensibles al aumento de la temperatura sobre todo en verano. En los estudios de estos macrófitos por separado, las tasas de respiración bentónica (CR) aumentan al aumentar 6°C la temperatura (55% en *Cymodocea nodosa* y un 62% en *Halimeda incrassata*, en verano), mientras que en el experimento con una combinación de las dos especies se aprecia un óptimo de temperatura a 27.6°C (Fig. 17, Tabla 1) con un aumento del 62% en CR al aumentar 2.5°C la temperatura. En el caso de la producción primaria bruta (GPP), es importante observar que un aumento de 6°C que lleva a temperaturas superiores a 30°C (en verano) reduce GPP en las comunidades de fanerógamas dominantes (óptimo de temperatura a 28.2 °C, Tabla 2), cosa que no pasa en comunidades con la macroalga invasora, donde GPP aumenta un 33% al aumentar 6°C la temperatura. Este aumento de las tasas metabólicas con la temperatura respalda la teoría metabólica de la ecología (MTE) (Brown et al., 2004) que dice que con el aumento de la temperatura aumenta tanto CR como GPP, un aumento que se prevé que sea mayor para la respiración que para la producción. Este aumento de las tasas de respiración respecto a las de producción con el calentamiento también se ha observado en diversos experimentos (Lefevre et al. 1994; Müren et al., 2005; Vaquer-Sunyer et al., 2010).

Con el aumento de la temperatura las comunidades estudiadas tienden a pasar de una NCP positiva donde la comunidad es autotrófica y por lo tanto absorbe dióxido de carbono y libera oxígeno a una NCP negativa y por lo tanto heterotrófica. Esto se confirma con el aumento de $p\text{CO}_2$ a temperaturas más altas (Fig. A5 del anexo). También aparece una fuerte correlación entre la concentración de DOC y la respiración de la comunidad, que se puede relacionar con un aumento de sustrato importante para mantener la respiración. Las consecuencias ecológicas de una disminución simultánea de la producción neta y un aumento de las tasas de respiración podría producir que estos ecosistemas se convirtiesen en heterótrofos netos con una tendencia a emitir CO_2 a la columna de agua y agotar la concentración de oxígeno, probablemente serían ecosistemas propensos a experimentar hipoxia.

Con los buceos de muestreo se pudo apreciar un efecto estacional sobre la presencia de la macroalga invasora en es Caló Fort. La presencia de *Halimeda incrassata* fue mayor en julio que en abril y esto se relaciona con una mayor actividad metabólica en verano. Esto también se observa en Florida (Davis & Fourqurean, 2001) donde *Halimeda incrassata* presenta mayores tasas de crecimiento en los meses más cálidos.

La temperatura óptima para *Cymodocea nodosa* fue más alta para CR que para GPP mientras que en *Halimeda incrassata* no se han podido calcular ya que a mayor temperatura las tasas metabólicas siguen aumentando. Esto sugiere que *Halimeda incrassata* tiene su umbral a temperaturas más altas y reafirma la idea de que esta macroalga no está activa en primavera donde las temperaturas del agua son más bajas. La temperatura del agua en regiones tropicales tiene menor variabilidad anual que en regiones subtropicales y templadas y *Halimeda incrassata* no parece haber desarrollado la flexibilidad fisiológica para aclimatarse a esta variabilidad estacional. Esto sugiere la adaptación de cada especie a la temperatura del agua dentro de su rango de distribución (Collier et al., 2017). Las temperaturas óptimas más elevadas para CR que para GPP en *Cymodocea nodosa* se pueden comparar con las temperaturas óptimas para *Cymodocea serrulata* descritas para Collier et al., (2017) que parecen seguir estas mismas tendencias. Aun así, *Cymodocea serrulata* es una especie tropical y sus temperaturas óptimas alcanzan los 35°C (Collier et al., 2017).

Las pendientes significativamente diferentes entre especies en el modelo que ajusta el logaritmo neperiano de las tasas metabólicas frente a la inversa de la temperatura, indican que las especies responden de manera diferente a los cambios

de temperatura. En general, y con excepción de los experimentos con *Halimeda incrassata* en primavera, las energías de activación (E_a) para CR son más altas que para GPP respaldando la teoría metabólica de la ecología (Brown et al., 2004). En verano la E_a tanto para la respiración como para la producción tiende a ser mayor en los experimentos con presencia de *Halimeda incrassata*, esto es así porque esta especie no supera su óptimo de temperatura de manera que puede seguir aumentando su metabolismo a medida que aumenta la temperatura.

Los valores de Q_{10} cercanos a 2 en todos los casos indican que las tasas metabólicas responden a la temperatura (Berges et al., 2002). Los valores experimentales de Q_{10} calculados para CR fueron mayores que para GPP en todos los experimentos menos en los experimentos con solo *Halimeda incrassata* y con el conjunto de las dos especies en primavera, que además presentan valores de Q_{10} calculados para la respiración inferiores a dos. Esto se puede relacionar con el hecho de que la macroalga invasora no se encuentra activa en primavera. El hecho de que las Q_{10} calculadas para CR sean mayores que las calculadas para GPP en la mayoría de los experimentos apoya los valores más altos de Q_{10} en CR que en GPP previstos por la teoría metabólica de la ecología (MTE, Brown et al., 2004).

Cuando la macroalga invasora se encuentra activa (verano), los valores de Q_{10} tanto para la respiración como para la producción son de 2.51 y 2.20 respectivamente. Estos resultados se pueden comparar con los valores de Q_{10} para CR y GPP de la macroalga *Caulerpa prolifera*, una macroalga que se encuentra en las comunidades autóctonas de Portocolom (Mallorca). Los valores de Q_{10} , calculados a partir de medidas continuas de las concentraciones de oxígeno disuelto integrando casi un año de muestreo, para CR y GPP fueron de 1.46 y 2.17 respectivamente (Vaquer-Sunyer et al., 2012). También se ha estimado el coeficiente Q_{10} para la respiración de *Caulerpa prolifera* en el Mar Menor, que varía entre 1.41 y 2.6 (Terrados & Ros, 1992).

Las respuestas de las plantas al estrés térmico depende de la capacidad de tolerancia (umbral térmico) de cada especie o incluso de cada individuo dentro de la misma especie, ya que la plasticidad fenotípica puede determinar la tolerancia fisiológica de los diferentes tipos de plantas (Sandoval-Gil et al., 2014). Por otro lado, la capacidad de aclimatarse al estrés y superarlo con consecuencias mínimas sobre la vitalidad (o *fitness*) dependerá de la intensidad y la duración del estrés. En este caso hemos visto que en primavera al someter a la macroalga invasora *Halimeda incrassata* a temperaturas superiores a las que se encuentran en el medio natural no produce

efectos sobre sus tasas metabólicas. Por otro lado, en verano, cuando se produce un estrés más severo, *Cymodocea nodosa* disminuye su producción por encima de 28°C, *Halimeda incrassata* sigue aumentando su respiración y su producción a temperaturas más altas y al estudiar conjuntamente las dos especies se producen disminuciones en sus tasas metabólicas por encima de 28°C.

A pesar de que un aumento de la temperatura que llega hasta 33°C produce un aumento en el metabolismo de *Halimeda incrassata* se sabe que la temperatura es un factor limitante para su supervivencia. No se encuentran estudios de temperaturas óptimas calculadas para tasas metabólicas en la especie *Halimeda incrassata* pero si para especies de este mismo género como *Halimeda macroalba* o *Halimeda cylindracea*. En este caso Sinutok et al., (2011) encontró una alta producción de O₂ después de una exposición a corto plazo a 32°C, mientras que una exposición a largo plazo a la misma temperatura produjo una disminución del metabolismo en estas especies. Por lo tanto, aunque la exposición a corto plazo a temperaturas elevadas (32°C) puede aumentar las tasas metabólicas en estas especies, se encontró que 32°C es un límite superior para su supervivencia. Esto pasa en periodos de tiempo largos, superiores a los de nuestras incubaciones.

Halimeda incrassata es una macroalga calcificadora, por lo tanto, si el aumento de la temperatura afecta al rendimiento fotosintético de este macrófito, podría afectar a su calcificación. Se ha observado que el calentamiento y la acidificación del océano son factores determinantes para la calcificación e inhibición de la fotosíntesis en *Halimeda* (Sinutok et al., 2012). El proceso de la calcificación representa una fuente global de CO₂ a la atmósfera. Smith y Gattuso (2009) proporcionan una clara explicación geoquímica a este punto como se observa en la siguiente ecuación:



A pesar de que esta ecuación no representa cuantitativamente el mundo real se utiliza como un enfoque didáctico válido. En este caso, en una escala de tiempo corta, se libera CO₂, disminuye el pH y precipita carbonato cálcico. En cambio, una vez formado, el carbonato cálcico se puede almacenar en forma de sedimento si el alga no se desintegra por completo después de su ciclo de vida. Si este carbonato no se disuelve, a largo plazo podría contribuir al secuestro de carbono.

