



Effects of irradiance and nitrate on photosynthesis in the seagrass *Cymodocea nodosa*

Efectos de la irradiación y el nitrato sobre la fotosíntesis en el pasto marino *Cymodocea nodosa*

Alejandro Cabello-Pasini^{1*}, Jose M Sandoval-Gil¹, Raquel Muñoz-Salazar², Víctor Macias-Carranza¹, Félix L Figueroa³

¹ Universidad Autónoma de Baja California, Instituto de Investigaciones Oceanológicas, 22860 Ensenada, Baja California, Mexico.

² Universidad Autónoma de Baja California, Escuela de Ciencias de la Salud, 22800 Ensenada, Baja California, Mexico.

³ Universidad de Málaga, Instituto de Biotecnología y Desarrollo Azul, Centro Experimental Grice Hutchinson, E-29004, Málaga, Spain.

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

ABSTRACT. The effects of temperature, irradiance, and other environmental variables on photosynthesis in seagrasses are well understood. However, little information is available regarding the effects of the nitrate concentration in seawater on the photosynthetic characteristics of marine vegetation. Thus, the aim of this study was to determine the effect of the nitrate concentration in seawater on the effective quantum yield of the seagrass *Cymodocea nodosa*. *Cymodocea nodosa* shoots were incubated under different irradiance levels and with different nitrate concentrations. In contrast, a decrease in transmittance and an exponential increase in the absorbance of the shoots were observed as a function of increasing nitrate levels. Furthermore, the effective quantum yield of photosystem II (Φ_{PSII}) in *C. nodosa* shoots increased exponentially as the nitrate concentration in the media increased. The Φ_{PSII} values in the shoots decreased as irradiance increased and reached minimum values at solar noon or 2 h afterward. However, the decrease of Φ_{PSII} values was 4-fold greater in shoots incubated under full solar radiation (100% natural incident irradiance, E_0) compared to those of shoots incubated with 20% E_0 . The Φ_{PSII} values decreased to almost zero in shoots pre-incubated with no nitrate ($0 \mu\text{M NO}_3^-$), whereas Φ_{PSII} values in shoots pre incubated with 25 and $100 \mu\text{M NO}_3^-$ decreased by approximately 25% of their initial values. Collectively, these results indicate that nitrogen levels in seawater regulate the effective quantum yield values of *C. nodosa*, which suggests that the photosynthetic characteristics of this seagrass might be regulated by fluctuating nitrate levels in the water column such as those that are observed in upwelling regions.

Key words: *Cymodocea nodosa*, in vivo chlorophyll *a* fluorescence, nitrate, photosynthesis, seagrass.

RESUMEN. Los efectos de la temperatura, la irradiancia y otras variables ambientales sobre la fotosíntesis en los pastos marinos son bien conocidos. Sin embargo, existe poca información sobre los efectos del nitrato en el agua marina sobre las características fotosintéticas de los macrofitos marinos. En este estudio, se planteó determinar el efecto de la concentración de nitrato en el agua marina sobre el rendimiento cuántico efectivo del pasto marino *Cymodocea nodosa*. Los haces de *C. nodosa* se incubaron con diferentes concentraciones de nitrato y bajo diferentes niveles de irradiancia. En contraste, hubo una disminución de la transmitancia y un aumento exponencial de la absorbancia de los haces en función del aumento de los niveles de nitrato. Además, el rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II (Φ_{FSII}) en los haces de *C. nodosa* aumentó exponencialmente al aumentar la concentración de nitrato en el medio. Los valores de Φ_{FSII} en los haces disminuyeron a medida que aumentaba la irradiancia y alcanzaron valores mínimos al mediodía solar o 2 h después. Esta disminución en los valores de Φ_{FSII} , sin embargo, fue 4 veces mayor en los haces incubados bajo radiación solar completa (100% de E_0) en comparación con los incubados con 20% de E_0 . Los valores de Φ_{FSII} disminuyeron a casi cero en los haces pre-incubados con $0 \mu\text{M}$ de NO_3^- , mientras que los valores de Φ_{FSII} en los haces pre-incubados con 25 y $100 \mu\text{M}$ de NO_3^- disminuyeron aproximadamente un 25% de sus valores iniciales. Estos resultados indican que los niveles de nitrógeno en el agua marina regulan los valores del rendimiento cuántico efectivo de *C. nodosa*, lo que sugiere que las características fotosintéticas de este pasto marino podrían estar reguladas por los niveles fluctuantes de nitrato en la columna de agua como aquellos observados en las regiones de surgencia.

Palabras clave: *Cymodocea nodosa*, clorofila *a* in vivo, fluorescencia, nitrato, fotosíntesis, pasto marino.



INTRODUCTION

Seagrass meadows play critical ecological roles in tropical and temperate coastal areas and are considered some of the most productive systems within marine environments (Phillips and McRoy 1980). In the Mediterranean Sea, *Cymodocea nodosa* and *Posidonia oceanica* form large meadows and are the dominant vegetation in coastal areas. In Mexico, *Zostera marina* is the principal aquatic vegetation that appears submerged in the coastal lagoons and shallow embayments of the Baja California peninsula and Gulf of California (Muñiz-Salazar et al. 2005). In addition to the importance of shoot and rhizome biomass, seagrass meadows serve as substrates for a large number of seaweeds, invertebrates, and vertebrates (Brito et al. 2005). As with other aquatic plants, seasonal fluctuations in seawater temperature and nutrient availability affect seagrass productivity and biomass and their associated epiphytes. For example, both the aboveground biomass and primary productivity of *C. nodosa* and *Z. marina* decrease in winter due to low seawater temperatures (Cabello-Pasini et al. 2004).

Along with biomass and primary productivity, biochemical components in seaweeds and seagrasses fluctuate in response to environmental conditions. For example, the chlorophyll content in the shoots of *Z. marina* and *C. nodosa* has been found to increase with depth and light limitation (Mazzella and Alberte 1986, Cabello-Pasini et al. 2003). Carbon and nitrogen content in the tissues of marine vegetation also vary based on fluctuations in irradiance, temperature, and the nitrogen concentration in seawater (Cabello-Pasini et al. 2004). Generally, the absorbance of seaweed tissues also varies based on chlorophyll and nitrogen concentrations and irradiance level. Thus, tissue absorbance fluctuates seasonally. However, the means and extent to which tissue absorbance and carbon and nitrogen assimilation are regulated by the nitrate concentration in seawater is not yet well understood in seagrasses, although it has been well established that water-column nitrate and reserve carbon levels activate nitrate reductase activity in *Z. marina* shoots (Touchette and Burkholder 2007).

Photosynthetic rates in plants are generally determined by evaluating oxygen evolution or carbon incorporation into tissues. Over the last 2 decades, fluorometry has proven to be a reliable and effective means to evaluate photosynthetic processes in marine macrophytes (Edwards and Baker 1993; Beer et al. 1998, 2000). Indeed, fluorometric methods that estimate photosynthetic characteristics are noninvasive and much faster than oxygen evolution or carbon incorporation techniques. In particular, pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry of in vivo chlorophyll fluorescence associated with photosystem II (PSII) can be used to monitor the primary reactions of photosynthesis under artificial or natural light conditions (Beer et al. 2000). Empirical studies have shown that the electron transport rate (ETR) is closely correlated with oxygen evolution and CO₂ fixation in C₄ plants

INTRODUCCIÓN

Las praderas de pastos marinos juegan papeles ecológicos críticos en las áreas costeras tropicales y templadas y se consideran de los sistemas más productivos dentro de los ambientes marinos (Phillips y McRoy 1980). En el mar Mediterráneo, *Cymodocea nodosa* y *Posidonia oceanica* forman grandes praderas y son la vegetación dominante en las zonas costeras. En México, *Zostera marina* es la principal vegetación acuática que se encuentra sumergida en las lagunas costeras y ensenadas someras de la península de Baja California y el golfo de California (Muñiz-Salazar et al. 2005). Además de la importancia de la biomasa de brotes y rizomas, las praderas de pastos marinos sirven como sustratos para una gran cantidad de algas, invertebrados y vertebrados (Brito et al. 2005). Al igual que con otras plantas acuáticas, las fluctuaciones estacionales en la temperatura del agua de mar y la disponibilidad de nutrientes afectan la productividad y la biomasa de los pastos marinos y a sus epífitas asociadas. Por ejemplo, tanto la biomasa superficial como la productividad primaria de *C. nodosa* y *Z. marina* disminuyen en invierno debido a las bajas temperaturas del agua de mar (Cabello-Pasini et al. 2004).

