



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Instituto Universitario de Sanidad Animal
y Seguridad Alimentaria

**Bioindicadores funcionales en macroalgas del litoral
canario: evaluación de la vulnerabilidad y
aclimatación al estrés ambiental**

Séfora Betancor Curbelo

Las Palmas de Gran Canaria

Marzo 2013



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Instituto Universitario de Sanidad Animal
y Seguridad Alimentaria

Programa de doctorado: Acuicultura: producción controlada de animales acuáticos.

Título de la tesis

BIOINDICADORES FUNCIONALES EN MACROALGAS DEL LITORAL CANARIO:
EVALUACIÓN DE LA VULNERABILIDAD Y ACLIMATACIÓN AL ESTRÉS AMBIENTAL.

Tesis doctoral presentada por Dña. Séfora Betancor Curbelo

Dirigida por el Dr. D. Ricardo Haroun Tabraue **y por el Dr.** D. Félix López Figueroa

El/la Directora/a
(Firma)

El/la Doctorando/a
(Firma)

Las Palmas de Gran Canaria a 26 de marzo de 2013

A mi familia

Agradecimientos

Me gustaría agradecer en primer lugar el apoyo incondicional que mi familia me ha ofrecido durante todos estos años. A ellos les dedico este trabajo, por su constante apoyo y motivación por hacer siempre las cosas que he querido y que me he propuesto. Gracias Padre, Madre, Rubén y Raquel.

En especial a ti Fran, que siempre has estado ahí, gracias por tu apoyo y comprensión. Gracias por acompañarme durante estos años, por apoyarme en mis ideas y ocurrencias y estar ahí en todo momento.

Agradecer a mis directores Dr. Ricardo Haroun y Dr. Félix L. Figueroa la confianza que depositaron en mí, por el apoyo y conocimiento brindado, y por la dedicación durante estos años. Gracias por el trabajo en esos días interminables de muestreos y toma de datos.

También quisiera agradecer al Dr. Fernando Tuya todo el tiempo que me ha dedicado. Gracias amigo por contagiarme con tu motivación y también por tu asesoramiento en diseño experimental y análisis estadístico, y por las muchas horas que has dedicado a mí trabajo.

Por otro lado no puedo olvidar a toda esa gente que me ha ayudado a lo largo de estos años de muestreos, buceos y análisis para poder realizar esta tesis. A los compañeros de Bioges que por una razón y otra han colaborado en mi trabajo (Iván Blanch, Rubén Ramírez, Leonor Ortega, Beatriz Sosa, Teba Gil, Mascha Stroobant...). En especial agradecer a Haru toda la ayuda durante todos los muestreos (que no fueron pocos). Agradecer también a Nathalie Korbee la resolución en todas las dudas que me iban surgiendo. A Belén Domínguez toda su ayuda y trabajo en los muestreos en Lanzarote y en el procesamiento de datos. Y a Paula Celís por la ayuda con el Diving-PAM cuando éste se me volvía loco. Gracias a todos por vuestra ayuda.

Otro apoyo fundamental en la realización de este trabajo ha sido Tony Sánchez, por su ayuda en los muestreos y en el diseño y creación de los artilugios usados en los experimentos. Gracias por ayudarme a crear lo que tenía en mi cabeza, en versión mejorada.

Me gustaría agradecer a la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria por permitirme haber disfrutado de una beca de investigación en estos años, así como por ayudarme en los desplazamientos a congresos.

Agradecimientos

Agradecer al Ministerio de Ciencia e Innovación por la concesión del proyecto ECOLIFE 2008-05407-C03, a través del cual fue concedida la beca de investigación, y el cual me ha financiado viajes a reuniones científicas, a congresos y actividades de muestreo.

Agradecer también a Joaquín Naverán, director de La Casa de los Volcanes del Cabildo de Lanzarote por su apoyo logístico en nuestras excursiones y muestreos por la isla.

Agradecer a becarios, técnicos y profesores del departamento de Biología por los miles de favores.

Y a las chicas del mar, por ayudarme siempre, y estar siempre ahí.

Gracias a todos

Índice

Resumen

i.

Capítulo 1. Introducción general

1. Cambios en la distribución de las especies	1.
2. Variables ambientales influenciadas por el cambio climático	2.
3. Acidificación del océano	3.
4. Objetivos	5.
5. Distribución de las especies	6.
6. Bibliografía	12.

Capítulo 2. Fisiología de *Fucus spiralis* L. (Ochrophyta) en el intermareal de Gran Canaria: evaluación estacional de sus poblaciones en relación a la temperatura y la emersión

1. Introducción	21.
2. Material y método	
2.1. Antecedentes y descripción de la especie	24.
2.2. Área de estudio y diseño experimental	24.
2.3. Análisis fotosintéticos	26.
2.4. Pigmentos fotosintéticos, polifenoles y actividad antioxidante	27.
2.5. Análisis estadístico	28.
3. Resultados	
3.1. Irradiancia y temperatura	29.
3.2. Análisis fotosintéticos	30.
3.3. Contenido en pigmentos, polifenoles y actividad antioxidante	33.
4. Discusión	37.
5. Bibliografía	43.

Capítulo 3. Respuestas fotosintéticas en diversas especies de algas pardas (Phaeophyceae) a lo largo de un gradiente de profundidad: aclimatación y vulnerabilidad asociada a factores de estrés

1. Introducción	57.
2. Material y método	
2.1. Descripción de la especie de estudio	59.
2.2. Experimento exposición-recuperación	61.
2.3. Experimento ciclo diario	62.
2.4. Mediciones de luz y temperatura	62.
2.5. Fluorescencia <i>in vivo</i> de la clorofila <i>a</i>	63.
2.6. Contenido en pigmentos, fenoles, actividad antioxidante y C,N	64.
2.7. Análisis estadístico	65.
3. Resultados	
3.1. Experimento exposición-recuperación	
3.1.1. Parámetros abióticos	66.
3.1.2. Actividad fotosintética	68.
3.1.3. Contenido en pigmentos, fenoles, actividad antioxidante y C,N	73.
3.2. Experimento ciclo diario	
3.2.1. Parámetros abióticos	78.
3.2.2. Actividad fotosintética	80.
3.2.3. Contenido en pigmentos, fenoles, actividad antioxidante y C,N	83.
4. Discusión	88.
5. Bibliografía	94.

Capítulo 4. Aclimatación y mecanismos de fotoprotección en *Cystoseira humilis* (Phaeophyta) y *Digenea simplex* (Rhodophyta) en distintos niveles batimétricos

1. Introducción	107.
2. Material y método	
2.1. Descripción de las especies de estudio	110.
2.2. Área de estudio y diseño experimental	110.
2.3. Mediciones de luz y temperatura	110.
2.4. Análisis fotosintéticos	112.
2.5. Pigmentos fotosintéticos, compuestos foto-protectores, actividad antioxidante y contenido en C, N	113.
2.6. Análisis estadístico	114.
3. Resultados	
3.1. Parámetros abióticos	115.
3.2. Actividad fotosintética	116.
3.3. Pigmentos fotosintéticos, compuestos foto-protectores, actividad antioxidante y contenido en C, N	121.
4. Discusión	129.
5. Bibliografía	137.

Capítulo 5. Efectos de la erupción submarina en el Mar de Las Calmas (El Hierro, Islas Canarias, España) sobre la abundancia, morfología, actividad fotosintética y fisiológica de las macroalgas pardas *Padina pavonica* y *Lobophora variegata*

1. Introducción	153.
1.1. Erupción submarina en el Mar de las Calmas, El Hierro	155.

2. Material y método	
2.1. Área de estudio y diseño experimental	156.
2.2. Cambios inter-anales de los patrones de abundancia de <i>P. pavonica</i> y <i>L. variegata</i> en las localidades afectadas	156.
2.3. Morfología de <i>P. pavonica</i>	157.
2.4. Actividad fotosintética	157.
2.5. Pigmentos fotosintéticos, contenido en fenoles y actividad antioxidante	158.
3. Resultados	
3.1. Escenario oceanográfico	161.
3.2. Cambios en la abundancia de <i>P. pavonica</i> y <i>L. variegata</i> en las localidades afectadas	161.
3.3. Morfología de <i>P. pavonica</i>	162.
3.4. Actividad fotosintética	162.
3.5. Pigmentos fotosintéticos, contenido en fenoles y actividad antioxidante	165.
4. Discusión	172.
5. Bibliografía	177.
Conclusiones	187.
Anexo estadístico	191.

Resumen

El cambio climático está produciendo un aumento de los distintos factores ambientales y estos pueden estar afectando negativamente el estado fisiológico de *Fucus spiralis* y a diversas algas pardas como *Cystoseira abies-marina*, *C. tamariscifolia*, *C. compressa*, *C. humilis*, *Lobophora variegata* y al alga roja *Digenea simplex*. Además, la erupción volcánica submarina de la isla de El Hierro nos ha permitido conocer cómo afectaría en un marco de acidificación del medio marino a macroalgas como *Padina pavonica* y *Lobophora variegata*. Para ello, cuantificamos la respuesta fisiológica de las distintas macroalgas a través de la fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* asociada al fotosistema II, valorando el rendimiento óptimo o máximo (F_v/F_m), como estimador del estado fisiológico y la tasa de transporte de electrones (ETR) como estimador de la capacidad fotosintética, estequiometría (relaciones C:N) además de la síntesis y acumulación de pigmentos fotosintético (clorofila *a* y pigmentos accesorios) y sustancias fotoprotectoras (aminoácidos tipo micosporina, polifenoles y potencial antioxidante). El estudio de la vulnerabilidad de diversas macroalgas en Canarias nos ha revelado las distintas estrategias de aclimatación ante los factores ambientales. *F. spiralis* respondió negativamente a los cambios bruscos de temperatura e irradiancia, y mostró que los ejemplares de la localidad con mayor temperatura e irradiancia están mejor adaptados. Las distintas especies de *Cystoseira* nos revelaron un patrón de zonación restringido fisiológicamente, donde las macroalgas intermareales presentan mejor aclimatación y mecanismos fotoprotectores más activos al incremento de factores estresantes (temperatura y radiación solar fotosintética (PAR) y UV) que las macroalgas submareales. Sin embargo, la disminución del pH a causa de la erupción submarina en la isla de El Hierro reveló una disminución del contenido en fenoles y una pérdida de carbonato cálcico en las estructuras de algas calcificadas. Este estudio nos ha permitido conocer las diferentes estrategias de aclimatación de distintas macroalgas del litoral Canario a diversas variables ambientales asociadas al cambio climático.

Introducción General



Las praderas de macroalgas marinas son uno de los principales ecosistemas costeros y ecológicamente muy importantes, los cuales están en serio declive por todo el mundo. (Waycott *et al.* 2009). Sin embargo, la pérdida de estas praderas se ha atribuido principalmente al desarrollo, la sobreexplotación, la contaminación y las causas naturales, en lugar a las alteraciones climáticas. El clima viene determinado por factores físicos que muestran una clara variación latitudinal. El ejemplo más notable de dichos factores es la temperatura, tanto oceánica como atmosférica, puesto que determina la distribución de especies y sus límites biogeográficos (Case *et al.* 2005). Entender el papel de estos factores en la distribución es un tema clave desde hace décadas, pues resulta fundamental para poder predecir con exactitud la respuesta de las especies ante cambios climáticos (Davis *et al.* 1998, Gastón 2003).

Las macroalgas marinas tienen un papel fundamental en el funcionamiento normal de procesos atmosféricos. Aunque las algas quedan restringidas a zonas de marea y zona bentónica fótica, contribuyen al 10% del total de la productividad marina (Seckbach, 2010). Al igual que los corales y los árboles, algas marinas son los principales generadores de hábitats que albergan una increíble biodiversidad, proporcionando comida y refugio para la vida marina (Graham, 2004). Los cambios en la temperatura global y en la química de los océanos asociados con el aumento de las concentraciones de gases de efecto invernadero están ejerciendo un efecto sobre los sistemas biológicos, provocando cambios generalizados.

Cambios en la distribución de las especies

Las condiciones ambientales influyen directa o indirectamente en los patrones de distribución de las algas marinas (Breeman, 1988; Harley *et al.* 2012). A escala global, los cambios de temperatura latitudinal han provocado la disminución drástica e incluso extinciones locales de poblaciones de macroalgas en épocas durante periodos de calentamiento (Serisawa *et al.* 2004, Smale & Wernberg, 2013). Sin embargo, algunos de los cambios más fácilmente detectables son los que se producen a escala local, donde los cambios en el medio ambiente pueden provocar cambios en la distribución vertical (a menudo denominado zonación) del intermareal y el sistema submareal. El aumento del nivel del mar se traduciría en cambios generales hacia el sistema intermareal de las comunidades bentónicas, y aunque los cambios están sujetos al tipo de sustratos y orientación de la costa (por ejemplo, los acantilados) podrían conducir a cambios en la abundancia relativa de las algas (Vaselli *et al.* 2008). Sin embargo, los patrones de zonación no solo lo determina la posición relativa al nivel

del mar. El límite superior de las algas intermareales está relacionada con la resistencia al estrés térmico, al estrés por radiación, especialmente por radiación UV y a la desecación durante la marea baja (Häder & Figueroa, 1997; Harley *et al.* 2003, Bischof *et al.* 2006, Häder *et al.* 2007) y a largo plazo, el aumento de la temperatura el aire ha producido cambios en el límite superior de algunas especies (Harley & Paine, 2009). El rango de profundidad en el submareal, como en algunos tipos de macroalgas pardas (Kelps), también dependen críticamente los factores ambientales tales como la temperatura, el oleaje y la transparencia de las aguas (Graham *et al.* 2007). Cuando los límites de profundidad superior e inferior son fijados por distintos agentes (por ejemplo, el estrés térmico, la disponibilidad de luz, los consumidores; Harley 2003, Graham *et al.* 2007, Médéler *et al.* 2010), los cambios en el clima pueden dar lugar a que ciertas especies sean expulsadas del sistema (Harley *et al.* 2011).

Variables ambientales influenciadas por el cambio climático

Los eventos climáticos asociados al calentamiento global, como la intensidad y frecuencia de las tormentas, las olas de calor y las precipitaciones irregulares pueden modular drásticamente los efectos de esos factores abióticos (Navarrete *et al.* 1993, Barry *et al.* 1995, Sanford, 1999; Hughes, 2000). Los efectos sinérgicos entre la temperatura y otras variables físicas sobre la fisiología de las especies pueden causar respuestas de distribución inesperadas (Darling & Côté, 2008; Kearney & Porter, 2009; Austin & Van Niel, 2011), influyendo en que las especies (i) toleren el régimen transitorio del estrés, (ii) se adapten de forma permanente al nuevo régimen ó (iii) comiencen a extinguirse localmente (Wahl *et al.* 2011, Martínez *et al.* 2012).

La aclimatación y la adaptación al incremento de factores de estrés están relacionadas con la existencia de mecanismos protectores que permite a las macroalgas tolerar el estrés ambiental. Además de la temperatura del océano, otros factores físicos son fundamentales en la distribución vertical y latitudinal de los organismos marinos intermareales (Harley, 2003). Durante la emersión, las especies intermareales experimentan pérdida de agua y un sobrecalentamiento significativo, que con el tiempo da lugar a importantes daños fisiológicos (Chapman, 1995; Davison & Pearson, 1996; Livingstone, 2001). Sin embargo, la fotosíntesis realizada por las macroalgas intermareales durante la emersión contribuye significativamente al carbono total fijado (Gao & Aruga, 1987; Maberly & Madsen, 1990). El aumento de CO₂ atmosférico ha mostrado tener un efecto positivo en las macroalgas que quedan expuestas al aire, incrementando la fotosíntesis debido a la incorporación directa sin necesidad de la acción

de enzimas anhidrasas carbónicas con mayor coste energético. Aunque la mejora de la producción fotosintética diaria en condiciones de aumento de CO₂ durante la emersión difiere entre especies, esto depende de la profundidad de zonación y del tiempo de exposición y emersión (Gao *et al.* 1999, Zou & Gao, 2005; Zou 2007).

Otro factor abiótico que influye directamente en las macroalgas es la radiación solar recibida. La radiación solar (400-700nm) conduce a la fotosíntesis y es indispensable para casi todas las formas de vida. En ecosistemas acuáticos los organismos reciben radiación fotosintética activa (PAR) y radiación ultravioleta (UVR) (280-400nm), la cual puede penetrar hasta profundidades considerables (Hargreaves, 2003), y es considerada perjudicial tanto a nivel de organismo como a nivel comunidad (Häder *et al.* 2007). El incremento de la radiación UV-B debido a la reducción de ozono en la atmosfera, unido a la alta radiación UV-A está relacionado con la reducción de la tasa fotosintética (Helbling *et al.* 2003), la producción de daño en los componentes celulares como las proteínas D1/D2 (Sass *et al.* 1997) y en el ADN (Buma *et al.* 2003) y la alteración en el intercambio de nutrientes (Fauchot *et al.* 2000), en el crecimiento (Villafañe *et al.* 2003) y en la composición de ácidos grasos (Goes *et al.* 1994). Además, la coincidencia del periodo de marea baja con horas de máxima irradiancia provoca un gran estrés por radiación, conduciendo generalmente a la fotoinhibición, siendo común en las macroalgas intermareales (Häder & Figueroa, 1997; Figueroa & Viñegla, 2001).

Acidificación del océano

El estudio de los efectos de la acidificación de los océanos sobre la biota marina se ha convertido en uno de los temas más importantes en la actualidad y hay un gran esfuerzo de monitorización y de modelado para prever y prevenir sus posibles impactos sobre el funcionamiento de los ecosistemas marinos (Kassahn *et al.* 2009).

La quema de combustibles fósiles y las actividades antropogénicas relacionadas con la industria, transporte y consumo eléctrico doméstico han provocado que la concentración de CO₂ en la atmósfera se incremente drásticamente en las últimas décadas (IPCC 2007, Dupont *et al.* 2012), pronosticándose una disminución de entre 0.3 y 0.4 unidades de pH para el año 2100, pudiendo tener consecuencias importantes sobre el clima global y los ecosistemas marinos (Dupont *et al.* 2012). Todo ello, unido a la evidencia de aumento de temperaturas (IPCC, 2007), hace pensar que los distintos estresores asociados al cambio climático pueden afectar a la vida marina (Hawkins *et at.* 2009). Los océanos poseen un poder de absorción de

CO₂ de casi un 50%, siendo grandes sumideros del exceso de CO₂ antropogénico (Sabine *et al.* 2004, Hofmann *et al.* 2010). Esta absorción constante por parte del océano hace que se incremente la concentración de iones H⁺, provocando la reducción del pH, produciéndose, consecuentemente, la acidificación del océano (Caldeira & Wickett, 2003; Orr *et al.* 2005, Hall-Spencer *et al.* 2008, Dupont *et al.* 2010, Arnold *et al.* 2012, Kerrinson *et al.* 2012). Desde la revolución industrial, debido al rápido incremento en la concentración de CO₂ en la atmosfera, los cambios en el pH se están acelerando comparado a cómo ha cambiado a lo largo de miles de años, lo que probablemente tendrá consecuencias sobre los ecosistemas marinos, y a su vez afectará a la economía global (Caldeira & Wickett, 2003; Raven *et al.* 2005; IPCC, 2007; Fabry *et al.* 2008; Orr, 2011).

El estudio de los efectos de la acidificación de los océanos sobre la biota marina se ha convertido en uno de los temas más importantes en la actualidad y hay un gran esfuerzo de monitorización y de modelado para prever y prevenir sus posibles impactos sobre el funcionamiento de los ecosistemas marinos (Kassahn *et al.* 2009). Los científicos, además de diseñar experimentos a pequeña escala en el laboratorio, se han valido de elementos naturales para estudiar el efecto de la acidificación en el medio marino, gracias a fenómenos naturales como las fumarolas (Hall-Spencer *et al.* 2008) o las erupciones volcánicas submarinas (Fraile-Nuez *et al.* 2012). Estos fenómenos de aporte de CO₂ submarino suministran gradientes naturales de pH, que son tremendamente útiles para conocer lo que puede ocurrir bajo distintos escenarios de acidificación (Hall-Spencer *et al.* 2008, Arnold *et al.* 2012). Diversos estudios han observado pérdidas en la riqueza, cobertura y densidad de corales y algas coralinas (Fabricius *et al.* 2011). Sin embargo, en fanerógamas y algas no calcáreas se ha registrado un incremento en abundancia debido a la mayor disponibilidad de CO₂ (Fabricius *et al.* 2011, Porzio *et al.* 2011). Aunque algunos estudios afirman que la mayoría de macroalgas pueden tolerar niveles de pH pronosticados para el fin de este siglo (pH= 7.8), esto ocasionaría la simplificación de las comunidades, dominando solo unas pocas especies (Porzio *et al.* 2011). Por ello, la disminución de pH alterará, en mayor medida, a los organismos que necesiten carbonato cálcico en sus procesos metabólicos, estructuras y esqueletos mientras que los organismos fotosintéticos no calcáreos podrían verse beneficiados por el aumento de CO₂.

Objetivos

EL OBJETIVO GENERAL de esta tesis fue evaluar la respuesta ecofisiológica de distintas macroalgas al estrés ambiental, analizando la vulnerabilidad y aclimatación de las comunidades bentónicas frente al estrés ambiental en el litoral canario.

Los OBJETIVOS ESPECÍFICOS planteados fueron los siguientes:

- (i) Analizar el estado y el patrón ecofisiológico de la macroalga parda *F. spiralis* ante distintos factores de estrés ambiental (temperatura, irradiancia, desecación) en el intermareal de Gran Canaria
- (ii) Estudiar la vulnerabilidad en Canarias de las comunidades de especies clave del género *Cystoseira* (*C. tamariscifolia*, *C. compressa* y *C. abies-marina*) así como de *Lobophora variegata*, las cuales muestran distinta distribución vertical (zonación) en el litoral
- (iii) Evaluar el estado fisiológico *in situ* y las respuestas adaptativas del alga parda *Cystoseira humilis* y el alga roja *Digenea simplex* a lo largo de un gradiente de profundidad en una charca intermareal rocosa de Lanzarote
- (iv) Analizar los efectos de la acidificación asociada a la erupción del volcán submarino de la isla de El Hierro sobre a abundancia, morfología, actividad fotosintética y fisiológica de las macroalgas pardas *Padina pavonica* y *Lobophora variegata* en plataformas rocosas del litoral de la isla.

Distribución de las especies de estudio

Las Islas Canarias se sitúan en el extremo sur de la Región Templado-Cálida del Atlántico Nororiental (Hoek, 1984). Esta región es florísticamente una de las más ricas del Atlántico, y Canarias constituye uno de sus puntos calientes de biodiversidad (Sansón *et al.* 2001; Tuya *et al.* 2009). Una gran parte de las especies presentes en Canarias son endémicas de esta región (31%). Sin embargo, la presencia en Canarias de elementos de otras regiones es también importante. Las especies con distribución tropical a subtropical son también numerosas (30%), circunstancia que señala al archipiélago como un enclave estratégico de transición donde coexisten especies templado-cálidas y tropicales (Sansón *et al.* 2001, Sansón 2009). A continuación, se detallan las especies de estudio.

ORDEN FUCALES

FAMILIA FUCACEAE

Fucus spiralis Linnaeus

Especie anfiatlántica que ocupa el nivel superior del eulitoral en las costas templado-frías del Hemisferio Norte, especialmente en el norte de Europa (Borgesen 1926, Lüning 1990). Se distribuye desde el Ártico hasta las costas de Marruecos y Canarias (Norrays & Conway, 1974). Se observa principalmente en las costas norte y este de las islas centrales (Gran Canaria y Tenerife) (Haroun *et al.* 2002), siendo Canarias el límite sur de distribución en el Océano Atlántico (Espino *et al.* 2006).

Es una fuente potencial de fármacos con propiedades anticoagulantes, y se emplea también para usos agrícolas (Espino *et al.* 2006).



Figura 1. Poblaciones de *F. spiralis* en las costas de Gran Canaria.

ORDEN FUCALES

FAMILIA CYSTOSEIRACEAE

El género *Cystoseira* C. Agardh (Fucales, Phaeophyta) está distribuido en las costas templadas y cálidas alrededor del mundo, aunque el 80% de las especies conocidas de este género viven en el Mar Mediterráneo y el Océano Atlántico occidental (Oliveiras & Gómez, 1989). En Canarias, las especies de este género son muy abundantes (Medina & Haroun, 1993) y se extienden formando densas praderas en zonas rocosas, que van desde el intermareal y comienzo del sublitoral hasta los 8-15m (Haroun *et al.* 2003). Estas algas proporcionan refugio y alimento a gran número de invertebrados y peces, y constituyen una comunidad de gran importancia en la cadena trófica litoral (Espino *et al.* 2006).

C. humilis Kützting

Habita de forma casi exclusiva los charcos intermareales medios y pequeños. En el caso de charcos grandes y profundos, se dispone por encima de *C. foeniculacea* (Espino *et al.* 2006).

Durante la bajamar, es posible observar la formación de pequeñas burbujas de oxígeno entre sus ramas, como resultado de la fotosíntesis. Es posible encontrar refugiados entre sus ramas a numerosos crustáceos y pequeños gasterópodos (Espino *et al.* 2006).

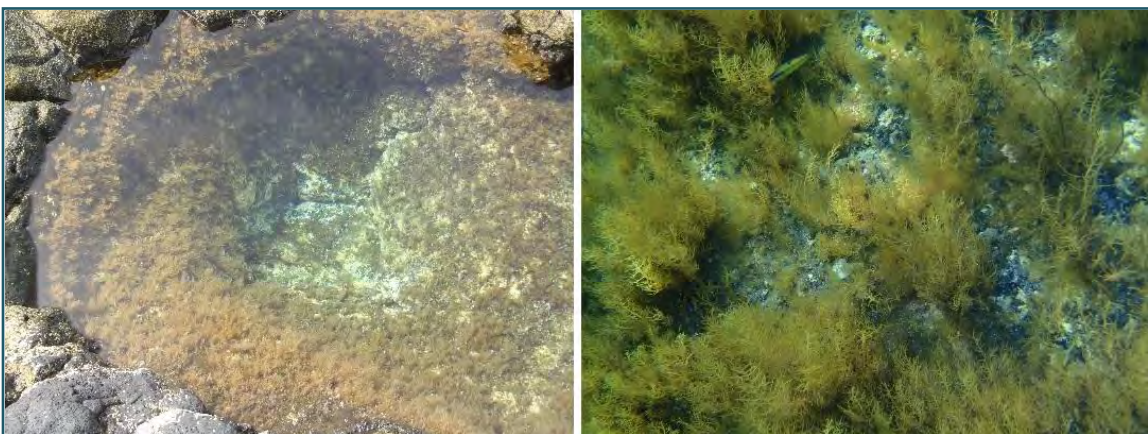


Figura 2. Ejemplares de *C. humilis* en el intermareal de Lanzarote.

C. tamariscifolia (Hudson) Papenfuss

Sus poblaciones son más importantes en las islas orientales (Lanzarote, Fuerteventura y Gran Canaria), haciéndose cada vez más raras hacia las islas occidentales (Haroun *et al.* 2002).

Llega a formar, junto con otras algas del mismo género, extensas praderas sobre fondos rocosos, entre los 0 y 20m de profundidad (Espino *et al.* 2006).



Figura 3. Ejemplares de *C. tamariscifolia* en el submareal de Lanzarote.

C. compressa (Esper) Gerloff et Nizamuddin

En el intermareal, crece inmediatamente por encima de las poblaciones de *C. abies-marina* y habita en los fondos rocosos de hasta 25 m de profundidad.

Presenta un marcado dimorfismo estacional (Haroun *et al.* 2003). Su biomasa es una fuente potencial de alginatos con diferentes aplicaciones industriales (Espino *et al.* 2006).



Figura 4. Ejemplares de *C. compressa* en el submareal de Lanzarote.

C. abies-marina (S. Gmelin) C. Agardh

Forma praderas sobre el submareal rocoso, proporcionando refugio y alimento a gran número de invertebrados marinos y peces (Espino *et al.* 2006). Forma una banda en el límite inferior de las mareas en las islas centrales y occidentales, sobre todo en costas de exposición Norte (Haroun *et al.* 2003).

Esta especie genera la mayor biomasa vegetal en las costas canarias. Forma arribazones a final del verano que se han empleado como abonos agrícolas, y es una fuente potencial de alginatos (Espino *et al.* 2006).

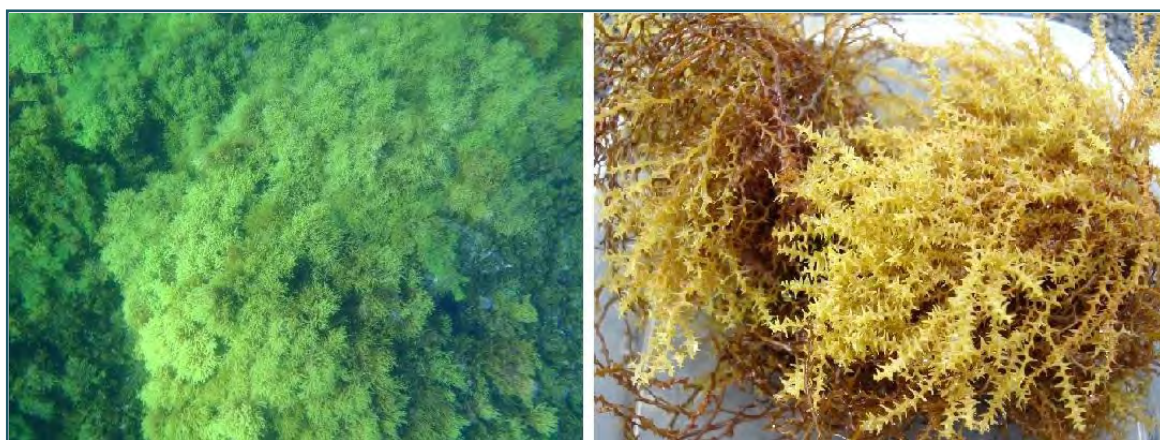


Figura 5. Ejemplares de *C. abies-marina* en el submareal de Lanzarote.

ORDEN CERAMIALES

FAMILIA RHODOMELACEAE

Digenea simplex (Wulfen) C. Agardh

Especie de alga roja con amplia distribución tropical (Dreckmann & Senties), en Canarias se localiza en las islas más orientales (Fuerteventura y Lanzarote) (Haroun *et al.* 2002). Característica de biotopos calmados, forma comunidades cespitosas, densas y con alto grado de epifitismo en el nivel medio e inferior del eulitoral (Haroun *et al.* 2003).

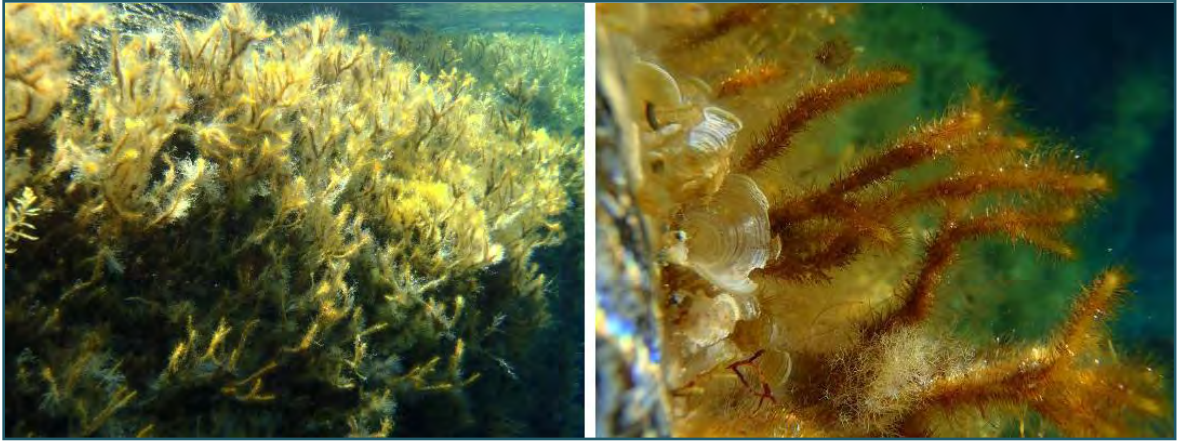


Figura 6. Ejemplares de *D. simplex* en el intermareal de Lanzarote.

ORDEN DICTYOTALES

FAMILIA DICTYOTACEAE

Lobophora variegata (J.V. Lamouroux) Womersley ex Oliveira

Especie distribuida ampliamente en mares templados y tropicales (Haroun *et al.* 2003). Alga muy común del intermareal hasta los 30 m de profundidad.

Se encuentra frecuentemente en paredones y charcos del eulitoral protegidas por otras algas, y es muy abundante en los primeros metros del submareal (Haroun *et al.* 2003). Presenta distintas ecoformas dependiendo del hábitat y profundidad en que se encuentre.

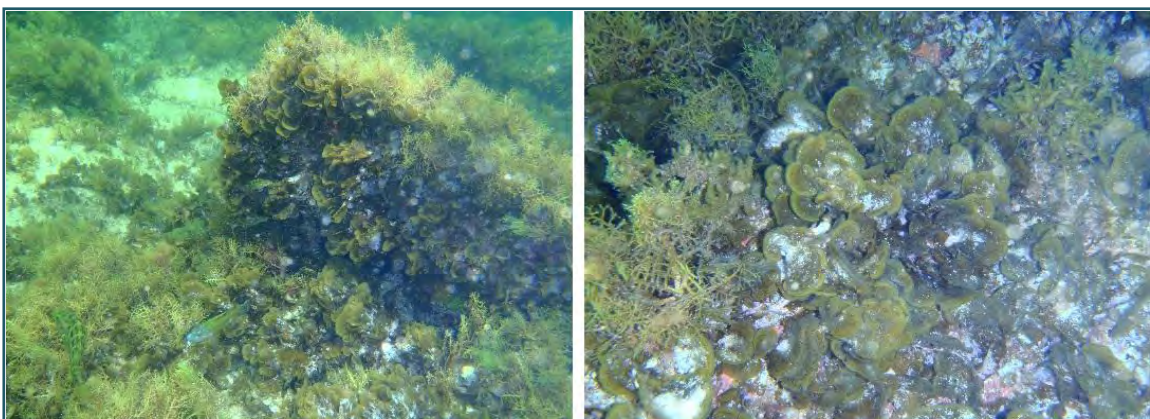


Figura 7. Ejemplares de *L. variegata* en el submareal de Lanzarote.

Padina pavonica (Linnaeus) Thivy

Especie presente en mares templados y cálidos (Haroun *et al.* 2003). Ampliamente distribuida en Canarias.

Muy común en los charcos del eulitoral inferior hasta unos 25 m de profundidad, observándose ejemplares de gran tamaño sobre todo en hábitats profundos (Espino *et al.* 2006). Alga de estructura calcificada en forma de aragonito (Okazaki *et al.* 1986).



Figura 8. Ejemplares de *P. pavonica* en el intermareal de la isla de El Hierro.

Bibliografía

- Arnold T, Mealey C, Leahey H, Miller AW, Hall-Spencer JM (2012). Ocean acidification and the loss of phenolic substances in marine plants. *PLoS ONE* 7(4):e35107
- Austin MP, Van Niel KP (2011). Improving species distribution models for climate change studies: variable selection and scale. *Journal of Biogeography* 38:1-8
- Barry J, Baxter C, Sagarin R, Gilman S (1995). Climate-related, long-term faunal changes in a California rocky intertidal community. *Science* 267:672-675
- Bischof K, Gómez I, Molis M, Hanelt D, Karsten U, Lüder U, Roleda MY, Zacher K, Wiencke C (2006). Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 51:141-166
- Borgesen F (1926). Marine algae from the Canary Islands especially from Tenerife and Gran Canaria II. Phaeophyceae. *Det Kgl Danske Videnskabernes Selskab Biologiske Meddelelser* 6(2):1-112
- Breeman A M (1988). Relative importance of temperature and other factors in determining geographic boundaries of seaweeds: experimental and phenological evidence. *Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 42:199-241
- Buma AGJ, Boelen P, Jeffrey WH (2003). UVR-induced DNA damage in aquatic organisms, In: E.W. Helbling and H.E. Zagarese (eds.) *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 291-327
- Caldeira K, Wickett ME (2003). Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425:365
- Case TJ, Holt RD, McPeck MA, Keitt TH (2005). The community context of species' borders: ecological and evolutionary perspectives. *Oikos* 108:28-40
- Chapman ARO (1995). Functional ecology of furoid algae: twentythree years of progress. *Phycologia* 34(1):1-32
- Darling ES, Côté IM (2008). Quantifying the evidence for ecological synergies. *Ecology Letters* 11:1278-1286

- Davis AJ, Jenkinson LS, Lawton JH, Shorrocks B, Wood S (1998). Making mistakes when predicting shifts in species range in response to global warming. *Nature* 391:783-786
- Davison IR, Pearson GA (1996). Stress tolerance in intertidal seaweeds. *Journal of Phycology* 32:197-211
- Dupont S, Moya A, Bailly X (2012). Stable photosymbiotic relationship under CO₂-induced acidification in the acoel worm *Symsagittifera roscoffensis*. *PLoS ONE* 7(1): e29568
- Dupont S, Ortega-Martínez O, Thorndyke M (2010). Impact of near-future ocean acidification on echinoderms. *Ecotoxicology* 19:449-462
- Espino F, Boyra A, Tuya F, Haroun R (2006). Guía visual de las especies marinas de canarias. Oceanográfica: Divulgación, educación y ciencia S.L. 482 pp. ISBN: 84-611-2308-5
- Fabricius KE, Langdon C, Uthicke S, Humphrey C, Noonan S, Déath G, Okazaki R, Muehllehner N, Glas MS, Lough JM (2011). Losers and winners in coral reefs acclimatized to elevated carbon dioxide concentrations. *Nature Climate Change* 1:165-169
- Fabry VJ, Seibel BA, Feely RA, Orr JC (2008). Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Science* 65:414-432
- Fauchot J, Gosselin M, Levasseur M, Mostajir B, Belzile C, Demers S, Roy S, Villegas PZ (2000). Influence of UV-B radiation on nitrogen utilization by a natural assemblage of phytoplankton. *Journal of Phycology* 36:484-496
- Figuerola FL, Viñegla B (2001). Effects of solar UV radiation on photosynthesis and enzyme activities (carbonic anhydrase and nitrate reductase) in marine macroalgae from Southern Spain. *Revista Chilena de Historia Natural* 74:237-249
- Fraille-Nuez E, González-Dávila M, Santana-Casiano JM, Arístegui J, Alonso-González IJ, Hernández-León S, Blanco MJ, Rodríguez-Santana A, Hernández-Guerra A, Gelado-Caballero MD, Eugenio F, Marcello J, De Armas D, Domínguez-Yanes JF, Montero MF, Laetsch DR, Vélez-Belchí P, Ramos A, Ariza AV, Comas-Rodríguez I, Benítez-Barríos VM (2012). The submarine volcano eruption at the island of El Hierro: physical-chemical perturbation and biological response. *Scientific Reports* 2: 486
- Gao K, Aruga Y (1987). Preliminary studies on the photosynthesis and respiration of *Porphyra yezoensis* under emersed condition. *Journal of Tokyo University Fisheries* 47:51-65

- Gao K, Ji Y, Aruga Y (1999). Relationship of CO₂ concentrations to photosynthesis of intertidal macroalgae during emersion. *Hydrobiologia* 398/399:355-359
- Gaston K (2003). *The structure and dynamics of geographic ranges*. Oxford University Press, Oxford, UK
- Goes M, Martins CB, Teles FFF, Matos FJA, Guedes ZBL, Oria HF (1994). Moisture content and fatty acid composition of five tropical fruits. *Revista Ceres* 41:234-243
- Graham MH (2004). Effects of local deforestation on the diversity and structure of southern California giant kelp forest food webs. *Ecosystems* 7:341-357
- Graham MH, Kinlan BP, Druehl LD, Garske LE, Banks S (2007.) Deep-water kelp refugia as potential hotspots of tropical marine diversity and productivity. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 104:16576-16580
- Häder D, Figueroa F (1997). Photoecophysiology of marine macroalgae. *Photochemistry and Photobiology* 66:1-14
- Häder DP, Kumar HD, Smith RC, Worest RC (2007). Effect of solar UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical and Photobiology Sciences* 6:267-285
- Hall-Spencer JM, Rodolfo-Metalpa R, Martin S, Ransome E, Fine M, Turner SM, Rowley SJ, Tedesco D, Buia MC (2008). Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature* 454:96-99
- Hargreaves BR (2003). Water column optics and penetration of UVR, In: E.W. Helbling and H.E. Zagarese (eds.) *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Harley CDG (2003). Abiotic stress and herbivory interact to set range limits across a two-dimensional stress gradient. *Ecology* 84:1477-1488
- Harley CDG (2011). Climate change, keystone predation, and biodiversity loss. *Science* 334:1124-1127
- Harley CDG, Anderson K, Demes K, Jorve J, Kordas R, Coyle T, Graham M (2012). Effects of climate change on global seaweed communities. *Journal of Phycology* 48:1064-1078

- Harley CDG, Paine RT (2009). Contingencies and compounded rare perturbations dictate sudden distributional shifts during periods of gradual climate change. *Proceedings of the National Academy Science U.S.A.* 106:11172-6
- Haroun RJ, Gil-Rodríguez MC, Díaz De Castro J, Prud'Homme Van Reine W (2002). A checklist of the marine plants from the Canary Islands (Central Eastern Atlantic Ocean). *Botanica Marina* 45:139-169
- Haroun R, Gil-Rodríguez MC, Wildpret W (2003). *Plantas marinas de las Islas Canarias*. 1ª ed. Madrid. Canseco editores. 319 p. ISBN: 84-932095-9-7
- Hawkins S, Sugden H, Mieszkowska N, Moore P, Poloczanska E, Leaper R, Herbert R, Genner M, Moschella P, Thompson R, Jenkins S, Southward A, Burrows M (2009). Consequences of climate-driven biodiversity changes for ecosystem functioning of North European rocky shores. *Marine Ecology Progress Series* 396:245-259
- Helbling, E.W. and Zagarese, H. (2003) *UV Effects in Aquatic and Ecosystems*. Comprehensive Series in Photosciences. The Royal Society of Chemistry, Cambridge.
- Hoek C van den (1984). World-wide longitudinal seaweed distribution patterns and their possible causes, as illustrated by the distribution of rhodophyten genera. *Helgoländer Meeresunters* 38:227-257
- Hofmann GE, Barry JP, Edmunds PJ, Gates RD, Hutchins DA, Klinger T, Sewell MA (2010). The effect of ocean acidification on calcifying organisms in marine ecosystems: an organism-to-ecosystem perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 41:127-147
- Hughes L (2000). Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in Ecology and Evolution* 15:56-61
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) (2007). The fourth assessment report of the IPCC. Cambridge: Cambridge University press.
- Kassahn KS, Crozier RH, Portner HO, Caley MJ (2009). Animal performance and stress: responses and tolerance limits at different levels of biological organization. *Biological Reviews*. 84:277-292
- Kearney M, Porter W (2009). Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species ranges. *Ecology Letters* 12:334-350

- Kerrison P, Hall-Spencer J, Suggett D, Hepburn L, Steinke M (2011). Assessment of pH variability at a coastal CO₂ vent for ocean acidification studies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 94:129-137
- Livingstone DR (2001). Contaminant-simulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin* 42(8):656-666
- Lüning K (1990). *Seaweeds. Their environment, biogeography, and ecophysiology*. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA, 527 pp
- Madsen TV, Maberly SC (1990). A comparison of air and water as environments of photosynthesis by the intertidal alga *Fucus spiralis* (Phaeophyta). *Journal of Phycology* 26:24-30
- Martínez B, Arenas F, Rubal M, Burgués S, Esteban R, García-Plazaola I, Figueroa FL, Pereira R, Saldaña L, Sousa-Pinto I, Trilla A, Viejo RM (2012). Physical factors driving intertidal macroalgae distribution: physiological stress of a dominant furoid at its southern limit. *Oecologia* 170(2):341-353
- Medina M, Haroun H (1993). Preliminary study on the dynamics of *Cystoseira abies-marina* population in Tenerife (Canary Island). *Courier Forschungsinstitut Senckenberg* 159:109-112
- Méléder V, Populus J, Guillaumont B, Perrot T, Mouquet P (2010). Predictive modelling of seabed habitats: case study of subtidal kelp forests on the coast of Brittany, France. *Marine Biology* 157:1525-41
- Navarrete S, Lubchenco J, Castilla J (1993). Pacific Ocean coastal ecosystems and global climate change. *Earth system responses to global change: contrast between north and South America*. Academic Press, San Diego, CA
- Norris R, Conway E (1974). *Fucus spiralis* L. in the northeast Pacific. *Syesis* 7:79-81
- Okazaki M, Pentecost A, Tanaka Y, Miyata M (1986). A study of calcium carbonate deposition in the genus *Padina* (Phaeophyceae, Dictyotales). *British Phycological Journal* 21:217-224
- Oliveras M & Gómez A (1989). Corología del género *Cystoseira* C. Agardh (Phaeophyceae, Fucales). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 46(1):89-97

- Orr JC (2011). Recent and future changes in ocean carbonate chemistry. In: Gattuso JP, Hansson L (eds) Ocean acidification. Oxford University Press, Oxford, pp 41-66
- Orr JC, Fabry VJ, Aumont O, Bopp L, Doney SC, Feely RA, Gnanadesikan A, Gruber N, Ishida A, Joos F, Key RM, Lindsay K, Maier-Reimer E, Matear R, Monfray P, Mouchet A, Najjar RG, Plattner GK, Rodgers KB, Sabine CL, Sarmiento JL, Schlitzer R, Slater RD, Totterdell IJ, Weirig MF, Yamanaka Y, Yool A (2005). Anthropogenic Ocean Acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437:681-686
- Porzio L, Buia MC, Hall-Spencer JM (2011). Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 400:278-287
- Raven J, Caldeira K, Elderfield H, Hoegh-Guldberg O, Liss P, Riebesell U, Shepherd J, Turley C, Watson A (2005). Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. Report from the Royal Society, London, 68 pp
- Sabine CL, Feely RA, Gruber N, Key RM, Lee K, Bullister JL (2004). The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science* 305:367-371
- Sanford E (1999). Regulation of keystone predation by small changes in ocean temperature. *Science* 283:2095-2097
- Sansón M (2009). Flora marina canaria: evidencias de una elevada biodiversidad aún por descubrir. In: Sangil C., L. Concepción, L. Martín-García & R. Fernández de León (eds.). I Workshop de Estrategias para la Planificación y Conservación de los Recursos Marinos de Canarias. Consorcio Insular de la Reserva Mundial de la Biosfera La Palma. Santa Cruz de La Palma. 91-93 pp
- Sansón M, Reyes J, Afonso-Carrillo J (2001). Flora marina. In: Fernández Palacios J.M. & J.L. Martín-Esquivel (eds.). *Naturaleza de las Islas Canarias: ecología y conservación*. Ed. Turquesa. Santa Cruz de Tenerife. pp. 193-198
- Sass L, Spetea C, Máté Z, Nagy F, Vass I (1997). Repair of UV-B-induced damage of photosystem II via de novo synthesis of the D1 and D2 reaction centre subunits in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynthesis Research* 54:55-62

- Seckbach J (2010). Introduction to globally changing environment. In: Seaweeds and their role in globally changing environments. Israel A, Einav R and Seckbach J (Eds.) Springer, London. Pp. 15-19
- Tuya F, Haroun R (2009). Phytogeography of Lusitanian Macaronesia: biogeographic affinities in species richness and assemblage composition. *European Journal of Phycology* 44:405-413
- Vaselli S, Bertocci I, Maggi E, Benedetti-Cecchi L (2008). Assessing the consequences of sea level rise: effects of changes in the slope of the substratum on sessile assemblages of rocky seashores. *Marine Ecology Progress Series* 368:9-22
- Villafañe VE, Sunbäck K, Figueroa FL, Helbling EW (2003). Photosynthesis in the aquatic environment as affected by ultraviolet radiation, In: E.W. Helbling and H.E. Zagarese (eds.) *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 357–397
- Wahl M, Jormalainen V, Klemens B, Coyerz J, Molis M, Schubert H, Dethier M, Karez R, Kruse I, Lenz M, Pearson G, Rohde S, Wikström S, Olsen J (2011). Stress Ecology in *Fucus*: Abiotic, Biotic and Genetic Interactions. In: Michael Lesser, editors: *Advances in Marine Biology*, Vol 59, Oxford: Academic Press; 2011, p. 37-106
- Waycott M, Duarte CM, Carruthers TJB, Orth RJ, Dennison WC, Olyarnik S, Calladine A, Fourqurean JW, Heck KL, Huges AR, Kendrick GA, Kenworthy WJ, Short FT, Williams SL (2009). Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106:12377-12381
- Zou DH (2005). Effects of elevated atmospheric CO₂ on growth, photosynthesis and nitrogen metabolism in the economic brown seaweed, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae, Phaeophyta). *Aquaculture* 250:726-735
- Zou DH, Gao KS (2005). Ecophysiological characteristics of four intertidal marine macroalgae during emersion along Shantou Coast of China, with a special reference to the relationship of photosynthesis and CO₂. *Acta Oceanologica Sinica* 24(3):105-11

Fisiología de *Fucus spiralis* L. (Ochrophyta) en el intermareal de Gran Canaria: evaluación estacional de sus poblaciones en relación a la temperatura y la emersión



Capítulo

2



Introducción

Los organismos intermareales están expuestos a grandes fluctuaciones de las variables climáticas (Hawkins & Jones, 1992; Raffaelli & Hawkins, 1996). En el caso de las macroalgas, la desecación, la temperatura y la radiación solar debido a la exposición aérea están entre los principales factores claves que determinan el desarrollo de las comunidades en este sistema, produciendo alteraciones en los patrones de distribución, abundancia y diversidad (Dayton, 1971; Schonbeck & Norton, 1978; Denny, 1988; Davison, 1991; Bertness & Leonard, 1997; Bertness *et al.* 1999, Molina-Montenegro *et al.* 2005). Las condiciones ambientales influyen directa o indirectamente en los patrones de distribución de las algas marinas (Breeman, 1988, Harley *et al.* 2012). A escala local, los cambios en los factores ambientales pueden provocar cambios en la distribución vertical (o zonación) de los organismos (Harley *et al.* 2012). Sin embargo, los cambios a gran escala, son los que ocurren a través de gradiente latitudinales de temperatura, donde se ha documentado disminuciones drásticas e incluso extinciones locales. En las costas de América, fenómenos como El Niño provocaron un aumento de temperatura en las aguas durante largos periodos, lo que provocó la pérdida de extensas praderas de macroalgas (*Macrocystis pyrifera*) (Dayton & Tegner, 1984). En las costas de Japón se registró un declive de las poblaciones de *Ecklonia cava* en zonas de límite de distribución en periodos más cálidos (Serisawa *et al.* 2004). Recientemente, Smale & Wernberg (2013) han demostrado que un evento de calentamiento extremo provocó la desaparición de poblaciones marginales de *Scytothalia dorycarpa*, importantes formadoras de hábitats, resultando una contracción aproximada de unos 100km en el margen del calentamiento, sugiriendo que las temperaturas extremas han superado el umbral letal de los individuos de estas poblaciones marginales. En la costa portuguesa han sugerido cambios en los márgenes meridionales de organismos intermareales de aguas templadas y frías, incluido varias macroalgas, y que estos cambios están relacionados con el calentamientos del mar actual, aunque señaló que la retracción general de las macroalgas no está claro. En el Cantábrico, este nuevo escenario climático fue asociado por Fernández & Anadón (2008) con una reducción de algas templadas y frías del Atlántico norte. Además, Viejo *et al.* (2011) encontraron una restricción desde el año 2007 de los adultos de *Fucus serratus* a morfotipos enanos dispersos en las poblaciones marginales de Asturias (Cantábrico) y afirmó que la viabilidad de las poblaciones del borde estaban en riesgo. Esta retracción, y la observada por especies congéneres como *Himanthalia elongata*, parecen estar vinculados a un ciclo corto de calentamiento reportado para esa zona (Viejo *et al.* 2011, Martínez *et al.* 2012). También fueron observadas la desaparición de densas poblaciones de

Laminaria ochroleuca en el Cantábrico (Diez *et al.* 2012), constatándose la retracción de esta especie (Fernández, 2011).

Los eventos climáticos asociados al calentamiento global, como la intensidad y frecuencia de tormentas, olas de calor y precipitaciones irregulares pueden modular drásticamente los efectos de esos factores abióticos (Navarrete *et al.* 1993, Barry *et al.* 1995, Sanford, 1999; Hughes, 2000). Los efectos sinérgicos entre la temperatura y otras variables físicas sobre la fisiología de las especies pueden causar respuestas de distribución inesperadas (Darling & Côté, 2008; Kearney & Porter, 2009; Austin & Van Niel, 2011), influyendo en que las especies (i) toleren el régimen transitorio del estrés, (ii) se adapten permanente al nuevo régimen ó (iii) comiencen a extinguirse localmente (Wahl *et al.* 2011, Martínez *et al.* 2012). Aparte de la temperatura del océano, otros factores físicos son fundamentales en la distribución vertical y latitudinal de los organismos intermareales (Harley, 2003). Cuando están emergidas, las especies intermareales comienzan a deshidratarse y a calentarse significativamente, dando lugar con el tiempo a importantes daños fisiológicos (Chapman, 1995; Davison & Pearson, 1996; Livingstone, 2001). Las diferencias regionales pueden crear “puntos calientes” durante la marea baja y causar un estrés atmosférico asociado a la mortalidad de organismos intermareales, pero no pueden predecir patrones de temperatura latitudinal (Helmuth *et al.* 2006). Además, la desecación puede provocar el aumento de la incorporación de nitrato, amonio y fosfato a corto plazo en diferentes especies eulitorales (Thomas *et al.* 1987; Hurd & Dring, 1990). En Canarias, además, el aumento de episodios de “calimas”, donde la frecuencia de este evento de polvo atmosférico sahariano se ha incrementado en los últimos años (Torres-Padrón *et al.* 2002), puede aumentar los efectos de la desecación. La fotoinhibición debido a las altas irradiancias de radiación fotosintética activa (PAR) y radiación UV (UVR) es también muy común durante la marea baja en macroalgas intermareales (Häder & Figueroa, 1997; Figueroa & Viñegla, 2001). Se han encontrado efectos negativos de la radiación UV cuando se incrementa la temperatura en algas fucoideas intermareales (Altamirano *et al.* 2003). Esto puede verse alterado por el régimen regional o local de nubes y viento, el cual modifica la temperatura del aire, la humedad y las condiciones de irradiancia (Dromgoole, 1980; Helmuth *et al.* 2006).

Fucus spiralis Linnaeus es una especie adaptada a las variaciones ambientales del sistema intermareal, que resiste muy bien las condiciones de estrés propias del sistema donde habita (temperatura, desecación, etc) (Niemeck & Mathieson, 1976; Schonbeck & Norton, 1979), aunque puede ser especialmente vulnerable en los márgenes de su distribución natural (Wahl *et al.* 2011). En el archipiélago canario, las escasas poblaciones intermareales de *F.*

spiralis representan el límite meridional de distribución de esta especie en el Atlántico (Haroun *et al.* 2002, Espino *et al.* 2006). Las poblaciones de esta alga parda están distribuidas de forma discreta en distintas localidades situadas preferentemente en las costas este y norte de las islas y, en los últimos años, se ha registrado una reducción de sus poblaciones (Vodovipec, 2012). En Canarias, las macroalgas están expuestas a altas dosis de radiación fotosintética activa (PAR: 400-700 nm) y de radiación ultravioleta (UVR: 280-400 nm) (Häder & Figueroa, 1997). Debido a esto y la transparencia de las aguas en esta región (Häder *et al.* 2001, Piazena *et al.* 2002) sugiere que las macroalgas disponen de mecanismos de fotoprotección eficientes para tolerar el estrés lumínico como le ocurre a especies de otras regiones biogeográficas con altas dosis de radiación solar (Hanelt *et al.* 1992,1993; Häder *et al.* 1995, Häder & Figueroa, 1997; Abdala *et al.* 2006). Las algas pardas (Arnold *et al.* 1995, Pavía *et al.* 1997, Connan *et al.* 2004, Abdala *et al.* 2006) y algunas algas verdes (Pérez-Rodríguez *et al.* 1998; Han & Han, 2005) sintetizan compuestos fenólicos como sustancias fotoprotectoras a la alta radiación solar y UV (Pavía *et al.* 1997), además de actuar como disuasorio de herbívoros (Van Alstyne & Paul, 1990) y prevenir de infecciones bacterianas (Conover & Sieburth, 1965). Estos compuestos pueden mostrar variaciones diarias y estacionales y están regulados por los niveles de irradiancia (Connan *et al.* 2004, 2006; Abdala *et al.* 2006, Gómez & Huovinen, 2010).

Los factores abióticos (PAR, UV, temperatura, nutrientes) provocan respuestas fisiológicas en las especies y comunidades vegetales marinas (Breitburg *et al.* 1999). Considerando que las poblaciones de *F. spiralis* en Canarias son vulnerables en su límite sur de distribución y que los cambios en los factores abióticos pueden estar relacionados con la reducción de las poblaciones marginales, el objetivo de nuestro estudio fue analizar el estado y el patrón ecofisiológico de *F. spiralis* ante los distintos factores de estrés (temperatura, irradiancia, desecación) en el intermareal de Gran Canaria. Para ello, cuantificamos la respuesta fisiológica de *F. spiralis*, medida a través de la fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* asociada al fotosistema II, ante esos parámetros ambientales estresantes a lo largo de un ciclo anual. Valoramos el rendimiento óptimo o máximo (F_v/F_m), como estimador del estado fisiológico y la tasa de transporte de electrones (ETR) como estimador de la capacidad fotosintética, además de la síntesis de productos involucrados en mecanismos de fotoprotección (pigmentos, fenoles y potencial antioxidante), para así cuantificar la respuesta fisiológica de *F. spiralis* ante los distintos parámetros ambientales estresantes y observar posibles fluctuaciones estacionales.

Material y método

Antecedentes y descripción de la especie

Fucus spiralis (Fucales, Ochrophyta) es un alga parda que se encuentra en el intermareal de las costas rocosas del Océano Atlántico, desde el Ártico hasta las costas de Marruecos y Canarias (Norris & Conway, 1974). Se caracteriza por ser una especie anfiatlántica y ocupa el nivel superior en las costas templadas del hemisferio norte (Borgesén, 1926; Lüning, 1990). En Canarias se desarrolla en poblaciones dispersas en las costas norte y este de las islas centrales (Espino *et al.* 2006). Es un alga fotófila de talo acintado, ramificado dicotómicamente, que puede alcanzar los 30 cm de longitud y se sitúa en el límite medio-superior del intermareal rocoso (Fig. 1), siendo capaz de resistir largos periodos de emersión durante la bajamar (Espino *et al.* 2006).

En Canarias, esta especie ha sido reconocida históricamente en todas las islas, excepto en Fuerteventura (Reyes & Sansón, 1999). Recientemente, Vodovípec (2012) ha descrito una disminución de las poblaciones en Canarias, no encontrando evidencias de ejemplares de *F. spiralis* en localidades donde esta especie había sido citada con anterioridad (Reyes & Sansón, 1999).

Área de estudio y diseño experimental

Se seleccionaron dos localidades en la isla de Gran Canaria, Punta de Gáldar (28°10'10.07''N; 15°41'24.26''W) en la costa norte, y otra situada en la costa este, Taliarte (27°59'3.15N; 15°22'2.44''W) (Fig 1A). En ambas localidades, encontramos ejemplares de *F. spiralis* situados en el límite medio, los cuales permanecen menos tiempo en emersión, y localizamos también ejemplares en el límite superior, que soportan mayores tiempos de emersión (Fig. 2). En consonancia con esta zonación, en cada localidad se definieron 3 zonas, denominadas Z1, Z2 y Z3, representativas de la situación de *F. spiralis* en el intermareal, donde Z1 corresponde al nivel inferior, Z2 a un nivel intermedio y Z3 al nivel superior (Fig. 2).

El análisis fotosintético se llevo a cabo mensualmente desde septiembre de 2009 hasta octubre de 2010. Las medidas fueron realizadas durante la bajamar mínima mensual (entre 9 y 11h). Se diferenciaron las partes apical y basal de los ejemplares de *F. spiralis* (Fig. 1B), de las cuales, además de las medidas fotosintéticas, se tomaron muestras para análisis de

compuestos fotoprotectores (fenoles), actividad antioxidante y contenido en pigmentos fotosintéticos. Las muestras fueron recolectadas de mayo a octubre de 2010 y almacenadas *in situ* en frío y posteriormente congeladas (-20°C para el análisis de pigmentos; -80°C para análisis de fenoles y actividad antioxidante).

La irradiancia y la temperatura fueron medidos con sensores incorporados en el fluorímetro Diving-PAM (Beer *et al.* 2006). Para incubar las algas en la oscuridad se diseñó un sistema de sacos donde se comprobó su total oscuridad utilizando el sensor plano del radiómetro LI-COR (LI-1000 DataLogger, Nebraska, USA). Con este método no intrusivo evitamos extraer en exceso para y así reducir las perturbaciones en las poblaciones estudiadas, mitigando el riesgo de desaparición de las mismas (Fig. 1D).

