

Online ISSN: 2395-9053

Evaluating the effect of temperature on photosynthesis and respiration of articulated coralline algae using oxygen evolution and chlorophyll *a* fluorescence

Evaluación del efecto de la temperatura en la fotosíntesis y la respiración de algas coralinas articuladas utilizando la evolución de oxígeno y la fluorescencia de la clorofila *a*

Román Manuel Vásquez-Elizondo^{1,2}, Wiebke E Kräemer³, Alejandro Cabello-Pasini^{2*}

¹ Centro de Investigaciones y Estudios Avanzados del Politécnico Nacional, Departamento de Recursos del Mar, 97310 Mérida, Yucatán, Mexico.

² Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Investigaciones Oceanológicas, 22860 Ensenada, Baja California, Mexico.

³ Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica de Sistemas Arrecifales, 77580, Puerto Morelos, Quintana Roo, México.

* Corresponding author. E-mail: acabello@uabc.edu.mx

ABSTRACT. Coralline algae form abundant and ecologically important submerged aquatic vegetation habitats throughout the world. However, algal performance is threatened by climate change and ocean acidification. Previous studies suggest that their photosynthetic performance will be compromised mainly at elevated temperatures. Understanding the impact of diverse climate change scenarios requires a clear and thorough comprehension of the photosynthetic response to temperature gradients. The objective of this study was to evaluate the short-term effect of temperature (10–35 °C) on the gross photosynthesis (GPS), respiration, and electron transport rates (ETRs) of 3 articulated coralline algae (*Lithothrix aspergillum*, *Corallina officinalis*, and *Bossiella orbigniana*) for a better understanding of their metabolism and to investigate the relationship between GPS and ETR as a function of temperature. The results showed that the coralline algal metabolism is highly sensitive to temperature, but responses were species-specific and can be related to their light adaptation/acclimation; the high-light-adapted *L. aspergillum* was least negatively affected. The photosynthesis to respiration ratio was optimal between 20 and 25 °C according to the local thermal regime but was significantly reduced toward higher temperatures, indicating strong carbon imbalances and highlighting the relevance of thermal stress for coralline algal performance. A strong correlation between GPS and ETR was found between 10 and 30 °C in all species, but both above saturation irradiances and at elevated temperatures (≥ 30 °C), a clear deviation from linearity occurred. This suggests that ETR is not a good proxy to estimate photosynthetic activity under light or thermal stress. This information should be useful for studies implementing global change scenarios and pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry in coralline algae.

Key words: coralline algae, PAM fluorescence, photosynthesis, temperature.

RESUMEN. Las algas coralinas forman hábitats vegetales sumergidos, ecológicamente importantes y abundantes, alrededor del mundo. El desempeño algal, no obstante, está amenazado por el cambio climático y la acidificación del océano. Estudios previos han sugerido que su desempeño fotosintético estará comprometido, principalmente a elevadas temperaturas. El entendimiento del impacto de diversos escenarios del cambio climático requiere comprensión exhaustiva de la respuesta fotosintética a los gradientes de temperatura. Este estudio evaluó el efecto a corto plazo de la temperatura (10–35 °C) en la fotosíntesis bruta (FSB), la respiración y la tasa del transporte de electrones (TTE) de 3 especies de algas coralinas articuladas (*Lithothrix aspergillum*, *Corallina officinalis* y *Bossiella orbigniana*) para entender mejor su metabolismo e investigar la relación entre la FSB y la TTE en función de la temperatura. Los resultados mostraron que el metabolismo coralino es altamente sensible a la temperatura, pero las respuestas fueron específicas para cada especie y pueden estar relacionadas con su aclimatación/adaptación lumínica; *L. aspergillum*, alga adaptada a alta luz, fue la menos afectada negativamente. La razón fotosíntesis: respiración fue óptima a 20–25 °C, según el régimen térmico local, pero se redujo significativamente a temperaturas altas; esto indica fuertes desbalances de carbono y resalta la relevancia del estrés térmico para el desempeño fotosintético coralino. Se encontró una fuerte correlación entre la FSB y la TTE entre los 10 y 30 °C para todas las especies, pero se observó una clara desviación de esta linealidad por encima de las irradiancias de saturación y a temperaturas elevadas (≥ 30 °C). Lo anterior sugiere que la TTE no es un buen indicador de la actividad fotosintética bajo condiciones de estrés lumínico o térmico. Esta información debería ser útil para estudios que implementen escenarios de cambio global y fluorometría de pulso de amplitud modulada (PAM) en algas coralinas.

Palabras clave: algas coralinas, fluorescencia PAM, fotosíntesis, temperatura.



© Román Manuel Vásquez-Elizondo, Wiebke E Kräemer, Alejandro Cabello-Pasini.

This is an Open Access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 International License \(CC BY 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which allows you to share and adapt the work, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. Figures, tables, and other elements in the article are included in the article's CC BY 4.0 license, unless otherwise indicated. You must seek permission from the copyright holder for use of material not covered by this license. The journal title is protected by copyrights owned by Universidad Autónoma de Baja California, and the journal title and logo are not subject to this license.

INTRODUCTION

Coralline algae are abundant and ecologically important aquatic vegetation in coastal areas around the world (Foster 2001). These algae establish large, dense beds in several regions of the world, including the Gulf of California, and dense mats in rocky shores in the North Pacific and North Atlantic, forming important micro- and macrohabitats for invertebrates and algae (Foster 2001, Steller et al. 2003). Furthermore, coralline algae are a major component of the diet or settling substrata of commercially important fishery resources such as lobsters and abalone (Jernakoff et al. 1993, Linnane et al. 2000). Due to their abundance and ability to calcify, coralline algae are recognized as key components of carbon cycles in shallow coastal waters (Chisholm 2000, Martin et al. 2006). The calcium carbonate skeleton of these algae serves as a physical defense and plays an important role in their light absorption (Vásquez-Elizondo and Enríquez 2017), but it also makes coralline algae vulnerable to ocean acidification (Díaz-Pulido et al. 2012). An increasing body of evidence indicates that thermal stress severely affects coralline algae performance (Martin and Gattuso 2009, Vásquez-Elizondo and Enríquez 2017).

Photosynthetic rates of coralline algae have been generally investigated using gas-exchange procedures. Pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry represents a clear advantage to traditional methods due to its versatility, noninvasive nature, and rapid evaluation of photosynthetic activity (Maxwell and Johnson 2000). In PAM fluorometry, chlorophyll *a* fluorescence associated with photosystem II (PSII) is used to assess primary reactions and quenching mechanisms of the photosynthetic apparatus (Maxwell and Johnson 2000, Longstaff et al. 2002, Beer and Axelsson 2004). In addition, the electron transport rate (ETR) from PSII to photosystem I (PSI) can be calculated and used as a proxy for photosynthesis, but its effectiveness depends on the linearity between ETR and the carbon dioxide–oxygen evolution (Franklin and Badger 2001, Beer and Axelsson 2004).

In land vegetation, especially in C_4 plants, ETR and carbon uptake generally maintain a linear relationship (Edwards and Baker 1993), while in marine macrophytes, the relationship between gross photosynthesis (GPS) and ETR is generally species-specific and varies as a function of light acclimation, temperature, and nitrogen availability (Cabello-Pasini et al. 2000, Figueroa et al. 2003, Cabello-Pasini and Figueroa 2005). For example, the GPS vs. ETR relationship is linear in *Ulva rigida* and *Macrocystis pyrifera*, but it deviates at high irradiance in *Ulva fasciata* (Carr and Bjork 2003, Colombo-Pallotta et al. 2006). Only one study demonstrated a linear association between the GPS and the relative ETR of the rhodolith *Phymatolithon lusitanicum* (Sordo et al. 2020). Therefore, extensive research is needed to evaluate the utility of the ETR in coralline algae.

The fixation of carbon dioxide in marine macrophytes is mainly dependent on irradiance, temperature, and nutrient

INTRODUCCIÓN

Las algas coralinas son vegetación acuática abundante y ecológicamente importante en zonas costeras alrededor del mundo (Foster 2001). Estas algas llegan a formar mantos densos en diferentes regiones del mundo, incluido el golfo de California, o bien, tapetes densos que forman importantes micro y macro hábitats para invertebrados y otras algas en las costas rocosas del Pacífico Norte y el Atlántico Norte (Foster 2001, Steller et al. 2003). Asimismo, las algas coralinas son el mayor componente de la dieta y/o sustrato para el asentamiento de organismos de pesquerías importantes como las langostas y el abulón (Jernakoff et al. 1993, Linnane et al. 2000). Debido a su abundancia y habilidad para calcificar, las algas coralinas son reconocidas como organismos clave en el ciclo del carbono en aguas someras costeras (Chisholm 2000, Martin et al. 2006). El esqueleto de carbonato de calcio de estas algas les sirve como protección física y juega también un papel importante en el proceso de absorción de luz (Vásquez-Elizondo y Enríquez 2017), pero las hace vulnerables a la acidificación del océano (Díaz-Pulido et al. 2012). La evidencia creciente sugiere que el estrés térmico afecta considerablemente el desempeño general de las algas coralinas (Martin y Gattuso 2009, Vásquez-Elizondo y Enríquez 2017).

Las tasas fotosintéticas de las algas coralinas han sido usualmente investigadas con técnicas de intercambio gaseoso. La fluorometría de pulso de amplitud modulada (PAM) representa una ventaja clara sobre los métodos tradicionales debido a su versatilidad, naturaleza no intrusiva y evaluación rápida de la actividad fotosintética (Maxwell y Johnson 2000). En la fluorometría PAM, la fluorescencia de la clorofila *a* asociada al fotosistema II (FSII) se utiliza para determinar las reacciones primarias y los mecanismos de decaimiento en el aparato fotosintético (Maxwell y Johnson 2000, Longstaff et al. 2002, Beer y Axelsson 2004). Además, la tasa del transporte de electrones (TTE) del FSII al fotosistema I (FSI) puede ser calculada y utilizada como indicador de la tasa fotosintética, pero su efectividad depende de la linealidad que exista entre la TTE y la evolución del dióxido de carbono–oxígeno (Franklin y Badger 2001, Beer y Axelsson 2004).

En la vegetación terrestre, particularmente en plantas C_4 , la TTE y la fijación de carbono mantienen una relación lineal (Edwards y Baker 1993), mientras que en las macrófitas marinas, la relación entre la fotosíntesis bruta (FSB) y la TTE generalmente depende de la especie y puede variar en función de la aclimatación lumínica, la temperatura y la disponibilidad de nitrógeno (Cabello-Pasini et al. 2000, Figueroa et al. 2003, Cabello-Pasini y Figueroa 2005). Por ejemplo, la FSB y la TTE mantienen una relación lineal en *Ulva rigida* y *Macrocystis pyrifera* pero se desvía a altas irradiancias en *Ulva fasciata* (Carr y Bjork 2003, Colombo-Pallotta et al. 2006). Solo un estudio demostró una asociación lineal entre la FSB y la TTE relativa en el alga coralina (rodolito) *Phymatolithon lusitanicum* (Sordo et al. 2020). Debido a ello,

levels (Falkowski and Raven 2007). In coastal shallow environments, marine macrophytes are exposed to daily and seasonal fluctuations in temperature, which induce variation in photosynthetic rates, as well as pigment, protein, and fiber contents (Cabello-Pasini et al. 2003, 2004). As a consequence, algae exposed to fluctuating conditions are expected to suffer less from the adverse effects of environmental variation (Martone et al. 2010, Williamson et al. 2017). The temperature effect on coralline algae physiology is well studied, but little is known about this effect on the ETR. Short-term increases in natural temperature regimes increase photosynthetic rates, but this varies among species, light acclimation and exposure times (Guy-Haim et al. 2016, Vásquez-Elizondo and Enríquez 2016), whereas thermal stress typically induces a loss in performance (Martin and Gattuso 2009, Webster et al. 2011).

A detailed description of the photosynthetic response to temperature gradients will increase our ability to understand different response mechanisms and to interpret more complex and diverse scenarios. The ability to rapidly evaluate the photosynthetic response (i.e., ETR) can benefit future research after the limitations of this approach are defined. Consequently, the objective of this study was to simultaneously evaluate the short-term effect of temperature (10–35 °C) on the photosynthesis, respiration, and ETR of 3 articulated coralline algae from the Pacific North Coast of Mexico while evaluating the relationship between the ETR and GPS.

MATERIALS AND METHODS

Biological material

Samples of the articulated coralline algae *Lithothrix aspergillum*, *Corallina officinalis*, and *Bossiella orbigniana* were collected in the intertidal zone of Punta Morro, Ensenada, Baja California, Mexico, in March 2006. Seawater temperature was between 17 and 20 °C, and the surface irradiance reached 1,000–1,200 $\mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ at noon on sunny days. The collected material was transported to the nearby laboratory of the Autonomous University of Baja California (UABC). Samples were cleaned of epiphytes, rinsed, and placed in 20-L containers with filtered seawater (0.45 μm) at 20 °C, with constant aeration to promote water circulation, and at 80 $\mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. The water was changed every 12 h. All experiments were conducted within 2 days after sample collection.

Oxygen evolution and chlorophyll *a* fluorescence

Simultaneous measurements of oxygen and chlorophyll *a* fluorescence were performed on the algae thalli. Oxygenic photosynthetic rates were determined using polarographically measured rates of steady-state oxygen evolution on apical thalli segments ($n = 4$, ≈ 0.05 – 0.10 g fresh weight). All measurements were conducted in 5-mL jacketed chambers

es necesario realizar investigaciones extensivas para evaluar la utilidad de la TTE en las algas coralinas.