Junto con la biomasa y la productividad primaria, los componentes bioquímicos de las algas marinas y los pastos marinos fluctúan en respuesta a las condiciones ambientales. Por ejemplo, se ha encontrado que el contenido de clorofila en los brotes de *Z. marina* y *C. nodosa* aumenta con la profundidad y la limitación de luz (Mazzella y Alberte 1986, Cabello-Pasini et al. 2003). El contenido de carbono y nitrógeno en los tejidos de la vegetación marina también varía según las fluctuaciones en la irradiancia, la temperatura y la concentración de nitrógeno en el agua de mar (Cabello-Pasini et al. 2004). En general, la absorbancia en los tejidos de algas marinas también varía según las concentraciones de clorofila y nitrógeno y el nivel de irradiancia. Por lo tanto, la absorción tisular fluctúa estacionalmente. Sin embargo, los medios y la medida en que la absorción tisular y la asimilación de carbono y nitrógeno están reguladas por la concentración de nitrato en el agua de mar aún no se comprenden bien en los pastos marinos, aunque está bien consolidado que los niveles de nitrato en la columna de agua y de reserva de carbono activan la actividad de la nitrato reductasa en brotes de *Z. marina* (Touchette y Burkholder 2007).

Las tasas fotosintéticas en las plantas generalmente se determinan evaluando la evolución de oxígeno o la incorporación de carbono en los tejidos. Durante las últimas 2 décadas, la fluorimetría ha demostrado ser un medio confiable y efectivo para evaluar los procesos fotosintéticos en macrófitos marinos (Edwards y Baker 1993; Beer et al. 1998, 2000). De hecho, los métodos fluorométricos que estiman las características fotosintéticas no son intrusivos y son mucho más rápidos que las técnicas de evolución de oxígeno o de incorporación de carbono. En particular, la fluorimetría modulada por amplitud de pulso (PAM,

(Edwards and Baker 1993), and values close to the theoretical ETR:oxygen production ratio of 5–7 mol electrons per mol of oxygen production have been reported in 2 *Ulva* species (Figueroa et al. 2003).

As in plants, photosynthetic rates in seagrasses depend on environmental factors, such as seawater temperature and irradiance, and biological factors such as the tissue type and long-term light-history of the sample. Both irradiance and seawater temperature regulate the photosynthetic rates of seaweeds and seagrasses. However, the effects of the nutrient concentrations in seawater on the ETR in these aquatic plants are less understood. Knowledge of the effects of nutrients on the ETR in the photosynthetic apparatus is critical for understanding the seasonal fluctuations of photosynthesis, growth, and other metabolic characteristics in seagrasses. In phytoplankton and macroalgae, optimum quantum yield has been shown to covary with the concentrations of silicon and phosphorus in seawater (Kolber et al. 1990, Young and Beardall 2003). Furthermore, it has been demonstrated that the nitrogen concentration in seawater regulates the relationship between ETR and gross photosynthesis in the green alga *U. rigida* (Cabello-Pasini and Figueroa 2005). Therefore, the aim of this study was to evaluate the effects of irradiance levels and nitrate concentrations in seawater on the ETR of the seagrass *C. nodosa*.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Cymodocea nodosa was collected in the intertidal zone of Fuengirola, Spain (36°30'20" N, 4°39'10" E). The samples were placed in ice coolers and transported to the laboratory within 2 h of collection. The effects of the nitrogen concentration in seawater on the reflectance, transmittance, effective quantum yield, and concentrations of nitrogen and carbon in the tissues were evaluated by incubating *C. nodosa* shoots in media with different nitrate concentrations. The shoots were incubated for 3 weeks in acrylic containers (2 L, 15 samples per container) with media containing 10 μM PO_4 and 0, 2, 5, 25, 50, and 100 μM NO_3^- . The nitrogen concentration in the media was less than 1 μM NO_3^- and NH_3^+ . The media in the incubation chamber was changed every other day, and nutrients (KNO_3 , KH_2PO_4) were added from a stock solution. Samples were incubated at 15 °C and 100 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ using daylight fluorescent lamps (FL 18W; Osram, Munich, Germany). Shoot rhizomes were secured to the bottom of each acrylic container using a weighted plastic mesh. Filtered air was bubbled into each container to maintain the media in constant movement.

CHN Determination

After the incubation period, the samples were dried (60 °C) for 48 h. The content of intracellular nitrogen and carbon

por sus siglas en inglés) de la fluorescencia de clorofila *in vivo* asociada con el fotosistema II (FSII) se puede usar para monitorear las reacciones primarias de la fotosíntesis en condiciones de luz artificial o natural (Beer et al. 2000). Los estudios empíricos han demostrado que la tasa de transporte de electrones (TTE) está estrechamente relacionada con la evolución de oxígeno y la fijación de CO_2 en plantas C_4 (Edwards y Baker 1993), y se han reportado valores cercanos a la relación teórica de producción de TTE:oxígeno de 5-7 mol de electrones por mol de producción de oxígeno en 2 especies de *Ulva* (Figueroa et al. 2003).

Al igual que en las plantas, las tasas fotosintéticas en los pastos marinos dependen de factores ambientales, como la temperatura del agua de mar y la irradiancia, y de factores biológicos, como el tipo de tejido y la historia lumínica a largo plazo de la muestra. Tanto la radiación como la temperatura del agua de mar regulan las tasas fotosintéticas de las algas y los pastos marinos. Sin embargo, los efectos de las concentraciones de nutrientes en el agua de mar sobre la TTE en estas plantas acuáticas son menos conocidos. El conocimiento de los efectos de los nutrientes sobre la TTE en el aparato fotosintético es fundamental para comprender las fluctuaciones estacionales de la fotosíntesis, el crecimiento y otras características metabólicas en los pastos marinos. En el fitoplancton y las macroalgas, se ha demostrado que el rendimiento cuántico óptimo covaría con las concentraciones de silicio y fósforo en el agua de mar (Kolber et al. 1990, Young y Beardall 2003). Además, se ha demostrado que la concentración de nitrógeno en el agua de mar regula la relación entre la TTE y la fotosíntesis bruta en el alga verde *U. rigida* (Cabello-Pasini y Figueroa 2005). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de los niveles de irradiancia y las concentraciones de nitrato en el agua de mar sobre la TTE del pasto marino *C. nodosa*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Cymodocea nodosa se recolectó en la zona intermareal de Fuengirola, España (36°30'20" N, 4°39'10" E). Las muestras se colocaron en hieleras y se transportaron al laboratorio dentro de las 2 h posteriores a la recolección. Los efectos de la concentración de nitrógeno en el agua de mar sobre la reflectancia, la transmitancia, el rendimiento cuántico efectivo y las concentraciones de nitrógeno y carbono en los tejidos se evaluaron incubando brotes de *C. nodosa* en medios con diferentes concentraciones de nitrato. Los brotes se incubaron durante 3 semanas en recipientes de acrílico (2 L, 15 muestras por recipiente) con medios que contenían 10 μM de PO_4 y 0, 2, 5, 25, 50 y 100 μM de NO_3^- . La concentración de nitrógeno en los medios fue inferior a 1 μM de NO_3^- y NH_3^+ . Los medios en la cámara de incubación se cambiaron cada 2 días y se agregaron nutrientes (KNO_3 , KH_2PO_4) de

(% dry weight [DW]) was evaluated ($n = 6$) using a 2400 CHN elemental analyzer (Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA).

In vivo chlorophyll *a* fluorescence

The photosynthetic rates of the shoots ($n = 6$) were estimated by measuring in vivo chlorophyll *a* fluorescence of PSII with a portable DIVING-PAM fluorometer (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Germany). Basal fluorescence (F_o) was estimated before sunrise after the natural darkness period (night). Maximum fluorescence (F_m) was determined in dark-acclimated shoots by applying a saturating actinic light pulse (9,000 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 800 ms). Variable fluorescence (F_v) was calculated as the difference between F_m and F_o , and optimum quantum yield (F_v/F_m) was estimated as the ratio of F_v to F_m (Schreiber et al. 1994). The effective quantum yield of PSII (Φ_{PSII}) was estimated in light-acclimated tissue according to the equation of Schreiber and Neubauer (1990):

$$\Phi_{\text{PSII}} = \frac{(F'_m - F_t)}{F'_m} \quad , \quad (1)$$

where F_t is the intrinsic steady state fluorescence in the tissue under light conditions and F'_m is the maximal fluorescence of light-acclimated tissue induced by a saturating actinic light pulse (9,000 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 800 ms). The fiber optic component of the DIVING-PAM fluorometer was kept at a 45° angle from the plant. Φ_{PSII} was determined throughout the day under natural solar irradiation.