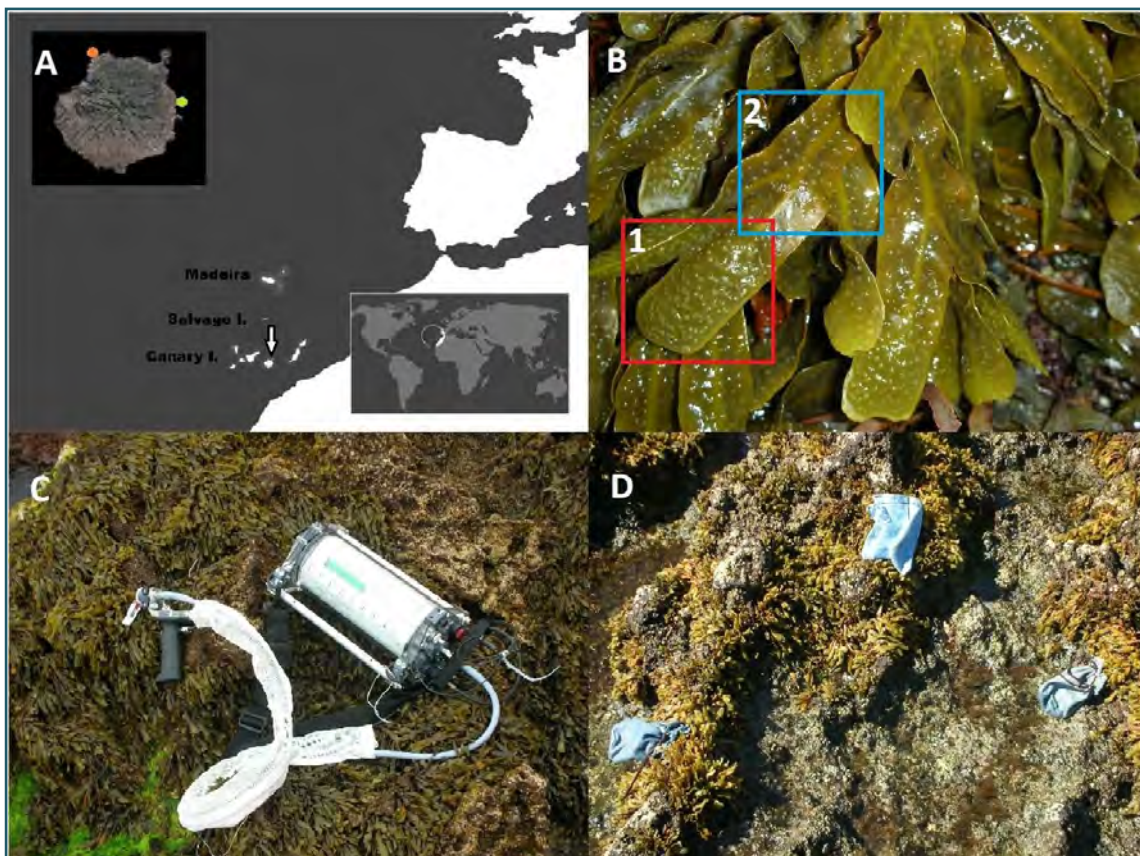


Figura 1. (A) Localización geográfica del área de estudio (● Gáldar y (● Taliarte en Gran Canaria. (B) Imagen de *Fucus spiralis* donde se señalan las partes del talo medidas 1=apical y 2=basal. (C) Fluorímetro sumergible Diving-PAM con el que se realizaron las medidas de la actividad fotosintética. (D) Sistema de sacos opacos para la adaptación a la oscuridad de las muestras durante las medidas de rendimiento óptimo (F_v/F_m).

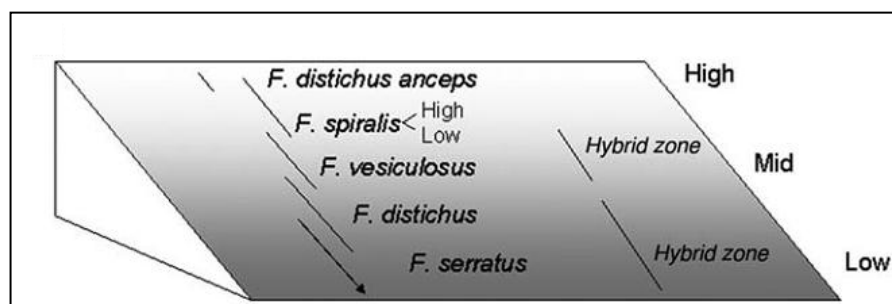


Figura 2. Patrones de zonación característicos de especies del género *Fucus* a lo largo del intermareal (Wahl *et al.* 2011). En el caso de Canarias, *F. spiralis* se distribuye entre el intermareal medio y alto, en donde diferenciamos ejemplares en la zona baja (Z1), zona intermedia (Z2) y zona alta (Z3) (Wahl *et al.* 2011).

Análisis fotosintéticos

La fluorescencia *in vivo* de la clorofila asociada al fotosistema II (PSII) fue determinada usando el fluorímetro Diving-PAM (Walz GmbH, Alemania) (n=8) (Fig. 1C). Con los centros de reacción totalmente relajados (oxidados o abiertos), estado adaptado a la oscuridad, se obtuvieron los valores mínimos (F_o) y tras un pulso de saturación de luz actínica ($2350 \mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 0.8 s) se obtuvo el valor máximo de fluorescencia (F_m). El rendimiento óptimo F_v/F_m (sin dimensión) se describe como la eficiencia máxima fotoquímica de transferencia de energía a los centros de reacción del PSII, siendo $F_v = F_m - F_o$ (Maxwell & Johnson, 2000). El tiempo de oscuridad empleado para la oxidación de los centros de reacción fue de 15 min.

En muestras iluminadas no adaptadas a la oscuridad, donde parte de los centros de reacción están reducidos, se obtuvieron los valores instantáneos (F) y F'_m después del pulso de saturación de luz actínica. El rendimiento efectivo, $\Delta F/F'_m$ queda definido como $(F'_m - F)/F'_m$. La capacidad fotosintética (ETR) fue estimada por la fórmula siguiente:

$$\text{ETR} = (\Delta F/F'_m) * E * A * F_{II}$$

donde $\Delta F/F'_m$ es el rendimiento efectivo, E la irradiancia en el momento de medida expresada en $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$, A la absortancia o fracción de luz absorbida, y F_{II} , la fracción de clorofila asociada al PSII, siendo en algas pardas de 0,8 (Grzymiski *et al.* 1997). La absortancia $A = 1 - (E_t/E_0)$ fue calculada a partir de la luz transmitida a través de una pieza de cada especie (E_t) colocada sobre un sensor PAR con corrección de coseno (Licor, Li 189 conectado a radiómetro

Licor, Li-250), y la irradiancia incidente (E_0) en ausencia de la pieza de alga. La absorbancia media obtenida para *F. spiralis* fue de $0,854 \pm 0,03$.

Pigmentos fotosintéticos, polifenoles y actividad antioxidante

Los pigmentos fotosintéticos clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *c* (Chl *c*) y el contenido en carotenos fueron determinados espectrofotométricamente. Los análisis se realizaron mediante extracción de pigmentos de las algas (20 mg peso fresco), usando como solución extractora 1 ml de acetona al 90% saturada de hidróxido de carbonato de magnesio ($C_4Mg_4O_{12}$) y manteniendo en oscuridad 12h a 4°C. Después de centrifugar a 4000 rpm durante 20 min, cada sobrenadante fue usado para medir los pigmentos mediante escaneo desde 480 a 750 nm. La concentración de clorofila y carotenos fue calculada según Ritchie (2006, 2008). El contenido en pigmentos fue expresado en $mg\ g^{-1}$ PS.

Los compuestos fenólicos fueron extraídos (0,25 g PS, n=3) a 4°C en 80% metanol mediante maceración en un mortero empleando arena de mar. Se incubó durante la noche en tubos de centrifuga con 2.5 ml de metanol al 80%. La mezcla fue centrifugada a 4000 rpm durante 30 minutos a 4°C y se recogió el sobrenadante (Sigma 2-16PK, Göttingen, Alemania). Los compuestos fenólicos totales, expresados en $mg\ g^{-1}$ PS, fueron determinados usando floroglucinol como estándar, siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Folin & Ciocalteu, 1927). La reacción se completó después de 120 minutos en oscuridad a 4°C y se leyó la absorbancia a 760 nm mediante un espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution 201, UV-Visible, Shanghai, China).

La actividad antioxidante fue medida a través del radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) por triplicado, según Blois (1958). Rápidamente, se tomaron 150 μ L del extracto metanólico y se mezclaron con 1,5 ml de metanol al 90% y 150 μ L de solución de DPPH preparada diariamente a 1,27 nM. La reacción fue completada después de 30 min en oscuridad a temperatura ambiente, y medida la absorbancia a 517 nm. Los valores de concentración de DPPH (μ M) fue calculada a través de concentración del extracto de alga ($mg\ PS/ml$) con el fin de obtener el valor de EC_{50} (índice de oxidación) el cual representa la concentración de extracto(mg/ml) que se requiere para reducir al 50% el DPPH. Se usó ácido ascórbico como control positivo.

Análisis estadístico

Las diferencias en el rendimiento efectivo y el ETR en las tres zonas del intermareal se contrastó a través de un ANOVA de 4 vías, separadamente para cada localidad, incluyendo 'estación' (factor fijo con 5 niveles: otoño (2009), invierno, primavera, verano, otoño (2010)), 'tiempo' (factor aleatorio anidado en 'estación' con 10 niveles), 'zona' (factor fijo que muestra el nivel zonación alga, con 3 niveles: Z1, Z2, Z3) y 'Parte talo' (factor fijo con 2 niveles: apical y basal). Las diferencias en el rendimiento óptimo fue contrastado en un ANOVA de 3 vías, donde se contrastaron los factores 'estación' (factor fijo con 5 niveles), 'tiempo' (factor aleatorio anidado en 'estación' con 10 niveles) y 'zona' (factor aleatorio con 3 niveles). En el caso de los análisis de compuestos fenólicos, actividad antioxidante y contenido en pigmentos se contrastó a través de un ANOVA de 3 vías que incluyó 'tiempo' (factor aleatorio con 5 niveles: mayo, junio, julio, septiembre y octubre 2010), 'zona' (factor fijo con 3 niveles) y 'Parte talo' (factor fijo con 2 niveles). Se usó el test de Cochran para contrastar la homogeneidad de varianzas (Underwood 1997), realizándose transformaciones para obtener homogeneidad de varianzas cuando fue necesario. En el caso en el que no se obtuvo varianzas homogéneas, se ajustó el nivel de confianza al 99%. La significancia de los F-ratios se contrastó mediante 4999 permutaciones de los datos a través del software PERMANOVA, utilizando la distancia euclidiana como medida de disimilitud. Cuando fue apropiado, se ejecutaron test a pares (*a posteriori*) mediante 4999 permutaciones. Los resultados obtenidos en los ANOVAs se muestran en las tablas del anexo estadístico (tablas A1-A5).

Resultados

Irradiancia y temperatura

La temperatura fue superior en Taliarte que en Gáldar en la mayoría de los meses analizados. La temperatura media anual en Gáldar fue de 23,6°C y en Taliarte de 24,5°C. En Taliarte se alcanzaron mayor número de meses por encima de los 25°C (5) que en Gáldar (3). Los valores mínimos (18-19°C) se alcanzaron en diciembre en Taliarte y en marzo en Gáldar. (Fig. 3A). Las irradiancias registradas mostraron en general valores más altos para la localidad de Taliarte. En Gáldar, debido al predominio de los vientos alisios, hubo mayor número de meses con irradiancias más bajas. Las mayores irradiancias se dieron para ambas localidades en el otoño de 2010, y se registraron mínimos en diciembre y marzo para Taliarte y Gáldar respectivamente, coincidiendo con los meses de temperatura mínima (Fig. 3B).

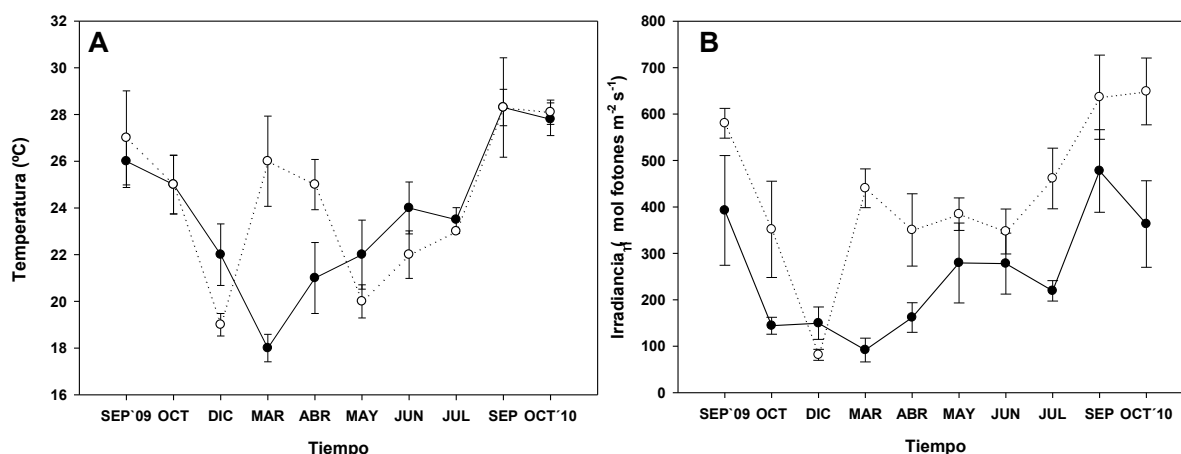


Figura 3. (A) Temperatura del aire y (B) Irradiancia PAR registradas mensualmente en los días de muestreo en (-●-) Gáldar y (-○-) Taliarte. Media ± error estándar.

Análisis fotosintéticos

Tanto el rendimiento óptimo como el rendimiento efectivo no mostraron diferencias en las distintas zonas a lo largo de las estaciones ('Es x Zo', $p > 0,01$) (Tablas A1,A2,A3). Las diferencias entre las zonas en el tiempo ('Zo x Ti(Es)', $p < 0,01$, tabla A1) para Fv/Fm muestran ligeras diferencias entre los meses de muestreo y las distintas zonas, donde observamos en localidad de Gáldar como las zonas con menos tiempo de emersión, Z1 y Z2, alcanzan valores máximos en los meses de la primera mitad de otoño (meses más cálidos) y valores mínimos en marzo (18°C) (test *a posteriori*, $Z1, Z2 \neq Z3$). Al contrario que en la zona con más tiempo de emersión, Z3, donde los valores son mayores en los meses de invierno-primavera y caen en los meses de verano (Fig. 4A). En la localidad de Taliarte encontramos también diferencias en entre zonas en el tiempo ('Zo x Ti', $p < 0,01$, tabla A1) donde Z1 aumenta los valores de Fv/Fm en primavera y verano, disminuyendo en otoño. Para las zonas con mayores tiempo de emersión, Z2 y Z3, los valores altos se observan en otoño, disminuyendo en invierno (test *a posteriori* $Z1 \neq Z2, Z3$) (Fig. 4B).

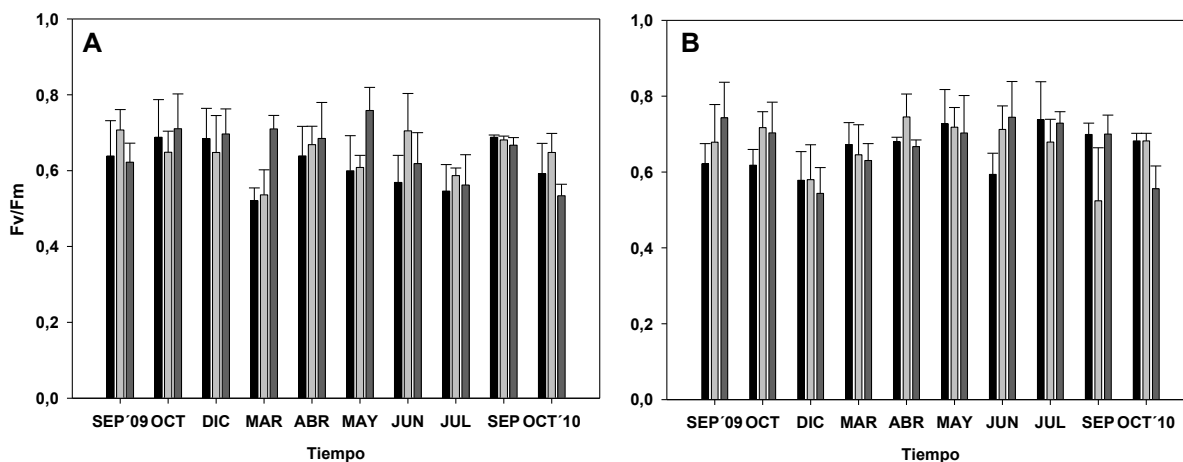


Figura 4. Rendimiento óptimo o máximo (Fv/Fm) en *F. spiralis* de (A) Gáldar y en (B) Taliarte. Las barras indican valores obtenidos mensualmente en Z1, barra negra, Z2, barra gris claro, y Z3, barra gris oscuro. Media \pm error estándar.

El rendimiento efectivo muestra diferencias significativas entre zonas para los distintos tiempos y en ambas localidades ('Ba x Ti(Es)', $p < 0,01$) (Tablas A2,A3). Al igual que ocurría con el Fv/Fm, en la localidad de Gáldar encontramos similitudes entre las zonas Z1 y Z2, con máximos en otoño y mínimos en marzo, y donde Z3 aumenta los valores en invierno-primavera, disminuyendo en verano (Fig. 5). En Taliarte observamos lo mismo que en el rendimiento óptimo, donde la similitud en esta localidad se da en las zonas Z2 y Z3, con máximos en otoño y mínimos en invierno, y donde Z1 toma valores altos en primavera-verano disminuyendo en otoño (Fig. 6). No se obtuvieron diferencias con respecto a la parte del talo en el tiempo y en las distintas zonas en ambas localidades ('Es x Ptaló'; 'Zo x Ptaló', $p > 0,01$, tablas A2,A3) (Fig. 5,6).

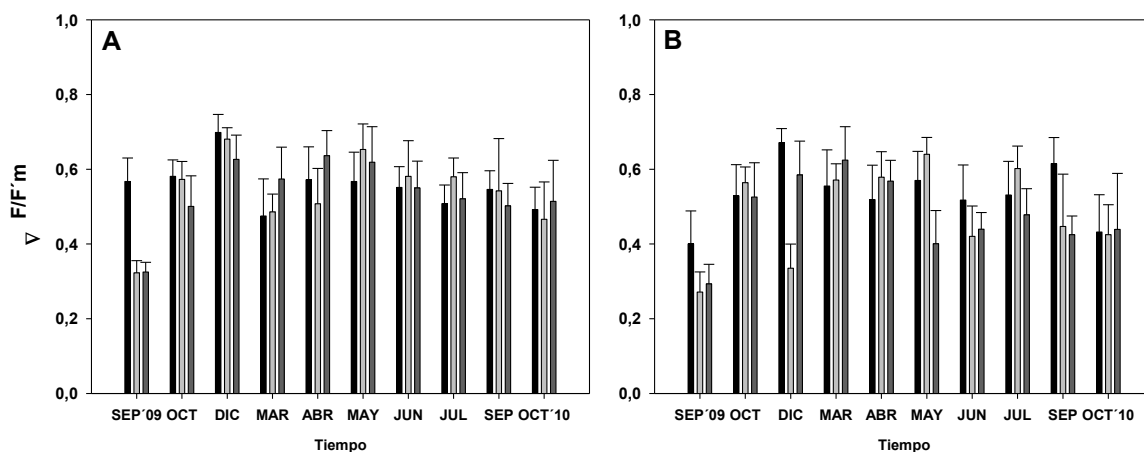


Figura 5. Rendimiento efectivo mensual en la localidad de Gáldar en (A) parte apical y (B) parte basal de los ejemplares de *F. spiralis* en Z1, barra negra, Z2, barra gris claro, y Z3, barra gris oscuro. Media \pm error estándar.

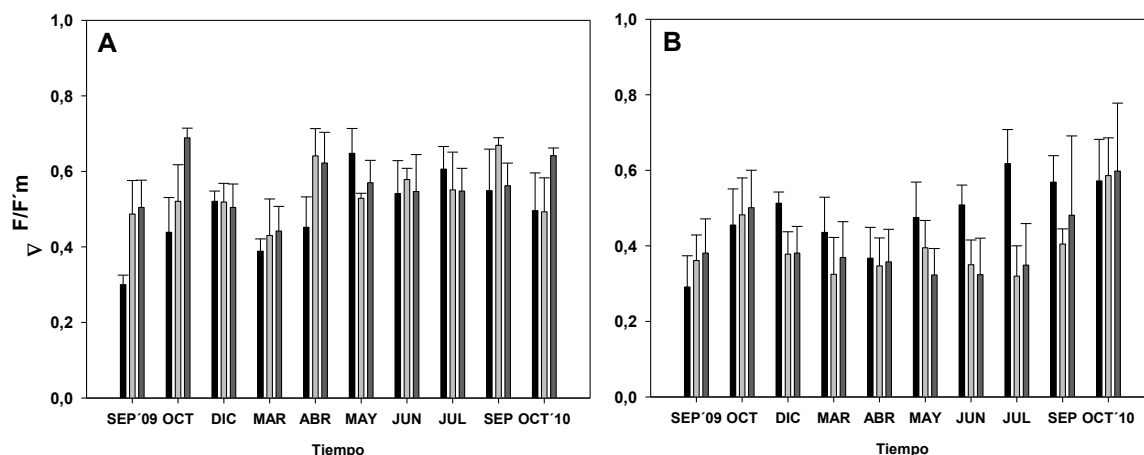


Figura 6. Rendimiento efectivo mensual en la localidad de Taliarte en (A) parte apical y (B) parte basal de los ejemplares de *F. spiralis* en Z1, barra negra, Z2, barra gris claro, y Z3, barra gris oscuro. Media \pm error estándar.

Los datos de ETR revelaron diferencias entre zonas a lo largo de las estaciones ('Es x Zo', $p < 0,01$) (Tablas A2,A3). En el otoño de 2009 tenemos claras diferencias entre zonas (Gáldar: $Z1 \neq Z3$ $p < 0,01$, tabla A2; Taliarte: $Z1 \neq Z2$, $p < 0,01$, tabla A3). Los resultados revelaron mayor capacidad fotosintética en otoño para las zonas Z1 y Z2 en Gáldar (Fig. 7), y para Z2 y Z3 en Taliarte (Fig. 8). Los ejemplares de *F. spiralis* en Taliarte alcanzan mayores valores de ETR que los ejemplares de Gáldar (Figs. 7,8). No se obtuvieron diferencias entre las distintas partes del talo en el tiempo y en las zonas en ambas localidades ('Es x Ptaló'; 'Zo x Ptaló', $p > 0,01$, tablas A2,A3).

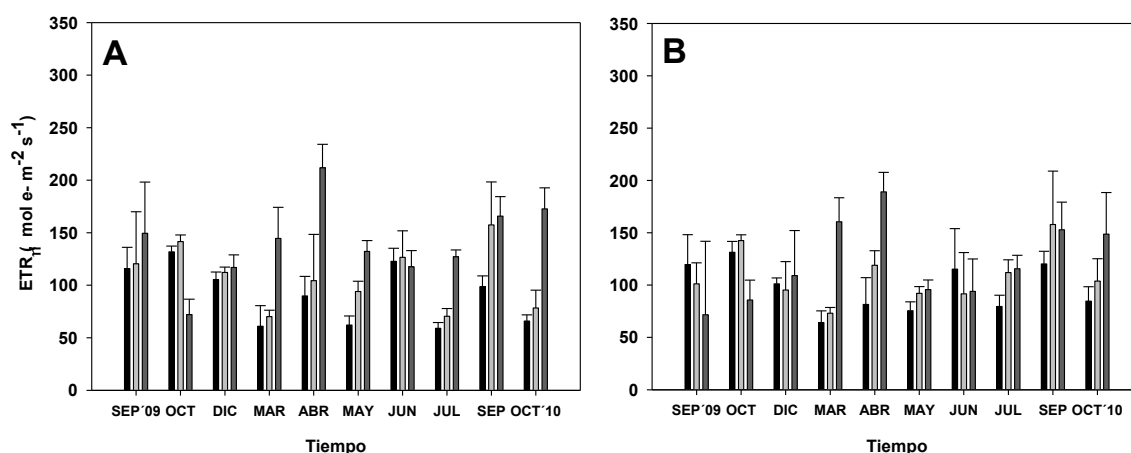


Figura 7. Capacidad fotosintética (ETR) en la localidad de Gáldar en (A) parte apical y (B) parte basal de los ejemplares de *F. spiralis* en Z1, barra negra, Z2, barra gris claro, y Z3, barra gris oscuro. Media \pm error estándar.

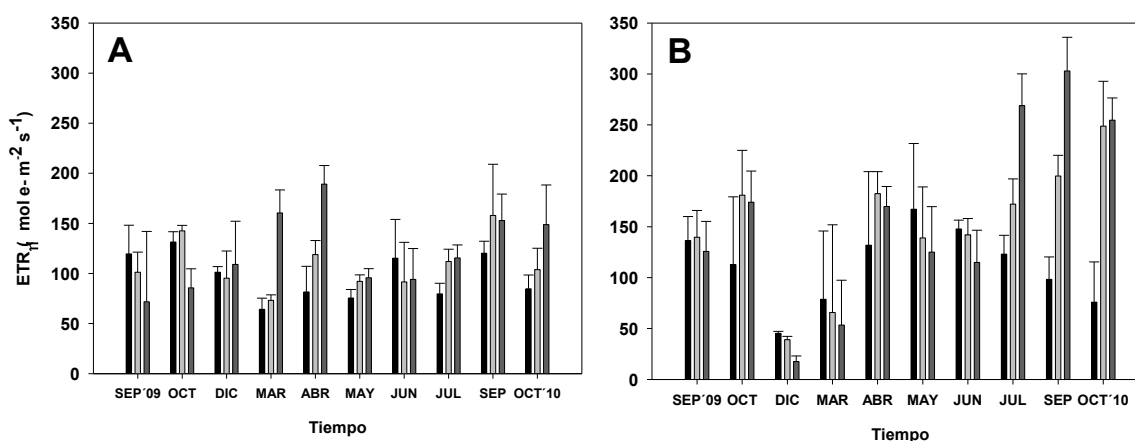


Figura 8. Capacidad fotosintética (ETR) en la localidad de Taliarte en (A) parte apical y (B) parte basal de los ejemplares de *F. spiralis* en Z1, barra negra, Z2, barra gris claro, y Z3, barra gris oscuro. Media \pm error estándar.

Contenido en pigmentos, polifenoles y actividad antioxidante

El contenido en pigmentos no reveló diferencias significativas entre las distintas zonas y las partes del talo ('Zo x Ptaló', $p > 0,01$) (Tablas A4,A5). En general, tanto en Gáldar como en Taliarte, se observó una disminución en el contenido en pigmentos en todas las zonas del intermareal (Z1, Z2, y Z3) en los meses donde se registraron mayores irradiancias (septiembre y octubre) ('Ti x Zo', $p < 0,01$) (Tablas A4,A5), mientras que los valores más altos se obtuvieron en meses de menor irradiancia (Figs. 9,10,11). No se observaron diferencias entre la parte apical y basal del alga en el tiempo para ambas localidades ('Ti x Ptaló', $p > 0,01$, tablas A4,A5). Los ejemplares de Taliarte presentaron de media mayor contenido en Chl a y Chl c (Figs. 9CD,10CD) que los ejemplares recolectados en Gáldar (Figs. 9AB,10AB), mientras que no se observó estas diferencias en el contenido en carotenos (Fig. 11).

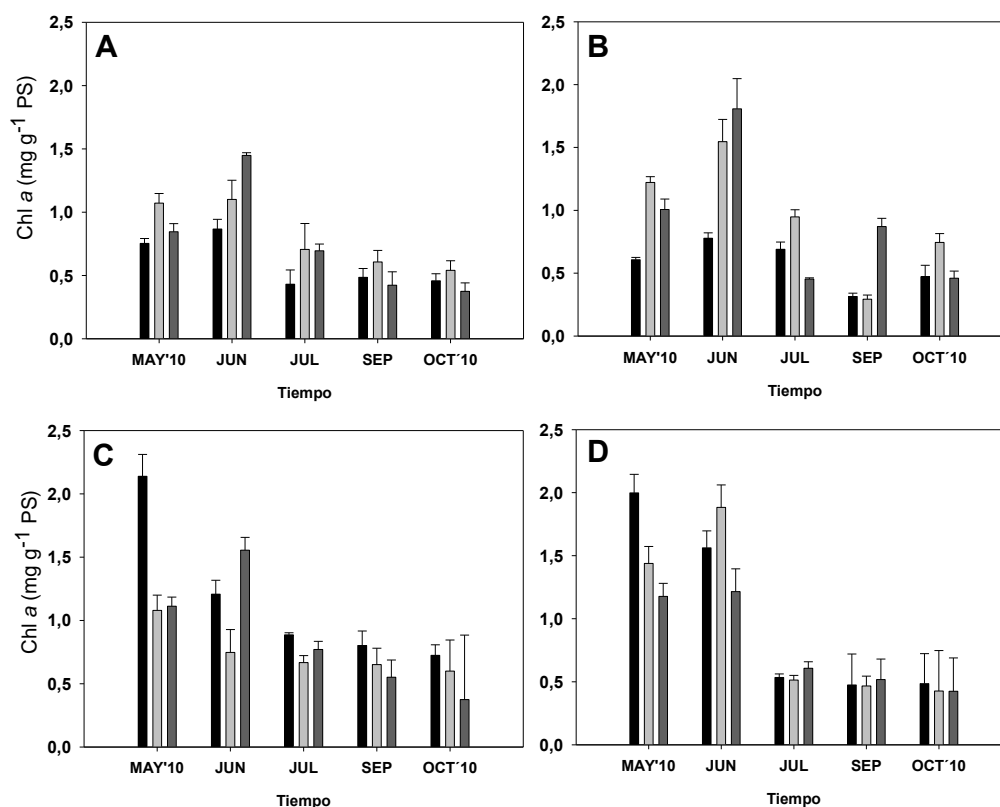


Figura 9. Contenido en chl a de *F. spiralis* de la localidad de Gáldar (A,B) y localidad de Taliarte (C,D). (A, C) parte apical del alga y (B,D) parte basal y en las distintas zonas del intermareal: Z1, barras negras; Z2, barras gris claro y Z3, barras gris oscuro. Media \pm error estándar.

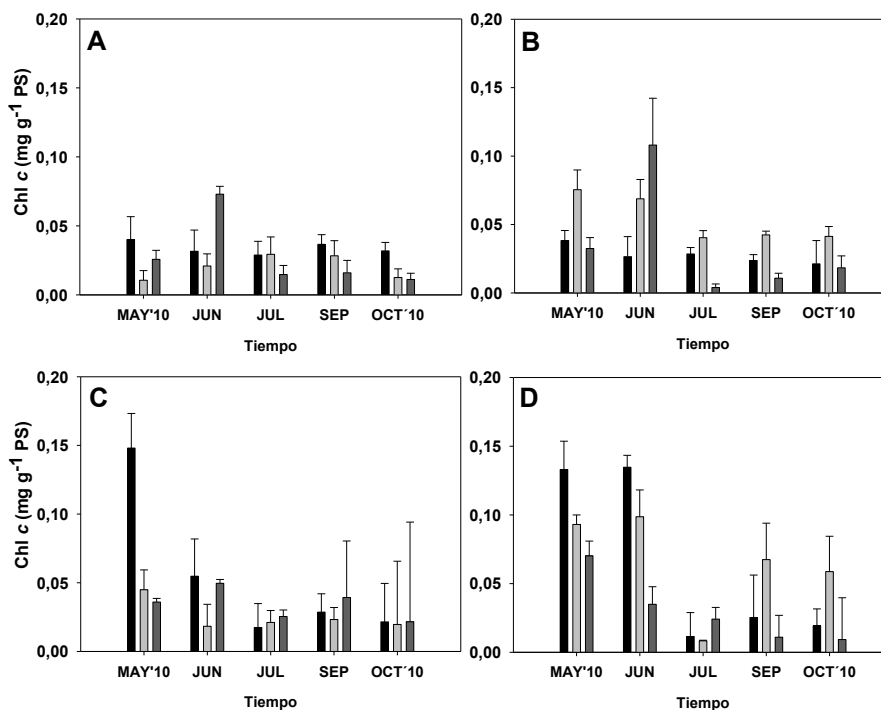


Figura 10. Contenido en chl c de *F. spiralis* de la localidad de Gáldar (A,B) y localidad de Taliarte (C,D). (A, C) parte apical del alga y (B,D) parte basal y en las distintas zonas del intermareal: Z1, barras negras; Z2, barras gris claro y Z3, barras gris oscuro. Media \pm error estándar.

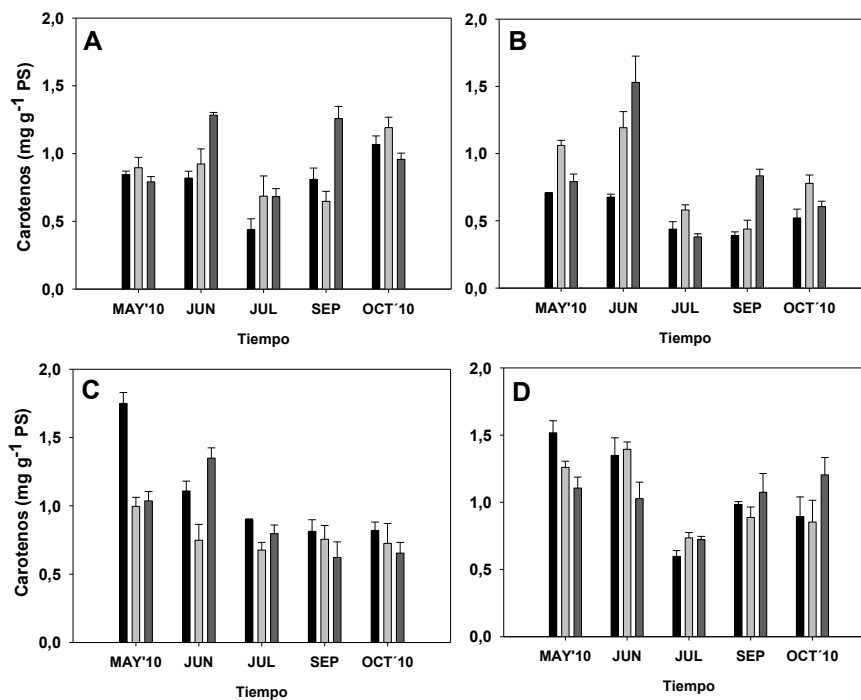


Figura 11. Contenido en carotenos en *F. spiralis* de la localidad de Gáldar (A,B) y localidad de Taliarte (C,D). (A, C) revelan el contenido en carotenos en la parte apical del alga y (B,D) en la parte basal y en las distintas zonas del intermareal: Z1, barras negras; Z2, barras gris claro y Z3, barras gris oscuro. Media \pm error estándar.

La evolución del contenido en fenoles varió en ambas localidades entre las distintos zonas en el tiempo ('Ti x Zo', $p < 0,01$) (Tablas A4,A5). En Gáldar se registró un aumento en la zona con menos tiempo en emersión (Z1) y valores más bajos en la zona media y superior (Z2 y Z3) (test *a posteriori*, $p < 0,01$, tabla A4) (Fig. 12A,B), mientras que Taliarte no reveló diferencias significativas entre las distintas zonas (test *a posteriori*, $p > 0,01$, tabla A5) (Fig. 12C,D). Se observaron diferencias, a nivel de efectos principales ('P_{total}', $p < 0,01$) en ambas localidades, revelando mayor contenido en fenoles en la parte basal (Fig. 12B,D). El análisis de la concentración de compuestos fenólicos reveló una tendencia a aumentar con el incremento de la irradiancia, la cual fue mayor en los meses de septiembre y octubre (Fig. 12).

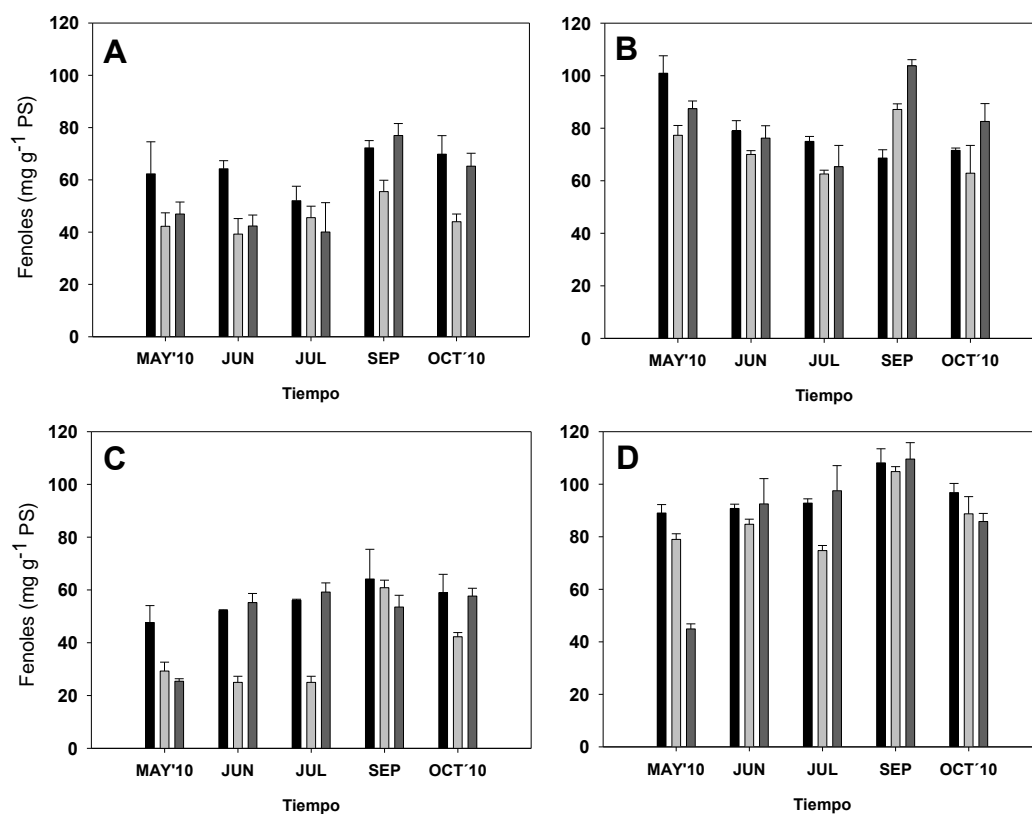


Figura 12. Contenido en fenoles totales en *F. spiralis* de la localidad de Gáldar (A,B) y localidad de Taliarte (C,D). (A, C) revelan el contenido en fenoles en la parte apical del alga y (B,D) en la parte basal y en las distintas zonas del intermareal: Z1, barras negras; Z2, barras gris claro y Z3, barras gris oscuro. Media \pm error estándar.

Los valores obtenidos en el análisis de DPPH nos confirman que la actividad antioxidante, medida a través del EC_{50} , fluctuó en las distintas zonas para cada localidad en el tiempo ('Ti x Zo', $p < 0,01$, tablas A4,A5), encontrando para la localidad de Gáldar diferencias entre la zona con menos tiempo de emersión respecto a las zonas con más tiempo de emersión (*test a posteriori*, $Z1 \neq Z2, Z3$, tabla A4) (Fig. 13A,B), no observándose diferencias en Taliarte (*test a posteriori*, $p < 0,01$, tabla A5) (Fig. 13C,D). Se observó que los valores menores de EC_{50} , (mayor actividad antioxidante), se dieron en meses con irradiancias más elevadas (septiembre-octubre 2010) en ambas localidades (Fig 13). Se encontraron diferencias significativas a nivel de efecto principal para la parte del talo ('Ptaló', *test a posteriori*, $p < 0,01$, tabla A5), revelando mayor capacidad antioxidante en la parte basal del alga (Fig. 13B,D). Se obtuvieron correlaciones positivas entre la concentración de fenoles y la actividad antioxidante ($1/EC_{50}$) para *F. spiralis* ($p < 0,01$) (Fig. 14).

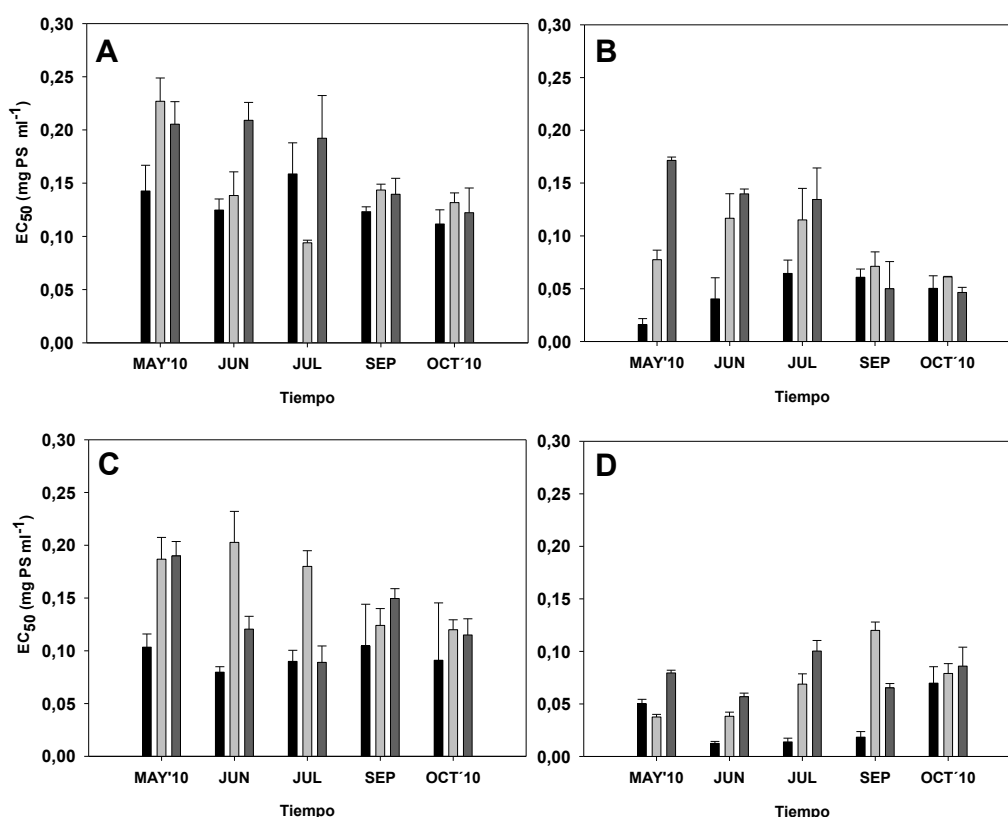


Figura 13. Actividad antioxidante en *F. spiralis*, medido a través de los valores de EC_{50} , en la localidad de Gáldar (A,B) y localidad de Taliarte (C,D). (A, C) revelan el contenido en fenoles en la parte apical del alga y (B,D) en la parte basal y en las distintas zonas del intermareal: Z1, barras negras; Z2, barras gris claro y Z3, barras gris oscuro. Media \pm error estándar.

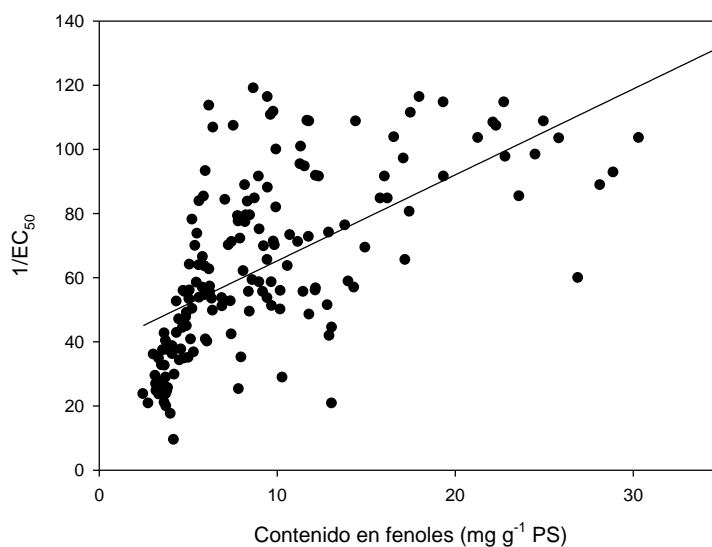


Figura 14. Correlación entre el contenido en fenoles y la actividad antioxidante ($1/EC_{50}$) en extractos de *F. spiralis*.

Discusión

Los sistemas intermareales están definidos por factores ambientales con fuertes gradientes abióticos y drásticas fluctuaciones a pequeña escala espacial y temporal (Wahl *et al.* 2011). Los organismos marinos que viven en estos hábitats están expuestos regularmente a fluctuaciones extremas de temperatura, irradiancia, pH, salinidad o disponibilidad de nutrientes, y la amplitud de estas fluctuaciones supera a los cambios climáticos pronosticados para las próximas décadas (Thomsen & Melzner, 2010). Diferentes estudios han demostrado que muchas especies intermareales viven cerca de su tolerancia térmica (Helmuth *et al.* 2002, Tomanek & Helmuth, 2002) e incluso cuando la temperatura no es lo suficientemente alta como para causar la muerte de los organismos (Denny *et al.* 2006), puede tener efectos subletales que inhiben el crecimiento y la reproducción (Breeman, 1988; Somero, 2002) y aumenta la susceptibilidad a enfermedades (Sanford, 1999,2002). Por ello, las especies intermareales han sido consideradas como sensibles sistemas de alerta temprana de los impactos del cambio climático (Barry *et al.* 1995, Southward *et al.* 1995, Thompson *et al.* 2002, Hawkins *et al.* 2003, Harley *et al.* 2006).

Las macroalgas que se encuentran a la latitud de las Islas Canarias están expuestas, además, a altas dosis de radiación solar (Häder *et al.* 2001), por lo que se sugieren mecanismos eficientes de fotoprotección para tolerar el estrés lumínico. En general, la magnitud del estrés

ambiental y sus consecuencias son específicas para cada especie y están relacionados con patrones verticales de zonación (Figueroa & Gómez, 2001). En nuestro estudio, la variación del rendimiento máximo fotosintético y el ETR en *F. spiralis* ha revelado diferencias entre ambas localidades, no pudiendo generalizar que los meses más cálidos provoquen un estrés generalizado en todas las zonas (Z1, Z2, Z3). En Gáldar, los meses de verano producen mayor estrés fotoinhibitorio (menores valores de F_v/F_m) en algas con más tiempo en emersión que las algas de horizontes más bajos que han recibido dosis más bajas de radiación solar y han presentado menor incremento de temperatura en el talo o pérdida de humedad. En Taliarte en cambio, son las algas que han permanecido más emergidas (Z2 y Z3) las que resisten más las temperaturas altas del verano y otoño. En Gáldar, los ejemplares de *F. spiralis* presentan descenso en F_v/F_m en el mes de marzo y en Taliarte en diciembre, período en el que ambas localidades alcanzaron las temperaturas (19 y 18°C, respectivamente) e irradiancias más bajas (91 y 81 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente). La capacidad fotosintética también cae en Taliarte, coincidiendo con un cambio brusco de temperatura (descenso de 7 °C de octubre a diciembre). Así más que los cambios graduales, los cambios relativamente rápidos en los cambios de estación parecen ser relevantes en la capacidad fotosintética y estado fisiológico de *F. spiralis*. Estas diferencias entre zonas sugieren que los ejemplares de Taliarte están mejor adaptados a condiciones de temperatura e irradiancia mas elevada que tienen lugar en otoño, mientras que los ejemplares de Gáldar revelan valores más bajos en verano. En general, se registraron valores altos de F_v/F_m en ambas localidades. Esto puede ser debido a la situación de *F. spiralis* en el intermareal, sobre la cual ha sido reportada una adaptación excelente a este sistema, y donde se ha demostrado una rápida recuperación después de la desecación (Viñegla *et al.* 2006; Schagel & Möstl, 2011). Los valores de rendimiento efectivo coinciden con los valores reportados por Schagel & Möstl (2011) para *F. spiralis*, donde fluctúan entre 0,4 y 0,7 entre las 8 y las 10h de la mañana, y por los aportados por Viñegla *et al.* (2006), donde bajo distintos tratamientos de luz, el valor medio de F_v/F_m fue de 0,65. La capacidad fotosintética reveló mayor productividad en otoño, donde en Gáldar se localizó en los ejemplares de Z1 y Z2, mientras que en Taliarte se observó en Z2 y Z3. Esto reveló que el tiempo de emersión afectó de diferente forma a los ejemplares de ambas localidades y que los ejemplares de Taliarte mostraron mayor capacidad fotosintética, así como también mayor número de meses con irradiancias y temperaturas más altas. Schagel & Möstl (2011) revelaron un aumento del ETRr por la mañana, aun encontrándose los especímenes expuestos al aire. La macroalgas del sistema intermareal sometidas a periodos de desecación-rehidratación presentan un incremento en la asimilación de CO_2 , ya que este es captado directamente de la atmósfera donde la concentración y disponibilidad es mayor que en al agua de mar donde predomina el

bicarbonato (Raven, 1997). Asimismo, Madsen & Maberly (1990) mostraron que *F. spiralis* realiza la fotosíntesis es más eficientemente en el aire que en el agua a 15-20 °C.

Los cambios estacionales observados en *F. spiralis* relevan mayor actividad fotosintética en verano y otoño, aunque los cambios no afectaron por igual a las distintas zonas en ambas localidades. Abdala *et al.* (2006) mostró en *C. tamariscifolia* menores valores de Fv/Fm en verano y obtuvo una correlación negativa de los valores de Fv/Fm con la irradiancia. En nuestro estudio, los valores más bajos de Fv/Fm se dieron en los meses con irradiancia y temperatura más bajos. Esto pudo deberse a la hora de medida, que al ser por la mañana los valores medios de Fv/Fm fueron altos, y a los cambios bruscos de temperatura e irradiancia que se dieron durante esos meses. Los resultados obtenidos de capacidad fotosintética concuerdan con lo observado por Figueroa *et al.* (2002) en *Posidonia oceanica*, los cuales revelaron mayor ETR en verano. Saroussi & Beer (2007) también observaron ETR mayores por la mañana durante la época de verano en *Ulva spp.* procedente del intermareal. Gómez *et al.* (2004) demostró que el ETR presentó patrones relacionados con la zonación, con valores más altos en algas de la zona intermedia del intermareal comparado con algas muy expuestas de la parte superior del intermareal o de la parte inferior del intermareal, con mecanismos de fotoprotección menos eficientes y menor tiempo de exposición al aire (disminuye captación directa de CO₂).

El nivel de irradiación y la calidad de luz tienen un efecto pronunciado en la composición y cantidad de pigmentos de las macroalgas (López-Figueroa & Niell, 1990; López-Figueroa, 1992; Carnicas *et al.* 1999). La Chl *a* es el pigmento recolector final en la antena que traslada fotones a la cadenas transportadora de electrones, mientras que los carotenoides juegan dos papeles importantes: uno como pigmento captador de luz (pigmento accesorio que absorbe especialmente en la banda azul (400-450 nm) del espectro y transfiere fotones a la clorofila) y otro como elemento de protección del aparato fotosintético contra el exceso de radiación, especialmente por la absorción y disipación de la radiación UVA (320-400 nm) (Rimki *et al.* 1996, Vershini & Kamnev 1996, Lubián & Montero 1998, Schubert *et al.* 2006). En nuestro estudio, la media del contenido en pigmentos fue superior en la localidad de Taliarte, lo que unido a la alta concentración de fenoles y la alta actividad antioxidante explicaría una alta capacidad de aclimatación (Figueroa *et al.* 1997, Flores-Moya *et al.* 1998, Altamirano *et al.* 2000a, b). Se ha mostrado que las macroalgas ajustan sus niveles de pigmentos permitiendo a los organismos usar la disponibilidad de luz más eficientemente (Rietchert & Dawes, 1986). En nuestro estudio, la concentración de pigmentos disminuyó en los meses de mayores irradiancias (septiembre y octubre), lo que coincide con lo observado por Stengel & Dring

(1998) en *Ascophylum nosodum*, donde registraron mayores contenido de Chl *a* en invierno y menores en verano. También ha sido observado en otros estudios que las algas disminuyen su contenido en Chl *a* con la exposición al incremento de la irradiancia (Carnicas *et al.* 1999, Figueroa *et al.* 2009). Por ejemplo, en *Chondrus crispus*, *Laminaria saccharina* y *Chaetomorfa linum* se ha observado que adaptan su contenido en pigmentos con la profundidad, donde la irradiancia es fuertemente atenuada (Sagert *et al.* 1997, Borum *et al.* 2002, Bischof *et al.* 2006). El alto contenido en pigmentos accesorios como los carotenoides en ambas localidades podría explicar el papel fotoprotector de este tipo de pigmentos (Stengel & Dring, 1998; Carnicas *et al.* 1999, Schubert *et al.* 2006).

Las especies que crecen en la parte más alta del sistema intermareal pueden presentar otros mecanismos de resistencia al estrés ambiental respecto a las algas submareales o de niveles más bajos del intermareal como es la acumulación de polifenoles, fotoprotectores con capacidad antioxidante como se ha observado en algas pardas y verdes (Pérez-Rodríguez *et al.* 2001, Connan *et al.* 2004; Han & Han, 2005; Abdala *et al.* 2006). Mientras que en Gáldar la capacidad de fotoprotección o resistencia al estrés resulta ser superada por las altas temperaturas, las algas de Taliarte con más tiempo de emersión tiene más producción fotosintética en meses más cálidos, por lo que los mecanismos de fotoprotección parecen estar más activos que los especímenes de Gáldar. En los meses más cálidos y de mayores irradiancias (septiembre y octubre 2010) se registraron niveles altos de compuestos fenólicos, alta actividad antioxidante y alto contenido en pigmentos en ambas localidades como han reportado otros autores en otras regiones (Connan *et al.* 2004, Abdala *et al.* 2006). Los datos nos revelan valores medios superiores en Taliarte, lo que explicaría su alta capacidad de aclimatación (Figueroa *et al.* 1997, Flores-Moya *et al.* 1998, Altamirano *et al.* 2000a, b). Este aumento en el contenido en fenoles puede deberse al efecto combinado de la temperatura e irradiación. Parys *et al.* (2009) reveló que mayor contenido en fenoles en los meses de verano para *Ascofilum nodosum*, y que este contenido varía de año a año, donde las diferencias de temperatura, salinidad, intensidad de luz y nutrientes juegan un papel importante. Pavía & Toth (2000) estudiaron el efecto de la intensidad de luz sobre el contenido en fenoles y encontraron mayor concentraciones en ejemplares de *A. nodosum* y *Fucus vesiculosus* que se encontraban expuestos a la radiación solar. Cruces *et al.* (2011) observó mayores niveles de fenoles combinando alta temperatura y radiación UV en tres especies de algas pardas del sur de Chile. Existen evidencias experimentales que sugieren que los fenoles juegan un papel en procesos de tolerancia de luz UV en macroalgas (Villafañe *et al.* 2003, Bischof *et al.* 2006, Jormalainen & Honkanen, 2008). Gómez y Huovinen (2010) muestran variaciones estacionales

entre verano e invierno en el contenido en fenoles de *Lessonia nigrescens*, en la cual los valores son tres veces superiores en verano, demostrando que los fenoles actúan como sustancias protectoras frente a la radiación UV reduciendo la inhibición de la fotosíntesis y el daño en procesos fisiológicos (daño ADN). Abdala *et al.* (2006) también observó concentraciones de fenoles superiores en verano y en los meses de mayores irradiancias en *C. tamariscifolia*. Connan *et al.* (2004) concluyó que la variación de los compuestos fenólicos está relacionada con la irradiancia diaria, observando valores altos en verano y otoño en varias especies intermareales, entre ellas *F. spiralis*. También ha sido reportados resultados similares en *Sargasum muticum* donde se localizaron mayores contenidos en fenoles en primavera y verano, donde se registraron mayores temperaturas e irradiancias (Plouguerné *et al.* 2006).

Las diferencias encontradas entre las partes del talo en nuestro estudio, concuerdan con lo observado para especies del género Fucales (Ragan & Glombitza, 1986), donde la parte basal toma mayores valores que la parte apical. Plouguerné *et al.* (2012) reveló diferencias entre las distintas partes del talo en *Sargasum vulgare*, donde los ejes presentaron mayor contenido en fenoles que las hojas, y encontrando los niveles más altos en los receptáculos. En cambio, Connan *et al.* (2004) no observó diferencias entre partes del talo en *Ascofilum nodosum* y *Sargasum muticum* (Fucales), interpretando que podía ser debido a la recolección de algas en distintas épocas (febrero) y a que el contenido en sustancias protectoras dependen de la irradiancia.

El alto contenido en fenoles y la correlación positiva con la actividad antioxidante en nuestro estudio nos revelan que estos compuestos actúan como mecanismo de fotoprotección como se ha demostrado en otras algas (Zubia *et al.* 2009). Esta correlación ha sido reportada para *Ascophyllum nodosum* y *Sargasum muticum* (Connan *et al.* 2006), *Pelvetia canaliculata* y *Bifurcaria bifurcata* (Connan *et al.* 2007, Zubia *et al.* 2009) y *Cystoseira tamariscifolia*, *Fucus ceranoides* y *Halidrys siliquosa* (Zubia *et al.* 2009).

La intensidad y duración de factores de estrés como la temperatura y la radiación solar en algas intermareales depende de la posición de las algas en el intermareal. Algas pardas que se sitúan en la zona intermareal más baja donde la desecación es menos severa que en algas situadas en la parte intermareal mas alta, donde la radiación UV causa estragos en el rendimiento fotosintético de estos organismos (Cruces *et al.* 2011). Esta descrito que las algas situadas de la parte más alta del sistema intermareal presentan mayor capacidad de recuperación (Hanelt, 1996,1998; Gómez *et al.* 2004) y mecanismos más eficientes de protección frente a factores de estrés como la temperatura, radiación o desecación (Connan *et*

al. 2004), que las algas situadas en niveles inferiores como es el caso de *Porphyra leucostica* (Gómez & Figueroa, 1998), *Risoella verruculosa* (Flores-Moya et al. 1998) o *Cystoseira tamariscifolia* (Abdala et al. 2006). En nuestro estudio, *F. spiralis* ha presentado una aclimatación a factores de estrés ambientales como la temperatura y la irradiancia, donde las variaciones mensuales fueron resultado de las condiciones ambientales (Van Alstyne et al. 2001). Además, no se observó fotoinhibición incluso en los meses con mayores irradiancias, lo cual fue debido a que los muestreos se realizaron por la mañana, no habiendo alcanzado los niveles máximos de irradiancia que tienen lugar a mediodía. Aunque se ha demostrado una reducción de las poblaciones en Canarias (Vodovipec, 2012), nuestros resultados fotosintéticos y bioquímicos nos revelan las adaptaciones a las condiciones de estrés de esta alga a variaciones ambientales, encontrando los especímenes mejor adaptados en la localidad de Taliarte, donde la media de temperaturas e irradiancias fue mayor. Martínez et al. (2012) estudiaron las respuestas fisiológicas de poblaciones centrales y marginales de *Fucus serratus*, y las variaciones encontradas no sugirieron un patrón geográfico. En ese estudio demostraron que las variaciones ambientales durante la marea baja produjeron las mayores variaciones fisiológicas, descartando la posibilidad de diferentes respuestas adaptativas para resistir condiciones de estrés extremo en el límite sur de distribución. Concluimos en nuestro estudio que los cambios relativamente drásticos en las variables ambientales parecen modular la fisiología de *F. spiralis* y aunque se hayan constatado reducciones en las poblaciones de Canarias, esta especie parece ir adoptando mecanismos de adaptación al incremento de las variables ambientales. No obstante no se excluye que el incremento de temperatura esté afectando otros procesos que al final pueden determinar su mantenimiento en el sistema intermareal además de la aclimatación fotosintética como son la respiración, el crecimiento y la reproducción. Se necesita más experimentación tanto de campo como en sistema de experimentación controlado (experimentación multifactorial) para evaluar el alcance del cambio climático sobre macroalgas intermareales de zonas templadas.

