



UNIVERSIDAD CENTRAL DE
VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA

“Efecto de las variaciones de pH y temperatura sobre esqueletos calcáreos de organismos marinos de las especies *Asaphis deflorata* (Bivalvia) y *Orbicella annularis* (Hexacoral)”

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela, por la bachiller María Gabriela Moreno Ávila como requisito parcial para optar al título de Licenciado en Biología.

Tutores: Dra. Estrella Villamizar
M. Sc. César González

Caracas, Venezuela
Octubre 2014

*No alcanzan las palabras para expresar
la tristeza de no poder compartir este
logro contigo, por eso te lo dedico a ti,
Carlitos, UCVISTA de alma y corazón y
amigo incondicional.
¡Te extraño mucho!*

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Janette y Ramón por darme la vida, estar siempre conmigo y brindarme una formación sólida a través de los valores, consejos, experiencias y regaños. Por acompañarme durante el desarrollo de la tesis, poniendo a un lado otras obligaciones. Gracias por ese amor y comprensión que me llevó a ser la persona que soy ahora. Este logro también es de ustedes.

A mi hermano Marco, por siempre ser un guía y apoyo. Más que un hermano, es un amigo incondicional que siempre ha tenido una opinión objetiva y clara cuando la he necesitado.

A Javier Torres, por acompañarme en el recorrido de la carrera, gracias por tu apoyo incondicional a través de los años, tus consejos, tus sacrificios, tus preocupaciones, tu alegría, que hicieron de este recorrido una experiencia inigualable. Gracias también por tu invaluable ayuda en el desarrollo de este trabajo. En fin gracias por tu amor incondicional.

A Carlos Monasterios, amigo incondicional, un hermano que me dio la vida, con tus peculiaridades llenaste de alegría mi vida, siempre te recordaré con el mismo cariño. No alcanzan las palabras para expresar mi gratitud por tu amistad y por todas las experiencias bonitas que compartimos a lo largo de la carrera.

A Maricarmen Rodríguez por tu amistad y todas las experiencias que compartimos juntas, hiciste de estos años un tiempo ameno y divertido.

A las amigos que se forman en el transcurso de la carrera, Grecia, César, Beatriz, Soliangel, Juan Carlos, Ana Teresa, Eduardo, Joxmer, y otros más que se me escapan de momento, gracias por todos esos momentos felices en la Facultad.

A la Familia Monasterios Irala por estar siempre presentes y pendientes de mis logros académicos.

Al Instituto de Zoología y Ecología Tropical (IZET), centro de investigaciones científicas de gran importancia que abre sus puertas a los estudiantes para su formación en cada uno de sus centros y laboratorios, principalmente quiero agradecer al Laboratorio (LEMAC) y sus integrantes Dra. Estrella Villamizar, MSc. Ana Yranzo, pasantes y tesisistas, entre ellos, Miguel Galindo, Marijulz Narváez, Beatriz Álvarez y Daniel Ortiz, por permitirme trabajar con ellos. También al Laboratorio de Plantas Acuáticas y a sus integrantes la Lic. Nancy Hernández de Pacheco, y al pasante, el Br. Yomel De La Cruz por su ayuda con la el préstamo de equipos de medición; a los Laboratorios de Plancton y Optimización Agrícola y sus integrantes la Dra. Evelyn Zoppi y el Dr. Rubén Torres por su valiosa contribución y ayuda en mis salidas de campo y tesis. Al taller de soplado de vidrio por hacerme las tapas de los microcosmos. Por último Al Sr. Arturo que me ayudó a cortar los corales.

A mis tutores Estrella Villamizar y César González, quienes se han convertido, por así decirlo, en mis padres de la carrera, ya que en todo momento me han brindado su apoyo, consejos y una mano amiga con el fin de lograr con éxito los objetivos de este proyecto.

A mis jurados María De Los Ángeles Álvarez y Sheila Márquez quienes no han vacilado en ningún momento en ofrecerme su ayuda, opinión y consejo oportuno, de verdad gracias infinitas por sus aportes e inquietudes para el mejoramiento de mi trabajo de grado.

A la Dra. Evelyn Zoppi por su desinteresada colaboración al brindarme alojamiento en su casa de Mochima durante mi salida de campo, así como al Dr. Rubén Torres, quien siempre estuvo atento en darme apoyo en todo lo que necesitara en relación a equipos, además de corregirme o darme consejos oportunos con la tesis.

Al Dr. Renato De Nóbrega por su valiosa ayuda con la estadística.

Al personal de la Estación de Investigaciones Marinas IDEA-Mochima y todo el equipo humano que labora allí, especialmente Sr. Rubén Pennot y su hermano el Sr. Miguel por su ayuda en campo, además de darme hospedaje y ofrecerme su infraestructura para el desarrollo de mi tesis.

Al pueblo de Mochima, su gente tan hospitalaria y todas las maravillas naturales de este lugar paradisíaco y tranquilo donde estuve viviendo cerca de dos (2) meses.

A la Facultad de Ciencias, que me abrigó durante toda mi carrera y me concedió la oportunidad de conocer a buenos amigos y futuros colegas.

Finalmente a la Universidad Central de Venezuela, mi Alma Mater: “La Casa Que Vence La Sombra”, por darme la alegría de desarrollar mis estudios superiores en su recinto, casa de estudios a la que aprendí a amar, respetar y defender.

“...Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber...”

Albert Einstein (1879-1955)

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xii
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	6
OBJETIVOS	11
<i>Objetivo general</i>	11
<i>Objetivos específicos</i>	11
METODOLOGÍA	12
<i>Área de estudio</i>	12
<i>Métodos de campo</i>	15
<i>Actividades previas al montaje experimental</i>	15
<i>Recolección y tratamiento de muestras</i>	17
<i>Diseño experimental</i>	18
<i>Parámetros fisicoquímicos</i>	20
<i>Procesamiento de datos</i>	22
<i>Concentración de iones carbonato y bicarbonato</i>	22
<i>Alcalinidad total</i>	23
<i>Sistema del CO₂ disuelto en los microcosmos</i>	23
<i>Pérdida de peso estandarizada</i>	23
<i>Tasa de disolución de las muestras</i>	23

