

An underwater scene with sunlight rays filtering through the water surface, creating a serene and slightly somber atmosphere. The water is a deep blue, and the light rays are bright and clear, creating a sense of depth and tranquility. The overall mood is contemplative and focused on the theme of ocean acidification.

# **L'acidificació dels oceans**

Parker

Mostra de Treballs de Recerca 2016



# Índex

<b>1. Agraïments</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Resum/Abstract</b> .....	<b>2</b>
<b>3. Antecedents</b> .....	<b>3</b>
<b>4. Introducció</b> .....	<b>4</b>
<b>5. L'acidificació dels oceans</b> .....	<b>6</b>
5.1 Un canvi ràpid en el mar .....	6
5.2 Procés d'acidificació.....	10
5.3 Com afecta l'acidificació a un organisme .....	11
5.4 Creixement i reproducció deficients .....	13
5.5 Adaptació a l'acidesa? .....	15
<b>6. Les espècies amb les que treballaré</b> .....	<b>16</b>
6.1 L'eriçó de mar: <i>Paracentrotus lividus</i> .....	16
6.1.1 Taxonomia.....	16
6.1.2 Hàbitat .....	17
6.1.3 Anatomia .....	18
6.1.4 Fertilitat.....	19
6.1.5 Fecundació .....	20
6.1.6 Desenvolupament embrionari .....	21
6.2 El cargol: <i>Neritina natalensis</i> .....	23
6.2.1 Taxonomia.....	23
6.2.2 Habitat .....	24
6.2.3 Morfologia.....	24
<b>7. Experiment 1: Acidificació de l'aigua</b> .....	<b>25</b>
7.1 Objectiu .....	25
7.2 Material .....	25
7.3 Procediment.....	26

7.4 Resultats.....	28
<b>8. Experiment 2: La fecundació <i>in vitro</i> del <i>Paracentrotus lividus</i>.....</b>	<b>29</b>
8.1 Hipòtesi de l'experiment.....	29
8.2 Material.....	29
8.3 Procediment.....	30
8.4 Resultats.....	35
8.5 Discussió .....	43
8.6 Conclusions .....	43
<b>9. Experiment 3: Observació del desenvolupament de cargols en aigües de diferent acidesa.....</b>	<b>44</b>
9.1 Hipòtesi de l' experiment.....	44
9.2 Material.....	44
9.3 Procediment.....	45
9.4 Resultats.....	47
9.5 Discussió .....	52
9.6 Conclusions .....	52
<b>10. Una investigació <i>in situ</i> sobre l'efecte de l'acidificació del mar .....</b>	<b>53</b>
10.1 Introducció .....	53
10.2 Entrevista a Cristina Linares .....	56
<b>11. Conclusions .....</b>	<b>60</b>
<b>12. Bibliografia .....</b>	<b>61</b>
<b>Annex</b>	

# 1. Agraïments

- Al tutor del treball i professor de biologia en anys anteriors, per la seva ajuda, consell i suport. Per facilitar-me el material que ha pogut, per facilitar-me contactes i sobretot, pel temps de la seva vida o temps lliure dedicat a mi, i al meu treball des del primer dia.
- Al secretari del centre, per obrir-me les portes de l' institut un cap de setmana i per deixar-me realitzar l'experiment durant una tarda sencera.
- A la professora de química, per cedir-me el material necessari i explicar-me com funcionava el procés d'acidificació i com dur-lo a terme.
- A Juan, pescador de Sant Feliu de Guíxols que va proporcionar-me els eriçons de mar.
- A Floraqua, botiga d'animals marins que em va proporcionar els cargols.
- Als meus pares, per escoltar-me, ajudar-me, desplaçar-me, aconsellar-me, animar-me, recolzar-me i sobretot per aguantar-me tots els dies de la seva vida.

## 2. Resum/Abstract

Resum	Abstract
<p>L'acidificació dels oceans es causada per la reacció entre diòxid de carboni i l'aigua de la superfície marina. Aquesta reacció augmenta la concertació d'ions hidrogen a l'aigua i provoca un descens en el nivell de pH.</p> <p>Els animals utilitzen diversos mecanismes per solucionar aquest problema.</p> <p>En el meu treball utilitzaré les espècies <i>Paracentrotus lividus</i> y <i>Neritina natalensis</i> per comprovar com afecta l'acidificació a la fauna marina.</p> <p>Els espermatozoides del <i>Paracentrotus lividus</i> consumeixen energia per equilibrar el seu pH intern i no poden generar el moviment necessari per fer la fecundació. Els òvuls no poden fer de manera correcta les reaccions anabòliques i pateixen malformacions.</p> <p>El cargol <i>Neritina natalensis</i> no pot créixer perquè consumeix energia per equilibrar el seu pH intern. No pot sobreviure perquè no pot dur a terme processos vitals i la seva conquilla de <math>\text{CaCO}_3</math> es deteriora.</p>	<p>Acidification of the oceans is caused by the reaction between carbon dioxide and water from the sea surface.</p> <p>This reaction increases the concentration of hydrogen ions in the water and causes a drop in the pH level.</p> <p>Animals use various mechanisms to solve this problem.</p> <p>In my project I will use the species <i>Paracentrotus lividus</i> and <i>Neritina natalensis</i> to see how acidification affects to marine life.</p> <p>The sperm of <i>Paracentrotus lividus</i> consume energy to balance their internal pH level, they don't generate enough movement of their tails and they fail the fertilization.</p> <p>Ovules can't do their anabolic reactions in a correct way and they suffer malformations.</p> <p>The Snail <i>Neritina natalensis</i> can't grow because it consumes energy to balance their intern pH level. It can't survive because it can't do vital process and it conch of <math>\text{CaCO}_3</math> is impaired.</p>

### 3. Antecedents

En 1956, els científics Roger Revelle y Hans Suess, de la institució Scripps d'Oceanografia, van senyalar la necessitat de mesurar la quantitat de CO<sub>2</sub> a l'atmosfera i a l'oceà, per conèixer els efectes d'aquest sobre el clima.

L'any 2008, el científic Jonathan N. Havenhand va observar que en aigua àcida els espermatozoides reduïen la seva velocitat de moviment. Havenhand va demostrar-ho en experiments de laboratori i els va publicar al Departament de Biologia Marina de la universitat de Göteborg.

Scott C. Doney, va parlar de l'acidificació dels oceans el seu article "La acidificación de los océanos", on parla sobre l'efecte i on s'està produint. Va ser publicat a la revista Investigación y Ciencia al mayo de 2006

El CSIC (Consejo Superior de Investigaciones Científicas) va alertar de la perillositat de l'acidificació dels oceans i de les conseqüències que pot provocar a l'ambient i a la fauna marina en un estudi publicat al març de 2010

Marah J. Hardt i Carl Safina, van parlar sobre l'acidificació dels oceans, però va centrar part del seu article en quins efectes té sobre els éssers vius. L'article es diu "La vida oceánica amenazada", publicat a la revista Investigación y Ciencia a l'octubre 2010.

La IAEA (International Atomic Energy Agency) va publicar un article traduït al castellà anomenat "Acidificación Oceánica: La base del conocimiento 2012", on parla sobre l'efecte de l'acidificació oceànica, estudis que s'estan duent a terme sobre el tema i la situació política dels països en relació amb aquest efecte.

## 4. Introducció

El meu treball tracta sobre com afecta l'acidificació de l'aigua dels oceans a la fauna. El meu objectiu principal és comprovar si realment l'acidificació perjudicarà els éssers vius.

He escollit aquest tema perquè m'agrada molt la biologia marina. Trobo fascinant la fauna del mar, i em resulta interessant saber com l'ésser humà pot perjudicar les espècies, encara que sigui de manera indirecta. A més, m'agrada el treball de laboratori, i aquest treball em permet gaudir d'interessants experiments.

L'acidificació dels oceans és un fenomen contemporani que pot provocar grans problemes mediambientals als ecosistemes marins. Aquesta variació del pH de l'aigua és deguda a l'absorció de diòxid de carboni (CO<sub>2</sub>) atmosfèric per la superfície de l'oceà.

L'acidificació dels oceans afecta a la fauna marina. Per comprovar-ho, simularé les condicions del nivell de pH l'any 2100. A partir de la espècie *Paracentrotus lividus*, l'eriqó de roca comú, faré una fecundació in vitro en aigua de pH 8,10 i aigua de pH 7,82, el nivell de pH de l'any 2100, i observaré com afecta l'acidificació de l'aigua en el moviment dels espermatozoides i el seu posterior desenvolupament. Per altre banda, observaré el desenvolupament, creixement i supervivència del cargol *Neritina natalensis* en aigua acidificada.

Durant la meua investigació he hagut de superar alguns inconvenients que s'han presentat:

L'inconvenient per realitzar la fecundació, és la impossibilitat de dur-ho a terme durant l'estiu, ja que el *Paracentrotus lividus* només és fèrtil entre els mesos de setembre i maig, essent la millor etapa els mesos de gener, febrer i març.

A més, fa uns anys, instituts i escoles de biologia marina proporcionaven els gàmetes dels eriçons, però a causa de les retallades ja no els ofereixen.

Em vaig desplaçar fins a Sant Feliu de Guíxols on havia contactat prèviament amb un pescador de la zona, en Juan, que va proporcionar-me les garotes.



Els cargols es podien trobar i comprar a qualsevol botiga d'animals, però des de fa un any, això ja no es possible: Aquests animals són utilitzats per la neteja d'aquaris i quan la gent no els necessita, sovint són llençats pel lavabo. A causa d'aquest fet, es formen plagues als deltes, i fan que les espècies autòctones no pugin desenvolupar-se i viure amb comoditat.

És per això, que la policia controla la venda i únicament a llocs molt específics pots trobar-los. Jo vaig buscar fins a set botigues diferents fins que els vaig trobar.

## 5. L'acidificació dels oceans

L'acidificació dels oceans es causada per la reacció entre diòxid de carboni i l'aigua de la superfície marina. Aquesta reacció es produeix cada cop més, fins el punt d'haver estat anomenat "l'altre problema del CO<sub>2</sub>", després del escalfament global a causa de l'augment del efecte hivernacle. El subministrament creixent de carboni procedeix en gran part de la crema de combustibles fòssils, petroli i gas natural; la crema de boscos tropicals afegeix emissions de carboni, però en menor quantitat. El 40% del CO<sub>2</sub> queda en l'atmosfera, la resta es absorbida per la vegetació i pels oceans en parts iguals.

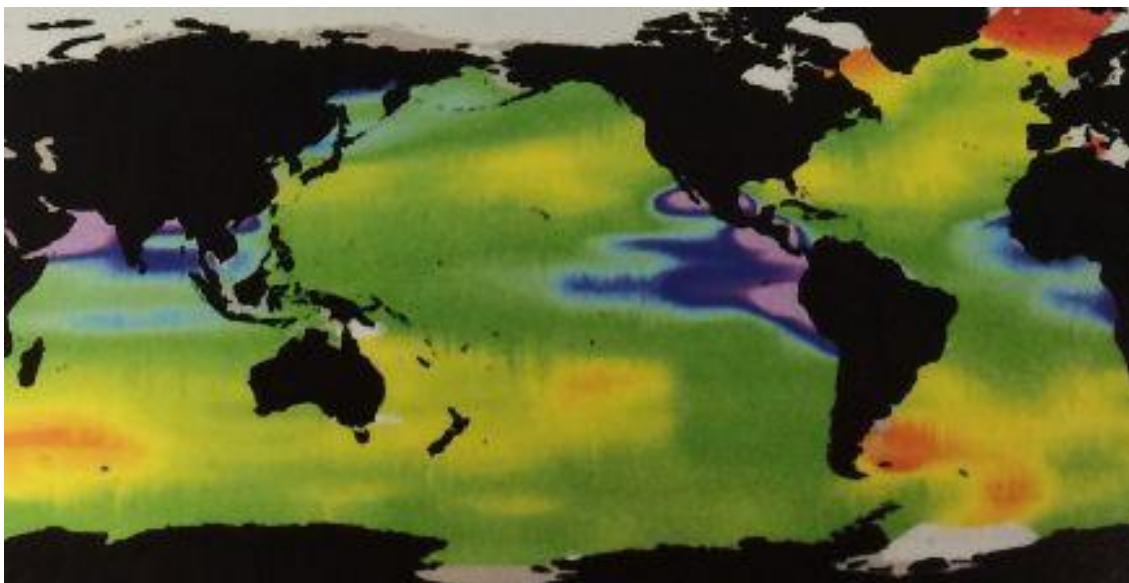
A mida que tenim aigua més àcida, els coralls i animals marins com les cloïsses o els muscles tenen dificultats per construir els seus esquelets i conquilles. Però les conseqüències de l'acidificació encara són pitjors, ja que l'acidesa pot influir en tots els animals marins sense importar si tenen o no conquilla. En alterar processos tan elementals com el creixement o la reproducció (una velocitat de moviment inferior dels espermatozoides), l'acidificació posa en perill la supervivència de moltes espècies marines que podrien arribar a extingir-se.

### 5.1 Un canvi ràpid en el mar

La interacció del diòxid de carboni amb l'oceà suavitzava els efectes climàtics del gas. La concentració atmosfèrica de CO<sub>2</sub> arriba quasi a les 390 parts per milió (ppm), però si els oceans no absorbissin fins a 30 tones diàries d'aquest gas, aquesta concentració seria encara major. Els mars han absorbit al voltant d'un terç (1/3) del CO<sub>2</sub> atmosfèric alliberat per les activitats humanes. Això redueix l'escalfament global, però a costa de l'acidificació de l'aigua.

En els últims anys, els 100 metres més superficials del Pacífic en la zona de Hawaii han augmentat la seva acidesa en un 6%. En tot el planeta, el nivell de pH en la capa superficial dels oceans ja s'ha reduït en 0,12 unitats des de l'inici de la revolució industrial.

Aquest canvi pot semblar insignificant, però tenint en compte que el nivell de pH es mesura mitjançant una escala logarítmica, aquest canvi suposa un augment d'un 30% en l'acidesa.

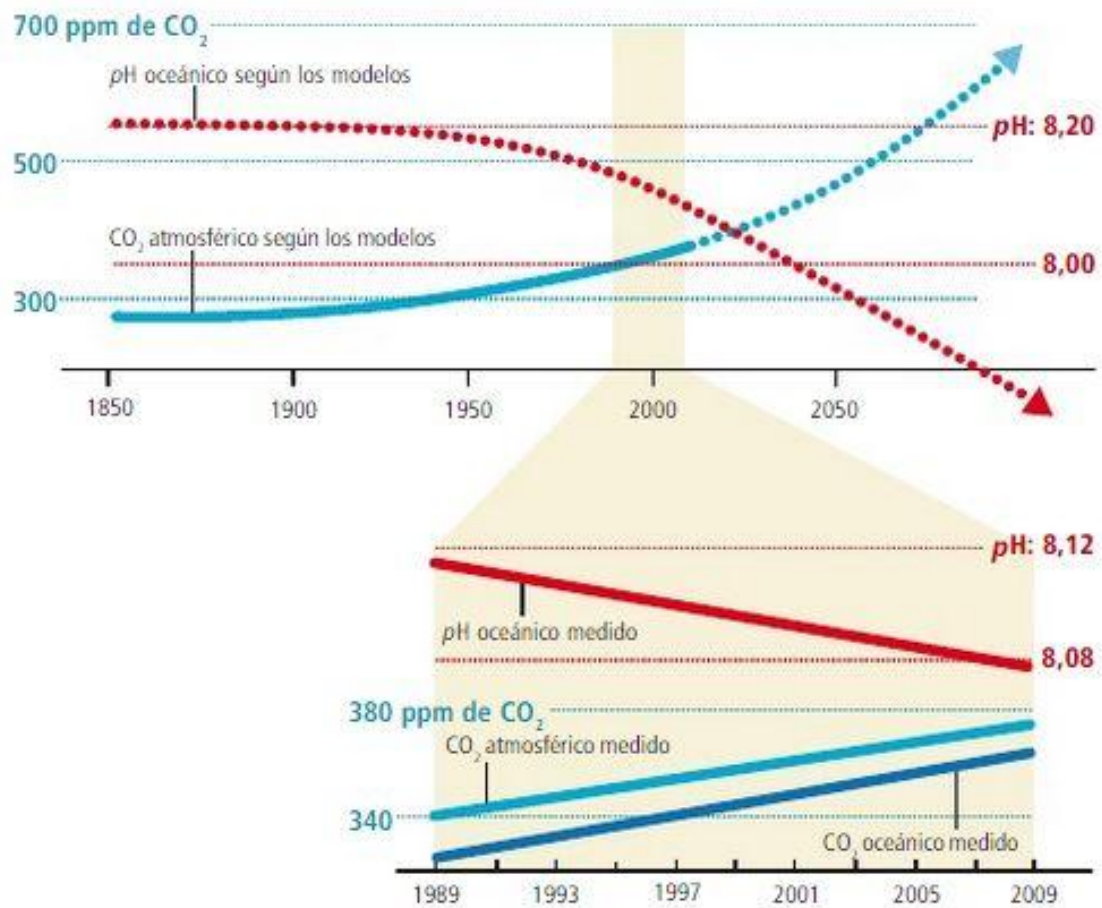


**Fig.1:** Mapa del món on es representa el nivell de pH actual de la superfície oceànica. Les tonalitats vermelles representen les aigües més alcalines i les tonalitats blaves les zones més acidificades.

Encara que el pH de l'aigua del mar (8,10) presenta una certa alcalinitat, la tendència a reduir-se constitueix l'acidificació. Els estudis paleontològics demostren que canvis d'aquesta magnitud es van associar, en el passat, a la degradació de la vida marina, que no ha experimentat tal canvi en el seu nivell de pH des de fa 250 milions d'anys, quan les erupcions volcàniques van duplicar la quantitat de CO<sub>2</sub> atmosfèric, que va causar una de les majors extincions en massa de tots els temps. Van desaparèixer més del 90% de les espècies que habitaven els oceans.

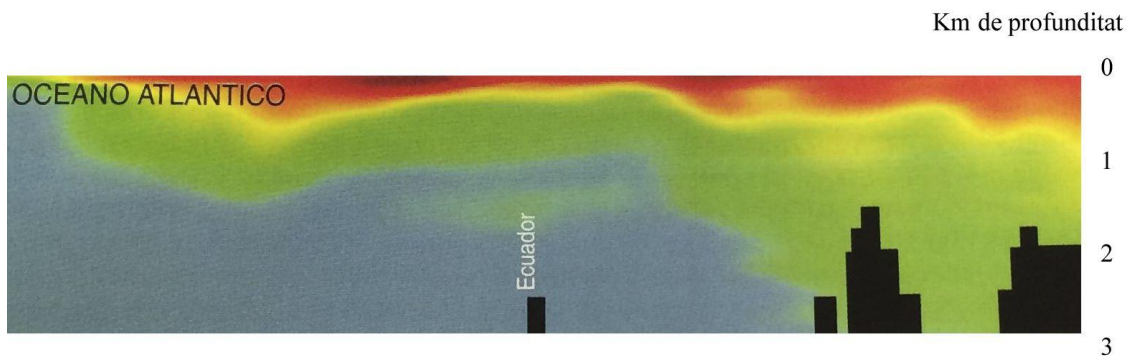
Si mantenim les tasses d'emissions de gasos que provoquen l'efecte hivernacle, com el diòxid de carboni, es calcula que la concentració atmosfèrica d'aquest gas podria arribar a les 500 ppm a l'any 2060, i a les 800 ppm a l'any 2100. Això significa que el pH de l'oceà superficial podria caure fins a un 7,8 o 7,7 en els pròxims 100 anys, el que significa que l'acidesa augmentaria en un 150% en comparació a l'època preindustrial.

Temps	Nivell de pH
Pre-industrial (1700)	8,179
Passat recent (1990s)	8,104
Any 2050	7,949
Any 2100	7,824



**Fig.2:** Gràfica on es mostra el CO<sub>2</sub> atmosfèric en parts/milió, i el nivell de pH de l'aigua del mar en 200 anys i en 20 anys.

L'oceà es podria comparar a un pastís de capes; cada capa de l'oceà es caracteritza per una determinada combinació de salinitat i temperatura. Les capes superficials de l'oceà són les que estan en contacte amb el CO<sub>2</sub> atmosfèric i l'absorbeixen, per tant, són les capes superficials les que tenen un nivell de pH més àcid. A primera vista pot semblar que la fauna no es veuria afectada per aquest fenomen, ja que moltes espècies viuen a capes inferiors. Però els animals es mouen entre les capes en busca d'aliment, i sovint entren en contacte amb la capa acidificada, per la qual cosa, també pateixen l'efecte.