En las macrofitas marinas, la fijación del dióxido de carbono depende principalmente de la irradiancia, la temperatura y los niveles de nutrientes (Falkowski y Raven 2007). En ambientes someros costeros, las macrofitas están expuestas a fluctuaciones diarias y estacionales de temperatura, lo que induce una variación en sus tasas fotosintéticas, pero también en su pigmentación, contenido proteico y contenido de fibras (Cabello-Pasini et al. 2003, 2004). En consecuencia, se esperaría que algas expuestas a estas condiciones fluctuantes sufrieran menos debido a los efectos adversos de estas variaciones ambientales (Martone et al. 2010, Williamson et al. 2017). El efecto de la temperatura sobre la fisiología de las algas coralinas ya ha sido estudiado, pero poco se sabe sobre su efecto en la TTE. Los incrementos a corto plazo de temperatura bajo los regímenes naturales incrementa las tasas fotosintéticas, pero depende de la especie, su aclimatación lumínica y el tiempo de exposición (Guy-Haim et al. 2016, Vásquez-Elizondo y Enríquez 2016), mientras que un estrés térmico induce típicamente una pérdida de su desempeño (Martin y Gattuso 2009, Webster et al. 2011).

Una descripción detallada de la respuesta fotosintética frente a gradientes de temperatura incrementará la habilidad para entender los distintos mecanismos de respuesta e interpretar escenarios más complejos y diversos. La habilidad para evaluar la respuesta fotosintética de manera rápida (i.e., TTE), por otro lado, puede beneficiar investigaciones futuras solo si se conocen sus limitaciones. Consecuentemente, el objetivo de este estudio fue evaluar simultáneamente el efecto a corto plazo de la temperatura (10–35 °C) sobre la fotosíntesis, la respiración y la TTE de 3 especies de algas coralinas articuladas de la costa Pacífico Norte de México mientras se evaluó la relación entre la TTE y la FSB.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Biológico

Se recolectaron muestras de las algas coralinas articuladas *Lithothrix aspergillum*, *Corallina officinalis* y *Bossiella orbigniana* en la zona intermareal de punta Morro, Ensenada, Baja California, México, durante marzo de 2006. La temperatura superficial del agua de mar osciló entre los 17 y 20 °C y la irradiancia superficial alcanzó los 1,000–1,200 $\mu\text{mol cuantos}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ al atardecer en días soleados. El material recolectado se transportó al laboratorio cercano de la Universidad Autónoma de Baja California (UABC). Los organismos epífitos fueron eliminados de las muestras, y las algas se enjuagaron con agua de mar y se colocaron en contenedores de 20 L con agua de mar filtrada (0.45 μm) a 20 °C, con aeración constante para promover la circulación de agua, y a una intensidad de luz de 80 $\mu\text{mol cuantos}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Se realizaron recambios de agua cada 12 h. Todos los experimentos se realizaron en un lapso de no más de 2 días después de la recolecta de muestras.

(Rank brothers; Cambridge, UK) where temperature was controlled using a water-circulating bath (ISOTEMP 1016S, Fisher Scientific; Hampton, New Hampshire, USA; stability 0.5 °C). A preincubation period in darkness (0.5 h) at the experimental temperature was applied by placing the algae in 50-mL tubes filled with filtered seawater in the water-circulating bath system reservoir. Oxygen evolution was recorded for 8–10 min from darkness (respiration) through a series of increasing irradiances (0 to 960 $\mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) using neutral density filters (Lee filters; Osram, UK) placed in front of the light source (Quartzline 300 W). An experimental determination (a photosynthesis–irradiance curve of 0–960 $\mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) was performed in the same experimental segment to ensure that the response was due to the light history. The oxygen concentration was maintained between 20% and 40% by bubbling the water in the chambers with nitrogen (N_2) at the beginning of the light curve, when no water exchange was used. Irradiance values within the chambers were determined using a miniature PAR quantum sensor (Diving PAM; Walz, Germany) previously calibrated against a cosine-corrected sensor (LI-190SA) connected to a portable radiometer (LI-1400, LI-COR; Lincoln, Nebraska, USA). The maximum photosynthesis (P_{max}) was calculated from the average maximum values above saturating irradiances, and the initial slope of the photosynthesis vs. irradiance (P–E) curve (α) was determined using a least-square regression analysis for the values under saturating irradiance showing a linear response to irradiance of each independent curve. The saturating irradiance (E_k) was determined as the ratio between P_{max} and α . The metabolic coefficient Q_{10} was calculated as the ratio of average metabolic activity at a given final temperature ($T\text{ °C} + 10$) to the average metabolic activity at a given initial temperature as long as the response was linear.

In vivo chlorophyll fluorescence of PSII was determined ($n = 4$) using a portable PAM fluorometer (Diving PAM; Walz, Germany) simultaneously during oxygen evolution measurements by introducing miniature fiber optics (Diving F1, Walz) into the oxygen chambers and keeping it at a 45° angle from the thalli throughout the experiments. The 2-mm diameter fiber optics was translucent to prevent shading of the thalli by the fiber. Basal fluorescence (F_o) and maximum fluorescence (F_m) in dark-acclimated samples (0.5 h) were determined before and after applying a saturating actinic light pulse ($>3,000\ \mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 0.8 s), respectively. Variable fluorescence (F_v) was determined as the difference between F_m and F_o , and maximum photochemical efficiency (F_v/F_m) was calculated (Schreiber 2004). Similarly, the photochemical efficiency or effective quantum yield of PSII ($\Delta F/F_m'$) was determined in light-acclimated thalli at each experimental irradiance after light steady oxygen evolution. ETR was determined as follows:

$$\text{ETR} (\mu\text{mol electrons}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}) = E \cdot A_{\text{PAR}} \cdot 0.15 \cdot \Delta F/F_m' \quad , \quad (1)$$

Evolución de oxígeno y fluorescencia de la clorofila *a*

Se realizaron mediciones simultáneas de oxígeno y fluorescencia de la clorofila *a* en el talo de las algas. Las tasas de fotosíntesis oxigénica se determinaron polarográficamente mediante las tasas de evolución de oxígeno en estado estacionario en segmentos apicales del talo ($n = 4$, $\approx 0.05\text{--}0.10$ g peso fresco). Todas las mediciones se realizaron en cámaras de incubación de 5 mL (Rank Brothers; Cambridge, Reino Unido) conectadas a un baño recirculador para controlar la temperatura (ISOTEMP 1016S, Fisher Scientific; Hampton, New Hampshire, EE. UU.; estabilidad 0.5 °C). Se realizó una pre-incubación en oscuridad (0.5 h) a la temperatura experimental colocando las algas en tubos de 50 mL con agua de mar filtrada y puestos en el reservorio de agua del baño recirculador. La evolución de oxígeno se registró por al menos 8–10 min en cada paso de oscuridad/luz desde la oscuridad (respiración) y durante una serie de incrementos de irradiancia (0–960 $\mu\text{mol cuantos}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) utilizando filtros de densidad neutra (Lee filters; Osram, Reino Unido) colocados frente a lámparas de halógeno (Quartzline 300 W). Una determinación experimental (una curva fotosíntesis-irradiancia de 0–960 $\mu\text{mol cuantos}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) fue realizada en el mismo segmento experimental para asegurar que respondía en consecuencia de la historia de luz. La concentración de oxígeno se mantuvo entre el 20% y el 40% de la saturación burbujando el agua con nitrógeno (N_2) al principio de las determinaciones, que se realizaron sin recambio de agua. Los valores de irradiancia dentro de la cámara se obtuvieron utilizando un sensor de luz miniatura PAR (Diving PAM; Walz, Alemania) calibrado previamente contra un sensor coseno (LI-190SA) conectado a un radiómetro portátil (LI-1400, LI-COR; Lincoln, Nebraska, EE. UU.). La tasa máxima de fotosíntesis (P_{max}) se calculó como el promedio de los valores máximos por encima de la saturación de luz, y la pendiente inicial de la curva fotosíntesis-irradiancia (α) se determinó mediante un análisis de regresión por mínimos cuadrados utilizando los valores de fotosíntesis por debajo de la saturación de luz que mostraran una respuesta lineal en función de la irradiancia de cada curva individual. La irradiancia de saturación (E_k) se determinó como la razón entre la P_{max} y α . Adicionalmente, se calculó el coeficiente metabólico Q_{10} como la razón entre el promedio de la actividad metabólica a una temperatura final ($T\text{ °C} + 10\text{ °C}$) a la actividad metabólica promedio inicial, siempre y cuando la respuesta fuese lineal.

Se determinó la fluorescencia de la clorofila *a* del FSII *in vivo* ($n = 4$) con un fluorómetro PAM portátil (Diving PAM; Walz, Alemania) de manera simultánea a la evolución de oxígeno introduciendo una fibra óptica miniatura (Diving F1, Walz) en las cámaras de incubación y manteniéndola a 45° del tejido durante los experimentos. La fibra óptica de 2 mm era translúcida, lo que evitó el sombreado del talo durante la determinación. Se determinó la fluorescencia basal (F_o) y la fluorescencia máxima (F_m) en muestras aclimatadas a oscuridad (0.5 h) antes y después de aplicar un pulso de

where absorbance, A_{PAR} , is the fraction of incident light absorbed by the algal thalli between 400 and 700 nm, E is the irradiance reaching the thalli, and 0.15 is the fraction of A_{PAR} directed to PSII used for red macroalgae (Orzyski et al. 1997). Absorbance and transmission in the algae thalli was calculated as described in Vásquez-Elizondo et al. (2017). Additionally, reflectance in coralline algae is considerably high compared to other non-calcifying algae, resulting in an absorption between 45% and 85% of the incident light, depending on thalli thickness and pigmentation, and a standard value of 0.7 for A_{PAR} was used (median value, see Vásquez-Elizondo and Enríquez 2017). The maximum ETR values, the initial slope of the ETR vs. irradiance curve, and the saturation irradiance for the ETR ($E_{k\ ETR}$) were calculated as previously described for the oxygen evolution curves. The algal dry weight (DW) was determined on an analytical scale after drying the algae for 48 h at 60 °C.

Statistical analysis

Differences in photosynthetic parameters (GPS, ETR) as a function of temperature were evaluated using a one-way analysis of variance after testing for normality and homoscedasticity. All pairwise multiple comparisons were conducted using Tukey's test. If necessary, nonparametric Kruskal–Wallis tests were conducted. The significance of the correlation between ETR and GPS was tested using Pearson's correlations. The significance level was established at $P < 0.05$. All statistical analyses were conducted in JAMOVI.

RESULTS

Temperature significantly affected the photosynthetic parameters calculated from the P–E curve (Fig. 1, S1) in all coralline algae studied ($P < 0.05$; Tables 1, S1). In general, P_{max} , dark respiration (R_D), α , and E_k increased linearly with increasing temperature to an optimum, followed by a strong decrease at higher temperatures (Fig. 1). The responses to temperature were species-specific, and the calculated metabolic rates showed distinct physiological thresholds. A linear increase in P_{max} with increasing experimental temperature up to a maximum value was observed from 10 to 30 °C in *L. aspergillum* and from 10 °C to 20–25 °C in the remaining species (Fig. 1a). The maximum P_{max} values were 269.3 (± 60.8), 139.7 (± 63.6), and 80.0 (± 10.9) $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{g DW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ for *L. aspergillum*, *C. officinalis*, and *B. orbigniana*, respectively. After this maximum value, P_{max} decreased substantially: 4-, 3-, and 12-fold for *L. aspergillum*, *C. officinalis*, and *B. orbigniana*, respectively. In general, R_D (Fig. 1b) increased linearly over the full range of experimental temperatures in *L. aspergillum* and *C. officinalis* and reached a maximum at 30 °C in *B. orbigniana* (with a dramatic increase from 25 to 30 °C), followed by a strong decrease at 35 °C. The highest R_D values were approximately 73.7 (± 2.0), 61.3 (± 15.4), and 41.5 (± 13.7) $\mu\text{mol O}_2 \cdot \text{g DW}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

luz saturante ($>3,000 \mu\text{mol cuantos} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 0.8 s), respectivamente. La fluorescencia variable (F_v) se determinó como la diferencia entre la F_m y la F_o , y se calculó la eficiencia fotoquímica máxima (F_v/F_m) (Schreiber 2004). De forma similar, la eficiencia fotoquímica o cosecha cuántica efectiva del FSII ($\Delta F/F_m'$) se determinó en los talos aclimatados a cada irradiancia experimental después de haber alcanzado su estado estacionario de oxígeno. La TTE se determinó como sigue:

$$\text{TTE} (\mu\text{mol electrones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}) = E \cdot A_{PAR} \cdot 0.15 \cdot \Delta F/F_m' \quad (1)$$

donde la absorbancia, A_{PAR} , es la fracción de luz incidente absorbida por el talo entre los 400 y 700 nm, E es la irradiancia de llega al talo y 0.15 es la fracción de A_{PAR} redirigida al FSII para algas rojas (Orzyski et al. 1997). La absorción y la transmisión de los fragmentos experimentales se calculó de acuerdo con Vásquez-Elizondo et al. (2017). Dado que la reflectancia en las algas coralinas es considerablemente alta comparada con otras macroalgas no calcificantes, la absorción puede variar entre un 45% y 85% de la luz incidente, según el grosor del tejido y la pigmentación, y por tanto en el presente estudio se utilizó un valor estándar de A_{PAR} de 0.7 (valor de la mediana, ver Vásquez-Elizondo y Enríquez 2017). Los valores máximos de la TTE, la pendiente inicial de la curva TTE-irradiancia y la irradiancia de saturación del TTE ($E_{k\ TTE}$) se calcularon como se describió previamente para las curvas de la evolución de oxígeno. El peso seco (PS) de las muestras se determinó en una balanza analítica después de secar las algas por 48 h a 60 °C.

Análisis estadísticos

Se evaluaron las diferencias en los parámetros fotosintéticos (FSB, TTE) en función de la temperatura mediante pruebas de análisis de variancia de una vía después de corroborar la homocedasticidad y normalidad en los datos. Se utilizaron pruebas múltiples pareadas de Tukey para determinar diferencias entre grupos. Cuando fue necesario, se realizaron pruebas no paramétricas (Kruskal–Wallis). La significancia de la correlación entre la FSB y la TTE se determinó mediante correlaciones de Pearson. El nivel de significancia se estableció a $P > 0.05$. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con el software JAMOVI.