The ETR through PSII was determined with the following equation:

$$\text{ETR} (\mu\text{mol electrons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}) = \text{AQL} \cdot F_{\text{II}} \cdot \Phi_{\text{PSII}} \quad , \quad (2)$$

where AQL is the quantity of absorbed photons estimated as the product of the integration of spectral absorbance (A_λ) in the photosynthetic active radiation spectra ($\lambda = 400\text{--}700$ nm), and F_{II} is the amount of AQ directed to PSII. The value of F_{II} for Chlorophyta and seagrasses is approximately 0.5 (Figueroa et al. 2003, Johnsen and Sakshaug 2007).

Tissue absorbance (A_λ , $n \geq 6$) was determined at 1-nm intervals between 400 and 700 nm using an integrating sphere (LICOR-1802) connected to an 1800 UW spectroradiometer (LICOR, Lincoln, NE, USA) according to the equation of Figueroa et al. (2003):

$$A_\lambda = 1 - T_\lambda - R_\lambda \quad , \quad (3)$$

where T_λ is transmittance, and R_λ is the reflectance of the tissue.

Experimental design

Diurnal fluctuations in effective quantum yield were monitored in *C. nodosa* shoots that had been pre-incubated for 2

una solución madre. Las muestras se incubaron a 15 °C y 100 $\mu\text{mol fotón}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ con lámparas fluorescentes de luz diurna (FL 18W; Osram, Munich, Alemania). Los rizomas de los brotes se aseguraron al fondo de cada recipiente acrílico con una malla de plástico con peso. Se introdujeron burbujas de aire filtrado en cada recipiente para mantener el medio en constante movimiento.

Determinación CHN

Después del periodo de incubación, las muestras se secaron (60 °C) durante 48 h. El contenido de nitrógeno y carbono intracelular (% peso seco [PS]) se evaluó ($n = 6$) con un analizador elemental CHN 2400 (Perkin-Elmer, Waltham, MA, EE. UU.).

Fluorescencia de clorofila *a* in vivo

Las tasas fotosintéticas de los brotes ($n = 6$) se estimaron midiendo la fluorescencia de clorofila *a* in vivo del FSII con un fluorómetro portátil DIVING-PAM (Heinz Walz GmbH, Effeltrich, Alemania). La fluorescencia basal (F_o) se estimó antes del amanecer después del periodo de oscuridad natural (noche). La fluorescencia máxima (F_m) se determinó en brotes aclimatados a la oscuridad mediante la aplicación de un pulso de luz actínica saturante (9,000 $\mu\text{mol fotón}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 800 ms). La fluorescencia variable (F_v) se calculó como la diferencia entre F_m y F_o , y el rendimiento cuántico óptimo (F_v/F_m) se estimó como la relación de F_v a F_m (Schreiber et al. 1994). El rendimiento cuántico efectivo de FSII (Φ_{FSII}) se estimó en tejidos aclimatados a la luz según la ecuación de Schreiber y Neubauer (1990):

$$\Phi_{\text{FSII}} = \frac{(F'_m - F_t)}{F'_m} \quad , \quad (1)$$

donde F_t es la fluorescencia intrínseca en estado estacionario en el tejido bajo condiciones de luz y F'_m es la fluorescencia máxima del tejido aclimatado a la luz inducida por un pulso de luz actínica saturante (9,000 $\mu\text{mol fotón}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 800 ms). El componente de fibra óptica del fluorómetro DIVING-PAM se mantuvo en un ángulo de 45° con respecto a la planta. El Φ_{FSII} se determinó a lo largo del día bajo irradiación solar natural.

La TTE a través del FSII se determinó con la siguiente ecuación:

$$\text{TTE} (\mu\text{mol electrones} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}) = \text{AQL} \cdot F_{\text{II}} \cdot \Phi_{\text{FSII}} \quad , \quad (2)$$

donde AQL es la cantidad de fotones absorbidos estimados como el producto de la integración de la absorbancia espectral (A_λ) en los espectros de la radiación fotosintética activa ($\lambda = 400\text{--}700$ nm), y F_{II} es la cantidad de AQ dirigida a FSII. El valor de F_{II} para Chlorophyta y pastos marinos es de aproximadamente 0.5 (Figueroa et al. 2003, Johnsen y Sakshaug 2007).

weeks at 25 $\mu\text{M NO}_3^-$ as described above. The shoots ($n = 10$) were incubated under different levels of natural irradiance in 30-L Styrofoam containers on the rooftop of a building. Natural incident irradiance (E_0) was reduced to 20%, 33%, 60%, and 100% E_0 using screen mesh. Quantum yield measurements ($n = 10$) were conducted approximately every 2 h from sunrise to approximately 2 h after sundown. Incident solar photosynthetically active radiation (PAR) at the sampling site was measured every minute throughout the day using an ELDONET radiometer (Real Time Computer, Möhrendorf, Germany). The daily-integrated irradiance of quantum solar energy was determined from dawn to sunset by integrating the instantaneous irradiance values.

The effect of nitrate on the effective quantum yield of *C. nodosa* was evaluated by incubating shoots for 2 weeks at 0, 5, 25, and 100 $\mu\text{M NO}_3^-$ in acrylic containers at 15 °C and 100 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ using daylight fluorescent lamps (FL 18W, Osram) as described above. Shoots were transferred to 30-L Styrofoam containers under natural irradiance, which was attenuated to 33% E_0 using mesh screens. Quantum yield measurements ($n = 10$) were conducted approximately every 2 h from sunrise to approximately 2 h after sundown.

Data Analysis

The effects of nitrate or irradiance on the effective quantum yield of *C. nodosa* were calculated using a one-way ANOVA. Homoscedasticity and normality of the data were evaluated using Bartlett's and Shapiro-Wilk tests, respectively, and multiple comparisons were evaluated through Tukey post-hoc tests (Sokal and Rohlf 1995) in SigmaStat (Systat Software, San Jose, CA, USA). The significance of the Pearson product-moment correlations between effective carbon, nitrogen, the C:N ratio, effective quantum yield, and nitrate concentration in the media was evaluated at $P < 0.05$.

RESULTS

The carbon and nitrogen concentrations in the tissues of *C. nodosa* varied in relation to the nitrate concentration in the media (Fig. 1). An increase of 6.5% in tissue carbon levels ($P < 0.05$) was detected as the nitrate concentration in the media increased from 0 to 100 $\mu\text{M NO}_3^-$. In contrast to the carbon concentration in the tissues, the nitrogen levels increased ($P < 0.05$) more than 60.0% in *C. nodosa* as the nitrate concentration in the media increased from 0 to 100 $\mu\text{M NO}_3^-$. The tissue C:N ratio significantly decreased from 18.5 ± 2.2 in tissues incubated with no nitrate (0 $\mu\text{M NO}_3^-$) to 12.6 ± 1.9 in tissues incubated with 100 $\mu\text{M NO}_3^-$.

The transmittance and reflectance of *C. nodosa* shoots were regulated by the nitrate concentration in the media (Fig. 2). Transmittance in the shoots exponentially decreased ($P < 0.05$) from 0.290 ± 0.07 in shoots incubated with no nitrate (0 $\mu\text{M NO}_3^-$) to 0.198 ± 0.07 in shoots incubated with

La absorbancia del tejido (A_λ , $n \geq 6$) se determinó a intervalos de 1 nm entre 400 y 700 nm utilizando una esfera integradora (LICOR-1802) conectada a un espectrorradiómetro 1800 UW (LICOR, Lincoln, NE, EE. UU.) de acuerdo con la ecuación de Figueroa et al. (2003):

$$A_\lambda = 1 - T_\lambda - R_\lambda \quad (3)$$

donde T_λ es la transmitancia y R_λ es la reflectancia del tejido.