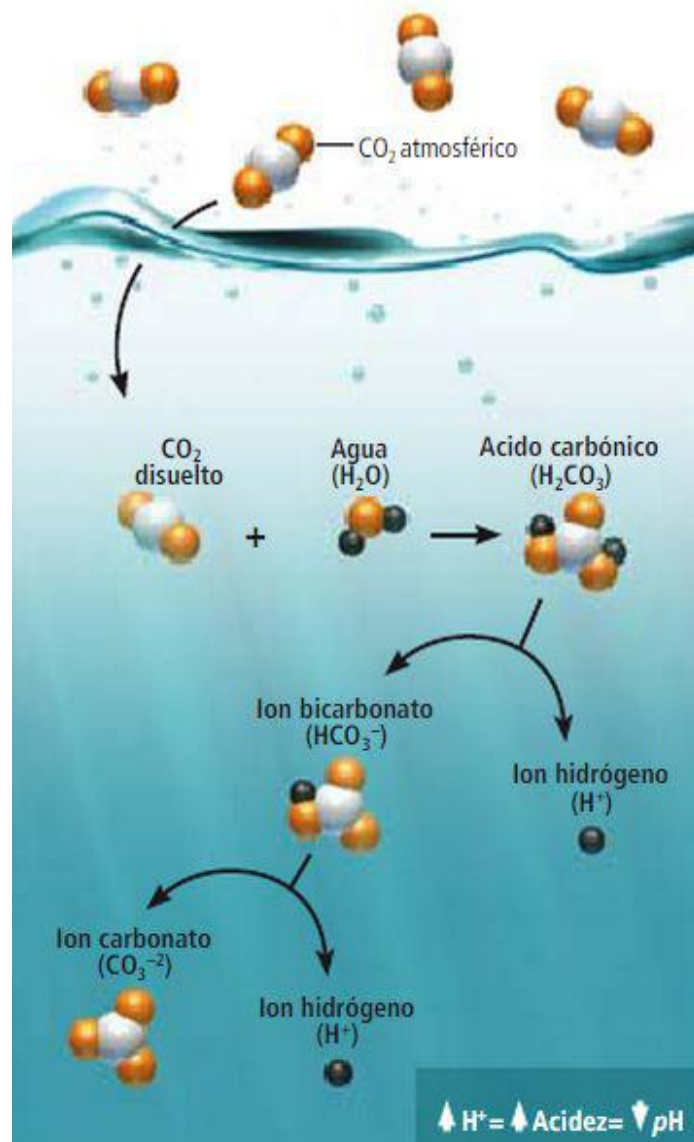


**Fig.3:** En aquest exemple, s'observa com l'acidificació està afectant a la capa superficial de l'oceà Atlàntic majoritàriament, essent el color vermell les aigües àcides i el blau les aigües amb pH normal.

L'abundància d'oxigen i llum solar en la capa superficial sustenta la base de la cadena tròfica: Es tracta de les plantes unicel·lulars del fitoplàncton, que utilitzen la llum solar per sintetitzar sucres. El zooplàncton, s'alimenta del fitoplàncton, a la vegada que es ingerit per petits peixos, i així successivament. Quan els animals ascendeixen i descendeixen, travessen aigües de diferent pH. Però l'acidificació modifica el nivell de pH i això pot afectar els diferents organismes.

## 5.2 Procés d'acidificació

Las molècules de diòxid de carboni són absorbides per l'aigua de la superfície dels oceans. El  $\text{CO}_2$  reacciona amb l'aigua per formar àcid carbònic ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). La major part d'aquest àcid dèbil es dissocia en ions d'hidrogen ( $\text{H}^+$ ) i en ions bicarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ). Després, part dels ions bicarbonat es tornen a dissociar per formar ions carbonat ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) i més ions d'hidrogen ( $\text{H}^+$ ). L'augment de ions hidrogen provoca el descens del nivell de pH.



**Fig.4:** Esquema del procés d'acidificació

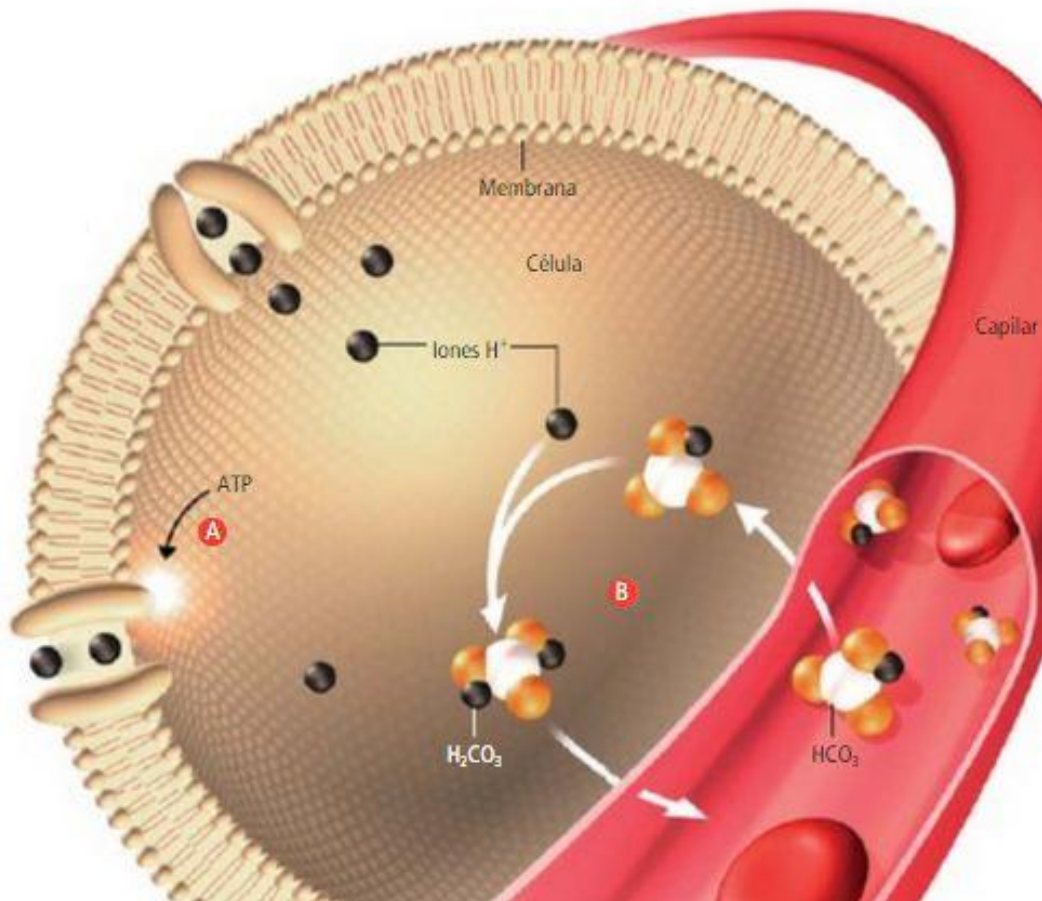
### 5.3 Com afecta l'acidificació a un organisme

L'acidificació pot obligar als organismes a invertir més energia en la recuperació i manteniment del seu pH intern. Consumeixen així, energia que hauria de ser utilitzada en altres processos vitals com el creixement i la reproducció. Inclús petits augments en la concentració de diòxid de carboni en l'aigua pot causar una ràpida difusió d'aquest en els organismes amb respiració aquàtica. El gas, una vegada en l'interior, reacciona amb els fluids corporals i forma ions hidrogen ( $H^+$ ), cosa que augmenta el nivell d'acidesa dels fluids i teixits.

Els organismes utilitzen diversos mecanismes per equilibrar el seu nivell de pH intern: -produir ions negatius com el bicarbonat, que capten o esmorteixen els ions hidrogen sobrants; -bombar ions hidrogen cap el interior i exterior de les cèl·lules i espais intercel·lulars; -reduir el metabolisme per absorbir menys ions hidrogen fins que s'acabi l'excés d'aquests. Però cap d'aquestes estratègies serveix davant d'una baixada tant gran en el nivell de pH. L'organisme haurà de recuperar l'equilibri àcid-base, i per tant, sacrificarà energia necessària per processos com la síntesi de proteïnes o el manteniment d'un bon sistema immunitari.

La majoria de les espècies posseeixen molècules esmorteïdores. Els peixos, per exemple, acumulen aquestes molècules per contrarestar el descens temporal del pH durant la propulsió ràpida. Poques espècies poden fer ús de les molècules tampó durant un llarg període de temps.

Si el canvi de pH es produís de manera gradual durant milers d'anys, una espècie podria adaptar-se a un nou medi, però en general, no pot adaptar-se a canvis que sorgeixen en uns segles.



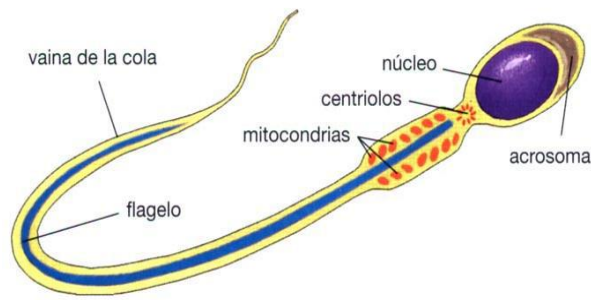
**Fig.5:** Dos mecanismes que utilitzen els éssers vius per equilibrar el nivell de pH de les cèl·lules són:

-Bombar a l'exterior els ions sobrants; l'energia d' una molècula d'ATP, empeny els ions a través d'un canal unidireccional en la membrana cel·lular (A).

-Produir més molècules esmorteïdores, com els ions bicarbonat ( $\text{HCO}_3^-$ ), que s'enllacen amb el ions hidrogen ( $\text{H}^+$ ) i són expulsats de les cèl·lules en forma d'àcid carbònic (B).

Aquests mecanismes consumeixen ATP





**Fig.6:** Els espermatozoides contenen uns orgànuls anomenats mitocondris. Els mitocondris generen energia (ATP) a partir de glúcids, com la glucosa, mitjançant un procés anomenat la respiració cel·lular. Els espermatozoides utilitzen aquesta energia única i exclusivament per generar el moviment de la seva cua que els permet avançar cap a l'òvul. Les espècies marines duen a terme la fecundació de manera externa. Si els espermatozoides es troben en un medi àcid (l'aigua del mar acidificada), gran quantitat de l'ATP generada durant la respiració cel·lular haurà de ser utilitzada per bombar ions hidrogen a l'exterior de la cèl·lula, i així, s'equilibrarà el nivell de pH. Aquesta despesa d'energia provocarà que hi hagi menys disponibilitat d'ATP, i no es generarà el moviment de la cua necessari per avançar, cosa que provocarà molt menys èxit de fecundació.

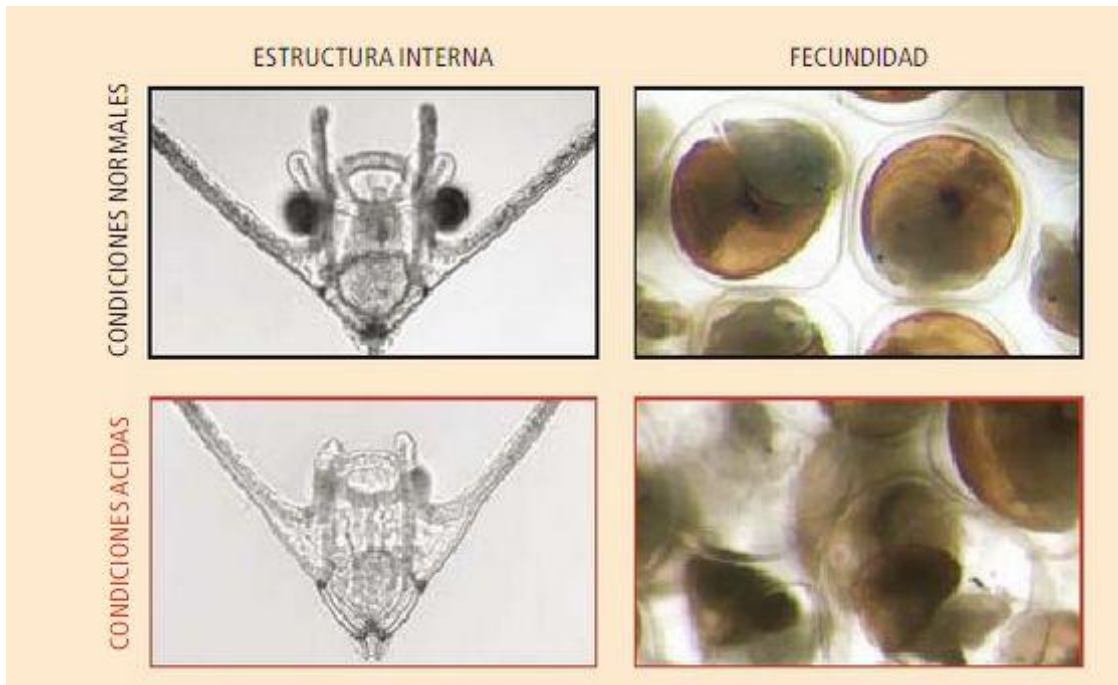
## 5.4 Creixement i reproducció deficients

Els efectes de l'acidificació dels oceans en els organismes varia segons l'estadi de desenvolupament en el que es trobin.

La fecundació, representa l'inici de la vida, i es pot veure afectada. En estudis en laboratoris simulant l'acidificació mitjançant un sistema de bombament de bombolles de diòxid de carboni i reduint el pH en únicament 0,4 unitats, s'ha observat que els espermatozoides de la espècie *Heliocidaris erythrogramma*, un eriçó de les costes australianes, redueixen la seva velocitat de moviment en un 12%. L'èxit de la fecundació es reduïa en un 25%. Aquest fet, a la naturalesa, disminuirà la població absoluta de l'espècie. Tot i que cada eriçó allibera milions

d'espermatozoides, en un oceà àcid és possible que mai aconseguixin arribar al seu destí.

A més, l'acidificació pot danyar els organismes en estadis larvaris. També pot afectar a organismes adults; un creixement més lent pot provocar una menor mida dels individus durant un major període de temps, pot tornar-los més vulnerables davant els depredadors



**Fig.7:** Ens condicions normals, la larva d'eriçó de mar, desenvolupa i forma les primeres estructures de carbonat càlcic correctament, i els òvuls són fecundats pels espermatozoides sense problemes. En canvi, en les condicions àcides, la larva no desenvolupa les estructures càlciques, i si ho fa, és amb malformacions, i els òvuls no són fecundats, i si ho són, es desenvolupen amb malformacions.

L'acidificació també dificulta en algunes espècies de fitoplàncton l'absorció de ferro, un micronutrient bàsic pel creixement. Hi ha estudis afirmen que una reducció de 0,3 unitats de pH hauria de disminuir entre un 10% i 20% l'absorció de ferro per part del fitoplàncton.

Un altre exemple és l'ofiura *Amphiura filiformis*, que viu sobre els sediments. En altres experiments, es va demostrar que adquireix un creixement més ràpid en els seus braços en un nivell de pH inferior, però amb menys massa muscular. Els músculs forts són necessaris per alimentar-se i escapar dels depredadors.



També es tem pels coralls. Malgrat el seu aspecte vegetal, els coralls són colònies d'animals i estan emparentats amb les anemones de mar. S'alimenten de plàncton i segreguen exosquelets de carbonat càlcic que, amb el temps, s'acumulen per formar esculls de coralls, un dels ecosistemes de major productivitat i diversitat biològica del oceà.

Es sospita, que l'acidificació faria morir els animals que resideixen al corall de la zona, deixant exposats els esquelets blancs de  $\text{CaCO}_3$ , que posteriorment es desfarien.



## 5.5 Adaptació a l'acidesa?

El canvi climàtic estarà present durant segles, per tant, algunes espècies podrien arribar a adaptar-se, sobretot aquelles amb un cicle reproductiu curt. Cada vegada que un animal es reproduïx, poden sorgir en els seus descendents mutacions genètiques que ajudin a ajustar-se a noves circumstàncies.

Però s'ha predit un descens de 0,5 unitats en el nivell de pH en els pròxims 90 anys, i és un període massa curt perquè les espècies pugin arribar a adaptar-se. L'extinció de l' 1% dels individus per generació culminaria amb l'extinció total de l'espècie en menys d'un segle.

Resulta alarmant que el descens de pH observat fins ara i previst pel futur sigui cent vegades més ràpid que qualsevol canvi succeït en mil·lennis anteriors. Si no s'actua ràpid, el diòxid de carboni crearà un oceà nou, per les espècies ja existents.

## 6. Les espècies amb les que treballaré

### 6.1 L'eriçó de mar: *Paracentrotus lividus*

He escollit el *Paracentrotus lividus* perquè és una de les espècies més abundants a la costa catalana i les seves gònades són grans per poder extreure els gàmetes amb facilitat, ja que no disposem de material específic de fecundació *in vitro*.

#### 6.1.1 Taxonomia

**Regne:** Animalia

**Fílum:** Echinodermata

**Classe:** Echinoidea

**Subclasse:** Euechinoidea

**Ordre:** Diadematidae

**Família:** Echinidae

**Gènere:** *Paracentrotus*

**Espècie:** *P. lividus*



**Fig.8:** Frontal



**Fig.9:** Perfil

### 6.1.2 Hàbitat

Aquesta espècie de garota és la més coneguda i abundant a la costa catalana. També és molt comuna a la resta del Mar Mediterrani i a la costa atlàntica, des de Irlanda fins al Marroc, tot l' Oceà Atlàntic oriental.

Es troba en zones de poca profunditat, entre 0 i 40m, a la plataforma continental. Viu en llocs on abunden les roques i les algues, ja que aquestes últimes són el seu aliment principal.

Sol fer forats a les roques i cobrir-se amb restes d'algues o altres animals per amagar-se, camuflar-se i protegir-se.

És fàcil detectar una zona amb una població d'aquesta espècie, doncs únicament cal fixar-se si hi ha vegetació. Si hi ha vegetació s'està buscant en la zona equivocada, ja que el eriçons viuen d'aquest aliment i normalment les roques queden sense cap tipus d'alga o vegetació.

El *Paracentrotus lividus* conviu amb altres espècies com la garota negra, l'eriçó lilat o algun tipus d'estrella de mar.



**Fig.10:** *Paracentrotus lividus* en una roca



**Fig.11:** Mapa de l'hàbitat



**Fig.12:** *Paracentrotus lividus* camuflant-se

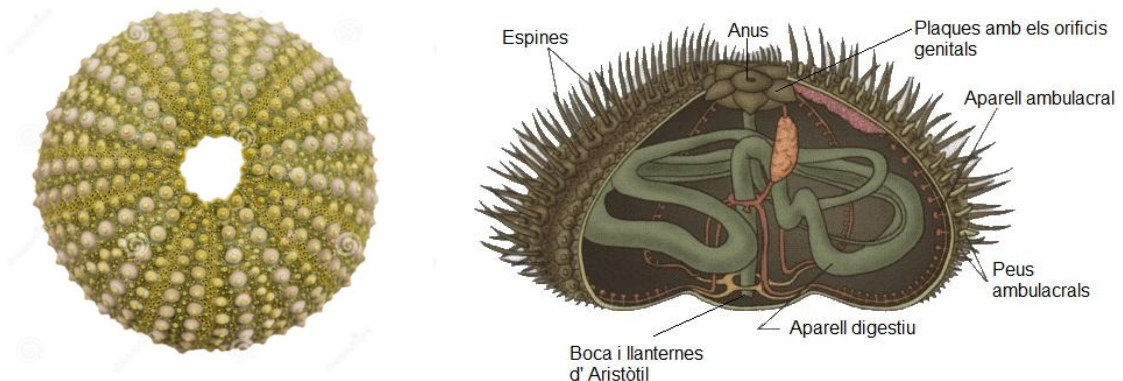
### 6.1.3 Anatomia

L'espècie *Paracentrotus lividus* es caracteritza per tenir situats els òrgans en **estructura pentaradial**, és a dir, a partir del centre surten cinc radis iguals que es col·loquen en forma esfèrica i té la part inferior aplanada. Fa com a màxim 70 mm de diàmetre i té un color sovint violeta, en els mascles, i marronós, en les femelles.

Sota la pell trobem un conjunt de plaques calcàries, formades a la vegada per plaquetes rígides sobre les quals es troben les espines, les quals impregnen verí, i que poden arribar a fer 3 cm de longitud.

A l'exosquelet també trobem una sèrie d'orificis que són el següents:

- Orificis oculars: Serveixen per detectar la llum i la foscor.
- Anus: Es troba a la part superior de la garota.
- Genitals: És un conjunt de cinc plaques que envolten l'anus i per on es desprenen els gàmetes.
- Boca: Es troba situada a la part central inferior de la garota, on trobem uns òrgans mastegadors anomenats llanternes d' Aristòtil.
- Peus ambulacrals: Es troben en la resta d'orificis en les plaques de l'erició.