Bibliografía

- Abdala-Díaza R, Cabello-Pasini A, Pérez-Rodríguez E, Conde-Álvarez R, Figueroa F (2006). Daily and seasonal variations of optimum quantum yield and phenolic compounds in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyta). *Marine Biology* 148:459-465
- Altamirano M, Flores-Moya A, Figueroa F (2000a). Long-term effects of natural sunlight under various ultraviolet radiation conditions on growth and photosynthesis of intertidal *Ulva rigida* (Chlorophyceae) cultivated *in situ*. *Botanica Marina* 43:119-126
- Altamirano M, Flores-Moya A, Conde F, Figueroa F (2000b). Growth seasonality, photosynthetic pigments, and carbon and nitrogen content in relation to environmental factors: a field study of *Ulva olivascens* (Ulvales, Chlorophyta). *Phycologia* 39:50-58
- Altamirano M, Flores-Moya A, Figueroa F (2003). Effects of UV radiation and temperature on growth germlings of three species of *Fucus* (Phaeophyceae). *Aquatic Botany* 75:9-20
- Arnold T, Tanner C, Hatch W (1995). Phenotypic variation in polyphenolic content of the tropical brown alga *Lobophora variegata* as a function of nitrogen availability. *Marine Ecology Progress Series* 123:177-183
- Austin MP, Van Niel KP (2011). Improving species distribution models for climate change studies: variable selection and scale. *Journal of Biogeography* 38:1-8
- Barry J, Baxter C, Sagarin R, Gilman S (1995). Climate-related, long-term faunal changes in a California rocky intertidal community. *Science* 267:672-675
- Beer S, Mtolera M, Lyimo T, Björk M (2006). The photosynthetic performance of the tropical seagrass *Halophila ovalis* in the upper intertidal. *Aquatic Botany* 84:367-371
- Bertness M, Leonard G (1997). The role of positive inter-actions in communities: lessons from intertidal habitats. *Ecology* 78:1976-1989
- Bertness M, Leonard G, Levine J, Bruno J (1999). Climate-driven interactions among rocky intertidal organisms caught between a rock and a hot place. *Oecologia* 120:446-450
- Bischof K, Gómez I, Molis M, Hanelt D, Karsten U, Lüder U, Roleda M, Zacher K, Wiencke C (2006). Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 51:141-166

- Blois M (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 18:1199-1200
- Borgesen F(1926). Marine algae from the Canary Islands especially from Tenerife and Gran Canaria II. Phaeophyceae. Det Kgl Danske Videnskabernes Selskab Biologiske Meddelelser 6(2):1-112
- Borum J, Pedersen MF, Krause-Jensen D, Christensen PB, Nielsen K (2002). Biomass, photosynthesis and growth of *Laminaria saccharina* in a high-arctic fjord, NE Greenland. *Marine Biology* 141:11-19
- Breeman A M (1988). Relative importance of temperature and other factors in determining geographic boundaries of seaweeds: experimental and phenological evidence. *Helgolander Wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 42:199-241
- Breitburg DL, Seitzinger SP, Sanders JG (1999). The effects of multiple stressors in marine and freshwater systems. Breitburg DL, Seitzinger SP, Sanders JG (eds.). *Limnology and Oceanography* (Special issue) 44 (issue 3, part 2). 233pp
- Carnicas E, Jiménez C, Niell FX (1999). Effects of changes of irradiance on the pigment composition of *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* Zhang et Xia. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 50:149-158
- Chapman ARO (1995). Functional ecology of furoid algae: twentythree years of progress. *Phycologia* 34(1):1-32
- Connan S, Delisle F, Deslandes E, Ar Gall E (2006). Intra-thallus phlorotannin content and antioxidant activity in Phaeophyceae of temperate waters. *Botanica Marina* 49:39-46
- Connan S, Deslandes E, Ar Gall E (2007). Influence of day–night and tidal cycles on phenol content and antioxidant capacity in three temperate intertidal brown seaweeds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 349:359-369
- Connan S, Goulard F, Stiger V, Deslandes E, Ar Gall E (2004). Interspecific and temporal variation in phlorotanin levels in an assemblage of brown algae. *Botanica Marina* 47:410-416

- Cruces E, Huovinen P, Gómez I (2011). Phlorotannin and antioxidant responses upon short-term exposure to UV radiation and elevated temperature in three south pacific kelps. *Photochemistry and Photobiology* 88(1):58-66
- Darling ES, Côté IM (2008). Quantifying the evidence for ecological synergies. *Ecology Letters* 11:1278-1286
- Davison I (1991). Environmental effects on algal photosynthesis: Temperature. *Journal of Phycology* 27:2-8
- Davison IR, Pearson GA (1996). Stress tolerance in intertidal seaweeds. *Journal of Phycology* 32:197-211
- Dayton P (1971). Competition, disturbance, and community organization: the provision and subsequent utilization of space in a rocky intertidal community. *Ecological Monographs* 41:351-389
- Dayton PK, Tegner MJ (1984). Catastrophic storms, El Niño, and patch stability in a southern California kelp community. *Science* 224:283-285
- Denny MW (1988). *Biology and the mechanics of the wave-swept environment*. Princeton University Press, Princeton, NJ
- Denny MW, Miller LP, Harley CDG (2006). Thermal stress on intertidal limpets: long-term hindcasts and lethal limits. *The Journal of Experimental Biology* 209:2420-243
- Díez I, Mugerza N, Santolaria A, Ganzedo U, Gorostiaga JM (2012). Seaweed assemblage changes in the eastern Cantabrian Sea and their potential relationship to climate change. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 99:108-122
- Dromgoole FI (1980). Desiccation resistance of intertidal and subtidal algae. *Botanica Marina* 23:149-159
- Espino F, Boyra A, Tuya F, Haroun R (2006). *Guía visual de las especies marinas de canarias*. Oceanográfica: Divulgación, educación y ciencia S.L. 482 pp. ISBN: 84-611-2308-5
- Fernández C (2011). The retreat of large brown seaweeds on the north coast of Spain: the case of *Saccorhiza polyschides*. *European Journal of Phycology* 46:352-360

- Fernández C, Anadón R (2008). La cornisa cantábrica: un escenario de cambios de distribución de comunidades intermareales. *Algas* 39:30-32
- Figueroa F, Gómez I (2001). Photosynthetic acclimation to solar UV radiation of marine red algae from the warm-temperate coast of southern Spain: A review. *Journal of Applied Phycology* 13: 235-248
- Figueroa F, Israel A, Neori A, Martínez B, Malta E, Ang Jr. P, Inken S, Marquardt R, Korbee N (2009). Effects of nutrient supply on photosynthesis and pigmentation in *Ulva lactuca* (Chlorophyta): responses to short-term stress. *Aquatic Biology* 7:173-183
- Figueroa F, Jiménez , Viñegla B, Pérez-Rodríguez E, Aguilera J, Flores-Moya A, Altamirano M, Lebert M, Häder D (2002). Effects of solar UV radiation on photosynthesis of the marine angiosperm *Posidonia oceanica* from southern Spain. *Marine Ecology Progress Series* 230:59-70
- Figueroa F, Salles S, Aguilera J, Jiménez C, Mercado J, Viñegla B, Flores-Moya A, Altamirano M (1997). Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta* Thur. in Le Jol. *Marine Ecology Progress Series* 151:81-90
- Figueroa FL, Viñegla B (2001). Effects of solar UV radiation on photosynthesis and enzyme activities (carbonic anhydrase and nitrate reductase) in marine macroalgae from southern Spain. *Revista Chilena de Historia Natural* 74:237-249
- Folin O, Ciocalteu V (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal biological chemistry* 73:627-650
- Flores-Moya A, Gómez I, Viñegla B, Altamirano M, Pérez-Rodríguez E, Maestre C, Caballero R, Figueroa F (1998). Effects of solar radiation on photosynthetic performance, pigment content and enzymatic activities related to nutrient uptake, of the endemic Mediterranean red alga *Rissoella verruculosa*. *New Phytologist* 139:673 -683
- Flores-Moya A, Hanelt D, Figueroa FL, Altamirano M, Viñegla B, Salles S (1999). Involvement of solar UV-B radiation in recovery of inhibited photosynthesis in the brown alga *Dictyota dichotoma* (Hudson) Lamouroux.J. *Photochemistry and Photobiology* 49:29-135

- Gómez I, Figueroa F (1998). Effects of solar UV stress on chlorophyll fluorescence kinetics of intertidal macroalgae from Southern Spain: a case study in *Gelidium* species. *Journal of Applied Phycology* 10:285-294
- Gómez I, Figueroa F, Ulloa N, Morales V, Lovengreen C, Huovinen C, Hess S (2004). Patterns of photosynthetic performance in intertidal macroalgae from southern Chile in relation to solar radiation. *Marine Ecology Progress Series* 270:103-116
- Gómez I, Huovinen P (2010) Induction of phlorotannins during UV exposure mitigates inhibition of photosynthesis and DNA damage in the kelp *Lessonia nigrescens*. *Photochemistry and Photobiology* 86:1056-1063
- Grzymiski J, Johnsen G, Sakshaug E (1997). The significance of intracellular self-shading on the bio-optical properties of brown, red and green macroalgae. *Journal of Phycology* 33:408-414
- Häder DP, Figueroa F (1997). Photoecophysiology of marine macroalgae. *Photochemistry and Photobiology* 66:1-14
- Häder DP, Lebert M, Flores A, Jiménez C, Mercado J, Salles S, Aguilera J, Figueroa FL (1997). Photosynthesis of the Atlantic red alga *Corallina elongata* Ellis et Soland measured in the field under solar radiation. *Journal Photochemistry and Photobiology* 37:196-202
- Häder D, Porst M, Lebert M (2001). Photoinhibition in common atlantic macroalgae measured on site in Gran Canaria. *Helgoland Marine Research* 55:67-76
- Häder D, Worrest RC, Kumar H, Smith RC (1995). Effects of increased solar ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. *Ambio* 24:174-180
- Han Y-S, Han T (2005). UV-B induction of UV-B protection in *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 41:523-530
- Hanelt D (1996). Photoinhibition of photosynthesis in marine macroalgae. *Scientia Marina* 60:243-248
- Hanelt D (1998). The capability for dynamic photoinhibition in Arctic macroalgae is related to their depth distribution. *Marine Biology* 131:361-369

- Hanelt D, Hupperts K, Nultsch W (1992). Photoinhibition of photosynthesis and its recovery in red algae. *Botanica Acta* 105:278-284
- Hanelt D, Huppertz K, Nultsch W (1993). Daily course of photosynthesis in marine macrophytes investigated in the laboratory and in the field. *Marine Ecology Progress Series* 97:31-41
- Harley CDG (2003) Abiotic stress and herbivory interact to set range limits across a two-dimensional stress gradient. *Ecology* 84:1477-1488
- Harley CDG, Anderson K, Demes K, Jorve J, Kordas R, Coyle T, Graham M (2012). Effects of climate change on global seaweed communities. *Journal of Phycology* 48:1064-1078
- Harley CDG, Hughes AR, Hultgren KM, Miner BG, Sorte CJB, Thornber CS, Rodriguez LF, Tomanek L, Williams SL (2006). The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters* 9:228-241
- Haroun RJ, Gil-Rodríguez MC, Díaz De Castro J, Prud'Homme Van Reine W (2002). A checklist of the marine plants from the Canary Islands (Central Eastern Atlantic Ocean). *Botanica Marina* 45:139-169
- Hawkins S, Jones D (1992). *Rocky shores*. Immel Publishings, London
- Hawkins SJ, Southward A, Genner MJ (2003.) Detection of environmental change in a marine ecosystem-evidence from the western English Channel. *Science of the Total Environment* 310:245-256
- Helmuth B, Broitman BR, Blanchette CA, Gilman S, Halpin P, Harley CDG, O'Donnell MJ, Hofmann GE, Menge B, Srtickland D (2006). Mosaic patterns of thermal stress in the rocky intertidal zone: implications for climate change. *Ecological Monographs* 76(4):461-479
- Helmuth B, Harley CDG, Halpin PM, O'Donnell M, Hofmann GE, Blanchette CA (2002). Climate change and latitudinal patterns of intertidal thermal stress. *Science* 298:1015-1017
- Hughes L (2000). Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in Ecology and Evolution* 15:56-61
- Hurd C, Dring M (1990). Phosphate uptake by intertidal algae in relation to bandation and season. *Marine Biology* 107: 281-289

- Jiménez C, Figueroa FL, Salles S, Aguilera J, Mercado J, Viñegla B, Flores-Moya A, Lebert M, Häder DP (1998). Effects of solar radiation on photosynthesis and photoinhibition in red macrophytes from an intertidal system of Southern Spain. *Botanica Marina* 41:329-338
- Jormalainen V, Honkanen T (2008). Macroalgal chemical defenses and their roles in structuring temperate marine communities. *Algal Chemical Ecology*, Ed. C. D. Amsler, chapter 3, pp. 57-89
- Kearney M, Porter W (2009). Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species ranges. *Ecology Letters* 12:334-350
- Livingstone DR (2001). Contaminant-simulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin* 42(8):656-666
- López-Figueroa F (1992). Diurnal variations in pigment contents in *Porphyra laciniata* and in *Chondrus crispus* and its relation to the diurnal changes of underwater light quality and quantity. *Marine Ecology* 13(4): 285-305
- López-Figueroa F, Niell Fx (1990). Effects of light quality on chlorophyll and biliprotein accumulation in seaweeds. *Marine Biology* 102:321-327
- Lubián L, Montero O (1998). Excess light-induced violaxanthin cycle activity in *Nannochloropsis gaditana* (Eustigmatophyceae): effects of exposure time and temperature. *Phycologia* 37:16-23
- Lüning K (1990). Seaweeds. Their environment, biogeography, and ecophysiology. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA, 527 pp
- Madsen TV, Maberly SC (1990). A comparison of air and water as environments of photosynthesis by the intertidal alga *Fucus spiralis* (Phaeophyta). *Journal of Phycology* 26:24-30
- Martínez B, Arenas F, Rubal M, Burgués S, Esteban R, García-Plazaola I, Figueroa FL, Pereira R, Saldaña L, Sousa-Pinto I, Trilla A, Viejo RM (2012). Physical factors driving intertidal macroalgae distribution: physiological stress of a dominant furoid at its southern limit. *Oecologia* 170(2):341-353
- Maxwell K, Johnson GN (2000). Chlorophyll Fluorescence: a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345):659-668

- Molina-Montenegro M, Muñoz A, Badano E, Morales B, Fuentes K, Cavieres L (2005). Positive associations between macroalgal species in a rocky intertidal zone and their effects on the physiological performance of *Ulva lactuca*. *Marine Ecology Progress Series* 292:173-180
- Navarrete S, Lubchenco J, Castilla J (1993). Pacific Ocean coastal ecosystems and global climate change. *Earth system responses to global change: contrast between north and South America*. Academic Press, San Diego, CA
- Niemeck R, Mathieson A (1976). An ecological study of *Fucus spiralis* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 24:33-48
- Norris R, Conway E (1974). *Fucus spiralis* L. in the northeast Pacific. *Syesis* 7:79-81.
- Parys S, Kehraus S, Pete R, Küpper FC, Glombitza KW, König GM (2009). Seasonal variation of polyphenolics in *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae). *European Journal of Phycology* 44(3):331-338
- Pavía H, Cervin G, Lindgren A, Aberg P (1997). Effects of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* 157:139-146
- Pavía H, Toth GB (2000). Influence of light and nitrogen on the phlorotannin content of the brown seaweeds *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. *Hydrobiologia* 440:299-305
- Pérez-Rodríguez E, Aguilera J, Gómez I, Figueroa F (2001). Excretion of coumarins by the Mediterranean green alga *Dasycladus vermicularis* in response to environmental stress. *Marine Biology* 139: 633-639
- Pérez-Rodríguez E, Gómez I, Karsten U, Figueroa F (1998). Effects of UV radiation on photosynthesis and excretion of UV- absorbing compounds of *Dasycladus vermicularis* (Dasycladales, Chlorophyta) from southern Spain. *Phycologia* 37(5):379-387
- Piazena H, Pérez-Rodríguez E, Häder D, Figueroa F (2002). Penetration of solar radiation into the water column in the central subtropical ocean Atlantic-optical properties and possible biological consequences. *Deep Sea Research II, Topical studies in Oceanography* 49(17):3513-3528
- Plouguerné E, Le Lann K, Connan S, Jechoux G, Deslandes E, Stiger-Pouvreau V (2006). Spatial and seasonal variation in density, reproductive status, length and phenolic content of the

- invasive brown macroalga *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt along the coast of Western Brittany (France). *Aquatic Botany* 85:337-344
- Plouguerné E, Cesconetto C, Cruz CP, Pereira RC, da Gama BAP (2012). Within-thallus variation in polyphenolic content and antifouling activity in *Sargassum vulgare*. *Journal of Applied Phycology* 24:1629-1635
- Raffaelli D, Hawkins S (1996). *Intertidal ecology*. Chapman & Hall, London
- Ragan M, Glombitza K (1986). Phlorotannins, brown algal polyphenols. In: Round FE, Chapman DJ (eds). *Progress in phycological research vol.4* Biopress pp 121-241
- Raven J A (1997). Inorganic carbon acquisition by marine autotrophs. *Advances in Botanical Research*, 27:85-209
- Reyes J, Sansón M (1999). Estudio fenológico de dos poblaciones de *Fucus spiralis* en Tenerife, Islas Canarias (Fucales, Phaeophyta). *Vieraea* 27:53-65
- Riechert R, Dawes CJ (1986). Acclimation of the green alga *Caulerpa racemosa* var. *uvifera* to light. *Botanica Marina* 29(6):533-538
- Rimki NE, Brunet C, Cabioch J, Lemoine Y (1996). Xanthophyll cycle and photosynthetic adaptation to environment in macro- and microalgae. *Hydrobiologia* 326/327:407-413
- Ritchie RJ (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research* 89:27-41
- Ritchie R (2008). Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c, and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol, or ethanol solvents. *Photosynthetica* 46(1):115-126
- Sagert S, Forster RM, Feuerpfeil P, Schubert H (1997). Daily course of photosynthesis and photoinhibition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta) from different shore levels. *European Journal of Phycology* 32:363-371
- Sanford E (1999). Regulation of keystone predation by small changes in ocean temperature. *Science* 283:2095-2097

- Sanford E (2002). Water temperature, predation, and the neglected role of physiological rate effects in rocky intertidal communities. *Integrative and Comparative Biology* 42:881-891
- Saroussi S, Beer S (2007). Alpha and quantum yield of aquatic plants derived from PAM fluorometry: Uses and misuses. *Aquatic Botany* 86:89-92
- Schagerl M, Möstl M (2011). Drought stress, rain and recovery of the intertidal seaweed *Fucus spiralis*. *Marine Biology* 158:2471-2479
- Schonbeck M, Norton T (1979). Drought-hardening in the upper-shore seaweeds *Fucus spiralis* and *Pelvetia caniculata*. *Journal of Ecology* 67:687-696
- Schubert N, García-Mendoza E, Pacheco-Ruiz I (2006). Carotenoid composition of marine red algae. *Journal of Phycology* 42:1208-1216
- Serisawa Y, Imoto Z, Ishikawa T, Ohno M (2004). Decline of the *Ecklonia cava* population associated with increased seawater temperatures in Tosa Bay, southern Japan. *Fisheries Science* 70:189-91
- Sieburth JMcN, Conover JT (1965). Sargassum tannin, an antibiotic which retards fouling. *Nature* 208:52-53
- Smale DA, Wernberg T (2013). Extreme climatic event drives range contraction of a habitat-forming species. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280, no.1754
- Somero GH (2002). Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: optima, limits, and costs of living. *Integrative and Comparative Biology* 42:780-789
- Southward AJ, Hawkins SJ, Burrows MT (1995). Seventy years' observations of changes in distributions and abundance of zooplankton and intertidal organisms in the Western English Channel in relation to rising sea temperature. *Journal of Thermal Biology* 20:127-155
- Stengel DB, Dring MJ (1998). Seasonal variation in the pigments contents and photosynthesis of different thallus regions of *Ascophyllum nodosum* (Fucales, Phaeophyta) in relation to position in the canopy. *Phycologia* 37(4):259-268
- Thomas T, Turpin D, Harrison P (1987). Desiccation enhanced nitrogen uptake rates in intertidal seaweeds. *Marine Biology* 94:293-298

- Thompson RC, Crowe TP, Hawkins SJ (2002). Rocky intertidal communities: past environmental changes, present status and predictions for the next 25 years. *Environmental Conservation* 29:168-191
- Thomsen J, Melzner F (2010). Moderate seawater acidification does not elicit longterm metabolic depression in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology* 157:2667-2676
- Tomanek L, Helmuth B (2002). Physiological ecology of rocky intertidal organisms: a synergy of concepts. *Integrative and Comparative Biology* 42:771-775
- Torres-Padrón M, Gelado-Caballero M, Collado-Sánchez C, Siruela-Matos V, Cardona-Castellano P, Hernández-Brito J (2002). Variability of dust inputs to the CANIGO zone. *Deep-Sea Research II* 49:3455-3464
- Underwood AJ (1997). *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press. Cambridge, UK
- Van Alstyne KL, Paul VJ (1990). The biogeography of polyphenolic compounds in marine macroalgae: temperate brown algal defenses deter feeding by tropical herbivorous fishes. *Oceanologia* 84:158-163
- Van Alstyne KL, Whitman S, Ehlig J (2001). Differences in herbivore preferences, phlorotannins production, and nutritional quality between juvenile and adult tissues from marine brown algae. *Marine Biology* 139:201-210
- Vershini AO, Kamnev AN (1996). Xanthophyll cycle in marine macroalgae. *Botanica Marina* 39:421-425
- Villafañe V, Sundbäck K, Figueroa F, Helbling E (2003). Photosynthesis in the aquatic environment as affected by UVR. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) *UV effects in aquatic organisms and ecosystems*, pp: 357-397. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK
- Viñegla B, Segovia M, Figueroa F (2006). Effect of artificial UV radiation on carbon and nitrogen metabolism in the macroalgae *Fucus spiralis* L. and *Ulva olivascens* Dangeard. *Hydrobiologia* 560(1):31-42
- Viejo RM, Martínez B, Arrontes J, Astudillo C, Hernández L (2011). Reproductive patterns in central and marginal populations of a large brown seaweed: drastic changes at the southern range limit. *Ecography* 34:75-84

Vodopivec J (2012). Decline in the populations of *Fucus spiralis* L. present in the Canary Islands in relation to climate change. Bachelor thesis. University of Nova Gorica, Slovenia

Wahl M, Jormalainen V, Klemens B, Coyerz J, Molis M, Schubert H, Dethier M, Karez R, Kruse I, Lenz M, Pearson G, Rohde S, Wikström S, Olsen J (2011). Stress Ecology in *Fucus*: Abiotic, Biotic and Genetic Interactions. In: Michael Lesser, editors: *Advances in Marine Biology*, Vol 59, Oxford: Academic Press; 2011, p. 37-106

Zubia M, Fabre MS, Kerjean V, Le Lann K, Stiger-Pouvreau V, Fauchon M, Deslandes E (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry* 116:693-701

Respuestas fotosintéticas en diversas especies de algas pardas (Phaeophyceae) a lo largo de un gradiente de profundidad: aclimatación y vulnerabilidad asociada a factores de estrés



Capítulo

3



Introducción

Las costas rocosas de las regiones templadas están dominadas por comunidades de macroalgas pardas, las cuales muestran distintos patrones de distribución vertical desde el intermareal superior hasta la zona sublitoral (Lobban & Harrison, 1994). Como consecuencia de los periodos más o menos largos de emersión derivados de las oscilaciones de mareas, las poblaciones de macroalgas intermareales están sometidas regularmente a contrastes ambientales, por las condiciones de emersión e inmersión, lo que implican grandes variaciones en múltiples factores abióticos. Por ejemplo, como resultado de la emersión, la fisiología del alga se ve influenciada por el proceso de deshidratación y también por cambios en la irradiancia y temperatura. Estos factores abióticos interactúan de manera compleja, dependiendo de la intensidad, duración y recurrencia de cada estresor (Wahl *et al.* 2011). La distribución batimétrica o zonación de las macroalgas está relacionada con la capacidad de aclimatarse, y recuperarse, del estrés medioambiental extremo y prolongado que tiene lugar en estas zonas intermareales (Dring & Brown, 1982; Lüning, 1990). La emersión, por otro lado, provoca cambios en el régimen del carbono y puede proveer beneficios para las algas al encontrarse el CO₂ atmosférico más fácilmente disponible para la realización de la fotosíntesis (Johnston & Raven, 1990; Giordano *et al.* 2005).

El género *Cystoseira* C. Agardh (Fucales, Phaeophyta) está distribuido en las costas templadas y cálidas alrededor del mundo, aunque el 80% de las especies conocidas de este género viven en el Mar Mediterráneo y el Océano Atlántico occidental, desde Escocia hasta Cabo Verde (Oliveiras & Gómez, 1989). Especies del género *Cystoseira* son particularmente vulnerables al estrés de origen natural o de origen antropogénico (Ballesteros *et al.* 1984, 1998; Hoffmann *et al.* 1988, Sales *et al.* 2011), lo que ha originado una reducción en la abundancia y diversidad de especies de este género en comunidades del Mediterráneo (Ballesteros *et al.* 1998; Cormaci & Furnari, 1999; Thibaut *et al.* 2005, Serio *et al.* 2006). En Canarias, las especies de este género son muy abundantes (Medina & Haroun, 1993) y se extienden formando densas praderas en zonas rocosas, que van desde el intermareal y comienzo del sublitoral hasta los 8-15m (Haroun *et al.* 2003). Estas algas proporcionan refugio y alimento a gran número de invertebrados y peces, y constituyen una comunidad de gran importancia en la cadena trófica litoral (Espino *et al.* 2006).

Las macroalgas de regiones templado-cálidas, como es el caso de las Islas Canarias, están expuestas a altas dosis de radiación fotosintética activa (PAR: 400-700 nm) y de radiación ultravioleta (UVR: 280-400 nm) (Häder & Figueroa, 1997). La alta irradiancia y la

transparencia de las aguas en esta región (Häder *et al.* 2001, Piazena *et al.* 2002) sugiere que las macroalgas disponen de mecanismos de fotoprotección eficientes para tolerar el estrés lumínico como le ocurre a especies de otras regiones biogeográficas con altas dosis de radiación solar (Hanelt *et al.* 1992,1993; Häder *et al.* 1995; Häder & Figueroa, 1997; Abdala *et al.* 2006). Diversos estudios han revelado la aparición de fotoinhibición dinámica de la fotosíntesis en condiciones de alta radiación solar, la cual depende de cambios diarios en la irradiancia, la atenuación vertical de la luz o la combinación de ambos factores (Lüning & Dring, 1979; López-Figueroa, 1992; Häder & Figueroa, 1997). La fotoinhibición dinámica es un proceso reversible, en el cual el fotosistema II (PSII) se inactiva cuando la luz incidente excede la capacidad de transportar electrones (Figueroa *et al.* 1997, Abdala *et al.* 2006).

En especies intermareales además de la fotoinhibición dinámica, la fotoprotección representa una adaptación fisiológica eficiente para tolerar irradiancias dañinas durante la marea baja, cuando coincide con altas dosis de radiación solar. Los florotaninos y otros polímeros halogenados como el floroglucinol son acumulados frecuentemente en grandes cantidades en algas pardas (Ragan & Glombitza, 1986; Arnold *et al.* 1995). Estos compuestos fenólicos tienen gran variedad de funciones incluyendo propiedades de antiherbivoría (Van Alstyne & Paul, 1990), la prevención de infecciones bacterianas (Conover & Sieburth, 1964), la protección a la alta radiación solar y el daño de la radiación UV (Pavía *et al.* 1997). Los compuestos fenólicos varían espacial y temporalmente debido a factores ambientales como la disponibilidad de nitrógeno (Ragan & Glombitza, 1986; Arnold *et al.* 1995), la radiación UV (Pavía *et al.* 1997; Pavía & Brock, 2000), y el pastoreo por los herbívoros (Van Alstyne, 1988). De hecho, compuestos como los pigmentos, las proteínas y los carbohidratos muestran variaciones estacionales en macrófitos marinos (Sieburth & Jensen, 1969; Cabello-Pasini *et al.* 2004). De forma similar, los compuestos fenólicos en los tejidos de las algas también muestran variaciones anuales (Ragan & Jensen, 1978; Abdala *et al.* 2006) y diarias (Connan *et al.* 2004,2007), las cuales se correlacionan positivamente con la época de verano en ciclos anuales y con la temperatura del aire durante el periodo de bajamar en ciclos diarios, aunque tanto en experimentos de corta o larga duración, la concentración de compuestos fenólicos está regulado por los niveles de irradiancia.

La distribución de las especies intermareales y submareales en profundidad, es decir su zonación batimétrica, está relacionada con la capacidad para resistir condiciones de gran estrés lumínico (Hanelt, 1998) y la sensibilidad a la radiación UV (Figueroa *et al.* 1997,2002), donde las especies supralitorales presentan menor daño en el ADN y mayor tasa de reparación

que algas que se sitúan en la zona submareal (Bischof *et al.* 1998, Van de Poll *et al.* 2001, Gómez *et al.* 2004, Wiencke *et al.* 2006). Estos mecanismos de adaptación a la radiación solar pueden depender de la disponibilidad de nutrientes (Shelly *et al.* 2002, Villafañe 2004, Korbee *et al.* 2005, Medina-Sánchez *et al.* 2006). La limitación por nitrógeno afecta a la capacidad fotosintética (Pérez-Llorens *et al.* 1996), al contenido en proteínas (Vergara *et al.* 1995, Henley *et al.* 2001) y a mecanismos de fotoprotección, provocando un incremento de la sensibilidad a la radiación UV (Litchman *et al.* 2002, Korbee-Peinado *et al.* 2004, Korbee *et al.* 2006, Huovinen *et al.* 2006).

Los factores abióticos (PAR, UV, temperatura, nutrientes) provocan respuestas fisiológicas sobre las especies y comunidades vegetales marinas (Breitburg *et al.* 1999). Considerando que los patrones de zonación vertical estén relacionados con las distintas respuestas fotosintéticas de las algas intermareales y submareales, el objetivo de nuestro estudio fue analizar la vulnerabilidad en Canarias de las comunidades de especies clave del género *Cystoseira* (*C. tamariscifolia*, *C. compressa* y *C. abies-marina*) así como de *Lobophora variegata* (alga parda abundante en el submareal canario, Tuya & Haroun 2006), las cuales muestran distinta distribución vertical (zonación) en el litoral. Para ello, medimos y estudiamos los cambios a lo largo de ciclos diarios (i) de la fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* asociada al fotosistema II, usando el rendimiento óptimo o máximo (Fv/Fm), como estimador del estado fisiológico y de la fotoinhibición, (ii) de la tasa de transporte de electrones (ETR) como estimador de la capacidad fotosintética, además (iii) de la síntesis de productos involucrados en mecanismos de fotoprotección (pigmentos, fenoles y potencial antioxidante), para así conocer los mecanismos de aclimatación y fotoprotección de macroalgas pardas procedentes de distintas profundidades.

Material y método

Descripción de las especies de estudio

Tres de las especies recolectadas en el estudio pertenecen al género *Cystoseira* (Fucales, Phaeophyceae): *Cystoseira tamariscifolia* (Hudson) Papenfuss, *Cystoseira compressa* (Esper) Gerloff et Nizamuddin y *Cystoseira abies-marina* (S.G. Gmelin) C. Agardh. Son especies con talos erectos y frondosos que llegan a alcanzar hasta los 60 cm de longitud, dependiendo de la especie (Fig. 1).



Figura 1. Submareal de la costa noreste de Lanzarote donde se recolectaron las algas de estudio

Cystoseira tamariscifolia forma una banda bien definida en el límite de marea, principalmente en Lanzarote y sus islotes, llegando hasta los 5-8 metros de profundidad, constando como especie vulnerable en el “Catálogo Canario de Especies Amenazadas” (Ley 4, 2010) (Fig. 2A). *Cystoseira compressa* presenta un dimorfismo estacional y puede alcanzar hasta los 25 m de profundidad (Fig. 2B). En el intermareal, crece inmediatamente por encima de *C. abies-marina*. Esta última especie, *C. abies-marina*, es la especie con mayor biomasa vegetal en las costas canarias (Haroun *et al.* 2003). Forma densas praderas desde el comienzo del sublitoral hasta los 15 m de profundidad, en algunos casos hasta los 25 m en ciertas localidades de Lanzarote y sus islotes (Tuya *et al.* 2005) y consta en el “Catalogo Canario de Especies Amenazadas” como especie de interés para los ecosistemas canarios (Fig. 2C). Por último, *Lobophora variegata* (J.V. Lamouroux) Womersley ex E.C. Oliveira (Dictyotales, Phaeophyceae) es un alga muy común en Canarias (Tuya & Haroun, 2006), la cual se extiende desde los charcos del intermareal hasta los 30 m de profundidad, encontrándose registros de hasta 70 m de profundidad en la isla de El Hierro, donde es particularmente conspicua (Tuya & Haroun, 2006) (Fig. 2D). Esta especie muy abundante en los primeros metros del sublitoral, y, a diferencia de las pertenecientes al género *Cystoseira*, crece preferentemente en ambientes escífilos, tanto en grietas de charcos intermareales y en paredes verticales bajo el dosel de otras macroalgas como en cuevas submareales con poca luminosidad (Haroun *et al.* 2003, Espino *et al.* 2006).



Figura 2. Especies de estudio recolectadas en la costa de Lanzarote. (A) *C. tamariscifolia*, (B) *C. compressa*, (C) *C. abies-marina* y (D) *L. variegata*.

Experimento exposición- recuperación

Talos de las 3 especies de *Cystoseira*: *C. tamariscifolia*, *C. compressa* y *C. abies-marina* fueron recolectados en plataformas rocosas de la costa Noreste de Lanzarote (Islas Canarias) (29° 9' N; 13°25' W) en el intermareal inferior (-1 m) y submareal somero (-4 m) en Septiembre de 2010 (Fig. 3). Las algas fueron expuestas al incremento de la radiación solar en horas de mediodía (12:00-14:30h hora local) en tanques de polietileno blancos (60 x 40 x 20cm) con una capa de 10 cm de agua de mar. Con el objeto de analizar la recuperación de la actividad fotosintética, después del periodo de exposición, las algas fueron cubiertas mediante filtros neutros durante 3 horas (14:30-17:30h hora local). Los filtros redujeron la irradiancia PAR incidente en un 57% (ver resultados). El agua de los tanques fue renovada frecuentemente para evitar el incremento excesivo de temperatura.

El rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$) fue medido cada hora durante todo el experimento. El rendimiento óptimo (F_v/F_m) y las curvas de luz rápidas (RLCs; tasa de transporte electrones

(ETR) -ETR- vs. irradiancia) se evaluaron al inicio y final del periodo de exposición (12h y 14:30h) y al final del periodo de recuperación (17h). El contenido en fenoles, la actividad antioxidante y los pigmentos fotosintéticos fueron analizados al inicio y al final del experimento (12h y 17h).

Experimento de ciclo diario

En el intermareal inferior (-1m), se recolectaron talos de *C. tamariscifolia* y *C. compressa*, mientras que en el medio submareal (-4 m) se recogieron talos de, igualmente, *C. tamariscifolia*, *C. compressa*, además de *C. abies-marina* y *Lobophora variegata*. Todas las colecciones se realizaron en la costa noreste de Lanzarote en Septiembre de 2010 (Fig. 3). Las distintas especies fueron expuestas a la radiación solar en tanques de polietileno blanco en 10 cm agua de mar durante un ciclo diario (9:00-19:00h hora local). El agua de los tanques fue renovada frecuentemente para evitar el exceso de temperatura.

El rendimiento óptimo (F_v/F_m) y el rendimiento efectivo ($\Delta F/F'_m$), el contenido en compuestos fenólicos, la actividad antioxidante y los pigmentos fotosintéticos fueron analizados en 6 momentos a lo largo de todo el ciclo diario (es decir, a las 9, 11, 13, 15, 17 y 19h (hora local)). Asimismo, las curvas de luz rápidas, que representan ETR vs. Irradiancia, fueron realizadas al inicio y final del experimento.

Mediciones de luz y temperatura

La radiación solar incidente fue medida usando sensor plano con corrección de coseno (Licor, Li 189 conectado a radiómetro Licor, Li-250) y la radiación UV a través de sensor de irradiancia hiperspectral UVA/UVB (Ramses, TrioS GmbH, Oldenburg, Alemania). La temperatura en las cubetas de polietileno fueron medidas en continuo cada 5 min a través del termómetro sumergible Hobos U22 (Onset computer corporation, Bourne, USA) y se trató de mantener estable con renovación frecuente del agua.

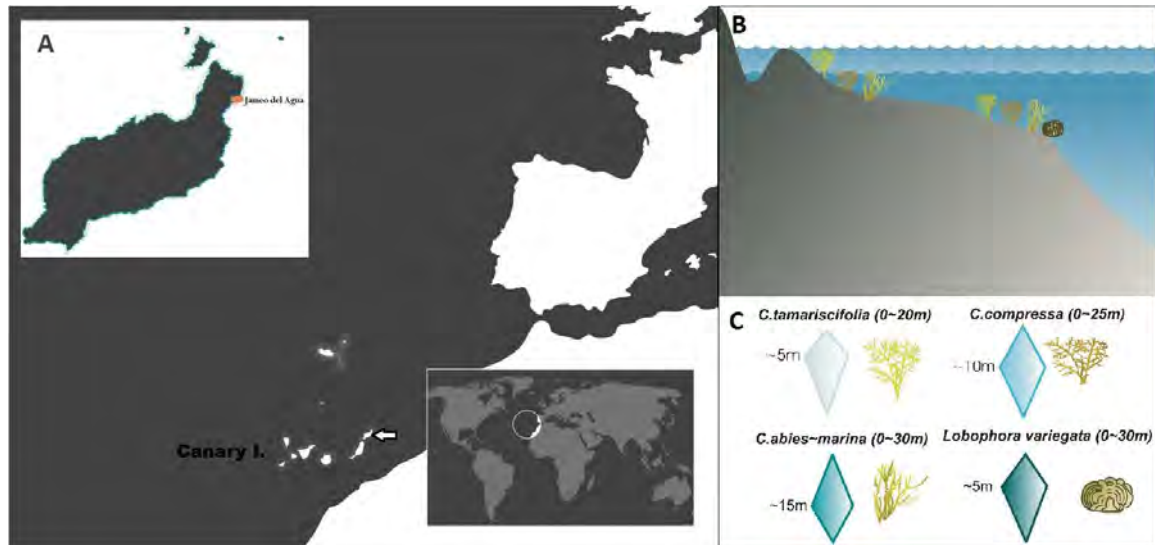


Figura 3. (A) Localización geográfica del área de estudio: Los Jameos del Agua, Lanzarote. (B) Representación esquemática de la zona intermareal de Lanzarote donde se recolectaron las especies de algas (-1 y -4 metros de profundidad) y (C) rango de profundidad de las distintas especies, donde se muestra la profundidad de mayor abundancia de cada alga (Haroun *et al.* 2003, Espino *et al.* 2006).

Fluorescencia *in vivo* de la clorofila

La fluorescencia *in vivo* de la clorofila asociada al PSII fue determinado usando el fluorímetro Diving-PAM (Walz, Alemania) (n=8). Con los centros de reacción totalmente oxidados o relajados, y tras un periodo de adaptación a la oscuridad (15 min), se obtuvieron los valores mínimos de fluorescencia (F_o) tras encender la luz de medida y máximos de fluorescencia, F_m después de aplicar el pulso de saturación de luz actínica ($2350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ durante 0,8 s). El rendimiento óptimo F_v/F_m (parámetro sin dimensión) se describe como la eficiencia máxima fotoquímica de transferencia de energía a los centros de reacción del PSII, el cual se define como $(F_m - F_o)/F_m$. En muestras iluminadas por luz actínica, parte de los centros de reacción permanecen cerrados o reducidos y, se obtuvieron los valores instantáneos de fluorescencia (F) tras encender la luz de medida y máximos (F'_m) tras aplicar el pulso de saturación de luz actínica. El rendimiento efectivo, $\Delta F/F'_m$ queda definido como $(F'_m - F)/F'_m$. Las curvas de luz rápidas (RLCs) fueron medidas usando la función de curvas de luz del Diving-PAM. La luz actínica se incrementó cada 20s exponiendo a la muestra a 9 irradiancias en aumento, desde 85 a $1748 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las curvas de luz fueron construidas calculando el ETR directo del PSII para cada nivel de luz actínica:

$$\text{ETR} = (\Delta F/F'_m) * E * A * FII$$

donde $\Delta F/F'm$ es rendimiento efectivo, E la irradiancia de luz actínica en cada punto de la curva, A la absortancia media de cada especie, mientras que F_{II} , es la fracción de clorofila asociada, siendo para algas pardas de 0,8 (Grzymiski *et al.* 1997). La absortancia $A = 1 - (E_t/E_0)$ fue calculada a partir de la luz transmitida a través de una pieza de cada especie (E_t) colocada sobre un sensor PAR con corrección de coseno (Licor, Li 189 conectado a radiómetro Licor, Li-250), y la irradiancia incidente (E_0) en ausencia de la pieza de alga. Las absortancias obtenidas fueron de $0,85 \pm 0,05$ para las especies de *Cystoseira* y $0,83 \pm 0,03$ para *Lobophora variegata*.

Las curvas de luz fueron ajustadas según el modelo de Jasby y Platt (1976) y de Platt y Gallegos (1980) en casos donde hubo fotoinhibición, para obtener los valores de eficiencia (α_{ETR}), irradiancia de saturación (E_k) y ETR máximo (ETR_{max}).

Amortiguamiento no fotoquímico

$Y(NO)$, refleja la fracción de energía que es disipada pasivamente en forma de calor y fluorescencia, debido al bloqueo de los centros de reacción del PSII, calculado según (Klughammer & Schreiber, 2008) como: $Y(NO)=F/F_m$

$Y(NPQ)$, corresponde a la fracción de energía disipada en forma de calor regulada por mecanismos fotoprotectores no fotoquímicos (Klughammer & Schreiber, 2008) y fue calculado mediante: $Y(NPQ)= F/F'm - Y(NO)$

Contenido en pigmentos, fenoles, actividad antioxidante y C, N.

Los pigmentos fotosintéticos clorofila *a* (Chl *a*), clorofila *c* (Chl *c*) y el contenido en carotenos fueron determinados espectrofotométricamente. Los análisis se realizaron mediante extracción de pigmentos de las algas (20 mg peso fresco) usando como solución extractora 1ml de acetona al 90% saturada de hidróxido de carbonato de magnesio y manteniendo en oscuridad 12h a 4°C. Después de centrifugar a 4000 rpm durante 20 min, cada sobrenadante fue usado para medir los pigmentos mediante escaneo desde 480 a 750 nm. La concentración de clorofila y carotenos fue calculada según Ritchie (2006, 2008). El contenido en pigmento fue expresado en $mg\ g^{-1}$ PS.

La extracción de compuestos fenólicos se realizó para todas las algas recolectadas (0,25g PS, n=3 talos por especie), donde se molió en un mortero con arena de mar a 4°C, y se extrajo durante la noche en tubos de centrifuga con 2.5 ml de metanol al 80%. La mezcla fue centrifugada a 4000 rpm durante 30 minutos a 4°C y se recogió el sobrenadante (Sigma 2-

16PK, Göttingen, Alemania). Los compuestos fenólicos totales, expresados en mg g^{-1} PS, fueron determinados usando floroglucinol como estándar siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Folin & Ciocalteu, 1927). La reacción se completó después de 120 minutos en oscuridad a 4°C y se leyó la absorbancia a 760 nm mediante un espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution 201, UV-Visible, Shanghai, China).

La actividad antioxidante fue medida a través del radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) por triplicado, según el método de Blois (1958). Rápidamente, se tomaron 150 μL del extracto metanólico y se mezclaron con 1,5 ml de metanol al 90% y 150 μL de solución de DPPH preparada diariamente a 1,27 nM. La reacción fue completada después de 30 minutos en oscuridad a temperatura ambiente, y medida la absorbancia a 517 nm. Los valores de concentración de DPPH (μM) fue calculada a través de concentración del extracto de alga (mg PS ml^{-1}) con el fin de obtener el valor de EC50 (índice de oxidación), el cual representa la concentración de extracto (mg ml^{-1}) que se requiere para reducir al 50% el DPPH. Se usó ácido ascórbico como control positivo.

El contenido total en C y N fue determinado mediante combustión usando un analizador elemental CNHS LECO-932 (Michigan, USA).

Análisis estadístico

Las diferencias en la actividad fotosintética, mecanismos de fotoprotección (fenoles, actividad antioxidante) y concentraciones de pigmentos entre algas y las distintas horas se contrastaron a través de ANOVAs de 2 vías, donde 'especies' actúan como factor fijo y las 'horas' de medida como factor aleatorio. Se usó el test de Cochran para comprobar la homogeneidad de varianzas (Underwood 1997), donde se realizó transformaciones para obtener varianzas homogéneas. En caso de no obtener varianzas homogéneas, se ajustó el nivel de confianza al 99%, reduciéndose así el error tipo I. La significancia de los F-ratios se contrastó mediante 4999 permutaciones de los datos a través del software PERMANOVA, utilizando la distancia euclidiana como medida de disimilitud. En los casos necesarios, se ejecutaron test a pares (*a posteriori*) mediante 4999 permutaciones. Los resultados obtenidos en los ANOVAs se muestran en las tablas del anexo estadístico (tablas A6-A11).

Resultados

Experimento exposición-recuperación

Parámetros abióticos

La temperatura media del agua en las cubetas de incubación de polietileno fue de 28,2°C (Fig. 4A). La temperatura del agua al inicio de la exposición solar fue de 25°C, alcanzando al final de la exposición los 30°C, y disminuyendo a los 29°C al final de la fase de recuperación (Fig. 4A).

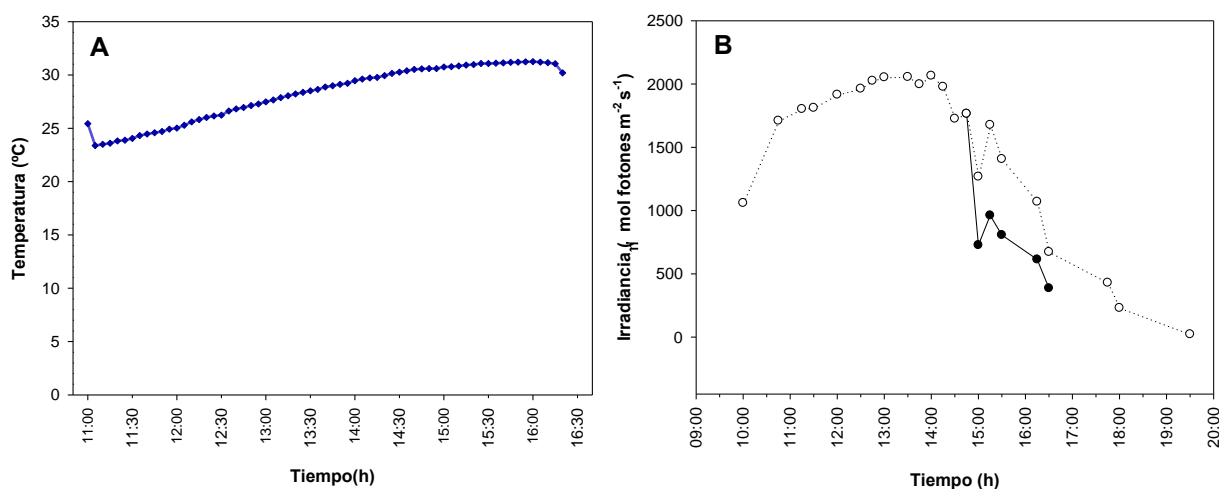


Figura 4. (A) Temperatura del agua en las cubetas de polietileno durante el experimento de exposición-recuperación. (B) Irradiancia diaria PAR donde (o) representa las irradiancia PAR a cada hora de medida y (●) muestra la irradiancia bajo filtros neutros (periodo de recuperación).

Los resultados de la irradiancia revelan un aumento progresivo desde las 10h hasta las 14h, donde se registró el máximo de 2060 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A partir del mediodía hasta el final del día disminuye la irradiancia fotosintética activa (PAR) de forma progresiva con algunas caídas drásticas por la presencia transitoria de nubes (Fig. 4B). Las irradiancias en el periodo de recuperación se vieron reducidas un 57% debido a la atenuación producida por los filtros neutros que se emplearon (Fig. 4B). La radiación UV reveló una disminución en las primeras horas de la tarde (16h), alcanzando mayores valores a mediodía (14h) (Fig. 5).

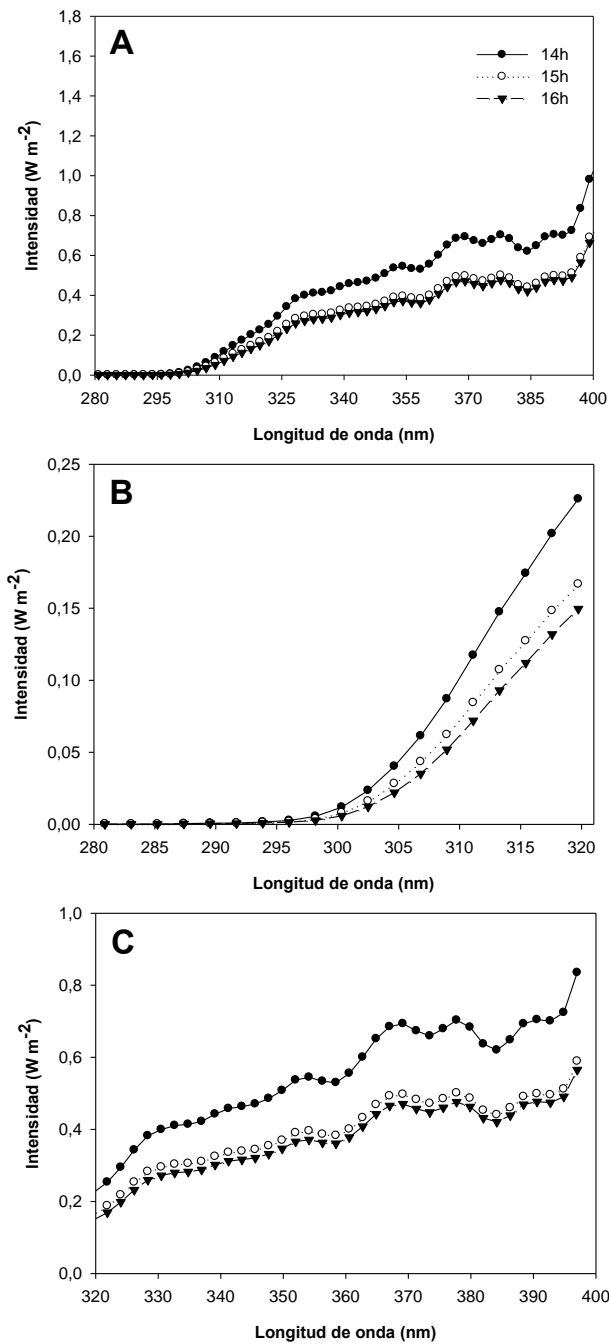


Figura 5. Radiación UV registrada durante el experimento de exposición-recuperación en las horas centrales del día (14, 15 y 16h). (A) Espectro completo de radiación UV, (B) radiación UV-B (280-320) y (C) radiación UV-A (320-400).

Actividad fotosintética

El rendimiento óptimo (F_v/F_m) y el rendimiento efectivo ($\Delta F/F'_m$) varió entre las horas de exposición y de recuperación para las distintas macroalgas ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A6). Las algas muestreadas en el intermareal mostraron menores caídas del F_v/F_m que las algas muestreadas en el submareal, las cuales revelaron mayores caídas del rendimiento óptimo durante el periodo de exposición. En el periodo de recuperación, las algas procedentes del intermareal mostraron porcentajes de recuperación por encima del 100%, mientras que las especies provenientes del submareal alcanzaron menores valores de recuperación (63-79%) (Fig. 6A). Los valores de actividad fotosintética (ETR) medidos a través del rendimiento efectivo, reveló mayor actividad fotosintética en especies recolectadas en el intermareal, disminuyendo la actividad en las especies procedentes del medio submareal (Fig. 6B).

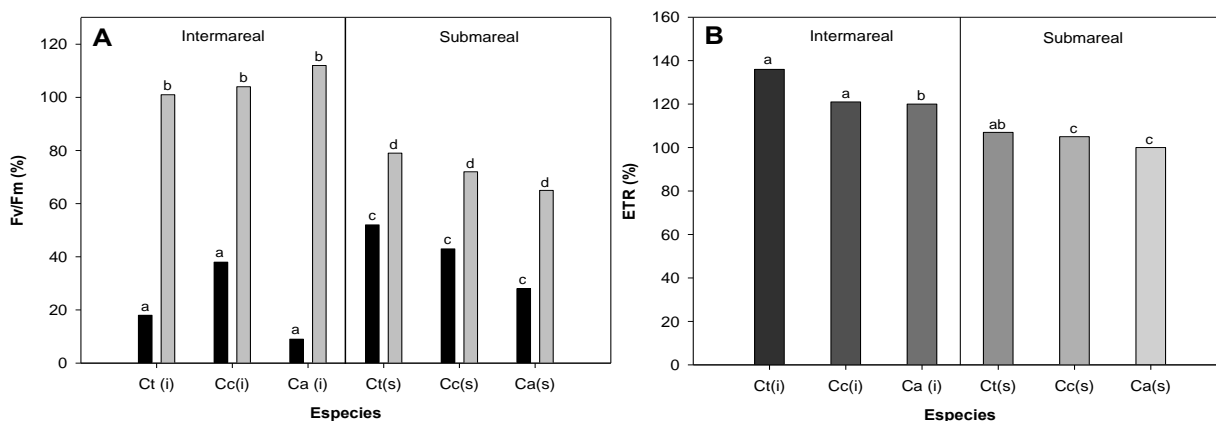


Figura 6. Rendimiento óptimo o máximo (F_v/F_m) (A) (expresado en % de variación) y capacidad fotosintética (ETR) (B) para las distintas especies durante el experimento de exposición-recuperación. (6A) Las barras negras muestra el % de fotoinhibición (variación del F_v/F_m de 12:00h-14:30h) y las barras grises muestras los % de recuperación (variación del F_v/F_m de 12:00-17:00h). (6B) Incremento de la capacidad fotosintética (variación de $\Delta F/F'_m$ desde el inicio al final del día) Ct= *C. tamariscifolia*, Cc=*C. compressa*, Ca=*C. abies-marina*; i= intermareal, s=submareal. Las letras sobre las barras denotan diferencias significativas (test *a posteriori*) entre las distintas especies durante el periodo de exposición y recuperación.

Los valores de $Y(NO)$ muestra diferencias entre las distintas especies en el periodo de exposición y recuperación ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A6). Se observaron valores altos al inicio de la exposición para *C. compressa* (i) y *C. tamariscifolia* (s), alcanzando valores más bajos en *C. tamariscifolia* (i) y *C. abies-marina* (s) (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 7A). Al final del periodo de exposición se observaron valores elevados para todas las macroalgas, con valores máximos para *C. abies-marina* (i) y mínimos para *C. abies-marina* (s) (Fig. 7B). En la fase de recuperación

observamos un aumento del $Y(II)$ (rendimiento efectivo) y una disminución del $Y(NO)$, encontrándose los valores máximos para *C. abies-marina* (i) (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 7C). La tendencia al inicio de la exposición (12h) y al final de la recuperación (17h) en el $Y(II)$ fue la de disminuir en algas recolectadas en el submareal. Al final de la exposición (14h30), observamos en las especies procedentes del intermareal una caída del $Y(II)$ en algas recolectadas en el límite inferior del intermareal, mientras que en las especies muestreadas en el submareal aumenta el rendimiento efectivo. Los valores de amortiguamiento no fotoquímico $Y(NPQ)$ variaron entre especies en los periodos de exposición y recuperación ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A6). Al inicio de la exposición encontramos valores altos para *C. tamariscifolia* (i), *C. abies-marina* (i) y *C. abies marina* (s), no mostrando valores para *C. compressa* (i) (Fig. 7A) (test *a posteriori*, $p < 0,01$). Al final de la exposición, observamos una disminución de $Y(NPQ)$ en *C. abies-marina* (s) y el amortiguamiento no fotoquímico fue muy bajo, cercano a cero (Fig. 7B). En cambio, observamos al final de la recuperación como se produce un aumento de $Y(NPQ)$ en la mayoría de las especies, con máximos en *C. tamariscifolia* (s), seguido de *C. compressa* (i y s) y *C. abies-marina*(s), con valores muy bajos para *C. tamariscifolia* (i) y *C. abies-marina* (i) (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 7C).

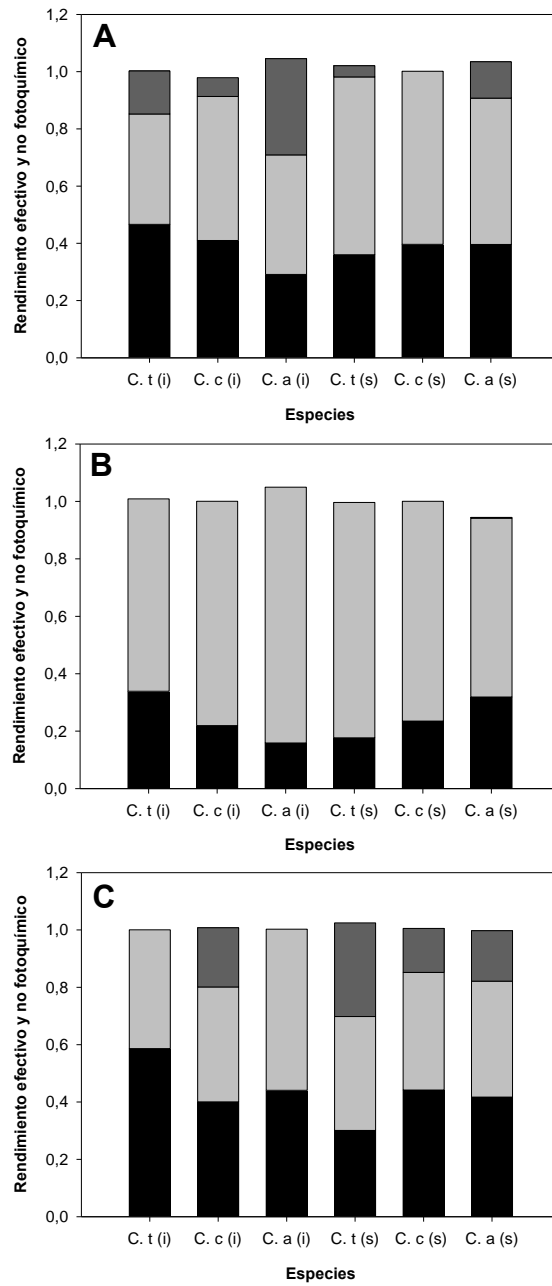


Figura 7. Rendimientos no fotoquímico durante los periodos de exposición y recuperación. Las barras negra representan el rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$ o Y_{II}), las barras gris claro representan $Y(NO)$ y las barras gris oscuro el $Y(NPQ)$. (A)=12:00h (inicio exposición), (B)=14:30h (final exposición), (C)=17:30h (final recuperación). Ct= *Cystoseira tamariscifolia*, Cc=*Cystoseira compressa*, Ca=*Cystoseira abies-marina*; i= intermareal, s=submareal.

Los parámetros de ETR variaron entre los distintos periodos de exposición ('Ho', $p < 0,01$) (Tabla A7). Los ETR_{max} fueron elevados al inicio de la exposición solar (test *a posteriori*, $p < 0,01$). Al final de la exposición (14h30), los valores cayeron en torno a un 12% en *C. tamariscifolia* (i) y hasta el 58% en *C. compressa* (i). En el periodo de recuperación, se observó que algunas especies aumentaron el valor de ETR_{max} y en otras, en cambio, siguieron cayendo. Al final de la recuperación observamos que *C. tamariscifolia* (s), *C. compressa* (i) y *C. abies-marina* (i) mostraban un aumento del 14, 8 y 3 % respectivamente. En el resto, el ETR_{max} cayó en torno a un 70% durante el periodo de recuperación (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Tabla I). La eficiencia fotosintética (α_{ETR}) mostró cambios en las distintos periodos de exposición y recuperación ('Ho' $p < 0,01$), independientemente del alga ('Es x Ho', $p > 0,05$) (Tabla A7). En general se observaron pérdidas de eficiencia en el periodo de exposición solar con mayores caídas para *C. abies-marina* (i) de un 52%, seguida de *C. tamariscifolia* (s), *C. compressa* (i y s), *C. abies-marina* (s) y *C. tamariscifolia* (i), siendo esta última la que registró una disminución menor, de aproximadamente del 10% (test *a posteriori*, $p < 0,01$). En el periodo de recuperación, todas las algas vieron aumentada su eficiencia, excepto *C. tamariscifolia* (i), la cual disminuyó un 20% (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Tabla I). La irradiancia de saturación (E_k) no mostró cambios entre las distintas especies en el tiempo ('Es x Ho', $p > 0,05$, tabla A7), aunque se dieron diferencias a nivel de efectos principales, lo que revela que las diferencias entre horas fueron independientes de las especies ('Ho', $p < 0,01$, tabla A7). Observamos en el periodo de exposición que las especies procedentes del intermareal disminuye el E_k , mientras que en las especies provenientes del submareal aumenta la irradiancia de saturación (test *a posteriori*, $p < 0,01$). En cambio, en el periodo de recuperación todas las especies disminuyen su E_k , excepto en *C. abies-marina* (i), donde la irradiancia aumenta ligeramente al final (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Tabla I).

Tabla I. Parámetros obtenidos de las curvas ETR vs Irradiancia, donde se observan los datos de ETRmax, α y Ek para las distintas especies durante el periodo de exposición (12-14h) y periodo de recuperación (14h-17h). Media \pm error estándar.

	12h			14h			17h		
	ETRmax	α	Ek	ETRmax	α	Ek	ETRmax	α	Ek
<i>C. tamariscifolia (i)</i>	90,73 \pm 21,95	0,33 \pm 0,05	281,65 \pm 63,98	80,29 \pm 10,30	0,30 \pm 0,02	268,53 \pm 52,86	24,19 \pm 3,32	0,29 \pm 0,01	81,19 \pm 9,64
<i>C. compressa (i)</i>	85,18 \pm 6,81	0,26 \pm 0,02	329,82 \pm 47,14	35,04 \pm 6,52	0,15 \pm 0,03	235,84 \pm 13,60	42,74 \pm 24,72	0,22 \pm 0,06	164,61 \pm 56,19
<i>C. abies-marina (i)</i>	94,72 \pm 12,04	0,34 \pm 0,01	279,74 \pm 42,99	74,15 \pm 16,11	0,16 \pm 0,02	427,05 \pm 41,46	73,90 \pm 9,14	0,25 \pm 0,03	298,20 \pm 29,90
<i>C. tamariscifolia (s)</i>	85,72 \pm 13,21	0,45 \pm 0,01	188,70 \pm 29,57	46,48 \pm 5,58	0,24 \pm 0,07	226,16 \pm 67,55	58,85 \pm 3,65	0,38 \pm 0,03	127,18 \pm 30,37
<i>C. compressa (s)</i>	73,60 \pm 3,80	0,34 \pm 0,06	231,35 \pm 42,86	59,01 \pm 16,22	0,21 \pm 0,05	269,67 \pm 14,76	18,91 \pm 3,98	0,28 \pm 0,05	68,39 \pm 7,69
<i>C. abies-marina (s)</i>	111,31 \pm 36,41	0,33 \pm 0,02	325,25 \pm 92,47	74,09 \pm 8,70	0,26 \pm 0,04	315,40 \pm 92,19	27,56 \pm 1,81	0,32 \pm 0,01	79,47 \pm 11,06

Contenido en pigmentos fotosintéticos, fenoles, actividad antioxidante y C,N.