Diseño experimental

Se monitorearon las fluctuaciones diurnas en el rendimiento cuántico efectivo en brotes de *C. nodosa* que se habían incubado previamente durante 2 semanas a 25 $\mu\text{M NO}_3^-$, como se describió anteriormente. Los brotes ($n = 10$) se incubaron bajo diferentes niveles de irradiación natural en contenedores de espuma de poliestireno de 30 L en la azotea de un edificio. La irradiancia incidente natural (E_0) se redujo a 20%, 33%, 60% y 100% E_0 utilizando una malla de pantalla. Las mediciones de rendimiento cuántico ($n = 10$) se realizaron aproximadamente cada 2 h desde el amanecer hasta aproximadamente 2 h después de la puesta del sol. La radiación solar fotosintéticamente activa (RFA) incidente en el sitio de muestreo se midió cada minuto a lo largo del día usando un radiómetro ELDONET (Real Time Computer, Möhrendorf, Alemania). La irradiancia integrada diaria de la energía solar cuántica se determinó desde el amanecer hasta la puesta del sol mediante la integración de los valores de irradiancia instantánea.

Para evaluar el efecto del nitrato sobre el rendimiento cuántico efectivo de *C. nodosa*, se incubaron brotes durante 2 semanas a 0, 5, 25 y 100 $\mu\text{M NO}_3^-$ en recipientes acrílicos a 15 °C y 100 $\mu\text{mol fotón}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ con lámparas fluorescentes de luz diurna (FL 18W, Osram) como se describió anteriormente. Los brotes se transfirieron a contenedores de espuma de poliestireno de 30 L bajo irradiación natural, que se atenuó al 33% de E_0 usando mallas de pantalla. Las mediciones de rendimiento cuántico ($n = 10$) se realizaron aproximadamente cada 2 h desde el amanecer hasta aproximadamente 2 h después de la puesta del sol.

Análisis de los datos

Se calcularon los efectos del nitrato o la irradiancia sobre el rendimiento cuántico efectivo de *C. nodosa* con un ANDEVA de una vía. Se evaluó la homoscedasticidad y la normalidad de los datos mediante las pruebas de Bartlett y Shapiro-Wilk, respectivamente, y se evaluaron las comparaciones múltiples con pruebas post hoc de Tukey (Sokal y Rohlf 1995) en SigmaStat (Systat Software, San Jose, CA, EE. UU.). Se evaluó la significancia a $P < 0.05$ de las correlaciones producto-momento de Pearson entre el carbono efectivo, el nitrógeno, la proporción C:N, el rendimiento cuántico efectivo y la concentración de nitrato en el medio.

100 $\mu\text{M NO}_3^-$. Reflectance did not show a clear pattern with regard to the nitrate concentration in the media, although maximum reflectance values were observed in shoots incubated with 25 and 50 $\mu\text{M NO}_3^-$.

The effective quantum yield in the shoots of *C. nodosa* was affected by the nitrate concentration in the media (Fig. 3). The Φ_{PSII} values significantly increased ($P < 0.05$) from 0.70 ± 0.03 in shoots incubated with no nitrate ($0 \mu\text{M NO}_3^-$) to saturation (0.78 ± 0.01) in shoots incubated with 50 and 100 $\mu\text{M NO}_3^-$.

The effective quantum yield in nitrate-replete *C. nodosa* shoots fluctuated as a result of the irradiance level throughout the day (Fig. 4). Irradiance followed a typical sinusoidal

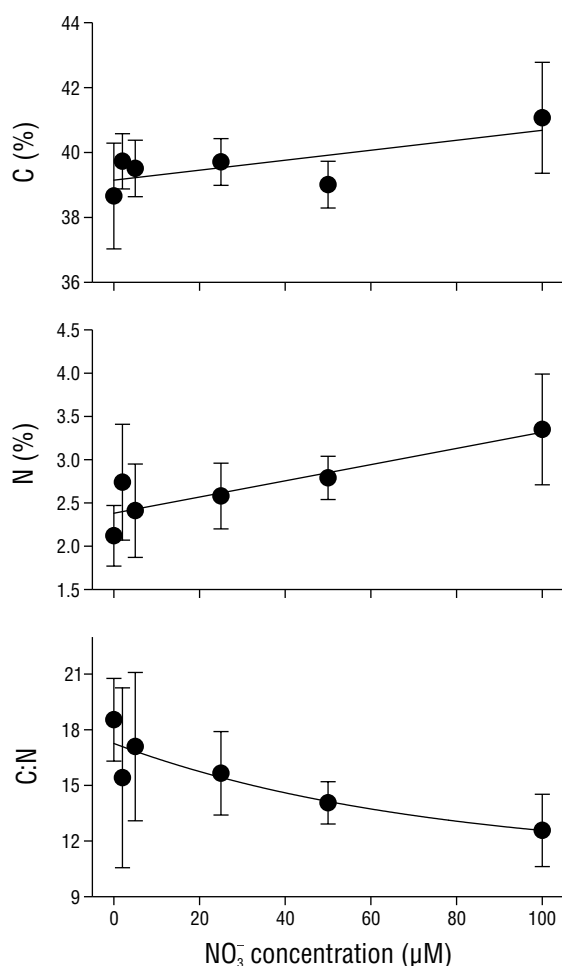


Figure 1. Carbon (C) concentration (% dry weight [DW]), nitrogen (N) concentration (%DW), and the C:N ratio in *Cymodocea nodosa* tissues incubated with different nitrate (NO_3^-) concentrations. Data points represent the average of 6 samples \pm SD.

Figura 1. Concentración de carbono (C) (% peso seco [PS]), concentración de nitrógeno (N) (%PS) y la relación C:N en tejidos de *Cymodocea nodosa* incubados con diferentes concentraciones de nitrato (NO_3^-). Los puntos de datos representan el promedio de 6 muestras \pm desviación estándar.

RESULTADOS

Las concentraciones de carbono y nitrógeno en los tejidos de *C. nodosa* variaron en relación con la concentración de nitrato en el medio (Fig. 1). Los niveles de carbono tisular aumentaron 6.5% ($P < 0.05$) cuando la concentración de nitrato en el medio aumentó de 0 a 100 $\mu\text{M NO}_3^-$. En contraste con la concentración de carbono en los tejidos, los niveles de nitrógeno aumentaron ($P < 0.05$) más del 60.0% en *C. nodosa* cuando la concentración de nitrato en los medios aumentó de 0 a 100 $\mu\text{M NO}_3^-$. La relación C:N del tejido disminuyó significativamente de 18.5 ± 2.2 en tejidos incubados sin nitrato ($0 \mu\text{M NO}_3^-$) a 12.6 ± 1.9 en tejidos incubados con 100 $\mu\text{M NO}_3^-$.

La concentración de nitrato en el medio reguló la transmitancia y reflectancia de los brotes de *C. nodosa* (Fig. 2). La transmitancia en los brotes disminuyó exponencialmente ($P < 0.05$) de 0.290 ± 0.07 en brotes incubados sin nitrato ($0 \mu\text{M NO}_3^-$) a 0.198 ± 0.07 en brotes incubados con 100 $\mu\text{M NO}_3^-$. La reflectancia no mostró un patrón claro con respecto a la concentración de nitrato en el medio, aunque los valores máximos de reflectancia se observaron en los brotes incubados con 25 y 50 $\mu\text{M de NO}_3^-$.

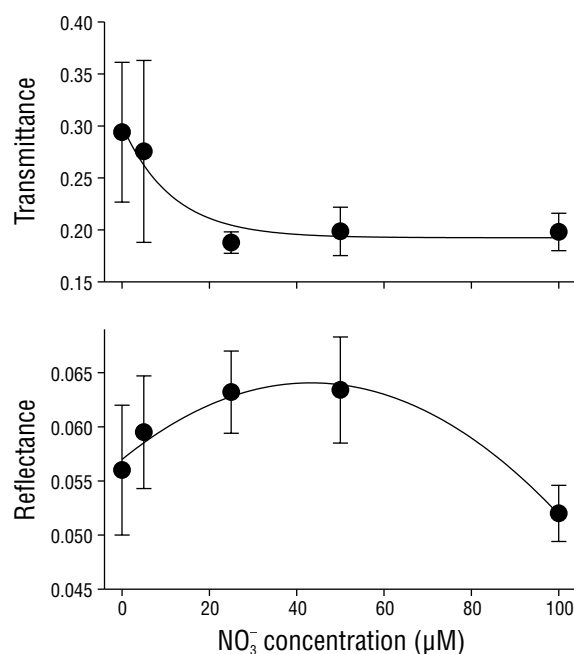


Figure 2. Transmittance, reflectance, and absorbance of *Cymodocea nodosa* tissues incubated with different nitrate (NO_3^-) concentrations. Data points represent the average of 10 samples \pm SD.