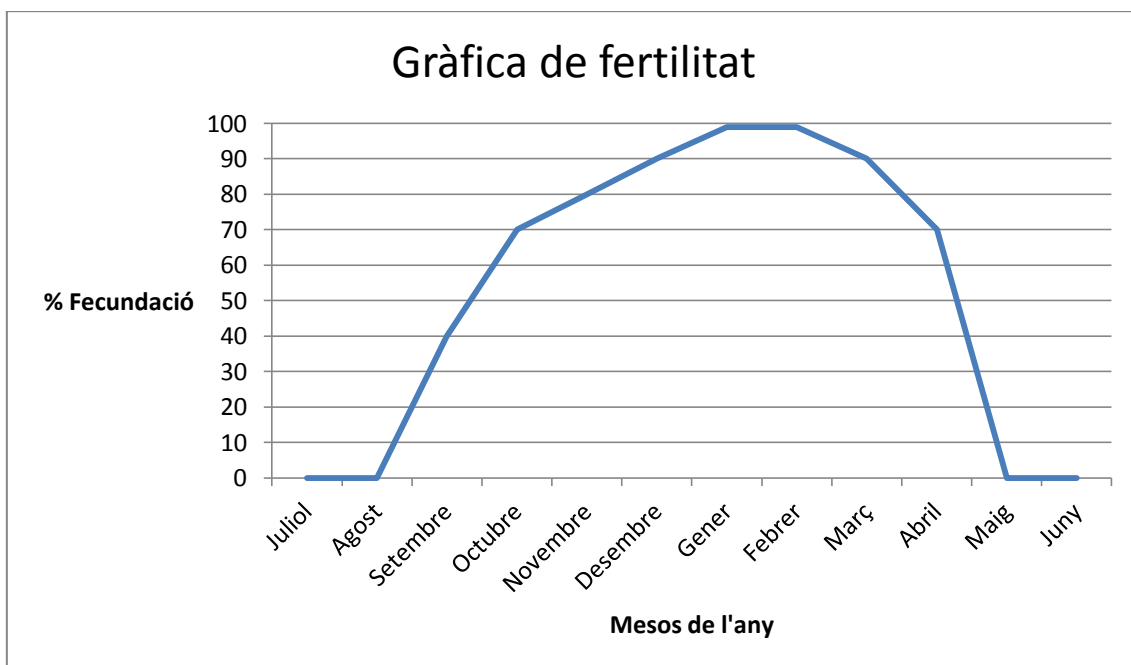
**Fig.13:** Exosquelet de carbonat calci i anatomia interna del *Paracentrotus lividus*

#### 6.1.4 Fertilitat

L'espècie *Paracentrotus lividus* és unisexual com tots els equinoderms. Té reproducció sexual ja que formen dos tipus de cèl·lules reproductores.

Els equinoïdeus tenen un cicle anual. En el nostre cas, el cicle dura aproximadament 9 mesos. Al setembre, les gònades comencen a madurar i a desenvolupar-se fins que arriben al punt màxim de fertilitat entre l'hivern i la primavera, entre els mesos de gener i març. A partir del mes d'abril comença a baixar gradualment la seva fertilitat fins al maig que les gònades perden aquesta capacitat totalment.

Per recordar els mesos de fertilitat d'aquesta espècie, únicament cal saber que els mesos fèrtils coincideixen casualment amb tots els mesos que contenen una "r" al seu nom.



**Fig.14:** Gràfica de la fertilitat del *Paracentrotus lividus*, amb els mesos de gener a març com a màxim grau de fertilitat.

### 6.1.5 Fecundació

El *Paracentrotus lividus*, de la mateixa manera que molts invertebrats, té una fecundació externa. Això vol dir que la unió entre el gàmeta masculí i el gàmeta femení es produeix a l'exterior, fora del cos de la femella. Normalment es produeix en medis aquàtics.



**Fig.15:**  
*Paracentrotus lividus*  
mascle expulsant  
espermatozoides  
fora de l'aigua, en la  
safata on els  
transportava



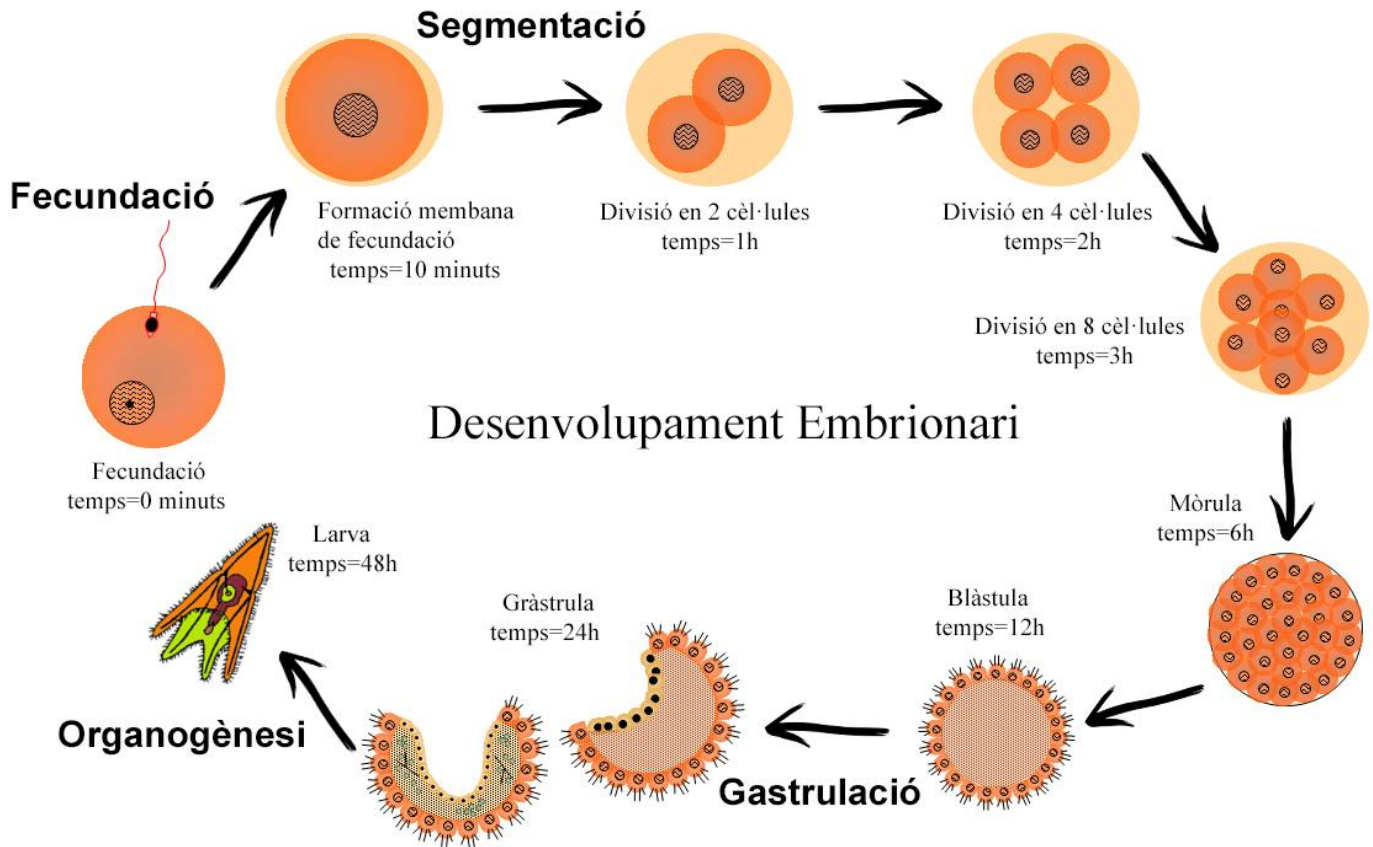
**Fig.16:**  
*Paracentrotus lividus*  
femella expulsant  
òvuls fora de l'aigua.  
en la safata on els  
transportava

Els òvuls fan que els espermatozoides s'apropin a ells per quimioatracció i queden fecundats. En el cas que més d'un espermatozoide fecundés un òvul (polispèrmia), el zigot format tindria més de dues còpies de cada cromosoma i moriria.



### 6.1.6 Desenvolupament embrionari

S'entén per desenvolupament embrionari el conjunt de tots els canvis que es produeixen en un individu des de la seva formació, quan es troba en forma de zigot, fins que els òrgans de l'individu estan diferenciats en la larva.



**Fig.17:** Fases del desenvolupament embrionari de l'erició de mar.

Des que les femelles y els mascles han expulsat els gàmetes es poden diferenciar quatre fases.

1. Fecundació: L'espermatozoide ha perforat la coberta protectora de l'òvul, entra i fusiona el material genètic de l'òvul amb el seu.
2. Segmentació: Una vegada l'òvul ja està fecundat sofreix divisions mitòtiques simètriques. La cèl·lula inicial es dividirà en dos, aquestes dos es dividiran en dos i es formaran quatre, aquestes quatre es dividiran en dos i es formaran vuit. Així continuarà el procés durant unes hores fins formar la **mòrula** i posteriorment la **blàstula**.

3. Gastrulació: És el procés que donarà lloc a la **gàstrula**, la primera estructura on es pot observar la diferenciació cel·lular.



**Fig.18:**  
S'observa la  
gàstrula

4. Organogènesi: Les cèl·lules es diferencien completament, es desenvolupen els òrgans i es forma la larva.

## 6.2 El cargol: *Neritina natalensis*

### 6.2.1 Taxonomia

**Regne:** Animalia

**Fílum:** Mollusca

**Classe:** Gastropoda

**Ordre:** Archaeogastropoda

**Família:** Neritidae

**Gènere:** Neritina

**Espècie:** *N. natalensis*

Cal saber, que dins de l'espècie *Neritina natalensis* trobem dos subespècies. El cargol zebra, que te la conquilla rallada, i el cargol tigre, que te la conquilla a punts.



**Fig.19:** *Neritina natalensis zebra*



**Fig.20:** *Neritina natalensis tiger*

### 6.2.2 Habitat

Aquest cargol es troba en zones del sud d'Àfrica com Kenia, Moçambic, Somàlia, Sud-àfrica i Tanzània.

### 6.2.3 Morfologia

El *Neritina natalensis* és una espècie de cargol de petites dimensions, entre 1 i 2 centímetres.

Presenta una conquilla semiesfèrica, amb una base de color taronja intens unes franges alternades entre negre i groc que arriben fins al vèrtex de la conquilla. Actualment hi ha molt tipus de franges, en el cas del cargol zebra, són les descrites anteriorment, i en el cas del cargol tigre, són franges de punts negres sobre una base clara.

El mantell de cargol, és a dir, la zona del ventre, posseeix un color clar, presentat amb patrons de franges fosques que es poden observar quan el cargol està actiu i de cara a l'observador.



**Fig.21:** S'observen les franges alternes de la conquilla i les franges fosques del ventre del cargol.

# 7. Experiment 1: Acidificació de l'aigua

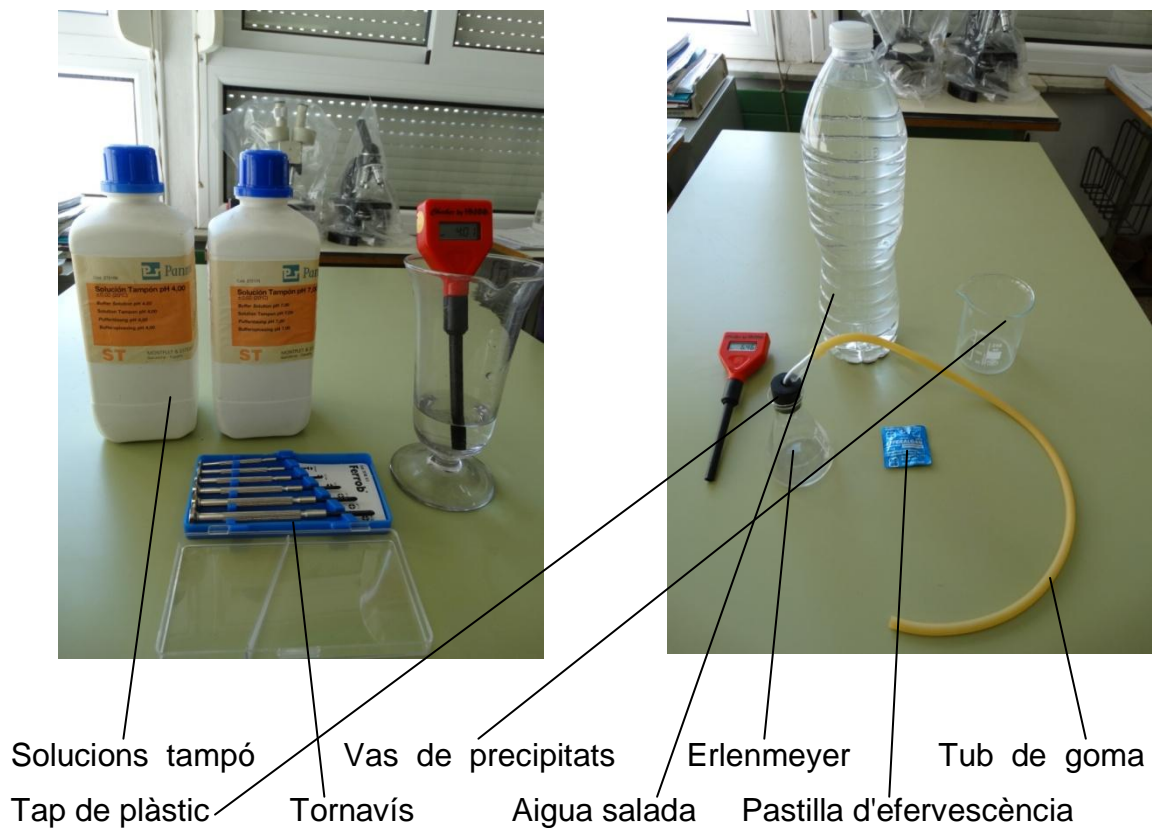
## 7.1 Objectiu

Aconseguir acidificar l'aigua del mar des de pH 8,10 a pH 7,82 per simular les condicions de l'any 2100.

## 7.2 Material

**Material:** pH-metre, 3 vasos de precipitats, matràs Erlenmeyer, tub de goma, tap de plàstic o de suro i tornavís de punta plana 1.8 mm.

**Substàncies químiques:** Aigua salada, solució tampó pH 7.00, solució tampó pH 4.00 i pastilles d'efervescència.



### 7.3 Procediment

1. En cas de que el pH-metre no estigui calibrat, cal calibrar-lo de la següent manera.

- Posem solució tampó pH 7.00 a un vas de precipitats, encenem el pH-metre i el deixem dues hores dins la substància.
- Una vegada han passat les dues hores, a la rosca de pH 7.00 reajustem el pH fins que quedi a 7.00.
- Netegem l'electró del pH-metre i posem a un altre vas de precipitats la solució tampó pH 4.00. Submergim l'electró del pH-metre a la nova substància i reajustem la rosca 4.00 fins que el pH quedi a 4.00.
- Una vegada estigui calibrat, el netegem i ja està llest per ser utilitzat.



**Fig.22:** Calibrant el pH-metre pH 7.00



**Fig. 23:** Calibrant el pH-metre pH 4.00

2. Mesurem el pH de l'aigua salada en condicions normals, hauria de sortir aproximadament 8,10.

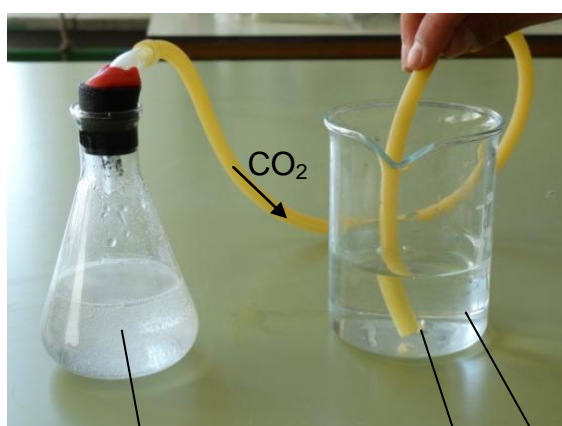


**Fig. 24:** pH de l'aigua salada en condicions actuals.

3. Comencem el procés per dur a terme l'acidificació de l'aigua marina.

Preparem un tub de goma connectat per un extrem a un tap que tancarà l'Erlenmeyer, on es produirà la reacció química i que deixarà passar el CO<sub>2</sub> resultant, i en l'altre extrem a l'aigua salada directament.

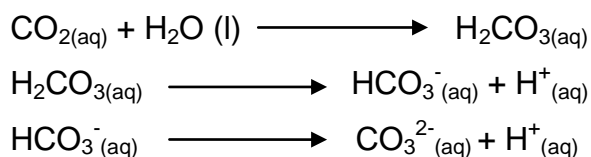
La reacció química és produïda per una pastilla efervescent, en aquest cas Efferalgan 1g (paracetamol). Quan la pastilla entra en contacte amb l'aigua reacciona químicament deixant anar CO<sub>2</sub>. D'aquesta manera el CO<sub>2</sub> passarà a través del tub i del mecanisme ja esmentat i arribarà al vas amb l'aigua salada, on es dissoldrà i l'acidificarà.



Matràs amb pastilla efervescent en aigua

Bombolles de CO<sub>2</sub>  
Aigua acidificant-se

**Fig. 25:** Preparació per l'acidificació de l'aigua i la reacció química que es produeix



4. Mesurem el nivell de pH de l'aigua després de l'acidificació. Hauria d'estar en aproximadament 7,82.



**Fig. 26:** pH de l'aigua salada en condicions àcides (7,82)

## 7.4 Resultats

L'experiment ha sortit com esperava. He aconseguit que el muntatge del tub per fer passar el diòxid de carboni a l'aigua salada funcionés. Ja tinc aigua del mar amb pH normal i aigua normal amb pH de l'any 2100.



## 8. Experiment 2: La fecundació *in vitro* del *Paracentrotus lividus*

### 8.1 Hipòtesi de l'experiment.

L'acidificació de l'aigua provoca que el moviment dels espermatozoides sigui més lent, i per tant, hi hagi menys òvuls fecundats.

### 8.2 Material

6 vasos de precipitats, 2 comptagotes, 2 càpsules de petri, portaobjectes, safata de plàstic, pinces, tisores, bisturí i eriçons de mar (gàmetes).

Tot el material necessari per acidificar l'aigua fins un pH de 7,82.

He utilitzat un microscopi òptic (Motic B3 Professional Series) amb càmera incorporada, amb el que he obtingut imatges de tot el desenvolupament embrionari del *Paracentrotus lividus*.

Càmera del microscopi



### 8.3 Procediment

1. Per poder realitzar l'experiment primer és necessari aconseguir les garotes. En els mercats venen garotes, però no són l'espècie que jo necessitava. A més, No els venen vius i és necessari que ho estiguin perquè ejaculin.

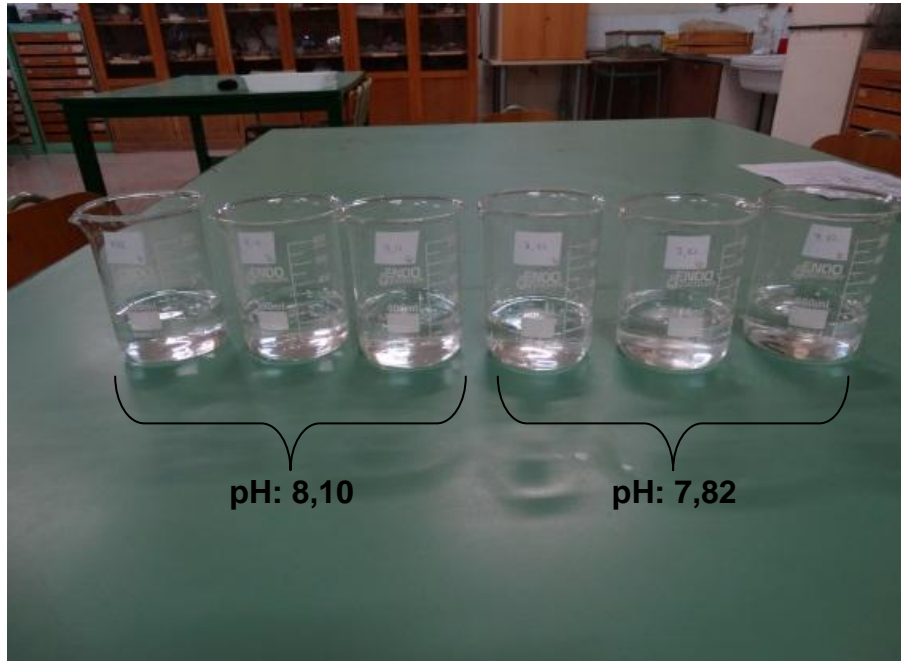
Vaig contactar amb un professional de la pesca, un pescador de Sant Feliu de Guíxols anomenat Juan, que em podia aconseguir l'espècie desitjada i viva.

Vaig desplaçar-me el divendres 20 de febrer de 2015 fins a Sant Feliu de Guíxols. Vaig recollir aigua del mar amb la ajuda del pescador i em va donar les garotes.

2. Preparar sis vasos de precipitats. Tres d'ells amb aigua salada normal amb pH 8,10 (200mL.) i tres d'ells amb aigua salada acidificada, utilitzant el mètode explicat anteriorment, amb pH 7,82 (200mL.).