<i>Análisis estadísticos</i>	24
<i>Parámetros fisicoquímicos</i>	24
<i>Pesos iniciales de las muestras</i>	24
<i>Diseño experimental factorial 2²</i>	24
<i>Comparación de las respuestas entre corales y bivalvos</i>	26
RESULTADOS	26
<i>Parámetros fisicoquímicos</i>	26
<i>pH</i>	26
<i>Temperatura</i>	30
<i>Sistema del CO₂ disuelto en los microcosmos</i>	35
<i>Pérdida de peso en los organismos</i>	37
<i>Tasa de disolución de los organismos</i>	38
<i>Diseño experimental factorial 2²</i>	39
<i>Comparación entre la pérdida de peso para corales y bivalvos</i>	45
DISCUSIÓN	45
<i>Parámetros fisicoquímicos</i>	45
<i>pH</i>	45
<i>Temperatura</i>	47
<i>Salinidad</i>	49
<i>Sistema del CO₂ disuelto en los microcosmos</i>	49
<i>Pérdida de peso en los organismos</i>	52
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	57
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXOS	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Vista aérea del Parque Nacional Mochima (Tomado de: Google Earth, consultado el 04/05/2013).	14
Figura 2. Pueblo de Mochima (Tomado de: Google Earth, consultado el 04/05/2013).	14
Figura 3. Bomba de agua.	15
Figura 4. Tuberías de PVC que transportan el agua.	15
Figura 5. Esquema del montaje experimental utilizado para el desarrollo del ensayo.	17
Figura 6. Ejemplar antes de limpiar	18
Figura 7. Ejemplar después de limpiar.	18
Figura 8. Concentración de las 3 formas del CO ₂ inorgánico disuelto en el agua de mar. (Tomada de Millero 1995).	21
Figura 9. pH promedio de los cuatro tratamientos para la primera semana de ensayo.	27
Figura 10. pH promedio de los cuatro tratamientos para la segunda semana del ensayo.	27
Figura 11. pH promedio de los cuatro tratamientos para la tercera semana del ensayo.	28
Figura 12. Variación diaria de pH en los 4 tratamientos para la primera semana del ensayo.	29
Figura 13. Variación diaria de pH en los 4 tratamientos para la segunda semana del ensayo.	29
Figura 14. Variación diaria de pH en los 4 tratamientos para la tercera semana del ensayo.	29
Figura 15. Temperatura promedio para la primera semana de tratamiento.	31
Figura 16. Temperatura promedio para la segunda semana de tratamiento.	31
Figura 17. Temperatura promedio para la tercera semana de tratamiento.	32
Figura 18. Variación diaria de temperatura en los 4 tratamientos para la primera semana del ensayo.	33
Figura 19. Variación diaria de temperatura en los 4 tratamientos para la segunda semana del ensayo.	33
Figura 20. Variación diaria de temperatura en los 4 tratamientos para la tercera semana del ensayo.	33
Figura 21. Salinidad promedio para la primera semana de tratamiento.	34
Figura 22. Salinidad promedio para la segunda semana de tratamiento.	35
Figura 23. Salinidad promedio para la tercera semana de tratamiento.	35
Figura 24. Efectos estandarizados en función del tiempo para los dos factores estudiados. (a): Valores estimados del efecto para corales. (b): Valores estimados del efecto para bivalvos.	40
Figura 25. Efectos acumulados de los factores estudiados. (a): Valores estimados del efecto para corales. (b): Valores estimados del efecto para bivalvos.	42
Figura 26. Gráficas de Pareto de los efectos estandarizados de los factores (A: concentración de CO ₂ , B: Temperatura y AB: Interacción de ambos factores) para el diseño experimental factorial 2 ² y su nivel de significancia, para corales. (a): Respuesta para la primera semana de tratamiento. (b):	

Respuesta para la segunda semana de tratamiento. (c): Respuesta para la tercera semana de tratamiento.

_____ 43

Figura 27. Interacción entre los factores para corales. PE2 se refiere a la pérdida de peso estandarizada para la segunda semana. _____ 43

Figura 28 Gráficas de Pareto de los efectos estandarizados de los factores (A: concentración de CO₂, B: Temperatura y AB: Interacción de ambos factores) para el diseño experimental factorial 2² y su nivel de significancia, para bivalvos. La gráfica representa el efecto de los factores para las tres semanas de tratamiento. _____ 44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Matriz de experimento para el diseño factorial 2^2 aplicado en el ensayo. A: concentración de CO_2 suministrado a los microcosmos y B: temperatura de los mismos. _____	25
Tabla 2. Sistema del CO_2 disuelto en los microcosmos para los cuatro tratamientos durante las 3 semanas del ensayo experimental. Alcalinidad total (At), dióxido de carbono inorgánico total (TCO_2), concentración de CO_2 [CO_2], de carbonato [HCO_3^-] y bicarbonato [CO_3^{2-}], fugacidad del CO_2 ($f\text{CO}_2$); saturación de calcita (ΩCa) y aragonita (ΩAr) _____	36
Tabla 3. Peso promedio inicial (g) y desviación estándar de las muestras ($n=6$ para corales y bivalvos) por tratamiento. _____	37
Tabla 4. Pérdida de peso promedio estandarizada y desviación estándar de los fragmentos de coral ($n=6$) para cada tratamiento por semana. _____	38
Tabla 5. Pérdida de peso promedio estandarizada y desviación estándar de las conchas de bivalvos ($n=6$) para cada tratamiento por semana. _____	38
Tabla 6. Tasa de disolución promedio de las tres semanas expresada por día. Los valores fueron estandarizados respecto al peso inicial de cada muestra en cada semana. (a): Tasa de disolución para corales (g/d). (b): Tasa de disolución para bivalvos (g/d). _____	39
Tabla 7. Efectos estimados y acumulados de los factores CO_2 , temperatura y la interacción de ambos. Los valores en negrita indican los efectos estadísticamente significativos para esa semana. Los efectos acumulados se expresan como S12 (primeras dos semanas) y S123 (para las tres semanas de tratamiento. (a): Valores estimados para corales. (b): Valores estimados para bivalvos. _____	39
Tabla 8. Valores obtenidos para el coeficiente de determinación R^2 por semana para los dos grupos de muestras. _____	45
Tabla 9. Kruskal-Wallis para comparar la pérdida de peso entre corales y bivalvos por cada tratamiento. _____	45

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Interacción entre los factores y sus niveles de estudio, por semana para corales. PE1, PE2 Y PE3 se refieren a la pérdida de peso estandarizada para la semana 1, 2 o 3 respectivamente. (a): Interacción para la primera semana. (b): Interacción para la segunda semana. (c): Interacción para la tercera semana.	65
Anexo 2. Interacción entre los factores y sus niveles de estudio, por semana para corales. PE1 PE2 y PE3 se refieren a la pérdida de peso estandarizada para la semana 1, 2 o 3 respectivamente. (a): Interacción para la primera semana. (b): Interacción para la segunda semana. (c): Interacción para la tercera semana.	66
Anexo 3. Concentración de iones carbonato y bicarbonato expresada en el logaritmo de la concentración molal obtenidos mediante titulación colorimétrica.	67
Anexo 4. Promedio, de las tres semanas de ensayo, del sistema del CO ₂ disuelto en los microcosmos, en los tres tratamientos. Alcalinidad total (At), dióxido de carbono inorgánico total (TCO ₂), concentración de CO ₂ [CO ₂], de carbonato [HCO ₃ ⁻] y bicarbonato [CO ₃ ²⁻], fugacidad del CO ₂ (fCO ₂); saturación de calcita (Ω Ca) y aragonita (Ω Ar).	67
Anexo 5. Tasa de disolución (g/d) por cada muestra del control. a: corales. b: bivalvos.	68
Anexo 6. Tasa de disolución (g/d) por cada muestra del tratamiento con aumento de temperatura. a: corales. b: bivalvos.	68
Anexo 7. Tasa de disolución (g/d) por cada muestra del tratamiento con aumento de concentración de CO ₂ . a: corales. b: bivalvos.	69
Anexo 8. Tasa de disolución (g/d) por cada muestra del tratamiento con aumento de concentración de CO ₂ y aumento de temperatura. a: corales. b: bivalvos.	69