Como se ha dicho anteriormente, el proceso de calcificación está estrechamente acoplado a la fotosíntesis, que puede proporcionar la energía para el proceso de precipitación de carbonato. Los cambios producidos por el calentamiento global como la acidificación de los océanos pueden interferir en la precipitación de CaCO_3 y dificultar la formación de estructuras clave como las estructuras calcáreas (Hendriks et al., 2010). Ries et al., (2009) demuestra una relación parabólica con un óptimo de pH para la calcificación debido al equilibrio entre generar energía con la fotosíntesis y la disponibilidad de sustrato gracias a la calcificación. La respuesta heterotrófica normal es que los organismos calcifiquen más cuando hay menos presencia de CO_2 con un pH más alto. El problema de los organismos fotosintetizadores que también calcifican, como es el caso de *Halimeda incrassata*, es que con un pH alto y CO_2 bajo estas especies podrán calcificar menos porque en estas condiciones disminuye su actividad fotosintética (Ries et al., 2009).

El aumento de la temperatura del agua del mar es un fenómeno más o menos reciente en las Islas Baleares, donde la temperatura máxima del agua ha aumentado desde un valor de 26.5 °C a finales del siglo XX hasta una temperatura próxima a 30°C durante la primera década del siglo XXI (Marbà & Duarte 2010). Con estos resultados se puede decir que con el calentamiento del Mediterráneo aumentaran las tasas metabólicas (CR y GPP) de las especies estudiadas cuando estas se encuentren por separado. NCP disminuye con el aumento de la temperatura hasta valores negativos que indican que la comunidad pasa a ser heterotrófica. En el caso de las praderas invadidas por algas no nativas, sus tasas metabólicas aumentarán hasta un óptimo de temperatura de 27°C, (Tabla 2). Este resultado sugiere que esta macroalga puede cambiar el funcionamiento de los ecosistemas poco profundos del Mediterráneo y puede producir efectos sobre las especies autóctonas formadoras de praderas marinas como la *Cymodocea nodosa*. Además, el aumento de esta macroalga invasora en nuestras costas producirá un aumento de $p\text{CO}_2$ en los ecosistemas al aumentar la temperatura (Fig. A5 del anexo).

Los estudios basados en el metabolismo se revelan como una buena herramienta para evaluar las sinergias entre el aumento de temperatura y la presencia de especies invasoras y, por lo tanto, para hacer predicciones sobre las respuestas al cambio climático de estos ecosistemas tan valiosos. Uno de los principales servicios ecosistémicos que proporcionan las praderas de fanerógamas marinas es la captación de dióxido de carbono y su posible efecto para paliar el calentamiento global. En este estudio hemos comprobado que un efecto combinado de aumento de temperatura y

colonización por especies invasoras produce que estos ecosistemas pasen de ser un sumidero de carbono a ser una fuente de carbono, con sus consecuentes efectos negativos sobre el calentamiento global.

6. CONCLUSIONES

- 1) Las medidas de oxígeno disuelto con el IKS-Aquastar son un buen método para evaluar los efectos que produce el estrés térmico sobre las tasas metabólicas de ecosistemas autóctonos afectados por especies invasoras, y para determinar el umbral de tolerancia de estas especies a temperaturas elevadas.
- 2) Las tasas metabólicas varían en función de la estación del año, con aumentos más considerables en verano que en primavera. En primavera la macroalga invasora *Halimeda incrassata* parece no estar activa ya que tiene su umbral de tolerancia a temperaturas más altas.
- 3) El aumento de la temperatura produce un aumento de las tasas metabólicas (CR y GPP), cuando se estudian los macrófitos por separado y este aumento es mayor para la respiración que para la producción.
- 4) Si el aumento de la temperatura afecta al rendimiento fotosintético de *Halimeda incrassata* esto puede tener consecuencias sobre la actividad calcificante de esta macroalga aumentando las emisiones de CO₂.
- 5) Los efectos combinados del aumento de la temperatura juntamente con la colonización de especie invasoras de origen tropical disminuye las tasas metabólicas a partir de una temperatura umbral.
- 6) El efecto combinado del calentamiento junto con la presencia de la especie invasora *Halimeda incrassata* produce que estos ecosistemas pasen a ser un sumidero de carbono a una fuente de carbono.

7. BIBLIOGRAFIA

- Alós, J.; Tomas, F.; Terrados, J.; Verbruggen, H. & Ballesteros, E. (2016). Fast-spreading green beds of recently introduced *Halimeda incrassata* invade Mallorca island (NW Mediterranean sea). *Marine Ecology Progress Series*, 558: 153–158.
- Berges, J. A.; Varela, D. E. & Harrison, P. J. (2002). Effects of temperature on growth rate, cell composition and nitrogen metabolism in the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae). *Marine Ecology-Progress Series*, 225: 139–146.
- Bianchi, C. N. (2007). Biodiversity issues for the forthcoming tropical Mediterranean Sea. *Hydrobiologia*, 580: 7–21.
- Björk, M.; Short, F.; Mcleod, E. & Beer, S. (2008). Managing seagrasses for resilience to climate change. IUCN, Gland, Switzerland. 56pp.
- Boudouresque, C. F. & Verlaque, M. (2002). Biological pollution in the Mediterranean Sea: Invasive versus introduced macrophytes. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 32–38.
- Brown, J. H.; Gillooly, J. F.; Allen, A. P.; Savage, V. M. & West, G. B. (2004). Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, 85: 1771–1789.
- Bunn, S. E.; Davies, P. M. & Mosisch, T. D. (1999). Ecosystem measures of river health and their response to riparian and catchment degradation. *Freshwater Biology*, 41: 333–345.
- Calvo, E.; Simó, R.; Coma, R.; Ribes, M.; Pascual, J.; Sabatés, A.; Gili, J. & Pelejero, C. (2011). Effects of climate change on Mediterranean marine ecosystems: the case of the Catalan Sea. *Climate Research*, 50: 1–29.
- Carpenter, J. H. (1966). New measurements of oxygen solubility in pure and natural water. *Limnology and Oceanography*, 11: 264–277.
- Chapin, F. S.; Zavaleta, E. S.; Eviner, V. T.; Naylor, R. L.; Vitousek, P. M.; Reynolds, H. L.; Hooper, D. U.; Lavorel, S.; Sala, O. E.; Hobbie, S. E.; Mack, M. C. & Díaz, S. (2000). Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405: 234–42.
- Collier, C. J.; Ow, Y. X.; Langlois, L.; Uthicke, S.; Johansson, C. L.; O'Brien, K. R.; Hrebien, V. & Adams, M. P. (2017). Optimum temperatures for Net Primary Productivity of three tropical seagrass species. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1–14.
- Conley, D. J.; Carstensen, J.; Vaquer-Sunyer, R. & Duarte, C. M. (2009). Ecosystem thresholds with hypoxia. *Hydrobiologia*, 629: 21–29.
- Davis, B. C. & Fourqurean, J. W. (2001). Competition between the tropical alga, *Halimeda incrassata*, and the seagrass, *Thalassia testudinum*. *Aquatic Botany*, 71: 217–232.
- Diaz, R. J. & Rosenberg, R. (1995). Marine benthic hypoxia: a review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna. *Oceanography and Marine Biology*, 33: 245–303.
- Dickson, A. G. (1981). An exact definition of total alkalinity and a procedure for the estimation of alkalinity and total inorganic carbon from titration data. *Deep Sea Research Part A, Oceanographic Research Papers*, 28: 609–623.