Figura 2. Transmitancia, reflectancia y absorbancia de tejidos de *Cymodocea nodosa* incubados con diferentes concentraciones de nitrato (NO_3^-). Los puntos de datos representan el promedio de 10 muestras \pm desviación estándar.

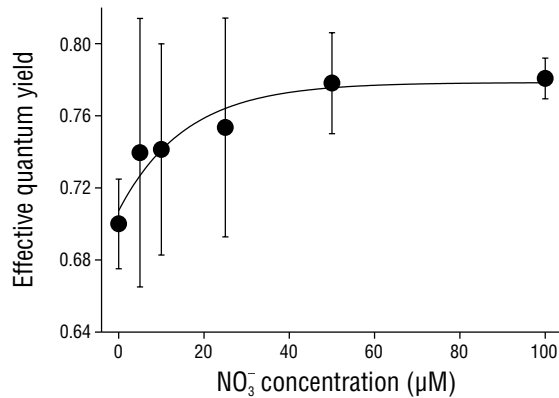


Figure 3. Effective quantum yield in *Cymodocea nodosa* shoots incubated with different nitrate (NO_3^-) concentrations. Data points represent the average of 10 samples \pm SD.

Figura 3. Rendimiento cuántico efectivo en brotes de *Cymodocea nodosa* incubados con diferentes concentraciones de nitrato (NO_3^-). Los puntos de datos representan el promedio de 10 muestras \pm desviación estándar.

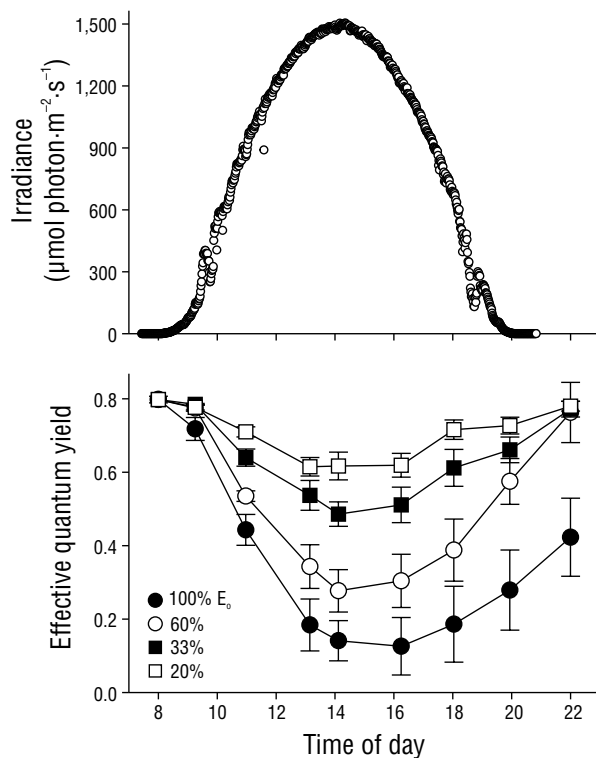


Figure 4. Incident photosynthetically active radiation (PAR) in October 2004 at the study site. Effective quantum yield values in the *Cymodocea nodosa* shoots incubated with different incident PAR levels. Symbols represent the mean \pm SD. Error bars not shown are smaller than the symbol size.

Figura 4. Radiación fotosintéticamente activa (RFA) incidente en octubre de 2004 en el sitio de estudio. Valores del rendimiento cuántico efectivo en los brotes de *Cymodocea nodosa* incubados con diferentes niveles de RFA incidentes. Los símbolos representan la media \pm desviación estándar. Las barras de error que no se muestran son más pequeñas que el tamaño del símbolo.

El rendimiento cuántico efectivo en los brotes de *C. nodosa* se vio afectado por la concentración de nitrato en el medio (Fig. 3). Los valores de Φ_{FSII} aumentaron significativamente ($P < 0.05$) de 0.70 ± 0.03 en brotes incubados sin nitrato ($0 \mu\text{M NO}_3^-$) y llegaron a saturación (0.78 ± 0.01) en brotes incubados con 50 y $100 \mu\text{M NO}_3^-$.

El rendimiento cuántico efectivo en los brotes de *C. nodosa* repletos de nitrato fluctuó como resultado del nivel de irradiación a lo largo del día (Fig. 4). La irradiancia siguió una curva sinusoidal típica, aunque se observaron ligeras desviaciones del modelo debido a cielos despejados. El rendimiento cuántico efectivo en los brotes disminuyó significativamente ($P < 0.05$) a medida que aumentaba la irradiancia, con valores mínimos observados al mediodía solar o 2 h después. Sin embargo, la disminución de los valores de Φ_{FSII} fue 4 veces mayor en los brotes incubados con radiación solar total ($100\% E_0$) en comparación con los incubados con solo $20\% E_0$. Los valores de Φ_{FSII} se recuperaron 2 h después de la puesta del sol en brotes incubados con 20% , 33% y 60% de E_0 . Por el contrario, los valores de Φ_{FSII} de los brotes incubados con radiación solar total ($100\% E_0$) no se recuperaron por completo durante el mismo periodo de tiempo. No obstante, los valores de Φ_{FSII} en estos brotes se recuperaron por completo a la mañana siguiente (datos no mostrados).

El rendimiento cuántico efectivo en los brotes de *C. nodosa* se vio afectado de manera diferencial por la irradiación que recibieron a lo largo del día (Fig. 5). El primer valor de rendimiento cuántico efectivo (irradiancia = $0 \mu\text{mol fotón} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) corresponde a F_v/F_m , ya que las plantas se mantuvieron en la oscuridad durante toda la noche. Como se preveía, los valores de F_v/F_m fueron mayores que los valores de Φ_{FSII} . En todos los casos, se observó una disminución lineal ($P < 0.05$) en los valores de Φ_{FSII} desde el amanecer hasta el mediodía solar. La recuperación de los valores de Φ_{FSII} también fue lineal, y se observó la misma tasa en los brotes incubados con 20% y 33% de E_0 (Fig. 5a, b). La pendiente de la curva de recuperación disminuyó significativamente en las muestras de la tarde incubadas con 60% y 100% de E_0 (Fig. 5c, d).

Los valores de rendimiento cuántico efectivo fluctuaron en brotes de *C. nodosa* en condiciones de atenuación de luz ($33\% E_0$) como resultado de la concentración de nitrato en el tratamiento de pre-incubación (Fig. 6). La irradiancia siguió una curva sinusoidal típica, aunque se observó dispersión de los datos como resultado de la nubosidad en el sitio de estudio. En general, los valores de Φ_{FSII} disminuyeron ($P < 0.05$) a medida que aumentaba la irradiación a lo largo del día. Sin embargo, mientras que los valores de Φ_{FSII} disminuyeron a casi cero en brotes pre-incubados sin nitrato ($0 \mu\text{M NO}_3^-$), los valores iniciales de Φ_{FSII} disminuyeron $\sim 25\%$ en brotes pre-incubados con 25 y $100 \mu\text{M}$ de NO_3^- . El rendimiento cuántico efectivo en brotes pre-incubados con $5 \mu\text{M}$ de NO_3^- disminuyó a valores ligeramente inferiores a los de los brotes pre-incubados con 25 y $100 \mu\text{M}$ de NO_3^- . La recuperación completa de los valores de Φ_{FSII} 3 h después de la puesta del sol solo se observó en brotes pre-incubados con

curve, although slight deviations from the model were observed due to clear skies. The effective quantum yield in the shoots significantly decreased ($P < 0.05$) as irradiance increased, with minimum values observed at solar noon or 2 h afterward. However, the decrease in Φ_{PSII} values was 4-fold greater in shoots incubated with full solar radiation (100% E_0) compared to those incubated with only 20% E_0 . The Φ_{PSII} values recovered 2 h after sundown in shoots incubated under 20%, 33%, and 60% E_0 . In contrast, the Φ_{PSII} values of shoots incubated with full solar radiation (100% E_0) did not completely recover over the same time period. Nonetheless, the Φ_{PSII} values in these shoots completely recovered by the following morning (data not shown).