RESUMEN

En el siglo XX, el aumento de las concentraciones de CO₂ produjo un incremento de la temperatura promedio de los océanos en 0,74° C (siendo el promedio, en mares tropicales, de 27° C) y un aumento en la acidez del mismo en 0,1 unidades de pH (pH promedio 8,2 en la superficie de los océanos). Estas condiciones traen como consecuencia una disminución de la disponibilidad de iones carbonato (CO₃²⁻), disminución en la tasa de calcificación de los principales organismos formadores de conchas de carbonato y/o aumento de la disolución de las mismas; lo que lleva, a largo plazo, a una pérdida de diversidad en los ecosistemas marinos. Por tal motivo este proyecto tiene como objetivo evaluar el efecto del aumento de las concentraciones de CO₂ y aumento de temperatura del agua de mar sobre la disolución de los esqueletos calcáreos de dos especies comunes de la Bahía de Mochima, *Asaphis deflorata* y *Orbicella annularis*, organismos marinos representantes de los phylum Mollusca y Cnidaria, respectivamente. Para esto se realizaron experimentos en microcosmos en los cuales se incrementó la concentración de CO₂, con el fin de reducir el pH del agua del medio hasta alcanzar valores promedios de 7,4, a su vez se aumentó la temperatura hasta 32° C para evaluar el efecto de la misma en la disolución de los esqueletos y se evaluó el efecto de la interacción de estos dos factores. Entre los resultados se obtuvieron pérdidas de peso en los esqueletos de corales y bivalvos, siendo significativo únicamente el peso perdido por efecto de la disminución del pH (incremento de las concentraciones de CO₂), mientras que las variaciones de temperatura, ni la interacción de ambos factores (CO₂ y temperatura) generaron una disolución estadísticamente significativa en los esqueletos de estos organismos. Se sustenta con este experimento que la acidificación de los océanos afecta las estructuras calcáreas de los organismos marinos, mientras que el efecto invernadero, que conlleva a un aumento en la temperatura atmosférica y de los océanos, no parece ejercer un efecto importante sobre los esqueletos de las especies seleccionadas. Este estudio contribuye al conocimiento sobre los cambios en el sistema del CO₂, producto de la modificación de los factores antes mencionados y las consecuencias sobre esqueletos calcáreos, todo esto bajo las condiciones fisicoquímicas que imperan en los sistemas marino-costeros ubicados en la región nororiental de Venezuela.

PALABRAS CLAVE: Acidificación, microcosmos, temperatura, pH, disolución

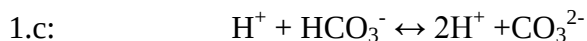
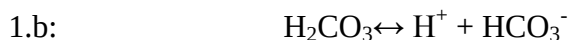
INTRODUCCIÓN

La atmósfera se encuentra formada mayoritariamente por nitrógeno (78%), oxígeno (21%), argón (~1%) y otros componentes minoritarios como es el dióxido de carbono (CO_2) que constituye solamente ~0,038% del total, siendo este compuesto uno de los más importantes debido a que afecta tanto al equilibrio térmico sobre la tierra (efecto de invernadero), como al equilibrio del carbono en los océanos (Kleypas y col. 2006).

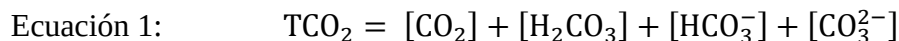
En la época pre-industrial, hace más de 200 años, la concentración de CO_2 en la atmósfera era de 280 ppm; actualmente se han registrado valores de 380 ppm, aproximadamente (IPCC 2001, 2007), y se espera que para el año 2100 se excedan 500 ppm (Raven y col. 2005; Kleypas y col. 2006; Hoegh- Guldberg y col. 2007; Fabricius, 2008). El aumento de actividades antropogénicas como la quema de combustibles fósiles, la industrialización, la producción de cemento y los cambios de uso del suelo, asociado a las actividades agrícolas, ha conducido a un incremento en las concentraciones de CO_2 en la atmósfera, aproximadamente 100 veces más rápido que en los últimos 650.000 años (IPCC 2001, 2007; Kleypas y col. 2006; Fabricius, 2008). Durante el siglo XX, el aumento de la concentración de CO_2 ha llevado a un incremento en la temperatura media de los océanos en $0,74^\circ \text{C}$, un aumento en el nivel del mar de 17 cm, ha disminuido la concentración de carbonato en el mar ($\sim 30 \mu\text{mol kg}^{-1}$) y ha aumentado la acidez en 0,1 unidades de pH (Hoegh- Guldberg y col. 2007; Fabricius, 2008)

Durante las décadas de los 80 y 90, sólo alrededor de la mitad del CO_2 liberado por la actividad humana se mantuvo en la atmósfera, los océanos absorbieron entre un 25 a 30% del CO_2 antropogénico, el otro 20% lo absorbió la biosfera terrestre (Kleypas y col. 2006; Hoegh- Guldberg y col. 2007). Se estima que en el próximo milenio el océano absorba aproximadamente el 90% del CO_2 antropogénico (Kleypas y col. 2006).

La solubilidad del CO_2 en el agua de mar es mayor que la del nitrógeno y la del oxígeno. Esto se debe a que el CO_2 disuelto reacciona con el agua para formar el compuesto químico ácido carbónico y sus productos de disociación, bicarbonato y carbonato, reacciones que se muestran a continuación:



La suma de las concentraciones de todos estos compuestos químicos se denomina dióxido de carbono inorgánico total (TCO_2) (Ecuación 1). El CO_2 como gas disuelto en el agua de mar está presente en cantidades muy pequeñas, aproximadamente $0,23 \text{ ml l}^{-1}$, representando menos del 2% del TCO_2 . El bicarbonato es la especie química más abundante, ya que existen varios procesos químicos que favorecen su formación, siendo la disolución del carbonato de calcio la fuente mayoritaria de formación de bicarbonato (Reacción 2) (Álvarez-Borrego, 2007).



Expresado en milimoles por Kg o por litros de agua de mar.



Las variaciones en la concentración de CO_2 disuelto alteran significativamente el valor del pH. Por otra parte, la solubilidad de los gases generalmente disminuye con el aumento de temperatura y salinidad, y aumenta con el incremento de presión (profundidad). El consumo de CO_2 en la Reacción 1, desplaza el equilibrio hacia la izquierda y la concentración de H^+ disminuye, por lo que el pH aumenta; mientras que al aumentar el CO_2 , la reacción se desplaza hacia la derecha, la concentración de H^+ aumenta y el pH disminuye (principio de Le Chatelier) (Álvarez-Borrego, 2007).