- Dickson, A.G. & F.J. Millero. (1987). A comparison of the equilibrium constants for the dissociation of carbonic acid in seawater media. *Deep-Sea Research*, 34: 1733-1743.
- Dickson, A.G. (1990), Standard potential of the reaction: $\text{AgCl(s)} + \frac{1}{2}\text{H}_2\text{(g)} = \text{Ag(s)} + \text{HCl(aq)}$, and the standard acidity constant of the ion HSO_4^- in synthetic sea water from 273.15 to 318.15 K. *J. Chem. Thermody*, 22: 113–127
- Dickson, A. G.; Sabine, C. L. & Christian, J. R. (2007). Guide to best practices for ocean CO_2 measurements. PICES Special Publ (Vol. 3).
- Duarte, C. M. (2000). Marine biodiversity and ecosystem services: an elusive link. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 250: 117–131.
- Enquist, B. J.; Economo, E. P.; Huxman, T. E.; Allen, A. P.; Ignace, D. D. & Gillooly, J. F. (2003). Scaling metabolism from organisms to ecosystems. *Nature*, 423: 639–642.
- Fellows, C. S.; Clapcott, J. E.; Udy, J. W.; Bunn, S. E.; Harch, B. D.; Smith, M. J. & Davies, P. M. (2006). Benthic metabolism as an indicator of stream ecosystem health. *Hydrobiologia*, 572: 71–87.
- Fernández, R.; Segura, R. & Muñoz, G. (2005). Introducción reciente y expansión del alga tropical invasora *Caulerpa racemosa* en el litoral de la Región de Murcia.
- Garcia, H. E. & Gordon, L. I. (1992). Oxygen solubility in seawater: Better fitting equations. *Limnology and Oceanography*, 37: 1307–1312.
- Green, E. P. & Short, F. T. (2003) World atlas of seagrasses. Prepared by the UNEP World Conservation Monitoring Centre. University of California Press, Berkeley, USA. 324 pp
- Halpern, B. S.; Walbridge, S.; Selkoe, K. A.; Kappel, C. V.; Micheli, F.; D'Agrosa, C.; Bruno, J. F.; Casey, K. S.; Ebert, C.; Fox, H. E.; Fujita, R.; Heinemann, D.; Lenihan, H. S.; Madin, E. M. P.; Perry, M. T.; Selig, E. R.; Spalding, M.; Steneck, R. & Watson, R. (2008) A global map of human impact on marine ecosystems. *science*, 319: 948-952.
- Harris, L. A.; C. M. Duarte, & S. W. Nixon. (2006). Allometric laws and prediction in estuarine and coastal ecology. *Estuaries and Coasts*, 29: 340–344.
- Heck, K. L. & Valentine, J. F. (2006). Plant-herbivore interactions in seagrass meadows. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 330: 420–436.
- Hendriks, I. E.; Duarte, C. M. & Álvarez, M. (2010). Vulnerability of marine biodiversity to ocean acidification: A meta-analysis. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 86: 157–164.
- IPCC, 2013: Summary for Policymakers. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S. K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Labasque, T.; C. Chaumery.; A. Aminot. & G. Kergoat. (2004). Spectrophotometric

- Winkler determination of dissolved oxygen: re-examination of critical factors and reliability. *Marine Chemistry*, 88: 53-60.
- Lee, K.-S.; Park, S. R. & Kim, Y. K. (2007). Effects of irradiance, temperature, and nutrients on growth dynamics of seagrasses: a review. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 350: 144–175.
- Lefevre, D.; T. L. Bentley.; C. Robinson.; S. P. Blight. & P. J. L. Williams. (1994). The temperature response of gross and net community production and respiration in time-varying assemblages of temperate marine micro-plankton. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 184: 201–215.
- Lipej, L.; Acevedo, I.; Akel, E. H. K.; Anastasopoulou, A.; Angelidis, A.; Azzurro, E.; Castriota, L.; Celik, M.; Cilenti, L.; Crocetta, F.; Deidun, A.; Dogrammatzi, A.; Falautano, M.; Fernández-Alvarez F. Á.; Gennaio, R.; Insacco, G.; Katsanevakis, S.; Langeneck, J.; Lombardo, B. M.; Mancinelli, G.; Mytilineou, CH.; Papa, L.; Pitacco, V.; Pontes, M.; Poursanidis, D.; Prato, E.; Rizkalla, S. I.; Rodriguez-Flores, P. C.; Stamouli, C.; Tempesti, J.; Tiralongo, F.; Tirnetta, S.; Tsirintanis, K.; Turan, C.; Yaglioglu, D.; Zaminos, G. & Zava, B. (2017). New Mediterranean biodiversity records (March 2017). *Mediterranean Marine Science*, 18: 179–201.
- Marbà, N. & Duarte, C. M. (2010). Mediterranean warming triggers seagrass (*Posidonia oceanica*) shoot mortality. *Global Change Biology*, 16: 2366–2375.
- Marsh Jr.; J. A.; Dennison, W. C. & Alberte, R.S. (1986). Effects of temperature on photosynthesis and respiration in eelgrass (*Zostera marina* L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 101: 257-267.
- McMillan, C. (1984). The distribution of tropical seagrasses with relation to their tolerance of high temperatures. *Aquatic Botany*, 19: 369-380.
- Mehrbach, C.; C. H. Culberson.; J. E. Hawley. & R. M. Pytkowicz. (1973), Measurement of the apparent dissociation constants of carbonic acid in seawater at atmospheric pressure. *Limnology and Oceanography*, 18:897–907.
- Müren, U.; J. Berglund, K. Samuelsson. & A. Andersson. (2005). Potential effects of elevated sea-water temperature on pelagic food webs. *Hydrobiologia*, 545: 153–166.
- Odum, H. T. (1956). Primary production in flowing waters. *Limnology and Oceanography*, 1: 102–117.
- Paerl, H. W. (2006). Assessing and managing nutrient-enhanced eutrophication in estuarine and coastal waters: Interactive effects of human and climatic perturbations. *Ecological Engineering*, 26: 40–54.
- Pierrot, D.; E. Lewis, & D. W. R. Wallace. (2006), MS Excel Program Developed for CO₂ System Calculations. ORNL/CDIAC-105a. Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, U.S. Department of Energy, Oak Ridge, Tennessee.
- R Development Core Team (2014). R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. www.R-project.org/

- Raven, J. A. & Geider, R. J. (1988). Temperature and algal growth. *New Phytol*, 110: 441–461.
- Ries, J. B.; Cohen, A. L. & McCorkle, D. C. (2009). Marine calcifiers exhibit mixed responses to CO₂-induced ocean acidification. *Geology*, 37: 1131–1134.
- Sandoval-Gil, J. M.; Ruiz, J. M.; Marín-Guirao, L.; Bernardeu-Esteller J. & Sanchez-Lizaso J. L. (2014). Ecophysiological plasticity of shallow and deep populations of the Mediterranean seagrasses *Posidonia oceanica* and *Cymodocea nodosa* in response to hypersaline stress. *Marine Environmental Research*, 95: 39-61.
- Sinutok, S.; Hill, R.; Doblin, M. A.; Kühl, M. & Ralph, P. J. (2012). Microenvironmental changes support evidence of photosynthesis and calcification inhibition in Halimeda under ocean acidification and warming. *Coral Reefs*, 31: 1201–1213.
- Smith, S. V. & M. J. Atkinson. (1984). Phosphorus limitation of net production in a confined aquatic ecosystem. *Nature (London)*, 307: 626 – 627.
- Smith S.V. & Gattuso J.P. (2009). Coral reefs. In: Laffoley D., Grimsditch G. (Eds). *The management of natural coastal carbon sinks*, pp: 39-45.
- Smith, T. M. & Smith, RL (2007). *Ecología*. Pearson, Addison Wesley.
- Spyres, G.; Nimmo, M.; Worsfold, P. J.; Achterberg, E. P. & Miller, A. E. J. (2000). Determination of dissolved organic carbon in seawater using high temperature catalytic oxidation techniques, TrAC-Trend. *Analytical Chemistry*, 19; 498–506.
- Terrados, J. & J.D. Ros. (1992). The influence of temperature on seasonal-variation of *Caulerpa-prolifera* (Forsskal) Lamouroux photosynthesis and respiration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 162:199-212.
- Thomas, C. D.; Cameron, A.; Green, R. E.; Bakkenes, M.; Beaumont, L. J.; Collingham, Y. C.; Erasmus, B. F. N.; de Siqueira, M. F.; Grainger, A.; Hannah, L.; Hughes, L.; Huntley, B.; van Jaarsveld, A.S.; Midgley, G.F.; Miles, L.; Ortega-Huerta, M. A.; Peterson, A. T.; Phillips, O. L. & Williams, S. E. (2004). Extinction risk from climate change. *Nature*, 427: 145-148.
- Vaquer-Sunyer, R. & Duarte, C. M. (2008). Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105: 15452–15457.
- Vaquer-Sunyer, R.; Duarte, C. M.; Santiago, R.; Wassmann, P. & Reigstad, M. (2010). Experimental evaluation of planktonic respiration response to warming in the European Arctic Sector. *Polar Biology*, 33: 1661–1671.
- Vaquer-Sunyer, R.; Duarte, C. M.; Jordà, G. & Ruiz-Halpern, S. (2012). Temperature dependence of oxygen dynamics and community metabolism in a shallow Mediterranean Macroalgal Meadow (*Caulerpa prolifera*). *Estuaries and Coasts*, 35: 1182–1192.
- Vaquer-Sunyer, R. & Duarte, C. M. (2013). Experimental evaluation of the response of coastal Mediterranean planktonic and benthic metabolism to warming. *Estuaries and Coasts*, 36: 697–707.
- Vargas-Yáñez, M.; Moya, F.; García-Martínez, M. C.; Tel, E.; Zunino, P.; Plaza, F.; Salat, J.; Pascual, J.; López-Jurado, J. & Serra, M. (2010). Climate change in the