The effective quantum yield in *C. nodosa* shoots was differentially affected by the irradiance they received throughout the day (Fig. 5). The first effective quantum yield value (irradiance = 0 $\mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) corresponds to F_v/F_m , as plants were maintained in darkness throughout the night. As expected, the F_v/F_m values were greater than

25 y 100 μM de NO_3^- . En brotes incubados con 0 y 5 μM de NO_3^- , la recuperación completa de los valores de Φ_{PSII} no se observó hasta la mañana siguiente (datos no mostrados).

Los valores de rendimiento cuántico efectivo disminuyeron a medida que aumentó la irradiancia. El rendimiento cuántico efectivo antes del amanecer (irradiancia = 0 $\mu\text{mol fotón}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) correspondió a F_v/F_m , ya que las plantas se mantuvieron en la oscuridad durante toda la noche. La disminución del rendimiento cuántico efectivo en función de la irradiancia de la mañana fue significativamente mayor ($P < 0.05$) en los brotes incubados con 0 y 5 μM de NO_3^- y menor en los brotes incubados con 25 y 100 μM de NO_3^- (Fig. 7). Por el contrario, la tasa de recuperación fue similar entre todos los tratamientos.

DISCUSIÓN

La concentración de nitrógeno externo en los medios parece desempeñar un papel fundamental en la determinación

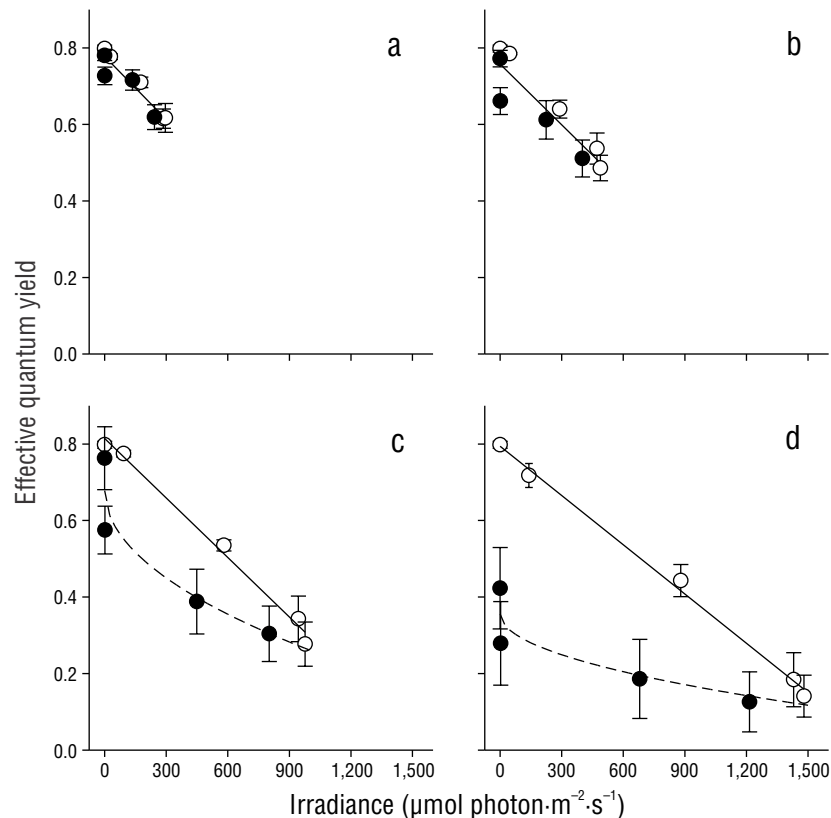


Figure 5. Effective quantum yield in *Cymodocea nodosa* shoots incubated with 20% (a), 33% (b), 60% (c), and 100% (d) incident irradiance (E_0). Empty symbols indicate samples from sunrise to solar noon, while filled symbols indicate samples from solar noon to sundown. Symbols represent the mean \pm SD. Error bars not shown are smaller than the symbol size.

Figura 5. Rendimiento cuántico efectivo en brotes de *Cymodocea nodosa* incubados con 20% (a), 33% (b), 60% (c) y 100% (d) de irradiancia incidente (E_0). Los símbolos vacíos indican muestras desde el amanecer hasta el mediodía solar, mientras que los símbolos llenos indican muestras desde el mediodía solar hasta la puesta del sol. Los símbolos representan la media \pm desviación estándar. Las barras de error que no se muestran son más pequeñas que el tamaño del símbolo.

the Φ_{PSII} values. In all cases, a linear decrease ($P < 0.05$) in Φ_{PSII} values was observed from sunrise to solar noon. The recovery of Φ_{PSII} values was also linear, and the same rate was observed in shoots incubated with 20% and 33% E_0 (Fig. 5a, b). The slope for the recovery curve significantly decreased in the afternoon samples incubated with 60% and 100% E_0 (Fig. 5c, d).

The effective quantum yield values in *C. nodosa* shoots under light attenuation conditions (33% E_0) fluctuated as a result of the nitrate concentration in the pre-incubation treatment (Fig. 6). Irradiance followed a typical sinusoidal curve, although dispersion of the data was observed as a result of cloud cover at the study site. In general, the Φ_{PSII} values decreased ($P < 0.05$) as irradiance increased throughout the day. However, the Φ_{PSII} values decreased to almost zero in shoots pre-incubated with no nitrate ($0 \mu\text{M NO}_3^-$), whereas the Φ_{PSII} values in shoots pre incubated with 25 and $100 \mu\text{M NO}_3^-$ decreased by approximately 25% of their initial values. The effective quantum yield in shoots pre-incubated with $5 \mu\text{M NO}_3^-$ decreased to values that were slightly lower than those in shoots pre-incubated with 25 and $100 \mu\text{M NO}_3^-$. The complete recovery of Φ_{PSII} values 3 h after sundown was only observed in shoots pre-incubated with 25 and $100 \mu\text{M NO}_3^-$. In shoots incubated with 0 and $5 \mu\text{M NO}_3^-$, the complete recovery of Φ_{PSII} values was not observed until the following morning (data not shown).

The effective quantum yield values decreased as irradiance increased. The effective quantum yield before sunrise (irradiance = $0 \mu\text{mol photon}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) corresponded to F_v/F_m , as plants were maintained in darkness throughout the night. The decrease of the effective quantum yield as a function of irradiance in the morning was significantly greater ($P < 0.05$) in shoots incubated with 0 and $5 \mu\text{M NO}_3^-$ and lower in shoots incubated with 25 and $100 \mu\text{M NO}_3^-$ (Fig. 7). In contrast, the recovery rate was similar among all treatments.

DISCUSSION

The external nitrogen concentration in the media appears to play a critical role in determining the carbon and nitrogen concentrations in *C. nodosa* tissues. Moreover, changes in the bio-optical characteristics of the shoots were associated with the nitrate concentration in the media, which suggests that nitrogen may be allocated in response to the light requirements of photosynthesis. Both the nitrogen and carbon content in marine algae cells have been found to rapidly change over hours to days as a result of fluctuations in the nitrate concentration in seawater (Young and Beardall 2003). As has been observed in other seaweeds and higher-plant species, a decrease in transmittance was observed as the nitrogen levels in the tissues increased in this study (Carter and Spiering 2002), which was likely the result of increasing chlorophyll levels within the tissue cells (Cabello-Pasini and Figueroa 2005). Studies conducted in

de las concentraciones de carbono y nitrógeno en los tejidos de *C. nodosa*. Además, los cambios en las características bio-ópticas de los brotes se asociaron con la concentración de nitrato en el medio, lo que sugiere que el nitrógeno puede asignarse en respuesta a los requisitos de luz de la fotosíntesis. Se ha encontrado que tanto el contenido de nitrógeno como el de carbono en las células de algas marinas cambia rápidamente durante horas o días como resultado de las fluctuaciones en la concentración de nitrato en el agua de mar (Young y Beardall 2003). Como se ha observado en otras algas marinas y especies de plantas superiores, en este estudio se observó una disminución en la transmitancia a medida que aumentaban los niveles de nitrógeno en los tejidos (Carter y Spiering 2002), lo que probablemente fue el resultado del aumento de los niveles de clorofila dentro de las células de los tejidos (Cabello-Pasini y Figueroa 2005). Los estudios realizados en varios pastos marinos del mar