El agua de mar es ligeramente alcalina, con un pH de 8,1 a 8,3. Este parámetro varía de acuerdo a la profundidad en la columna de agua, dependiendo de la cantidad de luz que reciben las masas de agua. Así, el ambiente marino presenta una zona eufótica y una afótica, la primera se extiende desde la superficie hasta donde llega la luz. El pH puede variar de acuerdo a estas zonas, aumentando en las aguas superficiales mediante el consumo de CO_2 por fotosíntesis, pero normalmente no se excede de 8,4. Por debajo de la zona eufótica (máxima profundidad hasta donde llega la luz), el CO_2 aumenta por respiración; en zonas muy profundas también aumenta por disolución de exoesqueletos de carbonato de calcio (CaCO_3). A medida que el TCO_2 aumenta, el pH disminuye a valores de 7,6–7,8, aunque en aguas de baja salinidad o en condiciones anaeróbicas, donde las bacterias usan el oxígeno de los sulfatos para respirar y producen ácido sulfhídrico, puede alcanzar valores de 7,5 o menores a este (Álvarez-Borrego, 2007).

La absorción del CO_2 por el agua representa un "arma de doble filo", debido a que disminuye el impacto del efecto invernadero y cambio climático, pero también altera la química del agua resultando una disminución del pH que conlleva al proceso de acidificación de los océanos (Kleypas y Hoegh-Guldberg, 2008).

El aumento de la cantidad de CO_2 disuelto en el océano disminuye el pH, la disponibilidad de iones carbonato disueltos (CO_3^{2-}), ya que se consumen fácilmente por exceso de protones favoreciendo la formación de iones bicarbonato (Reacción 2); y el estado de saturación de los principales formadores de conchas de carbonato, ya que aumenta la solubilidad del CaCO_3 (Kleypas y col. 2006; Nienhuis, 2009). Una disminución de 0,1 unidades en la escala de pH, equivale al incremento en la concentración de H^+ en un 30% v/v. Si las emisiones globales de CO_2 procedentes de las actividades humanas siguen aumentando con las tendencias actuales, podemos esperar que el promedio de pH de los océanos caiga aproximadamente en 0,5 unidades para el año 2100. Este fenómeno tiene como nombre acidificación de los océanos ya que describe el proceso de disminución del valor de pH (Kleypas y col. 2006; Raven y col. 2005; Pörtner, 2008). Por lo tanto se habla de acidificación de los océanos como referencia al proceso que está ocurriendo, más no se espera que los mares se vuelvan ácidos sino menos básicos.

La acidificación de los océanos no es un fenómeno reciente. Se han experimentado 5 fenómenos de extinción masiva de animales tanto marinos como terrestres: el primero hace 434 millones de años, el segundo hace 360 millones de años, el tercero hace 251 millones de años, el cuarto hace 205 millones de años y el último hace 65 millones de años. Estos eventos han influenciado la evolución de la vida en la Tierra, siendo la disminución del pH de los océanos un factor determinante, que, entre otras consecuencias, ha conducido a la pérdida de biodiversidad en los arrecifes coralinos del mundo; más no el único factor, sino uno de los tantos componentes que actúan en sinergia a través de cientos de miles a millones de años (Veron, 2008).

La última extinción en masa ocurrió hace 65 millones de años (final del Cretácico), siendo este fenómeno bastante estudiado debido a su asociación con la desaparición de los dinosaurios (Veron, 2008). En este evento las altas concentraciones de CO₂ atmosférico no produjeron una disminución del pH tan significativa como las observadas actualmente, pues la velocidad con la cual aumentó la concentración de dióxido de carbono de la atmósfera fue mucho menor en comparación con la actual. Los cambios naturales que se asemejan a los producidos en la actualidad ocurrieron a finales de la última glaciación, cuando la concentración de CO₂ atmosférico aumentó alrededor de 80 ppm en un espacio de 6000 años (IPCC 2001, 2007; Pörtner, 2008); esta tasa es aproximadamente una centésima de los cambios que se producen actualmente. Estos cambios fueron lentos y el sistema de carbono de los océanos tuvo tiempo suficiente de interactuar con los sedimentos y mantener un equilibrio químico con ellos, amortiguando la química del agua de mar, reduciendo así los cambios del pH (Raven y col. 2005).

Los cambios de pH afectan a los organismos que habitan los océanos, ya que las tres formas del CO₂ disuelto en el agua de mar: ácido carbónico (H₂CO₃), bicarbonato (HCO₃⁻) y carbonato (CO₃²⁻), son importantes para los procesos biológicos de los mismos. Entre estos procesos se incluyen, la fotosíntesis por las algas marinas (en su mayoría fitoplancton), la producción de moléculas complejas de carbono orgánico a partir de la luz solar, y la calcificación que proporciona estructuras como conchas de carbonato de calcio (CaCO₃) (Raven y col. 2005). En este último proceso, los iones carbonato juegan un papel muy importante, ya que su concentración en el agua de mar determina la solubilidad del carbonato

de calcio (CaCO_3) (Reacción 3) y por consiguiente afecta la producción de estructuras carbonatadas como los esqueletos de algunos organismos marinos.



Entre los organismos cuyos esqueletos son de carbonato de calcio tenemos los corales, algunos moluscos gastrópodos (no pterópodos), crustáceos, equinodermos, algas coralinas, foraminíferos y cocolitofóridos (Raven y col. 2005 y Martin y col. 2008). Los esqueletos de los foraminíferos, equinodermos, crustáceos, algunas macroalgas y cocolitofóridos se componen de calcita; el de los corales, gastrópodos (moluscos pterópodos) y algunas algas coralinas está hecho de aragonita, mientras que algunos moluscos (no pterópodos) poseen esqueleto tanto de aragonita como de calcita.

La calcita y la aragonita son formas cristalinas del carbonato de calcio que se diferencian en la forma y disposición de los cristales; la aragonita tienen una formación de cristales con simetría rómbica que le confiere menor estabilidad que la calcita que posee simetría hexagonal, por lo tanto la aragonita es más soluble que la calcita (Raven y col. 2005). Cada estructura posee un estado de saturación diferente en el agua de mar. El estado de saturación de la aragonita es menor que el estado de saturación de la calcita y por lo tanto es más soluble en el agua de mar (Nienhuis, 2009). Por tal motivo, los organismos calcificadores que producen calcita son menos vulnerables a cambios en la acidez del océano que aquellos que construyen estructuras con aragonita (Raven y col. 2005; Álvarez-Borrego 2007). Consecuentemente, al disminuir el pH, disminuye la disponibilidad de iones carbonato y por consiguiente disminuye la calcificación de estos organismos y el crecimiento de los mismos.

ANTECEDENTES

Los estudios sobre la acidificación de los océanos han aumentado en los últimos años, generando un gran impacto en la comunidad científica y despertando un gran interés en conocer como los cambios climáticos producidos por el calentamiento global han desencadenado a un aumento del CO₂ antropogénico disuelto en el mar, afectando las especies marinas y sus ecosistema. Los resultados de experimentos que reflejan posibles cambios de pH en los océanos en los próximos 100 años, como por ejemplo, Hoegh-Guldberg y col. (2007), Guinotte y Fabry (2008), Kleypas y Hoegh-Guldberg (2008), y Frieler y col. (2012), pronostican que habrá un aumento en la temperatura de los mares de al menos 2° C y que la tasa de calcificación en organismos que asimilan carbonatos se reducirá, en función a los niveles preindustriales, en un 20 a 50% afectando a todas las especies o grupos de organismos calcificadores, conllevando a una disminución de la diversidad de los ecosistemas marinos, principalmente las comunidades coralinas.