- Western Mediterranean Sea 1900-2008. *Journal of Marine Systems*, 82: 171–176.
- Venkiteswaran, J. J.; Wassenaar, L. I. & Schiff, S. L. (2007). Dynamics of dissolved oxygen isotopic ratios: A transient model to quantify primary production, community respiration, and air-water exchange in aquatic ecosystems. *Oecologia*, 153: 385–398.
- Verbruggen, H.; De Clerck, O.; N'Yeurt, A. D. R.; Spalding, H. & Vroom PS (2006) Phylogeny and taxonomy of *Halimeda incrassata*, including descriptions of *H. kanaloana* and *H. heteromorpha* spp. nov. (Bryopsidales, Chlorophyta). *Eur J Phycol*, 41: 337–362.
- Vergés, A.; Steinberg, P. D.; Hay, M. E.; Poore, AG. B.; Campbell, A. H.; Ballesteros, E.; Heck Jr, K. L.; Booth, D. J.; Coleman, M. A.; Feary, D. A.; Figuera, W.; Langlois, T.; Marzinelli, E. M.; Mizerek, T.; Mumby, P. J.; Nakamura, Y.; Roughan, M.; Sebille, E.; Gupta, AS.; Smale, D. A.; Tomas, F.; Wernberg, T. & Wilson, S. K. (2014). The tropicalization of temperate marine ecosystems: climate-mediated changes in herbivory and community phase shifts. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281: 1–10.
- Walker, D.I. (1991). The effect of sea temperature on seagrasses and algae on the Western Australian coastline. *J. Roy. Soc, WA* 74: 71-77.
- Waycott, M.; Duarte, C. M.; Carruthers, T. J. B.; Orth, R. J.; Dennison, W. C.; Olyarnik, S.; Calladine, A.; Fourqurean, J. W.; Heck, K. L.; Hughes, A. R.; Kendrick, G. A.; Kenworthy, W. J.; Short F. T. & Williams S. L. (2009). Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *National Academy of science of the USA*, 106: 12377-12381.
- Williams, P. J. le B.; Raine, R. C. T. & Bryan, J. R. (1979) Agreement between the ¹⁴C and oxygen methods of measuring phytoplankton production: reassessment of the photosynthetic quotient, *Oceanol. Acta*, 2: 441–416.
- Winkler, L. W. (1888). Die Bestimmung des im Wasser gelosten Sauerstoffes. *Chem. Ber*, 27: 2843–2855.
- Zenetos, A.; Gofas, S.; Verlaque, M.; Çinar, M. E.; Garcia Raso, J. E.; Bianchi, C. N.; Morri, C.; Azzurro, E.; Bilecenoglu, M.; Froggia, C.; Siokou, I.; Violanti, D.; Sfriso, A.; San Martín, G.; Giangrande, A.; Katağan, T.; Ballesteros, E.; Ramos-Esplá, A.; Mastrototaro, F.; Ocaña, O.; Zingone, A.; Gambi M.C. & Streftaris, N. (2010). Alien species in the Mediterranean sea by 2010. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part I. Spatial distribution. *Environmental Sciences*, 11:381-493.

Webs

NASA. *March 2017 was second – warmest March on record* [en línea]. Pagina web: <<https://climate.nasa.gov/news/2575/march-2017-was-second-warmest-march-on-record/>> [4 de octubre del 2017]

ANEXO

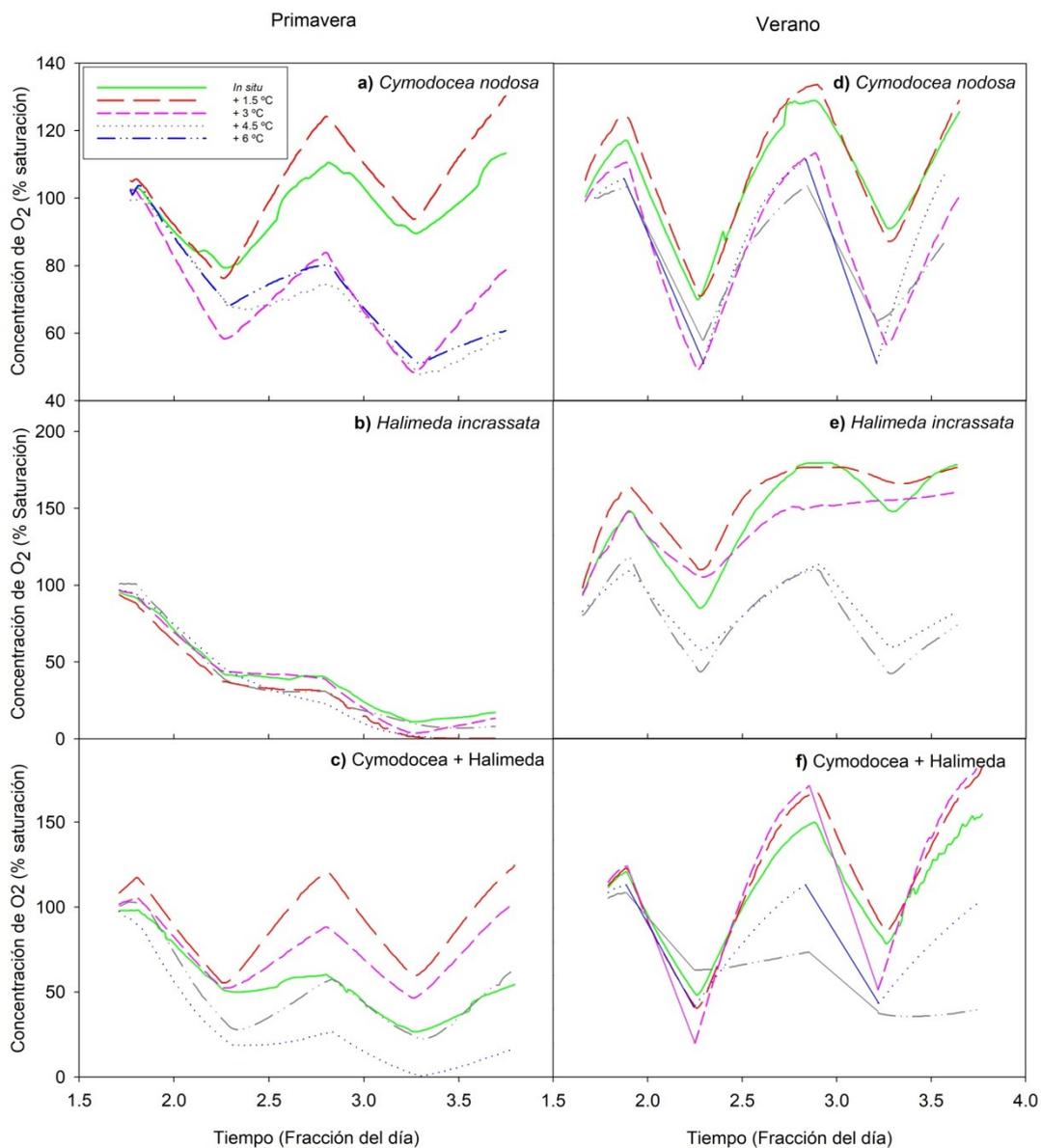


Figura A1: Variación de la concentración de oxígeno (O₂) (% saturación) en los distintos experimentos y por los distintos tratamientos de temperatura. El tanque 1 corresponde a la temperatura *in situ* y va subiendo 1.5°C por tanque. **a)** Corresponde al experimento con *Cymodocea nodosa* en primavera, **b)** al experimento con *Halimeda incrassata* en primavera, **c)** al experimento con la combinación de las dos especies en primavera, **d)** al experimento con *Cymodocea nodosa* en verano, **e)** al experimento con *Halimeda incrassata* en verano y **f)** al experimento con la combinación de las dos especies en verano.

Tabla A1: Experimentos y macrofitos incubados junto con; las temperaturas durante el experimento (Temp Exp) en °C y las temperaturas durante el proceso de aclimatación (Temp Aclim) en °C con sus desviaciones estándar (SD). Y las medias de los pesos secos aéreos (g), subterráneos (g) y totales (g) en cada tanque por cada tratamiento de temperatura con sus errores estándar asociados (SE).