**Fig. 27:** Acidificant l'aigua salada fins un pH de 7,82.



**Fig. 28:** 6 Vasos de precipitats. Els tres de la esquerra amb aigua pH 8,10 i els tres de la dreta amb aigua pH 7,82.

3. Extraiem els gàmetes de dos garotes, un mascle i una femella.

Hi ha tres formes d'extreure els gàmetes de l'eriçó. Dos d'aquestes maneres no maten l'individu i una sí que el mata.

1. Agafem un eriçó de mar viu i amb un pinzell acariciem la part superior, on són els orificis genitals fins que expulsin els gàmetes.
2. Prepararem una solució molt concentrada de KCl (clorur de potassi), la injectem a l'individu i el posem cap per vall. L'individu expulsarà tot el contingut de les gònades i l'aparell digestiu, quan l'aigua del seu cos sigui alliberada per osmosi. Cal tapar l'anus de l'eriçó per evitar mesclar els excrements amb els gàmetes. Si això últim es repeteix, pot ser perillós per l'individu.
3. En cas de que l'eriçó no expulsi els gàmetes, li farem un tall per sota l'equador. Retirem les gònades i les triturarem a una càpsula de petri amb unes tisores, fins que s'alliberi el contingut d'aquestes. Jo he escollit aquest últim mètode perquè és el més eficient.



**Fig. 29:** Garotes de mar. Femella (esquerra) i mascle (dreta). La garota mascle té un color més violeta i la garota femella té una tonalitat marronosa.



**Fig. 30:** Obrint les garotes amb l'ajuda d'unes tisores de laboratori i un bisturí. Cal anar amb compte per no perforar les gònades abans de temps.



**Fig. 31:** Gònades de la garota femella tenen un color vermell ataronjat.



**Fig. 32:** Gònades de la garota mascle tenen un color blanquinós.



**Fig. 33:** Gònades masculines (esquerra) i femenines (dreta). Les gònades masculines ja havien expulsat els gàmetes.



**Fig. 34:** Triturant les gònades femenines per extreure els gàmetes

3. A cadascun dels 6 vasos preparats afegim 5 gotes d'òvuls i 1-2 d'espermatozoides.



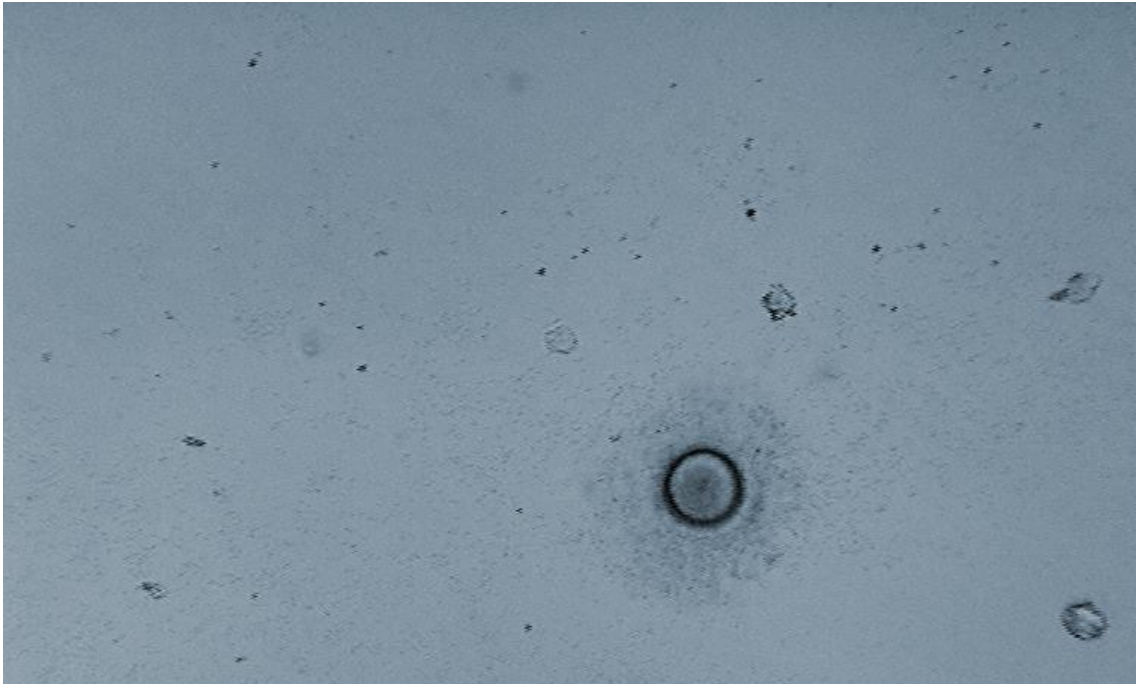
**Fig. 35:** Col·locant els òvuls i els espermatozoides als vasos de precipitats.

4. Deixem actuar a la naturalesa i fem una preparació per el microscopi. Únicament utilitzant portaobjectes, sense cobreobjectes.

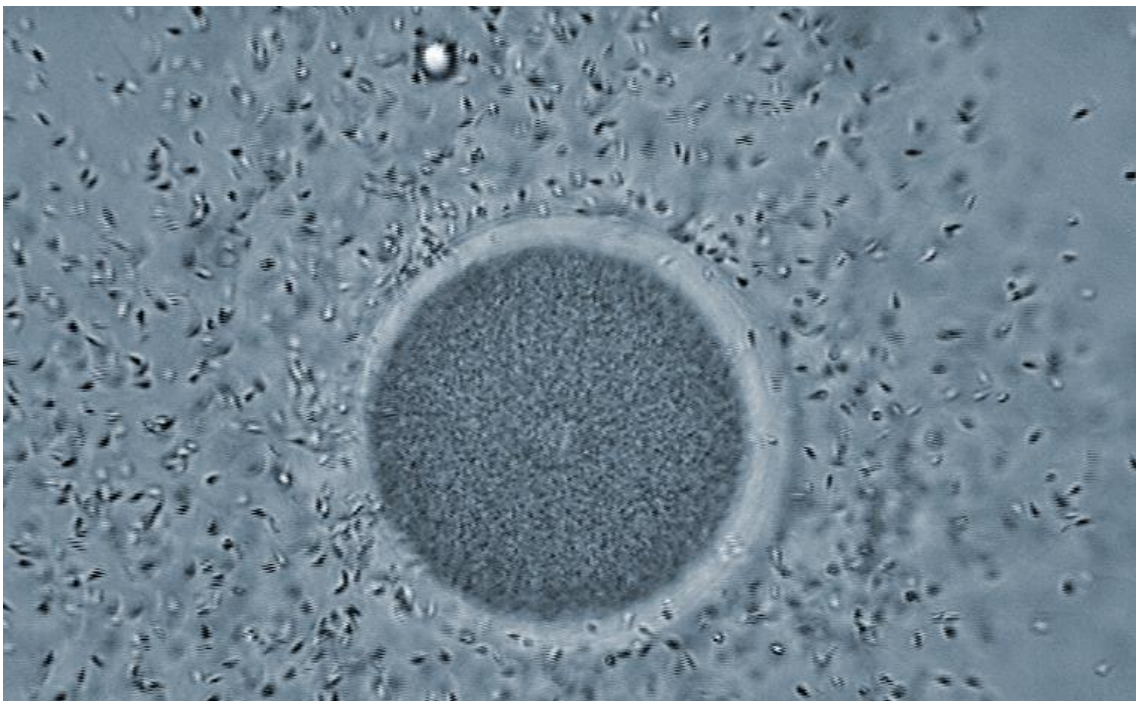
5. A partir d'aquest moment, cal anar controlant el procés de fecundació i el posterior desenvolupament embrionari. Per fer-ho cal, a diferents intervals (1h, 1.5h, 2h, 4h, 6h, 24h i 48h) observar la preparació al microscopi (1 gota de pipeta de la solució sobre un portaobjectes amb un cobreobjectes). Observar cada interval a 40, 100 i 400 augments.

## 8.4 Resultats

**TEMPS 1:** 5 minuts abans de la fecundació.

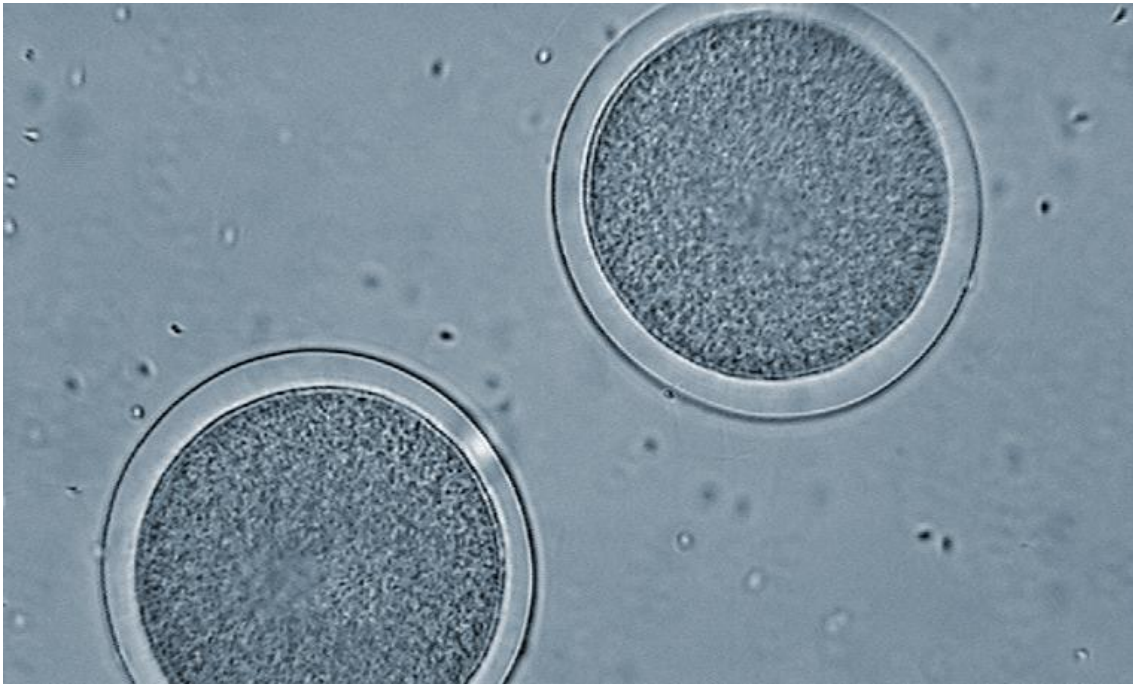


**Fig. 36:** Espermatozoides envoltant l'òvul abans de ser fecundat (x100).



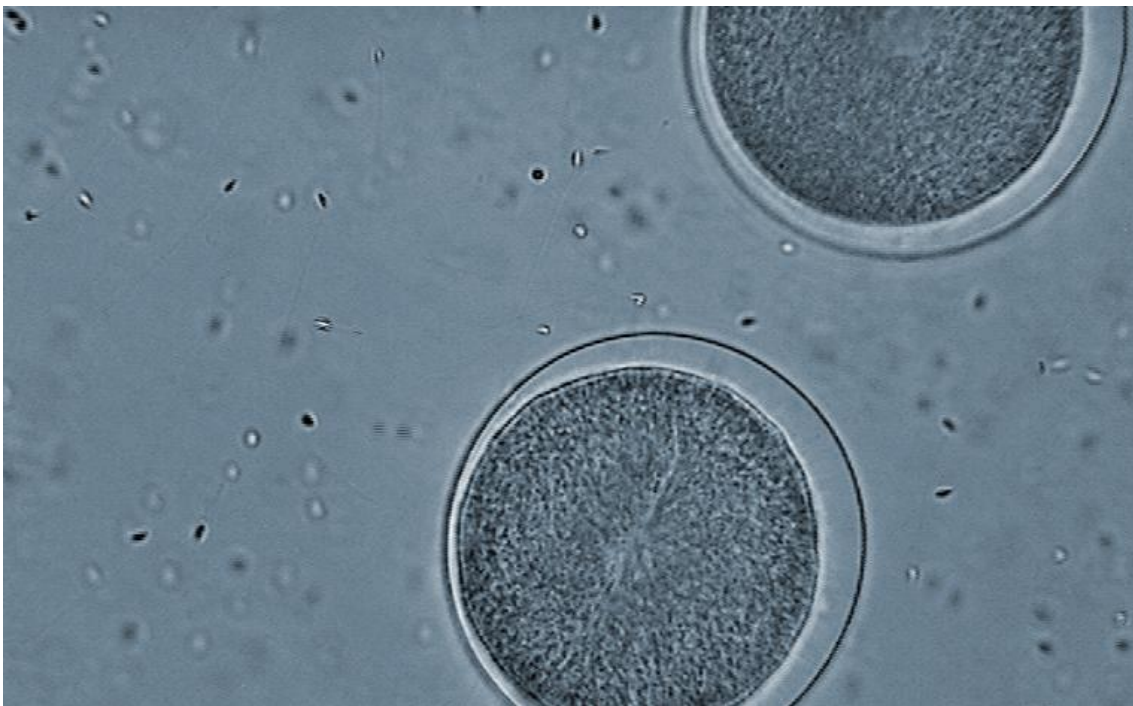
**Fig. 37:** Espermatozoides envoltant l'òvul abans de ser fecundat. (x400).

**TEMPS 2:** 10 minuts després de la fecundació.



**Fig. 38:** Formació de la membrana de fecundació. (x400)

**TEMPS 3:** 1 hora i 15 minuts després de la fecundació.



**Fig. 39:** Inici de la primera divisió cel·lular (x400).



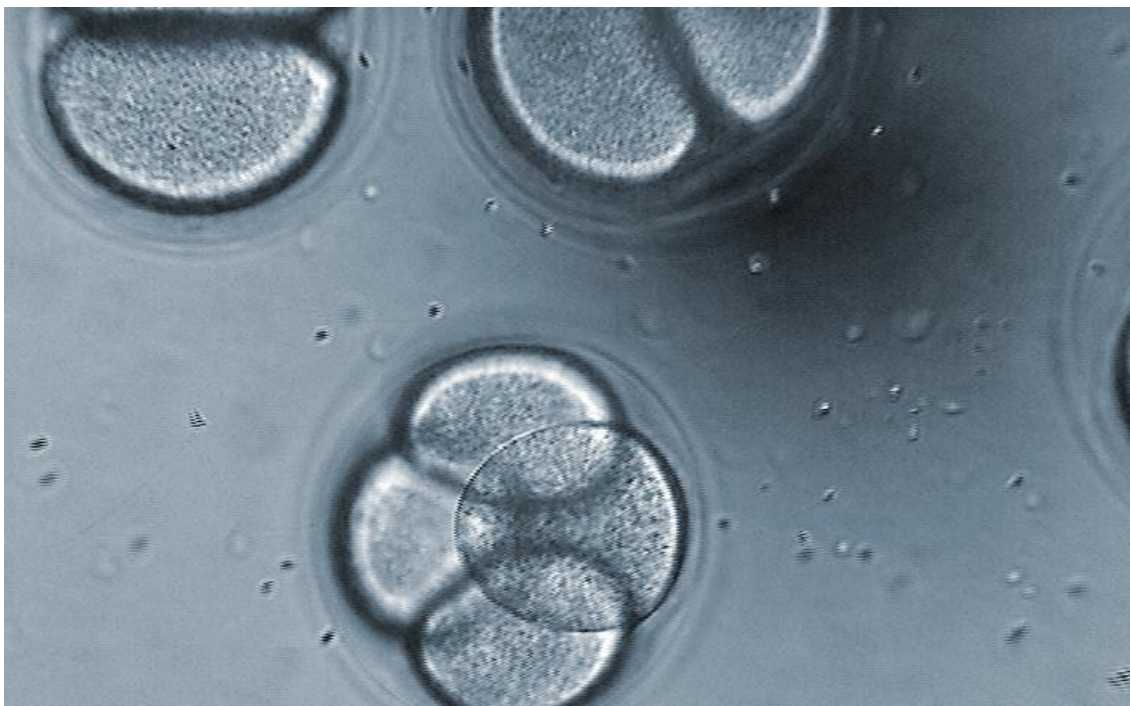


**Fig. 40:** Primera divisió cel·lular en una forma avançada (x400).



**Fig. 41:** Primera divisió cel·lular finalitzada, 2 cèl·lules (x400).

**TEMPS 4:** 1 hora i 50 minuts després de la fecundació.



**Fig. 42:** S'inicia la divisió a 4 cèl·lules (x400).



**Fig. 43:** Segona divisió cel·lular finalitzada, 4 cèl·lules (x400).

**TEMPS 5:** 2 hores i 35 minuts després de la fecundació.



**Fig. 44:** S'inicia la tercera divisió cel·lular (x400).



**Fig. 45:** Finalitza la tercera divisió cel·lular, 8 cèl·lules (x400).

**TEMPS 6:** 5-6 hores després de la fecundació.

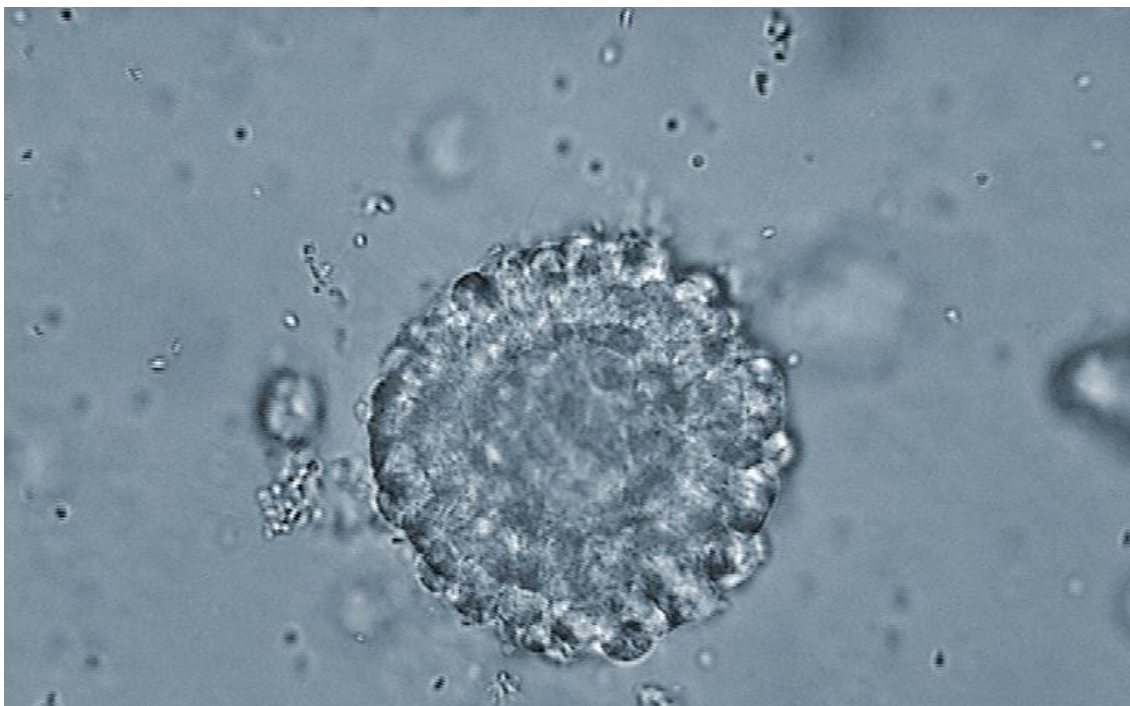


**Fig. 46:** S'inicia la mòrula (x400).



**Fig. 47:** La mòrula està desenvolupada completament (x400).

**TEMPS 7:** 8-9 hores després de la fecundació



**Fig. 48:** S'inicia la blàstula (x400).



**Fig. 49:** La blàstula ja està formada (x400).

**Taula 1: Quantitat d'òvuls fecundats i sense fecundar**

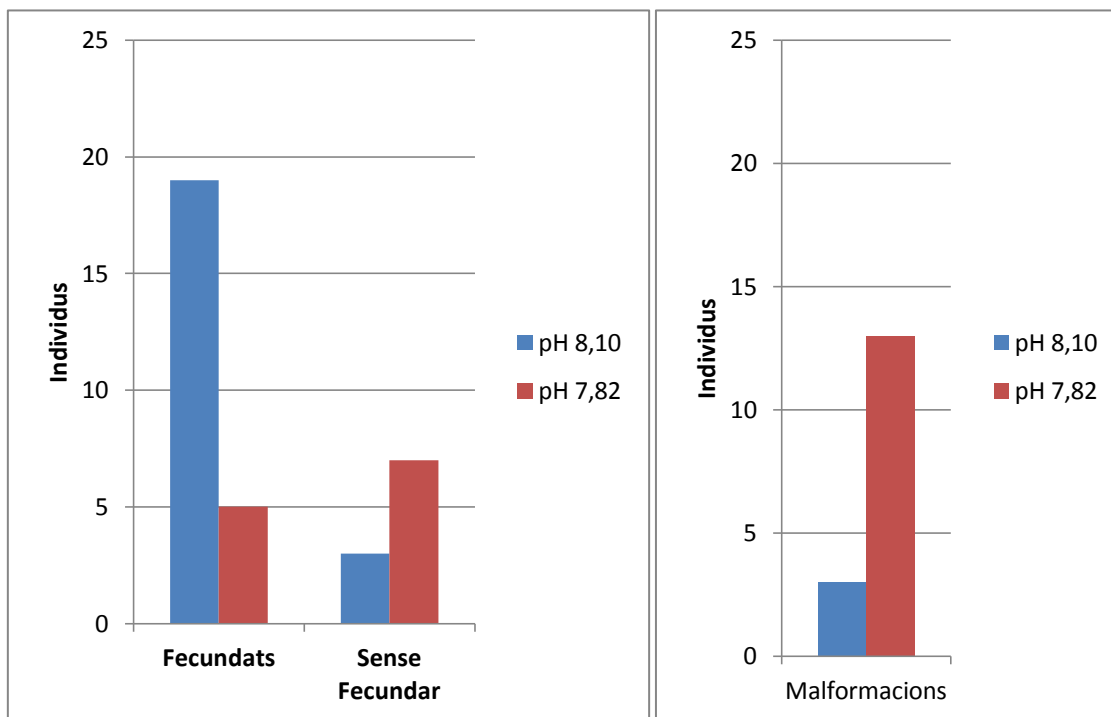
	pH 8,10				pH 7,82			
	Vas n° 1	Vas n° 2	Vas n° 3	Mitja	Vas n° 1	Vas n° 2	Vas n° 3	Mitja
<b>Fecundats</b>	17	20	20	<b>19</b>	5	4	6	<b>5</b>
<b>Sense fecundar</b>	4	3	2	<b>3</b>	8	7	6	<b>7</b>

**Taula 2: Malformacions en els embrions.**

	pH 8,10				pH 7,82			
	Vas n° 1	Vas n° 2	Vas n° 3	Mitja	Vas n° 1	Vas n° 2	Vas n° 3	Mitja
<b>Malformacions</b>	4	2	3	<b>3</b>	12	14	13	<b>13</b>

\*Trobats de cada 25 embrions analitzats (25 en pH 8,10 i 25 en pH 7,82).