RESULTADOS

La temperatura afectó significativamente los parámetros fotosintéticos derivados de las curvas fotosíntesis-irradiancia (P-E) (Fig. S1) en todas las algas coralinas estudiadas ($P < 0.05$; Tablas 1, S1). De manera general, la P_{max} , la respiración en oscuridad (R_D), α , y la E_k se incrementaron de manera lineal con los incrementos de temperatura hasta un óptimo, seguido de un fuerte decremento a temperaturas elevadas (Fig. 1). Las respuestas observadas frente a la temperatura fueron específicas para cada especie, y las tasas

for *L. aspergillum*, *C. officinalis*, and *B. orbigniana*, respectively. The initial slope of oxygen evolution (α_{oxy} , Fig. 1c) showed a similar trend to P_{max} and R_{D} ; it increased with increasing temperature to a maximum, from 10 to 30 °C in *C. officinalis* and *B. orbigniana* and at 35 °C in *L. aspergillum* (Fig. 2c). E_{k} showed a similar response among the species to increasing temperature and was generally higher for *L. aspergillum*, particularly between 20 and 25 °C (Fig. 1d). In *C. officinalis*, E_{k} increased in samples incubated from 10 to 20 °C, followed by a significant decrease and stabilization from 25 to 35 °C. In the remaining species, E_{k} increased from 10 °C to a maximum at 25 °C in *B. orbigniana* and 20 °C in *L. aspergillum*, followed by a strong decrease. The photosynthesis to respiration (P:R) ratios for all species were relatively high at lower temperatures (~7–13) but significantly decreased with increasing temperatures (30–35 °C) to values of approximately 1 (Tables 1, 2). The metabolic quotient Q_{10} was variable but generally decreased with increasing temperature in all species (Table 2). While *L. aspergillum* and *C. officinalis* showed the greatest photosynthetic Q_{10} , *C. officinalis* and *B. orbigniana* showed the greatest respiratory Q_{10} .

The ETR response to irradiance was similar to that observed in oxygenic photosynthesis (ETR–light curve; Figs. S1, S2); however, ETR values saturated at higher irradiance levels ($>300 \mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). In general, the highest ETR activity was observed between 20 and 25 °C. Temperature significantly affected $F_{\text{v}}/F_{\text{m}}$ and the parameters derived from the ETR–light curve ($P < 0.05$; Fig. 2; Tables 1, S1). A stable $F_{\text{v}}/F_{\text{m}}$ of approximately 0.55 from 10 to 25 °C was observed in all species, but it decreased gradually toward higher temperatures to values of ~0.25–0.30 at 35 °C in *L. aspergillum* and *C. officinalis* and was close to zero in *B. orbigniana* (Fig. 2a). Maximum ETR (ETR_{max}, Fig. 2b) increased from 10 °C to a maximum at 25 °C in *L. aspergillum* and at 20 °C in the remaining species. Those maxima were shifted by 5 °C toward lower temperatures to the thresholds observed for P_{max} . At higher temperatures, ETR_{max} decreased up to 35 °C in all species. The highest ETR_{max} values were between 36.9 (± 3.6), 14.9 (± 5.4), and 19.4 (± 5.7) $\mu\text{mol e}^{-}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ in *L. aspergillum*, *C. officinalis*, and *B. orbigniana*, respectively, and decreased 6-fold at 35 °C. The α values, α_{ETR} , slightly increased from 10 to 25 °C in all species and then dramatically decreased up to 35 °C, with maximum values between 0.05 and 0.03 $\mu\text{mol e}^{-}\cdot\text{quanta}\cdot\text{s}^{-1}$ (Fig. 2c). The $E_{\text{k ETR}}$ values showed mixed responses among species (Fig. 2d). For example, $E_{\text{k ETR}}$ increased from 10 °C to a maximum at 25 °C in *L. aspergillum* and up to 30 °C in *C. officinalis*, whereas in *B. orbigniana*, this maximum was observed at 15 °C. In the optimal temperature range (15–30 °C), the $E_{\text{k ETR}}$ values were $\geq 600 \mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ in *L. aspergillum* and half of that for the remaining species and were generally higher than those obtained by oxygen evolution.

There was a significant linear association ($P < 0.05$) between GPS and ETR at all temperatures in *L. aspergillum*

metabólicas calculadas mostraron distintos umbrales fisiológicos. Se observó un incremento lineal de la P_{max} hasta un máximo a medida que la temperatura experimental se incrementaba desde los 10 °C hasta los 30 °C en *L. aspergillum* y desde los 10 °C hasta los 20–25 °C para las especies restantes (Fig. 1a). Los valores máximos de la P_{max} fueron de 269.3 (± 60.8), 139.7 (± 63.6) y 80.0 (± 10.9) $\mu\text{mol O}_2\cdot\text{g PS}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ para *L. aspergillum*, *C. officinalis* y *B. orbigniana*, respectivamente. Posterior a este máximo, la P_{max} disminuyó fuertemente: 4, 3 y 12 veces para *L. aspergillum*, *C. officinalis* y *B. orbigniana*, respectivamente. Las tasas de respiración en oscuridad (R_{D} , Fig. 1b) se incrementaron de manera lineal en todo el intervalo de temperaturas experimentales utilizadas para *L. aspergillum* y *C. officinalis* y alcanzaron un máximo a 30 °C en *B. orbigniana* (con un incremento sustancial de los 25 °C a los 30 °C), seguido de un fuerte decremento hacia los 35 °C. Los valores de R_{D} más altos fueron de 73.7 (± 2.0), 61.3 (± 15.4) y 41.5 (± 13.7) $\mu\text{mol O}_2\cdot\text{g PS}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ para *L. aspergillum*, *C. officinalis* y *B. orbigniana*, respectivamente. La pendiente inicial de la curva de la evolución de oxígeno (α_{oxy} , Fig. 1c) mostró una tendencia similar a la P_{max} y R_{D} ; incrementó con los aumentos de temperatura hasta un máximo, desde los 10 °C hasta los 30 °C en *C. officinalis* y *B. orbigniana* y hasta los 35 °C en *L. aspergillum* (Fig. 2c). La E_{k} presentó una respuesta similar entre especies en función de los incrementos de temperatura y fue, en general, más alta para *L. aspergillum*, particularmente entre los 20 y 25 °C (Fig. 1d). En *C. officinalis*, la E_{k} se incrementó en las muestras incubadas de 10 a 20 °C, para una posterior caída significativa y estabilización desde los 25 a 35 °C. En las especies restantes, la E_{k} se incrementó desde los 10 °C hasta los 25 °C en *B. orbigniana* y hasta los 20 °C en *L. aspergillum*, seguidas ambas de una fuerte caída. Las razones fotosíntesis: respiración (P:R) fueron relativamente elevadas a temperaturas bajas (~7–13) para todas las especies, pero disminuyeron significativamente con los incrementos de temperatura (30–35 °C) a valores aproximados de 1 (Tablas 1, 2). El cociente metabólico Q_{10} fue variable, pero generalmente decreció en todas las especies a medida que la temperatura se incrementó (Tabla 2). Mientras que *L. aspergillum* y *C. officinalis* mostraron los mayores Q_{10} fotosintéticos, *C. officinalis* y *B. orbigniana* presentaron los mayores Q_{10} respiratorios.

La respuesta de la TTE frente a la irradiancia fue similar a la observada en la fotosíntesis oxigénica (curva TTE–irradiancia; Figs. S1, S2); sin embargo, los valores de la TTE se saturaron a irradiancias mayores ($>300 \mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$). En general, la mayor actividad de la TTE se observó entre los 20 y 25 °C. En relación con la temperatura, esta afectó significativamente la $F_{\text{v}}/F_{\text{m}}$, así como también los parámetros derivados de la curva TTE–irradiancia ($P < 0.05$; Fig. 2; Tablas 1, S1). En lo que respecta al $F_{\text{v}}/F_{\text{m}}$, este se mantuvo constante en alrededor de 0.55 desde los 10 °C hasta los 25 °C en todas las especies, pero se redujo gradualmente hacia temperaturas elevadas a valores de entre ~0.25 y 0.30 a los 35 °C en *L. aspergillum* y *C. officinalis* y cercanos a

(Fig. 3) and from 10 to 30 °C in *C. officinalis* and *B. orbigniana* (Figs. 4, 5). In general, correlation coefficients increased with increasing temperatures (up to 0.90) and then decreased at 30 °C. The linear association between GPS and ETR weakened dramatically at 35 °C in *L. aspergillum* and disappeared in the remaining species. In addition, a deviation from linearity at high irradiances was observed, as ETR generally increased while GPS remained saturated or decreased.

DISCUSSION

The results of this study show a high sensitivity of coralline algae metabolism to short-term temperature increases, while this response differed among species. This is in accordance with previous studies on other coralline and fleshy algae (Newell and Pye 1968, Guy-Haim et al. 2016, Vásquez-Elizondo and Enríquez 2016). The observed range of optimal photosynthetic activity and highest P:R ratios correspond to the local annual temperature regime of ~13 °C in

B. orbigniana (Fig. 2a). Las TTE máximas (TTE_{max} , Fig. 2b) se incrementaron desde los 10 °C a valores máximos a 25 °C en *L. aspergillum* y a 20 °C en las especies restantes. Estos picos máximos se desplazaron 5 °C hacia temperaturas bajas en contraste con los picos máximos observados para la P_{max} . A temperaturas elevadas, las TTE_{max} disminuyeron hacia los 35 °C en todas las especies. Los valores más elevados de las TTE_{max} fueron de $36.9 (\pm 3.6)$, $14.9 (\pm 5.4)$ y $19.4 (\pm 5.7) \mu\text{mol } e^- \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ en *L. aspergillum*, *C. officinalis* y *B. orbigniana*, respectivamente, y decrecieron 6 veces a 35 °C. Los valores de α , α_{TTE} , se incrementaron ligeramente desde los 10 hasta los 25 °C en todas las especies para, posteriormente, disminuir drásticamente hacia los 35 °C, con valores máximos entre los 0.05 y 0.03 $\mu\text{mol } e^- \cdot \mu\text{mol cuantos} \cdot \text{s}^{-1}$ (Fig. 2c). Los valores de la $E_{k TTE}$ respondieron distinto entre las especies (Fig. 2d). Por ejemplo, la $E_{k TTE}$ se incrementó desde 10 °C hasta un máximo a 25 °C en *L. aspergillum* y hasta 30 °C en *C. officinalis*, mientras que en *B. orbigniana* este máximo se observó a 15 °C. En el intervalo óptimo de temperaturas

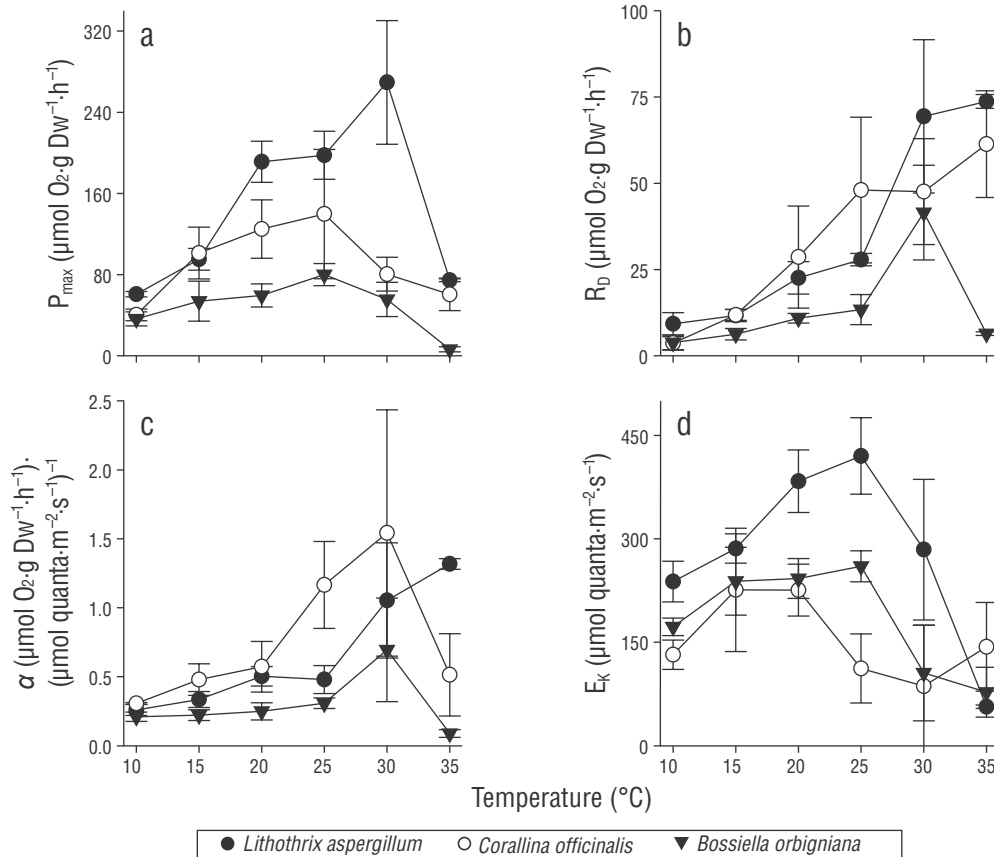


Figure 1. Photosynthetic parameters describing the photosynthesis vs. irradiance (P–E) curve (oxygen evolution) as a function of temperature in the studied coralline algae. **(a)** Maximum gross photosynthesis (P_{max}), **(b)** dark respiration (R_D), **(c)** initial slope of the P–E curve (α), and **(d)** saturation irradiance (E_k). Symbols represent the mean ($n = 4$) \pm SD.

Figura 1. Parámetros fotosintéticos que describen las curvas fotosíntesis-irradiancia (P-E, evolución de oxígeno) en función de la temperatura en las algas coralinas estudiadas. **(a)** Tasa máxima de fotosíntesis (P_{max}), **(b)** respiración en oscuridad (R_D), **(c)** pendiente inicial de la curva P-E (α) y **(d)** irradiancia de saturación (E_k). Los símbolos representan la media ($n = 4$) \pm desviación estándar.