Los corales son organismos que poseen un esqueleto constituido por carbonato de calcio en forma de aragonita, siendo éstos sensibles al cambio climático porque dependen de la temperatura del mar (superior a 20° C) y de la alcalinidad para formar dicho esqueleto (Calderón-Aguilera y col. 2007). La calcificación y crecimiento del esqueleto, en los corales escleractinios, es un proceso de dos etapas: la primera implica la secreción de una matriz orgánica, que permite incorporar la anhidrasa carbónica (enzima) para producir una superficie calcificante que utiliza iones de Ca²⁺ y CO₂ en lugar de CO₃²⁻ (Sandeman, 2012); de esta forma permite la cristalización de carbonato de calcio en forma de aragonita que es depositado en la matriz orgánica por medio de proteínas estructurales con una función catalítica similar a la de la anhidrasa carbónica. Este proceso de formación del esqueleto de los corales no se encuentra en contacto directo con el agua de mar (Allemand y col. 2004 y Sandeman, 2012). En cambio la disolución del esqueleto es un fenómeno diferente que si depende del carbonato, por lo tanto si se disuelven las zonas muertas del coral (expuestas al agua de mar) afectará la supervivencia de la colonia ya que debilitará la estructura de soporte (Sandeman, 2012).

Sin embargo el proceso de calcificación no se encuentra del todo claro y por lo tanto el efecto de la acidificación de los océanos sobre el mismo genera una diversidad de teorías.

Autores como Gattuso y col. (1999), Leclercg y col. (2000), Kleypas y col. (1999, 2001), Allemand y col. (2004) Marubini y col. (2008), Doney y col. (2009), sugieren que el aumento del CO_2 disuelto en el mar inducirá cambios en otros componentes de TCO_2 , tales como bicarbonato y carbonato, generando una disminución en la concentración de CO_3^{2-} afectando así la calcificación de los corales; cada uno con un enfoque diferente; por ejemplo, Allemand y col. (2004), Gattuso y col. (1999), Leclercg y col. (2000), Kleypas y col. (1999, 2001), Guinotte y Fabry (2008), Doney y col. (2009); sugieren que la calcificación se encuentra ligada al estado de saturación del CaCO_3 , que es la relación del producto de la concentración de iones ($[\text{Ca}^{2+}] \times [\text{CO}_3^{2-}] / k_{ps}$) entre el producto de solubilidad del mineral depositado; por lo tanto, una disminución en la concentración de CO_3^{2-} en el agua de mar se ha relacionado con una fuerte disminución en la calcificación de coral. Por otra parte, Marubini y col. (2008) proponen que este efecto está mediado ya sea por una disminución del carbonato, en el pH, o por una alteración del sistema de almacenamiento del búfer interno de los organismos que conduce a una interrupción del suministro de carbono a la calcificación, en lugar de un efecto directo del CO_2 o un cambio en la concentración de HCO_3^- . En cambio autores como Fine y col. (2007) sugieren que la acidificación de los mares producirán cambios morfológicos en los pólipos de coral, generando una disociación de la forma de la colonia y una disolución del esqueleto; sin embargo los corales podrían sobrevivir a gran escala a cambios ambientales como los esperados en el próximo siglo, ya que los mismos se pueden alternar entre cuerpos suaves y formas esqueléticas.

Otros autores, sugieren que las altas concentraciones de CO_2 permiten una calcificación más rápida, y enfatizan que lo que afecta a los organismos calcificadores, como corales y moluscos, es la disolución de las conchas y/o esqueletos expuestas a niveles bajos de pH (Rodolfo-Metalpa, 2011). Sin embargo, la habilidad de los corales para calcificar en estas condiciones se ve afectada cuando la acidificación se combina con el aumento de temperatura, por lo tanto trabajos que incluyan estos dos factores proporcionan una evaluación más realista en cuanto a la respuesta de los organismos calcificadores a cambios ambientales futuros (Pörtner, 2008; Wood y col. 2010 Rodolfo-Metalpa, 2011).

Actualmente se quiere conocer la respuesta de las comunidades coralinas a las variaciones de pH, por tal motivo se ha implementado trabajos con mesocosmos que permite recrear las condiciones generales del ecosistema de donde provienen los organismos y permiten estudiar la respuesta simultánea de más de una especie. Estos estudios se centran en: la producción primaria y exportación de material orgánico (Riebesell y col. 2007), o el flujo de nutrientes en los sedimentos (Widdicombe y Needham 2007) y sobre el efecto de la calcificación en comunidades en los arrecifes de coral (Jokiel, 2008).

También se han realizado trabajos con moluscos, especialmente con bivalvos. La clase Bivalvia comprende a los moluscos que presentan simetría bilateral sin bolsa visceral dorsal. El tegumento forma un pliegue o manto que envuelve al cuerpo y sobre el que se desarrolla una concha con dos valvas (Cargnin-Ferreira y Sarasquete, 2008). Dicha concha calcárea es formada por carbonato de calcio precipitado en forma de aragonita o calcita incrustado en una matriz orgánica elaborada (Harper, 2000 y Zhang, 2012). Existen evidencias fósiles, en rocas pertenecientes al Cámbrico, que reflejan que las conchas de bivalvos, inicialmente, eran de aragonita con una capa exterior nacarada; a diferencia de los bivalvos actuales que utilizan diferentes tipos de arreglo microestructurales en los cuales predomina la calcita (Harper, 2000).

Las microestructuras de calcita evolucionaron polifiléticamente tanto en bivalvos como en gastrópodos. Actualmente se conocen dos explicaciones para la evolución de las microestructuras de calcita. En primer lugar, la secreción de calcita se plantea como una necesidad fisiológica a bajas temperaturas sin ventaja selectiva; y en segundo lugar, se sugiere que las capas de las conchas de calcita surgen como adaptaciones contra la disolución en aguas frías o infrasaturadas, basado en la observación que la calcita es menos soluble que la aragonita (Harper, 2000; Raven y col 2005). Sin embargo estas propuestas se ven debilitadas por varias razones como por ejemplo, la gran cantidad de moluscos de latitudes altas y aguas profundas que no secretan calcita (Harper, 2000).

Las conchas de moluscos contienen una proporción de materia orgánica, sobre todo entre los cristales o como hojas dentro de la concha (Harper, 2000). La calcificación se

produce entre el tejido y la concha, donde el líquido extrapaleal posee un pH de 0,5 a 1 unidades más alto que el agua de mar (Rodolfo-Metalpa, 2011).