Estación	Especie	Tanque	Temp Exp. (°C)	SD	Temp Aclim. (°C)	SD	Peso seco aéreo (g)	SE	Peso seco subterráneo (g)	SE	Peso seco total (g)	SE
Primavera	<i>Cymodocea nodosa</i>	T 1	17.7	0.51	17.5	0.45	0.157	0.07	0.573	0.16	0.730	0.22
		T2	18.8	0.20	18.8	0.26	0.157	0.04	0.581	0.03	0.738	0.06
		T3	20.2	0.23	20.3	0.29	0.343	0.27	0.333	0.28	0.675	0.01
		T4	21.7	0.30	21.7	0.24	0.016	0.01	0.428	0.04	0.558	0.04
		T5	23.0	0.08	23.1	0.27	0.116	0.02	0.502	0.12	0.619	0.11
	<i>Halimeda incrassata</i>	T 1	18.5	0.34	18.4	0.37	3.352	0.29	0.647	0.25	3.998	0.50
		T2	19.8	0.25	19.7	0.20	3.266	0.24	0.926	0.43	4.192	0.67
		T3	21.2	0.20	21.2	0.23	2.972	0.35	0.950	0.01	3.921	0.34
		T4	22.7	0.23	22.7	0.31	3.059	0.99	1.633	0.69	4.692	0.69
		T5	24.1	0.19	24.1	0.19	3.823	0.41	1.588	0.30	5.411	0.70
	Cymodocea + Halimeda	T 1	17.5	0.36	17.4	0.29	1.578	0.39	0.754	0.11	2.332	0.49
		T2	18.7	0.15	18.7	0.15	1.829	0.26	0.666	0.13	2.495	0.39
		T3	20.4	0.31	20.2	0.30	1.851	0.13	0.625	0.19	2.476	0.06
		T4	21.6	0.14	21.7	1.15	1.288		0.797		2.086	
		T5	23.1	0.16	23.1	0.19	1.503	0.17	1.112	0.26	2.615	0.17
Verano	<i>Cymodocea nodosa</i>	T 1	25.2	0.16	25.2	0.17	0.252	0.06	0.369	0.13	0.621	0.07
		T2	26.6	0.08	26.6	0.08	0.302	0.00	0.465	0.13	0.768	0.13
		T3	27.6	0.29	27.6	0.35	0.268	0.07	0.337	0.04	0.606	0.11
		T4	29.6	0.16	29.6	0.10	0.312	0.04	0.604	0.13	0.916	0.12
		T5	31.1	0.10	31.1	0.22	0.241	0.05	0.250	0.03	0.491	0.06
	<i>Halimeda incrassata</i>	T 1	27.4	0.30	27.1	0.29	1.972	0.19	0.711	0.23	2.683	0.41
		T2	28.6	0.06	28.5	0.27	1.567	0.24	0.850	0.43	2.417	0.67
		T3	27.7	0.21	27.7	0.23	1.901	0.63	0.465	0.32	2.365	0.95
		T4	31.6	0.09	31.5	0.37	1.530	0.35	0.496	0.11	2.026	0.34
		T5	33.1	0.13	33.0	0.37	1.573	0.19	0.743	0.12	2.316	0.23
	Cymodocea + Halimeda	T 1	25.0	0.07	25.1	0.14	1.518	0.44	1.093	0.26	2.611	0.36
		T2	26.6	0.08	26.7	0.27	1.549	0.60	0.462	0.28	2.011	0.88
		T3	27.6	0.25	27.4	0.43	1.103		0.927		2.030	
		T4	29.5	0.09	26.4	3.17	1.470	0.50	0.571	0.29	2.008	0.81
		T5	31.1	0.22	30.9	1.16	1.062	0.13	0.490	0.12	1.552	0.18

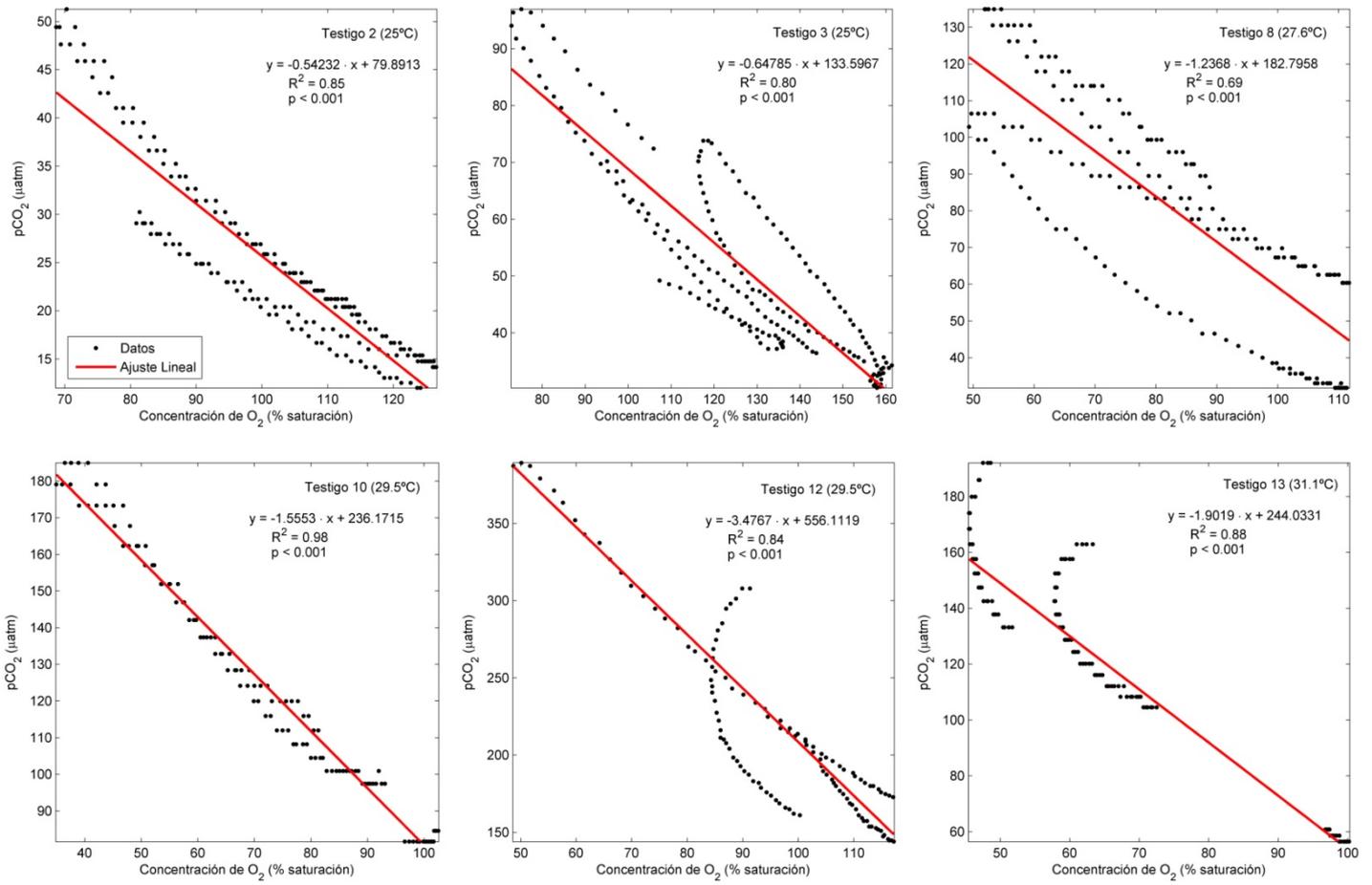


Figura A2: Relación entre la concentración de oxígeno (% saturación) y la pCO₂ (µatm) en 6 testigos de sedimento incubados a distintas temperaturas, correspondientes al experimento con *Cymodocea nodosa* en verano.