Table 1. One-way analysis of variance/Kruskal–Wallis results for the comparison between the photosynthetic descriptors (oxygen/chlorophyll fluorescence) and temperature in the studied coralline algae. Abbreviations: P_{\max} , maximum photosynthesis rate; R_D , dark respiration; α , initial slope of the photosynthesis vs. irradiance curve; E_k , saturation irradiance; P:R, photosynthesis to respiration ratio; F_v/F_m , maximum photochemical efficiency; ETR_{\max} , maximum electron transport rate; α_{ETR} , initial slope of the ETR vs. irradiance curve; and $E_{k\ ETR}$, saturation irradiance for the ETR. All analyses were conducted among the 5 temperature treatments except in *Bossiella orbigniana* ($n = 4$ treatments, no data for α_{ETR} and $E_{k\ ETR}$ for 35 °C). See Table S1 for post hoc multiple comparisons.

Tabla 1. Resultados de los análisis de variancia y Kruskal-Wallis para la comparación entre los descriptores fotosintéticos (oxígeno/fluorescencia de la clorofila) y la temperatura en las algas coralinas estudiadas. Abreviaciones: P_{\max} , tasa máxima de fotosíntesis; R_D , respiración en oscuridad; α , pendiente inicial de la curva fotosíntesis-irradiancia; E_k , irradiancia de saturación; P:R, razón fotosíntesis a respiración; F_v/F_m , eficiencia fotoquímica máxima; ETR_{\max} , tasa máxima de transporte de electrones, por sus siglas en inglés; α_{ETR} , pendiente inicial de la curva ETR vs. irradiancia; y $E_{k\ ETR}$, irradiancia de saturación del ETR, por sus siglas en inglés. Todos los análisis se realizaron entre 5 tratamientos de temperatura, excepto en *Bossiella orbigniana* ($n = 4$ tratamientos, sin datos para α_{ETR} y $E_{k\ ETR}$ a 35 °C). Ver Tabla S1 para las comparaciones múltiples *post hoc*.

Species	Oxygen evolution				Chlorophyll <i>a</i> fluorescence			
	Descriptor	<i>F, H</i>	d.f.	<i>P</i>	Descriptor	<i>F, H</i>	d.f.	<i>P</i>
<i>Lithothrix aspergillum</i>	P_{\max}^*	21.10	5,18	<0.001	F_v/F_m^*	15.5	5.0, 18.0	0.008
	R_D^*	20.80	5,18	<0.001	ETR_{\max}	86.6	5.0, 7.0	<0.001
	α^*	19.80	5,18	<0.001	α_{ETR}	27.4	5.0, 18.0	<0.001
	E_k	23.40	5,18	<0.001	$E_{k\ ETR}$	134.0	5.0, 7.0	<0.001
	P:R	82.30	5, 7	<0.001				
<i>Corallina officinalis</i>	P_{\max}^*	16.50	5,18	0.005	F_v/F_m^*	15.6	5.0, 18.0	0.008
	R_D^*	18.40	5,18	0.002	ETR_{\max}	23.3	5.0, 7.3	<0.001
	α^*	14.80	5,18	0.011	α_{ETR}^*	13.5	5.0, 18.0	0.020
	E_k	3.40	5,18	0.024	$E_{k\ ETR}$	24.8	5.0, 7.8	<0.001
	P:R*	21.07	5,18	<0.001				
<i>Bossiella orbigniana</i>	P_{\max}	15.30	5,18	<0.001	F_v/F_m	363.0	5.0, 7.1	<0.001
	R_D^*	19.40	5,18	0.002	ETR_{\max}	11.5	5.0, 7.8	0.002
	α^*	14.90	5,18	0.001	α_{ETR}	17.1	4.0, 14.0	<0.001
	E_k^*	18.30	5,18	0.002	$E_{k\ ETR}$	4.8	4.0, 14.0	0.012
	P:R*	17.50	5,18	0.004				

*Kruskal–Wallis test;

winter and ~22 °C in summer (Peña-Manjarrez 2009). The maximum P_{\max} occurred at higher temperatures (25–30 °C), but P:R ratios and F_v/F_m were already reduced, indicating that optimal growth occurs at lower temperatures. Likewise, these responses may reflect the capacity of the metabolic machinery to rapidly respond to thermal changes not compromising performance.

Photosynthesis and respiration are enzyme-mediated processes that can be limited by substrate availability, and their rates increase with increasing temperatures within

(15–30 °C) los $E_{k\ TTE}$ fueron $\geq 600 \mu\text{mol cuantos}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ para *L. aspergillum* y aproximadamente la mitad de eso para las especies restantes y fueron generalmente mayores que los obtenidos mediante la evolución de oxígeno.

Se observó una asociación lineal significativa ($P < 0.05$) entre la FSB y la TTE a todas las temperaturas para *L. aspergillum* (Fig. 3) y desde los 10 °C hasta los 30 °C en *C. officinalis* y *B. orbigniana* (Figs. 4, 5). De manera general, los coeficientes de correlación se incrementaron a medida que la temperatura se incrementaba (hasta 0.90) para,

the optimal range in a predicted manner (i.e., Q_{10}). This study suggests that P_{max} and R_D values were strongly regulated by temperature and characterized by differential Q_{10} (see Newell and Pye 1968). The highest Q_{10} values, observed in *L. aspergillum*, may indicate a better adaptation to temperature changes since P:R remained relatively high at 25 and 30 °C, whereas the lowest Q_{10} (*B. orbigniana* and *C. officinalis*) might be attributed to substrate limitation (Eggert 2012) and/or lower thermal tolerance. However, in these 2 species, R_D values increase faster than P_{max} , indicating an imbalance between carbon loss and gain at elevated temperatures, as well as the production of organic acids and carbohydrates rather than carbohydrates alone (Guy-Haim et al. 2016). The linear increase in R_D values suggests a greater thermal tolerance of respiratory

posteriormente, disminuir a los 30 °C. La asociación lineal entre la FSB y la TTE se debilitó drásticamente a los 35 °C en *L. aspergillum* y desapareció en las especies restantes. Adicionalmente, se observó una desviación de la linealidad en irradiancias elevadas, ya que la TTE tendía a incrementarse mientras que la FSB permanecía saturada o decrecía.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran una fuerte sensibilidad del metabolismo de las algas coralinas a los incrementos de temperatura a corto plazo; al mismo tiempo, estas respuestas difirieron entre las especies. Esto es consistente con estudios previos en otras algas coralinas y carnosas (Newell y Pye 1968, Guy-Haim et al. 2016, Vásquez-Elizondo y Enríquez

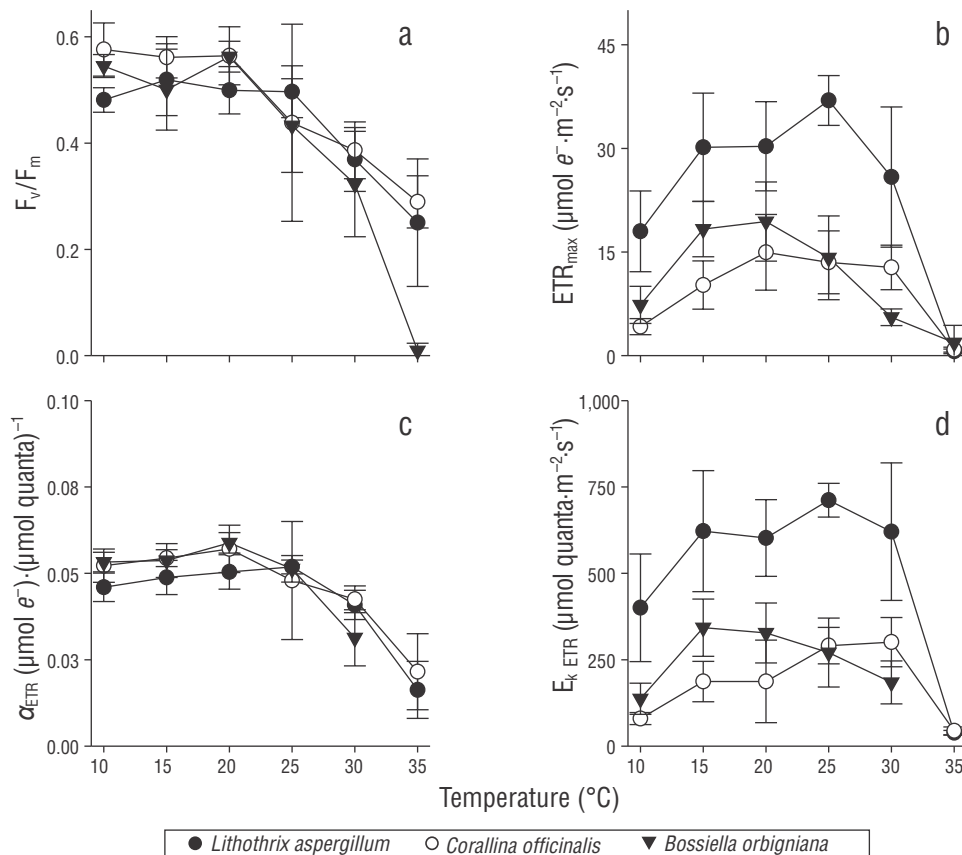


Figure 2. Maximum photochemical efficiency and photosynthetic parameters describing the electron transport rate (ETR) vs. irradiance curve as a function of temperature in the studied coralline algae. **(a)** Maximum photochemical efficiency (F_v/F_m), **(b)** maximum electron transport rate (ETR_{max}), **(c)** initial slope of the ETR vs. irradiance curve (α_{ETR}), and **(d)** saturation irradiance for the ETR ($E_k ETR$). Symbols represent the mean ($n = 4$) \pm SD, except for α_{ETR} and $E_k ETR$ for *Corallina officinalis* at 30 °C (mean \pm SD but $n = 3$). No data for α_{ETR} and $E_k ETR$ for *Bossiella orbigniana* at 35 °C.

Figura 2. Eficiencia fotoquímica máxima y parámetros fotosintéticos que describen la curva entre la tasa de transporte de electrones (ETR, por sus siglas en inglés) vs. irradiancia en función de la temperatura en las algas coralinas estudiadas. **(a)** Eficiencia fotoquímica máxima (F_v/F_m), **(b)** tasa máxima de transporte de electrones (ETR_{max}), **(c)** pendiente inicial de la curva ETR vs. irradiancia (α_{ETR}) y **(d)** irradiancia de saturación del ETR ($E_k ETR$). Los símbolos representan la media ($n = 4$) \pm desviación estándar, excepto α_{ETR} y $E_k ETR$ para *Corallina officinalis* a 30 °C (media \pm desviación estándar, pero $n = 3$). No hay datos para α_{ETR} y $E_k ETR$ para *Bossiella orbigniana* a 35 °C.

Table 2. Average (\pm SD) photosynthesis (P_{\max}) to dark respiration (R_D) ratios (P:R) and metabolic quotients (Q_{10}) for the studied coralline algae. N/A indicates a lack of a linear association within the given temperature range. See methods for details.

Tabla 2. Medias (\pm desviación estándar) para las razones fotosíntesis (P_{\max}) a respiración en oscuridad (R_D) (P:R) y cocientes metabólicos (Q_{10}) para las algas coralinas estudiadas. N/A indica una falta de asociación lineal para el intervalo de temperaturas dado. Ver los métodos para los detalles.

Descriptor	Temperature/ Range ($^{\circ}$ C)	<i>Lithothrix aspergillum</i>	<i>Corallina officinalis</i>	<i>Bosiella orbigniana</i>
P:R	10	7.20 \pm 2.50	13.83 \pm 7.40	13.21 \pm 9.50
	15	8.33 \pm 2.02	8.72 \pm 2.50	8.56 \pm 1.60
	20	8.63 \pm 1.20	5.02 \pm 1.70	5.45 \pm 0.76
	25	7.08 \pm 0.75	2.67 \pm 0.50	6.67 \pm 2.99
	30	4.01 \pm 0.69	1.75 \pm 0.37	1.39 \pm 0.46
	35	1.01 \pm 0.01	0.98 \pm 0.02	1.02 \pm 0.48
$Q_{10} P_{\max}$	10–20	3.14	3.09	1.63
	15–25	2.07	1.21	1.48
	20–30	1.40	N/A	N/A
$Q_{10} R_D$	10–20	2.43	7.79	2.84
	15–25	2.38	4.05	2.13
	20–30	3.07	1.66	3.81
	25–35	2.64	1.27	N/A

enzymatic machinery compared to photosynthetic protein complexes or/and increased respiratory activity as a stress response (Atkin and Tjoelker 2003, Guy-Haim et al. 2016). However, the coralline algal photosynthetic rates were not able to increase in the same manner above 25 $^{\circ}$ C. In contrast, decreased P_{\max} at the thermal limits (10 and 35 $^{\circ}$ C) corresponds to the suboptimal and sublethal portions of the performance curve, typically limited by the amount of enzymes and their activity (Atkin and Tjoelker 2003, Eggert 2012). Other processes, such as photodamage, may have been induced under elevated temperatures (30 and 35 $^{\circ}$ C), which has been explained as the result of increased light stress, resulting in strong photoinhibition and pigmentation loss (bleaching) (Martin and Gattuso 2009, Martone et al. 2010, Vásquez-Elizondo and Enríquez 2016). Saturation irradiances also decreased at higher temperatures, corroborating that light stress may play an important role in the impairment of photosynthesis during thermal stress. Temperatures of 30–35 $^{\circ}$ C are above the local thermal regime, but algae might experience these sudden periods of thermal stress on sunny days in the intertidal, which may explain the observed bleaching in other corallines in warmer seasons (Foster et al. 1997, Martone et al. 2010).