**Representació de les dades mitjanes obtingudes a la Taula 1 i a la Taula 2.**



**Fig.50:** En el gràfic estan representades les mitjanes d'òvuls fecundats, no fecundats i malformacions. S'observa que en el pH 7,82 l'èxit de fecundació és més baix, i en cas de que es produeixi, l'individu es desenvolupa amb malformacions.

## 8.5 Discussió

Els resultats diuen que de cada 25 òvuls, en aigua normal amb pH 8,10 es fecunden 19, no es fecunden 3 i es malformen 3, i en aigua àcida amb pH 7,82 es fecunden 5, no es fecunden 7 i es malformen 13.

L'èxit de fecundació es deu clarament a la diferència del nivell de pH. En el medi àcid es dificulta molt la fecundació. Els espermatozoides no disposen de l'energia suficient per moure la cua i fecundar el òvul ja que l'estan utilitzant per bombar a l'exterior del organisme els ions hidrogen sobrants de l'aigua acidificada.

Tot i això hi ha òvuls que es fecunden, però la gran majoria d'aquests es desenvolupen amb malformacions. Això també és a causa de l'acidificació. Per realitzar processos tan bàsics com el creixement es necessària l'ATP. Si els òvuls empren la seva energia en bombar ions hidrogen, no es poden realitzar els processos anabòlics, i els individus creixen de manera incorrecta i patint malformacions que no els hi permeten un bon desenvolupament i moren.

També vaig trobar òvuls fecundats i que es van desenvolupar correctament, encara que en un percentatge molt inferior als òvuls no fecundats i a les malformacions.

## 8.6 Conclusions

- L'acidificació de l'aigua afecta a la fauna marina independentment tinguin o no conquilla.
- L'acidificació de l'aigua provoca un menor èxit de fecundació.
- L'acidificació de l'aigua augmenta el nombre de malformacions.

## 9. Experiment 3: Observació del desenvolupament de cargols en aigües de diferent acidesa

### 9.1 Hipòtesi de l' experiment

Els cargols sotmesos a un pH normal (8,10), sobreviuran i creixeran durant el mes sencer. En canvi, els individus sotmesos a un pH més àcid (7,82), s'aprimaran o moriran, i la seva conquilla podrà deteriorar-se.

### 9.2 Material

6 cristal·litzadors (per ser utilitzats com aquaris), bàscula per mesurar el pes dels cargols, cargols (*Neritina natalensis*), menjar per alimentar els cargols. Tot el material necessari per acidificar l'aigua fins un pH de 7,82.



Cristal·litzadors

Tub de goma

Bàscula

Matràs

Bossa amb cargols

pH-metre

Pastilles  
d'efervescència

Menjar



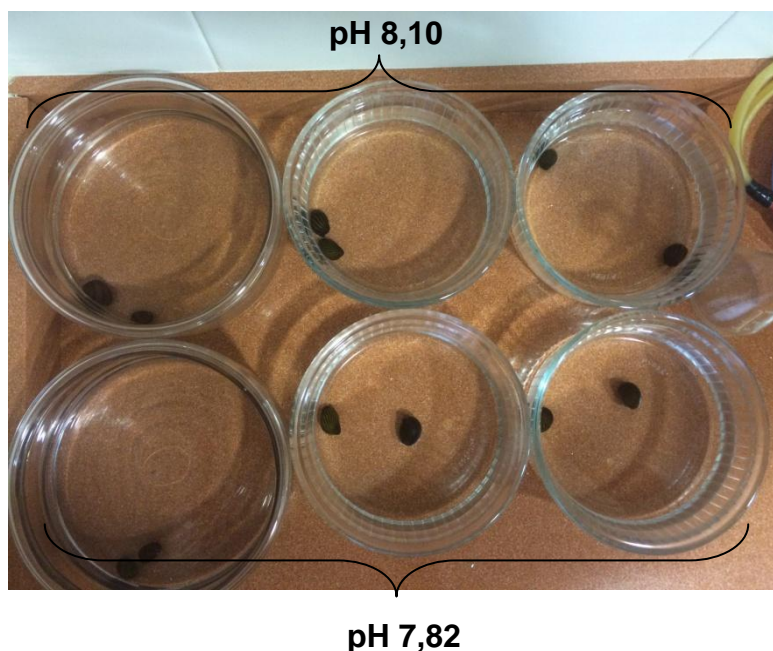
### 9.3 Procediment

1. Preparar sis cristal·litzadors. Tres d'ells amb aigua normal, i tres amb aigua acidificada, baixant-li el seu pH (de 8,10 a 7,82). He utilitzat 6 cristal·litzadors per tenir dades de diferents rèpliques.



**Fig.51:**  
Muntatge per  
acidificar l'aigua  
pels cargols.

2. Una vegada col·locada l'aigua en els seus respectius cristal·litzadors, i havent-los identificat (es poden utilitzar etiquetes o gomets), col·loquem 2 cargols en cada cristal·litzador.



**Fig.52:** Els  
cargols en els  
seus  
respectius  
cristal·litzadors.

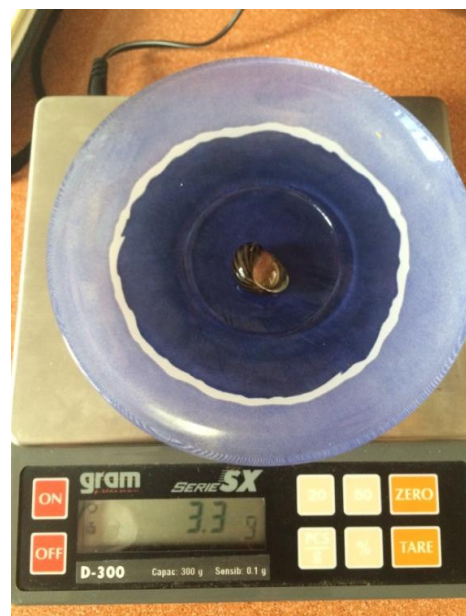
3. Col·loquem un paper transparent (tipus albal) sobre la superfície dels cristal·litzadors, i els subjectem amb una goma elàstica. Foradem el paper transparent per fer transpirar els cristal·litzadors. (Això és un detall afegit a última hora, perquè la primera nit van sortir dos cargols de l'aigua i els vaig trobar enganxats a les parets).



**Fig.53:** Els cargols en els seus respectius cristal·litzadors.

4. Únicament queda alimentar els cargols (cal donar a tots els individus la mateixa quantitat) dos vegades al dia, una vegada pel matí i una altra vegada a la nit, i canviar l'aigua cada dos o tres dies (millor cada dos), i cada vegada que canviem l'aigua, pesem cada individu per anar controlant el seu desenvolupament. Repetir aquests procés fins finalitzar l'experiment.

**Fig.54:** Pesem els cargols cada vegada que canviem l'aigua per saber el seu pes.



## 9.4 Resultats

Taula 1: Variació del pes del cargols durant 30 dies.

	<b>Cristal·lit- zador nº1 Cargol A i B (pH 8,10)</b>	<b>Cristal·lit- zador nº2 Cargol C i D (pH 8,10)</b>	<b>Cristal·lit- zador nº3 Cargol E i F (pH 8,10)</b>	<b>Cristal·lit- zador nº4 Cargol G i H (pH 7,82)</b>	<b>Cristal·lit- zador nº5 Cargol I i J (pH 7,82)</b>	<b>Cristal·lit- zador nº6 Cargol K i L (pH 7,82)</b>
<b>Dia 1</b>	a: 2,9 grs. b: 1,2 grs.	c: 2,4 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,8 grs. f: 2 grs.	g: 1,4 grs. h: 1,3 grs.	i: 3,4 grs. j: 2,4 grs.	k: 2,2 grs. l: 2,6 grs.
<b>Dia 3</b>	a: 3,0 grs. b: 1,3 grs.	c: 2,3 grs. d: 2,3 grs.	e: 2,8 grs. f: 2,1 grs.	g: 1,4 grs. h: 1,2 grs.	i: 3,5 grs. j: 2,6 grs.	k: 2,1 grs. l: 2,6 grs.
<b>Dia 6</b>	a: 3,1 grs. b: 1,5 grs.	c: 2,2 grs. d: 2,3 grs.	e: 2,6 grs. f: 2,2 grs.	g: 1,4 grs. h: 1,2 grs.	i: 3,4 grs. j: 2,5 grs.	k: 2,0 grs. l: 2,5 grs.
<b>Dia 8</b>	a: 2,8 grs. b: 1,5 grs.	c: 2,3 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,6 grs. f: 2,2 grs.	g: 1,4 grs. h: X	i: 3,3 grs. j: 2,4 grs.	k: 2,0 grs. l: 2,6 grs.
<b>Dia 11</b>	a: 3,1 grs. b: 1,5 grs.	c: 2,3 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,5 grs. f: 2,3 grs.	g: 1,4 grs.	i: 3,5 grs. j: 2,4 grs.	k: 1,9 grs. l: 2,5 grs.
<b>Dia 13</b>	a: 3,0 grs. b: 1,5 grs.	c: 2,4 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,5 grs. f: 2,3 grs.	g: 1,4 grs.	i: 3,3 grs. j: 2,4 grs.	k: 2,0 grs. l: 2,5 grs.
<b>Dia 16</b>	a: 3,1 grs. b: 1,6 grs.	c: 2,4 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,6 grs. f: 2,2 grs.	g: 1,4 grs.	i: 3,2 grs. j: 2,4 grs.	k: 2,0 grs. l: 2,6 grs.
<b>Dia 18</b>	a: 3,0 grs. b: 1,6 grs.	c: 2,5 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,6 grs. f: 2,2 grs.	g: 1,3 grs.	i: 3,2 grs. j: 2,3 grs.	k: 1,9 grs. l: 2,6 grs.
<b>Dia 21</b>	a: 3,1 grs. b: 1,5 grs.	c: 2,5 grs. d: 2,3 grs.	e: 2,7 grs. f: 2,3 grs.	g: 1,3 grs.	i: 3,2 grs. j: 2,3 grs.	k: 1,9 grs. l: 2,6 grs.
<b>Dia 23</b>	a: 3,1 grs. b: 1,4 grs.	c: 2,5 grs. d: 2,3 grs.	e: 2,7 grs. f: 2,2 grs.	g: 1,3 grs.	i: X j: 2,3 grs.	k: 2,0 grs. l: 2,5 grs.
<b>Dia 26</b>	a: 3,2 grs. b: 1,5 grs.	c: 2,5 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,6 grs. f: 2,2 grs.	g: 1,2 grs.	j: 2,3 grs.	k: 2,0 grs. l: 2,5 grs.
<b>Dia 29</b>	a: 3,1 grs. b: 1,5 grs.	c: 2,6 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,6 grs. f: 2,3 grs.	g: 1,2 grs.	j: 2,2 grs.	k: 1,9 grs. l: 2,4 grs.
<b>Dia 31</b>	a: 3,2 grs. b: 1,6 grs.	c: 2,5 grs. d: 2,4 grs.	e: 2,7 grs. f: 2,3 grs.	g: 1,3 grs.	j: 2,2 grs.	k: 1,9 grs. l: X

## **Interpretació dels resultats:**

### **Cargol A (pH 8,10):**

- Ha augmentat en 0,15g.

### **Cargol B (pH 8,10):**

- Ha augmentat en 0,27g.

### **Cargol C (pH 8,10):**

- Ha augmentat en 0,015g. Es manté aprox. igual.

### **Cargol D (pH 8,10):**

- Ha disminuït en 0,03g. Es manté aprox. igual.

### **Cargol E (pH 8,10):**

- Ha disminuït en 0,16g.

### **Cargol F (pH 8,10):**

- Ha augmentat en 0,21g.

### **Cargol G (pH 7,82):**

- Ha disminuït en 0,06g. Es manté aprox. igual.

### **Cargol H (pH 7,82):**

- Mor als 8 dies.

### **Cargol I (pH 7,82):**

- Mor als 23 dies.

### **Cargol J (pH 7,82):**

- Ha disminuït en 0,03g. Es manté aprox. igual.

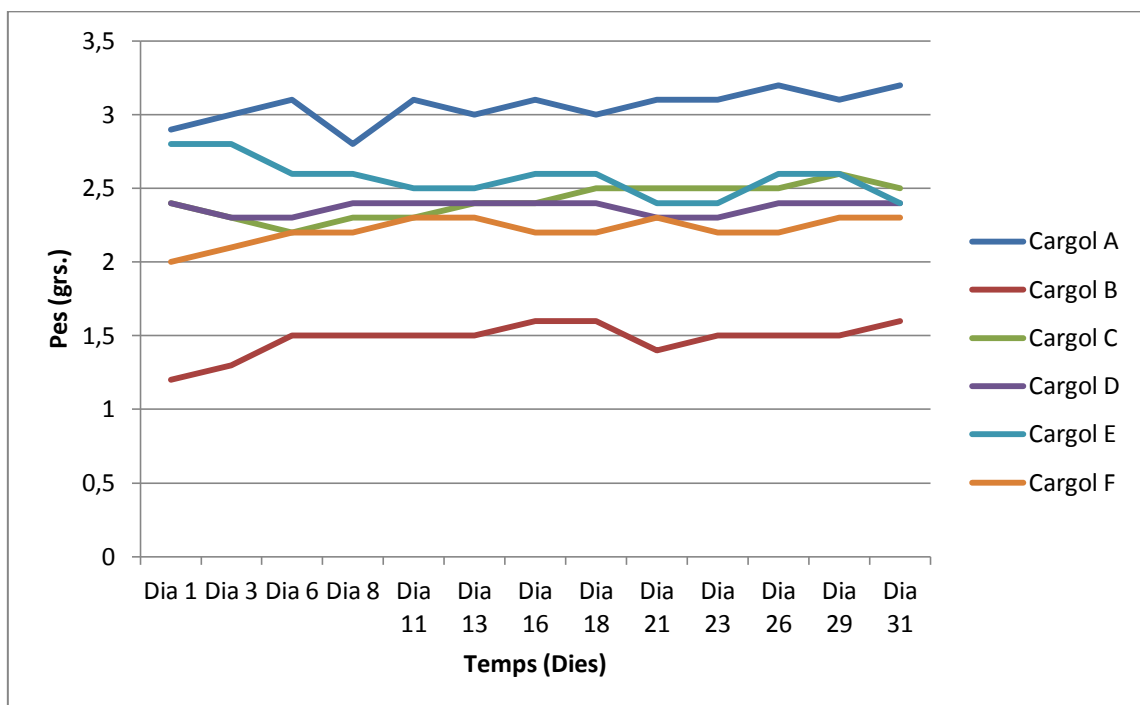
### Cargol K (pH 7,82):

- Ha disminuït en 0,21g.

### Cargol L (pH 7,82):

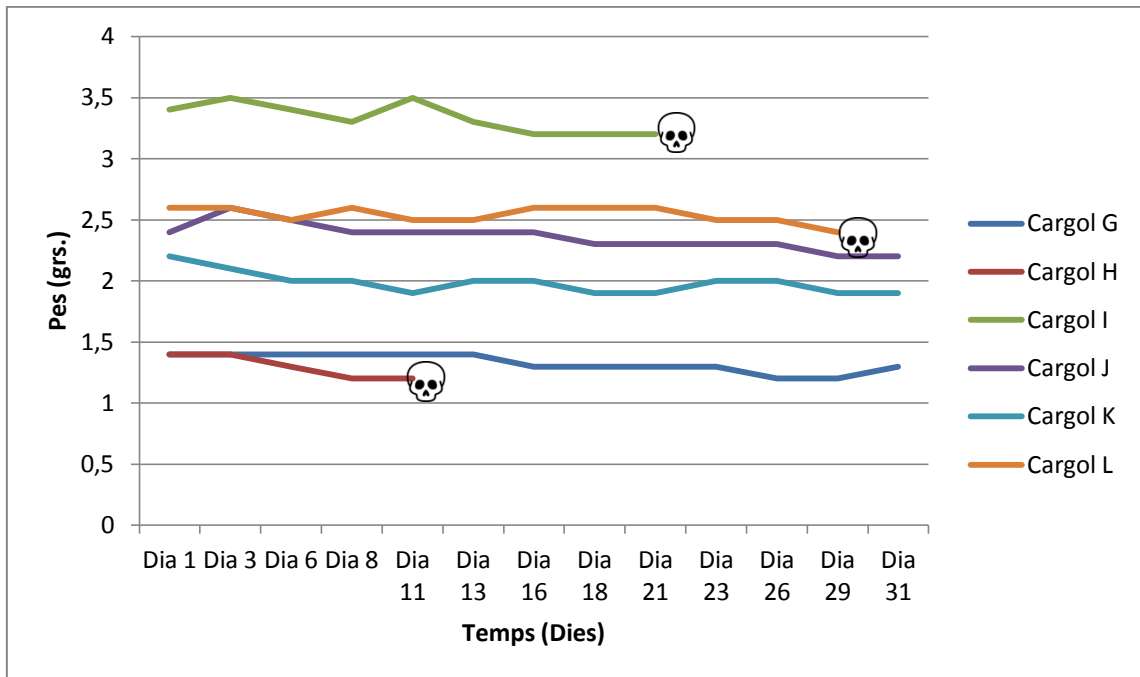
- Mor als 30 dies.

### Gràfic amb la línia de creixement dels cargols a l'aigua pH 8,10



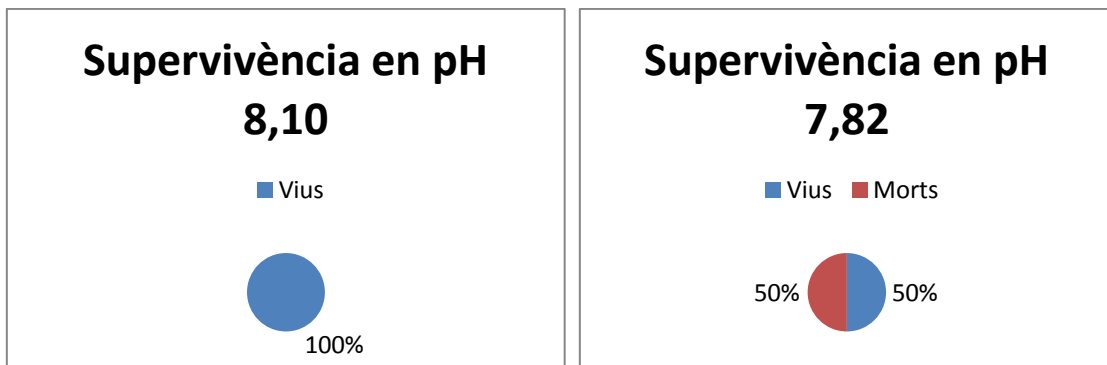
**Fig.55:** En el gràfic s'observa com els cargols en aigua de pH 8,10 es mantenen estables, i la majoria augmenten la seva massa uns grams.