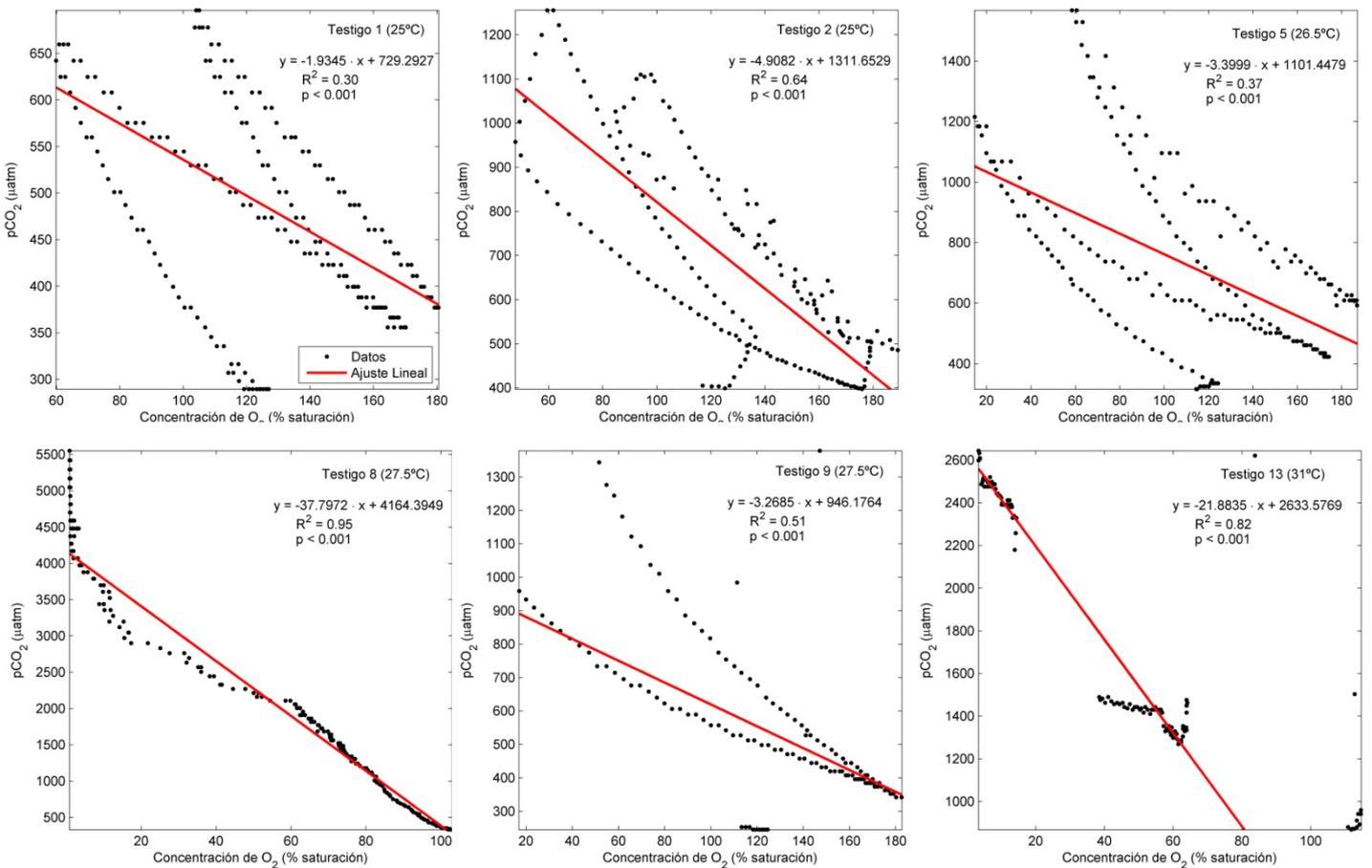


Figura A3: Relación entre la concentración de oxígeno (% saturación) y la pCO₂ (µatm) en 6 testigos de sedimento incubados a distintas temperaturas, correspondientes al experimento con la combinación de las dos especies en verano.

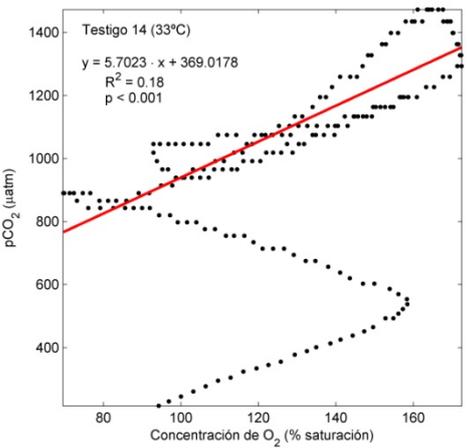
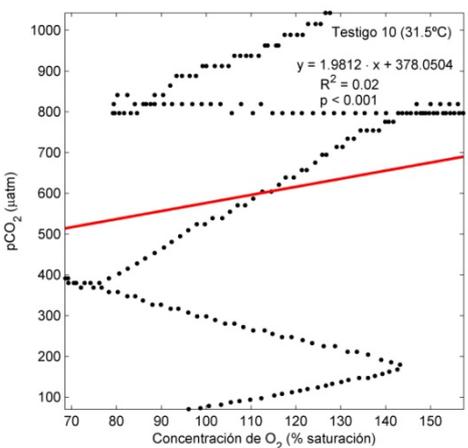
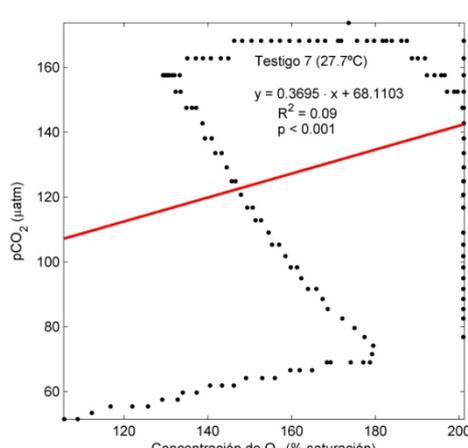
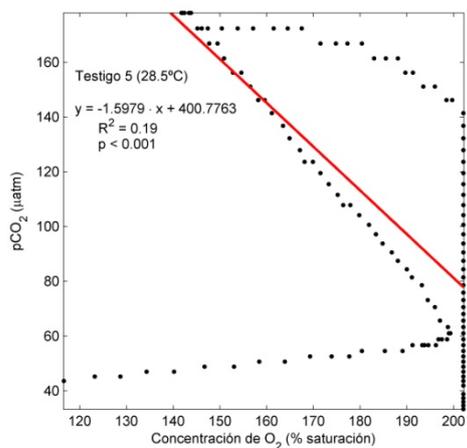
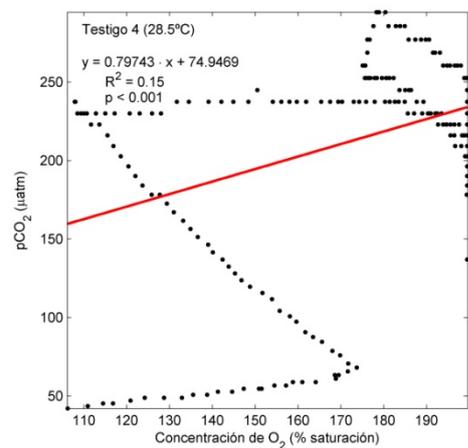
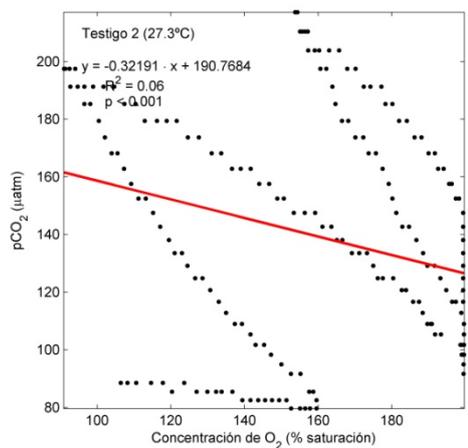
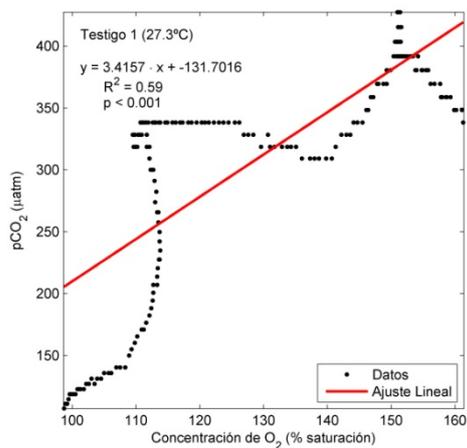


Figura A4: Relación entre la concentración de oxígeno (% saturación) y la $p\text{CO}_2$ (μatm) en 7 testigos de sedimento incubados a distintas temperaturas correspondientes al experimento con *Halimeda incrassata* en verano.

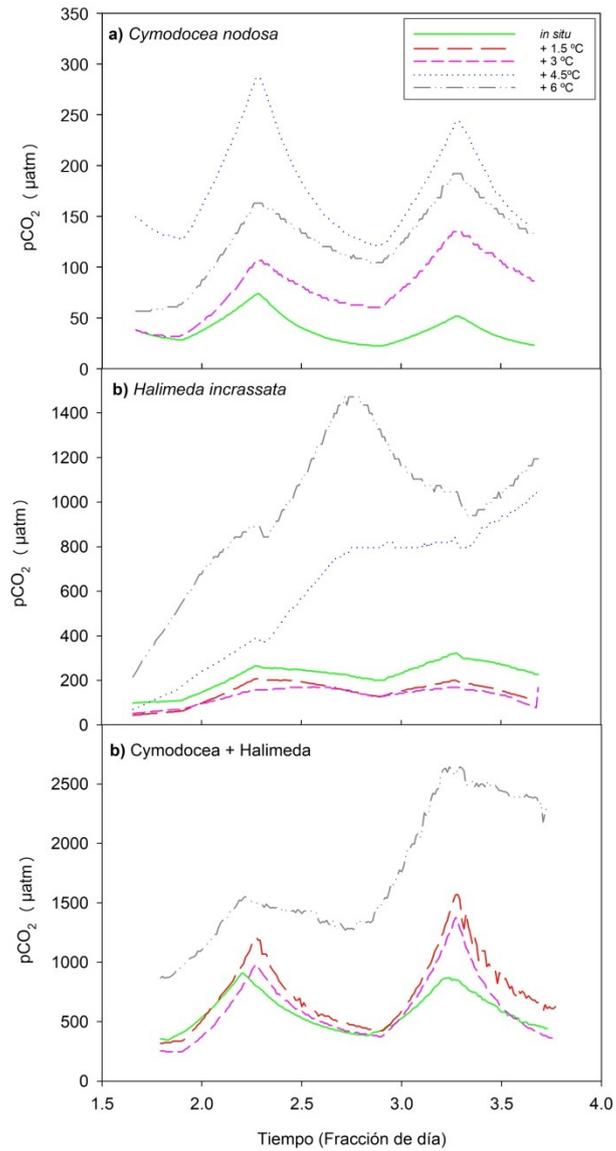


Figura A5: Variación de la pCO₂ (µatm) en los tres experimentos de verano y por los distintos tratamientos de temperatura. El tanque 1 corresponde a la temperatura in situ y va subiendo 1.5°C por tanque. **a)** Corresponde al experimento con *Cymodocea nodosa*, **b)** al experimento con *Halimeda incrassata* y **c)** al experimento con la combinación de las dos especies.