2016). La actividad fotosintética óptima y las mayores P:R ocurrieron en un intervalo de temperatura que corresponde al régimen local anual, \sim 13 $^{\circ}$ C en invierno y \sim 22 $^{\circ}$ C en verano (Peña-Manjarrez 2009). Los valores máximos de la P_{\max} ocurrieron a mayores temperaturas (25–30 $^{\circ}$ C), pero las razones P:R y el F_v/F_m se encontraban ya comprometidas, lo que indica que el crecimiento óptimo ocurre a temperaturas más bajas. Las respuestas observadas pueden, además, reflejar la capacidad de la maquinaria metabólica para responder rápidamente a los cambios térmicos sin comprometer el desempeño.

Tanto la fotosíntesis como la respiración son procesos mediados por enzimas que pueden estar limitados por la disponibilidad de sustrato, y sus tasas pueden incrementarse a medida que se incrementa la temperatura dentro de un intervalo óptimo de una manera predecible (i.e., Q_{10}). Este estudio sugiere que la P_{\max} y la respiración están fuertemente reguladas por la temperatura y se caracterizan, además, por cocientes metabólicos Q_{10} distintos (ver Newell y Pye 1968). Los mayores valores del Q_{10} , observados en *L. aspergillum*, pueden indicar una mejor adaptación a las variaciones térmicas ya que también los P:R permanecieron relativamente altos a 25 y 30 $^{\circ}$ C, mientras que los Q_{10} más bajos

The observed species-specific responses are consistent with the photoadaptation of the algae: *L. aspergillum* does not experience drastic reductions in its carbon balance under thermal changes and has a rather high light adaptation (highest metabolic rates and E_k), while *C. officinalis* and *B. orbigniana* show a low light adaptation (lowest metabolic rates and E_k). Coralline algae belong to 2 of 3 main carotenoid profile groups in red algae (lutein and antheraxanthin groups) according to their carotenoid composition, which determines their photoprotection mechanism. The lutein group (*L. aspergillum*) is characterized by rapid downregulation mechanisms (efficient photoprotection), whereas the antheraxanthin group (*B. orbigniana* and *C. officinalis*) is characterized by slow kinetics of F_v/F_m , which is not related to D1 repair (photoinhibition) and is efficient but with slow relaxation (Schubert and García-Mendoza 2008). Such differences may also account for the variance observed in this study. The increased sensitivity of low-light-adapted species in comparison with high-light-adapted species has previously been documented. For example, a linear increase in P_{max} and respiration was reported for several moderate and high-light-adapted red algal species, including coralline algae (Cabello-Pasini et al. 2003, Vásquez-Elizondo and Enríquez 2016, Borlongan et al. 2017). In contrast, subtidal algae with low-light adaptation showed optimal activity in a narrower temperature range (Borlongan et al. 2020). Longer exposure times to elevated temperatures and global warming scenarios have yielded diverse responses in coralline algae, but responses also depend on the seasonal acclimation of the algae. For example, *Ellisolandia elongata* and *Lithophyllum incrustans* increased photosynthesis with increasing temperature (+3 °C) in winter and summer (Legrand et al. 2018). Similarly, *C. officinalis* physiology increased during summer in short-term (days) exposure to simulated heatwaves and global change scenarios, whereas longer exposure periods had adverse effects (Rendina et al. 2019). In another study, the photosynthetic activity of high-light-adapted *C. officinalis* was insensitive to 10 days of temperature changes from 20 to 31 °C, but at higher temperatures, its performance broke down (Guy-Haim et al. 2016). Although the responses observed here may consistently be attributed to physiological adaptations, we cannot rule out that morphological differences (and their implied constraints) among species may have an important impact, which needs to be further explored in future studies.

In this study, a linear association between GPS and ETR was observed under optimal temperatures for photosynthesis. To our knowledge, this is the first study combining simultaneous oxygen evolution and ETR in relation to temperature in coralline algae. However, Sordo et al. (2020), using a single temperature incubation, found a strong association between the GPS and the relative ETR of the rhodolith *P. lusitanicum*. The responses of the parameters derived from the ETR–irradiance curve are generally well-correlated with the oxygen evolution measurements, but the maximum values of the ETR

(*B. orbigniana* y *C. officinalis*) pueden atribuirse a una limitación de sustrato (Eggert 2012) y/o menor tolerancia térmica. En estas 2 últimas especies, sin embargo, la R_D se incrementó más rápido que la P_{max} , lo que indica un desbalance entre las ganancias y las pérdidas de carbono a temperaturas elevadas, así como también una producción de ácidos orgánicos y carbohidratos en vez de solo carbohidratos (Guy-Haim et al. 2016). El incremento lineal de la R_D sugiere una mayor tolerancia térmica de la maquinaria enzimática respiratoria si se comparara con de los complejos proteicos fotosintéticos y/o a un incremento de dicha actividad como una respuesta frente al estrés (Atkin y Tjoelker 2003, Guy-Haim et al. 2016). No obstante, las tasas fotosintéticas de las algas corallinas no fueron capaces de incrementarse de la misma forma por encima de los 25 °C. En contraste, el decremento de la P_{max} en los límites térmicos (10 y 35 °C) corresponde a las regiones subóptimas y subletales de la curva de desempeño, que típicamente están limitadas por la cantidad de enzimas y su actividad (Atkin y Tjoelker 2003, Eggert 2012). Otros procesos, como el fotodaño, pudieron haber sido inducidos a temperaturas elevadas (30 y 35 °C), que ha sido explicado como una respuesta a un incremento del estrés lumínico y que resulta en una fuerte fotoinhibición y pérdida de pigmentación (blanqueamiento) (Martin y Gattuso 2009, Martone et al. 2010, Vásquez-Elizondo y Enríquez 2016). Las irradiancias de saturación también decrecieron a temperaturas altas, lo que corrobora el hecho de que el estrés lumínico juega un papel importante en la disrupción de la fotosíntesis durante el estrés térmico. Las temperaturas de 30–35 °C se encuentran por encima del régimen local; aun así, las algas pueden experimentar estos cambios repentinos en días muy soleados en el intermareal, lo que pudiera explicar el blanqueamiento de otras algas corallinas en temporadas cálidas (Foster et al. 1997, Martone et al. 2010).

Las respuestas específicas observadas son consistentes con la fotoadaptación de las algas: *L. aspergillum* no sufrió reducciones drásticas en su balance de carbono con los cambios térmicos y presenta una adaptación a alta luz (mayores tasas metabólicas y E_k), mientras que *C. officinalis* y *B. orbigniana* presentan una adaptación a baja luz (bajas tasas metabólicas y E_k). Las algas corallinas pertenecen, de acuerdo con su composición de carotenoides, a 2 de los 3 grupos principales de perfiles de carotenoides presentes en algas rojas (grupos de luteína y antheraxantina) que determinan sus mecanismos de fotoprotección. El grupo de la luteína (*L. aspergillum*) se caracteriza por mecanismos rápidos de regulación a la baja (fotoprotección eficiente), mientras que el grupo de la antheraxantina (*B. orbigniana* y *C. officinalis*) se caracterizan por cinéticas lentas del F_v/F_m , no relacionadas a la reparación de la proteína D1 (fotoinhibición) y, aunque eficientes, son de relajación lenta (Schubert y García-Mendoza 2008). Estas diferencias pueden también explicar parte de la variación observada en este estudio. La sensibilidad mayor de las especies adaptadas a baja luz, en comparación con aquellas adaptadas a alta luz, ya se ha documentado anteriormente. Por

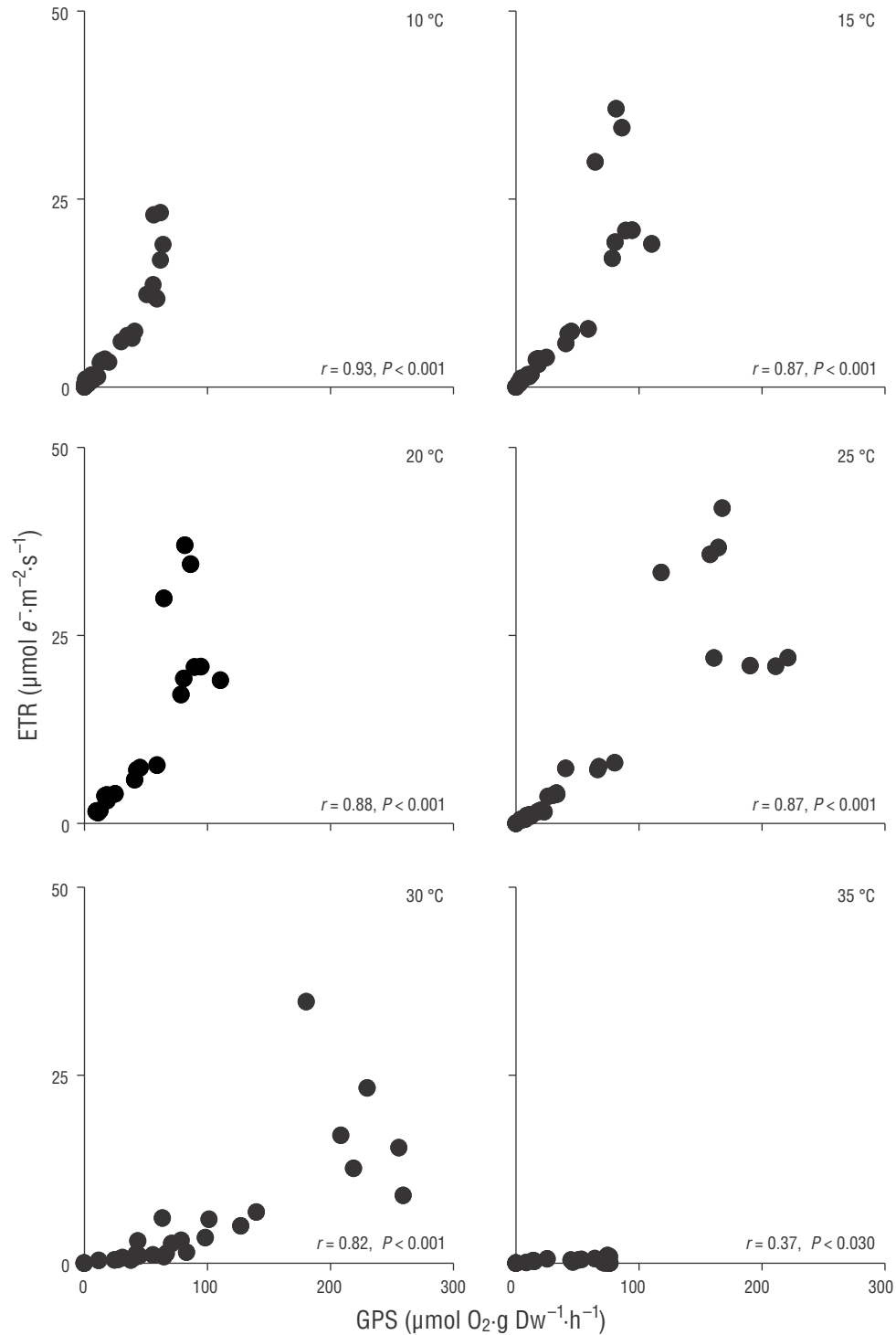


Figure 3. Association between gross photosynthesis (GPS) and the electron transport rate (ETR) in *Lithothrix aspergillum* as a function of temperature. The *P* value indicates the significance of the Pearson product-moment analysis ($n = 32$ per temperature treatment).

Figura 3. Asociación entre la fotosíntesis bruta (GPS, por sus siglas en inglés) y la tasa de transporte de electrones (ETR, por sus siglas en inglés) en *Lithothrix aspergillum* en función de la temperatura. Los valores de *P* indican la significancia de las correlaciones de Pearson ($n = 32$ por tratamiento de temperatura).

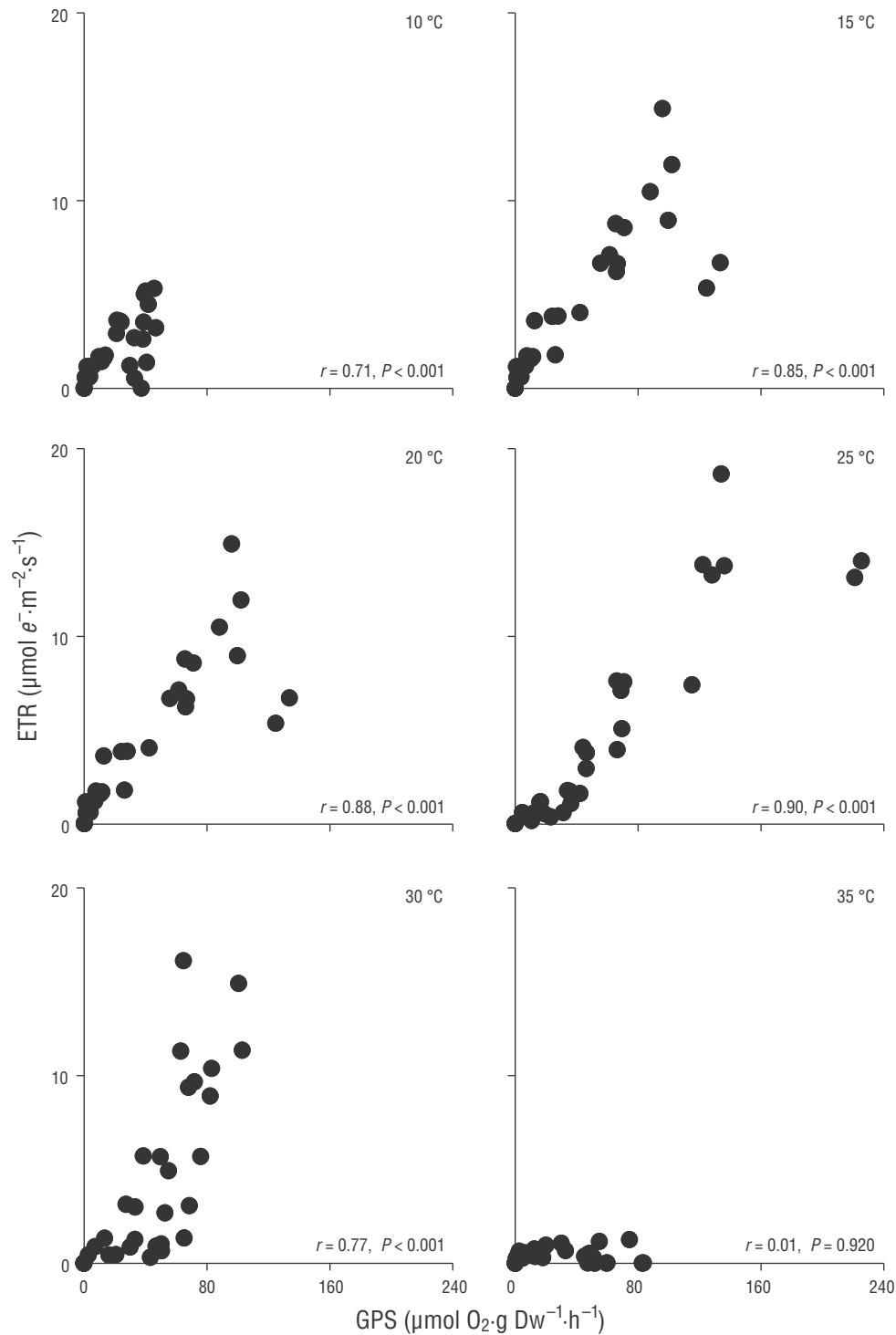


Figure 4. Association between gross photosynthesis (GPS) and the electron transport rate (ETR) in *Corallina officinalis* as a function of temperature. The *P* value indicates the significance of the Pearson product-moment analysis ($n = 32$ per temperature treatment, except $30\text{ }^{\circ}\text{C} = 24$).