### Gràfic amb la línia de creixement dels cargols a l'aigua pH 7,82



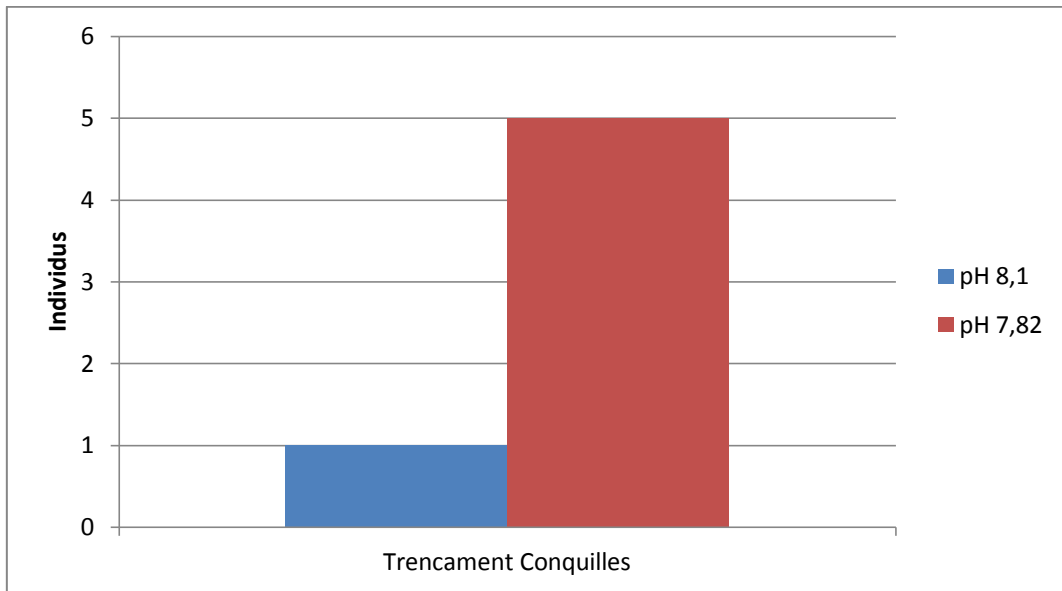
**Fig.56:** Els cargols en pH 7,82 disminueixen la seva massa al llarg dels dies i com tres individus moren. (Cargol H, I i L).

### Gràfic representant la supervivència



**Fig.57:** El grau de supervivència en aigua normal (pH 8,10) es del 100% i el grau de supervivència en aigua àcida (pH 7,82) és del 50%

## Gràfic representant el trencament de les conquilles



**Fig.58:** S'observa com les conquilles dels cargols en el pH 7,82 s'han trencat més.



**Fig.59:** Conquilla de cargol en pH 7,82 molt desgastada (esquerre) i conquilla de cargol en pH 8,10 pràcticament intacte.

## 9.5 Discussió

En els resultats s'observa com els cargols en aigua de pH 8,10 sobreviuen i la majoria augmenten la seva massa, en canvi, els cargols en aigua de pH 7,82 disminueixen la seva massa i hi ha una mortalitat del 50%. També, les conquilles dels cargols en el medi àcid es desgasten. El creixement, la supervivència i el desgast de les conquilles són deguts al nivell d'acidesa de l'aigua.

Els cargols en el pH 7,82 no poden créixer perquè han d'utilitzar l'energia generada en la respiració cel·lular per bombar a l'exterior del organisme els ions hidrogen sobrants. No poden dur a terme les reaccions anabòliques i no poden augmentar de massa.

El 50% dels cargols en el pH 7,82 moren al cap de 30 dies. Això es degut a que l'organisme està utilitzant l'energia per bombar els ions hidrogen en comptes d'estar utilitzant-la per sintetitzar proteïnes o per altres funcions essencials per la vida.

El desgast de les conquilles es deu a que aquestes estan formades per carbonat de calci ( $\text{CaCO}_3$ ). Aquest compost en entrar en contacte amb un àcid és desfà. A la llarga, el carbonat de calci es desfaria per complet, i els cargols no poden sobreviure sense la seva conquilla calcària.

## 9.6 Conclusions

- Els cargols sotmesos a un pH 8,10 sobreviuen i creixen durant el mes sencer. Els individus sotmesos a un pH 7,82 s'aprimen i moren, i la seva conquilla es deteriora.
- Els cargols en aigua de pH 7,82 s'aprimaran perquè no podran dur a terme les reaccions anabòliques per falta d'energia.
- El 50% dels cargols en aigua de pH 7,82 moriran perquè no podran dur a terme processos vitals com la síntesi de proteïnes per falta d'energia.
- Les conquilles dels cargols en aigua de pH 7,82 es desfaran perquè estan formades de carbonat de calci ( $\text{CaCO}_3$ ).



# 10. Una investigació *in situ* sobre l'efecte de l'acidificació del mar

## 10.1 Introducció

Un equip de la Universitat de Barcelona, la Universitat de Girona, el CSIC i la Estació Zoològica Anton Dohrn varen realitzar un estudi, publicat a la revista científica *Proceedings of the Royal Society*, on s' afirma que l'acidificació és un fenomen que pot posar en perill la supervivència del habitats coral·lins i del animals que viuen en ells.

Els autors del estudi han investigats amb l'ajuda de robots i submarinistes els fons marí d'un grup de surgències a una profunditat de 40 metres. Les surgències són sortides de masses d'aigua cap a la superfície. Aquestes es localitzaven en el arxipèlag de les Columbretes, a 56 quilometres de la costa de Castelló.



**Fig.60: Arxipèlag de les Columbretes**



**Fig.61: Surgències de CO<sub>2</sub> de les Columbretes**

Els valors de pH observats en l'aigua de les surgències eren de 7,8 o 7,9, similars als valors que es preveuen per finals de segle, cap a l'any 2100. En canvi, les aigües que envolten les surgències tenen un pH normal de 8,1. Per tant, les surgències serveixen de laboratori del que passarà en el mar del pròxim segle.

Moltes espècies de corall i algues calcificades habiten aquestes profunditats i aquestes són l'hàbitat de múltiples espècies de crustacis o peixos, com l'anfós o la llagosta vermella, que necessiten l'hàbitat coral·lí per sobreviure, per tant, també quedaran afectats.. Aquestes espècies tenen una gran importància dins de l'ecosistema. A més, s'ha detectat que tant el corall, l'alga coral·lina i algunes espècies calcificades tenen una gran sensibilitat davant l'acidificació. És per això que les espècies dominants de la zona són reemplaçades per boscos de kelp *Laminaria rodriguezzi*, que prové de profunditats inferiors i que accepta les condicions acides de la zona.



**Fig.62: Anfós (mero)**



**Fig.63: Llagosta vermella**



**Fig.64: Kelp *Laminaria rodriguezzi***

Les conclusions dels autors del treball són preocupants, tot i que afirmen que és necessari seguir analitzant a llarg termini els fons marins estudiats. Ni les algues coral·lines ni els coralls aguanten són capaces de sobreviure a un entorn tan àcid, tot i que hi ha algunes espècies que si. En el lloc del corall,

habiten algues de tija carnosa, com el kelp *Laminaria rodriguezzi*, que normalment es troba a profunditats de 65 metres.

Cap a final de segle, el nivell d'acidesa del mar serà molt similar al de les zones marines estudiades, si les emissions de CO<sub>2</sub> a l'atmosfera no són reduïdes, per tant, la supervivència del habitats coral·lins i de les espècies que els utilitzen quedarà compromesa. Petits canvis en l'acidesa d'una zona por produir canvis radicals en la distribució dels ecosistemes.

## **10.2 Entrevista a Cristina Linares**

Una de les autores de l'estudi comentat anteriorment es diu Cristina Linares. C. Linares va néixer el 20 de setembre de 1976 a Eivissa, i des de petita s'ha sentit al mar com a casa seva.

Va estudiar Biologia a la Universitat de Barcelona. Va treballar en la seva tesis augmentant els seus coneixements després de treballar en diferents reserves marines a Santa Cruz, als Estats Units. Ha col·laborat ha diferents estudis a Marsella, a la Estació Marina d'Endoume, a Austràlia per treballar amb Terry Hughes i altres investigadors del Centre ARC d'Excel·lència per Estudis de Esculls de Corall.

Posteriorment, va donar a classe a la Universitat de Barcelona donant un curs de Reserves Marines amb Bernat Hereu, i actualment treballa en diferents projectes dins el grup d'investigació MedRecovery.

**1. A l'arxipèlag de les Columbretes va investigar una sèrie de surgències a 40 metres de profunditat. Per què l'aigua que surt de les surgències té un pH de 7,9, es a dir, és més àcida que l'aigua que l'envolta?**

Les Columbretes tenen origen volcànic i per tant les emissions de gas son derivades de l'activitat volcànica residual d'aquest arxipèlag

**2. Les surgències estudiades a l'arxipèlag de les Columbretes són un fenomen aïllat, o podria torbar-se més casos com aquest en altres zones del món?**

Hi ha altres surgències similars a altres llocs del món, no moltes però n'hi ha a Ischia (Itàlia), Papua Nova Guinea, Japò i segur que se'n trobaran altres. Les de Columbretes son excepcionals perquè les que abans he comentat es trobaven a molt poca fondària entre 5 i 10 metres i aquestes son les que afecten a ecosistemes de major profunditat

**3. L'ecosistema al voltant de les surgències, al voltant d'un 40 metres de profunditat i format sobretot per organismes calcaris, va ser reemplaçat per boscos d'un alga que viu a zones més profundes, al voltant del 65 metres. Com que l'acidificació també es present a aigües menys**

**profundes, aquesta alga podria desplaçar-se cap aquestes zones i desplaçar ecosistemes? Podria arribar a afectar a l'esser humà indirectament, ja que els organismes calcaris són un pilar bàsic en el ecosistema marí?**

Aquesta alga *Laminaria rodriguezzi* no es probable que visqui a profunditats més someres perquè té unes limitacions ambientals que no permeten que visqui a poca profunditat. El que sí que pot passar és que altres espècies d'algues de menys profunditat puguin desplaçar els organismes calcaris. Això tindrà un efecte en l'esser humà perquè al canviar les espècies dominants, canviem la biodiversitat associada i les espècies d'interès comercial.

**4. Durant la immersió va prendre moltes mostres, i una d'elles va ser de *Laminaria rodriguezzi*. Per què al laboratori va assecar aquesta espècie per mesurar-la i no ho va fer quan es troba hidratat, tal i com està en el seu estat natural?**

Aquest és el procediment més habitual per calcular la biomassa real de les espècies. Al seguir aquest procediment podem comparar els nostres valors amb altres trobats en altres estudis científics.

**5. Va comprovar que l'acidificació afecta a molt tipus d'espècies calcàries. Per què les algues calcificades amb microcristalls de magnesi si es veuen afectades i en canvi, les algues amb microcristalls d'aragonita no es veuen afectades?**

Això el que ens diu és que els esquelets calcaris formats per aragonita són menys solubles a l'acidificació que els formats per calcita magnesi. Hi ha molta controvèrsia en quin tipus de calcificació és més soluble a l'acidificació. Habitualment es deia que l'aragonita és més soluble que la calcita, però recentment s'ha vist que la calcita si té una gran concentració de magnesi (high magnesium calcita) és el més soluble que l'aragonita i per tant més vulnerable a l'acidificació. Però encara falta molt coneixement sobre l'estructura calcària dels organismes i s'estan descobrint noves formes de carbonat càlcic que són més resistents a l'acidificació del que es creia originalment.

**6. En l'estudi es mostren els efectes de l'acidificació sobre la fauna *in situ* i de manera immediata, però a llarg termini, cap a finals de segle quan el pH s'hagi reduït en 0,3 unitats a 7,8, les espècies podrien arribar a adaptar-se a aquest nou ambient?**

Hi haurà espècies que seran capaces de adaptar-se i altres no com s'està veient a l'escalfament. No obstant, l'acidificació en surgències vol dir estudiar els efectes de l'acidificació a llarg termini i en ecosistemes que han estat des de fa molt molt temps sotmesos en aquestes condicions. Les surgències son permanents i molt probablement fa desenes d'anys que estan presents si pensem en l'activitat volcànica d'aquest lloc.

**7. En l'estudi comenteu les conseqüències de l'acidificació sobre els ecosistemes bentònics. Podria ser l'acidificació un procés reversible? Podria administrar-se a les zones acidificades un compost que acceptés els ions hidrogen que redueixen el nivell de pH, per tornar l'aigua més alcalina, sempre i quan aquest compost no afecti al ecosistema marí?**

Jo crec que això és altament improbable, perquè el volum de la columna d'aigua afectat és molt gran, no estem parlant de llocs restringits on no hi ha flux continu d'aigua. Jo crec que més en si som capaços de reduir globalment les emissions podrem aturar aquesta tendència a l'acidificació. Actualment en la majoria de parts de l'oceà el pH encara es manté al voltant de valors naturals de 8 i les prediccions d'acidificació significant son pel futur proper per tant si ara fem alguna cosa globalment podem fer que l'efecte de l'acidificació sigui molt menor. Revertir pH més àcids seria molt difícil e improbable.

**8. Degut a que l'acidificació es veurà augmentada en gran mesura en les properes dècades, podria arribar a afectar a organismes no calcaris com els peixos, i en general, la resta de la fauna marina existent?**

Si, indirectament degut a que els peixos i altra fauna existent viuen associats a ecosistemes marins que es poden veure afectats i alterats per l'acidificació. Seria com si perdéssim els boscos, es evident que perdem tota la fauna associada. A més hi ha estudis recents que demostren que l'acidificació pot afectar directament al sistema d'orientació i moviment dels peixos.

**9. Per realitzar el meu experiment del treball de recerca vaig haver d'acidificar aigua i baixar el pH de 8,1 a 7,9, però va resultar difícil aconseguir aquest paràmetre a la primera pensant que l'aigua es trobava a un recipient. He llegit a l'article que vau utilitzar aparells per controlar l'acidesa de l'aigua que sortia de les surgències, i dieu que es mantenia en 7,8 o 7,9. Aquest paràmetre es mantenia sempre igual pensant en la gran quantitat d'aigua més alcalina que es trobava al seu voltant?**

No, sempre era igual. Hi havia una gran variabilitat entre les mostres que vàrem prendre però la mitjana es situava en aquests valors. En el nostre treball, has de tenir present, que es tracta de mesures puntuals en el temps, que es varen prendre en un mateix dia. De fet aquesta variabilitat que comentes és el més habitual que passa en les surgències i de fet molts autors diuen que gràcies a aquesta variabilitat les espècies són capaces d'adaptar-se més fàcilment perquè no sempre estan sotmeses a valors de pH tant baixos.

**10. En el meu treball de recerca he utilitzat les espècies *Paracentrotus lividus* i *Neritina natalensis*, ambdues tenen un exosquelet calcari però no són corall. He vist que en els habitats estudiats predominaven espècies d'algues vermelles calcàries. Perquè aquesta espècie és més sensible davant l'acidificació que altres organismes calcaris?**

Probablement degut a que la forma de carbonat càlcic que tenen aquestes espècies es més soluble que les espècies que tu vares utilitzar. I també perquè a diferència dels experiments en laboratori en un temps limitat, els estudis en surgències estudien els efectes durant molt temps, pues són sistemes que persisteixen al llarg del temps i per tant les espècies estan exposades durant més temps a l'acidificació.

# 11. Conclusions

L'acidificació dels oceans és causada per la reacció entre el diòxid de carboni, emès pels humans, i l'aigua de la superfície marina.

Si no es disminuïm les emissions de diòxid de carboni, l'acidificació del mar augmentarà.

Els organismes utilitzen dos mecanismes per regular el seu pH intern: Bombar ions sobrants i produir més molècules esmorteïdores. Aquests dos mecanismes consumeixen ATP, i per tant, l'organisme perd energia.

En condicions àcides, els espermatozoides no utilitzen l'ATP per la seva funció principal, generar moviment (perquè l'utilitzen per regular el pH), com a conseqüència d'això, hi ha un menor èxit en la fecundació.

En aigües àcides es produeixen malformacions en els embrions per falta d'ATP.

Algunes espècies podrien arribar a adaptar-se a les condicions de pH àcides.

Els cargols sotmesos a un pH 8,10 sobreviuen i creixen durant el mes sencer. Els individus sotmesos a un pH 7,82 s'aprimen i moren, i la seva conquilla es deteriora (es desfaran perquè estan formades de carbonat càlcic).

L'acidificació de l'aigua afecta a la fauna marina independentment tinguin o no conquilla. Podria afectar a organismes no calcaris ja que totes les espècies viuen associades en els ecosistemes, com per exemple l'anfós (mero).

Les surgències submarines són àcides a causa del gas ( $\text{CO}_2$ ) alliberat per l'activitat volcànica residual de la zona, i són d'interès perquè serveixen de laboratori del que passarà quan els oceans baixin el seu pH fins a 7,82.

L'acidificació pot desplaçar els éssers vius que habiten als ecosistemes lligats al corall i les algues calcificades i provocar pèrdues econòmiques pels humans.

És improbable que l'acidificació sigui un procés reversible.



## 12. Bibliografia

### REVISTES:

- Linares C. et al., "Persistent natural acidification drives major distribution shifts in marine benthic ecosystems", Proceedings of the Royal Society. Setembre 2015
- Marah J. Hardt i Carl Safina, "La vida oceánica amenazada", Investigación y Ciencia. Octubre 2010
- Scott C. Doney, "La acidificación de los océanos", Investigación y Ciencia. Maig 2006

### LLIBRES:

- Barnes, R.D.: *Zoología de los invertebrados*. 6ª edició, Editorial ROCA, Mèxic 1996

### PÀGINES WEB:

- Wikipedia: <https://es.wikipedia.org>
- Consejo para la Defensa de Recursos Naturales: <https://www.nrdc.org>
- International Atomic Energy Agency: <https://www.iaea.org>

# **Annex**

**Persistent natural acidification drives major distribution  
shifts in marine benthic ecosystems**

Proceedings of the Royal Society



## Research

**Cite this article:** Linares C *et al.* 2015

Persistent natural acidification drives major distribution shifts in marine benthic ecosystems. *Proc. R. Soc. B* **282**: 20150587.

<http://dx.doi.org/10.1098/rsob.2015.0587>

Received: 13 March 2015

Accepted: 29 September 2015

**Subject Areas:**

ecology, environmental science

**Keywords:**

ocean acidification, climate change, CO<sub>2</sub> vents, pH, calcification

**Author for correspondence:**

C. Linares

e-mail: [cristinalinares@ub.edu](mailto:cristinalinares@ub.edu)

Electronic supplementary material is available at <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.2015.0587> or via <http://rsob.royalsocietypublishing.org>.