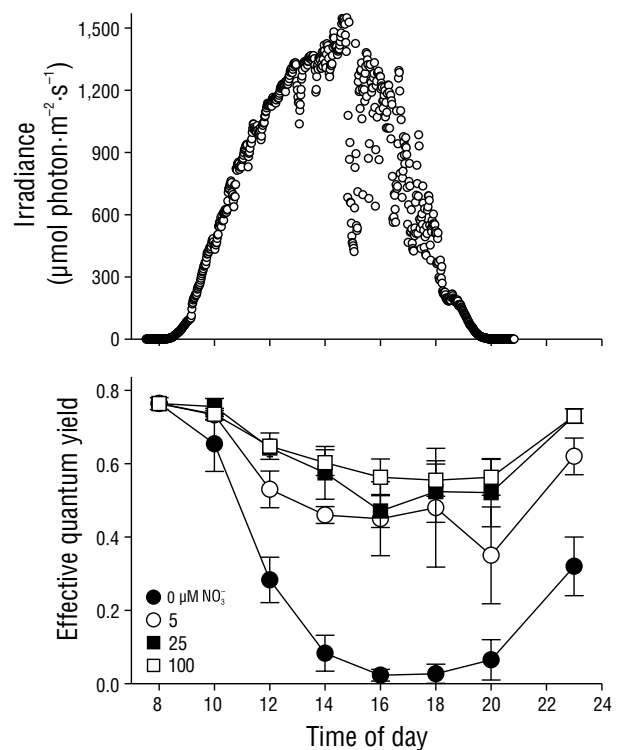


Figure 6. Incident photosynthetically active radiation (PAR) in October 2004 at the study site. Effective quantum yield values in *Cymodocea nodosa* shoots incubated with different incident PAR levels. Symbols represent the mean \pm SD. Error bars not shown are smaller than symbol size.

Figura 6. Radiación fotosintéticamente activa (RFA) incidente en octubre de 2004 en el sitio de estudio. Valores del rendimiento cuántico efectivo en brotes de *Cymodocea nodosa* incubados con diferentes niveles de FRA incidentes. Los símbolos representan la media \pm desviación estándar. Las barras de error que no se muestran son más pequeñas que el tamaño del símbolo.

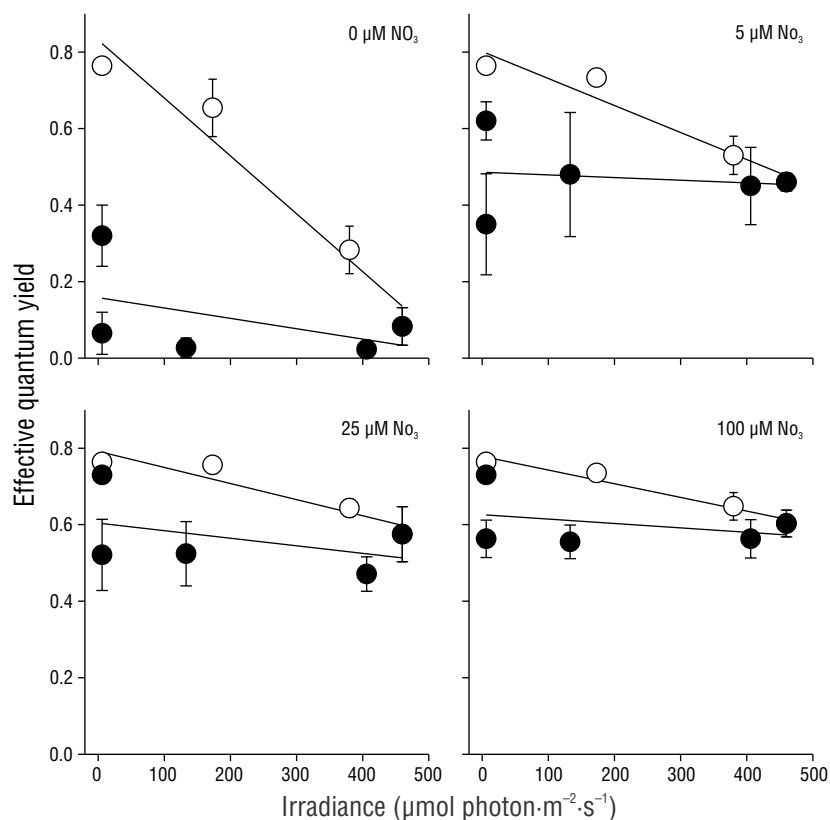


Figure 7. Effective quantum yield as a function of irradiance in shoots incubated with 0, 5, 25, and 100 $\mu\text{M NO}_3^-$.

Figura 7. Rendimiento cuántico efectivo en función de la irradiancia en brotes incubados con 0, 5, 25 y 100 $\mu\text{M de NO}_3^-$.

several Mediterranean seagrasses have found that light relationships are similar to those found in marine macroalgae, namely, that light absorption increases non-linearly as the chlorophyll *a* content increases (Enriquez et al. 1994). This has implications for growth and the allocation of nitrogen to chlorophyll. For example, subtidal populations of *Halophylla ovalis* have shown higher tissue nitrogen content than those of intertidal plants as a direct result of elevated chlorophyll content and consequently the elevated light harvesting capacity of this species at low irradiance levels (Dawson and Dennison 1996).

In addition to irradiance, nitrate availability affected Φ_{PSII} . Few studies have examined the effects of nutrients on the primary photochemical reactions. If nitrogen pools are allocated to chlorophyll, then limitation will directly affect the light harvesting complex. Under conditions of nitrogen limitation, the functional absorption cross-section of PSII increases along with a subsequent decrease in energy transfer between the PSII reactions centers (Young and Beardall 2003). In our study, increasing nitrate concentrations were related only to a slight increase in photosynthesis, which was measured in terms of effective quantum yield. In fact, at 0 $\mu\text{M NO}_3^-$ the shoots still exhibited high Φ_{PSII} values, which may indicate that nitrogen limitation does not stimulate non-photochemical quenching (i.e., thermal dissipation) in the short-term.

Mediterráneo han encontrado que las relaciones de luz son similares a las que ocurren en las macroalgas marinas, es decir, que la absorción de luz aumenta de forma no lineal a medida que aumenta el contenido de clorofila *a* (Enriquez et al. 1994). Esto tiene implicaciones para el crecimiento y la asignación de nitrógeno a la clorofila. Por ejemplo, las poblaciones submareales de *Halophylla ovalis* presentaron un mayor contenido de nitrógeno tisular que el de las plantas intermareales como resultado directo del elevado contenido de clorofila y, consecuentemente, de la elevada capacidad de captación de luz de esta especie a bajos niveles de irradiancia (Dawson y Dennison 1996).

Además de la irradiancia, la disponibilidad de nitratos afectó el Φ_{PSII} . Pocos estudios han examinado los efectos de los nutrientes en las reacciones fotoquímicas primarias. Si las reservas de nitrógeno se asignan a la clorofila, la limitación afectará directamente al complejo de recolección de luz. En condiciones de limitación de nitrógeno, la sección transversal de absorción funcional del FSII aumenta junto con una disminución posterior en la transferencia de energía entre los centros de reacción del FSII (Young y Beardall 2003). En nuestro estudio, el aumento de las concentraciones de nitrato se relacionó solo con un ligero aumento en la fotosíntesis, que se midió en términos de rendimiento cuántico efectivo. De hecho, a 0 $\mu\text{M de NO}_3^-$, los brotes siguieron exhibiendo

Alternatively, nitrogen pools may be remobilized to provide chlorophyll precursors.

The effective quantum yield of *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence in *C. nodosa* varied throughout the day. This pattern has been commonly observed in macroalgae (Franklin and Forster 1997, Hader and Figueroa 1997, Hanelt 1998) and in some seagrasses, such as *Posidonia oceanica* (Figueroa et al. 2002). As expected, F_v/F_m at dawn (i.e., after incubation in darkness during the night) was higher than the effective quantum yield under light conditions. Enhanced thermal energy dissipation at noon has been proposed to be responsible for these diurnal variations. However, our results demonstrate that both the carbon and nitrogen content in *C. nodosa* tissues depend on the nitrate pre-incubation history. Nitrate availability in the media also affected the effective quantum yield determined by fluorometry. Overall, this study suggests that reductions in the nitrate concentration in seawater reduce the dynamic photoinhibition capacity of *C. nodosa*, which is likely to be the case for other marine macrophytes. Thus, the impacts of nutrient availability as well as nitrate in seawater on photosynthesis, respiration, and optimum quantum yield relationships require further study.