Figura 4. Asociación entre la fotosíntesis bruta (GPS, por sus siglas en inglés) y la tasa de transporte de electrones (ETR, por sus siglas en inglés) en *Corallina officinalis* en función de la temperatura. Los valores de *P* indican la significancia de las correlaciones de Pearson ($n = 32$ por tratamiento de temperatura, excepto $30\text{ }^{\circ}\text{C} = 24$).

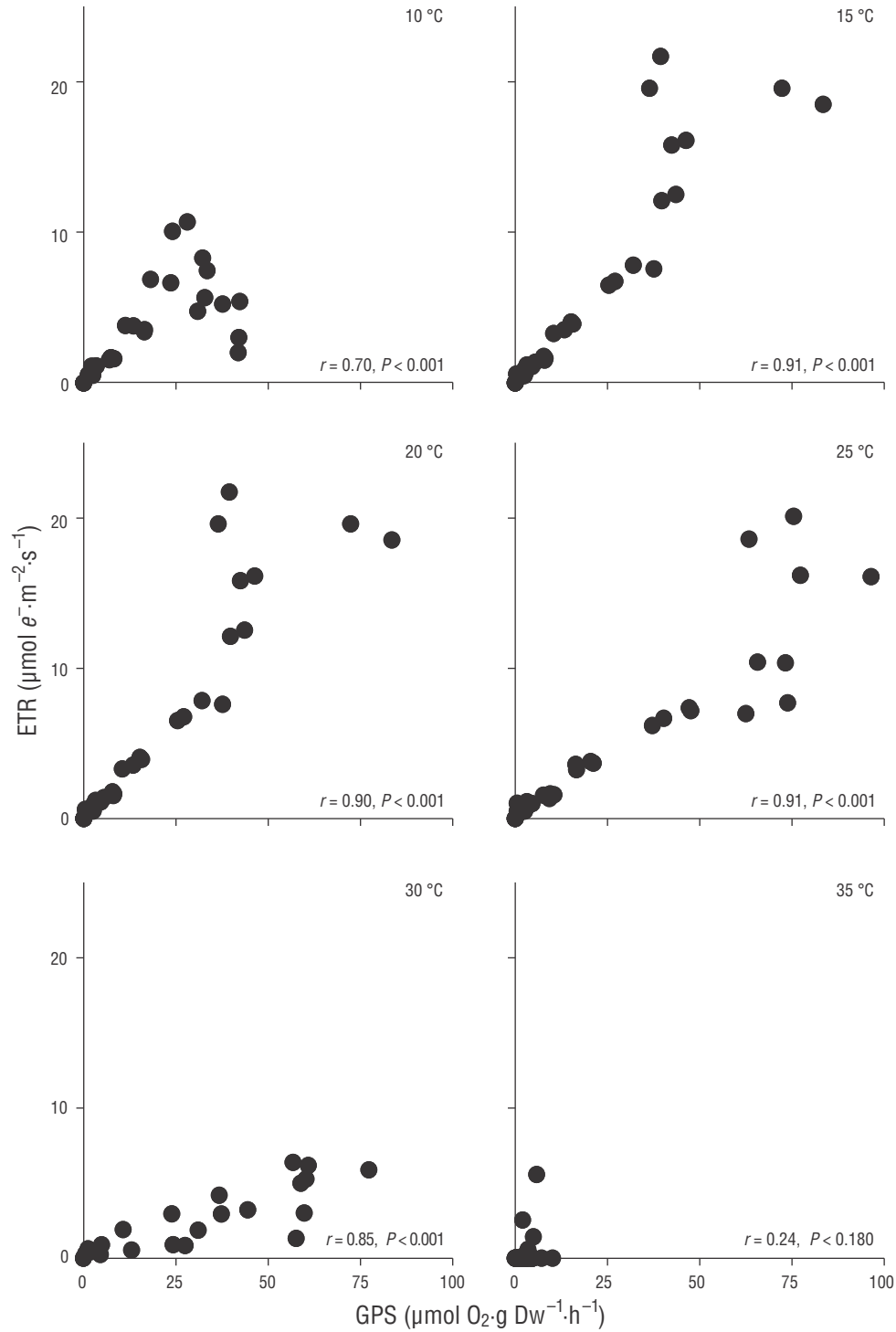


Figure 5. Association between gross photosynthesis (GPS) and the electron transport rate (ETR) in *Bossiella orbigniana* as a function of temperature. The *P* value indicates the significance of the Pearson product-moment analysis ($n = 32$ per temperature treatment).

Figura 5. Asociación entre la fotosíntesis bruta (GPS, por sus siglas en inglés) y la tasa de transporte de electrones (ETR, por sus siglas en inglés) en *Bossiella orbigniana* en función de la temperatura. Los valores de *P* indican la significancia de las correlaciones de Pearson ($n = 32$ por tratamiento de temperatura).

parameters were shifted by 5 °C toward lower temperatures when compared to the oxygen evolution parameters. Moreover, at 35 °C, the fluorescence signal ($\Delta F/F_m'$) was almost undetectable, while oxygen evolution still showed activity. In agreement with these results, Hofmann et al. (2012) found a discrepancy between ETR and oxygen evolution parameters for *C. officinalis*, but only under pH stress. In contrast, a constant relationship between the oxygen and ETR light curve-derived parameters was found for *Chondrus crispus*, *Ulva lactuca*, and *M. pyrifera* (Cabello-Pasini et al. 2000, Cabello-Pasini and Figueroa 2005, Colombo-Pallotta et al. 2006), but temperature was not tested. Moreover, this linearity between ETR and GPS was observed at non-saturating irradiances (below 200 $\mu\text{mol quanta}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), which also depend on temperature. This is similar to previous results for other macroalgae and seagrasses (see introduction), but exceptions to this also have been reported (Franklin and Badger 2001, Carr and Bjork 2003, Colombo-Pallotta et al. 2006). Theoretically, the evolution of 1 mol of oxygen releases the flux of 4 electrons needed for carbon fixation, and consequently, a linearity between GPS and ETR is expected to occur (Edwards and Baker 1993). In our approach, we were unable to accurately estimate such a ratio since we used different standardizations for GPS and ETR; therefore, our interpretation is limited to qualitatively assessing both the correlation between GPS and ETR and its sources of variation. The loss of linearity under light saturation (this and other studies) has been explained by the co-occurrence of different electron sinks in excess light to promote photoprotection, such as the Mehler reaction, cyclic electron flow, and photorespiration (Longstaff et al. 2002, Cabello-Pasini and Figueroa 2005). This may be particularly important for red algae lacking a xanthophyll cycle as a main photoprotection mechanism (Schubert and García-Mendoza 2008). An increase in enzymatic activity related to nitrogen assimilation has also been identified as a source of variation within the ETR and GPS relationship (Carr and Bjork 2003, Cabello-Pasini and Figueroa 2005). This might have occurred during periods of optimal performance in this study (20–25 °C), as nutrient uptake increases as a function of temperature.

Under light saturation, high variability in the association between ETR and GPS might also be related to the characteristic presence of phycobiliproteins in red algae and cyanobacteria (Falkowski and Raven 2007). The movement of these complexes along the photosynthetic membranes during and after illumination has strong consequences on the absorption cross section of PSII, which may change the fluorescence signal (Schubert et al. 2011). Indeed, the utility of the classic F_v/F_m approach to estimate photosynthetic electron transport in the coralline *Neogoniolithon* sp. was found to be unsuitable due to discrepancies between variable fluorescence, non-photochemical quenching, and oxygen evolution, particularly under light stress (Gefen-Treves et al. 2020). In this study, prior to illumination, F_v/F_m had already significantly decreased at 30 and 35 °C, a reduction typically preceded by

ejemplo, un incremento lineal de la P_{max} y la respiración fue reportado para especies de algas rojas adaptadas a alta luz y luz moderada, incluidas las algas coralinas (Cabello-Pasini et al. 2003, Vásquez-Elizondo y Enríquez 2016, Borlongan et al. 2017). En contraste, las algas submareales adaptadas a baja luz mostraron una actividad óptima en un intervalo de temperaturas mucho más estrecho (Borlongan et al. 2020). La exposición de plazos más largos a temperaturas elevadas y los escenarios de cambio climático han dado como resultado diversas respuestas en las algas coralinas, pero las respuestas dependen de la aclimatación estacional del alga. Por ejemplo, *Ellisolandia elongata* y *Lithophyllum incrustans* incrementaron su fotosíntesis con el incremento de temperatura (+3 °C) en verano y en invierno (Legrand et al. 2018). De manera similar, la fisiología de *C. officinalis* se incrementó durante el verano en exposiciones a corto plazo (días) a ondas de calor y escenarios de calentamiento global simulados, mientras que las exposiciones más prolongadas tuvieron efectos adversos (Rendina et al. 2019). En otro estudio, la actividad fotosintética de *C. officinalis* adaptada a alta luz fue insensible a 10 días de exposición a cambios de temperatura de los 20 °C a los 31 °C, pero a temperatura más altas hubo una ruptura de su desempeño (Guy-Haim et al. 2016). A pesar de que las respuestas observadas en el presente estudio pueden ser consistentemente atribuidas a las adaptaciones fisiológicas de las especies, no se puede descartar que las distintas morfologías (y sus limitantes implícitas) pueden tener un impacto importante sobre dichas respuestas, y es algo que necesita ser explorado en estudios a futuro.

En este estudio se encontró una asociación lineal entre la FSB y la TTE a temperaturas óptimas para la fotosíntesis. Este es el primer estudio que combina determinaciones simultáneas de evolución de oxígeno y TTE en función de la temperatura para las algas coralinas. Sin embargo, utilizando una única temperatura de incubación, Sordo et al. (2020) encontraron una fuerte asociación lineal entre la FSB y la TTE relativa del rodolito *P. lusitanicum*. De manera general, las respuestas de los parámetros derivados de las curvas TTE-irradiancia estuvieron bien relacionados con aquellos derivados de las determinaciones de la evolución de oxígeno, pero los valores máximos de las TTE se desplazaron por 5 °C hacia las temperaturas más bajas en comparación con los parámetros de la evolución de oxígeno. Además, a 35 °C, la señal de la fluorescencia ($\Delta F/F_m'$) fue casi indetectable, mientras que la evolución de oxígeno mostraba actividad. En consistencia con este estudio, los resultados de Hofmann et al. (2012) encontraron una discrepancia entre los parámetros derivados de la TTE y la evolución de oxígeno para *C. officinalis*, pero únicamente bajo estrés de pH. En contraste, se observó una relación constante entre los parámetros de la evolución del oxígeno y la curva TTE-irradiancia en *Chondrus crispus*, *Ulva lactuca* y *M. pyrifera* (Cabello-Pasini et al. 2000, Cabello-Pasini y Figueroa 2005, Colombo-Pallotta et al. 2006), aunque la temperatura no fue examinada. Además, la linealidad entre la FSB y TTE ocurrió principalmente por debajo de irradiancias

light stress or a reduction in antenna size, none of which may have occurred with our (dark-adapted) samples. Upon illumination, $\Delta F/F_m'$ was reduced to half of the maximum photochemical efficiency and less than 0.01 under light saturation, resulting in the ETR being indistinguishable from zero. It is likely that thermal stress activates highly efficient mechanisms of heat dissipation, but more information about fluorescence dynamics under light and thermal stress in coralline algae is crucial to corroborate our observations. Accordingly, the use of ETR under such conditions is discouraged, and other chlorophyll *a* fluorescence-derived parameters, such as F_v/F_m or Q (PSII pressure), should be preferred for ecophysiological studies (Maxwell and Johnson 2000, Schubert et al. 2011). Our experimental approach uses 2 closely related parameters useful in macroalgal ecophysiology, but caution must be taken when interpreting growth using the GPS and ETR. Even if a close linear relation is found, their increase does not necessarily translate into thallus biomass gain, and in the case of ETR under certain circumstances, into high photosynthetic activity.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was partially supported by a postdoctoral fellowship awarded to RMVE under the National Council for Science and Technology (CONACYT, Mexico) Program “Estancias Posdoctorales Nacionales 2019, 2020” (CVU 206050). Raquel Muñiz-Salazar, Juan Manuel Lopez-Vivas and Victor Macías are acknowledged for their assistance in the laboratory.