Los conocimientos sobre las propiedades de las sales establecen que los organismos con exoesqueleto de calcita, en lugar de aragonita, poseen mayor capacidad para resistir la disolución (Raven y col. 2005). Sin embargo, los estudios con bivalvos demuestran que existen otros factores, como el tamaño de los cristales o la proporción de la matriz orgánica, que pesan más en la determinación de la tasa de pérdida de la concha que la mineralogía de la misma (Harper, 2000). Entre tales factores se incluyen las condiciones en las cuales se crían los organismos, lo que afecta la sensibilidad de los mismos a la acidificación de los mares; esto lo confirmaron los estudios de Parker y col. (2010), quienes trabajaron con organismos de la misma especie criados en condiciones distintas (unos en vida silvestre y otros en cultivos) demostrando que la respuesta a la acidificación de los océanos varía, incluso, en organismos de la misma especie. Por otro lado, Rodolfo-Metalpa, (2011) determinó que la disolución de las conchas varía según la especie, aun cuando poseen conchas del mismo mineral, estableciendo que se debe a la presencia de una capa orgánica en algunas especie, llamada periostraco, que les confiere protección y que determina la susceptibilidad de la especie a la disolución debido a la acidificación de los mares.

Es necesario tener cuidado al interpretar las señales potenciales de la acidificación de los mares debido a que existen diversos parámetros que afectan la química y ultraestructura de las conchas. Además de los procesos metabólicos y el pH del agua de mar, factores tales como la salinidad, la temperatura del agua, la disponibilidad de alimentos y la densidad de la población, influyen en la formación de las conchas de carbonato de calcio, por tal motivo algunos ensayos experimentales han mostrado un aumento en la tasa de calcificación de bivalvos, mientras otros no muestran efecto alguno en la misma, principalmente experimentos con especímenes del género *Mytilus* (Rodolfo-Metalpa 2011, Hahn y col. 2012). Esto se ha confirmado con estudios de genoma que afirman que existe la posibilidad de adaptación de estos organismos a condiciones de estrés (Zhang y col. 2012).

Se ha demostrado que la respuesta de distintos organismos a la calcificación varía según la especie, sin embargo los resultados entre trabajos de distintos laboratorios son difíciles de comparar ya que es necesario la estandarización de protocolos para el control del agua de mar y para la medición de la tasa de calcificación (Fabry, 2008). También es necesario la realización de estudios con enfoque en las respuestas fisiológicas de las diferentes especies, tanto de interés comercial como las menos carismáticas, al efecto del aumento de CO₂ disuelto en el mar y aumento de temperatura de los mismos, para así apoyar el desarrollo y la evaluación de escenarios de predicción de cambios en los ecosistemas marinos, y realizar tomas de decisiones políticas con conocimiento que se ajusten a sólidos principios de gestión basada en los ecosistemas (Raven y col. 2005; Guinotte y Fabry, 2008; Pörtner, 2008; Hilmi y col. 2012).

Hasta la fecha, la mayoría de los estudios que han tratado de evaluar los impactos de la acidificación del océano sobre los organismos marinos han involucrado experimentos de laboratorio a corto plazo en una sola especie, a menudo con niveles de CO₂ muy superiores a los previstos para los próximos siglos (IPCC 2001, 2007). Las variables respuesta que tienden a ser medidas en la mayoría de estos experimentos son las variaciones en la calcificación, en el crecimiento y/o supervivencia.

Con base en las evidencias experimentales, sabemos que la acidificación del mar reduce la calcificación y tasas de crecimiento de algunos organismos, afectando la tasa de depósito en las conchas y esqueletos; sin embargo poco se ha tratado la tasa de disolución de los mismos, destacándose pocos trabajos en esta área, como Nienhuis, (2009); Rodolfo-Metalpa, (2011) y Sandeman (2012). Por tal motivo el presente proyecto se enfoca en evaluar la tasa de disolución de los esqueletos de dos especies comunes en la Bahía de Mochima-Venezuela, con el fin de comparar los efectos de las variaciones de pH y temperatura sobre esqueletos calcáreos de estos organismos marinos; siendo este el primer trabajo que se realiza bajo las condiciones climáticas y especies características de esta región.

OBJETIVOS

Objetivo general

Estudiar el efecto del incremento de la concentración de dióxido de carbono disuelto en el agua de mar y el efecto del aumento de la temperatura sobre esqueletos calcáreos de organismos marinos de dos especies, *Asaphis deflorata* (Bivalvia) y *Orbicella annularis* (Hexacoral), comunes de la bahía de Mochima, Venezuela.

Objetivos específicos

1. Diseñar microcosmos que simulen las condiciones fisicoquímicas de un ecosistema marino tropical sublitoral.
2. Controlar los valores de pH y temperatura y monitorear la salinidad y concentración de carbonato y bicarbonato de los microcosmos.
3. Inducir cambios de pH y temperatura en el agua de mar de los microcosmos, bajo tres condiciones:
 - a. Aumentando la concentración de dióxido de carbono disuelto en el agua hasta alcanzar un pH promedio de 7,4; pero manteniendo la temperatura constante.
 - b. Aumentando la temperatura del agua hasta alcanzar un valor promedio de 32° C, manteniendo fija la concentración de dióxido de carbono.
 - c. Aumentando la concentración de dióxido de carbono disuelto en el agua de mar hasta obtener un pH promedio de 7,4 e incrementando la temperatura del agua hasta un valor promedio de 32° C (o valores cercanos a éste).
4. Evaluar y comparar la respuesta de los esqueletos sometidos a los cambios de pH y temperatura del medio.

METODOLOGÍA

Área de estudio

El Parque Nacional Mochima es un área protegida desde 1973 con una superficie de 94.935 hectáreas, de las cuales el 52% corresponde a ambientes marinos; 42% ambiente continental y 6% ambientes insulares. Dicho parque se ubica en la región nororiental de Venezuela; justo en la porción litoral e insular que va desde la conurbación Barcelona- Puerto La Cruz hasta Cumaná y el sector septentrional del macizo montañoso de Turimiquire en la Cordillera Caribe Oriental (Figura 1). El área protegida está encuadrada por las coordenadas: 10° 9' 50" y 10° 26' 00" de Latitud Norte y 64° 13' 20" y 64° 47' 32" de Longitud Oeste. En cuanto a la división política territorial del país, el parque es compartido por los estados Anzoátegui y Sucre en territorio de los municipios Sotillo y Sucre, respectivamente (Instituto Nacional de Parques, 1973; Méndez y col. 2004; Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, 2010).

La Bahía de Mochima está ubicada dentro del Parque Nacional Mochima; esta presenta una comunicación directa con la fosa de Cariaco y con el Mar Caribe a través de una entrada en la parte norte de 1,7 km de ancho (Sánchez, 2006); posee una longitud de 7,6 km y su anchura está comprendida entre 0,3 y 3,5 km (Jiménez y Liñero-Arana, 2002; Esteves, 2011). Su zona interna se caracteriza por presentar aguas tranquilas, con fondos de pendientes suaves y regulares que alcanzan profundidades no mayores a 20 m, la zona central con pendientes muy pronunciadas, cuyas profundidades llegan hasta 27 m, y en la zona de la boca donde predominan costas con acantilados y profundidades que alcanzan los 60 m con fuerte oleaje (Sánchez, 2006).