# Persistent natural acidification drives major distribution shifts in marine benthic ecosystems

C. Linares<sup>1</sup>, M. Vidal<sup>1</sup>, M. Canals<sup>2</sup>, D. K. Kersting<sup>1</sup>, D. Amblas<sup>2</sup>, E. Aspillaga<sup>1</sup>, E. Cebrián<sup>3,4</sup>, A. Delgado-Huertas<sup>5</sup>, D. Díaz<sup>6,7</sup>, J. Garrabou<sup>7</sup>, B. Hereu<sup>1</sup>, L. Navarro<sup>1</sup>, N. Teixidó<sup>8</sup> and E. Ballesteros<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departament d'Ecologia, Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona, Avda. Diagonal 643, Barcelona 08028, Spain

<sup>2</sup>GRC Geociències Marines, Departament d'Estratigrafia, Paleontologia i Geociències Marines, Facultat de Geologia, Universitat de Barcelona, Martí i Franquès s/n, Barcelona 08028, Spain

<sup>3</sup>Centre d'Estudis Avançats de Blanes, CSIC, Accés Cala St Francesc 14, Blanes, Girona 17300, Spain

<sup>4</sup>Departament de Ciències Ambientals, Universitat de Girona, Campus Montilivi, Girona 17071, Spain

<sup>5</sup>Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra, CSIC-UGR, Avenida de las Palmeras 4, Armilla 18100, Spain

<sup>6</sup>Instituto Español de Oceanografía, C/ Moll de Ponent s/n, Palma de Mallorca 07015, Spain

<sup>7</sup>Institut de Ciències del Mar, CSIC, Passeig Marítim de la Barceloneta 37-49, Barcelona 08003, Spain

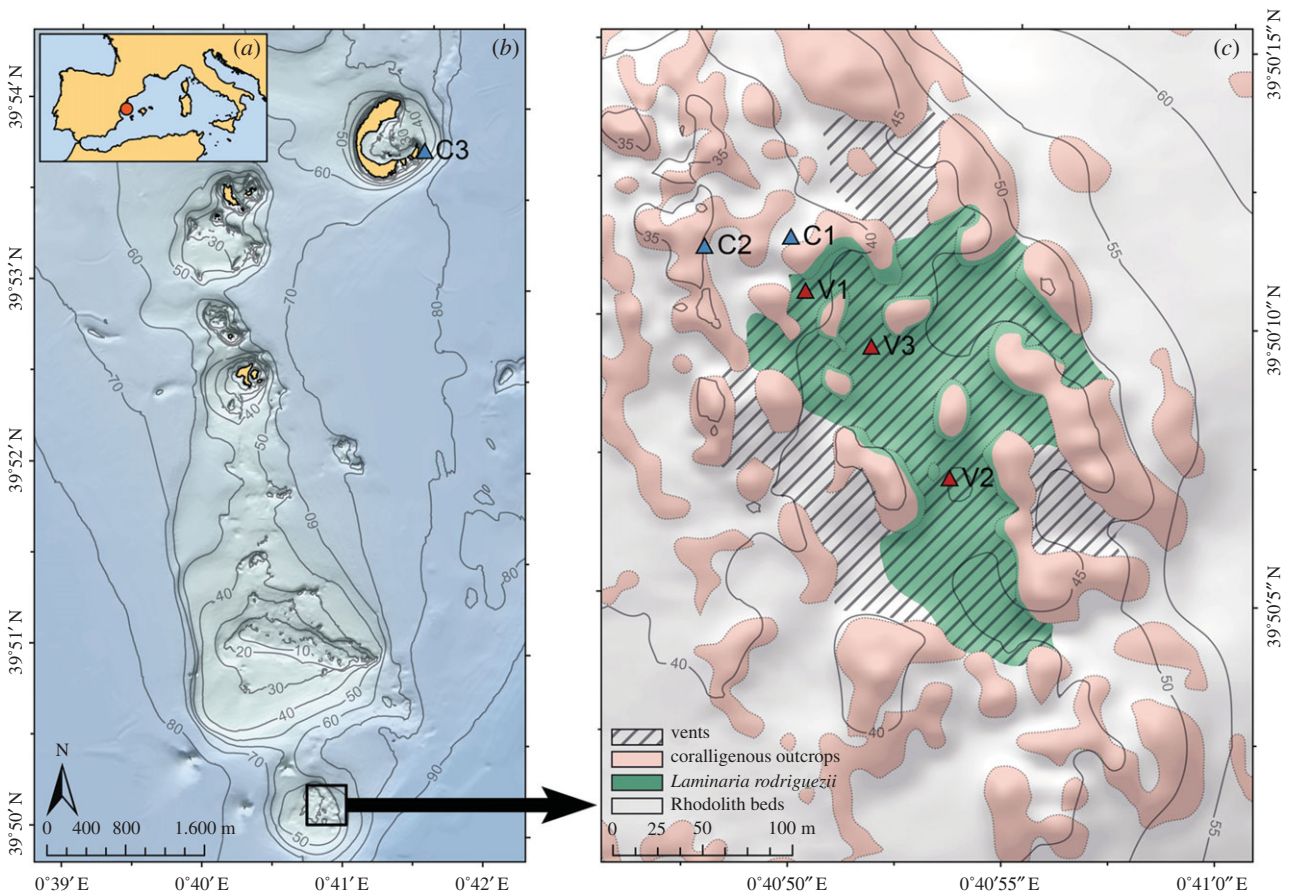
<sup>8</sup>Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Dohrn-Benthic Ecology Center, Punta San Pietro, Ischia, Naples 80077, Italy

CL, 0000-0003-3855-2743; MV, 0000-0002-7878-3290; DA, 0000-0002-6248-5512

Ocean acidification is receiving increasing attention because of its potential to affect marine ecosystems. Rare CO<sub>2</sub> vents offer a unique opportunity to investigate the response of benthic ecosystems to acidification. However, the benthic habitats investigated so far are mainly found at very shallow water (less than or equal to 5 m depth) and therefore are not representative of the broad range of continental shelf habitats. Here, we show that a decrease from pH 8.1 to 7.9 observed in a CO<sub>2</sub> vent system at 40 m depth leads to a dramatic shift in highly diverse and structurally complex habitats. Forests of the kelp *Laminaria rodriguezii* usually found at larger depths (greater than 65 m) replace the otherwise dominant habitats (i.e. coralligenous outcrops and rhodolith beds), which are mainly characterized by calcifying organisms. Only the aragonite-calcifying algae are able to survive in acidified waters, while high-magnesium-calcite organisms are almost completely absent. Although a long-term survey of the venting area would be necessary to fully understand the effects of the variability of pH and other carbonate parameters over the structure and functioning of the investigated mesophotic habitats, our results suggest that in addition of significant changes at species level, moderate ocean acidification may entail major shifts in the distribution and dominance of key benthic ecosystems at regional scale, which could have broad ecological and socio-economic implications.

## 1. Introduction

Rising levels of CO<sub>2</sub> released by anthropogenic activities are driving unprecedented changes in the chemistry of the oceans [1,2]. The mean ocean surface acidity has increased by 25–30% (equivalent to a drop of 0.1 pH units) since the advent of the Industrial Revolution in the 1780s and is predicted to decline by a further 150–200% by the end of the century, representing an additional drop of 0.3 pH [3]. Changes in pH since pre-industrial times are happening at least 10 times faster than over the last 55 Myr [4]. The increasing interest in understanding how changes in pH and in the overall carbonate system will affect marine life has placed ocean acidification (OA) as one of the fastest-growing research areas in marine sciences over the last few decades [5]. Most research so far has been conducted by means of laboratory experiments on a wide range of marine organisms, which have shown different responses and sensitivities



**Figure 1.** Map of CO<sub>2</sub> vents at Columbretes Islands, Spain. (a) Situation of Columbretes Islands in the northwest Mediterranean Sea. (b) Location of the CO<sub>2</sub> vent area within the Columbretes Islands Marine Reserve (black square) and of the control station (C3) nearby the main island. (c) Detailed map of the CO<sub>2</sub> vent area and benthic habitats. C1, C2 and C3 are off-vent control stations, and V1, V2 and V3 are vent stations, where seawater samples and benthic community data were collected.

[6–8]. While experiments are essential to identify species responses to OA, they fail to predict its long-term consequences on marine ecosystems and whether organisms will adapt to increasing seawater acidity [9].

*In situ* observations of naturally occurring CO<sub>2</sub> seafloor vents provide empirical data on marine ecosystems acclimatized to acidified waters. However, a small number of CO<sub>2</sub> vent systems have been investigated to date [9–13]. These systems share significant decreases in the diversity, biomass and trophic complexity of benthic marine assemblages, major declines in the number of many calcifying organisms, and increased abundance of erect macroalgae, seagrasses or soft-corals [9–14]. Most of the CO<sub>2</sub> vent systems studied so far were placed in very shallow waters (3–5 m depth), and therefore are poorly representative of the broad range of habitats that occur on the continental shelf. Very few studies investigating the biological effects of these systems at larger water depths have been performed in hydrothermal vents in the Aegean Sea [12] and in the northern Gulf of California [13], at 10–35 m and at 70–200 m, respectively.

Dominant habitats at mesophotic depths (the deepest part of the photic zone where light penetration is low, typically from 30–40 m to over 150 m) are usually characterized by a large dominance of calcifying organisms, such as endangered coralligenous outcrops and rhodolith beds in the Mediterranean Sea, which display a notable carbonate production (170–660 g CaCO<sub>3</sub> m<sup>-2</sup> yr<sup>-1</sup>) [15,16]. Calcareous red algae are the main framework builders in those two habitats, providing structural complexity and favouring biodiversity [16,17]. Given their wide spatial distribution and ecological

roles, both habitats are among the most significant in the Mediterranean Sea [18]. Their critical ecological functions, the long life spans and low dynamics of the dominant species, as well as the high sensitivity to OA of coralline algae and other calcifying organisms dwelling in mesophotic depths [7,19] render coralligenous outcrops and rhodolith beds especially vulnerable to a high-CO<sub>2</sub> ocean. In this study, we show the *in situ* effects of exposure to anomalously high natural seawater pCO<sub>2</sub> over benthic habitats dominated by calcifying algae at 40 m depth in the Columbretes Islands Marine Reserve (northwest Mediterranean Sea).

## 2. Material and methods

### (a) Study area and remotely operated vehicle survey

The Columbretes Islands emerge 30 nautical miles off the coast of Castelló (Spain, northwest Mediterranean Sea; figure 1a) and are the emerged expression of a 90 × 40 km, mostly buried volcanic field associated with the Neogene opening of the Valencia Trough [20]. The Columbretes form a tiny volcanic archipelago that consists of one main island, several islets and rocks, and a number of shoals. The presence of CO<sub>2</sub> vents was examined with a Seaeye Linx 1500 remotely operated vehicle (ROV) in September 2011 inside and outside the Columbretes Marine Reserve. The spatial distribution of these vents along this elevated rocky-bottom area was explored through five video transects, each 596–964 m long (electronic supplementary material, figure S1).

## (b) Carbonate system parameters

Vent gases and water samples were collected in June 2012. Vent gases were collected from three separate bubble streams in six replicate 12 ml glass bottles, and analysed with a gas chromatograph (TraceGC Ultra, Thermo-Finnigan). Seawater carbonate chemistry and dissolved inorganic nutrients were measured on water samples collected by scuba divers in three sites (three samples per site) inside (V1, V2 and V3) and outside (C1, C2 and C3) the vents at 40 m depth using Niskin bottles (figure 1*b,c*). While control stations C1 and C2 were approximately located 25 m and 60 m far from the vent area, the third control station C3 was placed much farther (approx. 6.5 km far from the vent area) to check for any influence that could be attributed to vent proximity. Carbonate system parameters ( $p\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ , DIC concentrations, and saturation states of calcite and aragonite) were calculated from pH (in total scale), total alkalinity (TA), temperature and salinity. Additionally, in nine stations covering the waters around the vents, seawater samples were taken at three depths (5, 20 and 40 m; eight samples for each depth) in order to study the spatial variability in pH (in total scale), TA, salinity, temperature and dissolved inorganic nutrients.

Temperature and salinity were measured with a SD204 SAIV A/S CTD. Samples for pH and TA measurements were collected in 0.51 BOD glass bottles, poisoned with saturated mercuric chloride and stored in the dark at room temperature; samples were analysed on the same day of collection. Samples for inorganic nutrient analysis were collected on polycarbonate bottles and stored frozen until spectrophotometric analysis in an Alliance Evolution II autoanalyser following standard procedures [21].  $\text{PH}_{\text{TS}}$  (total scale) was measured with a combined electrode aquatrode+ Pt1000 (Orion) calibrated using TRIS/HCl and 2-aminopyridine/HCl buffer solutions in synthetic seawater with a salinity of 38 PSU [21]. TA was measured by potentiometric open-cell titration using 0.1 N hydrochloric acid (Fixanal, Sigma Aldrich) and a Titrando Metrohm 888. Equivalence point was evaluated from titration points in the pH region 3.0–3.5 using a nonlinear least square procedure [22]. Carbonate system parameters were estimated using CO2SYS [23]. The pH and alkalinity of certified reference material (CRM; supplied by Dr A. G. Dickson, Scripps Institution of Oceanography, La Jolla, CA, USA) was measured for each set of measurements. From 12 measurements on the CRM, the accuracy was  $3 \mu\text{mol kg}^{-1}$  for TA and 0.001 for pH. Precision, as the average of standard deviations of measurements, was  $1.4 \mu\text{mol kg}^{-1}$  for TA and 0.002 for pH.

## (c) Biological surveys

Scuba diving surveys were also made in June 2012 to quantify the main species of macro-organisms present at and off the vents at 40 m depth. In the same sites where seawater samples were collected, 12 quadrats ( $50 \times 50$  cm) were placed haphazardly over the vents (four quadrats in each of the three sites; V1, V2 and V3), while six (three quadrats in two of the three sites; C1 and C2) were placed off the vents at the same depth (40 m) (figure 1*b,c*). Within each quadrat, we collected all the macro-organisms present in order to characterize the assemblage at each station. Specimens were identified in the laboratory, where fresh weight and cover were determined in each quadrat. When present, the number of fronds of *L. rodriguezii* was also counted inside each quadrat.

## (d) Biomass of *Laminaria rodriguezii*

To characterize the assemblage at the vents, fresh weight of all specimens of *L. rodriguezii* ( $n = 486$ ) present in each one of the 12 quadrats ( $50 \times 50$  cm) was measured in the laboratory after removing the water excess spinning the samples for 30 s in a salad spinner. Dry weight was estimated using a subsample of individuals ( $n = 112$ ),

which were weighed after 24 h at  $60^\circ\text{C}$ . *L. rodriguezii* biomass was not estimated outside the vents, as it was totally absent.

## (e) Statistical analyses

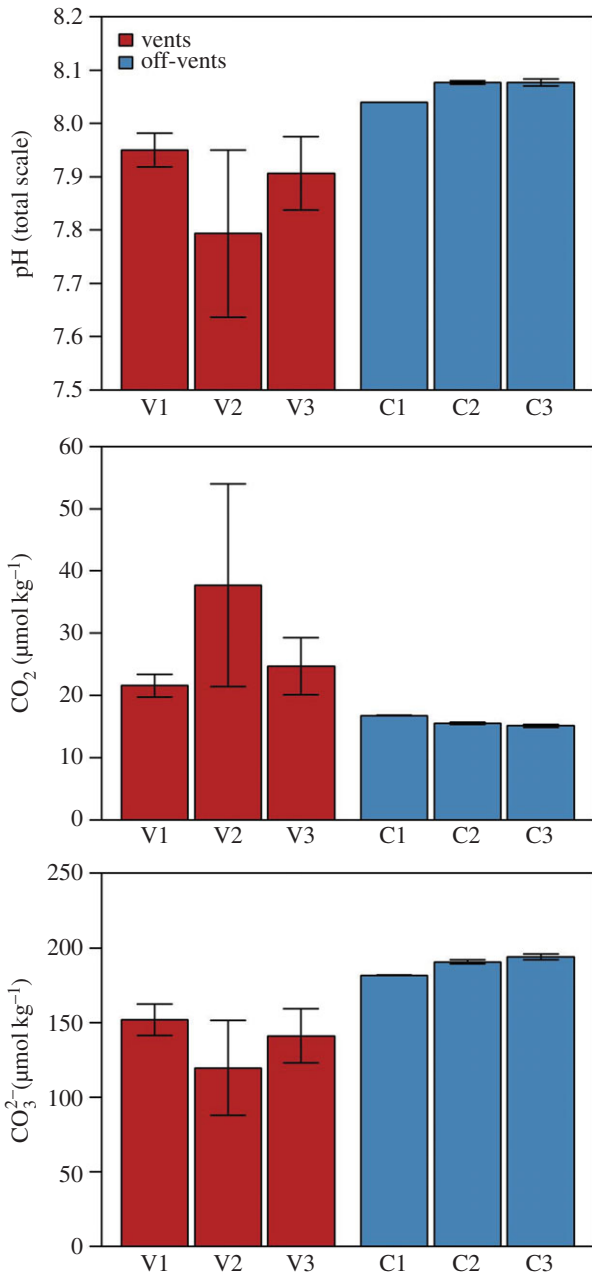
Variation in assemblage composition inside and outside vents was analysed on a Bray–Curtis (BC) similarity matrix of log-transformed total percentage coverage of all the species identified. Significant differences between algal community inside and outside the vents were estimated through a permutational MANOVA using the function *adonis* in the *vegan* package in R [24]. Significant differences on the parameters (pH,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  and DIC concentrations) estimated in locations inside and outside the vents were assessed using linear mixed-effects models (LMM) [25]. The presence/absence of vents was treated as a fixed factor and the sampling station as the random effect. The normality of residuals and the model performance were visually inspected using residual distributions and quantile–quantile plots. The analyses were computed using *vegan* [26] and *nlme* [27] packages implemented in R.

## 3. Results

### (a) Seawater chemistry

$\text{CO}_2$  vents occur between 36 and 48 m depth on the southernmost section of the Columbretes Islands Marine Reserve (figure 1*a,b*). The mean composition of the bubbling gas was 90.0%  $\text{CO}_2$ , 4.8%  $\text{N}_2$ , 1.7%  $\text{O}_2$  and 0.2%  $\text{CH}_4$ , subsequently resulting in water acidification (electronic supplementary material, table S1). No sulfur was detected in the gas. Field observations and sampling were performed at the vents and in off-vent nearby control stations with equal ambient seawater salinity and temperature (figure 1*c*; electronic supplementary material, table S1). The escaping gas had no influence on the composition of the upper water layers, as shown by samples from 5 and 20 m depth above the vents, which fell within the range of off-vent stations (electronic supplementary material, table S2).

Statistically significant differences on pH and carbonate system parameters ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  and DIC) were found between locations inside and outside the vents ( $p < 0.0001$ , figure 2; electronic supplementary material, table S3). Water collected near the bottom in control stations displayed pH (total scale) values ranging from 8.04 to 8.08 and  $p\text{CO}_2$  from 402 to 445  $\mu\text{atm}$ , whereas at the vents pH (total scale) ranged from 7.80 to 7.95 and  $p\text{CO}_2$  from 572 to 993  $\mu\text{atm}$ , therefore illustrating a notable pH decrease (figure 2; electronic supplementary material, tables S1 and S3). The lowest pH (7.48) was measured at station V2, whereas the average value for the venting zone was 7.88, which is equivalent to a reduction of 0.2 units the average value found in control stations C1–C3 (electronic supplementary material, table S1). The increase in  $\text{CO}_2$  led to an increase in the concentration of dissolved inorganic carbon (DIC), which was  $86 \mu\text{mol kg}^{-1}$  higher at the vents than off-vents at relatively constant values of TA ( $2561 \mu\text{mol kg}^{-1}$ ), salinity (38.3 PSU) and temperature ( $14^\circ\text{C}$ ), and a decrease in  $\text{CO}_3^{2-}$  concentrations (figure 2; electronic supplementary material, tables S1 and S3). The mean saturation state of seawater for the calcium carbonate minerals aragonite and calcite was  $4.39 \pm 0.05$ – $2.82 \pm 0.03$  s.d. at the control stations and  $3.18 \pm 0.28$ – $2.05 \pm 0.18$  s.d. at the vents, respectively (electronic supplementary material, table S1). No changes in inorganic nutrients were



**Figure 2.** pH (total scale), CO<sub>2</sub> and CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> concentrations (mean ± s.e.) measured at vent and off-vent stations.

detected between control and vent stations (electronic supplementary material, table S2).

### (b) CO<sub>2</sub> effects on species and habitat distribution

Field surveys showed substantial seascape changes at the venting zone in comparison with off-vent areas (figure 3), including significant differences in community composition ( $p < 0.001$ ). While a kelp forest by the endemic *L. rodriguezii* covered the bottom directly affected by venting, coralligenous outcrops and rhodolith beds (dominated by coralline algae, gorgonians and calcareous bryozoans) were only found a few metres off the vents (figures 3 and 4). At the vents, the kelp *L. rodriguezii* displayed biomass values between 22.1 and 116.5 g DW 2500 cm<sup>-2</sup> with densities ranging from 55 to 210 fronds 2500 cm<sup>-2</sup>.

Other non-calcareous algae were found both at and off the vents (figures 3 and 4); in particular, fucoids such as the ochrophytes *Cystoseira zosteroides* and *Cystoseira spinosa*, as well as

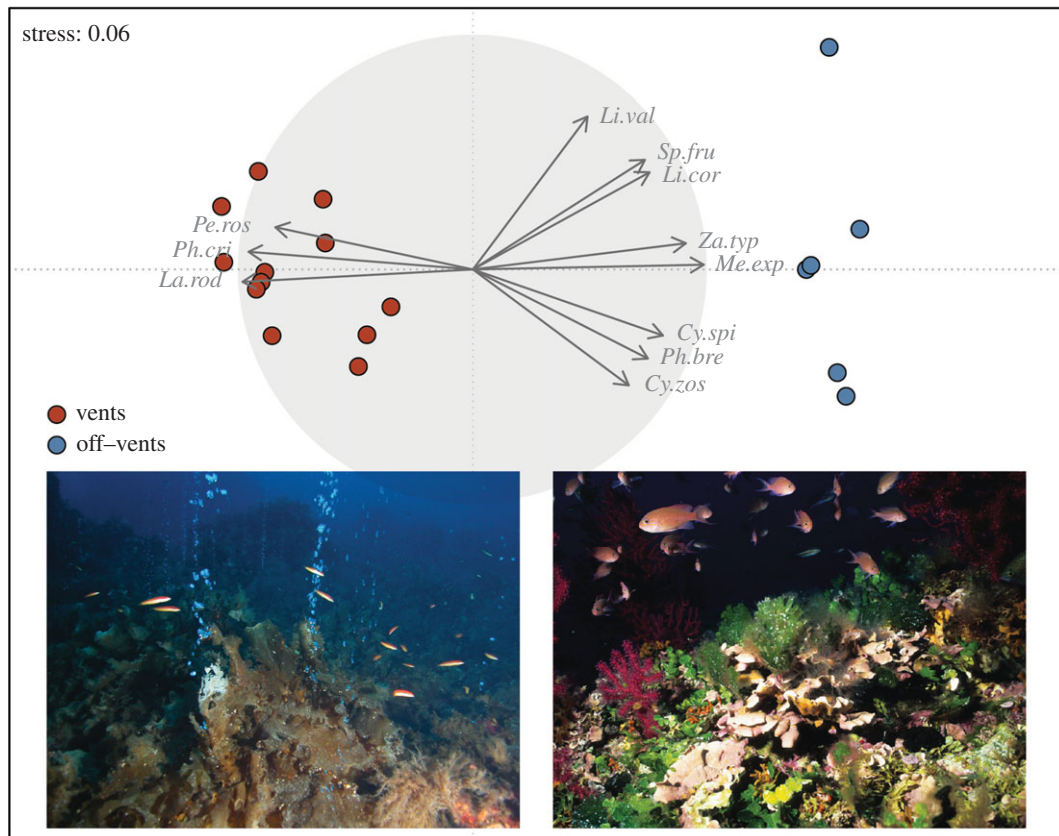
the rhodophyte *Phyllophora crispa* (electronic supplementary material, table S4). However, these species showed higher biomass off the vents (electronic supplementary material, table S4). By contrast, organisms with high-magnesium calcite skeletons such as coralline algae (*Spongites fruticulosa*, *Mesophyllum* spp., *Lithothamnion* spp., *Lithophyllum stictaeforme*) and bryozoans (*Turbicellepora avicularis*, *Reteporella* spp.) were totally absent at the vents, whereas they were either common (bryozoans) or dominating (coralline algae) off the vents (figure 4; electronic supplementary material, table S4). Only the aragonite calcifying species *Peyssonnelia rosa-marina* was found at the vents, displaying the highest biomass and coverage (electronic supplementary material, table S4).