REFERENCES

- Atkin OK, Tjoelker MG. 2003. Thermal acclimation and the dynamic response of plant respiration to temperature. *Trends Plant Sci.* 8(7):343–351.
[https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00136-5](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00136-5)
- Beer S, Axelsson L. 2004. Limitations in the use of PAM fluorometry for measuring photosynthetic rates of macroalgae at high irradiances. *Eur J Phycol.* 39(1):1–7.
<https://doi.org/10.1080/0967026032000157138>
- Borlongan IA, Gerung GS, Kawaguchi S, Nishihara GN, Terada R. 2017. Thermal and PAR effects on the photosynthesis of *Eucheuma denticulatum* and *Kappaphycus striatus* (so-called Sacol strain) cultivated in shallow bottom of Bali, Indonesia. *J Appl Phycol.* 29:395–404.
<https://doi.org/10.1007/s10811-016-0956-7>
- Borlongan IA, Suzuki S, Nishihara GN, Kozono J, Terada R. 2020. Effects of light quality and temperature on the photosynthesis and pigment content of a subtidal edible red alga *Meristotheca papulosa* (Solieriaceae, Gigartinales) from Japan. *J Appl Phycol.* 32(2):1329–1340.
<https://doi.org/10.1007/s10811-020-02045-z>
- Cabello-Pasini A, Aguirre-von-Wobeser E, Figueroa FL. 2000. Photoinhibition of photosynthesis in *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae), *Chondrus crispus* (Rhodophyceae) and *Ulva lactuca* (Chlorophyceae) in outdoor culture systems. *J Photochem Photobiol B.* 57(2–3):169–178.
[https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(00\)00095-6](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(00)00095-6)
- de saturación (debajo de los 200 $\mu\text{mol cuantos}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$), aunque dependía también de la temperatura. Lo anterior es similar a estudios previos de macroalgas y pastos marinos (ver introducción), aunque también se han reportado excepciones a ello (Franklin y Badger 2001, Carr y Bjork 2003, Colombo-Pallotta et al. 2006). Teóricamente, la evolución de 1 mol de oxígeno conlleva al flujo de 4 electrones necesarios para la fijación de carbono, y consecuentemente, ocurre una linealidad entre la FSB y la TTE (Edwards y Baker 1993). En la aproximación utilizada en el presente estudio, fue imposible estimar dicha razón, ya que se utilizaron distintas normalizaciones para la FSB y la TTE; por lo tanto, la interpretación se limita a una evaluación cualitativa tanto de la correlación entre FSB y TTE como de sus fuentes de variación. La pérdida de la linealidad bajo saturación de luz (este estudio y otros) ha sido explicada por la presencia de distintos sumideros de electrones que ocurren simultáneamente y que promueven una fotoprotección, como la reacción de Mehler, el transporte de electrones cíclico y la fotorrespiración (Longstaff et al. 2002, Cabello-Pasini y Figueroa 2005). Esto puede ser particularmente importante para las algas rojas que carecen de ciclo de xantofilas como mecanismo de fotoprotección principal (Schubert y García-Mendoza 2008). El incremento en la actividad enzimática relacionada a la asimilación del nitrógeno también ha sido señalado como una fuente de variación en la relación FSB y TTE (Carr y Bjork 2003, Cabello-Pasini y Figueroa 2005). Lo anterior pudo haber ocurrido en periodos de óptimo desempeño en este estudio (20–25 °C) debido a que la adquisición de nutrientes se incrementa en función de la temperatura.
- La alta variabilidad observada en la asociación entre la FSB y la TTE bajo saturación de luz puede estar también relacionada a la presencia característica de ficobiliproteínas en algas rojas y cianobacterias (Falkowski y Raven 2007). El movimiento de estos complejos proteicos en las membranas fotosintéticas durante y posterior a la iluminación tiene fuerte consecuencias en la absorción transversal del FSII, que resultan en cambios en la señal de fluorescencia (Schubert et al. 2011). De hecho, la utilidad de la aproximación clásica del F_v/F_m para estimar el transporte de electrones en el alga coralina *Neogoniolithon* sp. no es apropiada dadas las fuertes discrepancias entre la fluorescencia variable, la disipación no fotoquímica y la evolución de oxígeno, particularmente bajo estrés lumínico (Gefen-Treves et al. 2020). En este estudio, antes de la iluminación, el F_v/F_m había ya disminuido considerablemente a los 30 y 35 °C, reducción típica que precede a un estrés lumínico o una reducción en el tamaño de la antena, condiciones que no ocurrieron en las muestras (adaptadas a oscuridad). Durante la iluminación, la $\Delta F/F_m'$ se redujo a la mitad de la eficiencia fotoquímica máxima y fue de menos de 0.01 en saturación de luz, lo que resultó en valores de TTE no diferentes de cero. Es probable que el estrés térmico haya activado mecanismos altamente eficientes de disipación de calor, pero se necesita más información relacionada a la dinámica de fluorescencia bajo estrés lumínico y térmico en las algas

- Cabello-Pasini A, Figueroa FL. 2005. Effect of nitrate concentration on the relationship between photosynthetic oxygen evolution and electron transport rate in *Ulva rigida* (Chlorophyta). *J Phycol.* 41(6):1169–1177.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2005.00144.x>
- Cabello-Pasini A, Muñoz-Salazar R, Ward DH. 2004. Caracterización bioquímica del pasto marino *Zostera marina* en el límite sur de su distribución en el Pacífico Norte = Biochemical characterization of the eelgrass *Zostera marina* at its southern distribution limit in the North Pacific. *Cienc Mar.* 30(1A):21–34.
<https://doi.org/10.7773/cm.v30i1.123>
- Cabello-Pasini A, Zertuche-González JA, Pacheco-Ruiz I. 2003. Photosynthesis, growth and nitrogen uptake of competing marine macrophytes in the Gulf of California. *Bot Mar.* 46(6).
<https://doi.org/10.1515/BOT.2003.052>
- Carr H, Bjork M. 2003. A methodological comparison of photosynthetic oxygen evolution and estimated electron transport rate in tropical *Ulva* (Chlorophyceae) species under different light and inorganic carbon conditions. *J Phycol.* 39(6):1125–1131.
<https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.2003.02-077.x>
- Chisholm JRM. 2000. Calcification by crustose coralline algae on the northern Great Barrier Reef, Australia. *Limnol Oceanogr.* 45(7):1476–1484.
<https://doi.org/10.4319/lo.2000.45.7.1476>
- Colombo-Pallotta MF, Garcia-Mendoza E, Ladah LB. 2006. Photosynthetic performance, light absorption, and pigment composition of *Macrocystis pyrifera* (Laminariales, Phaeophyceae) blades from different depths. *J Phycol.* 42(6):1225–1234.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00287.x>
- Díaz-Pulido G, Anthony KRN, Kline DI, Dove S, Hoegh-Guldberg O. 2012. Interactions between ocean acidification and warming on the mortality and dissolution of coralline algae. *J Phycol.* 48(1):32–39.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.01084.x>
- Edwards GE, Baker NR. 1993. Can CO₂ assimilation in maize leaves be predicted accurately from chlorophyll fluorescence analysis? *Photosynth Res.* 37:89–102.
<https://doi.org/10.1007/bf02187468>
- Eggert A. 2012. Seaweed Responses to Temperature. In: Wiencke C, Bischof K (eds.), *Seaweed Biology: Novel Insights into Ecophysiology, Ecology and Utilization*. Berlin, Heidelberg (Germany): Springer. 47–66.
https://doi.org/10.1007/978-3-642-28451-9_3
- Falkowski PG, Raven JA. 2007. *Aquatic Photosynthesis*. United States of America: Princeton University Press. 512 p.
- Figueroa FL, Conde-Álvarez R, Gómez I. 2003. Relations between electron transport rates determined by pulse amplitude modulated chlorophyll fluorescence and oxygen evolution in macroalgae under different light conditions. *Photosynth Res.* 75:259–275.
<https://doi.org/10.1023/A:1023936313544>
- Foster MS. 2001. Rhodoliths: between rocks and soft places. *J Phycol.* 37(5):659–667.
<https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.00195.x>
- Foster MS, Riosmena-Rodríguez R, Steller DL, Woelkerling WJ. 1997. Living rhodoliths beds in the Gulf of California and their implications for paleoenvironmental interpretation. *Spec Pap Geol Soc Am.* 318:127–139.
<https://doi.org/10.1130/0-8137-2318-3.127>
- Franklin LA, Badger MR. 2001. A comparison of photosynthetic electron transport rates in macroalgae measured by pulse amplitude modulated chlorophyll fluorometry and mass spectrometry. *J Phycol.* 37(5):756–767.
<https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.00156.x>
- coralinas para corroborar estas observaciones. Conforme a esto, el uso de la TTE bajo las condiciones descritas no es recomendado, y se deben preferir otros parámetros derivados de la fluorescencia de la clorofila *a*, como el F_v/F_m o *Q* (presión sobre el FSII), para estudios ecofisiológicos (Maxwell y Johnson 2000, Schubert et al. 2011). La aproximación experimental utilizada se centra en 2 parámetros útiles en estudios ecofisiológicos de macroalgas; no obstante, se debe tener precaución al interpretarlos utilizando la FSB y la TTE. Inclusive, aún si se encuentra una relación lineal, su incremento no necesariamente indica incremento de biomasa, y en el caso de la TTE, bajo ciertas circunstancias, actividad fotosintética elevada.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue parcialmente apoyado por una beca posdoctoral a RMVE bajo el programa “Estancias Posdoctorales Nacionales 2019, 2020” del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT, México) (CVU 206050). Se agradece a Raquel Muñoz-Salazar, Juan Manuel Lopez-Vivas y Victor Macías su ayuda en el laboratorio durante el desarrollo de este trabajo.

- Gefen-Treves S, Kedem I, Weiss G, Wagner D, Tchernov D, Kaplan A. 2020. Acclimation of a rocky shore algal reef builder *Neogoniolithon* sp. to changing illuminations. *Limnol Oceanogr.* 65(1):27–36.
<https://doi.org/10.1002/lno.11245>
- Guy-Haim T, Silverman J, Raddatz S, Wahl M, Israel A, Rilov G. 2016. The carbon turnover response to thermal stress of a dominant coralline alga on the fast warming Levant coast. *Limnol Oceanogr.* 61(3):1120–1133.
<https://doi.org/10.1002/lno.10279>
- Hofmann LC, Yildiz G, Hanelt D, Bischof K. 2012. Physiological responses of the calcifying rhodophyte, *Corallina officinalis* (L.), to future CO₂ levels. *Mar Biol.* 159(4):783–792.
<https://doi.org/10.1007/s00227-011-1854-9>
- Jernakoff P, Phillips BF, Fitzpatrick JJ. 1993. The diet of post-juvenile western rock lobster, *Panulirus cygnus* George, at Seven Mile Beach, Western Australia. *Aust J Mar Fresh Res.* 44(4):649–655.
<https://doi.org/10.1071/MF9930649>
- Legrand E, Riera P, Bohner O, Coudret J, Schlicklin F, Derrien M, Martin S. 2018. Impact of ocean acidification and warming on the productivity of a rock pool community. *Mar Environ Res.* 136:78–88.
<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2018.02.010>
- Linnane A, Ball B, Munday B, Mercer JP. 2000. On the occurrence of juvenile lobster *Homarus gammarus* in intertidal habitat. *J Mar Biol Assoc UK.* 80(2):375–376.
<https://doi.org/10.1017/S0025315499002039>
- Longstaff BJ, Kildea T, Runcie JW, Cheshire A, Dennison WC, Hurd C, Kana T, Raven JA, Lurkum AWD. 2002. An *in situ* study of photosynthetic oxygen exchange and electron transport rate in the marine macroalga *Ulva lactuca* (Chlorophyta). *Photosynth Res.* 74(3):281–293.
<https://doi.org/10.1023/a:1021279627409>