El clima del parque es semiárido, con dos estaciones: una seca (enero a mayo) y otra lluviosa (junio a diciembre). La temperatura promedio anual es de 26,5° C y el régimen pluviométrico presenta un promedio de 3,5 mm/mes en el período seco y de 60-70 mm/mes en el período lluvioso. La temperatura del agua, dentro de la bahía, presenta una variación estacional que está directamente relacionada con las épocas de surgencias del área (enero-abril), aflorando a la superficie aguas de bajas temperaturas (entre 19° y 24°) que ingresan a la bahía, desde la cuenca de Cariaco, por acción de los vientos alisios que soplan en dirección E-

W durante enero a abril, causando desplazamiento de las aguas superficiales, que es ocupado por las sub-superficiales con características fisicoquímicas diferentes. Este proceso tiene un máximo durante abril y mayo, y uno secundario entre julio y agosto, generando cambios significativos en las condiciones hidrográficas de la bahía. Cuando los vientos cesan (mayo-diciembre) las masas de aguas se estabilizan ocurriendo una estratificación con el desarrollo de termoclinas, presentando temperaturas más elevadas en los meses de septiembre a noviembre con valores superiores a 24° C (Méndez de E y col. 2004; Ministerio del Poder Popular para el Ambiente, 2010; Sánchez, 2006). La humedad media litoral es de 76%; mientras que la evaporación media es de 6,0 mm en los meses de sequía y de 4,0 mm en la época lluviosa.

Las condiciones fisicoquímicas del agua de la bahía muestran cierta estacionalidad relacionada con los períodos de sequía y lluvia. La salinidad del agua presenta pocas variaciones, debido a las pocas desembocaduras de ríos, y está comprendida entre 33,33 y 37,14‰ (Jiménez y Liñero-Arana, 2002). Estos cambios ocurren principalmente hacia las áreas de la costa donde hay drenaje de quebradas en época de lluvia, o en las capas de agua profundas por el fenómeno de surgencia. La turbidez dentro de la bahía está relacionada con la surgencia que incrementa la carga de nutrientes y genera un aumento en la biomasa planctónica, y con los sedimentos que son arrastrados en la época de lluvias desde las costas de la bahía; esto altera la transparencia y la penetración de la luz, las cuales son mayores en épocas donde no se observa surgencia ni lluvias (Sánchez, 2006).

La Estación de Investigaciones Marinas Idea-Mochima se ubica en el pueblo de Mochima (Figura 2), cerca de Cumaná. En dicha estación se realizaron los experimentos con microcosmos ya que posee las condiciones adecuadas para realizar el trabajo con flujo continuo de agua de mar.

El trabajo experimental se llevó a cabo durante el mes de febrero y principios del mes de marzo de 2014, por lo tanto fue realizado durante el período de surgencia costera.

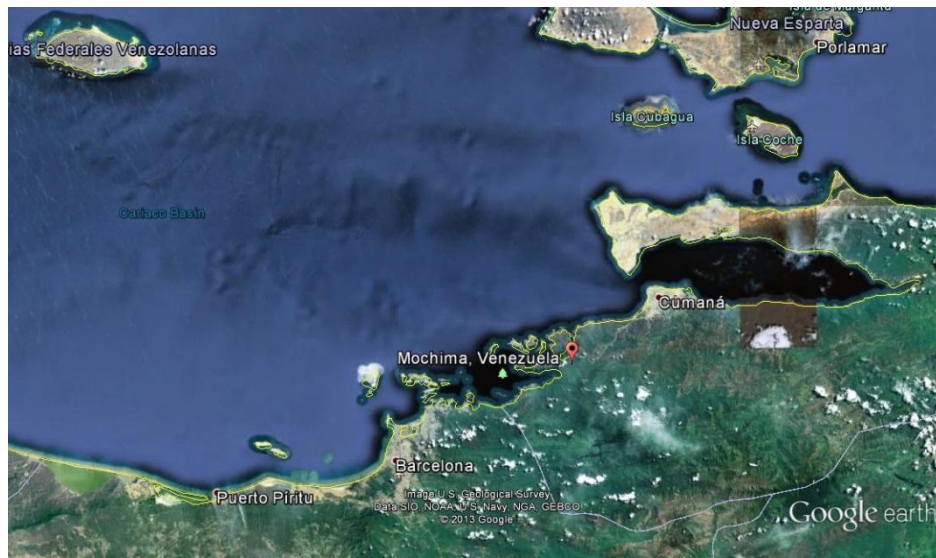


Figura 1. Vista aérea del Parque Nacional Mochima (Tomado de: Google Earth, consultado el 04/05/2013).



Figura 2. Pueblo de Mochima (Tomado de: Google Earth, consultado el 04/05/2013).

Métodos de campo

Actividades previas al montaje experimental

Inicialmente se realizó una visita a la Estación de Investigaciones Marinas Idea-Mochima en donde se evaluaron las condiciones de infraestructura y equipamiento de la misma. Fue seleccionada dicha estación ya que cuenta con el sistema de flujo continuo de agua de mar, que es necesario para la elaboración y funcionamiento de los microcosmos. Dicho sistema consta de una bomba de agua de 1 Hp (caballo de fuerza) que bombea el agua de mar, que es tomada a 3,5 metros de profundidad a una distancia de 20 metros de la estación biológica, a través de tuberías de PVC de 2 pulgadas a los estanques de la estación (Fig. 3 y 4). Los parámetros fisicoquímicos registrados en esta profundidad son comparables con los presentes en las profundidades en las cuales se encuentran las especies estudiadas, ya que las mismas predominan en las zonas someras (entre 0 y 4 m) de las playas de la bahía de Mochima (Sánchez, 2006).



Figura 3. Bomba de agua.



Figura 4. Tuberías de PVC que transportan el agua.

Elaboración de los microcosmos

Los microcosmos son pequeños sistemas experimentales que recrean las condiciones generales de ecosistemas naturales en los cuales se pueden controlar las variables ambientales (Kleypas, 2006); por tal motivo se utilizan con frecuencia para evaluar el impacto que genera la acidificación de los océanos sobre organismos con esqueletos calcáreos. La ventaja de los estudios en estos sistemas es que reduce al mínimo la variabilidad natural para resaltar el efecto de una variable en un sistema (Watka, 2009).

Para el desarrollo de este ensayo se realizaron experimentos en microcosmos con el fin de simular condiciones de acidificación de las aguas. Se controlaron los parámetros ambientales que se deseaban estudiar y se redujo el efecto de otras variables naturales. Para esto, se instalaron sistemas cerrados en donde se retuvo agua de mar filtrada en frascos de vidrio de 4 litros, en dichos sistemas se aumentó la temperatura y se disminuyó el pH mediante regulación con termostatos e inyección de CO₂, respectivamente.