ACKNOWLEDGMENTS

Funds were provided by the Junta de Andalucía (RNM-295), the Ministry of Science and Technology of Spain (AGL 2001-1888-C03-02), and the Ministry of Education and Science of Spain (SAB2002-0209).

Copyediting by MacTavish Scientific Editing

REFERENCES

- Beer S, Larsson C, Poryan O, Axelsson L. 2000. Photosynthetic rates of *Ulva* (Chlorophyta) measured by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry. *Eur J Phycol.* 35(1):69-74. <https://doi.org/10.1080/09670260010001735641>
- Beer S, Vilenkin B, Weil A, Veste M, Susel L, Eshel A. 1998. Measuring photosynthetic rates in seagrasses by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry. *Mar Ecol Prog Ser.* 174:293-300. <https://doi.org/10.3354/meps174293>
- Brito MC, Martin D, Núñez J. 2005. Polychaetes associated to a *Cymodocea nodosa* meadow in the Canary Islands: assemblage structure, temporal variability and vertical distribution compared to other Mediterranean seagrass meadows. *Mar Biol.* 146:467-481. <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1460-1>
- 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, Muñiz-Salazar R, Ward DH. 2003. Annual variations of biomass and photosynthesis in *Zostera marina* at its southern end of distribution in the North Pacific. *Aquat Bot.* 76(1):31-47. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(03\)00012-3](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(03)00012-3)
- valores altos de Φ_{FSII} , lo que puede indicar que la limitación de nitrógeno no estimula la extinción no fotoquímica (i.e., la disipación térmica) a corto plazo. Alternativamente, las reservas de nitrógeno se pueden remobilizar para proporcionar precursores de clorofila.
- El rendimiento cuántico efectivo de la fluorescencia de clorofila *a in vivo* en *C. nodosa* varió a lo largo del día. Este patrón se ha observado comúnmente en macroalgas (Franklin y Forster 1997, Hader y Figueroa 1997, Hanelt 1998) y en algunos pastos marinos, como *Posidonia oceanica* (Figueroa et al. 2002). Como se esperaba, F_v/F_m al amanecer (i.e., después de la incubación en la oscuridad durante la noche) fue mayor que el rendimiento cuántico efectivo en condiciones de luz. Se ha propuesto que el incremento en la disipación de energía térmica al mediodía es responsable de estas variaciones diurnas. Sin embargo, nuestros resultados demuestran que tanto el contenido de carbono como el de nitrógeno en los tejidos de *C. nodosa* dependen del historial de pre-incubación con nitrato. La disponibilidad de nitrato en los medios también afectó el rendimiento cuántico efectivo determinado por fluorimetría. En general, este estudio sugiere que las reducciones en la concentración de nitrato en el agua de mar reducen la capacidad de fotoinhibición dinámica de *C. nodosa*, lo que probablemente sea el caso para otras macrofitas marinas. Por lo tanto, se necesita investigar más a fondo como la disponibilidad de nutrientes y el nitrato en el agua de mar afecta la fotosíntesis, la respiración y las relaciones de rendimiento cuántico óptimo.

AGRADECIMIENTOS

Los fondos fueron proporcionados por la Junta de Andalucía (RNM-295), el Ministerio de Ciencia y Tecnología de España (AGL 2001-1888-C03-02) y el Ministerio de Educación y Ciencia de España (SAB2002-0209).

Traducido al español por Claudia Michel-Villalobos

- Cabello-Pasini A, Muñiz-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. <http://doi.org/10.7773/cm.v30i1.123>
- Carter GA, Spiering BA. 2002. Optical properties of intact leaves for estimating chlorophyll concentration. *J Environ Qual.* 31(5):1424-1432. <https://doi.org/10.2134/jeq2002.1424>
- Dawson SP, Dennison WC. 1996. Effects of ultraviolet and photosynthetically active radiation on five seagrass species. *Mar Biol.* 125:629-638. <https://doi.org/10.1007/BF00349244>
- Edwards GE, Baker NR. 1993. Can CO₂ assimilation in maize leaves be predicted accurately from chlorophyll fluorescence analysis? *Photo Res.* 37:89-102. <https://doi.org/10.1007/BF02187468>

- Enriquez S, Agustí S, Duarte CM. 1994. Light absorption by marine macrophytes. *Oecologia*. 98:121-129.
<https://doi.org/10.1007/BF00341462>
- 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. *Photo Res.* 75:259-275.
<https://doi.org/10.1023/A:1023936313544>
- Figueroa FL, Jiménez C, Viñeola B, Pérez-Rodríguez E, Aguilera J, Flores-Moya A, Altamirano M, Lebert M, Häder DP. 2002. Effects of solar UV radiation on photosynthesis of the marine angiosperm *Posidonia oceanica* from southern Spain. *Mar Ecol Prog Ser.* 230:59-70.
<https://doi.org/10.3354/meps230059>
- Franklin L, Forster RM. 1997. The changing irradiance environment: consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology. *Eur J Phycol.* 32(3):207-232.
<https://doi.org/10.1080/09670269710001737149>
- Häder DP, Figueroa FL. 1997. Photoecophysiology of marine macroalgae. *Photochem Photobiol.* 66(1):1-14.
<https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1997.tb03132.x>
- Hanelt D. 1998. Capability of dynamic photoinhibition in Arctic macroalgae is related to their depth distribution. *Mar Biol.* 131:361-369.
<https://doi.org/10.1007/s002270050329>
- Johnsen G, Sakshaug E. 2007. Biooptical characteristics of PSII and PSI in 33 species (13 pigment groups) of marine phytoplankton, and the relevance for pulse-amplitude-modulated and fast-repetition-rate fluorometry. *J Phycol.* 43(6):1236-1251.
<https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00422.x>
- Kolber Z, Wyman KV, Falkowski PG. 1990. Natural variability in photosynthetic energy conversion efficiency: A field study in the Gulf of Maine. *Limnol Oceanogr.* 35(1):72-79.
<https://doi.org/10.4319/lo.1990.35.1.0072>
- Mazzella L, Alberte RS. 1986. Light adaptation and the role of autotrophic epiphytes in primary production of the temperate seagrass, *Zostera marina* L. *J Exp Mar Biol Ecol.* 100(1-3):165-180.
[https://doi.org/10.1016/0022-0981\(86\)90161-9](https://doi.org/10.1016/0022-0981(86)90161-9)
- Muñiz-Salazar R, Talbot S, Sage K, Ward DH, Cabello-Pasini A. 2005. Population genetic structure of annual and perennial populations of *Zostera marina* L. from the Pacific coast of Baja California and the Gulf of California. *Mol Ecol.* 14(3):711-722.
- Phillips RC, McRoy CP. 1980. *Handbook of Seagrass Biology*. New York (NY) and London (UK): Garland STPM Press. 402 p.
<https://doi.org/10.4319/lo.1980.25.3.0579>
- Schreiber U, Bilger W, Neubauer C. 1994. Chlorophyll fluorescence as a noninvasive indicator for rapid assessment of in vivo photosynthesis. In: Schulze E, Caldwell M (eds.), *Ecophysiology of Photosynthesis*. Berlin-Heidelberg (Germany): Springer Study Edition. p. 49-70.
- Schreiber U, Neubauer C. 1990. O₂-dependent electron flow, membrane energization and mechanism of non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence. *Photo Res.* 25:279-293.
<https://doi.org/10.1007/BF00033169>
- Sokal RR, Rohlf FJ. 1995. *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. New York (NY): WH Freeman and Company. 887 p.
- Touchette BW, Burkholder JM. 2007. Carbon and nitrogen metabolism in the seagrass, *Zostera marina* L.: Environmental control of enzymes involved in carbon allocation and nitrogen assimilation. *J Exp Mar Biol Ecol.* 350(1-2):216-233.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.05.034>
- Young EB, Beardall J. 2003. Rapid ammonium- and nitrate-induced perturbations to Chl *a* fluorescence in nitrogen-stressed *Dunaliella tertiolecta* (Chlorophyta). *J Phycol.* 39(2):332-342.
<https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2003.02109.x>