## 4. Discussion

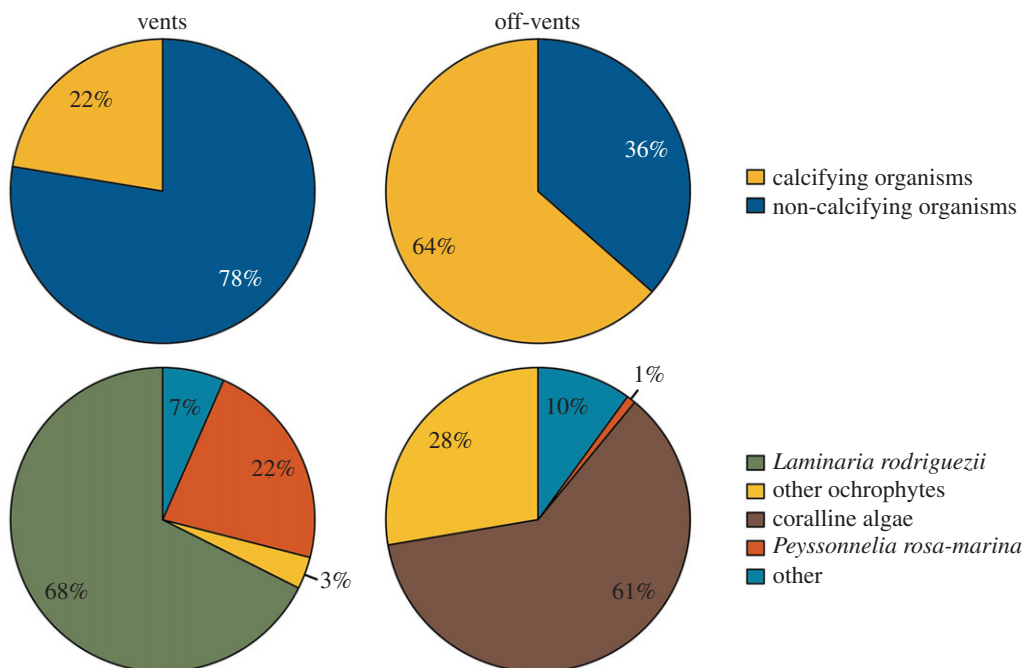
### (a) Distribution shifts in complex structurally habitats

This study revealed that moderate decreases of pH lead to dramatic shifts in highly diverse and structurally complex benthic habitats thriving at depths rarely explored in terms of OA effects. Dominant habitats at mesophotic depths, such as coralligenous outcrops and rhodolith beds, mainly characterized by a large dominance of calcifying organisms, are replaced by forests of the deep-water kelp *Laminaria rodriguezii*, which becomes dominant at depths much shallower than under normal seawater conditions. To our knowledge, this study highlights for the first time that beyond the changes at species levels reported in most of previous studies, where some species are winners and others lose out [9–11], OA can lead to significant changes at habitat level, benefiting specific habitats and compromising other habitats, also leading to vertical distribution shifts as observed in terrestrial ecosystems as a consequence of global warming [28].

The presence of kelps and other fleshy macroalgae (such as fucoids) inside the vents indicates that they are favoured by the observed changes in the carbonate system parameters. This agrees with the positive response displayed by several macroalgae and seagrasses to elevated CO<sub>2</sub> concentrations through the increase of photosynthesis and growth rates [19,29,30]. Nevertheless, the dominance of the deep-water kelp *L. rodriguezii* observed in this study is noteworthy as this species is known to thrive between 65 and 95 m depth [31,32] and had almost never been reported before shallower than 50 m depth. These observations demonstrate that high CO<sub>2</sub> concentrations enhance the competitive abilities of *L. rodriguezii* at depths shallower than its common bathymetric range, thereby offsetting other existing environmental limitations (e.g. light or temperature) and allowing this species to grow at 40 m depth. The lower biomass displayed by fucoids (mainly *C. zosteroides*) inside the vents in comparison with the biomass of *L. rodriguezii* could be indicative of competition among fleshy algae. We hypothesize that *L. rodriguezii* outcompetes fucoids and other fleshy algae by inhibiting their growth due to the reduction in ambient light under the kelp canopy. Although the increase in competitive strength of seaweeds over other organisms (such as corals) as a function of CO<sub>2</sub> enrichment has been described previously [33,34], the impacts of OA on the interactions among algae under acidified conditions remain largely unknown. The competition between habitat-forming fleshy algae (i.e. kelps versus fucoids), as observed in this study, can result in further ecosystem shifts involving species substitutions.



**Figure 3.** Non-metric multidimensional scaling (nMDS) plot based on the Bray–Curtis similarity of community structure at vent and off-vent stations. Pictures show the seascape at vent stations dominated by a kelp forest of *Laminaria rodriguezii* and the seascape off-vent stations dominated by coralligenous outcrops. Red and blue circles indicate vent and off-vent control stations. Species with a Pearson correlation greater than 0.8 are indicated as follows: *Cy.spi*, *Cystoseira spinosa*; *Cy.zos*, *Cystoseira zosteroides*; *La.rod*, *Laminaria rodriguezii*; *Li.cor*, *Lithothamnion corallioides*; *Li.val*, *Lithothamnion valens*; *Me.exp*, *Mesophyllum expansum*; *Pe.ros*, *Peyssonnelia rosa-marina*; *Ph.bre*, *Phyllariopsis brevipes*; *Ph.cri*, *Phyllophora crispa*; *Sp.fru*, *Spongites fruticulosa*; *Za.typ*, *Zanardinia typus*.



**Figure 4.** Pie chart of relative biomass composition by groups at vent and off-vent stations. ‘Other’ category includes chlorophytes, sponges, cnidarians, bryozoans and tunicates. ‘Other ochrophyta’ mainly include *Cystoseira zosteroides* and *C. spinosa*. See the electronic supplementary material, table S3 for further information.

### (b) Contrasting responses of calcifying organisms

Organisms with high-magnesium-calcite skeletons such as coralline algae and bryozoans were completely absent at vent sites.

Only the aragonite-calcifying *Peyssonnelia rosa-marina* was able to survive in the acidified waters, as previously noted in very shallow waters too [35]. Our results lend support to the idea



that high-magnesium-calcifying organisms are more sensitive to OA than aragonite-calcifying ones [35,36]. They also challenge the widespread concern over the global fate of calcified algae in the near future, as there are species such as *P. rosa-marina* showing a moderate resilience to OA [36]. The recent discovery of calcium-magnesium carbonate (dolomite) in crustose coralline algae [37] and its lower solubility in comparison to magnesium calcite [38] suggest that some calcifying algae will not be doomed under moderate decreases in pH. This highlights the need of further research on the carbonate composition of these organisms.

### (c) Long-term consequences of acidification for benthic ecosystems

The high variability in CO<sub>2</sub>, pH and other carbonate system parameters observed in this study, as well as in other CO<sub>2</sub> vent studies [39], decreases the value of these sites as predictors of future ecosystem functioning under oceanic pH levels expected to occur at the end of this century [3]. However, pH variability has been stressed to enhance acclimatization or adaptation to acidification through repeated exposure to lowered pH conditions [40]. Although a long-term survey of pH variability would be needed to fully understand its effects on the structure and functioning of the investigated system, our results indicate that, regardless of variability in pH and other carbonate parameters, moderate acidification can drive dramatic and persistent changes in benthic ecosystems. Moreover, expected synergies of OA with warming and other stressors are likely to occur [41,42], which can result in even more drastic changes than the ones observed in this study.

Fucoids and kelps, globally recognized as key structural and functional elements of marine benthic ecosystems [43], are in decline, with some local extinctions already documented [44]. Our results suggest an enhancement of the populations of these habitat-forming fleshy algae under acidified conditions,

and especially of kelps at mesophotic depths. OA will negatively affect coralligenous outcrops and rhodolith beds, which are extremely threatened habitats [18]. Our results also indicate a substitution of habitats dominated by calcifying algae by those dominated by erect fleshy algae, and the replacement of high-magnesium-calcite corallines by aragonite-calcifying algae (e.g. *Peyssonnelia*) as main carbonate producers. The changes observed in the highly diverse and structurally complex mesophotic habitats of the Mediterranean Sea investigated in our study may have critical ecological and social implications for coastal ecosystems at large spatial scales in an increasingly acidifying ocean.

**Data accessibility.** All data and supplementary material are deposited in Dryad (<http://dx.doi.org/10.5061/dryad.0f7s7>).

**Authors' contributions.** All authors were involved with fieldwork and sample analyses. D.K.K. discovered the vent site. E.A., L.N., M.V., E.B., D.A., M.C. and C.L. analysed the data. A.D.-H. analysed the gases and E.B. identified the species. C.L. drafted the initial manuscript and wrote the paper along with M.V., M.C. and E.B. All authors discussed results and commented on the manuscript.

**Competing interests.** We have no competing interests.

**Funding.** Financial support was provided by Fundación Biodiversidad through the LIFE+ INDEMARES project, the EC within the VII Framework Programme through the MIDAS project (ref. GA no. 603418) and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness through the SMART project (CGL2012-32194). Additional support was received from Catalan Government Grups de Recerca Consolidats grants (2009 SGR 361, 1174 and 1068). C.L. was funded by a Ramón y Cajal research contract (RyC-2011-08134). This is a contribution of INTRAMURAL-CSIC 065 project to E.B.

**Acknowledgements.** We thank Secretaría General de Pesca, especially Silvia Revenga, and the Columbretes Island Marine Reserve staff for their continuous support. We acknowledge Instituto Español de Oceanografía for data sharing and Fundació Argo Maris for their support during the ROV survey. C. Rodríguez-Prieto provided valuable help in algal identification. We also thank C. Pelejero for his useful suggestions in a previous draft of the manuscript, and Prof. John Pandolfi and two anonymous reviewers for improving the final version of the manuscript.

## References

1. Feely RA, Sabine CL, Lee K, Berelson W, Kleypas J, Fabry VJ, Millero FJ. 2004 Impact of anthropogenic CO<sub>2</sub> on the CaCO<sub>3</sub> system in the oceans. *Science* **305**, 362–366. (doi:10.1126/science.1097329)
2. Pelejero C, Calvo E, Hoegh-Guldberg O. 2010 Paleoperspectives on ocean acidification. *Trends Ecol. Evol.* **25**, 332–344. (doi:10.1016/j.tree.2010.02.002)
3. IPCC. 2013 Summary for policymakers. In *Climate change 2013: the physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* (eds TF Stocker et al.). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
4. Penman DE, Hönisch B, Zeebe RE, Thomas E, Zachos JC. 2014 Rapid and sustained surface ocean acidification during the Paleocene-Eocene Thermal Maximum. *Paleoceanography* **29**, 357–369. (doi:10.1002/2014PA002621)
5. Gattuso JP, Mach KJ, Morgan GM. 2013 Ocean acidification and its impacts: an expert survey. *Clim. Change* **117**, 725–738. (doi:10.1007/s10584-012-0591-5)
6. Doney SC, Fabry VJ, Feely RA, Kleypas JA. 2009 Ocean acidification: the other CO<sub>2</sub> problem. *Ann. Rev. Mar. Sci.* **1**, 169–192. (doi:10.1146/annurev.marine.010908.163834)
7. Kroeker KJ, Kordas RL, Crim RN, Singh GG. 2010 Meta-analysis reveals negative yet variable effects of ocean acidification on marine organisms. *Ecol. Lett.* **13**, 419–434. (doi:10.1111/j.1461-0248.2010.01518.x)
8. Fabricius KE, De'ath G, Noonan S, Uthicke S. 2014 Ecological effects of ocean acidification and habitat complexity on reef-associated macroinvertebrate communities. *Proc. R. Soc. B* **281**, 20132479. (doi:10.1098/rspb.2013.2479)
9. 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. (doi:10.1038/nature07051)
10. Fabricius KE et al. 2011 Losers and winners in coral reefs acclimatized to elevated carbon dioxide concentrations. *Nat. Clim. Change* **1**, 1–5. (doi:10.1038/NCLIMATE1122)
11. Inoue S, Kayanne H, Yamamoto S, Kurihara H. 2013 Spatial community shift from hard to soft corals in acidified water. *Nat. Clim. Change* **3**, 683–687. (doi:10.1038/NCLIMATE1855)
12. Bianchi CN, Dando PR, Morri C. 2011 Increased diversity of sessile epibenthos at subtidal hydrothermal vents: seven hypotheses based on observations at Milos Island, Aegean Sea. *Adv. Oceanogr. Limnol.* **2**, 1–31. (doi:10.1080/19475721.2011.565804)
13. Pettit LR, Hart MB, Medina-Sánchez AN, Smart CW, Rodolfo-Metalpa R, Hall-Spencer JM, Proledesma RM. 2013 Benthic foraminifera show some resilience to ocean acidification in the northern Gulf of California, Mexico. *Mar. Pollut. Bull.* **73**, 452–462. (doi:10.1016/j.marpolbul.2013.02.011)
14. Kroeker KJ, Micheli F, Gambi MC, Martz TR. 2011 Divergent ecosystem responses within a benthic marine community to ocean acidification. *Proc. Natl*

- Acad. Sci. USA* **108**, 14 515–14 520. (doi:10.1073/pnas.1107789108)
15. Canals M, Ballesteros E. 1997 Production of carbonate particles by phytobenthic communities on the Mallorca-Menorca shelf, northwestern Mediterranean Sea. *Deep-Sea Res. II* **44**, 611–616. (doi:10.1016/S0967-0645(96)00095-1)
  16. Ballesteros E. 2006 Mediterranean coralligenous assemblages: a synthesis of the present knowledge. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* **44**, 123–195.
  17. Barbera C *et al.* 2003 Conservation and management of northeast Atlantic and Mediterranean maërl beds. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecosyst.* **13**, S65–S76. (doi:10.1002/aqc.569)
  18. Martin CS *et al.* 2013 Coralligenous and maërl habitats: predictive modelling to identify their spatial distributions across the Mediterranean Sea. *Sci. Rep.* **4**, 5073. (doi:10.1038/srep05073)
  19. Koch M, Bowes G, Ross C, Zhang XH. 2013 Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Glob. Change Biol.* **19**, 103–132. (doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02791.x)
  20. Maillard A, Mauffret A. 1993 Structure et volcanisme de la fosse de Valence (Méditerranée nord-occidentale). *Bull. Soc. Géol. Fr.* **164**, 365–383.
  21. Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M. 1999 *Methods of seawater analysis*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
  22. Dickson AG, Sabine CL, Christian JR. 2007 *Guide to best practices for ocean CO<sub>2</sub> measurements*. Sydney, Australia: North Pacific Marine Science Organization (PICES Special Publication, 3).
  23. Lewis E, Wallace DWR. 1998 *Program developed for CO<sub>2</sub> system calculations*. Oak Ridge, TN: Carbon Dioxide Information Analysis Center, Oak Ridge National Laboratory, US Department of Energy.
  24. Anderson MJ. 2001 A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.* **26**, 32–46. (doi:10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x)
  25. Pinheiro JC, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, R Core Team. 2014 Package 'nlme': linear and nonlinear mixed effects models. Version 3.1–117. See <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>.
  26. Oksanen J, *et al.* 2013 *Package 'vegan': community ecology package*. Version 2.0–10.
  27. Pinheiro JC, Bates D. 2000 *Mixed-effects models in S and S-PLUS*. New York, NY: Springer.
  28. Chen IC, Hill JK, Ohlemüller R, Roy DB, Thomas CD. 2011 Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science* **333**, 1024–1026. (doi:10.1126/science.1206432)
  29. Zimmerman RC *et al.* 1997 Impacts of CO<sub>2</sub> enrichment on productivity and light requirements of eelgrass. *Plant Physiol.* **115**, 599–607. (doi:10.1104/pp.115.2.599)
  30. Palacios SL, Zimmerman RC. 2007 Response of eelgrass *Zostera marina* to CO<sub>2</sub> enrichment: possible impacts of climate change and potential for remediation of coastal habitats. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **344**, 1–13. (doi:10.3354/meps07084)
  31. Bo M *et al.* 2012 Deep coral oases in the South Tyrrhenian Sea. *PLoS ONE* **7**, e49870. (doi:10.1371/journal.pone.0049870)
  32. Jøher S, Ballesteros E, Cebrián E, Sánchez N, Rodríguez-Prieto C. 2012 Deep-water macroalgal-dominated coastal detritic assemblages on the continental shelf off Mallorca and Menorca (Balearic Islands, Western Mediterranean). *Bot. Mar.* **55**, 485–497. (doi:10.1515/bot-2012-0113)
  33. Diaz-Pulido G, Gouezo M, Tilbrook B, Dove S, Anthony KRN. 2011 High CO<sub>2</sub> enhances the competitive strength of seaweeds over corals. *Ecol. Lett.* **14**, 156–162. (doi:10.1111/j.1461-0248.2010.01565.x)
  34. Doropoulos C, Ward S, Diaz-Pulido G, Hoegh-Guldberg O, Mumby PJ. 2012 Ocean acidification reduces coral recruitment by disrupting intimate larval–algal settlement interactions. *Ecol. Lett.* **15**, 338–346. (doi:10.1111/j.1461-0248.2012.01743.x)
  35. Porzio L, Buia MC, Hall-Spencer JM. 2011 Effects of ocean acidification on macroalgal communities. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **400**, 278–287. (doi:10.1016/j.jembe.2011.02.011)
  36. Kuffner IB, Andersson AJ, Jokiel PL, Rodgers KS, Mackenzie FT. 2008 Decreased abundance of crustose coralline algae due to ocean acidification. *Nat. Geosci.* **1**, 114–117. (doi:10.1038/ngeo100)
  37. Nash MC, Troitzsch U, Opdyke BN, Trafford JM, Russell BD, Kline DI. 2011 First discovery of dolomite and magnesite in living coralline algae and its geobiological implications. *Biogeosciences* **8**, 3331–3340. (doi:10.5194/bg-8-3331-2011)
  38. Nash MCE *et al.* 2013 Dolomite-rich coralline algae in reefs resist dissolution in acidified conditions. *Nat. Clim. Change* **3**, 268–272. (doi:10.1038/nclimate1760)
  39. Hofmann GE *et al.* 2011 High-frequency dynamics of ocean pH: a multi-ecosystem comparison. *PLoS ONE* **6**, e28983. (doi:10.1371/journal.pone.0028983)
  40. Hofmann G, Kelley AL, Shaw EC, Martz TR, Hofmann GE. 2015 Near-shore Antarctic pH variability has implications for the design of ocean acidification experiments. *Sci. Rep.* **5**, 9638. (doi:10.1038/srep09638)
  41. Hoegh-Guldberg O *et al.* 2007 Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science* **318**, 1737–1742. (doi:10.1126/science.1152509)
  42. Crain CM, Kroeker K, Halpern BS. 2008 Interactive and cumulative effects of multiple human stressors in marine systems. *Ecol. Lett.* **11**, 1304–1315. (doi:10.1111/j.1461-0248.2008.01253.x)
  43. Crowe TP *et al.* 2013 Large-scale variation in combined impacts of canopy loss and disturbance on community structure and ecosystem functioning. *PLoS ONE* **8**, e66238. (doi:10.1371/journal.pone.0066238)
  44. 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, Northwestern Mediterranean). *Mar. Pollut. Bull.* **50**, 1472–1489. (doi:10.1016/j.marpolbul.2005.06.014)