El contenido en pigmentos varió entre el inicio de la exposición (12:00h) y final de la recuperación (17:00h) para las distintas especies ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A8). El contenido en Chl *a* mostró un aumento en el periodo de recuperación en especies muestreadas en el intermareal, excepto en *C. abies-marina* (i), donde disminuyó la concentración de dicho pigmento (test *a posteriori*, $p < 0,01$). En las especies muestreadas en el submareal, la Chl *a* disminuyó excepto en el caso de *C. tamariscifolia* (s) que se incrementó, alcanzando valores máximos (Fig. 8A). El contenido en Chl *c* reveló cambios entre las distintas especies, tendiendo a disminuir al final del periodo de recuperación, excepto para *C. compressa* (i), que vio incrementada la concentración de Chl *c* (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 8B). El contenido en carotenos reveló que las especies procedentes del intermareal disminuían sus valores al final del periodo de recuperación, viéndose aumentadas en las especies recolectadas en la zona submareal, excepto en el caso de *C. compressa* (s) donde se observó una disminución. Los valores máximos se registraron en *C. tamariscifolia* (s) (Fig. 8C).

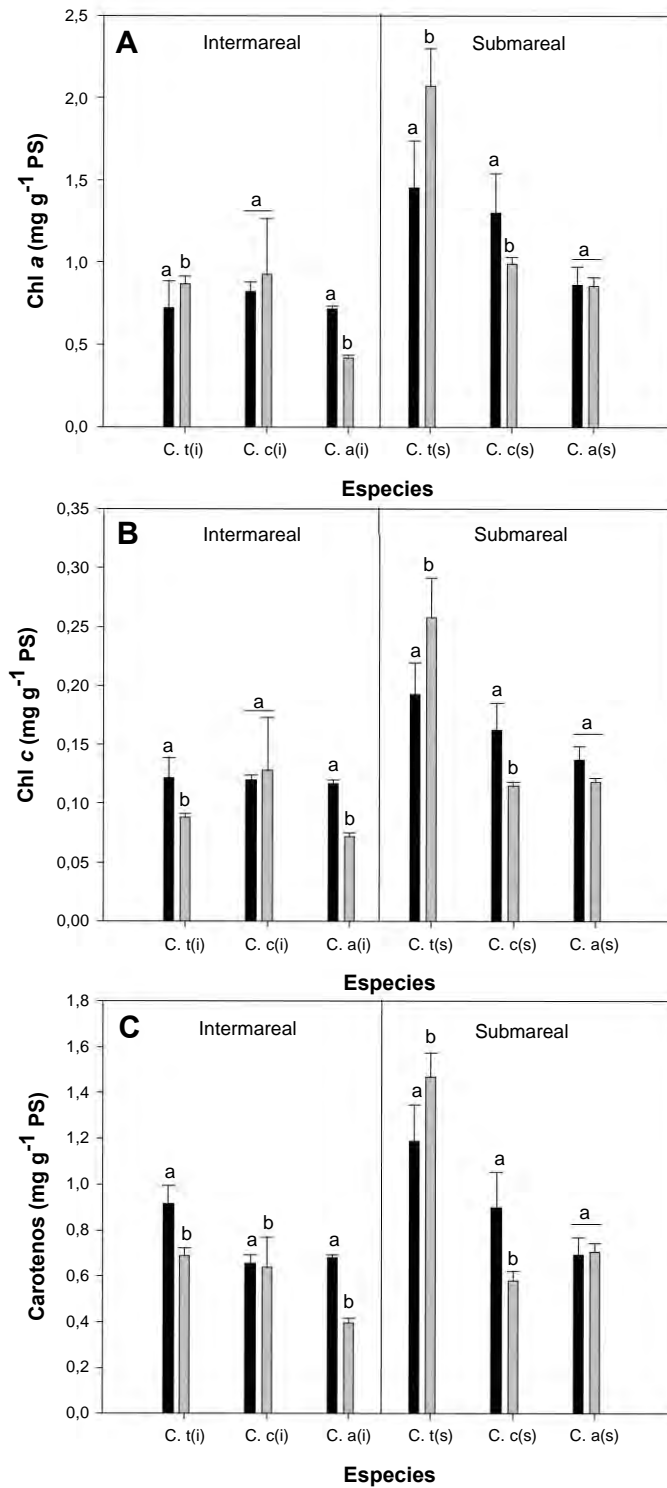


Figura 8. Contenido en clorofila a (A), clorofila c (B) y carotenos (C) a las 12:00 y 17:00h (barra negra y barra gris, respectivamente). Ct= *Cystoseira tamariscifolia*, Cc=*Cystoseira compressa*, Ca=*Cystoseira abies-marina*; i= intermareal, s=submareal. Las letras sobre las barras (a,b) denotan diferencias significativas (test *a posteriori*) entre el inicio de la exposición y final de la recuperación. Media ± error estándar.

El contenido en compuestos fenólicos mostró diferencias entre las distintas especies en los periodos de exposición y recuperación ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A8). Las algas muestreadas en el intermareal presentaron un aumento en el contenido de fenoles al inicio de la exposición y una disminución al final de la recuperación (test *a posteriori*, $p < 0,01$). En cambio para las especies muestreadas en la zona submareal no se observó el mismo patrón. El contenido en fenoles aumentó al final de la recuperación en *C. tamariscifolia* (s) y disminuyó en *C. compressa* (s) y *C. abies-marina* (s) (test *a posteriori*, $p < 0,01$). Los valores más elevados se encontraron en *C. tamariscifolia* (i y s), seguidos de los de *C. abies-marina* (i y s) y mínimos para *C. compressa* (i y s) (Fig. 9A).

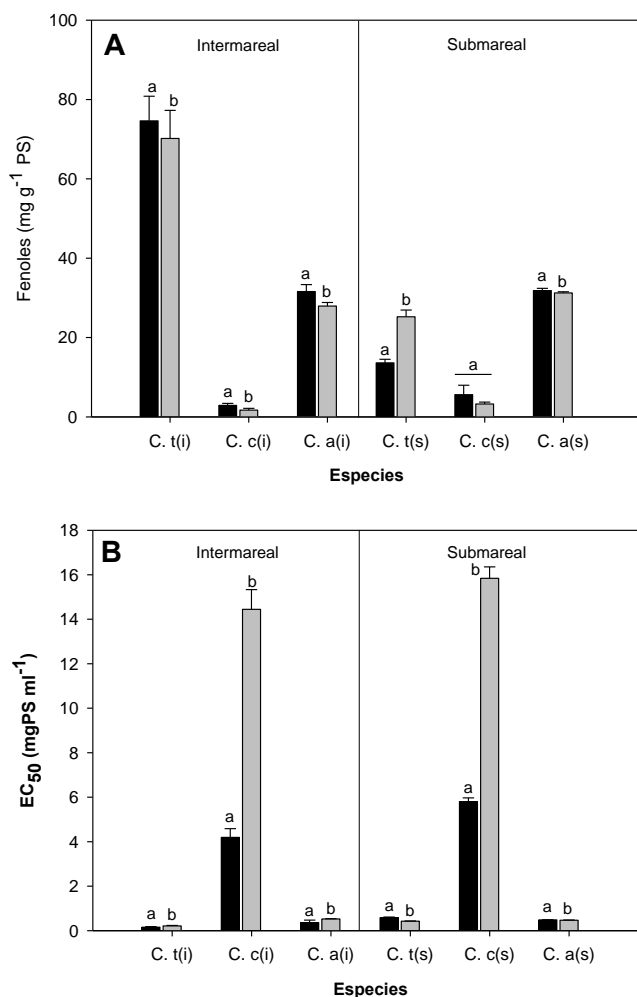


Figura 9. Contenido en fenoles totales (A) y actividad antioxidante en las distintas especies de *Cystoseira* medida a través del EC₅₀ (B) en las especies intermareales y submareales al inicio de la exposición y al final de la recuperación (barra negra y barra gris respectivamente). Ct=*C. tamariscifolia*, Cc=*C. compressa*, Ca=*C. abies-marina*; i= intermareal, s=submareal. Las letras sobre las barras (a, b) denotan diferencias significativas (test *a posteriori*) entre el inicio de la exposición y final de la recuperación. Media ± error estándar.

La capacidad antioxidante reveló diferencias entre las distintas especies en los distintos periodos ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A8) (Fig. 9B). La actividad antioxidante en general fue ligeramente superior al inicio de la exposición (test *a posteriori*, $p < 0,01$). Encontramos alta capacidad antioxidante para todas las especies excepto para *C. compressa* (i y s), donde los altos valores del EC_{50} indican una menor actividad. Se observa para dicha especie que la actividad antioxidante es menor en el periodo de recuperación (Fig. 5B). Se obtuvieron correlaciones positivas, con alta significancia ($p < 0,03$), entre la concentración de fenoles y la actividad antioxidante ($1/EC_{50}$) sólo para ejemplares recolectados en el intermareal; sin embargo, no se encontró correlación alguna para los ejemplares procedentes del submareal (Fig. 10).

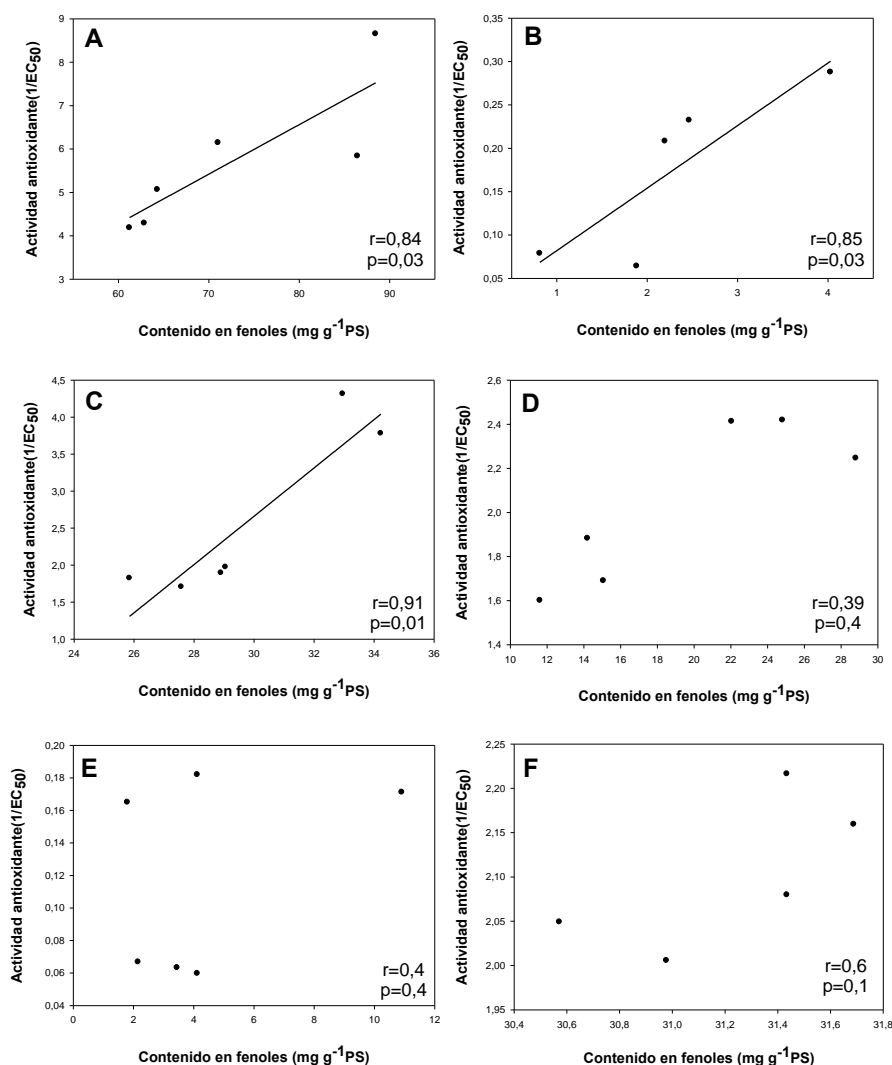


Figura 10. Correlación entre el contenido en fenoles y la actividad antioxidante ($1/EC_{50}$) medido en los extractos de (A) *C. tamariscifolia* (i), (B) *C. compressa* (i), (C) *C. abies-marina* (i), (D) *C. tamariscifolia* (s), (E) *C. compressa* (s) y (F) *C. abies-marina* (s). (i) intermareal, (s) submareal. Correlaciones significativas ($p < 0,03$) se observan en las especies intermareales.

El contenido en C y N varió entre el periodo de exposición y de recuperación para las distintas especies ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A7). Para el contenido de C las diferencias entre el inicio de exposición y final de recuperación fueron mínimas, excepto en *C. abies-marina* (s) (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Figs. 11A,B). La concentración de N mostró diferencias significativas entre el inicio exposición y el final de la recuperación, donde la tendencia general fue a disminuir, excepto en *C. abies-marina* (i y s), donde aumenta al final de la recuperación (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 11B). La relación C:N reveló que, de media, el contenido más alto corresponde a las especies intermareales, mostrando menor contenido en las especies submareales (Fig. 11C).

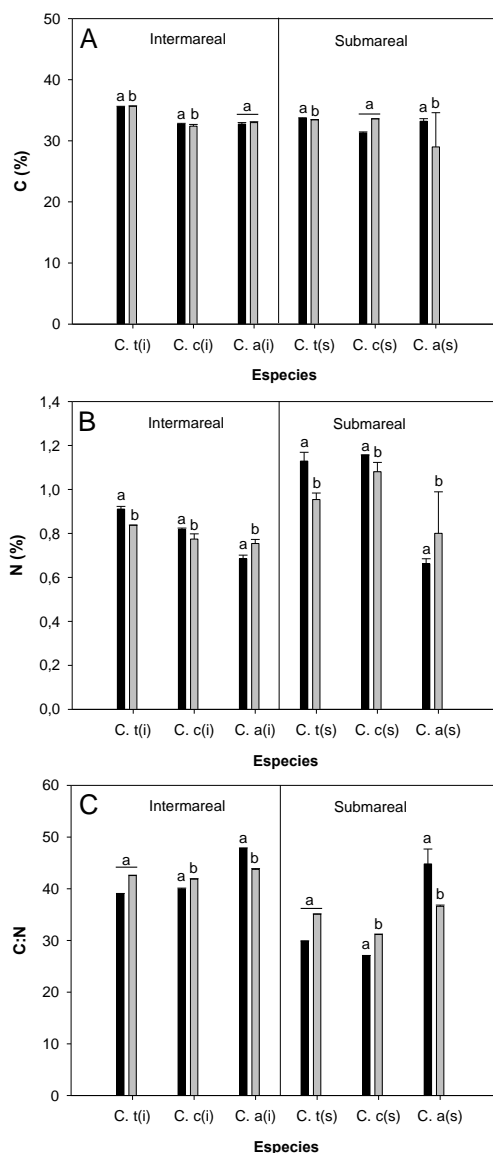


Figura 11. Porcentaje de C (A), N (B) y relación C:N (C) en las especies intermareales y submareales al inicio de la exposición y final de la recuperación (barra negra y gris respectivamente). Ct=*C. tamariscifolia*, Cc=*C. compressa*, Ca=*C. abies-marina*; i= intermareal, s=submareal. Las letras sobre las barras (a, b) denotan diferencias significativas (test *a posteriori*) entre el inicio de la exposición y final de la recuperación. Media \pm error estándar.

Experimento ciclo diario

Parámetros abióticos

La temperatura media en las cubetas de polietileno donde se incubaron las algas a lo largo del ciclo diario fue de 24,7°C. Al inicio del ciclo, la temperatura fue de 23°C, la cual fue aumentando ligeramente a lo largo del día hasta las 16h (hora local), donde se registró un máximo de 28°C, disminuyendo hasta alcanzar los 25°C al final del ciclo diario (19 h) (Fig. 12A).

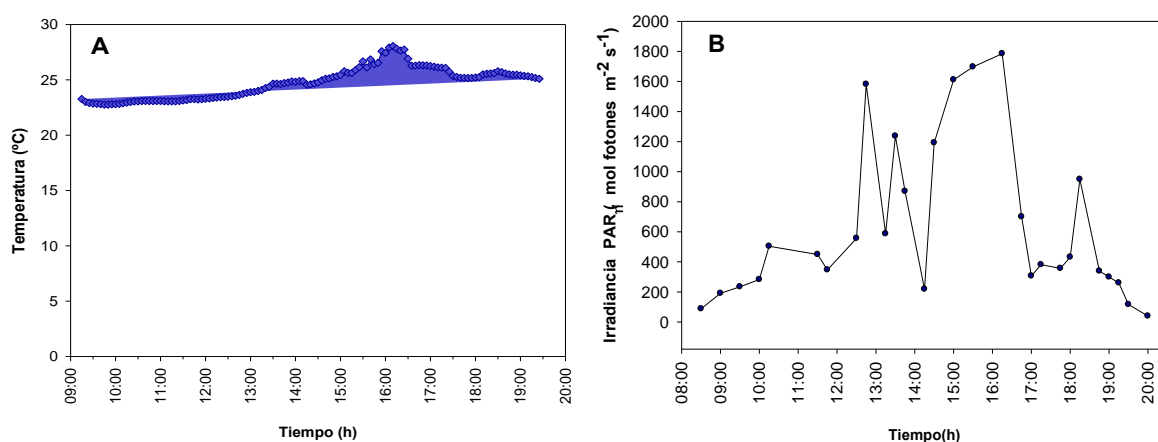


Figura 12. (A) Registro de temperatura (°C) del agua en los contenedores de polietileno en los que se realizaron las incubaciones de las algas. (B) Irradiancia de radiación activa fotosintética (PAR, $\lambda=400-700\text{nm}$) expresada en ($\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a lo largo del día.

La radiación fotosintéticamente activa (PAR) registró grandes fluctuaciones a lo largo del ciclo diario debido a la presencia de nubes intermitentes y chubascos localizados en la mañana y tarde. A lo largo de la mañana, las irradiancias tienden a aumentar manteniéndose por debajo de $600 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A mediodía la irradiancia aumentó, alcanzándose el máximo del día ($1.785 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a las 16h, disminuyendo a lo largo de la tarde con un ligero incremento a las 18:30 (Fig. 12B). La radiación UV registró grandes fluctuaciones en las horas centrales del día. A las 15h se alcanzaron intensidades elevadas, mientras que a las 13 y 14h se registraron menores intensidades de radiación UV, debido a la presencia de nubes (Fig. 13).

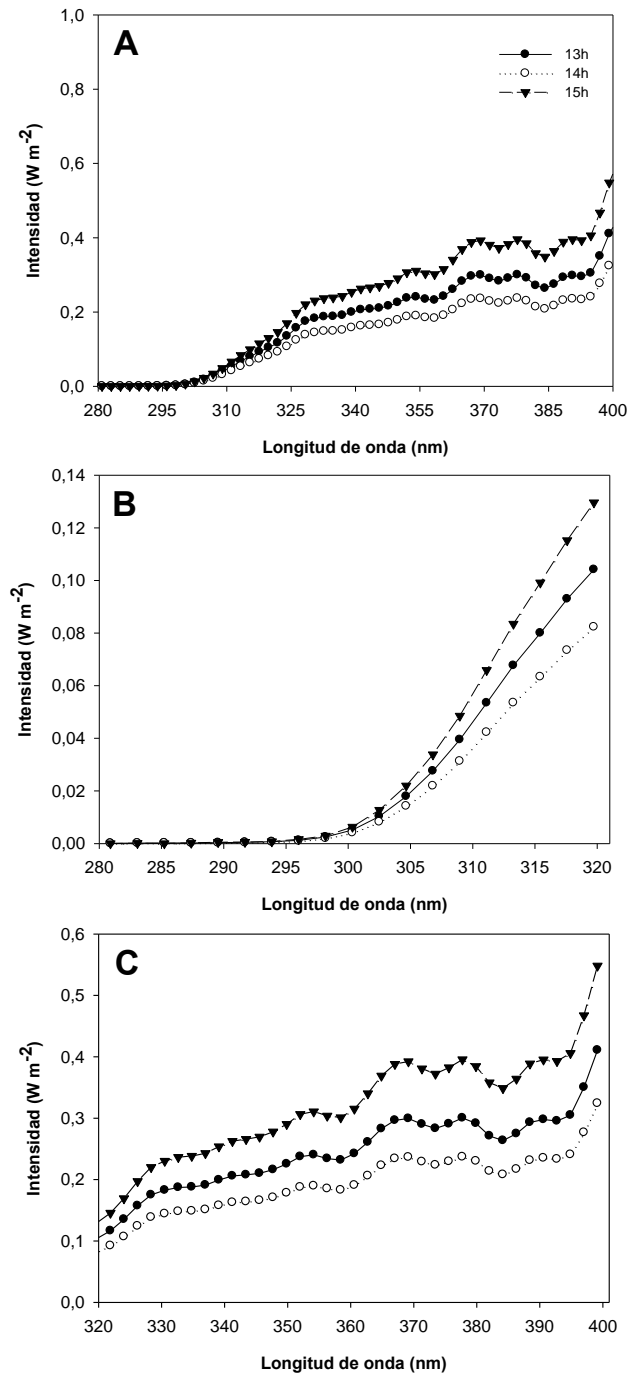


Figura 13. Radiación UV registrada durante el experimento de ciclo diario en las horas centrales del día (13, 14 y 15h). (A) Espectro completo de radiación UV, (B) radiación UV-B (280-320) y (C) radiación UV-A (320-400).

Actividad fotosintética

Tanto el rendimiento óptimo (Fv/Fm) como el rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$) variaron a lo largo del día para las distintas especies ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A9). Se observa para todas las algas una caída en el rendimiento óptimo desde la mañana a las horas centrales del día y buenos porcentajes de recuperación para todas las especies (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 14A). Los valores más bajos de Fv/Fm se registraron en *L. variegata* durante todo el ciclo diario con las mayores caídas en el rendimiento al mediodía (Fig. 14A). Las especies de la zona intermareal presentaron menores porcentajes de disminución del Fv/Fm, observándose altas recuperaciones. Por el contrario, los especímenes del submareal presentaron mayores caídas en el rendimiento óptimo y los porcentajes de recuperación son más bajos que en los especímenes procedentes del intermareal, aunque se obtuvieron buenas recuperaciones, sobre todo en *C. abies-marina* (s) la cual registró una de las recuperaciones más elevadas (Fig. 9A). La variación del ETR, medido a través de la diferencia de los valores de la mañana (9:00h) y la tarde (17:00h) revelaron mayor actividad fotosintética en las algas más someras, cayendo la capacidad fotosintética en las especies recolectadas a más profundidad. La especie que crece en aguas más someras, *C. tamariscifolia* (i) fue la más productiva y *L. variegata*, especie más profunda, la menos productiva (Fig. 14B).

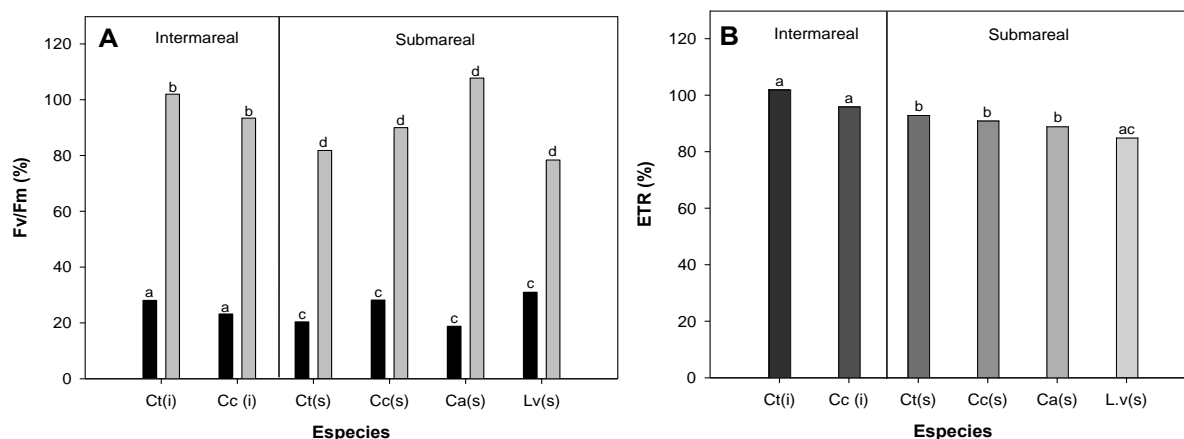


Figura 14. Rendimiento cuántico máximo (A) (Fv/Fm, expresado en % de variación) y capacidad fotosintética (B) (ETR determinado a partir de las medidas de rendimiento cuántico efectivo ($\Delta F/F'm$) e Irradiancia) para las distintas especies durante el ciclo diario. (14A) Barras negras muestra el % de fotoinhibición (variación del Fv/Fm desde la mañana a mediodía) y las barras grises muestran los % de recuperación (variación del Fv/Fm desde la mañana al final del día) a lo largo del ciclo diario. (14B) Incremento de la capacidad fotosintética (variación de $\Delta F/F'm$ desde el inicio al final del día). Ct= *C. tamariscifolia*, Cc=*C. compressa*, Ca=*C. abies-marina*, Lv=*L. variegata*; i= intermareal, s=submareal. Las letras sobre las barras denotan diferencias significativas (test *a posteriori*) entre las distintas especies durante el ciclo diario.

El Y(NO) varió a lo largo del día para las distintas especies ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A9). Al inicio del ciclo, los valores de rendimiento efectivo Y(II) son elevados, y estos valores van en aumento en las especies de la zona intermareal más próximas al área submareal (C. t(i) < C.c(i), test *a posteriori*, $p < 0,01$). En las especies procedentes del submareal disminuye, siendo la caída mayor en las especies recolectadas a más profundidad (C.t(s) > C.c(s) > C.a(s) > L.v(s), test *a posteriori* $p < 0,01$) (Figs. 15A,B). Los valores de Y(NO) disminuyen en las especies provenientes del intermareal y aumenta en especies submareales. En las horas centrales del día (13h), el patrón cambia con respecto al inicio del ciclo, se produce un aumento del Y(NO) en todas las especies, con valores más altos en especies de la zona intermareal (Fig. 15C). Hasta el final del ciclo (19h), los valores de Y(NO) se van reduciendo y el Y(II) aumenta, con un patrón similar al del inicio del día (Figs. 15D,E,F).

El Y(NPQ) varió a lo largo del ciclo para las distintas especies ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A9). Se observa que al inicio del ciclo que los valores de Y(NPQ) son muy pequeños, encontrando en *C. compressa* (s) el valor más elevado (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 15A). Conforme progresa el día (11h) observamos que los valores van aumentando en la mayoría de especies y en las horas centrales del día (13h) son las especies recolectadas a más profundidad, *C. abies-marina* y *L. variegata* las que muestran los valores más altos (Figs. 15B,C) (test *a posteriori*, $p < 0,01$). Al final del ciclo diario (19h) los valores de Y(NPQ) registran un incremento en todas las especies (Fig. 15D,E,F) (test *a posteriori*, $p < 0,01$).

Los parámetros del ETR no variaron a lo largo del día entre las distintas especies ('Es x Ho', $p > 0,05$) (Tabla A10). Sólo se encontraron diferencias significativas a nivel de efectos principales ('Ho', $p < 0,01$, tabla A10) mostrando así que las diferencias entre las horas de medida fueron independientes de las especies (test *a posteriori* $p < 0,01$). El ETR_{max} mostró una tendencia a aumentar desde el inicio del ciclo al final del día, excepto para las algas de la zona submareal *C. compressa* y *C. abies-marina*, donde disminuyó ligeramente. La eficiencia fotosintética (α_{ETR}) reveló que las algas al final del ciclo habían disminuido su eficiencia, excepto para *C. tamariscifolia* (i) que se vio incrementada al final del día. La irradiancia de saturación (Ek) mostró diferencias entre algas de la zona intermareal y submareal. Observamos un aumento del Ek en los especímenes procedentes del intermareal al final del ciclo diario, revelando que estas macroalgas se saturan antes que los especímenes que proceden del submareal. Las algas submareales *C. tamariscifolia* y *C. compressa* tiende a disminuir la irradiancia de saturación al final del día, mientras que la tendencia de *C. abies marina* y *L. variegata* es de aumentar al final del ciclo diario (Tabla II).

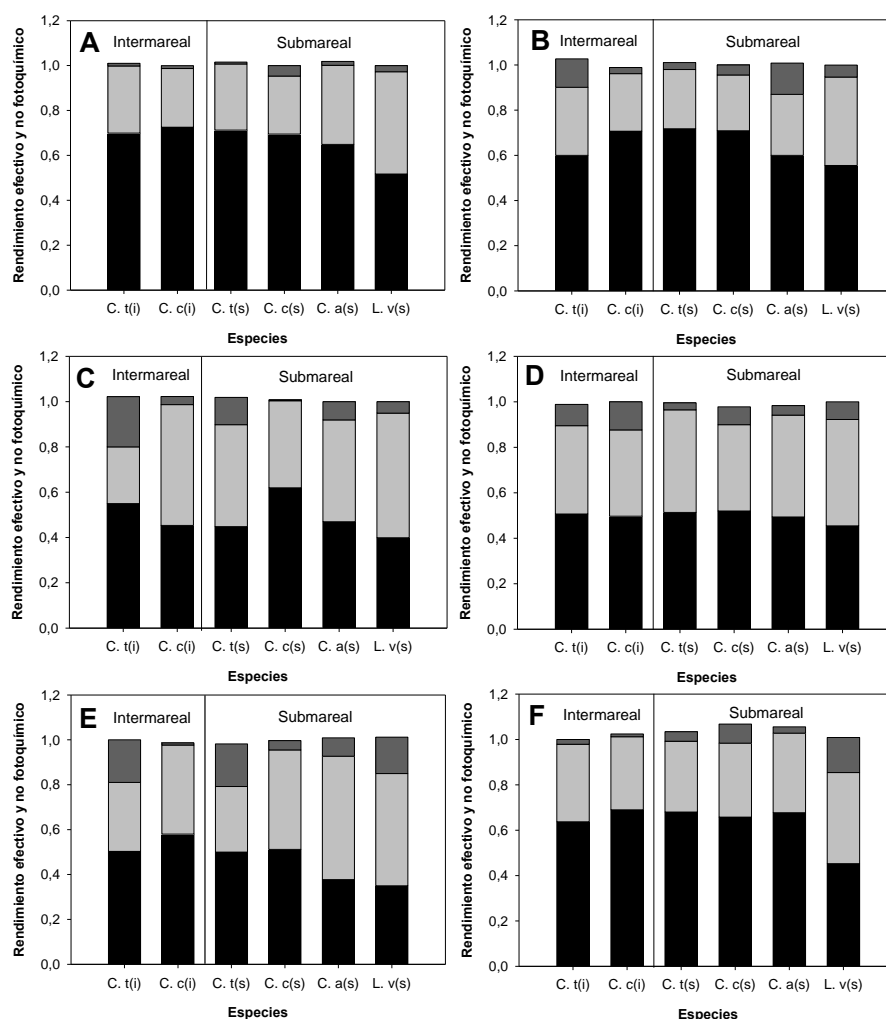


Figura 15. Rendimientos efectivos y no fotoquímicos a lo largo del ciclo diario. Barra negra representa el rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$), barras gris claro representa Y(NO) y barras gris oscuro el Y(NPQ). (A)=9:00h, (B)=11:00h, (C)= 13:00h, (D)=15:00h, (E)=17:00h, (F)=19:00h. Ct=*C. tamariscifolia*, Cc=*C. compressa*, Ca=*C. abies-marina*, Lv=*L. variegata*; i= intermareal, s=submareal.

Tabla II. Parámetros obtenidos de las curvas ETR vs Irradiancia. Se presentan los valores al inicio del ciclo (9:00h) y al final del ciclo (17:00h) para cada una de las especies de estudio. Media \pm error estándar.

	9h			17h		
	ETRmax	α	Ek	ETRmax	α	Ek
<i>C. tamariscifolia (i)</i>	36,46 \pm 2,67	0,44 \pm 0,03	83,08 \pm 1,04	45,81 \pm 9,96	0,49 \pm 0,03	94,17 \pm 23,21
<i>C. compressa (i)</i>	91,68 \pm 14,99	0,40 \pm 0,02	232,32 \pm 48,50	106,46 \pm 4,33	0,37 \pm 0,02	283,92 \pm 2,14
<i>C. tamariscifolia (s)</i>	61,64 \pm 7,15	0,46 \pm 0,04	132,79 \pm 4,34	61,64 \pm 7,15	0,36 \pm 0,09	124,92 \pm 26,88
<i>C. compressa (s)</i>	133,74 \pm 6,45	0,47 \pm 0,04	293,40 \pm 42,44	105,44 \pm 17,53	0,39 \pm 0,00	267,83 \pm 45,35
<i>C. abies-marina (s)</i>	31,52 \pm 3,86	0,40 \pm 0,01	79,81 \pm 10,85	29,87 \pm 7,34	0,30 \pm 0,05	96,14 \pm 10,71
<i>L. variegata (s)</i>	52,71 \pm 4,96	0,28 \pm 0,00	190,96 \pm 20,28	60,76 \pm 2,33	0,18 \pm 0,01	338,69 \pm 9,10

Contenido en pigmentos fotosintéticos, fenoles, actividad antioxidante y C,N.

El contenido en pigmentos varió a lo largo del ciclo diario para las distintas especies ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A11). Tanto el contenido en Chl *a*, Chl *c* como el contenido en carotenos mostraron el mismo patrón en cada especie (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 16). Se observan para *C. tamariscifolia* (i y s) y *C. abies-marina* valores altos al inicio y final del ciclo diario, con valores mínimos en las horas centrales del día. En cambio, la concentración pigmentaria en *C. compressa* (i y s) y *L. variegata* fue más alta por la mañana, tendiendo a disminuir a lo largo del ciclo diario. Las concentraciones pigmentarias más elevadas se observan en *C. tamariscifolia* (s), junto con *L. variegata* en la que se observó niveles altos de Chl *c*.

El contenido en fenoles totales también mostró variación a lo largo del día en las distintas especies ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A11). Observamos en la especie más somera, *C. tamariscifolia* (i), registra los mayores contenido en fenoles, mostrando altos valores al inicio del ciclo, a mediodía (13h) y al final del día (19h) (test *a posteriori*, $p < 0,01$). Sin embargo, en los especímenes de *C. tamariscifolia* (s) se produjo un aumento del contenido de fenoles a lo largo del día. *C. compressa* (i) muestra un incremento en el contenido en fenoles a lo largo del día hasta las 17:00, disminuyendo al final del ciclo (19:00). *C. compressa* (s), presenta concentraciones muy bajas de fenoles ($< 5 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$) excepto a las 15:00 que alcanza valores próximos a $10 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$. Para el resto de especies provenientes del sistema submareal (*C. abies-marina* y *L. variegata*) la tendencia fue a aumentar a lo largo del ciclo diario (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 17A).

La actividad antioxidante mostró variaciones a lo largo del día para las distintas algas ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A11). Los resultados revelaron alta capacidad antioxidante para *C. tamariscifolia* (i y s), *C. abies-marina* y *L. variegata* (test *a posteriori*, $p < 0,01$). Para *C. compressa* (i y s) se observa menor capacidad antioxidante, con mayores valores de EC_{50} al inicio del día y disminuyendo a lo largo del ciclo, aumentando así la actividad antioxidante a lo largo del día (Fig. 17B). Los datos nos revelan que *C. compressa* (s) presenta los valores más altos de EC_{50} y, por lo tanto, menor actividad antioxidante. La concentración de fenoles y la actividad antioxidante ($1/EC_{50}$) mostraron correlaciones positivas para todas las especies en estudio, excepto para *C. compressa* (s). El índice de correlación de Pearson muestra altas significancia ($p < 0,001$) (Fig. 18).

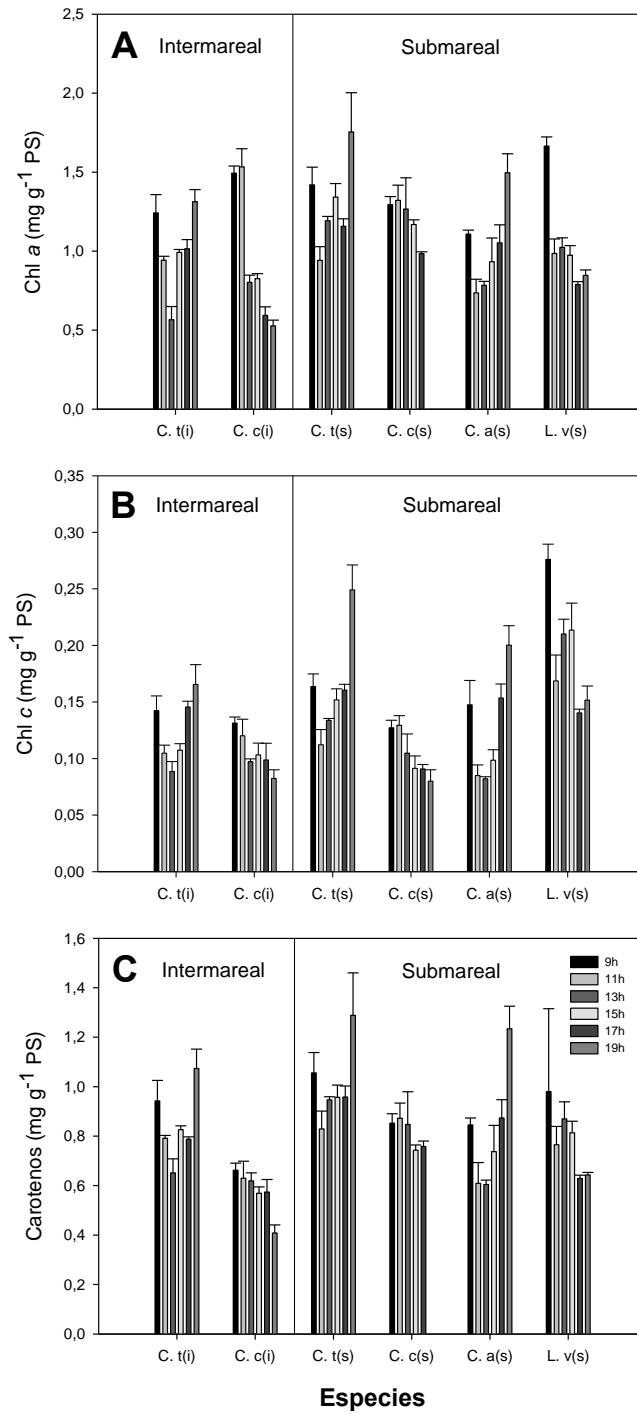


Figura 16. Contenido en clorofila a (A), clorofila c (B) y carotenos (C) a lo largo del día (9:00h-19:00h). Ct=*C. tamariscifolia*, Cc=*C. compressa*, Ca=*C. abies-marina*, Lv=*L. variegata*; i= intermareal, s=submareal. Media ± error estándar.

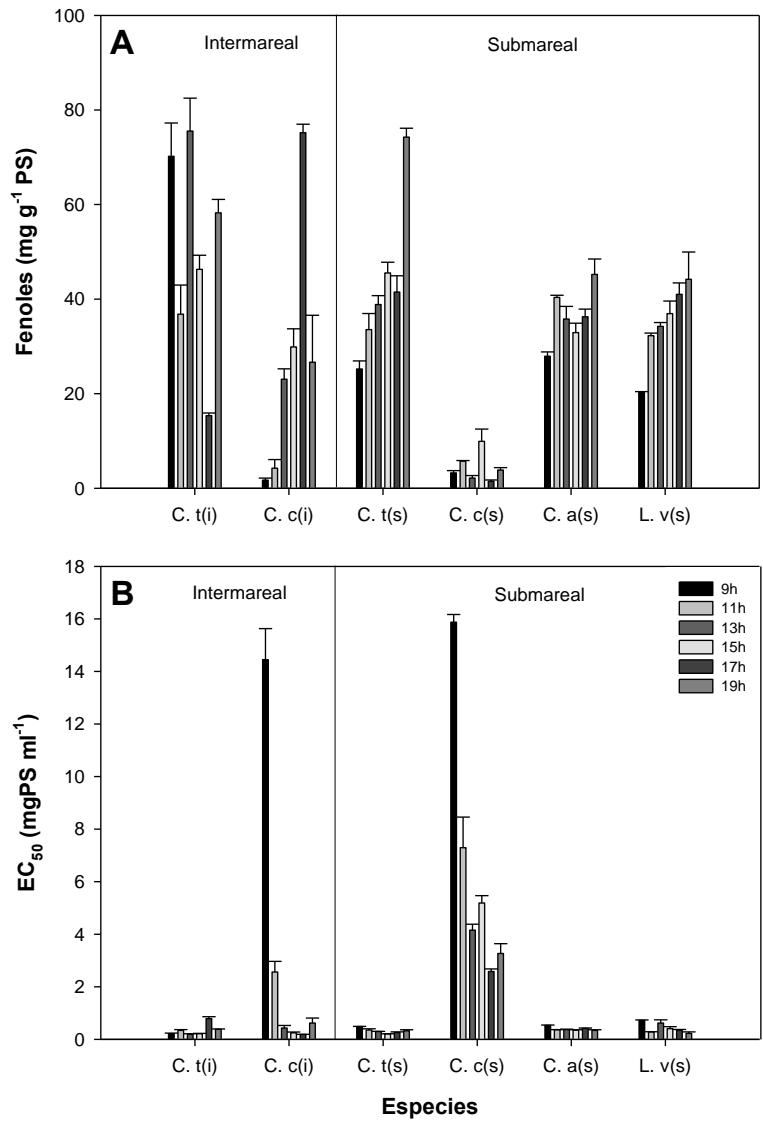


Figura 17. Contenido en fenoles totales (A) en $\text{mg g}^{-1} \text{PS}$ y actividad antioxidante medida a través del EC_{50} (B) en las especies intermareales y submareales a lo largo del ciclo diario. Ct=*C. tamariscifolia*, Cc=*C. compressa*, Ca=*C. abies-marina*, Lv= *L. variegata*; i= intermareal, s=submareal. Media \pm error estándar.

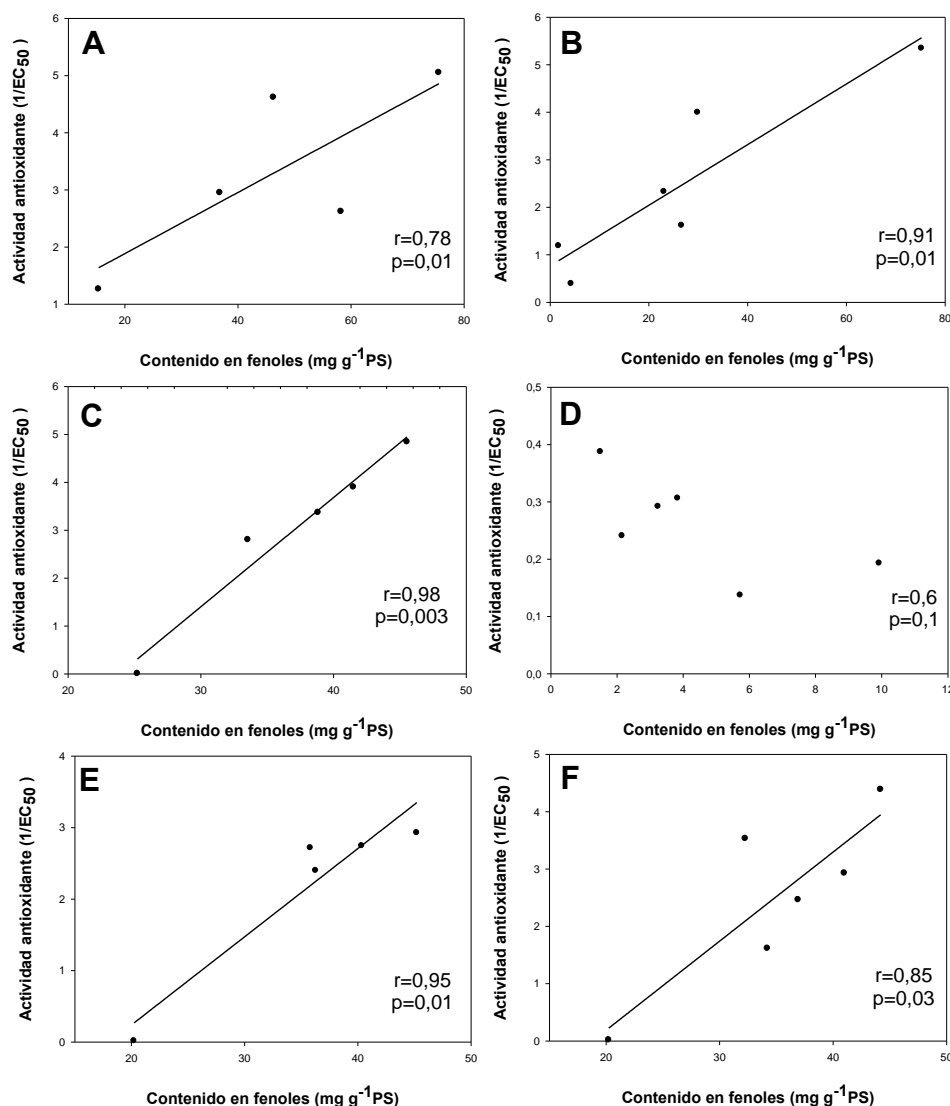


Figura 18. Correlación entre el contenido en fenoles y la actividad antioxidante (1/EC50) medido en los extractos de (A) *C. tamariscifolia* (i), (B) *C. compressa* (i), (C) *C. tamariscifolia* (s), (D) *C. compressa* (s), (E) *C. abies-marina* (s) y (F) *L. variegata* (s). (i) intermareal, (s) submareal. Correlaciones significativas ($p < 0,03$) se observan en todas las especies, excepto en (D).

El contenido de C y N fluctuó en las distintas horas del día en cada una de las especies ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A10). Los valores más elevados de carbono total interno se alcanzaron en *C. tamariscifolia* (i y s) y en *L. variegata* (s) (Fig. 19A). El contenido total de N interno fue mayor en *C. tamariscifolia* (i y S) en las horas iniciales y finales del días y en *C. compressa* (s) en horas iniciales y centrales del día (Fig. 19B). *L. variegata* presentó valores más elevados de C y N al inicio del ciclo disminuyendo posteriormente a lo largo del día. La relación C:N reveló que, de media, el contenido más alto corresponde a *C. tamariscifolia* (i)(Fig. 19C). También fue mayor en las especies procedentes de la zona intermareal que las recolectadas en el submareal

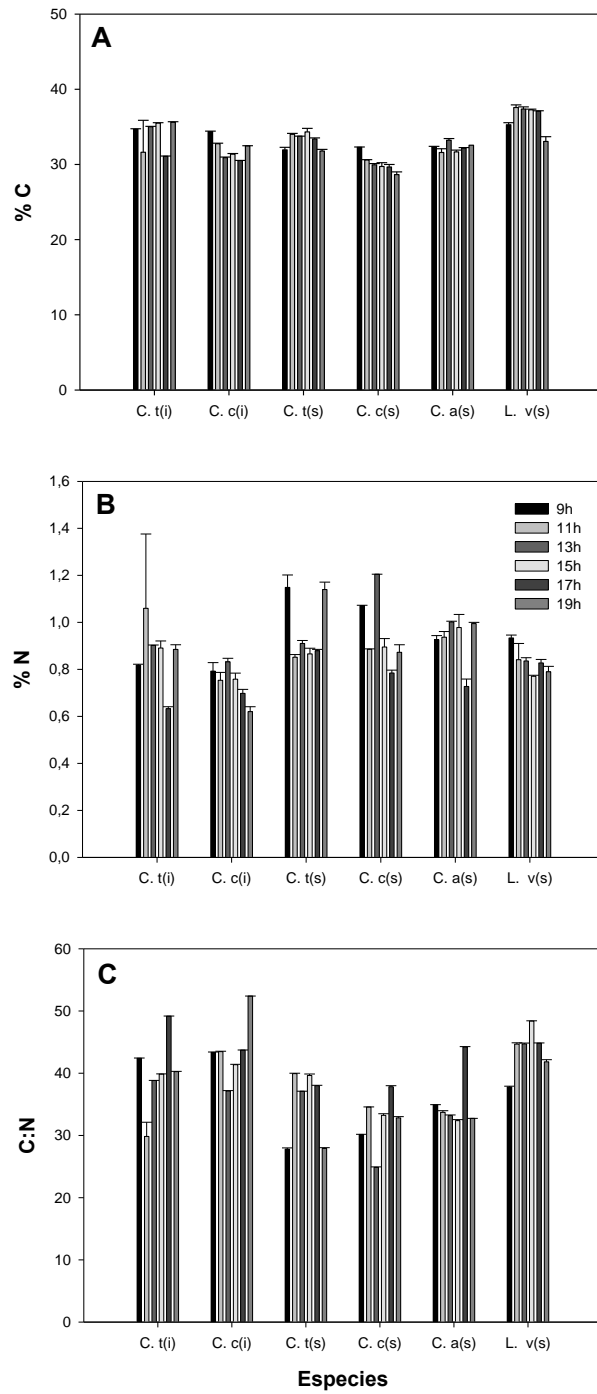


Figura 19. Porcentaje de carbono (A), nitrógeno (B) y relación carbono-nitrógeno (C) en las distintas especies intermareales y submareales a lo largo del día. Ct= *Cystoseira tamariscifolia*, Cc=*Cystoseira compressa*, Ca=*Cystoseira abies-marina*, Lv= *Lobophora variegata*; i= intermareal, s=submareal. Media ± error estándar.

Discusión

La zonación eulitoral refleja los distintos patrones verticales de la distribución de organismos (Kim *et al.* 2008). Las especies de macroalgas intermareales y submareales someras, las cuales están expuestas a alta irradiación solar, tienen un gran potencial de aclimatación a la radiación solar y UV a corto y medio plazo (Figueroa *et al.* 1997, Flores-Moya *et al.* 1998, Altamirano *et al.* 2000 a,b). En general, las especies que crecen en la zona superior del intermareal poseen mecanismos de resistencia al estrés por radiación más activos que las macroalgas que crecen en niveles inferiores (Pérez-Rodríguez *et al.* 2001, Connan *et al.* 2004; Han & Han, 2005; Abdala *et al.* 2006). Estos mecanismos se centran en la acumulación de polifenoles, los cuales son metabolitos fotoprotectores con capacidad filtradora y capacidad antioxidante (Connan *et al.* 2004).

La alta irradiación y la transparencia de las aguas de Canarias (Häder *et al.* 2001, Piazena *et al.* 2002) sugieren que las macroalgas deben poseer mecanismos de fotoprotección para tolerar el estrés por radiación que especies de otras regiones biogeográficas con menor irradiación diaria integrada (Lüning, 1990; Figueroa *et al.* 2009a). La fotoinhibición es propuesta como estrategia adaptativa a altas irradiaciones (Hanelt 1998). Diversos estudios muestran los efectos de la radiación natural UV sobre el rendimiento fotosintético de las macroalgas en ambientes con altas exposiciones ambientales y revelan que la fotoinhibición bajo alta radiación solar depende básicamente de los cambios diarios en los niveles de irradiación, la posición del alga en la costa, la atenuación vertical de la luz, o la combinación de estos factores (Figueroa *et al.* 1997, Flores-Moya *et al.* 1998, Figueroa *et al.* 2009a).

El rendimiento máximo fotosintético y el ETR de las algas recolectadas en Lanzarote han revelado que decrecen debido a la combinación de la radiación PAR y UV y a su distribución vertical en la costa. En el presente estudio, la fotoinhibición en las distintas especies fue mayor en las algas submareales recolectadas a 4 m de profundidad que en especies intermareales, revelando un efecto negativo al incremento de la radiación solar sobre las algas aclimatadas a ambientes lumínicos de menor irradiación que las intermareales. Los porcentajes de fotoinhibición variaron entre el 28 y el 52% en las especies submareales. En cambio, las algas intermareales registraron una reducción de entre el 9 y 38%, revelando así una mejor aclimatación de las algas someras a altas irradiaciones. Häder *et al.* (2001), en un estudio en las costas canarias, registró para *C. abies-marina* en el intermareal un porcentaje de fotoinhibición del 15% desde la mañana a mediodía, recuperándose por la tarde. Esto concuerda con los niveles de fotoinhibición encontrados en nuestro estudio para esa especie,

donde la especie registró una disminución del Fv/Fm del 9% en el intermareal y un 18-28% en el submareal. Observamos diferencias en la fotoinhibición de las distintas especies en ambos experimentos, revelando que durante el ciclo diario los niveles de fotoinhibición fueron menores que los observados durante el experimento de exposición-recuperación. Los cambios del Fv/Fm dependen, entre otros, de los cambios diarios de la irradiancia (Figuroa *et al.* 1997). Durante el ciclo diario, hubo mucha presencia de nubes, lo que ocasionó cambios drásticos en la irradiancia durante el día. Gao & Umezaki (1989) revelaron en su estudio con el alga parda *Sargassum thunbergii* que la actividad fotosintética no disminuía en días lluviosos o muy nublados. En nuestro estudio, los menores niveles de fotoinhibición registrados durante el ciclo diario parecen estar influenciadas por la fluctuación de la irradiancia durante el periodo experimental.

El porcentaje de fotoinhibición (medido a través del % disminución del Fv/Fm desde la mañana a mediodía) (Figuroa *et al.* 2002,2009a) aumentó con el incremento de la radiación PAR y UV en ambos experimentos en todas las especies analizadas. Las especies que están aclimatadas a dosis más bajas de radiación muestran caídas drásticas en la actividad fotosintética cuando son expuestas a condiciones de radiación más altas o extremas (Häder *et al.* 1996). La habilidad de mostrar fotoinhibición dinámica durante la exposición a condiciones de luz elevadas, además de la aclimatación general de la fotosíntesis bajo distintos regímenes de luz, puede influenciar la distribución vertical de las macroalgas (Lüning, 1990; Hanelt, 1996; Bischof *et al.* 1998, Hanelt *et al.* 2006). En nuestro estudio, los menores niveles de fotoinhibición y mayores porcentajes de recuperación que mostraron las especies intermareales revelan una mejor aclimatación a altas irradiancias, observándose en las especies más profundas menores porcentajes de recuperación. Esto nos muestra que existe un patrón de zonación restringido fisiológicamente, donde las especies intermareales están mejor aclimatadas a exposiciones a altas irradiancias que las especies submareales. Figuroa *et al.* (2009a) concluyó que la aclimatación parece estar correlacionada con la zonación en profundidad de las especies, sugiriendo que las algas recolectadas en superficie exhiben mecanismos de fotoprotección más eficientes. La variación del ETR (medido a través de la variación del rendimiento efectivo) vuelve a revelar un patrón de distribución vertical, donde las especies más someras son más productivas que las especies más profundas al ser expuestas al incremento de radiación solar. Los valores de ETRmax revelan mayor actividad fotosintética en algas intermareales después de ser expuestas a altas irradiancias (al mediodía). En cambio, las algas submareales mostraron mayor actividad por la mañana, por lo que la exposición a la radiación solar disminuyó ligeramente la actividad fotosintética de las algas submareales. La

eficiencia fotosintética disminuyó en todas las algas a lo largo del día, excepto para los especímenes de *C. tamariscifolia* somera, la especie que ocupa el lugar elevado en la zona intermareal. Estos especímenes mostraron un aumento de la eficiencia después de la exposición solar, revelando mejores mecanismos adaptativos. En cambio, el aumento de irradiancia de saturación en la especie más profunda (*L. variegata*), puso de relieve la peor aclimatación a la exposición solar de esta especie más esciáfila. Así, la fotoinhibición dinámica parece estar activa en las especies analizadas, siendo consistente con lo descrito en otras algas sometidas a altas exposiciones (ej. Gao, 1990; Hanelt, 1992; Figueroa *et al.* 1997, Henley *et al.* 2001; Xu & Gao, 2007; Figueroa *et al.* 2009a).

Una vez los macrófitos absorben luz, tienden a liberar el exceso de energía a través de mecanismos no fotoquímicos que relajan el estado de excitación de la clorofila y, sin causar daños, disipan el exceso de energía en forma de calor (Müller *et al.* 2001). En este contexto, complementario al cálculo del rendimiento de la fotosíntesis mediante fluorescencia, ha sido propuesto recientemente el análisis de estos mecanismos no fotoquímicos (Klughammer & Schreiber, 2008). En nuestro estudio, nuevamente encontramos diferencias entre especies de los medio inter- y submareal en términos del Y(NO) y Y(NPQ). En general, en las horas centrales del día, los valores de Y(NO) aumentan en todas las especies, aunque en mayor medida en especies submareales, a costa de caídas en Y(NPQ). Esto puede explicar el daño o la no activación del amortiguamiento no fotoquímico, particularmente debido al ciclo Ascorbasa-Peroxidasa (Asada, 1999), el cual es responsable de la generación del gradiente de pH transtilacoidal después de la inactivación del flujo de electrones. Durante el periodo de recuperación, los valores de Y(NO) disminuyen al aumentar los valores del rendimiento efectivo (Yield (II)) y de Y(NPQ), este último sobretodo en especies intermareales, indicando la actividad de mecanismos fotoprotectores después de la exposición a irradiancias elevadas. Estos mecanismos están altamente relacionados con el ciclo de las xantofilas (Demming-Adams & Adams, 1996).

Rietchert & Damer (1986) han demostrado que las macroalgas pueden ajustar sus niveles de pigmentos permitiendo a los organismos usar la disponibilidad de luz más eficientemente. Las distintas respuestas fotosintéticas al incremento de la irradiancia o a la presencia de radiación UV pueden estar relacionadas con propiedades bio-ópticas de las algas. La concentración de pigmentos y la composición y grosor del talo son factores que contribuyen a la aclimatación del alga en ambientes acuáticos (Enríquez *et al.* 1995). La morfología, el grosor y la pigmentación determinan fuertemente la capacidad de captación de luz (Raven & Kübler, 2002). En nuestro estudio, la media del contenido en pigmentos fue superior en

especies submareales que en especies intermareales, revelando la adaptación a nivel pigmentario de las algas con la profundidad, lo que coincide con lo encontrado en *Laminaria saccharina*, donde la concentración de pigmentos aumenta con la profundidad (Borum *et al.* 2002). A lo largo del ciclo diario, durante la exposición a máximas irradiancias, el contenido en pigmentos se reduce en horas de mediodía, indicando un ajuste a corto plazo en el contenido en pigmentos debido a irradiancias elevadas, y mostrando así la eficiencia de los mecanismos de adaptación de las especies de estudio.

Al analizar el contenido en carbono de las macroalgas estudiadas, vemos que éste varió ligeramente entre especies intermareales y submareales, observándose un ligero aumento en las especies más profundas. Después de los periodos de exposición no se encontraron diferencias entre el contenido en carbono. El contenido en nitrógeno en especies intermareales fue similar. En contraste, a lo largo del ciclo diario se observa una disminución con las especies más profundas. Los ratios C:N muestran mayores valores en las especies intermareales que en las especies submareales lo que indica un mayor peso del metabolismo del carbono (mayor asimilación respecto a la asimilación de N comparado con algas submareales). De acuerdo a la estequiometría, las algas submareales tienen un mejor contenido nutricional por una acumulación de N mayor como se ha observado en otras especies (Duarte, 1992; Matanjun *et al.* 2009). Martínez & Rico (2008) observaron que la macroalga roja *Palmaria palmata* crecida en aguas superficiales y por lo tanto aclimatada a alta irradiancia solar presenta niveles más alto de C y menor de N que las algas que crecen a más profundidad (aclimatadas a sombra).

En las especies intermareales, junto con la fotoinhibición dinámica, la fotoprotección representa una eficiente adaptación fisiológica para tolerar irradiancias dañinas cuando la marea baja coincide con horas de mediodía (Abdala *et al.* 2006). Los florotaninos son polímeros halogenados de floroglucinol que se acumulan frecuentemente en grandes cantidades en algas pardas (Ragan & Glombitza, 1986). Los florotaninos tienen la función de reducir la acción de los herbívoros por bajada en la palatabilidad del talo, prevenir infecciones bacterianas y proteger al alga de radiación UV y la elevada radiación PAR. Abdala *et al.* (2006) sugiere que el incremento de compuestos fenólicos sirve como mecanismo de fotoprotección en ecosistemas con irradiancias elevadas, similar al proceso de fotoinhibición dinámica, y que estos actúan absorbiendo los fotones incidentes o indirectamente como resultado de la capacidad antioxidante. Las variaciones diarias en el contenido en fenoles han sido reportadas por diversos autores. Pavía & Brock (2000) encontraron que el contenido en fenoles de *Ascophyllum nodosum* está regulado por patrones de marea, incrementándose durante la

marea baja. También se ha correlacionado con el aumento de la temperatura del aire en *Pelvetia canaliculata* y *Ascophyllum nodosum* (Connan *et al.* 2007).