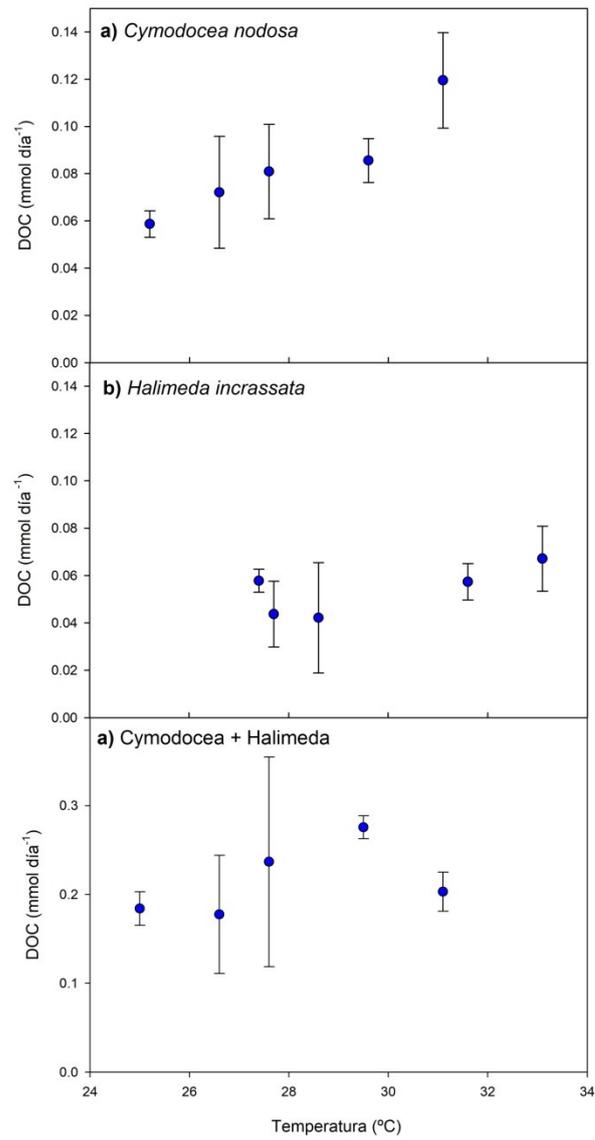


Figura A6: DOC en mmol día⁻¹ correspondientes a los experimentos de verano con testigos de sedimento que contienen **a)** la fanerógama marina *Cymodocea nodosa*, **b)** la macroalga *Halimeda incrassata* y **c)** *Cymodocea nodosa* juntamente con *Halimeda incrassata*.

Tabla A2: modelo lineal de efectos mixtos (lmer) para las tasas metabólicas CR i GPP en cada una de las estaciones estudiadas.

Exp.	Tasa metabólica		Estima	SE	Grados de libertad	t-Valor	p-Valor	p-Valor (modelo)
Primavera	CR	Intercept	31.976	9.427	25.620	3.392	< 0.01	0.01
	CR	1 / kT Cymodocea nodosa	-0.861	0.238	25.580	-3.613	< 0.01	
	CR	Halimeda incrassata	-46.969	23.093	53.190	-2.034	< 0.05	
	CR	Cymodocea + Halimeda	-31.122	10.808	49.920	-2.880	<0.01	
	CR	1 / kT : Halimeda incrassata	1.149	0.582	53.160	1.973	0.05	
	CR	1 / kT : Cymodocea + Halimeda	0.762	0.273	49.770	2.792	<0.01	
	GPP	Intercept	8.544	10.408	13.204	0.821	0.43	< 0.01
	GPP	1 / kT Cymodocea nodosa	-0.228	0.262	12.954	-0.872	0.40	
	GPP	1 / kT : Halimeda incrassata	-0.884	0.005	3.550	-17.861	< 0.01	
	GPP	1 / kT : Cymodocea + Halimeda	-0.060	0.005	3.277	-12.481	< 0.01	
Verano	CR	Intercept	21.361	7.094	14.241	3.011	< 0.01	< 0.01
	CR	1 / kT Cymodocea nodosa	-0.581	0.184	14.241	-3.156	< 0.01	
	CR	1 / kT : Halimeda incrassata	-0.369	0.004	3.579	-8.965	< 0.01	
	CR	1 / kT : Cymodocea + Halimeda	-0.018	0.004	4.389	-4.213	0.01	
	GPP	Intercept	18.337	10.264	19.502	1.787	0.09	< 0.01
	GPP	1 / kT Cymodocea nodosa	-0.477	0.266	19.309	-1.793	0.09	
	GPP	1 / kT : Halimeda incrassata	-0.052	0.006	4.828	-8.020	0.01	
	GPP	1 / kT : Cymodocea + Halimeda	-0.029	0.006	3.460	-5.009	<0.01	

Tabla A3: Experimentos y macrofitos incubados junto con las temperaturas de incubación (°C), las tasas de respiración (CR, mmol m⁻² día⁻¹), las tasas de producción primaria bruta (GPP, mmol m⁻² día⁻¹), las tasas de producción primaria neta (NCP, mmol m⁻² día⁻¹) y su error estándar asociado (SE).

Experimento	Especie	Temperatura (°C)	CR (mmol m ⁻² día ⁻¹)	SE	GPP (mmol m ⁻² día ⁻¹)	SE	NCP (mmol m ⁻² día ⁻¹)	SE
Primavera	<i>Cymodocea nodosa</i>	17.7	13.60	2.36	16.23	3.07	2.63	0.72
		18.8	13.67	1.55	18.35	1.59	4.68	0.65
		20.2	21.76	3.15	19.26	0.69	-2.50	2.51
		21.7	17.89	1.39	11.93	1.52	-6.69	1.37
		23.0	17.83	1.95	12.36	1.49	-6.77	0.77
	<i>Halimeda incrassata</i>	18.5	19.71	6.15	13.23	1.94	-10.47	3.05
		19.8	24.61	4.67	11.31	1.70	-12.93	3.05
		21.2	29.02	10.33	13.57	2.62	-15.45	7.80
		22.7	25.11	7.68	10.92	3.31	-16.25	4.64
	Cymodocea + Halimeda	24.1	27.70	9.96	13.44	6.05	-16.80	4.77
		17.5	19.66	4.03	14.07	2.93	-6.23	2.61
		18.7	30.13	3.86	30.28	3.63	0.15	0.28
		20.4	22.88	4.13	21.71	3.48	-1.17	3.18
		21.6	20.41	13.47	11.37	3.24	-8.69	10.23
	Verano	<i>Cymodocea nodosa</i>	23.1	26.84	5.65	20.54	3.48	-6.30
25.2			38.32	4.22	42.43	5.62	3.00	1.65
26.6			45.18	4.74	49.19	3.62	4.03	4.01
27.6			52.65	2.25	52.64	2.96	1.84	2.27
29.6			53.90	7.12	53.70	7.24	0.61	1.65
<i>Halimeda incrassata</i>		31.1	45.77	7.33	41.57	9.12	-4.00	2.57
		27.4	44.17	11.24	58.39	16.27	12.44	5.34
		28.6	37.57	12.76	54.24	20.12	14.07	7.58
		27.7	44.90	0.80	63.77	12.86	15.94	12.06
Cymodocea + Halimeda		31.6	49.01	5.02	48.62	6.36	-2.11	2.65
		33.1	60.04	3.35	58.89	6.98	-3.67	4.93
		25.0	66.63	5.79	76.08	8.27	9.45	3.86
		26.6	72.00	19.67	81.87	20.19	9.86	2.69
		27.6	83.81	6.75	92.70	0.87	9.32	5.88
			29.5	56.29	1.72	54.21	2.62	-2.08
		31.1	35.11	16.53	35.56	11.68	-8.97	5.72