- Martin S, Castets M-D, Clavier J. 2006. Primary production, respiration and calcification of the temperate free-living coralline alga *Lithothamnion corallioides*. *Aquat Bot.* 85(2):121–128. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2006.02.005>
- Martin S, Gattuso J-P. 2009. Response of Mediterranean coralline algae to ocean acidification and elevated temperature. *Glob Change Biol.* 15(8):2089–2100. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.01874.x>
- Martone PT, Alyono M, Stites S. 2010. Bleaching of an intertidal coralline alga: untangling the effects of light, temperature, and desiccation. *Mar Ecol Prog Ser.* 416:57–67. <https://doi.org/10.3354/meps08782>
- Maxwell K, Johnson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *J Exp Bot.* 51(345):659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>
- Newell RC, Pye VI. 1968. Seasonal variations in the effect of temperature on the respiration of certain intertidal algae. *J Mar Biol Assoc UK.* 48(2):341–348. <https://doi.org/10.1017/s0025315400034536>
- Orzymiski J, Johnsen G, Sakshaug E. 1997. The significance of intracellular self-shading on the biooptical properties of brown, red, and green macroalgae. *J Phycol.* 33(3):408–414. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1997.00408.x>
- Peña-Manjarrez JL, Gaxiola-Castro G, Helenes-Escamilla J. 2009. Environmental factors influencing the variability of *Lingulodinium polyedrum* and *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae) cyst production = Factores ambientales que influyen en la variabilidad de la producción de quistes de *Lingulodinium polyedrum* y *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae). *Cienc Mar.* 35(1):1–14. <https://doi.org/10.7773/cm.v35i1.1406>
- Rendina F, Bouchet PJ, Appolloni L, Russo GF, Sandulli R, Kolzenburg R, Putra A, Ragazzola F. 2019. Physiological response of the coralline alga *Corallina officinalis* L. to both predicted long-term increases in temperature and short-term heatwave events. *Mar Environ Res.* 150:104764. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.104764>
- Schreiber U. 2004. Pulse-Amplitude-Modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: An overview. In: Papageorgiou GC, Govindjee (eds.), *Chlorophyll a Fluorescence. Advances in Photosynthesis and Respiration* Vol. 19. Dordrecht (Netherlands): Springer Netherlands. 279–319. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-3218-9_11
- Schubert N, García-Mendoza E. 2008. Photoinhibition in red algal species with different carotenoid profiles. *J Phycol.* 44(6):1437–1446. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00590.x>
- Schubert N, García-Mendoza E, Enríquez S. 2011. Is the photo-acclimatory response of Rhodophyta conditioned by the species carotenoid profile? *Limnol Oceanogr.* 56(6):2347–2361. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.6.2347>
- Sordo L, Santos R, Barrote I, Freitas C, Silva J. 2020. Seasonal photosynthesis, respiration, and calcification of a temperate maërl bed in southern Portugal. *Front Mar Sci.* 7:136. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00136>
- Steller DL, Riosmena-Rodríguez R, Foster MS, Roberts CA. 2003. Rhodolith bed diversity in the Gulf of California: the importance of rhodolith structure and consequences of disturbance. *Aquatic Conserv: Mar Freshw Ecosyst.* 13(S1):S5–S20. <https://doi.org/10.1002/aqc.564>
- Vásquez-Elizondo RM, Legaria-Moreno L, Perez-Castro MÁ, Krämer WE, Scheufen T, Iglesias-Prieto R, Enriquez S. 2017. Absorbance determinations on multicellular tissues. *Photosynth Res.* 132:311–324. <https://doi.org/10.1007/s11120-017-0395-6>
- Vásquez-Elizondo RM, Enriquez S. 2016. Coralline algal physiology is more adversely affected by elevated temperature than reduced pH. *Sci Rep.* 6:19030. <https://doi.org/10.1038/srep19030>
- Vásquez-Elizondo RM, Enriquez S. 2017. Light absorption in coralline algae (Rhodophyta): A morphological and functional approach to understanding species distribution in a coral reef lagoon. *Front Mar Sci.* 4:297. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00297>
- Webster NS, Soo R, Cobb R, Negri AP. 2011. Elevated seawater temperature causes a microbial shift on crustose coralline algae with implications for the recruitment of coral larvae. *ISME J.* 5:759–770. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.152>
- Williamson CJ, Perkins R, Voller M, Yallop ML, Brodie J. 2017. The regulation of coralline algal physiology, an IN SITU study of *Corallina officinalis* (Corallinales, Rhodophyta). *Biogeosciences.* 14(19):4485–4498. <https://doi.org/10.5194/bg-14-4485-2017>

Received 12 March 2021,
accepted 28 August 2021.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

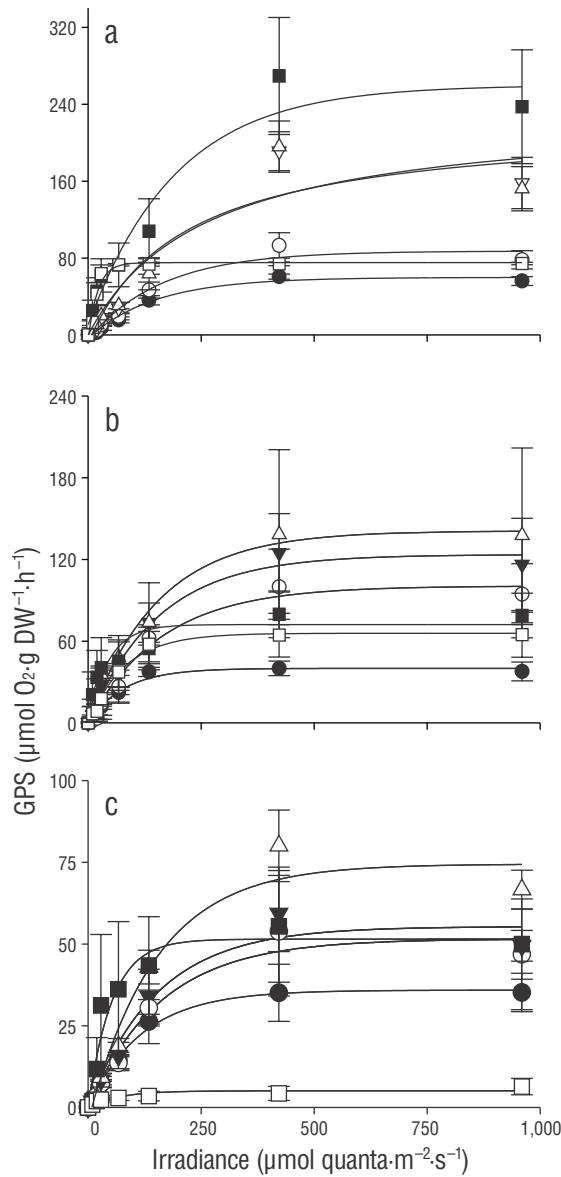


Figure S1. Photosynthesis (oxygen evolution) vs. irradiance curves in the studied coralline algae as a function of temperature (10–35 °C). (a) *Lithothrix aspergillum*, (b) *Corallina officinalis*, and (c) *Bossiella orbigniana*. Symbols represent the mean ($n = 4$) \pm SD. Error bars not shown are smaller than symbol size. Note the different scale of the y-axis used for each species.

Figura S1. Curvas de fotosíntesis (evolución de oxígeno) vs. irradiancia en las algas coralinas estudiadas en función de la temperatura (10–35 °C). (a) *Lithothrix aspergillum*, (b) *Corallina officinalis* y (c) *Bossiella orbigniana*. Los símbolos representan la media ($n = 4$) \pm desviación estándar. Las barras de error que no se muestran son menores que el tamaño del símbolo. Nótese que la escala del eje y es distinta para cada especie.

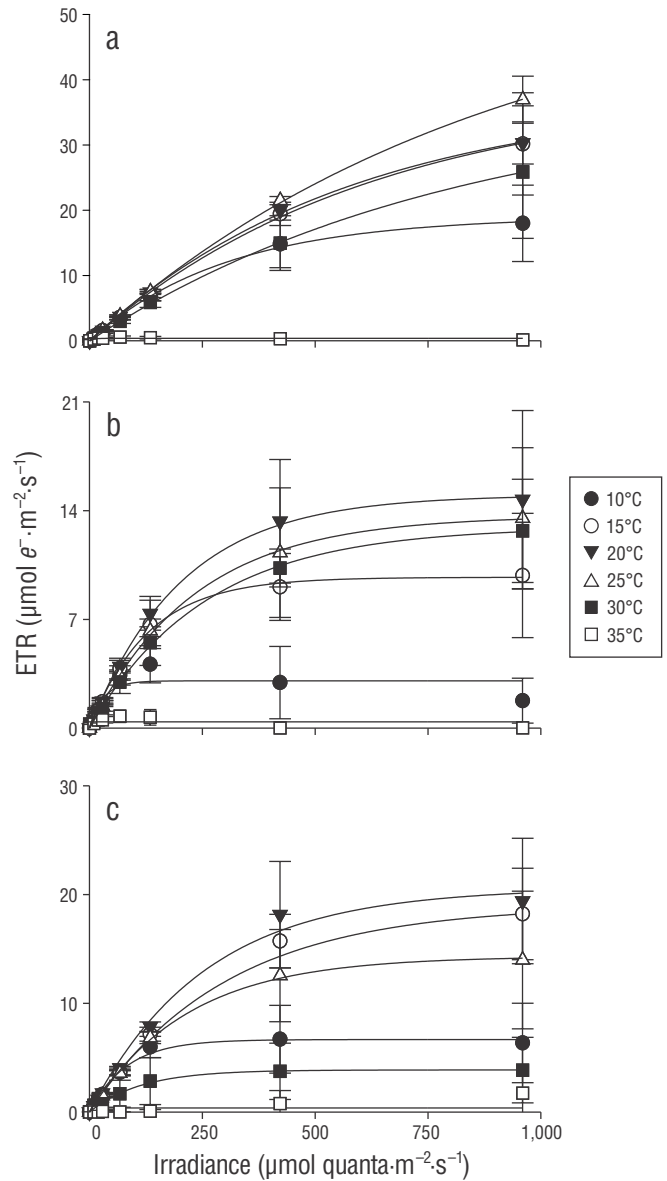


Figure S2. Electron transport rate vs. irradiance curves in the studied coralline algae as a function of temperature. (a) *Lithothrix aspergillum*, (b) *Corallina officinalis*, and (c) *Bossiella orbigniana*. Symbols represent the mean ($n = 4$) \pm SD. Error bars not shown are smaller than symbol size. Note the different scale of the y-axis used for each species.

Figura S2. Curvas de tasa de transporte de electrones vs. irradiancia en las algas coralinas estudiadas en función de la temperatura. (a) *Lithothrix aspergillum*, (b) *Corallina officinalis* y (c) *Bossiella orbigniana*. Los símbolos representan la media ($n = 4$) \pm desviación estándar. Las barras de error que no se muestran son menores que el tamaño del símbolo. Nótese que la escala del eje y es distinta para cada especie.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Table S1. Pairwise multiple comparisons (*t* tests) between different temperature treatments and photosynthetic descriptors in the studied coral-line algae. Abbreviations: P_{max} , maximum photosynthesis rate; R_D , dark respiration; α , initial slope of the photosynthesis vs. irradiance curve; E_k saturation irradiance; P:R, photosynthesis to respiration ratio; F_v/F_m , maximum photochemical efficiency; ETR_{max} , maximum electron transport rate; α_{ETR} , initial slope of the ETR vs. irradiance curve; and E_{kETR} , saturation irradiance for the ETR. See main text for details (Table 2). Significant differences are indicated with different superscript letters. No data for α_{ETR} and E_{kETR} for 35 °C in *Bossiella orbigniana*.

Tabla S1. Comparaciones (pruebas *t*) entre los distintos tratamientos de temperatura y los parámetros fotosintéticos de las algas coralinas estudiadas. Abreviaciones: P_{max} , tasa máxima de fotosíntesis; R_D , respiración en oscuridad; α , pendiente inicial de la curva fotosíntesis-irradiancia; E_k , irradiancia de saturación; P:R, razón fotosíntesis a respiración; F_v/F_m , eficiencia fotoquímica máxima; ETR_{max} , tasa máxima de transporte de electrones; α_{ETR} , pendiente inicial de la curva ETR vs. irradiancia; y E_{kETR} , irradiancia de saturación del ETR. Ver el texto principal para los detalles (Tabla 2). Las diferencias significativas están indicadas con letras distintas en superíndice. Sin datos para α_{ETR} y E_{kETR} a 35 °C para *Bossiella orbigniana*.

	Oxygen evolution	Multiple comparison	Chlorophyll <i>a</i> fluorescence	Multiple comparison
<i>Lithothrix aspergillum</i>	P_{max}^*	10 ^A 15 ^B 20 ^{CD} 25 ^C 30 ^D 35 ^E	F_v/F_m^*	10 ^A 15 ^A 20 ^A 25 ^A 30 ^B 35 ^B
	R_D^*	10 ^A 15 ^A 20 ^B 25 ^B 30 ^C 35 ^C	ETR_{max}	10 ^A 15 ^{AB} 20 ^{AB} 25 ^B 30 ^{AB} 35 ^C
	α^*	10 ^A 15 ^B 20 ^C 25 ^C 30 ^D 35 ^D	α_{ETR}	10 ^A 15 ^A 20 ^A 25 ^A 30 ^A 35 ^B
	E_k	10 ^A 15 ^A 20 ^{BC} 25 ^B 30 ^{AC} 35 ^D	E_{kETR}	10 ^{AB} 15 ^A 20 ^A 25 ^A 30 ^A 35 ^B
	P:R	10 ^{ABC} 15 ^{AB} 20 ^A 25 ^A 30 ^B 35 ^C		
<i>Corallina officinalis</i>	P_{max}^*	10 ^A 15 ^B 20 ^{BCD} 25 ^B 30 ^C 35 ^D	F_v/F_m^*	10 ^{AB} 15 ^A 20 ^A 25 ^{BC} 30 ^C 35 ^D
	R_D^*	10 ^A 15 ^{BD} 20 ^{CD} 25 ^{CD} 30 ^{BC} 35 ^D	ETR_{max}	10 ^A 15 ^{ABC} 20 ^{ABC} 25 ^{ABC} 30 ^B 35 ^C
	α^*	10 ^A 15 ^B 20 ^B 25 ^{CD} 30 ^C 35 ^{BD}	α_{ETR}^*	10 ^A 15 ^A 20 ^{ABC} 25 ^A 30 ^B 35 ^C
	E_k	ns	E_{kETR}	10 ^{AB} 15 ^{AB} 20 ^A 25 ^A 30 ^A 35 ^B
	P:R*	10 ^A 15 ^A 20 ^B 25 ^C 30 ^D 35 ^E		
<i>Bossiella orbigniana</i>	P_{max}	10 ^A 15 ^{AB} 20 ^{AB} 25 ^B 30 ^{AB} 35 ^C	F_v/F_m	10 ^A 15 ^A 20 ^A 25 ^A 30 ^{AB} 35 ^B
	R_D^*	10 ^A 15 ^B 20 ^C 25 ^C 30 ^D 35 ^{AB}	ETR_{max}	10 ^{AB} 15 ^C 20 ^C 25 ^{AC} 30 ^{AB} 35 ^B
	α^*	10 ^{AB} 15 ^A 20 ^{AB} 25 ^B 30 ^B 35 ^C	α_{ETR}^*	10 ^A 15 ^A 20 ^A 25 ^A 30 ^B
	E_k^*	10 ^A 15 ^B 20 ^B 25 ^B 30 ^A 35 ^A	E_{kETR}	10 ^A 15 ^B 20 ^B 25 ^{AB} 30 ^{AB}
	P:R*	10 ^A 15 ^{AB} 20 ^{AB} 25 ^B 30 ^C 35 ^C		

*Dwass–Steel–Critchlow–Fligner nonparametric test