Las variaciones diarias en el contenido en fenoles se han observado en laminariales como *Macrocystis integrifolia* con el incremento de la luz solar o la radiación UV artificial (Swanson & Druehl, 2002). En *Cystoseira tamariscifolia*, Abdala *et al.* (2006) observó variaciones significativas diarias donde el contenido de fenoles disminuía alrededor de un 50% por la mañana, seguido de un pico a mediodía para terminar al final del día con niveles altos. Este estudio sugiere la relación entre la fotoregulación por la producción de fenoles y la acumulación de radiación durante la exposición. Abdala-Díaz (2001) observó que la evolución diaria del contenido en fenoles de *C. tamariscifolia* estaba relacionado con los cambios en la actividad de las fenolsulfatasas proponiendo un papel en la excreción de fenoles: bajo condiciones de estrés de radiación solar durante el verano, los fenoles son desulfatados y excretados como moléculas libres en la pared celular mientras que la falta de condiciones estresantes estas enzimas están implicadas en la sulfatación de los compuestos fenólicos. En nuestro estudio, los mayores niveles de fenoles registrados en las especies más someras o intermareales hacen sugerir nuevamente un patrón de distribución vertical, donde las especies más profundas presentan niveles inferiores en el contenido en fenoles y la activación de los mecanismos fotoprotectores no se produce al menos en experimentos a corto plazo. Así, las mayores caídas de Fv/Fm (mayor fotoinhibición) en las especies submareales se relacionan con menor capacidad antioxidante de estas algas respecto a las del intermareal. La especie que ocupa el lugar más alto en el intermareal, *C. tamariscifolia* (i) registra los mayores valores de contenido en fenoles, lo que concuerda con lo observado por otros autores, los cuales también mostraron altos contenidos de fenoles para esta especie (Abdala *et al.* 2006, Zubia *et al.* 2009). En general, todas las especies estudiadas presentan alto contenido en fenoles y la correlación positiva con la actividad antioxidante hace ver que estos compuestos actúan como mecanismos de fotoprotección (Zubia *et al.* 2009). Esta correlación ha sido reportada para *Ascophyllum nodosum* y *Sargasum muticum* (Connan *et al.* 2006), *Pelvetia canaliculata* y *Bifurcaria bifurcata* (Connan *et al.* 2007, Zubia *et al.* 2009) y *Cystoseira tamariscifolia*, *Fucus ceranoides* y *Halidrys siliquosa* (Zubia *et al.* 2009). La baja actividad antioxidante de *C. compressa* i y s, y la no correlación de la especie más profunda con el contenido en fenoles hacen pensar que *C. compressa* sea más vulnerable entre las distintas especies de *Cystoseira*, habiéndose producido daño en la síntesis de compuestos fotoprotectores o habiendo aumentado la exudación de compuestos fenólicos (Abdala-Díaz *et al.* 2001, Connan *et al.* 2007). Esto, unido a la alta fotoinhibición encontrada para esta especie, la cual mostró la

mayor fotoinhibición de las especies intermareales y una de las más altas en las especies submareales, apoyan el daño producido por la exposición a elevadas radiaciones solares.

Tanto los valores de fotosíntesis, como de pigmentos, compuestos fenólicos y actividad antioxidante revelan una zonación vertical para las distintas especies del género *Cystoseira* que habitan en el intermareal rocoso de Canarias. Este estudio revela los mecanismos de aclimatación de las especies intermareales, y explica su localización en el sistema costero, donde las especies con mecanismos más activos, y por lo tanto mejor aclimatadas, se sitúan en la zona más elevada del intermareal. Las algas profundas, como *C. compressa* y *L. variegata* revelaron mecanismos menos activos al ser expuestas a altas dosis de radiación solar en experimentos a corto plazo, donde las mayores niveles de fotoinhibición mostraron peor aclimatación de estas especies.

Bibliografía

- Abdala-Díaz RT (2001). Fotocontrol de la acumulación de compuestos fenólicos en algas pardas. Tesis doctoral, Universidad de Málaga (Spain)
- Abdala-Díaz RT, Cabello-Pasini A, Pérez-Rodríguez E, Conde-Álvarez RM, Figueroa FL (2006). Daily and seasonal variations of optimum quantum yield and phenolic compounds in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyta). *Marine Biology* 148:459-465 doi 10.1007/s00227-005-0102-6
- Altamirano M, Flores-Moya A, Figueroa F (2000a). Long-term effects of natural sunlight under various ultraviolet radiation conditions on growth and photosynthesis of intertidal *Ulva rigida* (Chlorophyceae) cultivated *in situ*. *Botanica Marina* 43:119-126
- Altamirano M, Flores-Moya A, Conde F, Figueroa F (2000b). Growth seasonality, photosynthetic pigments, and carbon and nitrogen content in relation to environmental factors: a field study of *Ulva olivascens* (Ulvales, Chlorophyta). *Phycologia* 39:50-58
- Arnold T, Tanner C, Hatch W (1995). Phenotypic variation in polyphenolic content of the tropical brown alga *Lobophora variegata* as a function of nitrogen availability. *Marine Ecology Progress Series* 123:177-183
- Asada K (1999). The water e water cycle in chloroplasts, scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50:601-639
- Ballesteros E, Perez M, Zabala M (1984). Aproximación al conocimiento de las comunidades algales de la zona infralitoral superior en la costa catalana. *Collectanea Botanica* 15:69-100
- Ballesteros E, Sala E, Garrabou J, Zabala M (1998). Community structure and frond size distribution of a deep water stand of *Cystoseira spinosa* (Phaeophyta) in the Northwestern Mediterranean. *European Journal of Phycology* 33:121-128
- Bischof K, Hanelt D, Wiencke C (1998). UV-radiation can affect depth zonation of Antarctic macroalgae. *Marine Biology* 131:597-605
- Borum J, Pedersen MF, Krause-Jensen D, Christensen PB, Nielsen K (2002). Biomass, photosynthesis and growth of *Laminaria saccharina* in a high-arctic fjord, NE Greenland. *Marine Biology* 141:11-19

- Blois M (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Breitburg DL, Seitzinger SP, Sanders JG (1999). The effects of multiple stressors in marine and freshwater systems. Breitburg DL, Seitzinger SP, Sanders JG (eds.). *Limnology and Oceanography* (Special issue) 44 (issue 3, part 2). 233pp.
- Cabello-Pasini A, Muñiz-Salazar R, Ward DH (2004). Biochemical characterization of eelgrass (*Zostera marina*) at its southern end of distribution in the North Pacific. *Ciencias Marinas* 30:21-34
- Connan S, Delisle F, Deslandes E, Ar Gall E (2006). Intra-thallus phlorotannin content and antioxidant activity in Phaeophyceae of temperate waters. *Botanica Marina* 49:39-46
- Connan S, Deslandes E, Ar Gall E (2007). Influence of day–night and tidal cycles on phenol content and antioxidant capacity in three temperate intertidal brown seaweeds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 349:359-369
- Connan S, Goulard F, Stiger V, Deslandes E, Ar Gall E (2004). Interspecific and temporal variation in phlorotannin levels in an assemblage of brown algae. *Botanica Marina* 47:410-416
- Cormaci M, Furnari G (1999). Changes of the benthic algal flora of the Tremiti Islands (southern Adriatic) Italy. *Hydrobiologia* 398-399:75-79
- Demmig-Adams B, Adams WW (1996). The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1(1):21-26
- Dring M, Brown F (1982). Photosynthesis of intertidal brown algae during and after periods of emersion: A renewed search for physiological causes of bandation. *Marine Ecology Progress Series* 8:301-308
- Duarte, CM (1992). Nutrient concentration of aquatic plants: Patterns across species *Limnology and Oceanography* 37(4):882-889
- Enríquez S, Duarte CM, Sand-Jensen K (1995). Patterns in the photosynthetic metabolism of Mediterranean macrophytes. *Marine Ecology Progress Series* 119:243-252

- Espino F, Boyra A, Tuya F, Haroun R (2006). Guía visual de las especies marinas de canarias. Oceanográfica: Divulgación, educación y ciencia S.L. 482 pp. ISBN: 84-611-2308-5
- Folin O, Ciocalteu V (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. Journal biological chemistry 73:627-650
- Figuerola F, Jiménez , Viñegla B, Pérez-Rodríguez E, Aguilera J, Flores-Moya A, Altamirano M, Lebert M, Häder D (2002). Effects of solar UV radiation on photosynthesis of the marine angiosperm *Posidonia oceanica* from southern Spain. Marine Ecology Progress Series 230:59-70
- Figuerola F, Martínez B, Israel A, Neori A, Malta E, Ang Jr. P, Inken S, Marquardt R, Rachamim T, Arazi U, Frenk S, Korbee N (2009a). Acclimation of Red Sea macroalgae to solar radiation: photosynthesis and thallus absorptance. Aquatic Biology 7:159-172
- Figuerola F, Salles S, Aguilera J, Jiménez C, Mercado J, Viñegla B, Flores-Moya A, Altamirano M (1997). Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta* Thur. in Le Jol. Marine Ecology Progress Series 151:81-90
- Flores-Moya A, Gómez I, Viñegla B, Altamirano M, Perez-Rodriguez E, Maestre C, Caballero R, Figuerola F (1998). Effects of solar radiation on the endemic Mediterranean red alga *Rissoella verruculosa*: photosynthetic performance, pigment content and the activities of enzymes related to nutrient uptake. New Phytologist 139:673-683
- Gao K (1990). Diurnal photosynthetic performance of *Sargassum horneri*. Jpn. Journal of Phycology 38:163-165
- Gao K & Umezaki I (1989). Studies on diurnal photosynthetic performance of *Sargassum thunbergii*. Changes in photosynthesis under natural sunlight. Jpn. Journal of Phycology 37:89-98
- Giordano M, Beardall J, Raven JA (2005). CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. Annual Review of Plant Biology 56:99-131
- Gómez I, Figuerola F, Ulloa N, Morales V, Lovengreen C, Huovinen C, Hess S (2004). Patterns of photosynthetic performance in intertidal macroalgae from southern Chile in relation to solar radiation. Marine Ecology Progress Series 270:103-116

- Grzymiski J, Johnsen G, Sakshaug E (1997). The significance of intracellular self-shading on the bio-optical properties of brown, red and green macroalgae. *Journal of Phycology* 33:408-414
- Häder D, Figueroa F (1997). Photoecophysiology of marine macroalgae. *Photochemistry and Photobiology* 66:1-14
- Häder D, Lebert M, Mercado J, Aguilera J, Salles S, Flores-Moya A, Jiménez C, Figueroa F (1996). Photosynthetic oxygen production and PAM fluorescence in the brown alga *Padina pavonica* measured in the field under solar radiation. *Marine Biology* 127:61-66
- Häder D, Porst M, Lebert M (2001). Photoinhibition in common atlantic macroalgae measured on site in Gran Canaria. *Helgoland Marine Research* 55:67-76
- Häder D, Worrest RC, Kumar H, Smith RC (1995). Effects of increased solar ultraviolet radiation on aquatic ecosystems. *Ambio* 24:174-180
- Han Y-S, Han T (2005). UV-B induction of UV-B protection in *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 41:523-530
- Hanelt D (1992). Photoinhibition of photosynthesis in marine macrophytes of the South Chinese Sea. *Marine Ecology Progress Series* 82:199-206
- Hanelt D (1996). Photoinhibition of photosynthesis in marine macroalgae. *Scientia Marina* 60(1):243-248
- Hanelt D (1998). The capability for dynamic photoinhibition in Arctic macroalgae is related to their depth distribution. *Marine Biology* 131:361-369
- Hanelt D, Hawes I, Rae R (2006). Reduction of UV-B radiation causes an enhancement of photoinhibition in high light stressed aquatic plants from New Zealand lakes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 84:89-102
- Hanelt D, Hupperts K, Nultsch W (1992). Photoinhibition of photosynthesis and its recovery in red algae. *Botanica Acta* 105:278-284
- Hanelt D, Huppertz K, Nultsch W (1993). Daily course of photosynthesis in marine macrophytes investigated in the laboratory and in the field. *Marine Ecology Progress Series* 97:31-41

- Haroun R, Gil-Rodríguez MC, Wildpret W (2003). Plantas marinas de las Islas Canarias. 1ª ed. Madrid. Canseco editores. 319 p. ISBN: 84-932095-9-7
- Henley WJ, Levavasseur G, Franklin LA, Osmond CB, Ramus J (2001.) Photoacclimation and photoinhibition in *Ulva rotundata* as influenced by nitrogen availability. *Planta* 184: 235-243
- Hoffmann L, Clarisse S, Detienne X, Goffart A, Renard R, Demoulin V (1988). Evolution of the populations of *Cystoseira balearica* (Phaeophyceae) and epiphytic Bangiophyceae in the Bay of Calvi (Corsica) in the last eight years. *Bulletin Société Royale des Sciences Liège* 57:263-273
- Huovinen P, Matos J, Sousa-Pinto I, Figueroa F (2006). The role of nitrogen in photoprotection against high irradiance in the Mediterranean red alga *Grateloupia lanceola*. *Aquatic Botany* 84:208-31
- Jassby A, Platt T (1976). Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 21 (4):540-547
- Johnston AM & Raven JA (1990). Effects of culture in high CO₂ on the photosynthetic physiology of *Fucus serratus*. *British Phycological Journal* 25:75-82
- Kim Y, Kraemer G, Yarish C (2008). Physiological activity of *Porphyra* in relation to eulittoral zonation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 365:75-85
- Korbee N, Figueroa F, Aguilera J (2006). Accumulation of mycosporine-like amino acids (MAAs): biosynthesis, photocontrol and ecophysiological functions. *Revista Chilena de Historia Natural* 79: 119-132
- Korbee N, Huovinen P, Figueroa F, Aguilera J, Karsten U (2005). Availability of ammonium influences photosynthesis and the accumulation of mycosporine-like amino acids in two *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta). *Marine Biology* 146:645-654
- Korbee-Peinado N, Abdala-Díaz R, Figueroa F, Helbling EW (2004). Ammonium and UV radiation stimulate the accumulation of mycosporine-like amino acids in *Porphyra columbina* (Rhodophyta) from Patagonia, Argentina. *Journal of Phycology* 40: 248-259

- Klughammer C & Schreiber U (2008). Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. PAM Application Notes 1:27-35
- Litchman E, Neale PJ, Banaszak AT (2002). Increased sensitivity to ultraviolet radiation in nitrogen-limited dinoflagellates: photoprotection and repair. *Limnology and Oceanography* 47:86-94
- Lobban CS, Harrison PJ (1994). *Seaweed ecology and physiology*. Cambridge University Press, Cambridge
- López-Figueroa F (1992). Diurnal variation in pigment content in *Porphyra laciniata* and *Chondrus crispus* and its relation to the diurnal changes of underwater light quality and quantity. *Marine Ecology* 13:285-305
- Lüning K (1990). *Seaweeds. Their environment, biogeography and ecophysiology*. John Wiley & Sons, New York, p 527
- Lüning K, Dring MJ (1979). Continuous underwater light measurements near Helgoland (North Sea) and its significance for characteristic light limits in the sublittoral region. *Helgoländer wissenschaftliche Meeresuntersuchungen* 32:403-424
- Medina M, Haroun H (1993). Preliminary study on the dynamics of *Cystoseira abies-marina* population in Tenerife (Canary Island). *Courier Forschungsinstitut Senckenberg* 159:109-112
- Medina-Sánchez JM, Villar-Argaiz M, Carrillo P (2006). Solar radiation-nutrient interaction enhances the resource and predation algal control on bacterioplankton: a short-term experimental study. *Limnology and Oceanography* 51:913-924
- Martínez B, Rico J (2008). Changes in nutrient content of *Palmaria palmata* in response to changes in nutrient to variable light and upwelling in northern Spain. *Journal of Phycology* 44:50-59
- Matanjan P, Mohamed S, Mustapha NM, Muhammad K (2009). Nutrient content of tropical edible seaweeds, *Eucheuma cottonii*, *Caulerpa lentillifera* and *Sargassum polycystum*. *Journal of Applied Phycology* 21:75-80
- Müller P, Li XP, Niyogi KK (2001). Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiology* 125:1558-1566

- Oliveras M & Gómez A (1989). Corología del género *Cystoseira* C. Agardh (Phaeophyceae, Fucales). *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 46(1):89-97
- Pavia H, Brock E (2000). Extrinsic factors influencing phlorotannin production in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* 193:285-294
- Pavia H, Cervin G, Lindgren A, Aberg P (1997). Effects of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* 157:139-146
- Pérez-Lloréns JL, Vergara JJ, Pino RR, Hernández I, Peralta G, Niell FX (1996). The effect of photoacclimation on the photosynthetic physiology of *Ulva curvata* and *Ulva rotundata* (Ulvales, Chlorophyta). *European Journal of Phycology* 33:349-59
- Pérez-Rodríguez E, Aguilera J, Gómez I, Figueroa F (2001). Excretion of coumarins by the Mediterranean green alga *Dasycladus vermicularis* in response to environmental stress. *Marine Biology* 139(4):633-639
- Piazena H, Pérez-Rodríguez E, Häder D, Figueroa F (2002). Penetration of solar radiation into the water column in the central subtropical ocean Atlantic-optical properties and possible biological consequences. *Deep Sea Research II: Topical studies in Oceanography* 49(17): 3513-3528
- Platt T, Gallegos I (1980). Modelling primary production. In P. G. Falkowski [ed.], p. 339–351. *Primary productivity in the sea*. Plenum.
- Ragan M, Glombitza K (1986). Phlorotannins, brown algal polyphenols. In: Round FE, Chapman DJ (eds). *Progress in phycological research* vol.4 Biopress pp 121-241
- Ragan M, Jensen A (1978). Quantitative studies on brown algal phenols. 11. Seasonal variation in polyphenol content of *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jol. and *Fucus vesiculosus* (L.) *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 34:245-258
- Raven JA, Kübler JE (2002). New light on the scaling of metabolic rate with the size of algae. *Journal of Phycology* 38:11-16
- Riechert R, Dawes CJ (1986). Acclimation of the green alga *Caulerpa racemosa* var. *uvifera* to light. *Botanica Marina* 29(6):533-538

- Ritchie RJ (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research* 89:27-41
- Ritchie RJ (2008). Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c, and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol, or ethanol solvents. *Photosynthetica* 46(1):115-126
- Sales M, Cebrian E, Tomas F, Ballesteros E (2011). Pollution impacts and recovery potential in three species of the genus *Cystoseira* (Fucales, Heterokontophyta). *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 92:347-357
- Serio D, Alongi G, Catra M, Cormaci M, Furnari G (2006). Changes in the benthic algal flora of Linosa Island (Straits of Sicily, Mediterranean Sea). *Botanica Marina* 49:135-144
- Shelly K, Heraud P, Beardall J (2002). Nitrogen limitation in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) leads to increased susceptibility to damage by Ultraviolet-B radiation but also increased repair capacity. *Journal of Phycology* 38:713-720
- Sieburth JMcN, Conover JT (1965). Sargassum tannin, an antibiotic which retards fouling. *Nature* 208:52-53
- Sieburth JMcN, Jensen A (1969). Studies on algal substances in the sea. 11. The formation of gelbstoff (humic material) by exudates of Phaeophyta. *Journal of Experimental marine Biology and Ecology* 3:275-289
- Swanson AK, Druehl LD (2002). Induction, exudation and the UV protective role of kelp phlorotannins. *Aquatic Botany* 73:241-253
- Thibaut T, Pinedo S, Torras X, Ballesteros E (2005). Long-term decline of the populations of Fucales (*Cystoseira* spp. and *Sargassum* spp.) in the Albères coast (France, north-western Mediterranean). *Marine Pollution Bulletin* 50:1472-1489
- Tuya F, Haroun R (2006). Spatial patterns and response to wave exposure of photophilic algal assemblages across the Canarian Archipelago: a multiscaled approach. *Marine Ecology Progress Series* 311:15-28
- Tuya F, Sánchez-Jerez P, Haroun R (2005). Influence of fishing and functional group of algae on sea urchin control of algal communities in the eastern Atlantic. *Marine Ecology Progress Series* 287:255-260

- Underwood AJ (1997). Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance. Cambridge University Press. Cambridge, UK
- Van Alstyne KL (1988). Herbivore grazing increases polyphenolic defenses in the brown alga *Fucus distichus*. Ecology 69:655-663
- Van Alstyne KL, Paul VJ (1990). The biogeography of polyphenolic compounds in marine macroalgae: temperate brown algal defenses deter feeding by tropical herbivorous fishes. Oceanologia 84:158-163
- Van de Poll WH, Eggert A, Buma AGJ, Breeman M (2001). Effects of UV-B induced DNA damage and photoinhibition of growth of temperate marine red macrophytes: habitat-related differences in UV-B tolerance. Journal of Phycology 37:30-37
- Vergara JJ, Bird KT, Niell FX (1995). Nitrogen assimilation following NH_4^+ pulses in the red alga *Gracilariopsis lemaneiformis*: effect on C metabolism. Marine Ecology Progress Series 122:253-263
- Verlaque M (1987). Contribution à l'étude du phytobenthos d'un écosystème photophile thermophile marin en Méditerranée Occidentale. Thesis, University of Aix Marseille
- Villafañe VE (2004). Ultraviolet radiation and primary productivity in temperate aquatic environments of Patagonia (Argentina). Ph.D. thesis, University of Groningen, Groningen, 133 pp
- Wahl M, Jormalainen V, Klemens B, Coyerz J, Molis M, Schubert H, Dethier M, Karez R, Kruse I, Lenz M, Pearson G, Rohde S, Wikström S, Olsen J (2011). Stress Ecology in *Fucus*: Abiotic, Biotic and Genetic Interactions. In: Michael Lesser, editors: Advances in Marine Biology, Vol 59, Oxford: Academic Press; 2011, p. 37-106
- Wiencke C, Roleda MY, Gruber A, Clayton M, Bischof K (2006). Susceptibility of zoospores to UV radiation determines upper distribution limit of Arctic kelp: evidence through field experiments. Journal of Ecology 94:455-463
- Xu J & Gao K (2007). Effects of solar UVR on the effective quantum yield of *Ulva lactuca*. Acta Oceanologica Sinica 29:127-132

Zubia M, Fabre MS, Kerjean V, Le Lann K, Stiger-Pouvreau V, Fauchon M, Deslandes E (2009).
Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. Food
Chemistry 116:693-701

**Aclimatación y mecanismos de fotoprotección
en *Cystoseira humilis* (Phaeophyta) y *Digenea
simplex* (Rhodophyta) en distintos niveles
batimétricos**



Capítulo

4



Introducción

La zona intermareal posee condiciones muy extremas, que condicionan la colonización por diferentes especies, así como su distribución espacial (Ramírez *et al.* 2005). En pocos metros a lo largo de su eje vertical, las condiciones ambientales (temperatura, salinidad, oleaje e irradiación) varían desde un medio completamente acuático hasta uno completamente terrestre, originando gradientes muy acusados (Bertness, 1999; Harley & Helmuth, 2003). Los factores físico-químicos determinan la estructura de las comunidades y los patrones espacio-temporales en la distribución de las especies (Underwood, 1980; Benedetti-Cecchi *et al.* 2000). El sistema intermareal es un hábitat muy heterogéneo y fluctuante, donde la zonación de los organismos y las comunidades refleja los distintos patrones verticales y la capacidad de aclimatación a éstos (Lüning, 1990; Davison & Pearson, 1996; Kim *et al.* 2008). Las especies que habitan estos ambientes están mejor adaptadas al estrés ambiental que especies que habitan en hábitats submareales (Araujo *et al.* 2006). En el sistema intermareal, se encuentra un tipo de hábitat muy singular: los charcos, piscinas o charcones, de diversa estructura, composición, tamaño y renovación de las masas de agua, lo que afecta de diversa forma las fluctuaciones en temperatura y salinidad etc. (Astles, 1993; Martins *et al.* 2007). Estos hábitats proveen de refugio a gran variedad de organismos durante la marea baja (Underwood, 1980; Underwood & Jernakoff, 1984) y al encontrarse continuamente sumergidos no padecen el estrés por desecación (Martins *et al.* 2007). Los organismos que habitan en los charcos intermareales están también sujetos al estrés ambiental durante la marea baja (Ganning, 1971; Huggett & Griffiths, 1986), con grandes fluctuaciones, a corto plazo, en parámetros físico-químicos como la temperatura, salinidad, CO₂ y pH (Huggett & Griffiths, 1986). El tamaño de los charcos y la tasa de renovación del agua determinan la diversidad y la estructura de la comunidad (Martins *et al.* 2007). Se ha reconocido que los charcos más profundos y de zonas expuestas al oleaje albergan mayor biodiversidad, y que el factor más importante para determinar la estructura de la comunidad es la profundidad (Martins *et al.* 2007). Los charcos intermareales son, así, excelentes sistemas para estudios de gradiente y aclimatación de las macroalgas al estrés ambiental en una escala espacio-temporal abordable en los siempre complicados estudios medioambientales (Davison & Pearson, 1996).

La zonación vertical de las macroalgas está relacionada con la habilidad de las especies a resistir un gran estrés lumínico (Hanelt, 1998). La distribución en profundidad y la consecuente estructura de la comunidad está correlacionada con la sensibilidad de las algas a resistir elevadas irradiancias PAR y radiación UV, siendo las especies intermareales las que

presentan mayores tasas de recuperación respecto a algas de la zona submareal al ser sometidas a cambios ambientales bruscos (Bischof *et al.* 1998, Van de Poll *et al.* 2001, Gómez *et al.* 2004, Wiencke *et al.* 2006). En los ecosistemas acuáticos, el incremento de radiación UVB debido a la reducción de ozono está relacionado con daños sobre el ADN, proteínas y lípidos (Buma *et al.* 1995,1997, Bischof *et al.* 1998, Helbling *et al.* 2001) y el incremento de radicales de O₂ (ROS) y la consecuente estimulación de los sistemas antioxidantes (Bischof *et al.* 2006), lo que provoca la disminución de la actividad de la RubisCo (Bischof *et al.* 2002), de la nitrato-reductasa y anhidrasa carbónica (Flores-Moya *et al.* 1998, Gómez *et al.* 1998; Viñegla, 2000; Figueroa & Viñegla, 2001), dañan los pigmentos (Figueroa *et al.* 1997; Häder & Figueroa, 1997; Aguilera *et al.* 2002), inhiben la fotosíntesis (Figueroa *et al.* 1997, 2002) y el crecimiento de las macroalgas (Altamirano *et al.* 2000a,b).

Las algas presentan diferente sensibilidad a la radiación UV de acuerdo a su morfología y ciclo de vida (Dring *et al.* 1996, Altamirano *et al.* 2003a,b). Los mecanismos foto-protectores para reparar el ADN están mediados por la radiación PAR y UV-A (Mitchell & Karentz, 1993), la acumulación de lípidos (Cockell & Knowland, 1999) y productos foto-protectores de radiación UV, como las micosporinas en algas rojas (Karsten *et al.* 1998, Korbee-Peinado *et al.* 2004,2005), y compuestos fenólicos en algas pardas (Pavía *et al.* 1997, Connan *et al.* 2004, Abdala *et al.* 2006) y algunas algas verdes (Pérez-Rodríguez *et al.* 1998; Han & Han, 2005). Gómez & Huovinen (2011) mostraron que la zonación de las macroalgas en las costas de Chile puede ser caracterizada por la absorción de luz, la pigmentación, los parámetros fotosintéticos, la fotoinhibición y la estructura de los talos. Hanelt (1998) demuestra también que la zonación de macroalgas en el Mar del Norte se relaciona con la capacidad de disipación de energía y fotoinhibición dinámica. La radiación UV reduce la tasa fotosintética (Helbling *et al.* 2003), produce daños en los componentes de la célula como el complejo proteína D1/D2 (Sass *et al.* 1997) y en el ADN (Buma *et al.* 2003), altera el intercambio de nutrientes (Faochot *et al.* 2000), afecta al crecimiento (Villafañe *et al.* 2003) y composición de ácidos grasos (Goes *et al.* 1994). Se conoce, no obstante, que la radiación UV-A, en bajas dosis, mejora la fijación de carbono (Barbieri *et al.* 2002), foto-repara el daño sobre el ADN inducido por la UV-B (Buma *et al.* 2003) y puede producir la fijación fotosintética del carbono en ausencia de radiación PAR (Gao *et al.* 2007). La radiación UV-B también puede estimular mecanismos de foto-reparación en macroalgas en regiones con alta dosis de radiación solar, como el sur del Mediterráneo (Flores-Moya *et al.* 1998) o zonas tropicales (Hanelt & Roleda, 2009).

Muchos de los mecanismos adaptativos y de sensibilidad a la radiación UV dependen de la disponibilidad de nutrientes (Shelly *et al.* 2002; Korbee *et al.* 2005; Villafaña, 2004; Medina-Sánchez *et al.* 2006). La limitación por nitrógeno no sólo afecta la capacidad fotosintética (Pérez-Llorens *et al.* 1996) y el contenido en proteínas (Vergara *et al.* 1995, Henley *et al.* 2001), sino también a los mecanismos de fotoprotección (Korbee-Peinado *et al.* 2004; Korbee *et al.* 2006; Huovinen *et al.* 2006). Diversos estudios corroboran que la limitación por nitrógeno reduce el tamaño de las células (Doucette & Harrison, 1990; García-Pichel, 1994) y la sensibilidad a la radiación UV (Litchman *et al.* 2002, Korbee-Peinado *et al.* 2004).

La mayoría de las investigaciones que conectan la sensibilidad a la fotoinhibición con la zonación en profundidad se han llevado a cabo para diferentes especies de algas o distintos grupos taxonómicos (Choo *et al.* 2005, Kim *et al.* 2008), siendo más escasos aquellos que estudian una misma especie de alga a distintas profundidades (Sagert *et al.* 1997, Bischof *et al.* 1998, Borum *et al.* 2002; Hanelt & Roleda, 2009). Diversos estudios sugieren patrones de zonación globales de macroalgas, donde los charcos localizados en la zona baja del intermareal dominan las algas rojas y pardas, siendo en los charcos más altos donde dominan las algas verdes (Femino & Mathieson, 1980; Wolfe & Harlin, 1988; Kooistra *et al.* 1989, Araujo *et al.* 2006).

En el intermareal de la costa de las Islas Canarias, localizamos charcas o piscinas intermareales, donde se encuentran en abundancia el alga parda *C. humilis* (Fucales, Phaeophyceae) y el alga roja *Digenea simplex* (Ceramiales, Rhodophyceae), las cuales se encuentran en charcos poco profundos del intermareal rocoso. Éstas colonizan las paredes rocosas de los charcos, desde la superficie hasta los 4 m de profundidad. Debido a esta distribución vertical, el objetivo de nuestro estudio fue evaluar el estado fisiológico *in situ* y las respuestas adaptativas de *C. humilis* y *D. simplex* a lo largo de un gradiente de profundidad en una charca intermareal rocosa; partimos con la hipótesis de que las algas más someras poseen mecanismos de aclimatación y foto-protección más eficientes que algas más profundas.

Material y método

Descripción de las especies de estudio

Cystoseira humilis (Fucales, Phaeophyceae) y *Digenea simplex* (Cerámiales, Rhodophyceae) son especies que crecen en charcos del eulitoral rocoso, medio e inferior, de Canarias (Espino *et al.* 2006). *C. humilis* se encuentra frecuentemente cubriendo el fondo y bordes de charcos protegidos de costas expuestas al oleaje (Engelen *et al.* 2008) y sus talos, cespitosos y sin espinas, miden hasta unos 15 cm de longitud (Haroun *et al.* 2003). *D. simplex* es una especie característica de biotopos calmados y forma comunidades cespitosas, densas y con alto grado de epifitismo, con talo erecto y cartilaginoso de hasta 10 cm de longitud. Ambas macroalgas viven constantemente sumergidas (Haroun *et al.* 2003).

Área de estudio y diseño experimental

El experimento tuvo lugar en la costa suroeste de la isla de Lanzarote (Islas Canarias, 29° 9' N; 13° 25' W), en una charca intermareal rocosa situada en la localidad de La Mareta, en Septiembre de 2010 (Fig. 1A). Las dimensiones de la charca eran, aproximadamente, de 6 m ancho, 10 m largo y unos 5 m de profundidad (Fig. 1B). Se localizaron talos de las especies intermareales *Cystoseira humilis* y *Digenea simplex* situados a distintas profundidades de la charca intermareal (Fig. 1C, D). Se seleccionaron tres profundidades para cada macroalga; en el caso de *C. humilis*, las profundidades fueron 0.05, 0.4 y 3.5 m, y en *D. simplex* 1, 2.5 y 3.5 m, correspondiendo a zona somera, media y profunda, respectivamente. Los especímenes de *C. humilis* recolectados a 0.05 m corresponden a charcos más pequeños, muy someros, que alcanzan elevadas temperaturas y están sometidos a mayor estrés ambiental. Se tomaron medidas y muestras para el análisis de los distintos parámetros y compuestos por la mañana (11h) y a mediodía (13h).

Mediciones de luz y temperatura

La radiación solar incidente fue medida usando un sensor plano con corrección de coseno (Licor, Li 189) conectado a un radiómetro (Licor, Li-250) y la radiación UV a través de un sensor de irradiancia híper-espectral UVA/UVB (Ramses, TrioS GmbH, Oldenburg, Alemania) a profundidades comprendidas entre 0 m y 5 m.

El coeficiente de atenuación vertical de la luz (Kd) fue determinado usando la fórmula (Kirk, 1994):

$$K_d = \ln [E_d(z_2) / E_d(z_1)] * (z_1 - z_2)^{-1}$$

donde, $E_d(z_1)$ y $E_d(z_2)$ corresponde a la irradiancia a las profundidades z_1 y z_2 . La dependencia logarítmica de la atenuación de la luz en las profundidades en el agua fue calculada a través de regresiones no lineales sobre el perfil de profundidad de la charca intermareal. Los valores de K_d fueron calculados para todo el rango PAR y UV.

La temperatura fue medida en continuo, cada 5 min, a través de termómetros sumergibles Hobos U22 (Onset computer corporation, Bourne, USA) en cada profundidad.

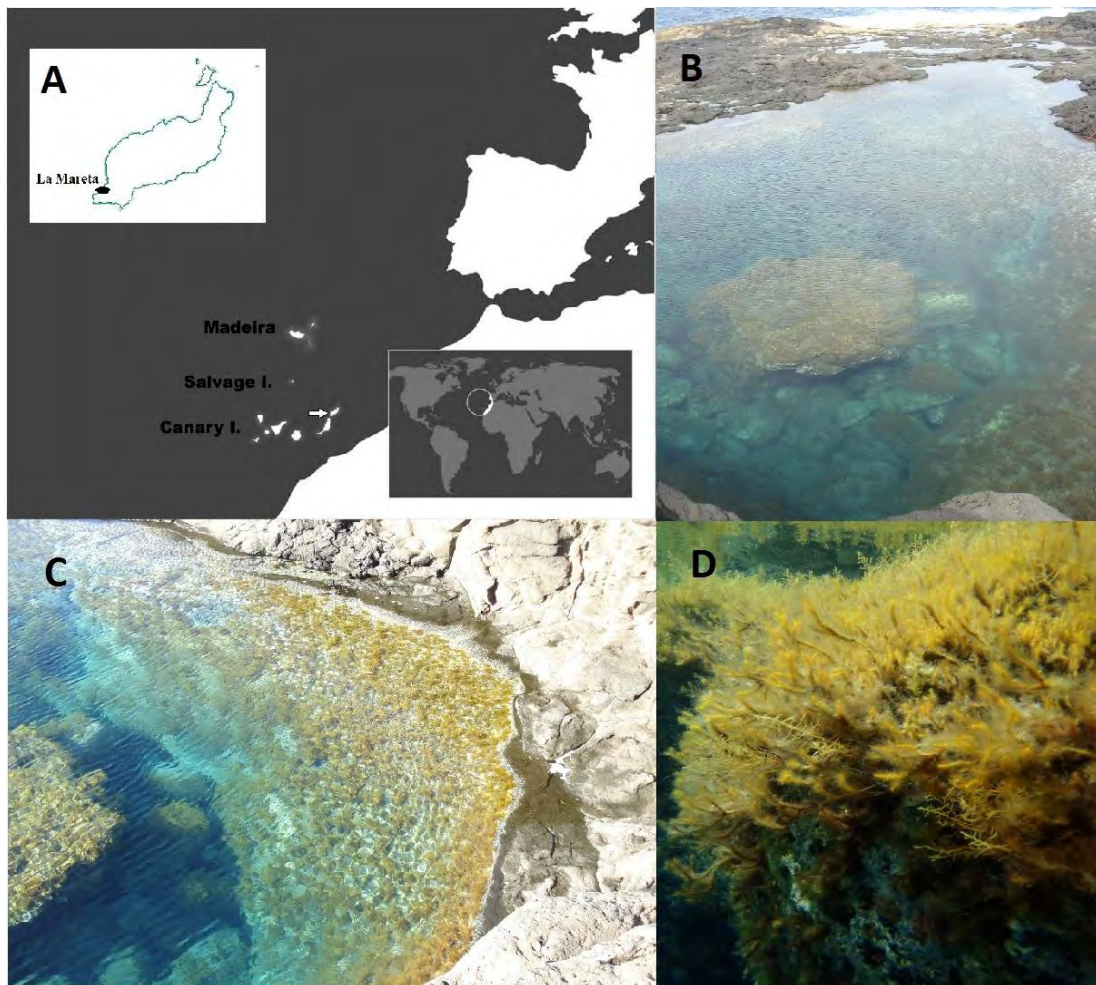


Figura 1. (A) Localización geográfica del área de estudio, La Mareta, Lanzarote. (B) Fotografía de la charca intermareal rocosa de estudio. (C) Detalle de zonación en profundidad de *Cystoseira humilis* y *Digenea simplex*. (D) Detalle de las comunidades de algas de *C. humilis* y *D. simplex*.

Análisis fotosintéticos

La fluorescencia *in vivo* de la clorofila asociada al PSII fue determinado usando el fluorímetro Diving-PAM (Walz GmbH, Alemania) (n=8). Con los centros de reacción totalmente relajados (oxidados o abiertos), estado adaptado a la oscuridad, se obtuvieron los valores mínimos (F_0) y tras un pulso de saturación de luz actínica ($2350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 0.8 s) se obtuvo el valor máximo de fluorescencia (F_m). El rendimiento óptimo F_v/F_m (sin dimensión) se describe como la eficiencia máxima fotoquímica de transferencia de energía a los centros de reacción del PSII, siendo $F_v = F_m - F_0$ (Maxwell & Johnson, 2000). En muestras iluminadas no adaptadas a la oscuridad, donde parte de los centros de reacción están reducidos, se obtuvieron los valores instantáneos (F) y F'_m después del pulso de saturación de luz actínica. El rendimiento efectivo, $\Delta F/F'_m$ queda definido como $(F'_m - F)/F'_m$. Las curvas de luz rápidas (RLCs) fueron medidas usando la función de curvas de luz del Diving-PAM. La luz actínica fue incrementándose cada 20 s exponiendo a la muestra a 9 irradiancias en aumento, desde 85 a $1748 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las curvas de luz fueron construidas calculando el ETR directo del PSII para cada nivel de luz actínica:

$$\text{ETR} = (\Delta F/F'_m) * E * A * F_{II}$$

donde $\Delta F/F'_m$ es el rendimiento efectivo, E la irradiancia luz actínica en cada punto de la curva expresada en $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$, A la absortancia o fracción de luz absorbida, y F_{II} , la fracción de clorofila asociada al PSII, siendo en algas pardas de 0,8 y en algas rojas 0,15 (Grimzki *et al.* 1997). La absortancia $A = 1 - (E_t/E_0)$ fue calculada a partir de la luz transmitida a través de una pieza de cada especie (E_t) colocada sobre un sensor PAR con corrección de coseno (Licor, Li 189 conectado a radiómetro Licor, Li-250), y la irradiancia incidente (E_0) en ausencia de la pieza de alga. La absortancia media obtenida fue de $0,85 \pm 0,02$ para *C. humilis* y $0,72 \pm 0,05$ para *D. simplex*.

Las curvas de luz fueron ajustadas según el modelo de Jasby y Platt (1976) y de Platt y Gallegos (1980), en casos donde se produjera fotoinhibición, para obtener los valores de eficiencia (α_{ETR}), irradiancia de saturación (E_k) y ETR máximo (ETR_{max}).

Amortiguamiento no fotoquímico

$Y(\text{NO})$, refleja la fracción de energía que es disipada pasivamente en forma de calor y fluorescencia, debido al bloqueo de los centros de reacción del PSII, calculado como (Klughammer & Schreiber, 2008): $Y(\text{NO}) = F/F_m$

Y(NPQ), corresponde a la fracción de energía disipada en forma de calor regulada por mecanismos foto-protectores no fotoquímicos (Klughammer & Schreiber, 2008) y fue calculado como: $Y(NPQ) = F/F'm - Y(NO)$

Pigmentos fotosintéticos, compuestos foto-protectores, actividad antioxidante y contenido en C, N.

Los pigmentos fotosintéticos clorofila *a* (Chl *a*) en las dos especies, clorofila *c* (Chl *c*) en *C. humilis* y clorofila *d* en *D. simplex* y el contenido en carotenos en las dos especies fueron determinados espectrofotométricamente. Los análisis se realizaron mediante extracción de pigmentos de las algas (20 mg peso fresco), usando como solución extractora 1 ml de acetona al 90% saturada de hidróxido de carbonato de magnesio (C₄Mg₄O₁₂) y manteniendo en oscuridad 12h a 4°C. Después de centrifugar a 4000 rpm durante 20 min, cada sobrenadante fue usado para medir los pigmentos mediante escaneo desde 480 a 750 nm. La concentración de clorofila y carotenos fue calculada según Ritchie (2006, 2008). El contenido en pigmentos fue expresado en mg g⁻¹ PS.

Los compuestos fenólicos, compuestos foto-protectores producido principalmente por las algas pardas, fueron extraídos en *C. humilis* (0,25 g PS, n=3) a 4°C en metanol al 80% mediante maceración en un mortero empleando arena de mar. Se incubó durante la noche en tubos de centrifuga con 2.5 ml de metanol al 80%. La mezcla fue centrifugada a 4000 rpm durante 30 minutos a 4°C y se recogió el sobrenadante (Sigma 2-16PK, Göttingen, Alemania). Los compuestos fenólicos totales, expresados en mg g⁻¹ PS, fueron determinados usando floroglucinol como estándar, siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Folin & Ciocalteu, 1927). La reacción se completó después de 120 minutos en oscuridad a 4°C y se leyó la absorbancia a 760 nm mediante un espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution 201, UV-Visible, Shanghai, China).

El contenido en aminoácidos tipo micosporinas, fotoprotector común en algas rojas, de *D. simplex* (10-20 g PS, n=3) se determinó de acuerdo a Korbee-Peinado *et al.* (2004). En un baño a 45°C en 1 ml de metanol al 20% se extrajo durante 2 horas. Se centrifugó a 5000 g durante 5 minutos y se tomaron 600 µL de sobrenadante, llevándolo a sequedad mediante roto-evaporación y re-suspendido posteriormente en 600 µL de metanol 100%. La muestra es filtrada por un filtro de membrana de 0.2 µm y analizada mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Waters 600). La fase móvil fue 2.5% de metanol acuoso más 0.1% de ácido acético en agua, en flujo isocrático de 0.5 ml min⁻¹. Se inyectó un volumen de muestras

de 10 μL en una columna cromatográfica C8 (5- μm , 250 \times 4 mm; Sphereclone; Phenomenex, Germany). Se empleó un detector UV y visible (Waters Photodiode Array Detector 996) haciendo un barrido entre 290 y 400 nm, tomando datos cada segundo para cada longitud de onda en ese rango seleccionado. Se compararon los picos y los tiempos de retención con varios estándares (*Mastocarpus stellatus*, *Bostrychia scorpioides*, *Porphyra yezoensis* y *Plectropomus leopardus*). Se cuantificó siguiendo coeficientes de extinción ya publicados (Takano *et al.* 1978a, b; Tsujino *et al.* 1980; Dunlap *et al.* 1986; Gleason 1993).

La actividad antioxidante fue medida en muestras de *C. humilis* a través del radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) por triplicado, según Blois (1958). Rápidamente, se tomaron 150 μL del extracto metanólico y se mezclaron con 1,5 ml de metanol al 90% y 150 μL de solución de DPPH preparada diariamente a 1,27 nM. La reacción fue completada después de 30 min en oscuridad a temperatura ambiente, y medida la absorbancia a 517 nm. Los valores de concentración de DPPH (μM) fue calculada a través de concentración del extracto de alga (mg PS/ml) con el fin de obtener el valor de EC_{50} (índice de oxidación) el cual representa la concentración de extracto(mg/ml) que se requiere para reducir al 50% el DPPH. Se usó ácido ascórbico como control positivo.

El contenido total en C y N fue determinado mediante combustión usando un analizador elemental CNHS LECO-932 (Michigan, USA), lo que permitió obtener el ratio C:N.

Análisis estadístico

Las diferencias en la actividad fotosintética y respuestas bioquímicas a lo largo del gradiente de profundidad se contrastó a través de un ANOVA de 2 vías, separadamente para cada especie, incluyendo 'estratos' (factor fijo con 3 niveles: somero, medio y profundo) y 'horas' (factor aleatorio con dos niveles: 11h y 13h). Se usó el test de Cochran para contrastar la homogeneidad de varianzas (Underwood, 1997), realizándose transformaciones para obtener homogeneidad de varianzas cuando fue necesario. En el caso en el que no se obtuvo varianzas homogéneas, se ajustó el nivel de confianza al 99% ($\alpha = 0.01$). La significancia de los F-ratios se contrastó mediante 4999 permutaciones de los datos a través del software PERMANOVA, utilizando la distancia euclidiana como medida de disimilitud. Cuando fue apropiado, se ejecutaron test a pares (*a posteriori*) mediante 4999 permutaciones. Los resultados obtenidos en los ANOVAs se muestran en las tablas del anexo estadístico (tablas A12-A18).

Resultados

Parámetros abióticos

Los datos de temperatura del agua nos revelan que la mayor temperatura se localizó en la zona más somera, seguido de la media y por último, la profunda. Las temperaturas medias por la mañana (11h) fueron de 26,5°C en la zona somera, seguido de 24,3°C en la zona intermedia y de 23,8°C la profunda. A mediodía, los valores se incrementan, alcanzando 30,4°C, 25,1°C y 24,1°C respectivamente (Fig. 2).

La penetración de la radiación PAR y UV fue muy alta en Lanzarote durante el experimento, siendo lo esperado para aguas costeras muy claras (Fig. 3). (Tipo I en la clasificación de Jerlov). El coeficiente de atenuación vertical decrece cuando aumenta la longitud de onda, con coeficientes más bajos en PAR y más altos en UV-B2 (Tabla I). Los valores de Kd para la radiación PAR fueron entre 3,5 y 2,2 veces más bajos que los registrados para UV-B y UV-A respectivamente.

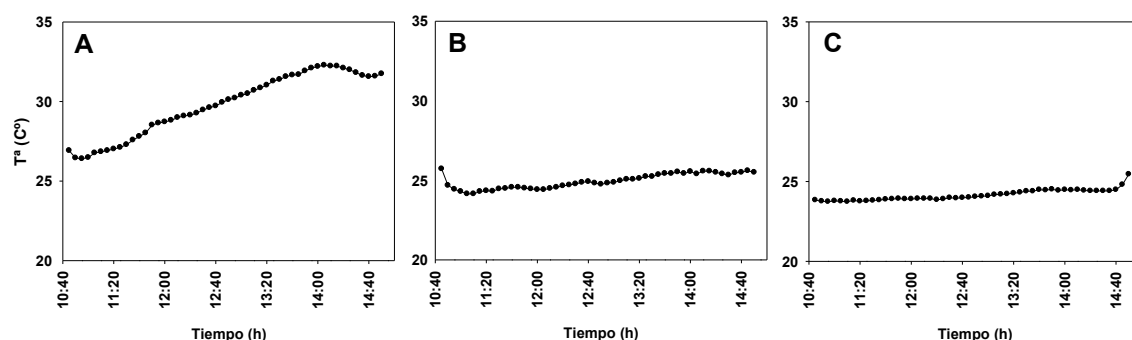


Figura 2. Registro de temperaturas obtenidas en (A) estrato somero, (B) estrato medio y (C) estrato profundo de la charca intermareal de estudio.

Tabla I. Coeficiente de atenuación de radiación incidente (m^{-1}) de PAR (400 a 700nm), UV-A (320-400nm) y UV-B1 (320-280nm) y UV-B2 (315-280nm) en la charca intermareal rocosa durante el estudio, Septiembre 2010. Media \pm error estándar

	Kd (m^{-1})
PAR	0,14 \pm 0,008
UV-A	0,325 \pm 0,005
UV-B 1	0,486 \pm 0,01
UV-B 2	0,5 \pm 0,03

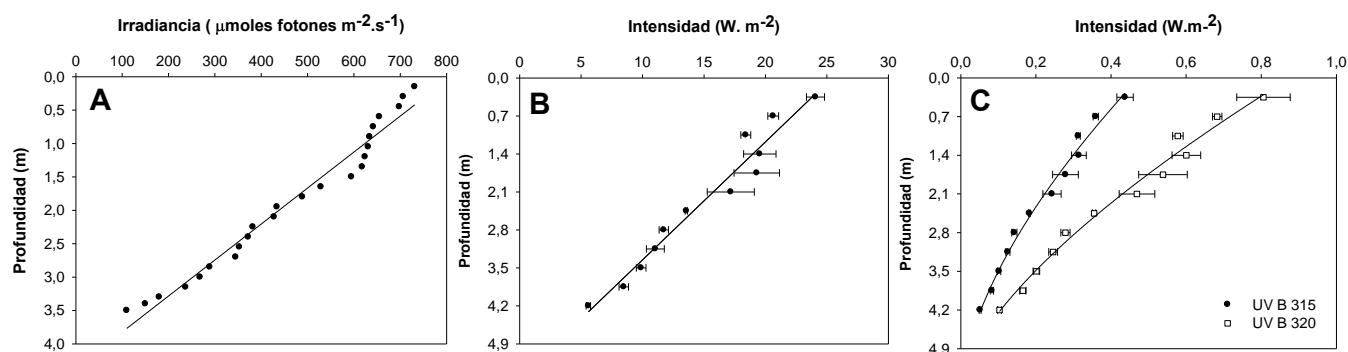


Figura 3. (A) Irradiancia fotosintética activa (PAR), (B) radiación UV-A y (C) radiación UV-B integrada en longitud de onda 315nm (●) y 320nm (□) a lo largo de la profundidad del charco de estudio. Media \pm error estándar.

Actividad fotosintética

El rendimiento óptimo y efectivo de *C. humilis* y *D. simplex* varió entre los distintos estratos de profundidad según la hora del día ('Es x Ho', $p < 0,001$) (Tablas A12, A15). *C. humilis* mostró diferencias significativas en el rendimiento óptimo entre los distintos estratos, tanto en la mañana (11h) como a mediodía (13h) (test *a posteriori*, $p < 0,01$), donde los mayores valores se registraron en el estrato profundo, seguido del estrato somero y alcanzado los valores más bajos en el estrato medio (Fig. 4A). *D. simplex* mostró diferencias entre los estratos de profundidad a las 11h, donde el estrato somero y profundo mostraron valores más altos (test *a posteriori*, $p > 0,05$) respecto al estrato medio. En cambio, a las 13h no se observan diferencias significativas entre los distintos estratos (test *a posteriori*, $p > 0,05$). En general, ambas especies mostraron mayores rendimientos fotosintéticos a las 11h que a las 13h (Fig. 4). Ejemplares de *C. humilis* de mayor profundidad presenta mayor fotoinhibición, mientras que las algas de la zona somera no presentan fotoinhibición, sino un aumento del rendimiento óptimo (Fig. 4A, tabla II). *D. simplex* somera presentan mayor fotoinhibición, siendo menor en la zona profunda, no observando fotoinhibición en la zona media (Fig. 4B, tabla II).

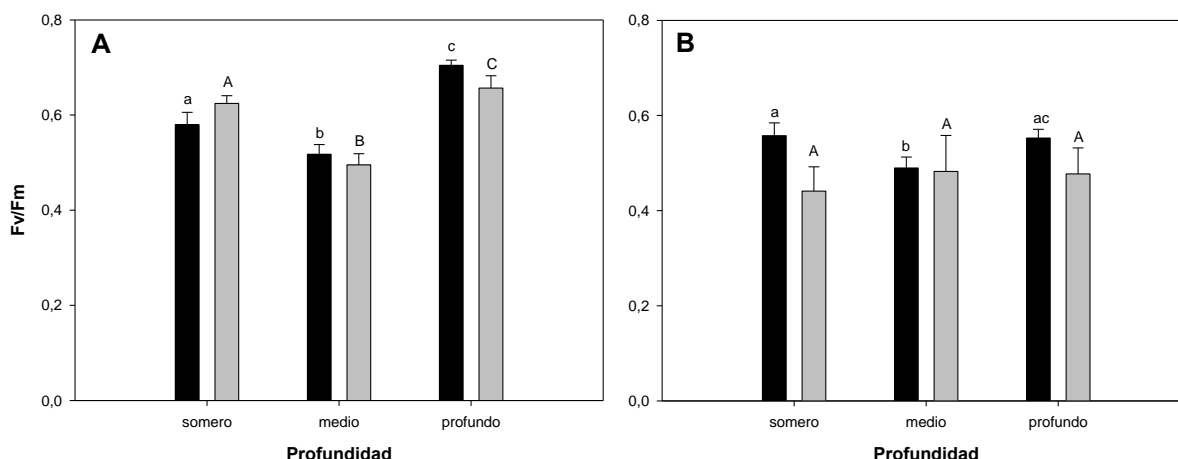


Figura 4. Rendimiento fotosintético óptimo en (A) *C. humilis* y (B) *D. simplex* a las 11h y 13h (barra negra y gris, respectivamente). Media \pm error estándar. Distintas letras minúsculas sobre las barras denotan diferencias significativas (*test a posteriori*) entre los distintos estratos en la mañana (11h), mientras que distintas letras mayúsculas reflejan diferencias significativas a mediodía (13h) entre los distintos estratos de profundidad.

Tabla II. Porcentaje de fotoinhibición de *C. humilis* y *D. simplex*, expresado como media de la disminución del rendimiento óptimo desde la mañana (11h) al mediodía (13h) $(Fv/Fm_{11:00} - Fv/Fm_{13:00} / Fv/Fm_{11:00}) * 100$ en los distintos estratos (somero, medio y profundo). (*) En el caso de *C. humilis* procedente del estrato somero, no se observó fotoinhibición, representando el incremento de los valores de Fv/Fm desde las 11 a las 13h.

	% fotoinhibición	
	<i>C. humilis</i>	<i>D. simplex</i>
somero	2,7 (*) \pm 0,01	20,9 \pm 0,08
medio	4,3 \pm 0,02	1,5 \pm 0,02
profundo	6,8 \pm 0,03	13,6 \pm 0,05

La capacidad fotosintética (ETR) de ambas especies varió entre los diferentes estratos de las 11 a las 13 horas ('Es x Ho', $p < 0,001$) (Tablas A12, A15). *C. humilis* no mostró diferencias a las 11h entre el estrato somero y medio, aunque en el estrato profundo se registró una menor capacidad fotosintética (*test a posteriori* $p < 0,01$) (Fig. 5A). A mediodía (13h), se observó una mayor capacidad fotosintética en la zona somera, disminuyendo en profundidad (*test a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 5.A). *D. simplex* no mostró diferencias significativas entre estratos por

la mañana (11h), mientras que a mediodía (13h) se observó un mayor rendimiento en la zona somera y media, respecto a ejemplares de la zona profunda (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 5B). La variación de la capacidad fotosintética en *C. humilis* desde las 11h hasta las 13h reveló mayores porcentajes de variación en el estrato profundo, seguido del estrato medio y alcanzando menores porcentajes en el estrato somero (Tabla III). En cambio, *D. simplex* mostró mayores porcentajes de variación del ETR desde las 11h hasta las 13h en la zona somera, seguido de la zona profunda y media (Tabla III).

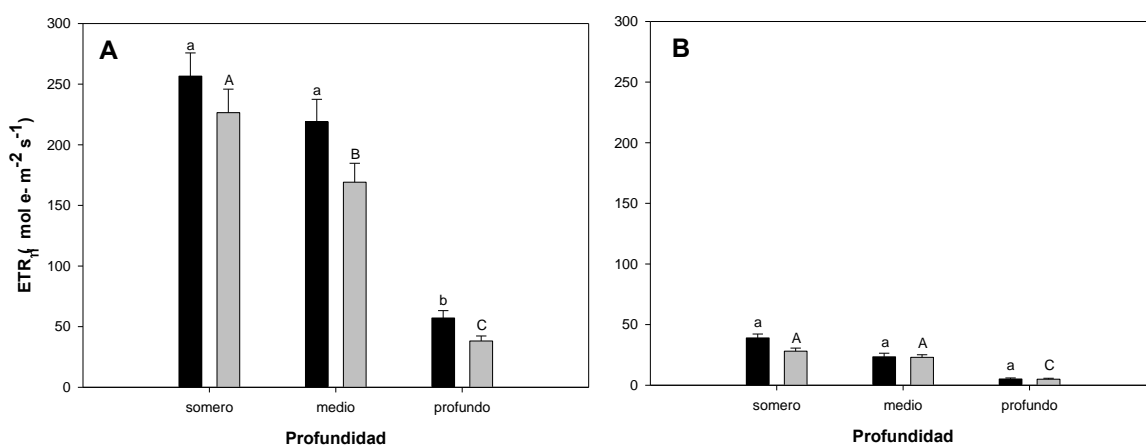


Figura 5. Capacidad fotosintética (ETR), obtenida a partir de los valores del rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$) para (A) *C. humilis* y (B) *D. simplex* en los distintos estratos (somero, medio y profundo). Media \pm error estándar. Distintas letras minúsculas sobre las barras denotan diferencias significativas (test *a posteriori*) entre los distintos estratos en la mañana (11h), mientras que distintas letras mayúsculas reflejan diferencias significativas a mediodía (13h) entre los distintos estratos de profundidad.

Tabla III. Capacidad fotosintética medida como variación del ETR (obtenida a partir de la variación del rendimiento efectivo: $\Delta F/F'm$) desde las 11:00 h a 13:00 h ($(ETR_{11:00} - ETR_{13:00}) / ETR_{11:00} * 100$) expresado en porcentaje para *C. humilis* y *D. simplex* en los distintos estratos (somero, medio y profundo).

	% ETR	
	<i>C. humilis</i>	<i>D. simplex</i>
somero	12,2 \pm 0,03	27,9 \pm 0,03
medio	22,7 \pm 0,02	1,8 \pm 0,02
profundo	33,1 \pm 0,01	3,1 \pm 0,02

El amortiguamiento no fotoquímico (Y(NO) y Y(NPQ)) fueron diferentes entre *C. humilis* y *D. simplex*. La variación de los valores de Y(NO) entre los distintos estratos de profundidad en la mañana y a mediodía no fueron significativas para *C. humilis* ('Es x Ho', $p > 0,05$) (Tabla A12), aunque si localizamos variaciones a nivel de efectos principales ('Ho', $p < 0,01$), revelando mayores valores de Y(NO) a las 11h, disminuyendo en todos los estratos a las 13h (Fig. 6A,B). En *D. simplex*, no se observaron variaciones entre los diferentes estratos por la mañana (11h) y mediodía (13h) (test *a posteriori*, $p > 0,01$, tabla A15) (Fig. 7A,B).

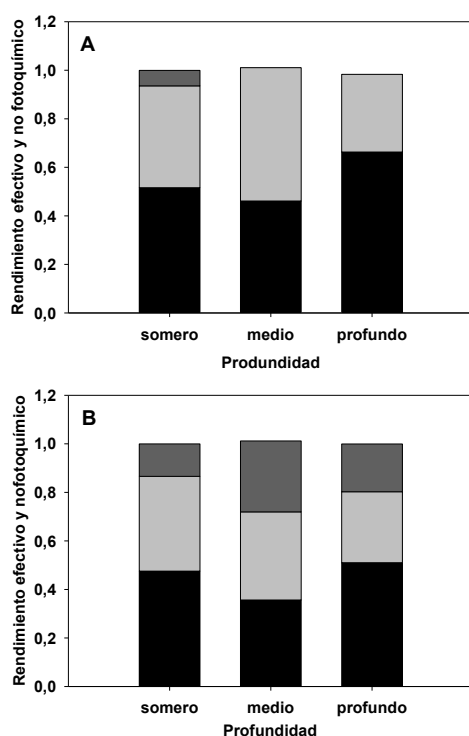


Figura 6. Rendimientos efectivos y no fotoquímicos: Y(NO), en barras gris claro, Y(NPQ), en barras gris oscuro, y rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$), en barras negras, para *C. humilis* en los distintos estratos de profundidad (somero=0.05m, medio=0.4m y profundo=4m). (A)=11:00h y (B)=13:00h.

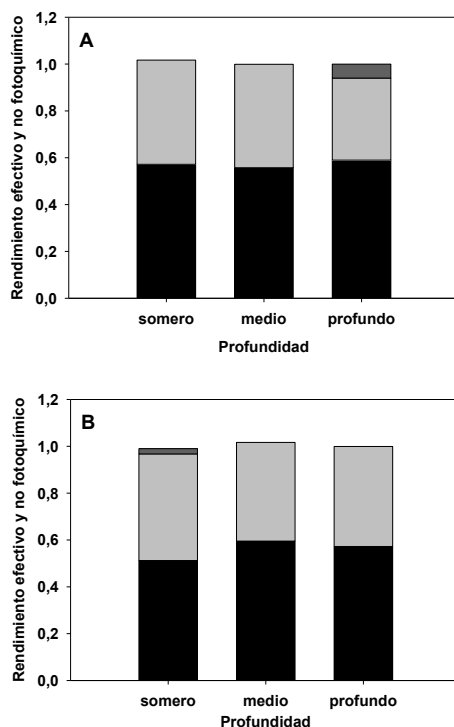


Figura 7. Rendimientos efectivos y no fotoquímicos: Y(NO), en barras gris claro, Y(NPQ), en barras gris oscuro y rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$), en barras negras, para *D. simplex* en los distintos estratos de profundidad (somero=0.05m, medio=0.4m y profundo=4m). (A)=11:00h y (B)=13:00h.