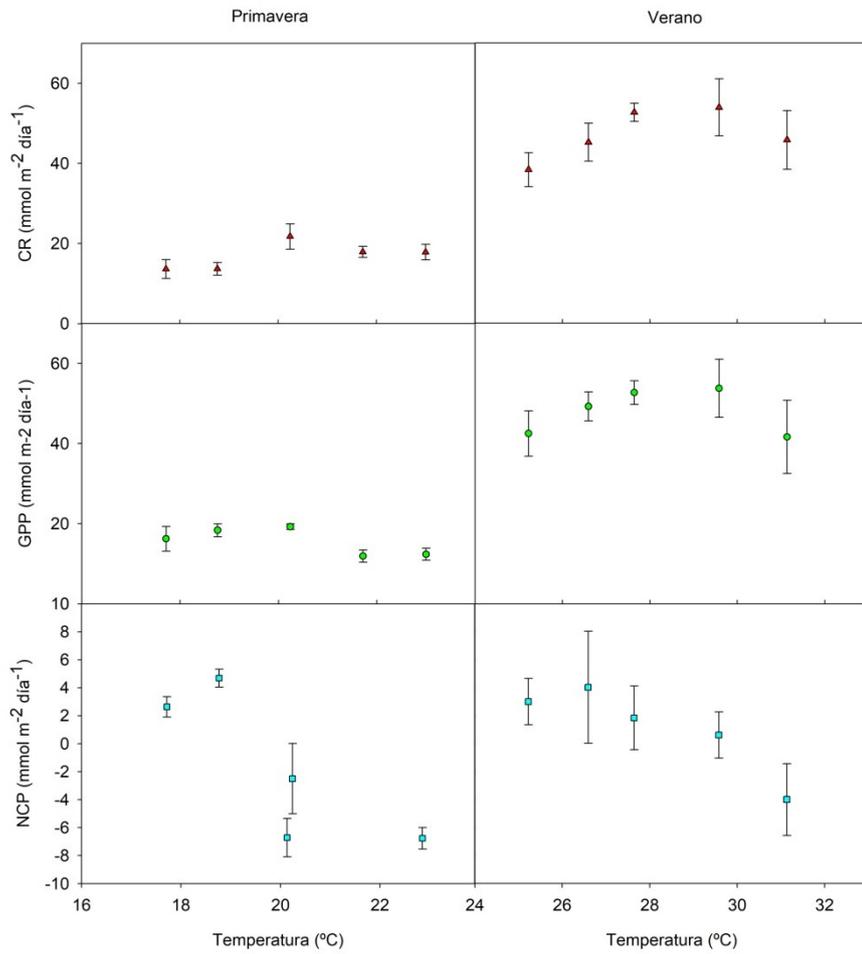


Figura A7: Tasas metabólicas (CR, GPP y NCP) en $\text{mmol m}^{-2} \text{día}^{-1}$ correspondientes a los experimentos de primavera y verano con testigos de sedimento que contienen la fanerógama marina *Cymodocea nodosa*.

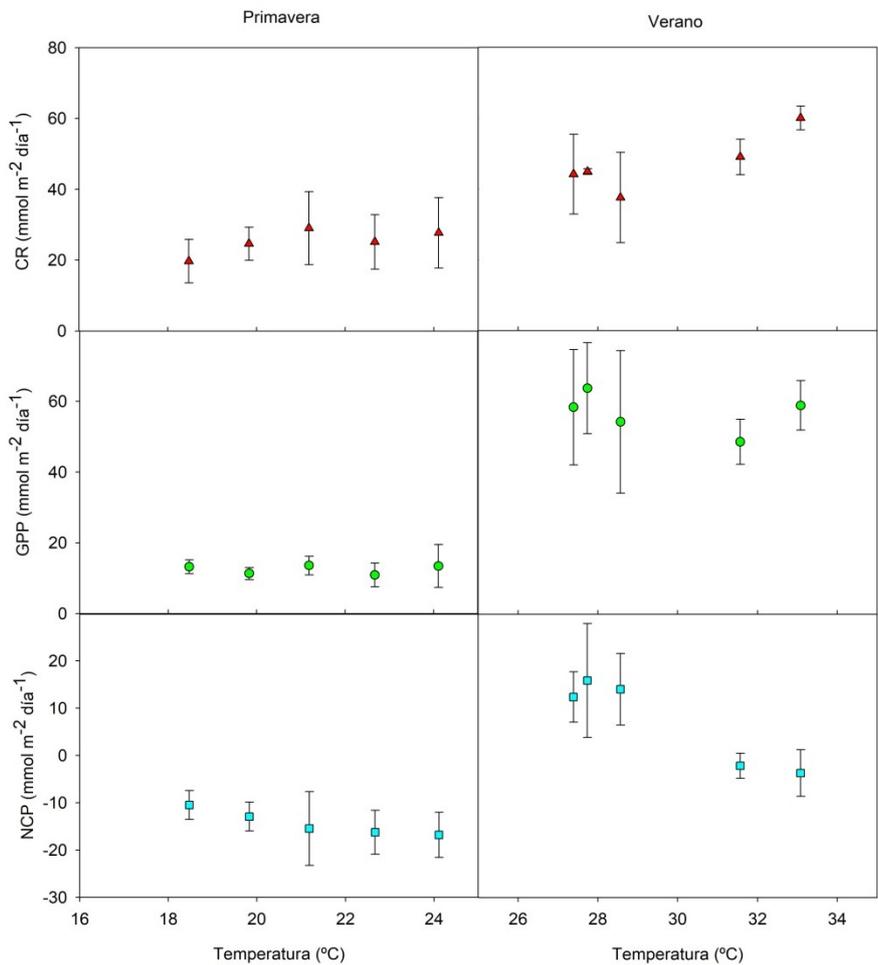


Figura A8: Tasas metabólicas (CR, GPP y NCP) en $\text{mmol m}^{-2} \text{día}^{-1}$ correspondientes a los experimentos de primavera y verano con testigos de sedimento que contienen la macroalga invasora *Halimeda incrassata*.

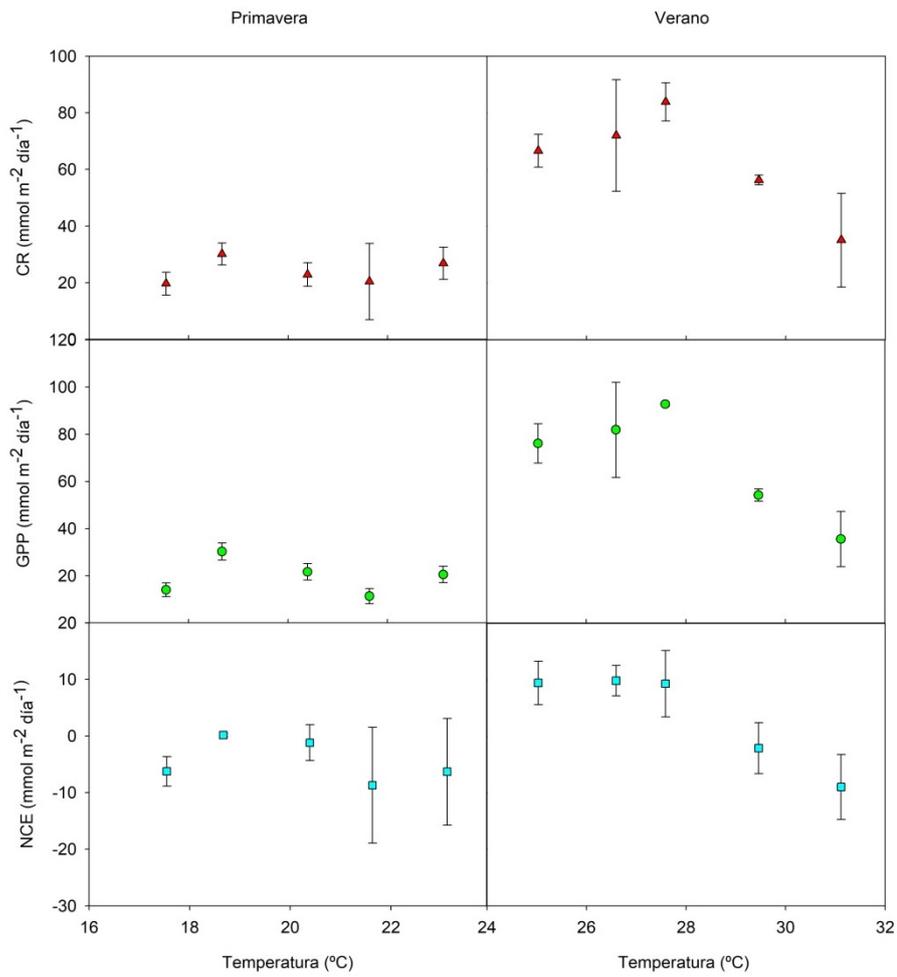


Figura A9: Tasas metabólicas (CR, GPP y NCP) en mmol m⁻² día⁻¹ correspondientes a los experimentos de primavera y verano con testigos de sedimento que contienen la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* juntamente con la macroalga invasora *Halimeda incrassata*.