Los valores de Y(NPQ) registrados para *C. humilis* revelaron diferencias entre los estratos de profundidad de las 11 a las 13 horas ('Es x Ho', $p < 0,05$) (Tabla A12). A las 11h, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes estratos (test *a posteriori* $p > 0,05$) (Fig. 6A). En cambio, a las 13h se observó un aumento del Y(NPQ) en todas las profundidades, siendo mayor para los ejemplares del estrato medio, seguido del profundo y menor en el somero (test *a posteriori*, $p < 0,05$), mientras que no se observaron diferencias con el estrato profundo (Fig. 6B). Los valores de Y(NPQ) para *D. simplex* no mostraron diferencias significativas entre los estratos de profundidad y las horas de medida ('Es x Ho'; 'Es'; 'Ho' $p > 0,05$, tabla A15) (Fig. 7A,B).

Los parámetros fotosintéticos (obtenidos en las curvas ETR) no mostraron un cambio en el patrón de diferencias entre estratos de las 11 a las 13h para ambas macroalgas ('Es x Ho', $p > 0,05$) (Tablas A13,A16), excepto para los valores de eficiencia fotosintética (α_{ETR}), los cuales mostraron un cambio de patrón ('Es x Ho', $p < 0,05$) (Tabla A13,A16). Los valores de ETR_{max} no experimentaron apenas variación, excepto para *C. humilis* de la zona somera, donde aumentó de la mañana al mediodía (Tabla IV). La eficiencia fotosintética (α_{ETR}) de *C. humilis* no mostró diferencias significativas entre los estratos somero y medio a las 11h (test *a posteriori*, $p > 0,05$),

aunque en el estrato profundo α_{ETR} fue mayor (test *a posteriori*, $p < 0,05$) (Tabla IV). A mediodía, se obtuvieron diferencias significativas entre los distintos estratos de profundidad; los ejemplares de la zona somera y profunda registraron mayores valores de α_{ETR} que los ejemplares de la zona media (Tabla IV). Para *D. simplex*, observamos que la eficiencia fotosintética a las 11h en la zona somera fue mayor que en la zona media y profunda (Tabla IV). A las 13h, no se observaron diferencias significativas entre los distintos estratos de profundidad (test *a posteriori*, $p > 0,05$). La irradiancia de saturación (E_k) no mostró cambios entre los diferentes estratos de las 11 a las 13 horas, tanto para *C. humilis* como para *D. simplex* ('Es x Ho', $p > 0,05$). Se observaron diferencias, a nivel de efectos principales, para *C. humilis* ('Es', $p < 0,05$), revelando diferencias entre la zona somera, media y profunda, tendiendo a disminuir con la profundidad.

Tabla IV. Parámetros fotosintéticos obtenidos a través de ajustes de las curvas ETR vs irradiancia para *C. humilis* y *D. simplex* en las distintas horas de medida (11 y 13h) y estratos de profundidad. Media \pm error estándar.

Alga (estrato)	11h			13h		
	ETR_{max}	α_{ETR}	E_k	ETR_{max}	α_{ETR}	E_k
<i>C. humilis</i>						
somera	48,11 \pm 4,25	0,29 \pm 0,01 ^a	205,87 \pm 47,74	75,65 \pm 6,12	0,40 \pm 0,00 ^A	188,68 \pm 16,54
media	33,78 \pm 1,95	0,29 \pm 0,03 ^a	117,08 \pm 15,39	32,49 \pm 2,53	0,28 \pm 0,01 ^B	118,44 \pm 7,91
profunda	38,17 \pm 6,51	0,39 \pm 0,01 ^b	95,55 \pm 14,34	38,41 \pm 4,26	0,41 \pm 0,01 ^{AB}	91,53 \pm 8,41
<i>D. simplex</i>						
somera	9,73 \pm 1,06	0,05 \pm 0,00 ^a	201,31 \pm 24,99	9,33 \pm 2,25	0,03 \pm 0,00 ^A	281,08 \pm 56,72
media	8,13 \pm 0,36	0,03 \pm 0,00 ^b	270,87 \pm 12,15	6,61 \pm 0,80	0,03 \pm 0,00 ^A	220,00 \pm 26,86
profunda	7,40 \pm 0,16	0,03 \pm 0,00 ^b	246,53 \pm 5,48	8,14 \pm 1,37	0,03 \pm 0,00 ^A	271,40 \pm 45,84

Pigmentos fotosintéticos, compuestos foto-protectores, actividad antioxidante y contenido en C, N.

En general, se observó un aumento en el contenido en pigmentos con la profundidad para ambas macroalgas y cuya tendencia se mantiene a lo largo del día (Fig. 8,9). No obstante, el contenido en pigmentos de *C. humilis* no mostró diferencias significativas entre estratos de las 11 a 13 horas ('Es x Ho', $p > 0,05$) (Tabla A14). Para *D. simplex*, el contenido en pigmentos varió entre los distintos estratos de las 11 a las 13 horas ('Es x Ho', $p < 0,05$) (Tabla A17). A las

11h, tanto el contenido en Chl *a* como en carotenos mostraron un aumento con la profundidad, registrándose los valores más bajos en el estrato somero y los mayores en el estrato profundo (*test a posteriori*, $p < 0,05$). En cambio, el contenido en Chl *d* a las 11h fue mayor en el estrato medio, seguido del estrato somero y registrando los valores más bajas en el estrato profundo (*test a posteriori*, $p < 0,05$). A las 13h, el contenido en pigmentos para *D. simplex* no reveló diferencias entre los distintos estratos de profundidad (*test a posteriori*, $p > 0,05$) (Fig. 9).

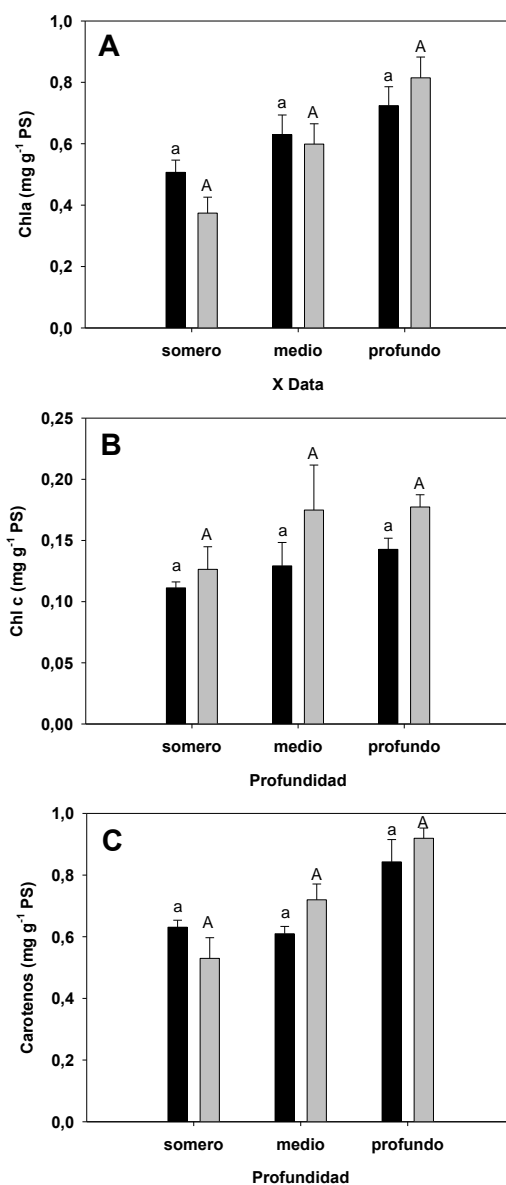


Figura 8. Contenido de clorofila *a* (A), clorofila *c* (B) y carotenos (C) en *C. humilis* en los distintos estratos de profundidad a las 11 y 13 horas (barra negra y gris respectivamente). Media \pm error estándar. Distintas letras minúsculas sobre las barras denotan diferencias significativas (*test a posteriori*) entre los distintos estratos en la mañana (11h), mientras que distintas letras mayúsculas reflejan las diferencias significativas a mediodía (13h) entre los distintos estratos de profundidad.

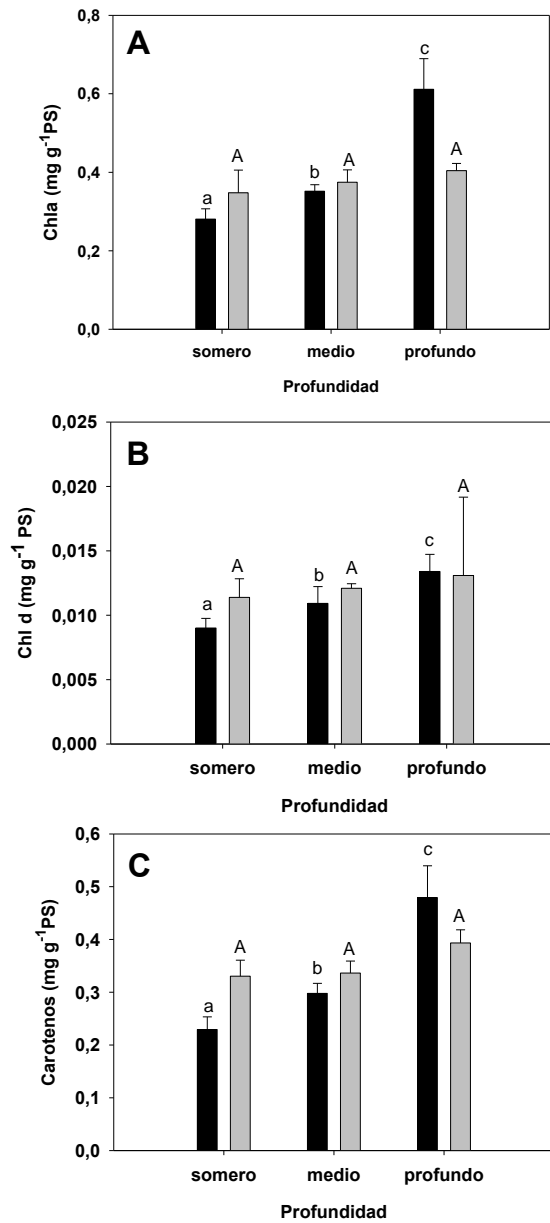


Figura 9. Contenido en clorofila *a* (A), clorofila *d* (B) y carotenos (C) para *D. simplex* en los distintos estratos de profundidad a las 11 y 13 horas (barra negra y gris respectivamente). Media ± error estándar. Distintas letras minúsculas sobre las barras denotan diferencias significativas (*test a posteriori*) entre los distintos estratos en la mañana (11h), mientras que distintas letras mayúsculas reflejan las diferencias significativas a mediodía (13h) entre los distintos estratos de profundidad.

La concentración de compuestos fenólicos de *C. humilis* varió a lo largo del día entre los distintos estratos de profundidad ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A14). A las 11h, la concentración de fenoles en el estrato somero fue mayor que en los estratos medio y profundo (test *a posteriori*, $p < 0,01$). En cambio, a las 13h, la concentración de fenoles fue similar en los estratos somero y medio, y mayores que los del estrato profundo (test *a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 10A).

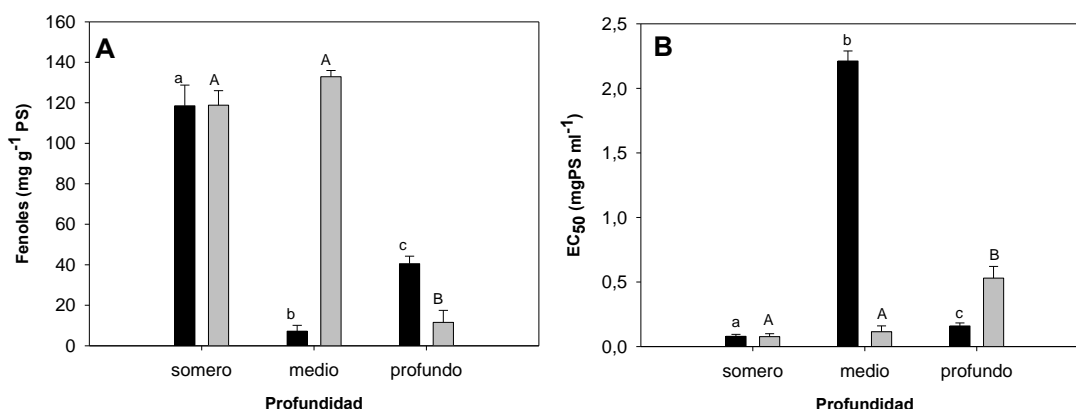


Figura 10. Contenido en fenoles totales (A) y actividad antioxidante medida a través del EC₅₀ (B) para *C. humilis* en los distintos estratos a las 11 h y 13h (barra negra y gris, respectivamente). Media \pm error estándar. Distintas letras minúsculas sobre las barras denotan diferencias significativas (test *a posteriori*) entre los distintos estratos en la mañana (11h), mientras que distintas letras mayúsculas reflejan las diferencias significativas a mediodía (13h) entre los distintos estratos de profundidad.

La actividad antioxidante de *C. humilis* fue diferente entre los estratos de profundidad según la hora de medida ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tabla A14). Al igual que con el contenido en fenoles, la actividad antioxidante reveló las mismas diferencias entre estratos, donde a las 11h los ejemplares del estrato somero y profundo presentan alta capacidad antioxidante, lo que contrasta con los altos valores de EC₅₀ obtenidos en el estrato medio, el cual revela peor actividad antioxidante. A las 13h, la actividad del estrato somero se mantiene alta, en el estrato medio la capacidad antioxidante aumenta con respecto a las 11h, mientras que en el estrato profundo disminuye (Fig. 10B). Se obtuvieron correlaciones positivas entre la concentración de fenoles y la actividad antioxidante ($1/EC_{50}$) para *C. humilis* en los tres estratos ($p < 0,03$) (Fig. 11).

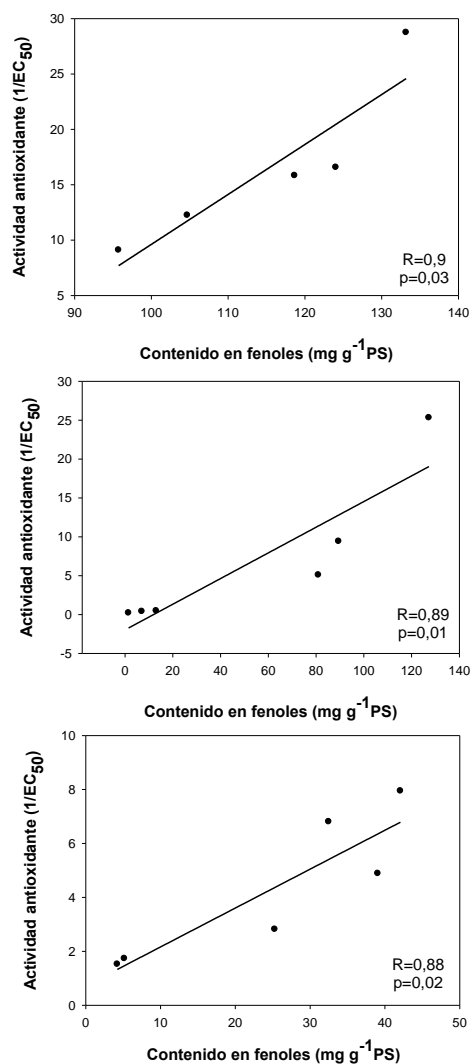


Figura 11. Correlación entre el contenido en fenoles y la actividad antioxidante (1/EC₅₀) en extractos de *C. humilis* en los estratos (A) somero, (B) medio y (C) profundo.

D. simplex registró diferencias en la concentración de aminoácidos tipo micosporinas entre estratos que variaron según la hora de medida ('Es x Ho', $p < 0,05$) (Tabla A18). A las 11 horas, algas procedentes del estrato somero y medio mostraron valores mayores respecto al estrato profundo. En cambio, a las 13h, la concentración de MAAs fue mayor en el estrato somero, disminuyendo en los ejemplares más profundos. También se obtuvieron valores más elevados a las 13h que a las 11h (Fig. 12). El aminoácido tipo micosporina (MAAs) dominante en *D. simplex* en el estrato somero, por la mañana, fue Shinorina, seguido de Palythine y Micosporina-2 glicina. Al mediodía, la concentración de Micosporina-2 glicina iguala al porcentaje de Shinorina. En los especímenes someros, además, aparece Asterina-330, un aminoácido que no se encuentra en los especímenes recolectados en las zonas medias y profundas (Tabla V).

Los MAAs dominantes en *D. simplex* recolectado en la zona intermedia en la mañana fueron Palythine y Micosporina-2-glicina. Al mediodía, en cambio, la concentración de Shinorina aumenta alcanzando los mismos niveles que Micosporina-2 glicina. Finalmente, los especímenes recolectados en aguas más profundas por la mañana presentan como MAAs dominantes, al igual que los de zonas intermedias, a Palythine y Micosporina-2 glicina. Al mediodía las concentraciones de los distintos MAAs se mantienen respecto a los de la mañana. (Tabla V)

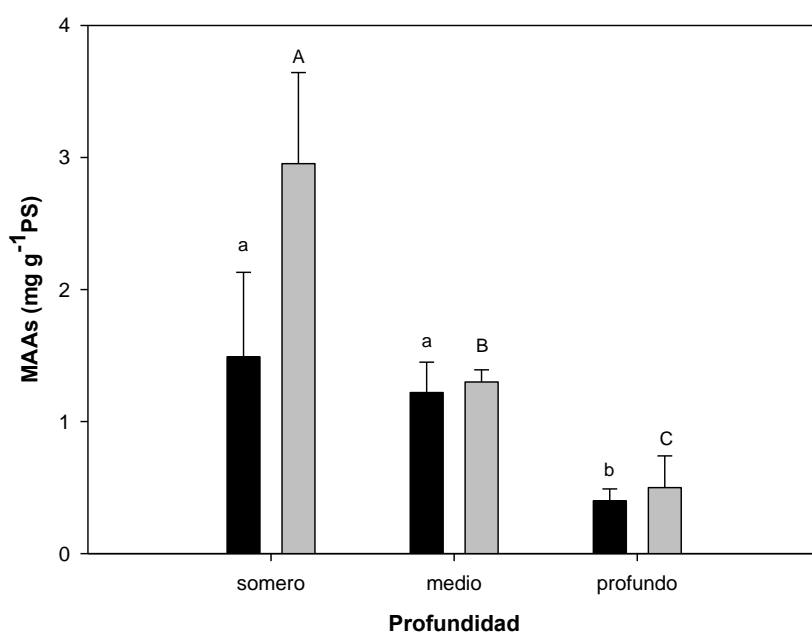


Figura 12. Concentración de aminoácidos tipo micosporinas, expresadas en mg g^{-1} PS, en *D. simplex* a las 11h y 13h (barra negra y gris, respectivamente) en los distintos estratos de profundidad. Media \pm error estándar. Distintas letras minúsculas sobre las barras denotan diferencias significativas (*test a posteriori*) entre los distintos estratos en la mañana (11h), mientras que distintas letras mayúsculas reflejan las diferencias significativas a mediodía (13h) entre los distintos estratos de profundidad.

Tabla V. Aminoácidos tipo micosporinas (MAAs) en *D. simplex* procedente de las distintas profundidades del charco intermareal. Media \pm error estándar.

Localización	% <i>Shinorina</i>	% <i>Porphyra-334</i>	% <i>Palythine</i>	% <i>Asterina-330</i>	%MAA- 2 glicina
Somera 0,5 m					
11:00	40,48 \pm 5,80 ^a	17,96 \pm 2,55 ^a	27,55 \pm 3,31 ^a	3,45 \pm 0,37 ^a	11,55 \pm 2,67 ^a
13:00	33,1 \pm 3,51 ^A	7,53 \pm 1,52 ^A	25,72 \pm 1,63 ^A	2,51 \pm 0,98 ^A	31,17 \pm 2,11 ^A
Media 1,5 m					
11:00	14,66 \pm 0,8 ^b	14,40 \pm 1,18 ^a	36,25 \pm 1,46 ^a	-	34,78 \pm 2,20 ^a
13:00	37,81 \pm 3,97 ^A	8,52 \pm 0,89 ^A	16,27 \pm 2,52 ^B	-	37,40 \pm 4,61 ^A
Profunda 3,5 m					
11:00	23,43 \pm 1,05 ^c	13,36 \pm 2,09 ^a	32,18 \pm 2,85 ^a	-	31,06 \pm 3,20 ^a
13:00	22,95 \pm 3,5 ^C	13,59 \pm 2,27 ^A	29,28 \pm 3,0 ^{AC}	-	34,18 \pm 3,16 ^A

La porcentaje de C y N de las distintas especies varió entre los distintos estratos de profundidad de las 11h a las 13h ('Es x Ho', $p < 0,01$) (Tablas A13,A16). Para *C. humilis*, el % C disminuyó con la profundidad a las 11h, con valores altos en el estrato somero y menores en el estrato profundo, mientras que a las 13h fue más bajo en el estrato profundo y somero, y mayor en el estrato medio (Tabla VI). Para *D. simplex*, el % C disminuyó con la profundidad a las 11h, no mostrando variaciones entre el estrato somero y medio, aunque si un aumento en el estrato profundo. En cambio, a las 13h se observó un aumento con la profundidad, donde el estrato somero y medio mostraron valores más bajos que el estrato profundo, donde se obtuvieron mayores % de C (Tabla VI). El % N de *C. humilis* a las 11h fue diferentes entre estratos, revelando el valor más alto en el estrato medio, seguido del estrato somero y valores más bajos en el estrato profundo. En cambio, a las 13h el % N disminuyó con la profundidad, con valores más elevados en el estrato somero y menores en el estrato medio y profundo. Para *D. simplex*, el contenido en nitrógeno a las 11h fue mayor en el estrato somero y menor en el estrato medio y profundo. En cambio, a las 13h, el % N disminuyó con la profundidad,

donde el estrato somero mostró los valores más elevados y el estrato profundo los más bajos (Tabla VI).

La relación C:N reveló que, de media, el contenido más alto corresponde a la especie de alga parda *C. humilis*, obteniendo menores contenidos en *D. simplex*. Las algas recolectadas a mayor profundidad presentan mayor ratio C:N que las algas más someras. A las 11h, *C. humilis* mostró valores más elevados en el estrato somero y profundo que en el estrato medio, donde se registró el valor más bajo. En cambio, a las 13h el estrato somero mostró valores más bajos que el estrato medio y profundo (*test a posteriori*, $p > 0,05$) (Fig. 13A). *D. simplex*, en cambio, no mostró variaciones significativas entre los diferentes estratos por la mañana (11h), mientras que a mediodía (13h) el alto contenido de ratio C:N de la zona profunda difiere significativamente de los ejemplares de la zona somera y media (*test a posteriori*, $p < 0,01$) (Fig. 13B).

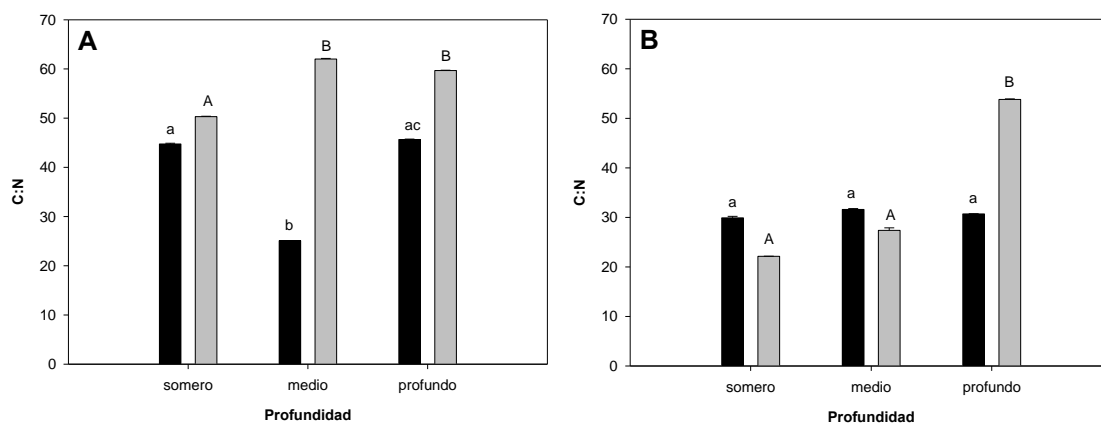


Figura 13. Ratios C:N para (A) *C. humilis* y (B) *D. simplex* procedentes de distintos estratos de profundidad a las 11h y 13h (barra negra y gris, respectivamente). Media \pm error estándar. Las letras minúsculas sobre las barras denotan diferencias significativas (*test a posteriori*) entre los distintos estratos en la mañana (11h), mientras que las letras mayúsculas reflejan las diferencias significativas a mediodía (13h) entre los distintos estratos de profundidad.

Tabla VI. Contenido en carbono y nitrógeno en las muestras de *C. humilis* y *D. simplex* en los diferentes estratos de profundidad (somero, medio y profundo) a las 11h y 13h. Media \pm error estándar.

	C		N	
	11h	13h	11h	13h
<i>C. humilis</i>				
somero	33 \pm 0,15 ^a	32,825 \pm 0,09 ^A	0,7375 \pm 0,01 ^a	0,6525 \pm 0,01 ^A
medio	31,425 \pm 0,01 ^b	33,99 \pm 0,13 ^B	1,252 \pm 0,02 ^b	0,548 \pm 0,05 ^B
profundo	30,45 \pm 0,10 ^c	32,525 \pm 0,07 ^{AC}	0,667 \pm 0,01 ^c	0,545 \pm 0,01 ^{BC}
<i>D. simplex</i>				
somero	32,695 \pm 0,28 ^a	33,68 \pm 0,02 ^A	1,093 \pm 0,01 ^a	1,5215 \pm 0,10 ^A
medio	32,325 \pm 0,17 ^a	33,27 \pm 0,52 ^A	1,023 \pm 0,01 ^b	1,2155 \pm 0,14 ^B
profundo	31,905 \pm 0,03 ^b	34,27 \pm 0,11 ^B	1,039 \pm 0,06 ^b	0,637 \pm 0,01 ^C

Discusión

Las charcas intermareales rocosas son hábitats donde los organismos experimentan condiciones más extremas que las algas del sistema submareal (Araujo *et al.* 2006). Las algas permanecen sumergidas durante todo el ciclo de marea y no están sujetos a los periodos cíclicos de emersión y desecación, pero experimentan rangos más extremos de temperatura, salinidad y pH (Metaxas & Scheibling, 1993). Durante nuestro estudio, constatamos el aumento de la temperatura y la irradiancia desde la mañana a mediodía a lo largo de las distintas profundidades, con mayor incremento en la zona somera. La alta irradiancia y la transparencia de las aguas superficiales en Canarias (Häder *et al.* 2001, Piazena *et al.* 2002) sugieren que las macroalgas deben poseer mecanismos de fotoprotección para tolerar el estrés por radiación, en relación a especies de otras regiones biogeográficas con menor irradiancia diaria (Llüning, 1990; Figueroa *et al.* 2009a). Los valores registrados de atenuación vertical de la radiación PAR y UV coinciden con lo observado por Figueroa *et al.* (2002) en aguas del sur de España, siendo lo esperado para aguas costeras muy claras (Tipo I clasificación de Jerlov).

En general, la magnitud del estrés ambiental y sus consecuencias son específicas para las especies y están relacionados con patrones verticales de zonación (Figuroa & Gómez, 2001). Las macroalgas que se encuentran a la latitud de las Islas Canarias están expuestas a altas dosis de radiación solar (Häder *et al.* 2001), por lo que se sugieren mecanismos eficientes de fotoprotección para tolerar el estrés lumínico. La fotoinhibición y la fotoprotección son propuestas como estrategias adaptativas a altas irradiancias (Hanelt, 1998; Abdala *et al.* 2006). Diversos estudios muestran los efectos de la radiación natural UV sobre el rendimiento fotosintético de las macroalgas en ambientes con altas exposiciones ambientales y revelan que la fotoinhibición bajo alta radiación solar depende básicamente de los cambios diarios en los niveles de irradiancia, la posición del alga en la costa, la atenuación vertical de la luz, o la combinación de estos factores (Figuroa *et al.* 1997, Flores-Moya *et al.* 1998, Figuroa *et al.* 2009a).

La variación del rendimiento máximo fotosintético y el ETR de las algas objeto de nuestro estudio ha revelado que decrecen debido a la combinación de distintos factores, como es la radiación PAR y UV y la temperatura, causando una aclimatación de las algas a distintas profundidades. Las especies que están aclimatadas a bajas condiciones de luz (ambientes esciáfilos) muestran caídas drásticas en la actividad fotosintética cuando son expuestas a condiciones de luz extremas (Häder *et al.* 1996). La habilidad de mostrar fotoinhibición dinámica durante la exposición a condiciones de luz elevadas, además de la aclimatación general de la fotosíntesis bajo distintos regímenes de luz, puede influenciar la distribución vertical de las macroalgas (Hanelt, 1996). En el presente estudio, la fotoinhibición fue distinta según la especie, aunque éstas compartan el mismo nicho ecológico. *Cystoseira humilis* presentó porcentajes de fotoinhibición más elevados en la zona profunda, disminuyendo paulatinamente hasta la zona somera, donde no se observó fotoinhibición. En contraste, *Digenea simplex* mostró porcentajes de fotoinhibición más elevados en la zona somera, disminuyendo hacia la zona profunda, donde en la zona media se observa sólo una ligera fotoinhibición (1.5%). Esto coincide con lo observado por otros autores. A partir de nuestros resultados en *C. humilis*, Hanelt & Roleda (2009) obtuvieron resultados similares para distintas algas pardas, siendo *Dyctiota spp.*, *Lobophora variegata* y *Turbinaria turbinata* las que mostraban mayor fotoinhibición cuando fueron recolectadas a mayor profundidad que las algas que crecen en zonas más someras. También se observó el mismo patrón para el alga parda *Laminaria saccharina*, donde las algas de mayor profundidad mostraban mayor sensibilidad a la radiación solar (Bischof *et al.* 1998). En comparación con los valores

observados en *D. simplex*, Sagert *et al.* (1997) obtuvo, para el alga roja *Chondrus crispus*, mayor fotoinhibición en las algas procedentes de la zona más someras y más profundas (3 y 8 m respectivamente), mientras que las especies recolectadas de la zona intermedia (4 y 6 m) revelaron una fotoinhibición más baja, lo que concuerda con lo obtenido en nuestro estudio.

Estos resultados nos muestran que el patrón de zonación está determinado fisiológicamente, y que varía según la especie; en nuestro caso, el alga parda *C. humilis* muestra mejor aclimatación a altas irradiancias y temperaturas que la especie de alga roja *D. simplex*. En todo caso, la fotoinhibición dinámica se considera un mecanismo de protección, ya que la rotura de la proteína D1 en el fotosistema II separa la antena fotosintética de los centros de reacción y de esta manera cae la actividad fotosintética, evitando al mediodía la acumulación de oxígeno convertible en sustancia oxidantes (oxígeno singlete, agua oxigenada) capaz de foto-dañar pigmentos, lípidos y proteínas (Figueroa & Gómez, 2001; Nishiyama *et al.* 2006). Marquardt *et al.* (2010) mostraron que la aclimatación de las algas del sur de Chile a distintas profundidades estaba relacionada con el régimen lumínico, acomodando la capacidad fotosintética a las condiciones de radiación en cada nivel batimétrico, pero siguiendo patrones diferentes. Su estudio reveló que *Sarcothalia crispata* presentó una combinación de aclimatación fisiológica y morfológica, *Mazzaella laminarioides* presentó únicamente mecanismos de aclimatación fisiológica y *Gracilaria chilensis* presentó una ligera aclimatación fisiológica. Figueroa *et al.* (2009a), en su estudio con *Hypnea spinella*, *Sargasum vulgare* y *Ulva lactuca*, recolectadas entre 1 y 4 m, concluyó que la aclimatación parece estar correlacionada con la zonación en profundidad de las especies, sugiriendo que las algas recolectadas en superficie exhiben mecanismos de fotoprotección más eficientes.

La variación del ETR revela un patrón de distribución vertical, donde las algas de la zona somera son más productivas. Las gráficas ETR vs. irradiancia nos revelan, para ambas especies, que las algas procedente de la zona somera aumentan su productividad desde la mañana al mediodía, mientras que las procedentes de las zonas media y profundas no se observó tal aumento en la capacidad fotosintética, excepto para *D. simplex* profunda que aumenta ligeramente su productividad. Los altos valores de ETR_{max} y E_k , unido a los bajos (o con variaciones pequeñas) de la α_{ETR} en los ejemplares de los estratos someros de ambas macroalgas muestran un patrón de adaptación al sol (García-Sánchez *et al.* 2012). Esto nos lleva a concluir que las algas de los estratos someros, tanto en *C. humilis* como en *D. simplex*, se encuentran mejor aclimatada a condiciones de estrés. Los resultados obtenidos por Bischof *et al.* (1998) en el alga parda *Laminaria saccharina* revelaron un aumento de la capacidad

fotosintética (ETR) en la especie recolectada a menor profundidad (3m). Sagert *et al.* (1997) en sus resultados obtenidos en *Chondrus crispus* a distintas profundidades obtienen que α_{ETR} aumenta con la profundidad, aunque no se reflejan variaciones entre las algas recolectadas hasta los 6m, si observando diferencias en el profundo, además de revelar una disminución de los valores de P_{max} con la profundidad. Esto concuerda con lo observado en nuestro estudio también para el alga roja *D. simplex*, donde a mediodía no se observan cambios en los valores de α_{ETR} y también observamos la disminución del ETR_{max} con la profundidad.

Una vez los macrófitos absorben luz, tienden a liberar el exceso de energía a través de mecanismos no fotoquímicos que relajan el estado de excitación de la clorofila y, sin causar daños, disipan el exceso de energía en forma de calor (Müller, 2001). En este contexto, complementario al cálculo del rendimiento de la fotosíntesis mediante fluorescencia, ha sido propuesto recientemente el análisis de estos mecanismos de amortiguación no fotoquímicos (Klughammer & Schreiber, 2008). En nuestro estudio, *C. humilis* reveló mayores valores en la mañana, mientras que a mediodía disminuyen los valores debido a un aumento del Y(NPQ) en todas las profundidades, revelando la activación de mecanismos de fotoprotección con el aumento de la irradiancia. *D. simplex*, por la mañana, muestra mayores valores de Y(NO) en la zona somera, revelando un mejor estado en la zona profunda. A mediodía, *D. simplex* procedente de la zona somera muestra una disminución en el Y(II), aunque ve aumentado su Y(NPQ), lo que nos puede llevar a pensar en la activación de mecanismos de fotoprotección en la zona somera, no observándose en la zona media y profunda. Esto puede explicar el daño o la no activación del amortiguamiento no fotoquímico, particularmente debido al ciclo Ascorbasa-Peroxidasa (Asada, 1999), el cual es responsable de la generación del gradiente de pH transtilacoidal después de la inactivación del flujo de electrones. Estos mecanismos están altamente relacionados con el ciclo de las xantofilas (Demming-Adams & Adams, 1996).

Los cambios en la irradiancia con la profundidad claramente influyen los niveles de pigmentación, al disminuir las condiciones de luz (Borum *et al.* 2002). El nivel de irradiación tiene un efecto pronunciado en la composición y cantidad de pigmentos de las macroalgas (Carnicas *et al.* 1999). La Chl *a* es el pigmento recolector final en la antena que traslada fotones a la cadenas transportadora de electrones, mientras que los carotenoides juegan dos papeles importantes: uno como pigmento captador de luz (pigmento accesorio que absorbe especialmente en la banda azul (400-450 nm) del espectro y transfiere fotones a la clorofila) y otro como elemento de protección del aparato fotosintético contra el exceso de radiación, especialmente por la absorción y disipación de la radiación UVA (320-400 nm) (Rimki *et al.*

1996; Vershini & Kamnev, 1996; Lubián & Montero, 1998; Schubert *et al.* 2006). Se ha mostrado que las macroalgas ajustan sus niveles de pigmentos permitiendo a los organismos usar la disponibilidad de luz más eficientemente (Rietchert & Dawes, 1986). En nuestro estudio, la concentración de pigmentos muestran un aumento con la profundidad en ambas especies, lo que coincide con lo encontrado por otros autores, e.g. *C. crispus*, *L. saccharina* y *Chaetomorfa linum* (Sagert *et al.* 1997, Borum *et al.* 2002, Bischof *et al.* 2006). Los valores de Chl *a* disminuyen a mayores irradiancias en *D. simplex* (i.e. desde la mañana a mediodía), revelando un ajuste del aparato pigmentario a mayores condiciones de luz. El aumento de pigmentos accesorios como los carotenos a mayores irradiancias puede explicarse debido al papel foto-protector de este tipo de pigmentos (Carnicas *et al.* 1999, Schubert *et al.* 2006). Las pequeñas variaciones que se registraron en *C. humilis* evidencian que ésta alga está mejor adaptada que *D. simplex*, la cual es más sensible y revela una adaptación del aparato fotosintético, siendo *C. humilis* más resistente a altas condiciones lumínicas.

El ratio C:N reveló variaciones con la profundidad para ambas especies, observándose un mayor valor del ratio C:N estructural en algas situadas a mayor profundidad, siendo menor en las algas más someras, especialmente en *D. simplex*. Así, la mayor actividad fotosintética en algas someras refleja una estequiometría más favorable (valores más bajos de C:N) como ha mostrado Duarte *et al.* (1992) tanto en micro como macroalgas. *C. humilis* muestra un aumento a irradiancias y temperaturas más elevadas (mediodía), mientras que sólo se observa este mismo patrón en *D. simplex* procedente de la zona profunda, tendiendo a disminuir en la zona media y somera a mediodía. Los valores de C fueron similares en ambas macroalgas, aumentando ligeramente a mediodía. En cambio, el contenido en N varió entre especies. *C. humilis* mostró menor contenido que *D. simplex*, la cual reveló un mejor estado nutricional por la mayor acumulación de N, aumentando la asimilación con el incremento de irradiancia y temperatura, lo cual no se observó en la zona profunda, donde disminuyó el contenido en N. En cambio, en *Palmaria palmata*, Martínez & Rico (2008) muestran que las especies aclimatadas a mayor irradiancia; i.e. las especies de aguas más someras, presentan niveles de C más altos y de nitrógeno y fósforo más bajos que las algas aclimatadas a sombra. Este patrón se relacionó con un alto contenido en Floridósidos (principal reserva de C) en alta irradiancia bajo limitación de nitrógeno y bajos cometidos de pools de N (biliproteínas o nitrato) por la alta demanda de nitrógeno en las condiciones de alta actividad fotosintética.

En las especies intermareales, junto con la fotoinhibición dinámica, la fotoprotección mediante la acumulación de sustancias fotoprotectoras es una eficiente adaptación fisiológica

que permite tolerar irradiancias dañinas cuando la marea baja coincide con horas de mediodía (Abdala *et al.* 2006). Se ha demostrado que el incremento de compuestos fenólicos sirve como mecanismo de fotoprotección bajo irradiancias elevadas, similar al proceso de fotoinhibición dinámica, y que estos actúan absorbiendo los fotones incidentes, o indirectamente como resultado de la capacidad antioxidante (Abdala *et al.* 2006, Connan *et al.* 2006, 2007). Se ha observado variaciones diarias en el contenido en fenoles en algas laminariales como *Macrocystis integrifolia* con el incremento de la luz solar o la radiación UV artificial (Swanson & Druehl, 2002). En *Cystoseira tamariscifolia*, Abdala *et al.* (2006) observó variaciones significativas diarias, donde disminuía alrededor de un 50% el contenido de fenoles por la mañana, seguido de un pico a mediodía para terminar al final del día con niveles altos. Las caídas en la concentración de fenoles al mediodía se relacionó con el incremento de la tasa de excreción de fenoles, siendo esto un sistema de protección, ya que parte de estos fenoles quedan atrapados en la matriz de polisacáridos de la pared celular (Koivikko *et al.* 2005; Gómez & Huovinen, 2010), sugiriendo la relación entre la foto-regulación por la producción de fenoles y la acumulación de radiación durante la exposición. En nuestro estudio, la concentración de compuestos fenólicos fue distinta entre especies y estratos de profundidad. El contenido en fenoles de *C. humilis* fue muy alto en la zona somera, no mostrando variación entre la mañana y mediodía. En cambio, en la zona intermedia, el contenido en fenoles totales aumentó drásticamente al mediodía (Abdala *et al.* 2006) y disminuyó en la zona profunda a mayores irradiancias. El alto contenido en fenoles, y la correlación positiva con la actividad antioxidante, en *C. humilis*, sugiere que estos compuestos actúan como mecanismos de fotoprotección (Zubia *et al.* 2009). Esta correlación ha sido observada para *Ascophylum nodosum* y *Sargasum muticum* (Connan *et al.* 2006), *Pelvetia canaliculata* y *Bifurcaria bifurcata* (Connan *et al.* 2007, Zubia *et al.* 2009) y *Cystoseira tamariscifolia*, *Fucus ceranoides* y *Halidrys siliquosa* (Zubia *et al.* 2009).

Los efectos nocivos que inducen la radiación UV en organismos acuáticos pueden ser aminorados a través de varios mecanismos de fotoprotección, entre los que se encuentran la acumulación de sustancias que absorben radiación UV (foto-protectores) y activación de sistemas antioxidantes (Korbee *et al.* 2006). Además de los fenoles, entre estas sustancias con papel potencial como pantalla de la radiación UV en organismos acuáticos se encuentran los aminoácidos tipo micosporina (MAAs) (Carreto *et al.* 2005), como la Micosporina-2 glicina con capacidad de protección frente a la peroxidación lipídica (Dunlap & Yamamoto, 1995; Dunlap & Shick, 1998) y secuestro de oxígeno singlete (Suh *et al.* 2003), o también peroxidación lípida y secuestro de radicales libres de Porphyra 334, Asterina-334 y Shinorina (de la Coba *et al.*

2009). Además los MAAs son capaces de reducir el daño de ADN (dímeros de Timina) (Misonou *et al.* 2003).

En general, gran parte de la evidencia experimental apoya la idea que una de las principales funciones de los MAAs es la fotoprotección, especialmente por su capacidad de absorber luz de longitudes de onda corta. Esto, unido a su alta foto-estabilidad *in vitro* (Conde *et al.* 2000, 2004) e *in vivo* (Adams & Shick, 2001), los convierten en efectivos agentes protectores frente a la radiación UV. En nuestro estudio, la concentración de MAAs en *D. simplex* varía con la profundidad, donde las algas de la zona somera muestran mayor contenido en MAAs que las procedentes de la zona profunda, revelando así el carácter fotoprotector de estos compuestos. Korbee *et al.* (2006) propone que la concentración de MAAs dependen de diversos factores. Uno de ellos ha sido observado por diversos autores (Post & Larkum, 1993; Karsten *et al.* 1999; Karsten & West, 2000), que relacionan una dependencia con la cantidad de radiación recibida, tanto tras exponer ejemplares de algas rojas de aguas profundas, como tras analizar la dependencia estacional. Observamos en nuestro estudio un aumento en el contenido de MAAs con la irradiancia, donde el contenido fue menor por la mañana que en horas de mediodía. Esto coincide con lo observado por Karsten *et al.* (1999) para *Devaleraea ramentacea*, donde el contenido en MAAs disminuye con la profundidad y aumentan con la irradiancia. Hoyer *et al.* (2001) también obtuvo una disminución en el contenido de MAAs con la profundidad para las especies de algas rojas *Iridaea cordata*, *Palmaria decipiens* y *Plocamium cartilagineum*.

En organismos marinos hay descritos 23 MAAs (Korbee *et al.* 2006). Se ha demostrado que Micosporina-2 glicina posee actividad antioxidante *in vitro* (Dunlap & Yamamoto, 1995). Es más, se ha identificado la capacidad que posee esta molécula de proteger sistemas biológicos capturando los radicales de oxígeno generados por estrés oxidativo en *Escherichia coli* (Suh *et al.* 2003). Esta propiedad podría relacionarse con la capacidad de los MAAs extraídos de *Porphyra yezoensis* de bloquear la producción de foto-dímeros de timina, como el 6-4 y 5-6 (Misonou *et al.* 2003). Se propone un amortiguamiento del estado de excitación de las moléculas de timina mediante un proceso de transferencia energética directa a los MAAs, relajándose posteriormente éstas y disipando calor (Misonou *et al.* 2003). Por otro lado, de la Coba *et al.* (2009) demuestra que Micosporina-2 Glicina, seguida de Porphyra-334, presenta alta capacidad de secuestro de radicales libres en medio soluble. Por otro lado, Asterina-330 (+Palythine) seguido de Porphyra-334 (+shinorina) presenta alta capacidad de protección frente a la peroxidación lipídica y, por tanto, contribuye a la estabilización de las membranas

celulares. *D. simplex* revela concentraciones de Micosporina-2 glicina (alrededor de un 30% del total de MAAs) con alta capacidad antioxidante y también tiene porcentajes por encima del 25% de Palthyne, Shinorine y Porphyrina-334 con capacidad antioxidante aunque en menor cuantía que Asterina-330. En los especímenes someros e intermedios se observan más variaciones temporales que los recolectados a más profundidad, lo que indica que el alga está respondiendo a las variaciones ambientales que afectan a la fotosíntesis y pueden producir fotoinhibición como la alta irradiancia solar y temperatura. Además, solo los especímenes someros contienen Asterina-330, el MAA con mayor capacidad de protección frente a la peroxidación lipídica y secuestro de radicales superóxido (de la Coba *et al.* 2009)

Las zonación de macroalgas está relacionada con la habilidad de resistir un alto estrés lumínico (Hanelt, 1998). En nuestro estudio, observamos como una misma especie situada a distinta profundidad modifica su aparato fotosintético y pigmentario para adaptarse a las distintas condiciones de luz y temperatura. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores para algas rojas y pardas (Sagert *et al.* 1997; Bischof, 1998; Karsten *et al.* 1999, Borum *et al.* 2002, Hanelt *et al.* 2006; Hanelt & Roleda, 2009). Los resultados obtenidos en *C. humilis* concuerdan con la situación de ésta alga en el sistema intermareal, donde ocupa, en Canarias, el lugar más alto en el intermareal, y siempre sumergida en charcos. Los datos obtenidos en distintas especies de *Cystoseiras* en Canarias (capítulo 3) revelan que *C. humilis* posee menores porcentajes de fotoinhibición en horas centrales del día, además de elevados ETR en la zona más somera. Los mecanismos de amortiguamiento no fotoquímico parecen también más activos en *C. humilis* en horas del mediodía. Y por último, revela mayores contenidos en fenoles y mayor capacidad antioxidante que en el resto de especies del mismo género. Con esto, demostramos que la zonación de las distintas especies del género *Cystoseira* en Canarias está restringida fisiológicamente, donde las especies más someras o con situación más elevada en la costa poseen mecanismos de aclimatación más activos a los distintos estresores ambientales que las especies más profundas.

Bibliografía

- Abdala-Díaz RT, Cabello-Pasini A, Pérez-Rodríguez E, Conde-Álvarez RM, Figueroa FL (2006). Daily and seasonal variations of optimum quantum yield and phenolic compounds in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyta). *Marine Biology* 148:459-465
- Adams NL, Shick JM (2001). Mycosporine-like amino acids prevent UVB-induced abnormalities during early development of the green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Marine Biology* 138:267-280
- Aguilera J, Bischof K, Karsten U, Hanelt D, Wiencke C (2002). Seasonal variation in ecophysiological patterns in macroalgae from an Arctic fjord. II. Pigment accumulation and biochemical defense systems against high light stress. *Marine Biology* 140:1087-1095
- Altamirano M, Flores-Moya A, Figueroa F (2000a). Long-term effects of natural sunlight under various ultraviolet radiation conditions on growth and photosynthesis of intertidal *Ulva rigida* (Chlorophyceae) cultivated *in situ*. *Botanica Marina* 43:119-126
- Altamirano M, Flores-Moya A, Conde F, Figueroa F (2000b). Growth seasonality, photosynthetic pigments, and carbon and nitrogen content in relation to environmental factors: a field study of *Ulva olivascens* (Ulvales, Chlorophyta). *Phycologia* 39:50-58
- Altamirano M, Flores-Moya A, Figueroa F (2003a). Effects of UV radiation and temperature on growth germlings of three species of *Fucus* (Phaeophyceae). *Aquatic Botany* 75:9-20
- Altamirano M, Flores-Moya A, Külenkamp R, Figueroa F (2003b). Stage dependent sensitivity to ultraviolet radiation on zygotes of the brown alga *Fucus serratus*. *Zygote* 11:101-106
- Araújo R, Sousa-Pinto I, Bárbara I, Quintino V (2006). Macroalgal communities of intertidal rock pools in the northwest coast of Portugal. *Acta oecologica* 30:192-202
- Asada K (1999). The water e water cycle in chloroplasts, scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50:601-639
- Astles KL (1993). Patterns of abundance and distribution of species in intertidal rock pools. *Journal of The Marine Biological Association of The United Kingdom* 73:555-569

- Barbieri ES, Villafañe VE, Helbling EW (2002). Experimental assessment of UV effects on temperate marine phytoplankton when exposed to variable radiation regimes. *Limnology and Oceanography* 47:1648-1655
- Benedetti-Cecchi L, Bulleri F, Cinelli F (2000). The interplay of physical and biological factors in maintaining mid-shore and low-shore assemblages on rocky coasts in the northwest Mediterranean. *Oecologia* 123:406-417
- Bertness M, Leonard G, Levine J, Bruno J (1999). Climate-driven interactions among rocky intertidal organisms caught between a rock and a hot place. *Oecologia* 120:446-450
- Bischof K, Gómez I, Molis M, Hanelt D, Ulf Karsten U, Lüder U, Roleda M, Zacher K, Wiencke C (2006). Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 5:141-166
- Bischof K, Hanelt D, Wiencke C (1998). UV-radiation can affect depth zonation of Antarctic macroalgae. *Marine Biology* 131:597-605
- Bischof K, Kräbs G, Wiencke C, Hanelt D (2002). Solar ultraviolet radiation affects the activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase and the composition of photosynthetic and xanthophyll cycle pigments in the intertidal green alga *Ulva lactuca* L. *Planta* 215:502-509
- Blois M (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Borum J, Pedersen MF, Krause-Jensen D, Christensen PB, Nielsen K (2002). Biomass, photosynthesis and growth of *Laminaria saccharina* in a high-arctic fjord, NE Greenland. *Marine Biology* 141:11-19
- Buma GJ, Boelen P, Jeffrey WH (2003). UVR-induced DNA damage in aquatic organisms, In: E.W. Helbling and H.E. Zagarese (eds.) *UV Effects in Aquatic Organisms and Ecosystems*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, pp. 291-327
- Buma GJ, Engelen AH, Gieskes WWC (1997). Wavelength-dependent induction of thymine dimers and growth rate reduction in the marine diatom *Cyclotella* sp. exposed to ultraviolet radiation. *Marine Ecology Progress Series* 153:91-97

- Buma GJ, van Hannen EJ, Veldhuis MJW, Roza L, Gieskes WWC (1995). Monitoring UV-B induced DNA damage in individual diatoms cells by immunofluorescence thymine dimer detection. *Journal of Phycology* 31:14-321
- Carnicas E, Jiménez C, Niell FX (1999). Effects of changes of irradiance on the pigment composition of *Gracilaria tenuistipitata* var. *liui* Zhang et Xia. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 50:149-158
- Carreto JI, Carignan MO, Montoya NG (2005). A high-resolution reverse-phase liquid chromatography method for the analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in marine organisms. *Marine Biology* 146: 237-252
- Choo KS, Nilsson J, Pedersén M, Snoeijs P (2005). Photosynthesis, carbon uptake and antioxidant defense in two coexisting filamentous green algae under different stress conditions. *Marine Ecology Progress Series* 292:127-138
- Cockell CS, Knowland J (1999). Ultraviolet radiation screening compounds. *Biological Reviews* 74:311-345
- Conde FR, Churio MS, Previtali CM (2000). The photoprotector mechanism of mycosporine-like amino acids. Excited-state properties and photostability of porphyra-334 in aqueous solution. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 56:139-144
- Conde FR, Churio MS, Previtali CM (2004). The deactivation pathways of the excited-states of the mycosporine-like amino acids shinorine and porphyra-334 in aqueous solution. *Photochemical and Photobiological Sciences* 3:960-967
- Connan S, Delisle F, Deslandes E, Ar Gall E (2006). Intra-thallus phlorotannin content and antioxidant activity in Phaeophyceae of temperate waters. *Botanica Marina* 49:39-46
- Connan S, Deslandes E, Ar Gall E (2007). Influence of day–night and tidal cycles on phenol content and antioxidant capacity in three temperate intertidal brown seaweeds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 349:359-369
- Connan S, Goulard F, Stiger V, Deslandes E, Ar Gall E (2004). Interspecific and temporal variation in phlorotanin levels in an assemblage of brown algae. *Botanica Marina* 47:410-416

- Davison IR, Pearson GA (1996). Stress tolerance in intertidal seaweeds. *Journal of Phycology* 32:197-211
- De la Coba F, Aguilera J, Figueroa F, De Gálvez MV, Herrera E (2009). Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. *Journal of Applied Phycology* 21:161-169
- Demmig-Adams B, Adams WW (1996). The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1(1):21-26
- Dring MJ, Wagner A, Boesko J, Lüning K (1996). Sensitivity of intertidal and subtidal red algae to UVA and UVB radiation, as monitored by chlorophyll fluorescence measurements: influence of collection depth, season and length of radiation. *European Journal of Phycology* 31:293-302
- Doucette GJ, Harrison PJ (1990). Some effects of iron and nitrogen stress on the red tide dinoflagellate *Gymnodinium sanguineum*. *Marine Ecology Progress Series* 62:293-306
- Duarte CM (1992). Nutrient concentration of aquatic plants: Patterns across species. *Limnology and Oceanography* 37(4):882-889
- Dunlap WC, Chalker BE, Oliver JK (1986). Bathymetric adaptations of the reef-building corals at Davies Reef, Great Barrier Reef, Australia. III. UV-B absorbing compounds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 104: 239-248
- Dunlap WC, Shick JM (1998). Ultraviolet radiation-absorbing mycosporine-like amino acids in coral reef organisms: a biochemical and environmental perspective. *Journal of Phycology* 34:418-430
- Dunlap WC, Yamamoto Y (1995). Small-molecule antioxidants in marine organisms: antioxidant activity of mycosporine-glycine. *Comparative Biochemistry and Physiology* 112B:105-114
- Engelen A, Espirito-Santo C, Simões T, Monteiro C, Serrão E, Pearson G, Santos R (2008). Periodicity of propagule expulsion and settlement in the competing native and invasive brown seaweeds, *Cystoseira humilis* and *Sargassum muticum* (Phaeophyta). *European Journal of Phycology* 43(3):275-282

- Espino F, Boyra A, Tuya F, Haroun R (2006). Guía visual de las especies marinas de canarias. Oceanográfica: Divulgación, educación y ciencia S.L. 482 pp. ISBN: 84-611-2308-5
- Fauchot J, Gosselin M, Levasseur M, Mostajir B, Belzile C, Demers S, Roy S, Villegas PZ (2000). Influence of UV-B radiation on nitrogen utilization by a natural assemblage of phytoplankton. *Journal of Phycology* 36:484-496
- Femino R, Mathieson A (1980). Investigations of New England marine algae IV. The ecology and seasonal succession of tide pool algae at Bald Head Cliff, York, Maine. USA. *Botanica Marina* 23:319-332
- Figueroa F, Gómez I (2001). Photosynthetic acclimation to solar UV radiation of marine red algae from the warm-temperate coast of southern Spain: A review. *Journal of Applied Phycology* 13:235-248
- Figueroa F, Jiménez , Viñegla B, Pérez-Rodríguez E, Aguilera J, Flores-Moya A, Altamirano M, Lebert M, Häder D (2002). Effects of solar UV radiation on photosynthesis of the marine angiosperm *Posidonia oceanica* from southern Spain. *Marine Ecology Progress Series* 230:59-70
- Figueroa F, Martínez B, Israel A, Neori A, Malta E, Ang Jr. P, Inken S, Marquardt R, Rachamim T, Arazi U, Frenk S, Korbee N (2009a). Acclimation of Red Sea macroalgae to solar radiation: photosynthesis and thallus absorptance. *Aquatic Biology* 7:159-172
- Figueroa F, Salles S, Aguilera J, Jiménez C, Mercado J, Viñegla B, Flores-Moya A, Altamirano M (1997). Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta* Thur. in Le Jol. *Marine Ecology Progress Series* 151:81-90
- Figueroa F, Viñegla B (2001). Effects of solar UV radiation on photosynthesis and enzyme activities (carbonic anhydrase and nitrate reductase) in marine macroalgae from Southern Spain. *Revista Chilena de Historia Natural* 74: 237-249
- Folin O, Cicalteu V (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal biological chemistry* 73:627-650
- Flores-Moya A, Gómez I, Viñegla B, Altamirano M, Perez-Rodriguez E, Maestre C, Caballero R, Figueroa F (1998). Effects of solar radiation on the endemic Mediterranean red alga

Rissoella verruculosa: photosynthetic performance, pigment content and the activities of enzymes related to nutrient uptake. *New Phytologist* 139:673-683

Ganning B (1971). Studies on chemical, physical and biological conditions in Swedish rockpool ecosystems. *Ophelia* 9:51-105

Gao K, Wu Y, Li G, Wu H, Villafañe VE, Helbling EW (2007). Solar UV radiation drives CO₂ fixation in marine phytoplankton: a double-edged sword. *Plant Physiology* 144:54-59

García-Pichel F (1994). A model for internal self-shading in planktonic organism and its implications for the usefulness of ultraviolet sunscreens. *Limnology and Oceanography* 39:1704-1717

García-Sánchez M, Korbee N, Pérez-Ruzafa M, Marcos C, Domínguez B, Figueroa F, Pérez-Ruzafa A (2012). Physiological response and photoacclimation capacity of *Caulerpa prolifera* (Forsskål) J.V. Lamouroux and *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson meadows in the Mar Menor lagoon (SE Spain). *Marine Environmental Research* 79:37-47

Gleason D F (1993). Differential effects of ultraviolet radiation on green and brown morphs of the Caribbean coral *Porites astreoides*. *Limnology and Oceanography* 38:1452-1463

Goes M, Martins CB, Teles FF, Matos JA, Guedes BL, Oria HF (1994). Moisture content and fatty acid composition of five tropical fruits. *Revista Ceres* 41:234-243

Gómez I, Figueroa F (1998). Effects of solar UV stress on chlorophyll fluorescence kinetics of intertidal macroalgae from southern Spain: a case study in *Gelidium* species. *Journal of Applied Phycology* 10:285-294

Gómez I, Figueroa F, Ulloa N, Morales V, Lovengreen C, Huovinen P, Hess S (2004). Patterns of photosynthesis in 18 species of intertidal macroalgae from southern Chile. *Marine Ecology Progress Series* 270:103-116

Gómez I, Huovinen P (2010). Induction of phlorotannins during uv exposure mitigates inhibition of photosynthesis and dna damage in the kelp *Lessonia nigrescens*. *Photochemistry and Photobiology* 86:1056-1063

- Gómez I, Huovinen P (2011). Morpho-functional patterns and zonation of South Chilean seaweeds: the importance of photosynthetic and bio-optical traits. *Marine Ecology Progress Series* 422:77-91
- Gómez I, Perez-Rodriguez E, Vinegla B, Figueroa F, Karsten U (1998). Effects of solar radiation on photosynthesis, UV-absorbing compounds and enzyme activities of the green alga *Dasycladus vermicularis* from southern Spain. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 47:46-57
- Grzymiski J, Johnsen G, Sakshaug E (1997). The significance of intracellular self-shading on the bio-optical properties of brown, red and green macroalgae. *Journal of Phycology* 33:408-414
- Häder D, Figueroa F (1997). Photoecophysiology of marine macroalgae. *Photochemistry and Photobiology* 66:1-14
- Häder D, Lebert M, Mercado J, Aguilera J, Salles S, Flores-Moya A, Jiménez C, Figueroa F (1996). Photosynthetic oxygen production and PAM fluorescence in the brown alga *Padina pavonica* measured in the field under solar radiation. *Marine Biology* 127:61-66
- Häder D, Porst M, Lebert M (2001). Photoinhibition in common atlantic macroalgae measured on site in Gran Canaria. *Helgoland Marine Research* 55:67-76
- Han YS, Han T (2005). UV-B induction of UV-B protection in *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 41:523-530
- Hanelt D (1996). Photoinhibition of photosynthesis in marine macroalgae. *Scientia Marina* 60 (1):243-248
- Hanelt D (1998). The capability for dynamic photoinhibition in Arctic macroalgae is related to their depth distribution. *Marine Biology* 131:361-369
- Hanelt D, Hawes I, Rae R (2006). Reduction of UV-B radiation causes an enhancement of photoinhibition in high light stressed aquatic plants from New Zealand lakes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 84:89-102
- Hanelt D, Roleda M (2009). UVB radiation may ameliorate photoinhibition in specific shallow-water tropical marine macrophytes *Aquatic Botany* 91:6-12

- Hanelt D, Tüg H, Bischof K, Grob C, Lippert H, Sawall t, Wiencke C (2001). Light regime in an Arctic fjord: a study to related to stratosphere ozone depletion as a basis for determination of UV effects on algal growth. *Marine Biology* 128:649-658
- Harley C, Helmuth B (2003). Local- and regional-scale effects of wave exposure, thermal stress and absolute versus effective shore level on patterns of intertidal zonation. *Limnology and Oceanography* 48:1498-1508
- Haroun R, Gil-Rodríguez MC, Wildpret W (2003). *Plantas marinas de las Islas Canarias*. 1ª ed. Madrid. Canseco editores. 319 p. ISBN: 84-932095-9-7
- Helbling EW, Villafañe VE, Buma GJ, Andrade M, Zaratti F (2001). DNA damage and photosynthetic inhibition induced by solar ultraviolet radiation in tropical phytoplankton (Lake Titicaca, Bolivia). *European Journal of Phycology* 36:157-166
- Helbling EW, Zagarese H (2003). *UV Effects in Aquatic and Ecosystems*. Comprehensive Series in Photosciences. The Royal Society of Chemistry, Cambridge
- Henley WJ, Levavasseur G, Franklin LA, Osmond CB, Ramus J (2001.) Photoacclimation and photoinhibition in *Ulva rotundata* as influenced by nitrogen availability. *Planta* 184:235-243
- Hoyer K, Karsten U, Sawall T, Wiencke C (2001). Photoprotective substances in Antarctic macroalgae and their variation with respect to depth distribution, different tissues and developmental stages. *Marine Ecology Progress Series* 211:117-129
- Huggett J, Griffiths CL (1986). Some relationships between elevation, physicochemical variables and biota of intertidal rock pools. *Marine Ecology Progress Series* 29:189-197
- Huovinen P, Matos J, Sousa-Pinto I, Figueroa F (2006). The role of nitrogen in photoprotection against high irradiance in the Mediterranean red alga *Grateloupia lanceola*. *Aquatic Botany* 84:208-316.
- Jassby A, Platt T (1976). Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 21(4):540-547
- Karsten U, Bischof K, Hanelt D, Tüg H, Wiencke C (1999). The effect of ultraviolet radiation on photosynthesis and ultraviolet absorbing substances in the endemic Arctic macroalga *Devaleraea ramentacea* (Rhodophyta). *Physiologia Plantarum* 105:58-66

- Karsten U, Sawall T, Hanelt D, Bischof K, Figueroa F, Flores-Moya A, Wiencke C (1998). An inventory of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in macroalgae from polar to warm-temperate regions. *Botanica Marina* 41:443-453
- Karsten U, West JA (2000). Living in the intertidal zone-seasonal effects on heterosides and sun-screen compounds in the red alga *Bangia atropurpurea* (Bangiales). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 254: 221-234.
- Kim Y, Kraemer G, Yarish C (2008). Physiological activity of *Porphyra* in relation to eulittoral zonation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 365:75-85
- Kirk JTO (1994) Light and photosynthesis in the aquatic environment. 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge, UK
- Koivikko R, Lopenen J, Honkanen T, Jormalainen V (2005). Contents of soluble, cell-wall-bound and exuded phlorotannins in the brown alga *Fucus vesiculosus*, with implications on their ecological functions. *Journal of Chemical Ecology* 31:195-2012
- Kooistra WHCF, Joosten AMT, van den Hoek C (1989). Zonation patterns in intertidal pools and their possible causes: a multivariate approach. *Botanica Marina* 32:9-26
- Korbee N, Figueroa F, Aguilera J (2006). Accumulation of mycosporine-like amino acids (MAAs): biosynthesis, photocontrol and ecophysiological functions. *Revista Chilena de Historia Natural* 79:119-132
- Korbee N, Huovinen P, Figueroa F, Aguilera J, Karsten U (2005). Availability of ammonium influences photosynthesis and the accumulation of mycosporine-like amino acids in two *Porphyra* species (Bangiales, Rhodophyta). *Marine Biology* 146:645-654
- Korbee-Peinado N, Abdala-Díaz R, Figueroa F, Helbling EW (2004). Ammonium and UV radiation stimulate the accumulation of mycosporine-like amino acids in *Porphyra columbina* (Rhodophyta) from Patagonia, Argentina. *Journal of Phycology* 40:248-259
- Klughammer C, Schreiber U (2008). Complementary PS II quantum yields calculated from simple fluorescence parameters measured by PAM fluorometry and the Saturation Pulse method. *PAM Application Notes* 1:27-35

- Litchman E, Neale PJ, Banaszak AT (2002). Increased sensitivity to ultraviolet radiation in nitrogen-limited dinoflagellates: photoprotection and repair. *Limnology and Oceanography* 47:86-94
- Lubian L, Montero O (1998). Excess light-induced violaxanthin cycle activity in *Nannochloropsis gaditana* (Eustigmatophyceae): effects of exposure time and temperature. *Phycologia* 37:16-23
- Lüning K (1990). Seaweeds. Their environment, biogeography and ecophysiology. Ed. Wiley-Interscience, New York, 527 pp
- Marquardt R, Schubert H, Varela D, Huovinen P, Henríquez L, Buschmann A (2010). Light acclimation strategies of three commercially important red algal species. *Aquaculture* 299: 140-148
- Martínez B, Rico JM (2008). Changes in nutrient content of *Palmaria palmata* in response to variable light and upwelling in northern Spain. *Journal of Phycology* 44:50-59
- Martins GM, Hawkins SJ, Thompson RC, Jenkins SR (2007). Community structure and functioning in intertidal rock pools: effects of pool size and shore height at different successional stages. *Marine Ecology Progress Series* 329:43-55
- Maxwell K, Johnson G (2000). Chlorophyll fluorescence- a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345):659-668
- Medina-Sánchez JM, Villar-Argaiz M, Carrillo P (2006). Solar radiation-nutrient interaction enhances the resource and predation algal control on bacterioplankton: a short-term experimental study. *Limnology and Oceanography* 51:913-924
- Metaxas A, Scheibling RE (1993). Community structure and organization of tidepools. *Marine Ecology Progress Series* 98:187-198
- Misonou T, Saitoh J, Oshiba J, Tokitomo Y, Maegawa M, Inoue Y, Hori H, Sakurai T (2003). UV absorbing substance in the red alga *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) Block Thymine Photodimer Production. *Marine Biotechnology* 5:194-200

- Mitchell DL, Karentz D (1993). The induction and repair of DNA photodamage in the environment, In: A.R. Young, L.O. Björn, J. Moan and W. Nultsch (eds.) Environmental UV Photobiology. Plenum, New York, pp. 345–377.
- Müller P, Li XP, Niyogi KK (2001). Non-photochemical quenching. A response to excess light energy. *Plant Physiology* 125:1558-1566
- Nishiyama Y, Allakhverdiev S, Murata N (2006). A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta* 1757:742-749
- Pavia H, Cervin G, Lindgren A, Aberg P (1997). Effects of UV-B radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* 157:139-146
- Pérez-Lloréns JL, Vergara JJ, Pino RR, Hernández I, Peralta G, Niell FX (1996). The effect of photoacclimation on the photosynthetic physiology of *Ulva curvata* and *Ulva rotundata* (Ulvales, Chlorophyta). *European Journal of Phycology* 33:349-359
- Pérez-Rodríguez E, Gómez I, Figueroa FL (1998). Effects of UV radiation on photosynthesis and excretion of UV-absorbing pigments of *Dasycladus vermicularis* (Chlorophyta, Dasycladales) from Southern Spain. *Phycologia* 37:379-387
- Piazena H, Pérez-Rodríguez E, Häder D, Figueroa F (2002). Penetration of solar radiation into the water column in the central subtropical Ocean-optical properties and possible biological consequences. *Deep Sea Research II: 49(17) Topical studies in Oceanography*:3513-3528
- Platt T, Gallegos I (1980). Modelling primary production. In P. G. Falkowski [ed.], p. 339–351. Primary productivity in the sea. Plenum.
- Post A, Larkum AWD (1993). UV-absorbing pigments, photosynthesis and UV-exposure in Antarctica: comparison of terrestrial and marine algae. *Aquatic Botany* 45:231-243
- Ramírez R, Tuya F, Sánchez-Perez P, Fernández-Gil C, Bergasa O, Haroun R, Hernández-Brito J (2005). Population structure and spatial distribution of the gastropod molluscs *Osilinus atrata* and *Osilinus sauciatus* in the rocky intertidal zone of the Canary Islands (Central East Atlantic). *Ciencias Marinas* 31(4):697-706

- Riechert R, Dawes CJ (1986). Acclimation of the green alga *Caulerpa racemosa* var. *uvifera* to light. *Botanica Marina* 29(6):533-538
- Rimki NE, Brunet C, Cabioch J, Lemoine Y (1996). Xanthophyll cycle and photosynthetic adaptation to environment in macro- and microalgae. *Hydrobiologia* 326/327:407-413
- Ritchie RJ (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research* 89:27-41
- Ritchie RJ (2008). Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls *a*, *b*, *c*, and *d* and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol, or ethanol solvents. *Photosynthetica* 46(1):115-126
- Sagert S, Forster RM, Feuerpfeil P, Schubert H (1997). Daily course of photosynthesis and photoinhibition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta) from different shore levels. *European Journal of Phycology* 32:363-371
- Sass L, Spetea C, Máté Z, Nagy F, Vass I (1997). Repair of UV-B-induced damage of photosystem II via de novo synthesis of the D1 and D2 reaction centre subunits in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Photosynthesis Research* 54:55-62
- Schubert N, García-Mendoza E, Pacheco-Ruiz I (2006). Carotenoid composition of marine red algae. *Journal of Phycology* 42:1208-1216
- Shelly K, Heraud P, Beardall J (2002). Nitrogen limitation in *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyceae) leads to increased susceptibility to damage by Ultraviolet-B radiation but also increased repair capacity. *Journal of Phycology* 38:713-720
- Suh HJ, Lee HW, Jung J (2003). Mycosporine-glycine protects biological systems against photodynamic damage by quenching singlet oxygen with a high efficiency. *Photochemistry and Photobiology* 78:109-113
- Swanson AK & Druehl LD (2002). Induction, exudation and the UV protective role of kelp phlorotannins. *Aquatic Botany* 73:241-253
- Takano S, Uemura D, Hirata Y (1978a). Isolation and structure of a new amino acid, palythine, from the zoanthid *Palythoa tuberculosa*. *Tetrahedron Letters* 26:2299-2300

- Takano S, Uemura D, Hirata Y (1978b). Isolation and structure of two new amino acids, palythanol and palythene, from the zoanthid *Palythoa tuberculosa*. *Tetrahedron Letters* 26:4909-4912
- Tsujino I, Yabe K, Sekekawa I (1980). Isolation and structure of a new amino acid, shinorine, from the red alga *Chondrus yendoi* Yamada et Mikami. *Botanica Marina* 23:65-68
- Underwood AJ (1980). The effects of grazing by gastropods and physical factors on the upper limits of distribution of intertidal macroalgae. *Oecologia* 46:201-213
- Underwood AJ (1997). *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press. Cambridge, UK
- Underwood AJ, Jernakoff P (1984). The effects of tidal height, wave exposure, seasonality and rock-pools on grazing and the disturbance on intertidal macroalgae in New South Wales, Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 75:71-96
- Van de Poll WH, Eggert A, Buma AGJ, Breeman M (2001). Effects of UV-B induced DNA damage and photoinhibition of growth of temperate marine red macrophytes: habitat-related differences in UV-B tolerance. *Journal of Phycology* 37:30-37
- Vergara JJ, Bird KT, Niell FX (1995). Nitrogen assimilation following NH_4^+ pulses in the red alga *Gracilariopsis lemaneiformis*: effect on C metabolism. *Marine Ecology Progress Series* 122:253-263
- Vershini AO, Kamnev AN (1996). Xanthophyll cycle in marine macroalgae. *Botanica Marina* 39:421-425
- Villafañe VE (2004). Ultraviolet radiation and primary productivity in temperate aquatic environments of Patagonia (Argentina). Ph.D. thesis, University of Groningen, Groningen, 133 pp
- Villafañe V, Sundbäck K, Figueroa F, Helbling E (2003). Photosynthesis in the aquatic environment as affected by UVR. In: Helbling EW, Zagarese HE (eds) *UV effects in aquatic organisms and ecosystems*, pp: 357-97. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK

Viñegla B (2000). Efecto de la radiación ultravioleta sobre actividades enzimáticas relacionadas con el metabolismo del carbono y nitrógeno en macroalgas y fanerógamas marinas. Tesis Doctoral. Universidad de Málaga, Málaga.

Wiencke C, Clayton MN, Gómez I, Iken K, Lüder UH, Amsler CD, Karsten U, Hanelt D, Bischof K, Dunton K (2007). Life strategy, ecophysiology and ecology of seaweeds in polar waters. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 6:95-126

Wolfe J, Harlin M (1988). Tidepools in Southern Rhode Island, U.S.A. I. Distribution and seasonality of macroalgae. *Botanica Marina* 31:525-536

Zubia M, Fabre MS, Kerjean V, Le Lann K, Stiger-Pouvreau V, Fauchon M, Deslandes E (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry* 116:693-701

Efectos de la erupción submarina en el Mar de Las Calmas (El Hierro, Islas Canarias, España) sobre la abundancia, morfología, actividad fotosintética y fisiológica de las macroalgas pardas *Padina pavonica* y *Lobophora variegata*



Capítulo

5



Introducción

La quema de combustibles fósiles y las actividades antropogénicas han provocado que la concentración de CO₂ en la atmósfera se incremente drásticamente en las últimas décadas (IPCC 2007, Dupont *et al.* 2012), pronosticándose una disminución de entre 0.3 y 0.4 unidades de pH para el año 2100, pudiendo tener consecuencias importantes sobre el clima global y los ecosistemas marinos (Dupont *et al.* 2012). Todo ello, unido a la evidencia de aumento de temperaturas (IPCC 2007), hace pensar que los distintos estresores asociados al cambio climático pueden afectar la vida marina (Hawkins *et al.* 2009). Los océanos poseen un poder de absorción de CO₂ de casi un 50%, siendo grandes sumideros del exceso de CO₂ antropogénico (Sabine *et al.* 2004, Hofmann *et al.* 2010). El CO₂ procedente de la atmósfera se disuelve en el océano, formando ácido carbónico (H₂CO₃), el cual se disocia para dar lugar a bicarbonato (HCO₃⁻), protones (H⁺) y carbonatos (CO₃²⁻). Esta absorción constante por parte del océano hace que se incremente la concentración de iones H⁺, provocando la reducción del pH, produciéndose, consecuentemente, la acidificación del océano (Caldeira & Wickett, 2003; Orr *et al.* 2005, Hall-Spencer *et al.* 2008, Dupont *et al.* 2010, Arnold *et al.* 2012, Kerrinson *et al.* 2012). Desde la revolución industrial, debido al rápido incremento en la concentración de CO₂ en la atmósfera, los cambios en el pH se están acelerando comparado a cómo ha cambiado a lo largo de miles de años, lo que probablemente tendrá consecuencias sobre los ecosistemas marinos, y a su vez afectará a la economía global (Caldeira & Wickett, 2003; Raven *et al.* 2005, IPCC 2007, Fabry *et al.* 2008; Orr, 2011).

El estudio de los efectos de la acidificación de los océanos sobre la biota marina se ha convertido en uno de los temas más importantes en la actualidad y hay un gran esfuerzo de monitorización y de modelado para prever y prevenir sus posibles impactos sobre el funcionamiento de los ecosistemas marinos (Kassahn *et al.* 2009). Estos estudios, no obstante, están mayormente confinados a experimentos a pequeña escala en el laboratorio, diseñados para estudiar un número limitado de especies (Widdicombe *et al.* 2010). Sin embargo, se han aprovechado fenómenos naturales, como las fumarolas y diversos fenómenos volcánicos, para estudiar el efecto directo de las emisiones volcánicas submarinas que aportan cantidades importantes de CO₂ al medio, afectando así a la biota asociada. Estos fenómenos de aporte de CO₂ submarino suministran gradientes naturales de pH, que son tremendamente útiles para conocer lo que puede ocurrir bajo distintos escenarios de acidificación (Hall-Spencer *et al.* 2008, Arnold *et al.* 2012). Diversos estudios han mostrado como afecta la acidificación a la disolución de estructuras y esqueletos en organismos que utilizan el carbonato cálcico, como es el caso de corales, algas coralinas, etc. (Martin *et al.* 2008, Cigliano *et al.* 2010, Dias *et al.*

2010, Fabricius *et al.* 2011). En general, se han observado pérdidas en la riqueza, cobertura y densidad de corales y algas coralinas (Fabricius *et al.* 2011) y un incremento en algas no calcáreas y plantas marinas, al haber mayor disponibilidad de CO₂ (Fabricius *et al.* 2011, Porzio *et al.* 2011), aumentando también la fotosíntesis, reproducción y nivel de carbohidratos solubles en fanerógamas marinas, como el caso de *Zostera marina* (Palacios & Zimmerman, 2007). Porzio *et al.* (2011) concluyeron que la mayoría de algas pueden tolerar niveles de pH pronosticados para el fin de este siglo (pH= 7.8), pero simplificándose las comunidades al dominar unas pocas especies. Asimismo, Connell & Russell (2010) demostraron que el incremento de CO₂ no tuvo efecto sobre la cobertura de algas cespitosas a temperatura ambiente (17°C), si bien incrementó la cobertura cuando el descenso de pH se acompañó de un aumento de temperatura. En resumen, la disminución de pH alterará, en mayor medida, a los organismos que necesiten carbonato cálcico en sus procesos metabólicos, estructuras y esqueletos. Por el contrario, organismos fotosintéticos no calcáreos pueden verse beneficiados por el aumento de CO₂.

En el caso particular de macroalgas marinas, una duplicación de los niveles de CO₂ respecto a los niveles actuales produjo un incremento de la biomasa y abundancia del 52% en algas de zonas templadas, como *Lomentaria articulata* (Kübler *et al.* 1999), y hasta del 130% en otras especies de zonas cálidas (Gao *et al.* 1993); consecuentemente, en estas especies se produjo un aumento del crecimiento (Gao *et al.* 1999, Kübler *et al.* 1999, Riebesell *et al.* 2007). Además, hay efectos interactivos, que pueden ser sinérgicos o antagónicos, con variables de cambio climático, como la temperatura (Bischof *et al.* 2006, Häder *et al.* 2007; Gao & Zheng, 2010; Porzio *et al.* 2011). Por ejemplo, se ha estudiado la interacción entre la acidificación y la radiación UV en pocos trabajos (Gao & Zheng, 2010; Porzio *et al.* 2011). En el alga roja *Corallina sessilis* se demuestra que la radiación UV y acidificación actúan sinérgicamente reduciendo la actividad fotosintética, calcificación, el contenido de pigmentos fotosintéticos y crecimiento, mientras se incrementa la concentración de compuestos fotoprotectores (Gao & Zheng, 2010). Arnold *et al.* (2012) demostraron también una pérdida de productos fenólicos en un gradiente de pH, observando altas tasas de pastoreo en zonas cercanas a eventos de emisión de CO₂, debido a la pérdida de protección de esas sustancias que las plantas producen a modo de defensa (anti-herbivoría).

Erupción submarina en el Mar de las Calmas, El Hierro

El 10 de octubre de 2011 se inició una erupción submarina en la isla de El Hierro (Islas Canarias, España), fenómeno que provocó un aumento en la concentración de CO₂ en el agua, además de otros factores como cambios termales, anoxia y enriquecimiento en metales (Fraile-Nuez *et al.* 2012). Al mismo tiempo, la actividad volcánica produjo la liberación de nutrientes al agua, principalmente Fe, Si, P y N, lo que causó una fertilización de las aguas superficiales alrededor del foco durante el evento eruptivo (Santana-Casiano *et al.* 2013). Durante dicha erupción, que se dio por finalizada oficialmente el 5 de marzo de 2012, grandes cantidades de gases, sólidos y calor derivaron desde el manto quedando en las aguas de alrededor de la boca eruptiva. Estos componentes emitidos por el volcán submarino generaron una mancha de color verde-marrón (Fig. 1A) que se vio desplazada por las corrientes marinas y por fenómenos oceanográficos meso-escalares, como remolinos, que produjeron una advección de la mancha alrededor de la isla, fundamentalmente en dirección sur y suroeste (Fraile-Nuez *et al.* 2012). En determinadas ocasiones, y a modo de pulsos, se produjo la llegada de la mancha a la costa, principalmente en la zona sur ('Mar de Las Calmas') haciendo que las características del agua cambiasen y afectasen a los organismos costeros. La erupción causó un fuerte impacto en la fauna marina local, provocando la mortandad de miles de peces, debido básicamente a las fuertes condiciones de anoxia que se produjeron cerca de la boca eruptiva (Fraile-Nuez *et al.* 2012) incluyendo también a otros organismo invertebrados, como holoturias, que sufrieron un proceso de descalcificación de sus estructuras calcáreas internas (González-Navarro, 2012).

La erupción submarina nos ha brindado la oportunidad de estudiar los efectos de distintos estresores asociados al cambio global en ambientes marinos, y así conocer los efectos sobre la biota asociada. En particular, el objetivo de nuestro estudio fue analizar los posibles efectos de la acidificación asociada a la erupción del volcán submarino de la isla de El Hierro sobre a abundancia, morfología, actividad fotosintética y fisiológica de las macroalgas pardas *Padina pavonica* y *Lobophora variegata* (Phaeophyceae, familia Dictyotaceae) en plataformas rocosas del litoral de la isla. Se seleccionaron estas dos algas pardas, ya que: (1) son muy abundantes en la isla de El Hierro (Tuya & Haroun, 2006) y (2) son dos algas con morfología similar (talo en abanico), si bien *P. pavonica* presenta incrustaciones de carbonato cálcico y *L. variegata* carece de calcificación (Haroun et al. 2003).

Material y método

Área de estudio y diseño experimental

Se seleccionaron dos localidades en la costa adyacente al punto de erupción, como representativas de zonas directamente afectadas por el evento eruptivo (S1 y S2), y otra localidad situada en la isla de Gran Canaria (S3) (Fig. 1B), con características oceanográficas y ambientales similares (exposición al oleaje, geomorfología, etc.) como control, debido a la imposibilidad de localizar zonas en la isla de El Hierro con las mismas características y flora asociada que, con certeza, no se viera afectada por el fenómeno volcánico desde el comienzo (noviembre 2011) hasta su finalización (marzo 2012). Se recolectaron muestras de las algas en las 3 localidades para dos tiempos: durante la erupción submarina (24-26 Noviembre 2011) y otro inmediatamente posterior a la finalización del evento eruptivo (24-26 Marzo 2012). Colecciones de ambas algas se almacenaron *in situ* en frío y posteriormente fueron congeladas (-20°C, -80°C, según el tipo de análisis). En cada tiempo, la Tª, pH y S‰ se midieron mediante una sonda multi-paramétrica (HI-9828, Hanna Instrument, USA) y la irradiancia se determinó mediante un sensor PAR plano (Licor 189) conectado a un radiómetro (LI-1000, Li-cor, USA).

Cambios inter-anales en los patrones de abundancia de P. pavonica y L. variegata en localidades directamente afectadas por la erupción

Para las dos localidades afectadas por la acidificación de las aguas en la isla de El Hierro (S1 y S2) dispusimos de una serie temporal de monitoreo de abundancia (cobertura), incluyendo marzo-2003, Octubre-2003, Marzo-2004, así como durante el periodo de actividad volcánica (Noviembre-2011). En cada ocasión, se cuantificó *in situ* el porcentaje de cobertura algal mediante cuadrados de 50 x 50 cm (0.25m²), siguiendo procedimientos estándar para el Archipiélago Canario (Tuya & Haroun 2006). Los cuadrados (n=10), fueron lanzados al azar en la banda intermareal más baja, separándolos entre sí varios metros; esta técnica rápida y no destructiva se utiliza para evaluar la estructura de la comunidad y la dominancia de la biota sésil. Los valores finales para cada taxón se expresaron en porcentajes. Un ANOVA de 2 vías para los porcentajes de cobertura de *Padina pavonica* y *Lobophora variegata* nos permitió conocer si los cambios en cobertura de ambas algas difirió significativamente entre las 2 'localidades' (factor fijo con 2 niveles: S1 y S2) y 'tiempos' (factor aleatorio con 4 niveles: marzo-2003, Octubre-2003, Marzo-2004 y Noviembre-2011). Los datos mostraron homogeneidad de varianzas, por lo que no hubo que realizar transformaciones. La significancia

de los F-ratios se contrastó mediante 4999 permutaciones de los datos a través del software PERMANOVA, utilizando la distancia euclidiana como medida de disimilitud. Cuando fue apropiado, se ejecutaron test a pares (*a posteriori*) mediante 4999 permutaciones de los datos.

Morfología de Padina pavonica

Se realizaron recolecciones de *Padina pavonica* en las 3 localidades de muestreo para noviembre 2011 y marzo de 2012. Las muestras fueron almacenadas *in situ* en frío y posteriormente congeladas (-20°C). En el laboratorio, procedimos a medir el área calcificada de individuos de *Padina pavonica* recogidos en noviembre 2011 y marzo de 2012 (Fig. 1C). Los ejemplares (n=17) fueron digitalizados mediante una cámara digital acoplada (MVB3000 MD300) a la lupa binocular, para el cálculo del área calcificada mediante el freeware ImageJ (NHI, USA). Las diferencias en el porcentaje de calcificación entre las localidades (S1, S2 y S3) y tiempos (noviembre 2011 vs. marzo de 2012) fueron analizadas mediante un ANOVA de 2 vías, incluyendo 'localidades' (factor fijo con 3 niveles) y 'tiempos' (factor fijo con 2 niveles), usando los mismos criterios que los anteriormente considerados. Los datos mostraron homogeneidad de varianzas, por lo que se usaron datos no transformados.

Actividad fotosintética

La actividad fotosintética fue estimada mediante la fluorescencia *in vivo* de la clorofila *a* asociada al fotosistema II, empleando el fluorímetro Diving-PAM (Walz GmbH, Alemania)(Fig. 1D). Para ello, se recolectaron algas de las dos especies y se expusieron a la radiación solar en contenedores de polietileno blanco (20 x 20 x 10 cm), donde se tomaron medidas de fluorescencia en distintas horas (9, 11 y 13 h). Con los centros de reacción del fotosistema totalmente relajados, estado aclimatado a la oscuridad, se obtuvieron los valores mínimos y máximos de fluorescencia, F_0 y F_m respectivamente, aplicando un pulso de saturación de luz actínica ($2350 \mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 0.8 s), obteniendo así valores de rendimiento óptimo $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$ (n=8). En muestras iluminadas no aclimatadas a la oscuridad, donde los centros de reacción permanecen cerrados, se obtuvieron los valores mínimos y máximos, F y F'_m , respectivamente, después de un pulso de saturación de luz actínica, quedando definido como $\Delta F/F'_m = (F'_m - F)/F'_m$ (n=8). La capacidad fotosintética, medida a través de la tasa de transporte de electrones (ETR), se obtuvo a través de curvas rápidas de luz. La luz actínica fue incrementándose cada 20 s exponiendo la muestra a 9 irradiancias progresivas, desde 85 a

1748 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las curvas de luz fueron construidas calculando el ETR directo del PSII para cada nivel de luz actínica mediante la fórmula:

$$\text{ETR} = (\Delta F/F'm) * E * A * FII$$

donde $\Delta F/F'm$ es rendimiento efectivo, E es la irradiancia (luz actínica en cada punto de la curva), A representa la absorción de cada especie (0,74 para *P. pavonica* y 0,83 para *Lobophora variegata*) y FII, la fracción de clorofila asociada al PSII, que para algas pardas es 0,8 (Grzyski *et al.* 1997). Las curvas de luz fueron ajustadas según el modelo de Jasby y Platt (1976) y de Platt y Gallegos (1980) en casos donde hubo fotoinhibición, para obtener los valores de eficiencia (α), irradiancia de saturación (E_k) y ETR máximo (ETR_{max}) (García-Sánchez *et al.* 2012).

Se realizó un ANOVA de 3 vías, para cada alga, incluyendo las 'localidades' (factor fijo con 3 niveles: S1, S2, y S3), 'tiempos' (factor fijo con 2 niveles: noviembre-2011 vs. marzo-2012) y 'horas' (factor aleatorio con 3 niveles correspondiente a las horas de medida: 9, 11 y 13h), con objeto de detectar diferencias significativas para los distintos parámetros fotosintéticos entre localidades, tiempos y horas de medida, usando los mismos criterios que los anteriormente comentados. Para *L. variegata*, los datos mostraron homogeneidad de varianzas, no siendo así en el caso de *P. pavonica*, para la cual se aplicó un $\text{Ln}(x)$ como transformación, obteniendo así varianzas homogéneas. En todos los casos, nuestro interés residió en la significancia de la interacción 'Lo x Ti', que nos indicó si el patrón de diferencias en rendimiento fotosintético entre localidades varió del periodo eruptivo (noviembre 2011) al post-eruptivo (marzo 2012).

Pigmentos fotosintéticos, contenido en fenoles y actividad antioxidante

Los pigmentos fotosintéticos clorofila *a* (*Chl a*), clorofila *c* (*Chl c*) y el contenido en carotenos fueron determinados espectrofotométricamente. Los análisis se realizaron mediante extracción de pigmentos de las algas (20 mg peso fresco) usando como solución extractora 1ml de acetona al 90% saturada de hidróxido de carbonato de magnesio ($\text{C}_4\text{Mg}_4\text{O}_{12}$), manteniendo en oscuridad 12h a 4°C. Después de centrifugar a 4000 rpm durante 20 min, cada sobrenadante fue usado para medir los pigmentos mediante barrido desde 480 a 750 nm en un espectrofotómetro. La concentración de clorofila y carotenos fue calculada según Ritchie (2006, 2008). El contenido en pigmento fue expresado en mg g^{-1} PS.

El análisis de compuestos fenólicos se realizó para fragmentos del talo de *P. pavonica* y *L. variegata* (0,25g PS, n=3); las muestras se molieron en un mortero con arena de mar a 4°C, extrayéndose durante la noche en tubos de centrifuga con 2.5 ml de metanol al 80%. La mezcla fue centrifugada a 4000 rpm durante 30 minutos a 4°C y se recogió el sobrenadante (Sigma 2-16PK, Göttingen, Alemania). Los compuestos fenólicos totales, expresados en mg PS g⁻¹, fueron determinados usando floroglucinol como estándar, siguiendo el método de Folin-Ciocalteu (Folin & Ciocalteu, 1927). La reacción se completó después de 120 minutos en oscuridad a 4°C y se leyó la absorbancia a 760 nm mediante un espectrofotómetro (Thermo Scientific Evolution 201, UV-Visible, Shanghai, China).

La actividad antioxidante fue medida a través del radical libre DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) por triplicado, según Blois (1958). Se tomaron 150 µL del extracto metanólico y se mezclaron con 1,5 ml de metanol al 90% y 150 µL de solución de DPPH preparada diariamente a 1,27 nM. La reacción fue completada después de 30 min en oscuridad a temperatura ambiente, y medida la absorbancia a 517 nm. Los valores de concentración de DPPH (µM) fue calculada a través de concentración del extracto de alga (mg PS ml⁻¹) con el fin de obtener el valor de EC₅₀ (índice de oxidación), el cual representa la concentración de extracto (mg PS ml⁻¹) que se requiere para reducir al 50% el DPPH. Se usó ácido ascórbico como control positivo.

Las diferencias en el contenido de fenoles, EC₅₀ y pigmentos entre 'localidades' (factor fijo, 3 niveles: S1, S2 y S3), 'tiempos' (factor fijo con 2 niveles: noviembre-2011 vs. marzo-2012) y 'horas' (factor aleatorio con 3 niveles: 9, 11 y 13h) se contrastaron mediante un ANOVA de 3 vías, usando los mismos criterios que los anteriormente comentados. Todas las variables mostraron homogeneidad de varianzas sin o con transformación (Tablas V y VII).

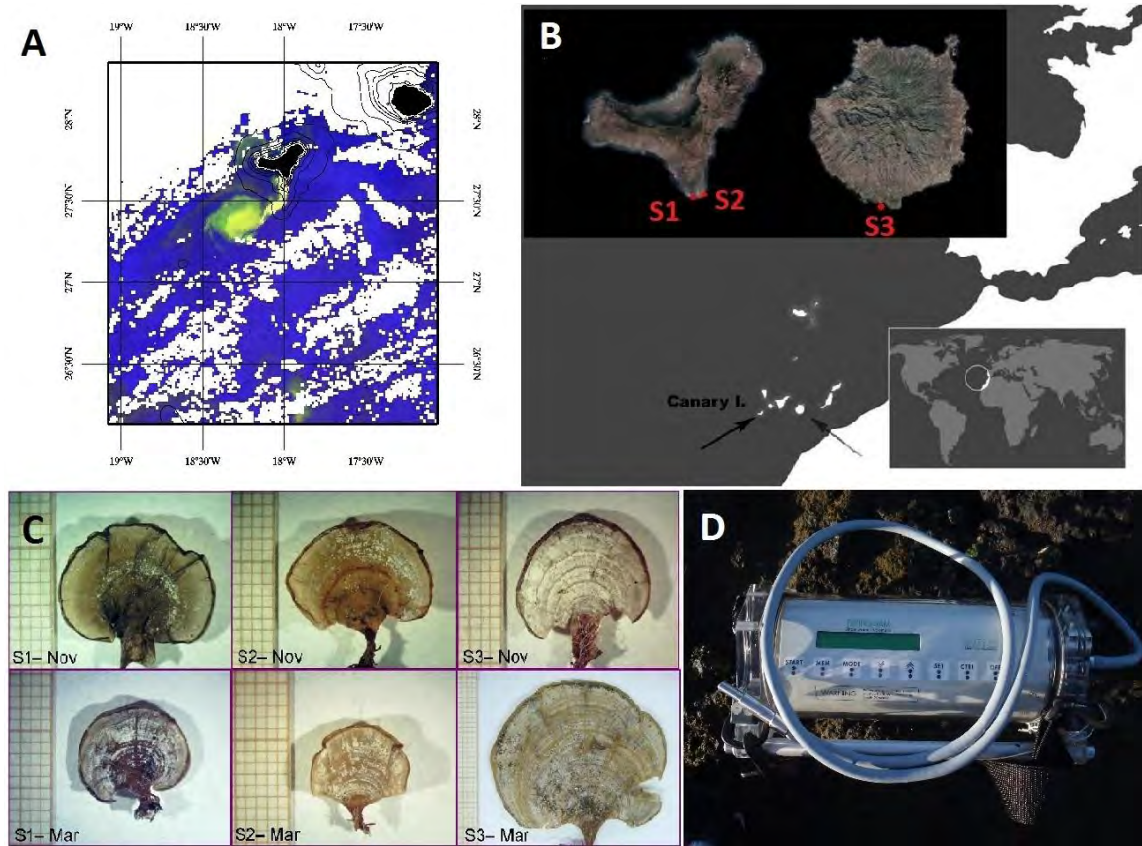


Figura 1. (A) Composición RGB de las reflectancias de teledetección para las bandas de 6671, 531 y 412 nm del sensor MODIS a bordo del satélite AQUA para el 2 de noviembre de 2012, mostrando la isla de El Hierro y la gran mancha verde generada por la erupción submarina. (B) Localización geográfica del área de estudio. La figura superior izquierda representa las islas de Gran Canaria y El Hierro con las localidades estudiadas. (C) Talos de *P. pavonica* durante y después del evento eruptivo para cada localidad. (D) Fluorímetro sumergible Diving-PAM (Walz, Alemania) con el que se realizaron las medidas de actividad fotosintética.

Resultados

Escenario oceanográfico

Registramos un descenso del pH en el periodo eruptivo de 0,91 y 0,36 unidades para S1 y S2, respecto a la localidad control S3 (Tabla I). La temperatura a lo largo de tiempo fue ligeramente superior para S1 y S2 con respecto a S3, debido al típico gradiente de temperatura del agua de mar entre las islas del archipiélago (Santana-Casiano *et al.* 2007).

Tabla I. Caracterización oceanográfica durante el periodo eruptivo (noviembre 2011) y post-eruptivo (marzo 2012) del agua de mar en las distintas localidades. Medias ± error estándar.

	Noviembre 2011			Marzo 2012		
	pH	Tª	Salinidad	pH	Tª	Salinidad
S1	7,54±0,02	21,71±0,02	36,74±0,11	8,43±0,006	20,13±0,03	34,70±0,10
S2	8,09±0,01	21,31±0,03	36,75±0,01	8,50±0,02	21,30±0,08	35,30±0,08
S3	8,45±0,02	19,80±0,02	35,12±0,30	8,51±0,01	19,52±0,02	35,08±0,01

Cambios en la abundancia de P. pavonica y L. variegata en localidades directamente afectadas por la erupción

La cobertura de *P. pavonica* y *L. variegata* siguió el mismo patrón temporal entre las localidades ('Ti x Lo', P>0,05, Tabla A19). La cobertura de ambas especies algales durante el evento volcánico no difirió significativamente respecto a años anteriores ('Ti', P>0,05, Tabla A19) (Figs. 2).

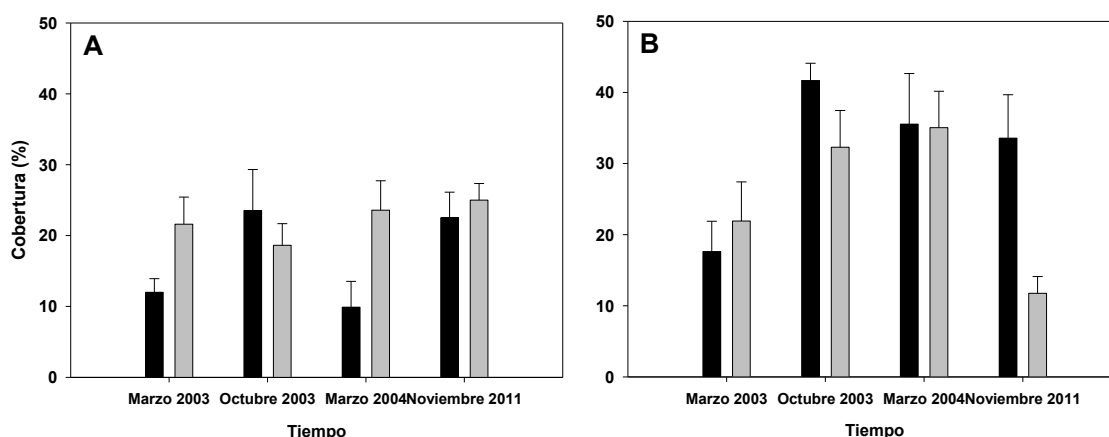


Figura 2. Porcentaje de cobertura de *Padina pavonica* (barra negra) y *Lobophora variegata* (barra gris) en las localidades impactadas (A) S1 y (B) S2, en una serie histórica comparando con Noviembre de 2011, un mes después del inicio de la erupción submarina.

Morfología de Padina pavonica

La diferencia en el porcentaje de calcificación de *P. pavonica* entre localidades cambió entre los dos tiempos ('Ti x Lo', $P=0.0002$, Tabla A20). En noviembre de 2011, las localidades adyacentes al punto de erupción presentan una clara descalcificación con respecto al control (test *a posteriori*: $S1>S2>S3$, Fig. 3). En contraste, no se encontraron diferencias entre localidades para marzo de 2012 (Fig. 3).

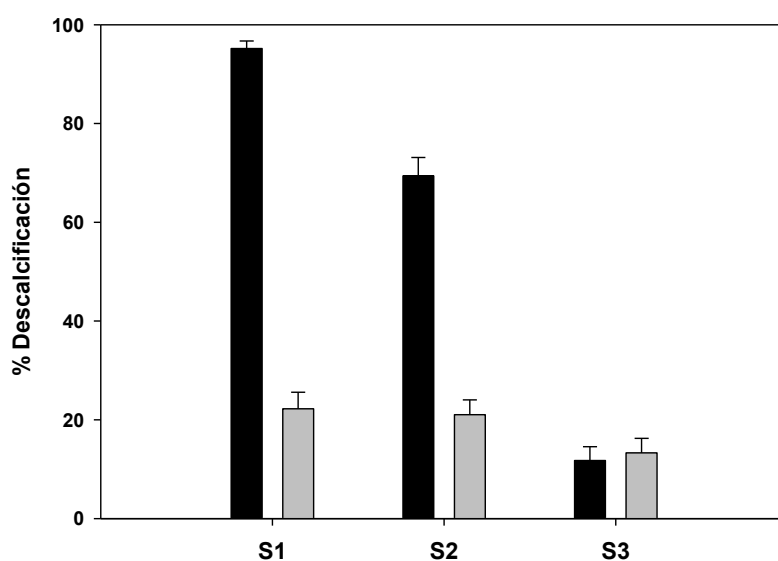


Figura 3. Porcentaje de descalcificación para *P. pavonica* en las 3 localidades de estudio, donde se muestra la descalcificación durante el periodo eruptivo, Noviembre 2011 (barra negra), y post eruptivo, Marzo 2012 (barra gris). Media \pm error estándar.

Actividad fotosintética

La evolución del rendimiento fotosintético óptimo (Fv/Fm) de ambas algas a lo largo de las horas para cada localidad varió entre tiempos ('Ti x Lo x Ho', $P<0,01$) (Tablas A21,A23). El rendimiento fotosintético óptimo (Fv/Fm) de *P. pavonica* no mostró diferencias significativas entre localidades y tiempos ('Lo', 'Ti', $P>0,05$, Tabla A21). Lo que es más importante, esta ausencia de diferencias en Fv/Fm entre localidades no varió entre el evento eruptivo y post-eruptivo ('Ti x Lo', $P>0,05$, Tabla A21). Las diferencias entre horas a lo largo del día ('Ho', $P<0.001$) nos muestra como varía el valor de Fv/Fm con respecto a la irradiancia, obteniéndose valores más bajos de Fv/Fm en noviembre 2011 que en marzo 2012 ('Ti x Ho', $P<0.001$, Fig. 4). Asimismo, las diferencias en Fv/Fm entre horas variaron entre localidades a lo largo de estudio ('Lo x Ho', $P<0.001$, Tablas A21,A23). De igual forma y para *L. variegata* (Fig.

5), el patrón de rendimiento óptimo no fluctuó entre localidades del periodo eruptivo al post-eruptivo ('Ti x Lo', $P > 0,05$) (Tabla A23). De nuevo, observamos diferencias para el Fv/Fm entre las distintas horas de medida que variaron según las distintas localidades ('Lo x Ho', $P < 0,001$, Tabla A23); en particular, cambió el patrón para la localidad S1 en noviembre de 2011. Para el resto de localidades y para ambas algas, la tendencia general fue la misma: los valores de Fv/Fm caen a medida que aumenta la hora del día.

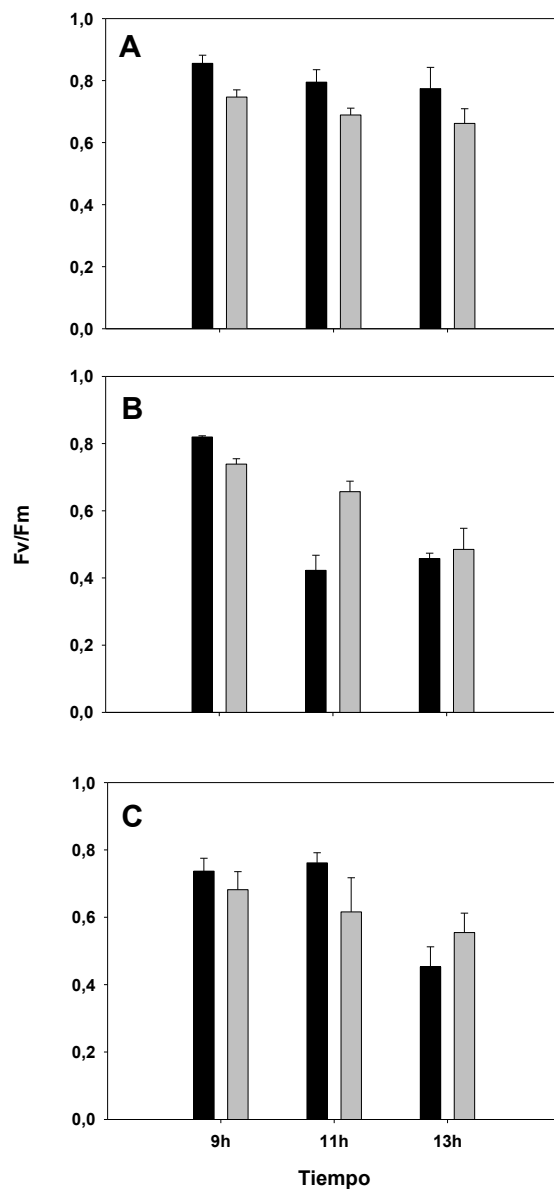


Figura 4. Rendimiento máximo fotosintético (Fv/Fm) de *P. pavonica* en las localidades impactadas (A) S1 y (B) S2, y en la localidad control (S3) para noviembre de 2011 (barra negra) y marzo 2012 (barra gris).

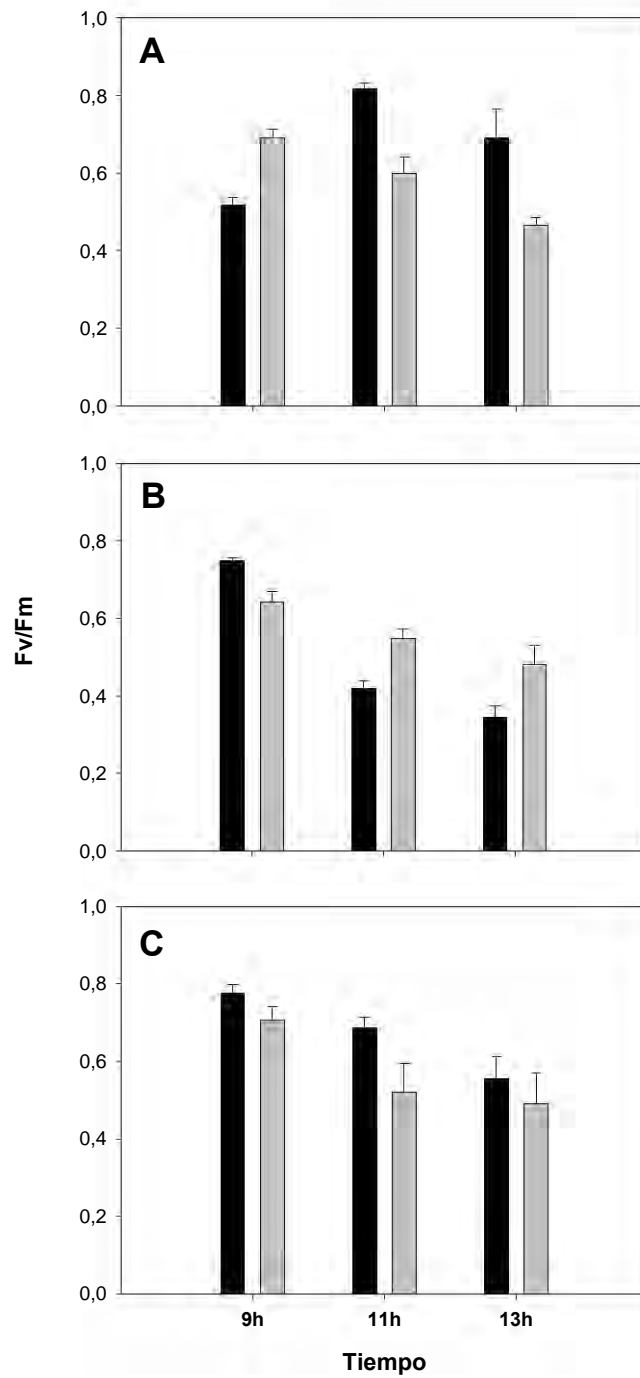


Figura 5. Rendimiento máximo fotosintético (Fv/Fm) de *L. variegata* en las localidades impactadas (A) S1 y (B) s2, y en la localidad control (S3) para noviembre de 2011 (barra negra) y marzo 2012 (barra gris).

Los datos obtenidos a través de las curvas de ETR no revelaron distintos patrones para las localidades entre el periodo eruptivo y post-eruptivo ($Ti \times Lo$, $p > 0,05$, Tablas A21,A23), excepto para la irradiancia de saturación de *P. pavonica*, que si mostró diferencias significativas entre localidades en el tiempo ($'Ti \times Lo'$, $p < 0,01$, Tabla A21). Los test *a posteriori* mostraron elevados E_k en las localidades afectadas por la actividad volcánica (S1 y S2) con respecto a la localidad control (S3) durante el evento eruptivo (noviembre 2011), pero no después de la erupción (marzo 2012), donde los valores fueron más bajos en las localidades impactadas y semejantes que en la localidad control (Tabla II). Para *L. variegata* sólo encontramos diferencias significativas a nivel de factores principales para E_k (Ti , $p < 0,01$, Tabla A23). Los valores de ETR_{max} y α_{ETR} (eficiencia fotosintética) mostraron diferencias significativas exclusivamente entre las distintas horas de medida ($'Ho'$, $P < 0,01$, Tabla A21) para *P. pavonica*; para *L. variegata* observamos cambios entre horas que variaron entre localidades y tiempos ($'Lo \times Ho'$; $'Ti \times Ho'$, $P < 0,05$, Tabla A23).

Pigmentos fotosintéticos, contenido en fenoles y actividad antioxidante

El contenido en Chl *c* y en carotenos mostraron el mismo patrón entre localidades entre el periodo eruptivo y post-eruptivo en ambas macroalgas ($'Ti \times Lo'$, $P > 0,05$) (Tablas A22,A24). Los valores obtenidos para Chl *a*, sin embargo, nos muestran que las diferencias entre localidades variaron entre el periodo eruptivo y post-eruptivo ($Ti \times Lo$, $P < 0,05$) (Tablas A22,A24), observando un mayor contenido de Chl *a* para la localidad S1 en noviembre de 2011, pero no en marzo de 2012 (test *a posteriori*, $P < 0,05$) (Tabla III). S1 muestra mayores contenidos en pigmentos, y en todas las localidades se observan valores ligeramente superiores en noviembre 2011 que en marzo 2012, por lo que se hacen patentes otras fuentes de variabilidad (estacional) como causante de las diferencias, y no al evento eruptivo ($Ti \times Lo \times Ho$, $P > 0,05$, Tablas A22,A24).

Tabla II. Parámetros obtenidos de las curvas ETR vs Irradiancia, donde se observan los datos de ETR_{max}, α y E_k para las distintas *P. pavonica* y *L. variegata* durante la erupción submarina (Noviembre 2011) y al finalizar el evento eruptivo (Marzo 2012). Media \pm error estándar.

	S1		S2		S3	
	Noviembre 2011	Marzo 2012	Noviembre 2011	Marzo 2012	Noviembre 2011	Marzo 2012
<i>P. pavonica</i>						
ETR_{max}	106,90 \pm 4,94	71,71 \pm 7,59	64,11 \pm 9,77	83,96 \pm 11,70	80,13 \pm 10,36	88,21 \pm 7,43
α_{ETR}	0,24 \pm 0,04	0,35 \pm 0,047	0,20 \pm 0,025	0,29 \pm 0,020	0,43 \pm 0,06	0,43 \pm 0,05
E_k	450,66 \pm 20,27	232 \pm 50,91	317,66 \pm 45,52	285,66 \pm 35,59	191,33 \pm 31,01	212 \pm 28,46
<i>L. variegata</i>						
ETR_{max}	86,43 \pm 12,11	42,72 \pm 5,89	76,23 \pm 10,58	33,01 \pm 4,12	67,53 \pm 5,81	55,43 \pm 11,08
α_{ETR}	0,21 \pm 0,02	0,16 \pm 0,012	0,18 \pm 0,02	0,14 \pm 0,007	0,25 \pm 0,02	0,23 \pm 0,042
E_k	406,33 \pm 41,24	262,66 \pm 34,10	392,66 \pm 87,09	230,66 \pm 27,19	268,33 \pm 11,32	237,66 \pm 20,01

Tabla III. Contenido en Chl *a*, Chl *c* y carotenos, expresados en mg g⁻¹ PS, en *P. pavonica* y *L. variegata* durante el evento eruptivo (Noviembre 2011) y post-eruptivo (Marzo 2012). Media ± error estándar.

	<i>Chl a</i>		<i>Chl c</i>		Carotenos	
	Nov-11	Mar-12	Nov-11	Mar-12	Nov-11	Mar-12
<i>P. pavonica</i>						
S1	2,09 ± 0,13	2,05 ± 0,12	0,85 ± 0,05	0,84 ± 0,11	1,69 ± 0,07	1,64 ± 0,09
S2	1,54 ± 0,01	1,57 ± 0,09	0,16 ± 0,01	0,03 ± 0,01	1,28 ± 0,01	1,39 ± 0,07
S3	1,57 ± 0,11	0,82 ± 0,07	0,13 ± 0,02	0,09 ± 0,01	1,30 ± 0,07	0,73 ± 0,05
<i>L. variegata</i>						
S1	2,92 ± 0,19	2,07 ± 0,01	1,31 ± 0,09	0,90 ± 0,05	2,32 ± 0,09	1,83 ± 0,02
S2	2,26 ± 0,20	2,05 ± 0,05	0,31 ± 0,03	0,29 ± 0,05	2,17 ± 0,29	1,71 ± 0,04
S3	1,70 ± 0,20	0,37 ± 0,01	0,34 ± 0,03	0,36 ± 0,02	1,55 ± 0,16	1,74 ± 0,06

La evolución del contenido en fenoles a lo largo de las horas para cada localidad varió entre tiempos ('Ti x Lo x Ho', $P < 0,01$) (Tablas A22, A24). El análisis de la concentración de compuestos fenólicos reveló una disminución a lo largo del día en las localidades directamente afectadas por la actividad volcánica (S1 y S2), con mínimos al mediodía durante el episodio de erupción submarina, tanto para *P. pavonica* como para *L. variegata*. Una vez finalizada la erupción submarina, sin embargo, los valores de concentración de fenoles apenas variaron con las horas del día, mostrando un patrón distinto al observado en el momento de la erupción (test *a posteriori*, $P < 0,05$) (Figs. 6, 7). En la localidad control (S3), por el contrario, el contenido en fenoles no varió a lo largo de las horas en noviembre de 2011, pero aumentó con las horas del día en marzo de 2012.

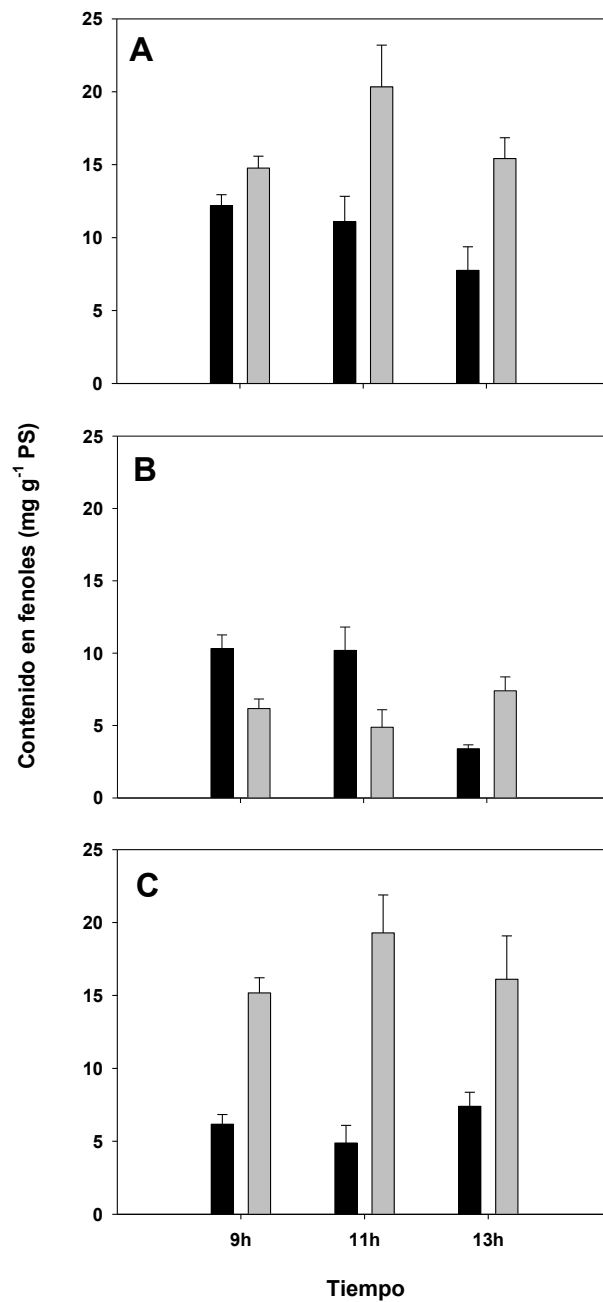


Figura 6. Contenido en fenoles totales (A) en los extractos de *P. pavonica* durante el periodo eruptivo y post eruptivo (barra negra y barra gris respectivamente) en las localidades impactadas (A) S1 y (B) S2 y en la localidad control (S3). Media \pm error estándar.

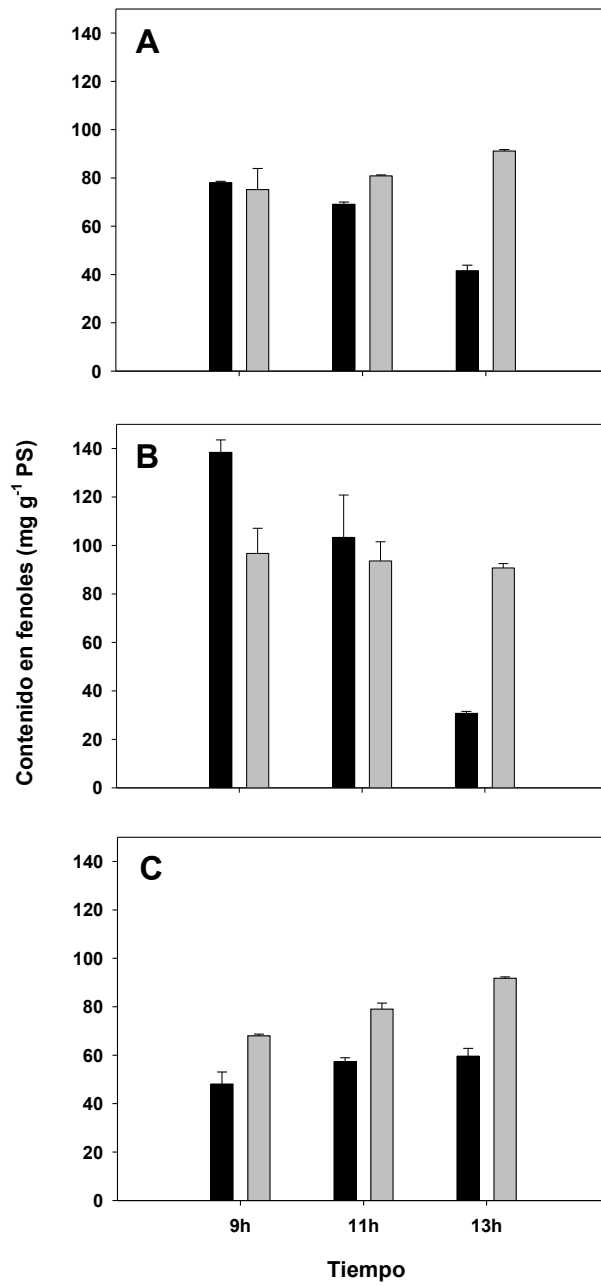


Figura 7. Contenido en fenoles totales (A) en los extractos de *L. variegata* durante el periodo eruptivo y post eruptivo (barra negra y barra gris respectivamente) en las localidades impactadas (A) S1 y (B) S2 y en la localidad control (S3). Media \pm error estándar.

Los valores obtenidos en el análisis de DPPH nos confirman que la actividad antioxidante, medida a través del EC_{50} , fue mayor a lo largo del día para las localidades directamente afectadas por la actividad volcánica ('Ti x Lo x Ho', $P < 0,05$, tablas A22,A24) durante el periodo eruptivo (noviembre 2011), pero no en el periodo post-eruptivo (marzo 2012) (Figs. 8,9). Para la localidad control, sin embargo, la actividad antioxidante no varió a lo largo del día. La actividad antioxidante ($1/EC_{50}$) se correlacionó con la concentración de fenoles para ambas especies de algas (0,82 y 0,73 para *P. pavonica* y *L. variegata*, respectivamente, $p < 0,001$ en ambos casos) (Fig. 10).

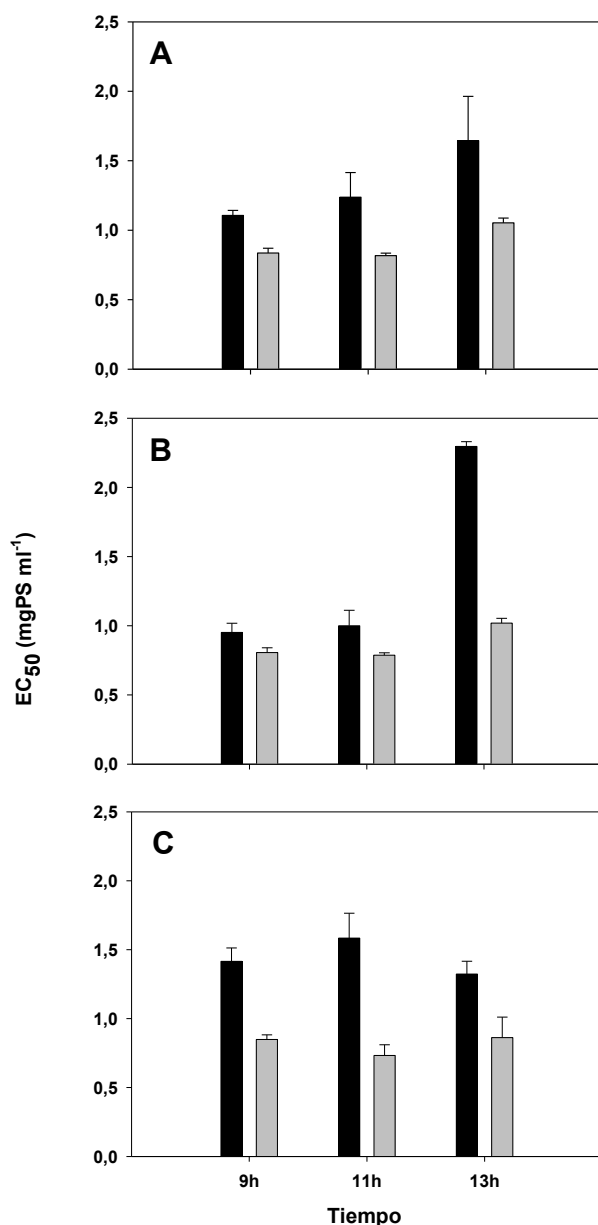


Figura 8. Actividad antioxidante medida a través del índice de oxidación EC_{50} en *P. pavonica* durante el periodo eruptivo y post eruptivo (barra negra y barra gris respectivamente) en las localidades impactadas (A) S1 y (B) S2 y en la localidad control (S3). Media \pm error estándar.

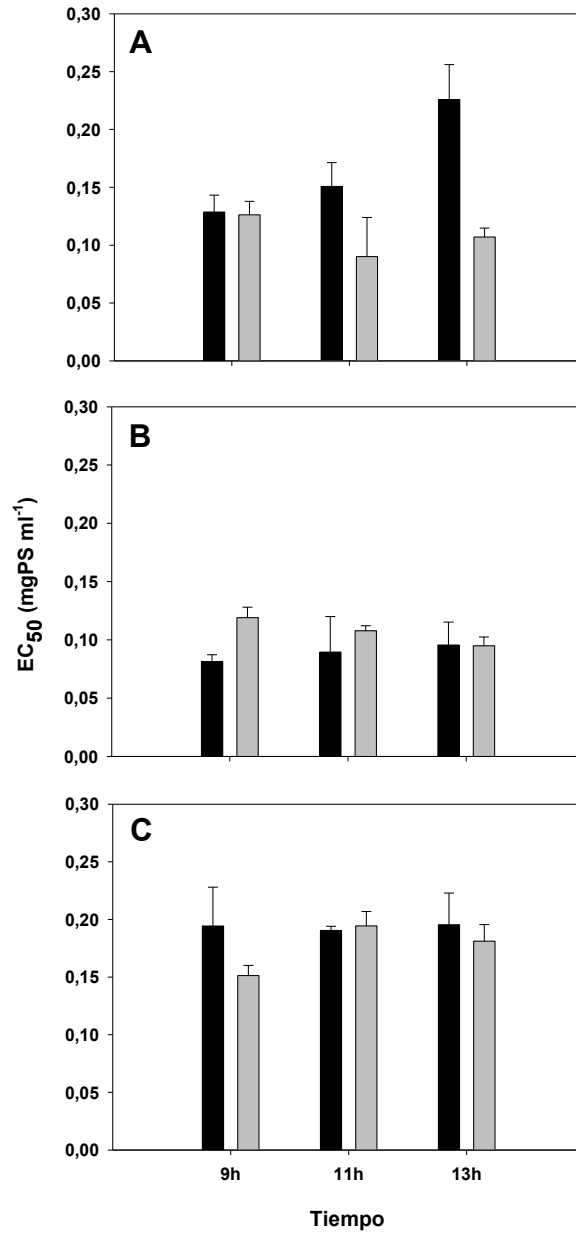


Figura 9. Actividad antioxidante medida a través del índice de oxidación EC₅₀ en *L. variegata* durante el periodo eruptivo y post eruptivo (barra negra y barra gris respectivamente) en las localidades impactadas (A) S1 y (B) S2 y en la localidad control (S3). Media ± error estándar.

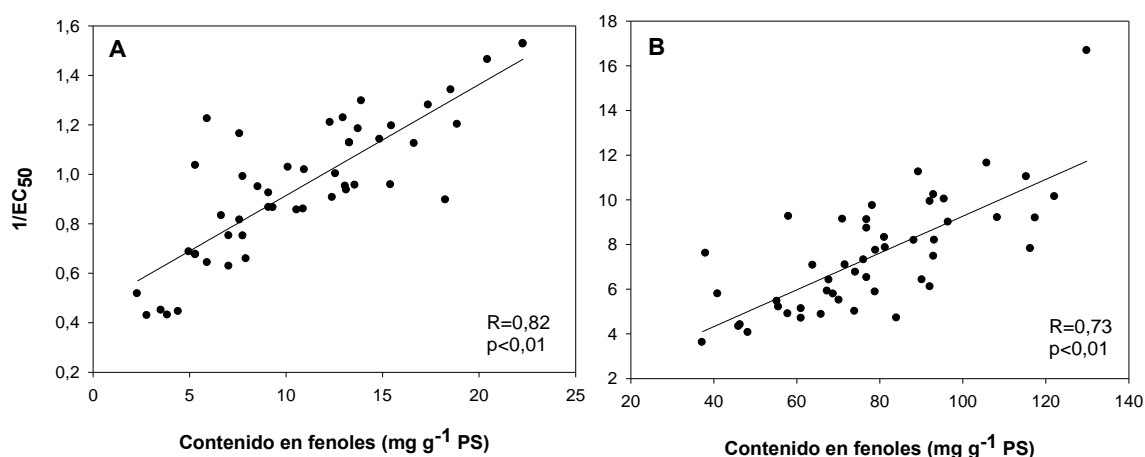


Figura 10. Correlación entre el contenido en fenoles y la actividad antioxidante (1/EC₅₀) medido en los extractos de (A) *P. pavonica* y (B) *L. variegata*. Correlaciones significativas (p<0,01) se observan en ambas especies intermareales.

Discusión

La erupción submarina que tuvo lugar en la isla de El Hierro provocó que sus emisiones, durante aproximadamente 5 meses, impactaran fuertemente en el ecosistema marino debido a las importantes anomalías que produjo la salida del material volcánico al océano (Fraile-Nuez *et al.* 2012). Las anomalías más importantes de T^a, CO₂, pCO₂ se localizaron en la zona donde se sitúa el nuevo cono volcánico, a aproximadamente 1,8 km de la costa, al sur de la localidad de La Restinga, quedando aproximadamente a unos 88 m de profundidad. Se midieron niveles de CO₂ como carbono inorgánico total de hasta 7500 μmol Kg⁻¹, que generaron una alta pCO₂ con valores de hasta 150.000 μatm en la superficie (Fraile-Nuez *et al.* 2012). Diversos estudios realizados *in situ* donde se recrean ambientes de acidificación en el océano, como por ejemplo las fumarolas, laboratorio de acidificación natural, señalan distintas afecciones en la producción primaria. A nivel costero, no obstante, nuestro estudio no reveló cambios significativos en la cobertura de ambas macroalgas en las localidades directamente afectadas, que evidenciarían una afección directa letal de la erupción submarina. Diversos estudios han observado un aumento de la cobertura de algas no calcáreas y la disminución de algas calcificadas (Hall-Spencer *et al.* 2008, Porzio *et al.* 2011). Porzio *et al.* (2011) muestran que *L. variegata* aumentó su cobertura al disminuir el pH, patrón contrario a *P. pavonica*, para la que el porcentaje de cobertura disminuye al descender el pH, no encontrándose ninguna de ambas algas en ambientes extremadamente ácidos (pH=6,7). Esta discrepancia entre nuestro estudio y Porzio *et al.* (2011) se puede deber al corto episodio de

acidificación en el Hierro en comparación con el de las zonas afectadas por fumarolas volcánicas en el Mediterráneo (Ischia) (Hall-Spencer *et al.* 2008) y que, por tanto, los posibles efectos sub-letales observados a nivel fisiológico en nuestro estudio no hayan derivado en efectos letales sobre ambas macroalgas. En cualquier caso, la descalcificación de *P. pavonica* durante el evento eruptivo se relacionan directamente con los cambios de pH: al disminuir el pH, aumentó la descalcificación de dicha alga en la isla de El Hierro. Además, *P. pavonica* presenta una calcificación en forma de cristales de aragonito (Okazadi *et al.* 1986), los cuales son ligeramente más solubles a menor pH que la calcita (Feely *et al.* 2004, Orr *et al.* 2005, González-Dávila *et al.* 2010). De hecho, y aunque el valor de pH medido para la localidad S2 no fue extremadamente bajo (8,09), si se registró descalcificación debido a que a lo largo del proceso eruptivo la mancha originada por la salida de material alcanzó la zona en varias ocasiones (González-Navarro, 2012). Estos resultados confirman una pérdida de carbonato cálcico, tal y como numerosos estudios han señalado para algas, corales y otros organismos calcáreos (Hall-Spencer *et al.* 2008, Martin *et al.* 2008, Rodolfo-Metalpa *et al.* 2009, Porzio *et al.* 2011, Fabricius *et al.* 2011, Hofmann *et al.* 2012).

Las tasas de rendimiento óptimo (F_v/F_m) no mostraron variaciones entre el periodo eruptivo y post-eruptivo para las localidades directamente afectadas por la erupción volcánica, tal y como se ha descrito para situaciones similares (Hall-Spencer *et al.* 2008, Hofmann *et al.* 2012). Los cambios en F_v/F_m estuvieron mayormente influenciados por cambios en la irradiancia a lo largo del día (de 9 a 13h), así como a variaciones naturales entre localidades, e.g. diferencias en la cobertura nubosa. A pesar de que las curvas ETR se desvían de las zonas impactadas (S1 y S2) se desvían de la normal (control), los parámetros ETR_{max} y α_{ETR} no mostraron cambios significativos al disminuir el pH en ambas macroalgas, tal y como observaron Hofmann *et al.* (2012) y Russell *et al.* (2011). En cambio, si se registraron diferencias significativas en la irradiancia de saturación (E_k) de *P. pavonica*. Los altos valores de E_k durante el periodo eruptivo, unido a elevados ETR_{max} , menor eficiencia (α) y a la no presencia de fotoinhibición, muestra una aclimatación de *P. pavonica* hacia un comportamiento típico de adaptación al sol (García-Sánchez *et al.* 2012), estrategia que se ve modificada en cuanto se restablecen los valores de pH, donde los valores de E_k disminuyen. *L. variegata* mostró un comportamiento de adaptación al sol en la localidad impactada, aunque en general se observó una respuesta de adaptación lumínica de planta de sombra, observando una fotoinhibición al ser expuesta a la luz, debido a que esta alga se sitúa naturalmente en zonas de sombra o ambientes esciáfilos (Haroun *et al.* 2003). Durante el evento eruptivo, además de la acidificación, se produjo una entrada de nutrientes al sistema (Santana-Casiano

et al. 2013). Los resultados de ETR de *P. pavonica* y de *L. variegata* no mostraron cambios significativos durante el evento eruptivo. Típicamente, ha sido reportado el aumento del ETR con el incremento de nutrientes en distintas macroalgas marinas intermareales, como *Porphyra umbilicalis*, *Ulva rigida* y *Ulva lactuca* (Figueroa *et al.* 1995, Cabello-Pasini & Figueroa, 2005; Figuera *et al.* 2009). Como resultado, la mayor cantidad de nutrientes parece haber tenido un efecto minoritario en el rendimiento de ambas macroalgas.

El contenido en fenoles de especies intermareales de algas pardas presenta generalmente variaciones diarias: aumento en horas centrales del día, pero también mayor excreción; y estacionales: mayores niveles en verano (Abdala *et al.* 2006). La síntesis de fenoles se activa por radiación solar UV y su acumulación en los fisodios del citoplasma celular confiere fotoprotección frente a la radiación UV (Pavía *et al.* 1997; Schoenwaelder, 2002). Además de éste papel fotoprotector y antioxidante, los fenoles protegen frente al herbivorismo, al disminuir la palatabilidad de los talos para los herbívoros (Van Alstyne & Paul, 1990). Los fenoles también pueden prevenir infecciones bacterianas debido a su carácter prooxidantes (Conover & Sleburth, 1964). Por el contrario, nuestros resultados muestran que la concentración de fenoles disminuyó con la hora del día en las localidades afectadas por la erupción volcánica durante el periodo eruptivo (noviembre 2011), i.e. cuando se dan las mayores irradiancias, proceso que relacionamos con la disminución del pH en las localidades impactadas por la actividad eruptiva, sucediendo lo contrario en la localidad control. Arnold *et al.* (2012) observaron la misma respuesta para la fanerógama marina *Cymodocea nodosa* a lo largo de un gradiente de pH, demostrando que una reducción de 0,8 unidades de pH produce reducciones de sustancias fenólicas protectoras de hasta un 59%. También, encontraron la misma respuesta para *Potamogeton perfoliatus* en zonas de estuario, donde en experimentos de inyección de CO₂ obtuvieron reducciones de un 61%. Así, se demuestra que la acidificación del océano disminuye las sustancias fenólicas protectoras en plantas marinas y estuarinas, lo contrario a lo que se ha observado en plantas terrestres expuestas a enriquecimiento de CO₂. Especies que acumulan fenoles como el alga parda *Padina pavonica* y algunas algas verdes presentan una mayor excreción en condiciones de acidificación, lo que produce una inhibición de la calcificación. Sin embargo, la descalcificación implica una reducción de la reflectancia de la radiación solar (incluida la radiación UV) y por lo tanto se produce una disminución en la capacidad de fotoprotección, por lo que las algas descalcificadas pasan a ser más vulnerables a la radiación UV (Beach *et al.* 2006), haciéndose menos eficiente fotosintéticamente.

Los altos niveles de radiación solar y las moderadas temperaturas que prevalecen en la región de las Islas Canarias (costa noroeste africana) fuerzan a las macroalgas marinas a

desarrollar mecanismos de defensa contra la radiación UV y la excesiva producción de radicales libres debido a la acumulación de sustancias antioxidantes (López *et al.* 2011). Diversos estudios indican que existe una correlación entre la actividad antioxidante y el contenido en fenoles (Duan *et al.* 2007, Zao *et al.* 2006); en particular, Connan *et al.* (2006,2007) demuestra dicha correlación para distintas algas pardas. En nuestro estudio, obtuvimos para *P. pavonica* y *L. variegata* una relación directa entre los bajos niveles de concentración de fenoles y altos valores de EC₅₀ medidos, valor que indica baja actividad antioxidante, al definirse como la concentración de sustrato que causa la pérdida del 50% de la actividad del DPPH (Molyneux 2004). Por lo tanto, observamos el mismo patrón que encontramos para el contenido en fenoles, localizando la mayor actividad antioxidante a menores irradiancias.

La concentración de pigmentos no mostró un efecto directo de la erupción submarina, excepto la concentración de Chl *a*. Johnsonn *et al.* (2011) en su estudio con microalgas en un gradiente de pH obtuvo como resultado concentraciones de Chl *a* menores en la estación con menor pH (7,4). Gao *et al.* (2010) obtuvieron una disminución del 17-21% en los valores de Chl *a* de *Gracilaria sessilis*, ocurriendo lo mismo en *Gracilaria spp* (Andría *et al.* 2001) y *G. tenuistipitata* (García-Sánchez *et al.* 1994) mientras crecen bajo altas concentraciones de CO₂. Nuestros datos revelan mayores concentraciones de Chl *a* para S1 (pH=7,4) con respecto al resto de localidades, aunque también encontramos la diferencia una vez finalizado el evento eruptivo (pH= 8,1). Esta diferencia entre los resultados obtenidos en nuestro estudio y los obtenidos por otros autores pueden ser debidas a la duración del evento eruptivo y a la distancia a la que se encontraban el foco eruptivo. Las respuestas fisiológicas pueden ser variables dependiendo de la especie y de la duración de enriquecimiento de CO₂ (Zou & Gao, 2010). No pudo constatarse cuanto tiempo se vieron expuestas las zonas de estudio a pH bajos, por lo que pensamos que no fue el tiempo suficiente como para producir cambios a nivel pigmentario.

La erupción submarina de la isla de El Hierro ha supuesto un laboratorio natural donde los principales estresores asociados al cambio climático actúan a la vez, teniendo un impacto directo sobre la estructura y funcionamiento de los ecosistemas, además de proveer de una oportunidad clave para investigar las adaptaciones de los organismos bentónicos y comunidades (Hall-Spencer *et al.* 2008). En nuestro estudio, las condiciones de la erupción volcánica provocaron para *Padina pavonica* su descalcificación (cambio morfológico), pérdida de capacidad protectora (fenoles), y pérdida en eficiencia fotosintética y aumento de la irradiancia de saturación (Ek), necesitando así más energía para la asimilación del carbono. Sin

embargo, el rendimiento óptimo fotosintético y la abundancia no se vieron alterados en las localidades directamente afectadas por el proceso eruptivo. Para *Lobophora variegata* no encontramos cambios en cobertura, manteniendo su eficiencia fotosintética y rendimiento fotosintético óptimo, aunque si observamos la pérdida de compuestos foto-protectores (fenoles) durante el periodo de erupción submarina. La disminución del pH registrada durante el proceso eruptivo fue similar a las predichas por modelos de cambio climático global, donde se prevé que el pH decrecerá en 0,3-0,4 unidades: por tanto, los resultados que emergen de estas investigaciones nos ayudaran a entender como el futuros escenarios climáticos pueden impactar sobre la biota marina, en particular macroalgas pardas del medio intermareal. Todo resultado sobre la química en el agua de mar y las respuestas biológicas asociadas a la acidificación en el océano, ya sea a través de mediciones temporales costeras o en océano abierto, a través de experimentos de manipulación en mesocosmos y la monitorización usando datos de satélite (Iglesias-Rodríguez *et al.* 2010), ayudarían a determinar a escala global las consecuencias a distintos niveles de organización, desde el molecular hasta el nivel ecosistema.

Bibliografía

- Abdala-Díaz RT, Cabello-Pasini A, Pérez-Rodríguez E, Conde-Álvarez RM, Figueroa FL (2006). Daily and seasonal variations of optimum quantum yield and phenolic compounds in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyta). *Marine Biology* 148:459-465
- Andría JR, Brun FG, Pérez-Lloréns JL, Vergara JJ (2001). Acclimation responses of *Gracilaria sp.* (Rhodophyta) and *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) to changes in the external inorganic carbon concentration. *Botanica Marina* 44:361-370
- Arnold T, Mealey C, Leahey H, Miller AW, Hall-Spencer JM (2012). Ocean acidification and the loss of phenolic substances in marine plants. *PLoS ONE* 7(4):e35107
- Beach KS, Borgeas HB, Smith CM (2006). Ecophysiological implications of the measurement of transmittance and reflectance of tropical macroalgae. *Phycologia* 45:450-457
- Bischof K, Gómez I, Molis M, Hanelt D, Karsten U, Lüder U, Roleda MY, Zacher K, Wiencke C (2006). Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 51:141-166
- Blois M (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200
- Cabello-Pasini A, Figueroa F.L. (2005). Effect of nitrate concentration on the relationship between photosynthetic oxygen evolution and electron transport rate in *Ulva rigida* (Chlorophyta). *Journal of Phycology* 41:1169-1177
- Caldeira K, Wickett ME (2003). Anthropogenic carbon and ocean pH. *Nature* 425:365
- Cigliano M, Gambi MC, Rodolfo-Metalpa R, Patti FP, Hall-Spencer JM (2010). Effects of ocean acidification on invertebrate settlement at volcanic CO₂ vents. *Marine Biology* 157:2489-2502
- Connan S, Delisle F, Deslandes E, Ar Gall E (2006). Intra-thallus phlorotannin content and antioxidant activity in Phaeophyceae of temperate waters. *Botanica Marina* 49:39-46
- Connan S, Deslandes E, Ar Gall E (2007). Influence of day–night and tidal cycles on phenol content and antioxidant capacity in three temperate intertidal brown seaweeds. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 349:359-369

- Connell SD, Russell BD (2010). The direct effects of increasing CO₂ and temperature on non-calcifying organisms: Increasing the potential for phase shifts in kelp forests. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Science* 277:1409-1415
- Conover JT, Sieburth JM (1964). Effect of *Sargassum* distribution on the epibiota and its antibacterial activity. *Botanica Marina* 6:147-157
- Dias BB, Hart MB, Smart CW, Hall-spencer JM (2010). Modern seawater acidification: the response of foraminifera to high-CO₂ conditions in the Mediterranean Sea. *Journal of the Geological Society* 167:843-846
- Duan X, Wu G, Jiang Y (2007). Evaluation of antioxidant properties of phenolics from litchi fruit in relation to pericarp browning prevention. *Molecules* 12:759-771
- Dupont S, Ortega-Martínez O, Thorndyke M (2010). Impact of near-future ocean acidification on echinoderms. *Ecotoxicology* 19:449-462
- Dupont S, Moya A, Bailly X (2012). Stable photosymbiotic relationship under CO₂-induced acidification in the acoel worm *Symsagittifera roscoffensis*. *PLoS ONE* 7(1): e29568
- Fabricius KE, Langdon C, Uthicke S, Humphrey C, Noonan S, De'ath G, Okazaki R, Muehllehner N, Glas MS, Lough JM (2011). Losers and winners in coral reefs acclimatized to elevated carbon dioxide concentrations. *Nature Climate Change* 1:165-169
- Fabry VJ, Seibel BA, Feely RA, Orr JC (2008). Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes. *ICES Journal of Marine Science* 65:414-432
- Feely RA, Sabine CL, Lee K, Berelson W, Kleypas J, Fabry VJ, Millero FJ (2004). Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. *Science* 305:362-366
- Figuerola F.L, Aguilera J, Jiménez C, Vergara J.J, Robles M.D, Niell FX (1995). Growth, pigment synthesis and nitrogen assimilation in the red alga *Porphyra umbilicalis* (L.) Kützting (Bangiales, Rhodophyta) under blue and red light. *Scientia Marina* 59:9-20
- Figuerola F.L, Israel A, Neori A, Martínez B, Malta E-J, Ang P, Inken S, Marquardt R, Korbee N (2009). Effects of nutrient supply on photosynthesis and pigmentation in *Ulva lactuca* (Chlorophyta): responses to short-term stress. *Aquatic Biology* 7:173-183
- Folin O, Ciocalteu V (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal biological chemistry* 73:627-650
- Fraile-Nuez E, González-Dávila M, Santana-Casiano JM, Arístegui J, Alonso-González IJ, Hernández-León S, Blanco MJ, Rodríguez-Santana A, Hernández-Guerra A, Gelado-Caballero

- MD, Eugenio F, Marcello J, De Armas D, Domínguez-Yanes JF, Montero MF, Laetsch DR, Vélez-Belchí P, Ramos A, Ariza AV, Comas-Rodríguez I, Benítez-Barrios VM (2012). The submarine volcano eruption at the island of El Hierro: physical-chemical perturbation and biological response. *Scientific Reports* 2: 486
- Gao K, Aruga Y, Asada K, Ishihara T, Akano T, Kiyohara M (1993). Calcification in the articulated corallina alga *Corallina pilulifera* with special reference to the effect of elevated CO₂ concentration. *Marine Biology* 117:129-132
- Gao K, Zheng Y (2010). Combined effects of ocean acidification and solar UV radiation on photosynthesis, growth, pigmentation and calcification of the coralline alga *Corallina sessilis* (Rhodophyta). *Global Change Biology* 16:2388-2398
- García-Sánchez MJ, Fernández JA, Niell X (1994). Effect of inorganic carbon supply on the photosynthetic physiology of *Gracilaria tenuistipitata*. *Planta* 194: 55-61
- García-Sánchez M, Korbee N, Pérez-Ruzafa M, Marcos C, Domínguez B, Figueroa F, Pérez-Ruzafa A (2012). Physiological response and photoacclimation capacity of *Caulerpa prolifera* (Forsskål) J.V. Lamouroux and *Cymodocea nodosa* (Ucria) Ascherson meadows in the Mar Menor lagoon (SE Spain). *Marine Environmental Research* 79:37-47
- Gonzalez-Dávila M, Santana-Casiano JM, Rueda MJ, Llinás O (2010). The water column distribution of carbonate system variables at the ESTOC site from 1995 to 2004. *Biogeosciences* 7:3067-3081
- González-Navarro P (2012). Biología y ecología de las holoturias (Equinodermata: Holothuroidea) de la isla de Gran Canaria (Atlántico central-oriental). Tesis doctoral. Universidad de las palmas de Gran Canaria
- Grzymiski J, Johnsen G, Sakshaug E (1997). The significance of intracellular self-shading on the bio-optical properties of brown, red and green macroalgae. *Journal of Phycology* 33:408-414
- Häder DP, Helbling EW, Williamson CE, Worrest RC (2007). Effect of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with climate change. *Photochemical and Photobiological Science* 10:242-260
- Hall-Spencer JM, Rodolfo-Metalpa R, Martin S, Ransome E, Fine M, Turner SM, Rowley SJ, Tedesco D, Buia MC (2008). Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature* 454:96-99

- Haroun R, Gil-Rodriguez MC, Wildpret W (2003). Plantas marinas de las Islas Canarias. 1ª ed. Madrid. Canseco editores. 319 p. ISBN: 84-932095-9-7.
- Hawkins S, Sugden H, Mieszkowska N, Moore P, Poloczanska E, Leaper R, Herbert R, Genner M, Moschella P, Thompson R, Jenkins S, Southward A, Burrows M (2009). Consequences of climate-driven biodiversity changes for ecosystem functioning of North European rocky shores. *Marine Ecology Progress Series* 396: 245-259
- Hofmann GE, Barry JP, Edmunds PJ, Gates RD, Hutchins DA, Klinger T, Sewell MA (2010). The effect of ocean acidification on calcifying organisms in marine ecosystems: an organism-to-ecosystem perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 41:127-147
- Hofmann LC, Yildiz G, Hanelt D, Bischof K (2012). Physiological responses of the calcifying rhodophyte, *Corallina officinalis* (L.), to future CO₂ levels. *Marine Biology* 159:783-792
- Iglesias-Rodriguez MD, Anthony KRN, Bijma J, Dickson AG, Doney SC, Fabry VJ, Feely RA, Gattuso JP, Lee K, Riebesell U, Saino T, Turley C (2010). Towards an integrated global ocean acidification observation network. In Proceedings of the "OceanObs'09: Sustained Ocean Observations and Information for Society" Conference (Vol. 2), Venice, Italy, 21–25 September 2009, Hall, J., D.E. Harrison, and D. Stammer, Eds., ESA Publication WPP-306.pp.24. doi: 10.5270/OceanObs09
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) (2007). The fourth assessment report of the IPCC. Cambridge: Cambridge University press.
- Jassby A, Platt T (1976). Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 21(4):540-547
- Johnson V, Brownlee C, Rickaby R, Graziano M, Milazzo M, Hall-Spencer J (2011). Responses of marine benthic microalgae to elevated CO₂. *Marine Biology* DOI 10.1007/s00227-011-1840-2
- Kassahn KS, Crozier RH, Portner HO, Caley MJ (2009). Animal performance and stress: responses and tolerance limits at different levels of biological organization. *Biological Reviews*. 84:277-292
- Kerrison P, Hall-Spencer J, Suggett D, Hepburn L, Steinke M (2011). Assessment of pH variability at a coastal CO₂ vent for ocean acidification studies. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 94:129-137
- Kübler JE, Johnston AM, Raven JA (1999). The effects of reduced and elevated CO₂ and O₂ on the seaweed *Lomentaria articulata*. *Plant, Cell and Environment* 22:1303-1310

- López A, Rico M, Rivero A, Suárez de Tangil M (2011). The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. *Food Chemistry* 125:1104-1109
- Martin S, Rodolfo-Metalpa R, Ransom E, Rowley S, Buia MC, Gattuso JP, Hall-Spencer JM (2008). Effects of naturally acidified seawater on seagrass calcareous epibionts. *Biology Letters* 4: 689-692
- Molyneux P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26(2):211-219
- Okazaki M, Pentecost A, Tanaka Y, Miyata M (1986). A study of calcium carbonate deposition in the genus *Padina* (Phaeophyceae, Dictyotales). *British Phycological Journal* 21:217-224
- Orr JC (2011). Recent and future changes in ocean carbonate chemistry. In: Gattuso JP, Hansson L (eds) *Ocean acidification*. Oxford University Press, Oxford, pp 41-66
- Orr JC, Fabry VJ, Aumont O, Bopp L, Doney SC, Feely RA, Gnanadesikan A, Gruber N, Ishida A, Joos F, Key RM, Lindsay K, Maier-Reimer E, Matear R, Monfray P, Mouchet A, Najjar RG, Plattner GK, Rodgers KB, Sabine CL, Sarmiento JL, Schlitzer R, Slater RD, Totterdell IJ, Weirig MF, Yamanaka Y, Yool A (2005). Anthropogenic Ocean Acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. *Nature* 437:681-686
- Palacios SL, Zimmerman RC (2007). Response of eelgrass *Zostera marina* to CO₂ enrichment: Possible impacts of climate change and potential remediation of coastal habitats. *Marine Ecology Progress Series* 344:1-13
- Pavia H, Cervin G, Lindgren A, Åberg P (1997). Effects of UVB radiation and simulated herbivory on phlorotannins in the brown alga *Ascophyllum nodosum*. *Marine Ecology Progress Series* 157:139-46
- Platt T, Gallegos CL (1980). Modelling primary production. In: *Primary Productivity in the Sea*. Falkowski, P.G. (Ed.). Plenum Press, New York. Pp. 339-362
- Porzio L, Buia MC, Hall-Spencer JM (2011). Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 400:278-287
- Raven J, Caldeira K, Elderfield H et al. (2005). Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. Report from the Royal Society, London, 68 pp

- Riebesell U, Schulz KG, Bellerby RGJ, Botros M, Fritsche P, Meyerhofer M, Neill C, Nondal G, Oschlies A, Wohlers J, Zollner E (2007). Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean. *Nature* 450:545-548
- Ritchie RJ (2006). Consistent sets of spectrophotometric chlorophyll equations for acetone, methanol and ethanol solvents. *Photosynthesis Research* 89:27-41
- Ritchie R (2008). Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol, or ethanol solvents. *Photosynthetica* 46(1):115-126
- Rodolfo-Metalpa R, Lombardi C, Cocito S, Hall-Spencer JM, Gambi MC (2010). Effects of ocean acidification and high temperatures on the bryozoan *Myriapora truncata* at natural CO₂ vents. *Marine Ecology* 31:447-456
- Russell BD, Passarelli CA, Connell SD (2011). CO₂ modifies the influence of light in shaping subtidal habitat. *Journal of Phycology* 47:744-752
- Sabine CL, Feely RA, Gruber N, Key RM, Lee K, Bullister JL (2004). The oceanic sink for anthropogenic CO₂. *Science* 305:367-371
- Santana-Casiano JM, González-Dávila M, Fraile-Nuez E, de Armas D, González AG, Domínguez-Yanes JF, Escánez J (2013). The natural ocean acidification and fertilization event caused by the submarine eruption of El Hierro. *Scientific Reports* 3:1140,doi: 10.1038/srep01140
- Santana-Casiano JM, González-Dávila M, Rueda MJ, Llinás O, González-Dávila EF (2007). The interannual variability of oceanic CO₂ parameters in the northeast Atlantic subtropical gyre at the ESTOC site. *Global biogeochemical cycles* 21:GB1015
- Schoenwaelder MEA (2002). The occurrence and cellular significance of physodes in brown algae. *Phycological Reviews* 21. *Phycologia* 41:125-139
- Tuya F, Haroun R (2006). Spatial patterns and response to wave exposure of shallow water algal assemblages across the Canarian Archipelago: a multi-scaled approach. *Marine Ecology Progress Series* 311:15-28
- Van Alstyne KL, Paul VJ (1990). The biogeography of polyphenolic compounds in marine macroalgae: temperate brown algal defenses deter feeding by tropical herbivorous fishes. *Oceanologia* 84:158-16

Widdicombe S, Dupont S, Thorndyke M (2010). Laboratory experiments and benthic mesocosm studies. In: Guide for best practices in ocean acidification research and data reporting. Available via EPOCA. <http://www.epoca-project.eu/>

Zhao M, Yang B, Wang J, Li B, Jiang Y (2006). Identification of the major flavonoids from pericarp tissues of lychee fruit in relation to their antioxidant activities. *Food Chemistry* 98:539-544

Zou D, Gao K (2010). Physiological responses of seaweeds to elevated atmospheric CO₂ concentration. In: *Seaweeds and their role in globally changing environments*. Israel A, Einav R and Seckbach J (Eds.) Springer, London. Pp. 115-125

Conclusiones



- La variación del rendimiento máximo fotosintético (Fv/Fm) y de la tasa de transporte electrónico (ETR) han revelado que más que los cambios graduales, son los cambios relativamente rápidos en los cambios de estación los que parecen ser relevantes en la capacidad fotosintética y estado fisiológico de *F. spiralis* y a su consecuente aclimatación a corto o medio plazo
- El Fv/Fm y el ETR de las algas pardas recolectadas en Lanzarote han revelado que decrecen debido a la combinación de la radiación fotosintética (PAR) y UV y a su distribución vertical en la costa. La fotoinhibición fue mayor en las especies submareales que en las intermareales
- La zonación de las distintas especies del género *Cystoseira* en Canarias está restringida fisiológicamente, donde las especies más someras o con situación más elevada en la costa poseen mecanismos de aclimatación más activos a los distintos estresores ambientales que las especies más profundas.
- El patrón de zonación está determinado fisiológicamente, y que varía según la especie; el alga parda *C. humilis* muestra mejor aclimatación a altas irradiancias y temperaturas que otras especies del género *Cystoseira* que crecen a más profundidad y que la especie de alga roja *D. simplex*
- Se produjo un ajuste en el aparato pigmentario de las macroalgas de estudio, observándose una disminución del contenido en pigmentos en la estación con mayores irradiancias (septiembre y octubre), y a corto plazo, en las horas de máxima irradiancia
- El contenido en pigmentos fue superior en especies submareales que en especies intermareales, revelando la adaptación a nivel pigmentario de las algas con la profundidad

- Se obtuvo una correlación positiva entre el contenido en fenoles y la actividad antioxidante revelando la acción de estos compuestos como mecanismo de fotoprotección
- El contenido en fenoles fue mayor para especies intermareales que submareales, revelando un patrón de zonación con la profundidad
- El contenido en aminoácidos tipo micosporina disminuyó en los ejemplares más profundos de *D. simplex*, revelando la capacidad de fotoprotección de estos compuestos
- Los ratios C:N revelaron mayor peso del metabolismo del carbono en algas intermareales y mayor asimilación del N en algas submareales
- La calcificación de *P. pavonica* se vio afectada por la disminución del pH debido a la erupción submarina, y se observó mayor porcentaje de descalcificación a menor pH
- Las condiciones de acidificación en las localidades impactadas de la isla de El Hierro provocaron una disminución en el contenido en fenoles durante el evento eruptivo, recuperando los valores previos a la erupción una vez finalizada la erupción submarina y se restablecieron los niveles de pH

Anexo Estadístico



Capítulo 2

Tabla A1. Resultados del ANOVA para rendimiento óptimo (Fv/Fm) en la localidad de Gáldar y Taliarte.

	<i>Gáldar</i>			<i>Taliarte</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	0,0800	9,84	0,0137	0,0361	2,81	0,1437
Zo	0,0694	5,72	0,0221	0,0159	2,35	0,1462
Ti(Es)	0,0081	5,77	0,0001	0,0129	7,03	0,0001
EsxZo	0,0430	3,55	0,0325	0,0091	1,34	0,3267
ZoxTi(Es)	0,0121	8,60	0,0001	0,0068	3,70	0,0001
Residual	0,0014			0,0018		

Tabla A2. Resultados del ANOVA para rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$) y ETR para la localidad de Gáldar.

	$\Delta F/F'm$			ETR		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	0,1114	3,6522	0,1220	295,049	29,8145	0,0060
Zo	0,0143	0,9082	0,4280	88,0604	14,4691	0,0020
pt	0,0484	4,8454	0,0800	18,6718	1,1263	0,3370
Ti(Es)	0,0305	8,3408	0,0020	9,8962	12,5058	0,0010
EsxZo	0,0473	3,0025	0,0420	89,0430	14,6305	0,0010
Esxpt	0,0052	0,5206	0,7420	5,8212	0,3511	0,8310
Zoxpt	0,0524	2,7064	0,0980	753,163	52,4617	0,091
ZoxTi(Es)	0,0157	4,3076	0,0020	6,0861	7,6910	0,0010
ptxTi(Es)	0,0100	2,7325	0,0220	16,5779	20,9495	0,0010
EsxZoxpt	0,0433	2,2380	0,0840	65,1246	4,5363	0,0230
ZoxptxTi(Es)	0,0194	5,2926	0,0020	14,3564	18,1422	0,0010
Residual	0,0037			0,7913		

Tabla A3. Resultados del ANOVA para rendimiento efectivo ($\Delta F/F'm$) y ETR para la localidad de Taliarte.

	$\Delta F/F'm$			ETR		
	MS	F	P	MS	F	P
Es	0,1114	3,6522	0,1220	379,242	19,3738	0,0100
Zo	0,0143	0,9082	0,4280	313,850	33,1520	0,0010
Ptalo	0,0484	4,8454	0,0800	131,071	11,3683	0,0160
Ti(Es)	0,0305	8,3408	0,0020	19,5750	12,4412	0,0010
EsxZo	0,0473	3,0025	0,0420	183,835	19,4186	0,0010
Esxpt	0,0052	0,5206	0,7420	33,2640	2,8851	0,1570
Zoxpt	0,0524	2,7064	0,0980	124,530	20,4539	0,087
ZoxTi(Es)	0,0157	4,3076	0,0020	9,4670	6,0169	0,0010
ptxTi(Es)	0,0100	2,7325	0,0220	11,529	7,3278	0,0010
EsxZoxpt	0,0433	2,2380	0,0840	52,283	8,5874	0,0010
ZoxptxTi(Es)	0,0194	5,2926	0,0020	6,0883	3,8695	0,0010
Residual	0,0037			1,5734		

Anexo estadístico

Tablas A4. Resultados del ANOVA para contenido en fenoles, actividad antioxidante y pigmentos para la localidad de Gáldar.

	<i>Fenoles</i>			<i>EC₅₀</i>			<i>Chl a</i>			<i>Chl c</i>			<i>Carotenos</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Ti	12,647	31,344	0,0010	0,0088	8,8071	0,0010	0,4248	55,6923	0,0010	0,0929	44,4573	0,0010	0,2243	44,489	0,0010
Zo	5,9599	0,7229	0,5150	0,0051	0,5139	0,6170	0,2158	1,9666	0,2120	0,0061	0,4068	0,6630	0,1365	2,3150	0,1650
Ptalo	71,728	13,088	0,0100	0,0894	32,9063	0,0090	0,3879	2,3942	0,2070	0,0000	0,0004	0,9860	0,2120	2,9157	0,1710
TixZo	8,2442	20,431	0,0010	0,0100	9,9341	0,0010	0,1097	14,3833	0,0010	0,0149	7,1423	0,0010	0,0589	11,691	0,0010
TixPt	5,4802	13,581	0,061	0,0027	2,7064	0,0850	0,1620	21,2375	0,0730	0,0161	7,7298	0,085	0,0727	14,420	0,08
ZoxPt	8,1615	1,6397	0,2400	0,0034	0,4835	0,6150	0,0273	1,6488	0,2620	0,0160	5,4462	0,0400	0,0234	2,5322	0,1410
TixZoxPt	4,9774	12,335	0,0010	0,0070	6,9995	0,0010	0,0165	2,1678	0,0480	0,0029	1,4084	0,1950	0,0092	1,8337	0,0950
Residual	0,4035			0,0010			0,0076			0,0021			0,0050		

Tablas A5. Resultados del ANOVA para contenido en fenoles, actividad antioxidante y pigmentos para la localidad de Taliarte.

	<i>Fenoles</i>			<i>EC₅₀</i>			<i>Chl a</i>			<i>Chl c</i>			<i>Carotenos</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Ti	7,4965	25,4939	0,0010	0,0411	32,3787	0,0010	0,7339	31,3108	0,0010	0,1862	22,8608	0,0010	0,3100	42,763	0,0010
Zo	13,1006	4,6754	0,0410	0,0500	4,1910	0,0590	0,0055	0,0519	0,9590	0,0109	0,4616	0,6280	0,0089	0,1705	0,8440
Ptalo	230,796	453,085	0,0030	1,0806	64,5130	0,0020	0,0016	0,0087	0,9160	0,0411	4,1462	0,1360	0,0025	0,0856	0,7900
TixZo	2,8020	9,5291	0,0010	0,0119	9,3993	0,0010	0,1053	4,4929	0,0020	0,0236	2,8974	0,0110	0,0522	7,2067	0,0010
TixPt	0,5094	1,7323	0,060	0,0168	13,2043	0,084	0,1877	8,0093	0,068	0,0099	1,2169	0,3240	0,0287	3,9537	0,2180
ZoxPt	6,4182	2,4678	0,1540	0,0130	0,5005	0,6180	0,0140	0,2051	0,8040	0,0172	1,0411	0,3930	0,0102	0,2965	0,7480
TixZoxPt	2,6007	8,8445	0,0010	0,0260	20,5125	0,0010	0,0683	2,9158	0,0060	0,0165	2,0228	0,0490	0,0346	4,7669	0,0010
Residual	0,2940			0,0013			0,0234			0,0081			0,0072		

Capítulo 3

Exposición-recuperación

Tabla A6. Resultados del ANOVA para el rendimiento efectivo, rendimiento óptimo y rendimientos no fotoquímicos en las distintas especies de *Cystoseiras*.

	$\Delta F/F'm$			Fv/Fm			$Y(NO)$			$Y(NPQ)$		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	0,2171	4,465	0,0024	0,1539	3,886	0,0342	1,243	3,415	0,0498	0,3047	0,799	0,559
Ho	0,0406	4,693	0,0002	0,257	38,520	0,0002	0,162	5,446	0,006	0,018	0,1965	0,8254
EsxHo	0,0486	5,619	0,0002	0,040	5,944	0,0002	0,364	12,266	0,0002	0,381	4,286	0,0002
Residual	0,0087			0,007			0,030			0,089		

Tabla A7. Resultados del ANOVA vías para los parámetros de ETR_{max} , α_{ETR} y E_k y para el contenido de C y N en las distintas especies de *Cystoseiras*.

	ETR_{max}			α_{ETR}			E_k			C			N		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	20,398	4,530	0,021	0,0354	9,085	0,001	61.894	6,008	0,005	0,0578	0,68	0,7278	0,0032	0,0676	0,9974
Ho	10,512	5,028	0,0122	0,035	8,508	0,0018	41775,054	5,877	0,0072	0,1102	4,795	0,0196	0,0058	5,389	0,0338
EsxHo	4,503	2,154	0,0486	0,004	0,900	0,5384	10301,986	1,449	0,2024	0,0849	3,695	0,0032	0,0473	43,866	0,0002
Residual	2,091			0,004			7108,867			0,023			0,0011		

Anexo estadístico

Tabla A8. Resultados del ANOVA para el contenido en fenoles, actividad antioxidante (EC₅₀) y contenido en pigmentos en las distintas *Cystoseiras*.

	<i>Fenoles</i>			<i>EC₅₀</i>			<i>Chl a</i>			<i>Chl c</i>			<i>Carotenos</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	2,313	0,0673	0,9978	1,644	0,3228	0,9666	0,17	0,1981	0,9784	0,005	0,3472	0,8956	0,0947	0,2446	0,9536
Ho	20,136	87,185	0,0002	0,0065	1,399	0,2552	0,9735	10,932	0,0026	0,0318	16,542	0,0004	0,354	14,522	0,0018
EsxHo	34,360	148,771	0,0002	5,094	1102,205	0,0002	0,858	9,635	0,0002	0,0143	7,440	0,0002	0,3871	15,880	0,0002
Residual	0,231			0,0046			0,0891			0,0019			0,0244		

Ciclo diario

Tabla A9. Resultados del ANOVA para el rendimiento efectivo, rendimiento óptimo y rendimientos no fotoquímicos en las distintas especies de algas pardas.

	$\Delta F/F'm$			Fv/Fm			$Y(NO)$			$Y(NPQ)$		
	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P
Es	0,2254	8,702	0,0004	0,0892	7,536	0,0008	0,2579	4,343	0,004	0,0265	0,2138	0,9446
Ho	0,1577	52,592	0,0002	0,0636	22,365	0,0002	0,118	18,335	0,0002	0,0588	3,90	0,0026
EsxHo	0,0259	8,637	0,0002	0,0118	4,163	0,0002	0,0594	9,228	0,0002	0,1237	8,20	0,0002
Residual	0,003			0,0028			0,0064			0,0151		

Tabla A10. Resultados del ANOVA para los parámetros de ETR_{max} , α_{ETR} y Ek y para el contenido de C y N en las distintas especies de algas pardas.

	ETR_{max}			α_{ETR}			Ek			C			N		
	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P
Es	2648,717	4,653	0,0594	0,0302	4,921	0,0386	6230,621	2,021	0,2454	4,806	0,7473	0,654	0,089	2,226	0,081
Ho	22291,485	73,415	0,0002	0,0228	7,459	0,0118	248111,912	120,704	0,0002	76,168	136,727	0,002	0,0735	21,449	0,0002
EsxHo	569,316	1,875	0,1364	0,0061	2,008	0,1156	3082,944	1,500	0,232	6,431	11,545	0,002	0,04	11,668	0,0002
Residual	303,639			0,0031			205,544			0,5571			0,0034		

Tabla A11. Resultados del ANOVA para el contenido en fenoles, actividad antioxidante (EC₅₀) y contenido en pigmentos en las distintas algas pardas.

	<i>Fenoles</i>			<i>EC₅₀</i>			<i>Chl a</i>			<i>Chl c</i>			<i>Carotenos</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	712,585	0,8327	0,5392	57,155	2,562	0,037	0,0992	0,6213	0,7352	0,003	0,456	0,8156	0,0428	0,2733	0,931
Ho	4606,779	104,503	0,0002	110,944	458,446	0,0002	0,1297	26,136	0,0002	0,0208	45,734	0,0002	0,2991	14,051	0,0002
EsxHo	855,749	19,412	0,0002	22,313	92,203	0,0002	0,1597	32,190	0,0002	0,0065	14,251	0,0002	0,1567	7,361	0,0002
Residual	44,083			0,242			0,005			0,0005			0,0213		

Capítulo 4

Cystoseira humilis

Tabla A12. Resultados del ANOVA para el rendimiento efectivo, rendimiento óptimo y rendimientos no fotoquímicos de *C. humilis*.

	$\Delta F/F'm$			Fv/Fm			$Y(NO)$			$Y(NPQ)$		
	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P
Es	0,1965	3,843	0,0668	0,1154	11,761	0,1212	0,0349	1,460	0,4432	0,2875	0,1712	0,8244
Ho	0,2023	61,375	0,0002	0,0008	2,643	0,1076	0,1589	10,488	0,0026	3,265	5,819	0,0176
EsxHo	0,0511	15,519	0,0002	0,0098	32,059	0,0002	0,0239	1,578	0,2156	1,680	2,994	0,0616
Residual	0,0033			0,0003			0,0152			0,5611		

Tabla A13. Resultados del ANOVA para los parámetros de ETR_{max} , α_{ETR} y E_k y para el contenido de C y N de *C. humilis*.

	ETR_{max}			α_{ETR}			E_k			C			N		
	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P
Es	2027,17	13,370	0,0935	0,0204	3,348	0,266	29,660	257,537	0,038	3,561	1,112	0,4606	0,0354	0,7116	0,6218
Ho	124,71	1,076	0,3215	0,0068	9,800	0,0108	0,1364	0,0617	0,8065	9,968	930,512	0,0002	0,1294	475,902	0,0002
EsxHo	151,62	1,308	0,297	0,0061	8,792	0,0086	0,1152	0,0521	0,9505	3,203	298,955	0,0002	0,0497	182,924	0,0002
Residual	115,92			0,0007			2,210			0,0107			0,0003		

Anexo estadístico

Tabla A14. Resultados del ANOVA para el contenido en fenoles, actividad antioxidante (EC₅₀) y contenido en pigmentos de *C. humilis*.

	Fenoles			EC₅₀			Chl a			Chl c			Carotenos		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	0,9752	10,431	0,1152	3,311	0,8433	0,6034	1,946	0,8974	0,5058	0,5062	0,2947	0,8244	3,321	12	0,2106
Ho	0,1882	9,965	0,0084	1,150	1,257	0,2726	0,1562	0,0646	0,7918	2,858	30,478	0,0002	0,2858	1,574	0,2236
EsxHo	0,0935	4,951	0,0258	3,926	4,291	0,038	2,168	0,8965	0,4188	1,718	18,316	0,0014	0,2858	1,574	0,2478
Residual	0,0189			0,915			2,418			0,0938			0,1816		

Digenea simplex

Tabla A15. Resultados del ANOVA para el rendimiento efectivo, rendimiento óptimo y rendimientos no fotoquímicos de *D. simplex*.

	$\Delta F/F'm$			Fv/Fm			$Y(NO)$			$Y(NPQ)$		
	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P
Es	0,0185	0,909	0,6464	0,0021	0,3835	0,7032	0,0103	0,1758	0,912	0,0095	2,480	0,2462
Ho	0,0108	5,054	0,0284	0,032	39,348	0,0002	0,0069	0,9354	0,3836	0,0002	0,0522	0,829
EsxHo	0,0203	9,480	0,0002	0,0055	6,726	0,0052	0,0588	8,006	0,0004	0,0038	0,9377	0,3942
Residual	0,0021			0,0008			0,0073			0,0041		

Tabla A16. Resultados del ANOVA para los parámetros de ETR_{max} , α_{ETR} y Ek y para el contenido de C y N de *D. simplex*.

	ETR_{max}			α_{ETR}			Ek			C			N		
	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P
Es	7,910	4,117	0,2625	0,0002	2,250	0,2106	516,947	0,0801	0,943	0,0018	0,2496	0,7492	0,3346	1,218	0,4884
Ho	0,6923	0,1562	0,682	0,0001	8,000	0,0144	1445,607	0,4225	0,5235	0,0698	139,959	0,0002	0,024	4,064	0,0686
EsxHo	1,921	0,4335	0,667	0,0001	8,000	0,0166	6453,963	1,886	0,204	0,0074	14,848	0,001	0,2747	46,561	0,0002
Residual	4,432			0			3421,342			0,0005			0,0059		

Tabla A17. Resultados del ANOVA para contenido en pigmentos de *D. simplex*.

	<i>Chl a</i>			<i>Chl d</i>			<i>Carotenos</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	0,0919	1,652	0,4474	0	0,1117	0,8244	0,038	2,106	0,3912
Ho	0,0009	0,1571	0,7072	0,0001	3,992	0,0354	0,0076	2,300	0,1576
EsxHo	0,0556	9,450	0,0034	0,0001	3,126	0,0358	0,0181	5,462	0,0184
Residual	0,0059			0			0,0033		

Tabla A18. Resultados del ANOVA para en contenido en aminoácidos tipo micosporina en extractos de *D. simplex*.

	% <i>MAAs totales</i>			% <i>Shinorine</i>			% <i>Porphyra-334</i>			% <i>Palytina</i>			% <i>Asterina</i>			% <i>MAAs 2-glicina</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Es	0,975	10,431	0,1152	3,311	0,8433	0,6034	1,946	0,8974	0,5058	0,506	0,2947	0,8244	3,321	12	0,2106	5,354	4,053	0,0526
Ho	0,188	9,965	0,0084	1,150	1,257	0,2726	0,156	0,0646	0,7918	2,858	30,478	0,0002	0,285	1,574	0,2236	2,541	4,399	0,0636
EsxHo	0,093	4,951	0,0258	3,926	4,291	0,038	2,168	0,8965	0,4188	1,718	18,316	0,0014	0,285	1,574	0,2478	1,321	2,286	0,1418
Residual	0,018			0,915			2,418			0,093			0,181			0,577		

Capítulo 5

Tabla A19. Resultados del ANOVA realizado para los datos de cobertura de las macroalgas de estudio.

	<i>Padina pavonica</i>			<i>Lobophora variegata</i>		
	MS	F	P	MS	F	P
Ti	2299,0868	3,74	0,0794	1244,2951	0,86	0,5125
I vs C	494,0833	0,00	0,0000(no test)	1402,9219	0,00	0,0000 (no test)
Lo(I)	3151,4167	5,13	0,0503	2021,2005	1,39	0,3189
TixI	409,6285	0,67	0,6026	1282,0156	0,88	0,5014
TixLo(I)	614,5417	2,24	0,0413	1452,7943	6,21	0,0000
Residual	274,0057			233,9543		

Tabla A20. Resultados del ANOVA para los porcentajes de descalcificación de *P. pavonica* entre los distintos tiempos.

	Morfología <i>Padina pavonica</i>		
	MS	F	P
Ti	40642,9514	271,2547	0,0002
Lo	19160,6533	1,5643	0,2886
TixLo	12248,3423	81,7465	0,0002
Residual	149,8332		

Tabla A21. Resultados del ANOVA de *P. pavonica* para los parámetros fotosintéticos.

	<i>Fv/Fm</i>			<i>ETR_{max}</i>			<i>α_{ETR}</i>			<i>Ek</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Ti	0,0142	0,0999	0,7902	79,2503	0,0686	0,8820	0,0657	3,9940	0,2160	0,7703	1,4979	0,4336
Lo	0,8637	3,1159	0,1222	1086,6267	1,0126	0,4474	0,1587	36,3206	0,0060	1,1300	39,4582	0,0014
Ho	1,2076	202,0892	0,0002	4572,4461	11,8110	0,0002	0,1162	14,7088	0,0002	0,1370	1,0836	0,3480
TixLo	0,2444	0,8728	0,4896	3779,6634	1,9876	0,2462	0,0175	1,6229	0,3142	0,7802	8,3901	0,0438
TixHo	0,1427	23,8732	0,0002	1154,6741	2,9826	0,0640	0,0165	2,0840	0,1396	0,5142	4,0669	0,0290
LoxHo	0,2772	46,3872	0,0002	1073,0884	2,7719	0,0436	0,0044	0,5534	0,7066	0,0286	0,2265	0,9228
TixLoxHo	0,2800	46,8660	0,0002	1901,6294	4,9121	0,0026	0,0108	1,3620	0,2730	0,0930	0,7355	0,5782
Residual	0,0060			387,1329			0,0079			0,1264		

Tabla A22. Resultados estadísticos para el contenido en fenoles, actividad antioxidante y contenido en pigmentos de *P. pavonica*.

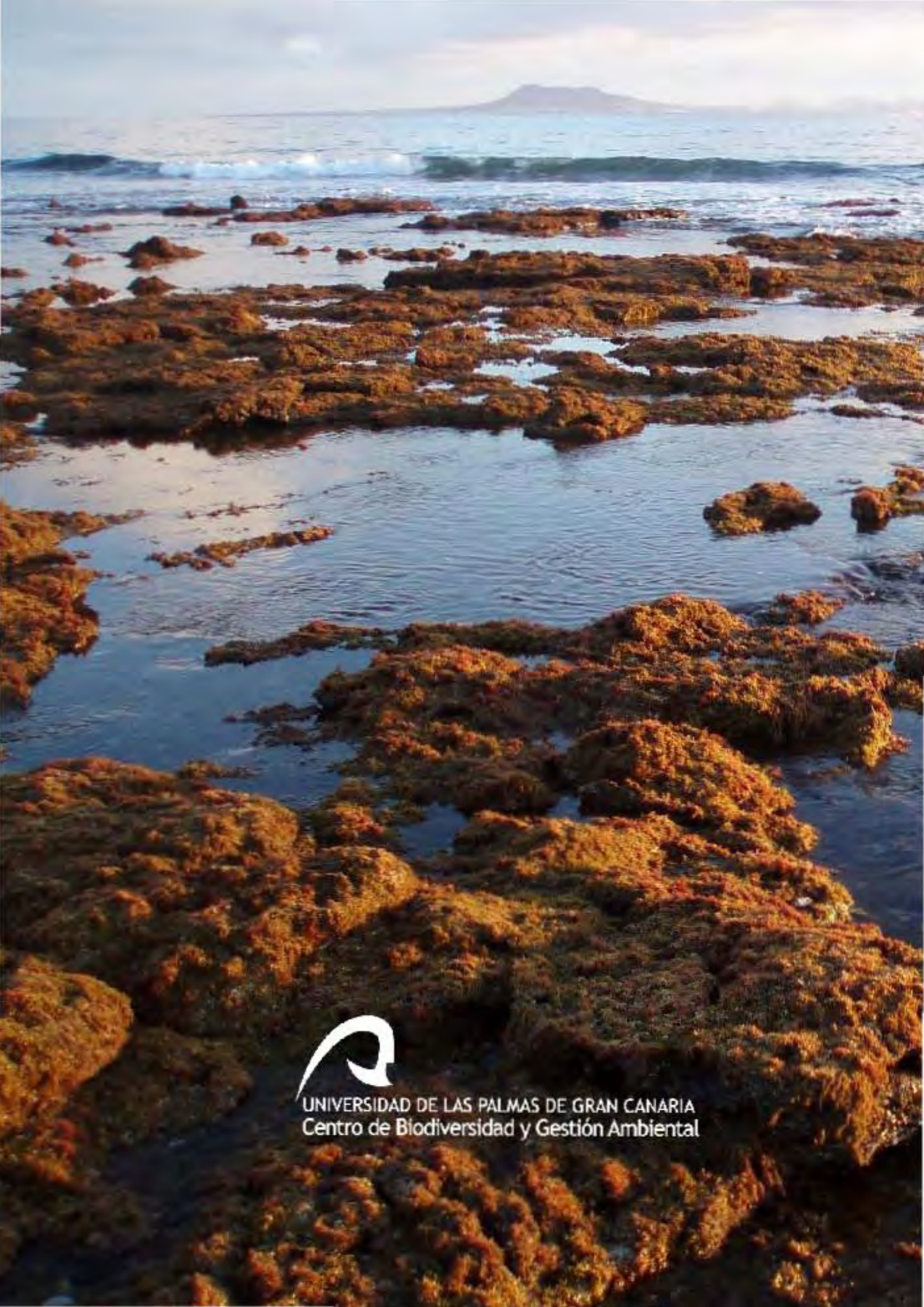
	<i>Fenoles</i>			<i>EC₅₀</i>			<i>Chl a</i>			<i>Chl c</i>			<i>Carotenos</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Ti	355,339	14,69	0,0618	0,765	27,18	0,0349	0,5596	64,97	0,0150	4,8484	54,57	0,0178	0,360	61,59	0,0159
Lo	200,208	19,86	0,0084	0,001	0,00	0,9991	2,5294	73,31	0,0007	22,722	45,39	0,0018	1,292	30,62	0,0038
Ho	21,8493	2,29	0,1159	0,134	19,06	0,0002	0,1323	5,56	0,0079	0,0433	0,30	0,7408	0,067	4,74	0,0149
TixLo	182,851	7,62	0,0432	0,012	0,37	0,7113	0,3057	5,59	0,0595	0,7321	1,43	0,3391	0,225	4,03	0,1102
TixHo	24,1970	2,54	0,0933	0,028	3,99	0,0272	0,0086	0,36	0,6989	0,0889	0,62	0,5430	0,005	0,41	0,6665
LoxHo	10,0828	1,06	0,3920	0,055	7,90	0,0001	0,0345	1,45	0,2379	0,5006	3,50	0,0163	0,042	2,96	0,0327
TixLoxHo	23,9955	2,51	0,0585	0,033	4,76	0,0035	0,0547	2,30	0,0778	0,5104	3,57	0,0150	0,056	3,93	0,0095
Residual	9,5425			0,007			0,0238			0,1430			0,014		

Tabla A23. Resultados del ANOVA de *L. variegata* para los parámetros fotosintéticos

	<i>Fv/Fm</i>			<i>ETR_{max}</i>			α_{ETR}			<i>Ek</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Ti	0,3100	14,5891	0,1028	14710,5104	3,4230	0,1330	0,0212	1,2696	0,3636	1,5890	29,7543	0,0306
Lo	0,7590	7,6387	0,0560	467,1776	0,1555	0,8274	0,0260	2,9992	0,1874	0,2885	1,7423	0,2756
Ho	1,9677	212,5145	0,0002	2386,7973	7,2134	0,0020	0,0229	9,8843	0,0006	0,0685	1,3787	0,2716
TixLo	0,5524	3,2596	0,1466	1476,2403	1,0409	0,4508	0,0016	0,3123	0,7500	0,1690	1,6851	0,3006
TixHo	0,0212	2,2947	0,1040	4297,5413	12,9880	0,0002	0,0167	7,2142	0,0030	0,0534	1,0755	0,3596
LoxHo	0,0994	10,7310	0,0002	3004,8433	9,0812	0,0002	0,0087	3,7382	0,0120	0,1656	3,3352	0,0182
LoxTixHo	0,1695	18,3028	0,0002	1418,2816	4,2863	0,0066	0,0052	2,2560	0,0764	0,1003	2,0201	0,1100
Residual	0,0093			330,8848			0,0023			0,0497		

Tabla A24. Resultados estadísticos para el contenido en fenoles, actividad antioxidante y contenido en pigmentos de *L. variegata*.

	<i>Fenoles</i>			<i>EC₅₀</i>			<i>Chl a</i>			<i>Chl c</i>			<i>Carotenos</i>		
	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Ti	0,2599	13,8465	0,0314	0,013	10,7031	0,0684	7,320	118,389	0,0492	0,2035	0,4458	0,5758	0,444	11,6525	0,0866
Lo	1,1334	29,2755	0,0124	0,022	5,0613	0,1100	6,082	445,468	0,0024	10,041	140,319	0,0084	0,117	15,8545	0,0144
Ho	0,0574	2,4683	0,1014	0,001	0,8836	0,4272	0,050	2,7773	0,0790	0,0860	1,4846	0,2400	0,052	3,6031	0,0456
TixLo	0,5076	2,5364	0,1984	0,003	0,8065	0,5162	4,653	39,9181	0,0078	0,7632	2,7868	0,1672	0,001	0,0159	0,9828
TixHo	0,0188	0,8069	0,4466	0,001	1,0861	0,3522	0,061	3,3947	0,0434	0,4564	7,8823	0,0016	0,038	2,6292	0,0826
LoxHo	0,0387	1,6640	0,1796	0,004	4,0141	0,0114	0,013	0,7495	0,5616	0,0716	1,2360	0,3212	0,007	0,5088	0,7300
TixLoxHo	0,2001	8,6023	0,0002	0,003	3,2932	0,0214	0,116	6,3996	0,0012	0,2739	4,7300	0,0038	0,083	5,7777	0,0018
Residual	0,0233			0,001			0,018			0,0579			0,014		



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Centro de Biodiversidad y Gestión Ambiental