Se trabajó con sistemas de flujo continuo que bombeaba el agua directamente desde el mar a los estanques de la estación, para así evitar variaciones en los parámetros fisicoquímicos del agua y controlar la evaporación de la misma con inyecciones periódicas de agua a los microcosmos.

➤ Materiales para la elaboración de los microcosmos

El diseño de experimentación de los microcosmos contempla los siguientes componentes: 4 unidades experimentales (frascos de vidrio de 4 L), tapas de vidrio perforadas, peceras de vidrio para aislar los frascos, una bomba de 1 Hp para tomar el agua de mar, bomba de aire de 1 Hp, bombona de CO₂ con nanómetro, filtro Pasteur, filtros para materia orgánica Whatman 41 (para retención de partículas entre 20 y 25 µm), tuberías de PVC para la distribución de agua, mangueras para la inyección de CO₂ y termostatos de pecera de 50 W.

➤ *Montaje de microcosmos*

Se instalaron 4 frascos de vidrio sumergidos en peceras con agua de mar. En dos de las peceras se colocaron termostatos para variar la temperatura, mientras que en las otras no. Los frascos se llenaron con tres litros de agua bombeada directamente desde el mar a través de tuberías de PVC hacia la estación. El agua pasó por un filtro Pasteur y luego se recolectó en beakers de 500 ml para ser nuevamente filtradas con el papel Whatman. Se realizó doble filtrado para eliminar la materia orgánica; con el filtro Pasteur se retuvo la materia de mayor tamaño, mientras que con el papel de filtro se retuvieron partículas mucho más pequeñas (25 μm).

Una vez llenos los frascos se colocaron las muestras (6 esqueletos de coral y 6 conchas de bivalvos) y se cerraron con tapas de vidrio para disminuir la evaporación. En la elaboración de las tapas se previó la apertura de un orificio a través del cual se colocó una manguera para permitir el burbujeo al interior de los frascos, y en el caso de los tratamientos de inyección de CO_2 permitir el suministro del mismo (Figura 5).

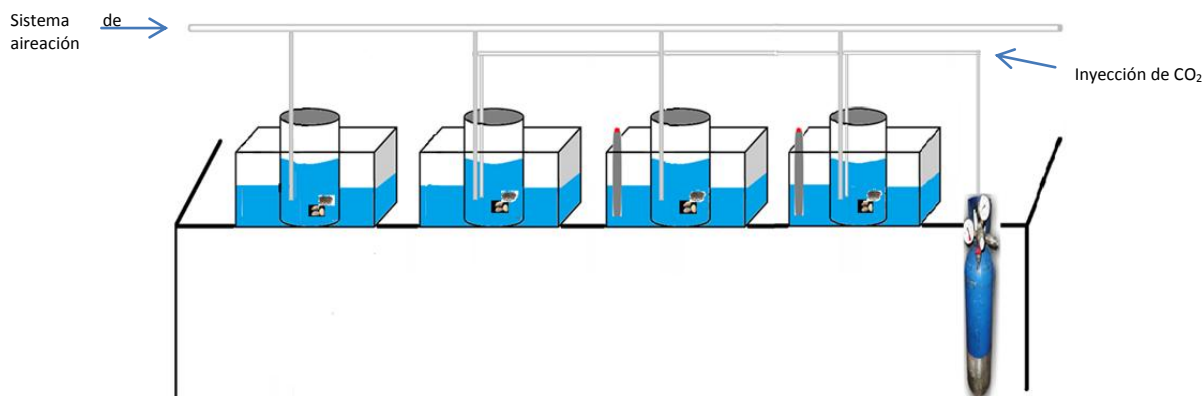


Figura 5. Esquema del montaje experimental utilizado para el desarrollo del ensayo.

Recolección y tratamiento de muestras

Se realizaron colectas de conchas de bivalvos y esqueletos de corales muertos (Phylum: Mollusca y Cnidaria) en las orillas de las playas Mangle Quemado, Garrapata y Las

Maritas, todas ubicadas dentro de la bahía, con el fin de emplearlas en el desarrollo de los experimentos.

Se seleccionaron 24 conchas del bivalvo más abundante, *Asaphis deflorata*, cuyos pesos fueran similares (aproximadamente 3,8 gramos). En cuanto al coral, fue seleccionado un pedazo de gran tamaño de *Orbicella annularis* del cual se cortaron 24 fragmentos de tamaños y pesos lo más similares posibles con un esmeril Dewalt de 4 ½ pulgadas. Tanto las conchas como los fragmentos de coral fueron lavados con agua caliente y limpiados con una esponja para eliminar cualquier resto de materia orgánica (Figura 6 y 7), luego fueron lavados con agua destilada y se secaron por 24 horas en una estufa a 170 °C para pesar en una balanza analítica de 3 decimales de apreciación. Todos los fragmentos de corales y bivalvos fueron sujetos a los distintos tratamientos (la metodología usada se detallará en la próxima sección).



Figura 6. Ejemplar antes de limpiar



Figura 7. Ejemplar después de limpiar.

Diseño experimental

Se realizó un diseño factorial 2^k para el desarrollo de este ensayo experimental; este tipo de diseño es ampliamente utilizado en las etapas primarias de un trabajo experimental cuando hay muchos factores que pueden ser estudiados (Montgomery, 2001). Sin embargo como solo se tomaron en cuenta dos factores (temperatura y CO_2) con dos niveles cada uno (alto y bajo), se trabajó con un diseño factorial 2^2 .

Para el caso del CO_2 , se midió el pH obtenido según la concentración del dióxido de carbono disuelto. El nivel alto corresponde al pH promedio presente en el agua de mar de

Mochima (8,02) mientras que el nivel bajo corresponde al pH promedio alcanzado tras la inyección de CO₂ (pH=7,40). Es necesario resaltar, que para alcanzar un pH alto la concentración de CO₂ debe ser baja, mientras que para alcanzar un nivel bajo la concentración del CO₂ debe ser alta. En cuanto a la temperatura se tomó como nivel bajo la temperatura promedio del agua de mar (26,2° C), mientras que el nivel alto corresponde a una temperatura promedio de 32° C. Las combinaciones de tratamientos y procedimientos fueron las siguientes:

- T1. Temperatura baja y pH alto: se tomó en cuenta como el control del ensayo ya que no se le aplicó ninguna variación; tales magnitudes corresponden a las condiciones de temperatura y pH características del agua de mar en la Bahía de Mochima para la época de experimentación (T=26° C y pH= 8,0)
- T2. Temperatura alta y pH alto: para aumentar la temperatura se colocaron los frascos de vidrio de 4 litros en baño de María, dentro de peceras llenas con agua de mar, a las cuales se calentó por medio de termostatos hasta alcanzar la temperatura deseada (32° C). En cuanto al pH no se realizó ninguna variación (pH=8,0).
- T3. Temperatura baja y pH bajo: Para esto se aumentó el suministro de CO₂ al agua de mar mediante la utilización de una bombona de CO₂ hasta alcanzar un pH cercano a 7,4; mientras que la temperatura se mantuvo constante e igual a la temperatura promedio del agua de mar (26° C).
- T4. Temperatura alta y pH bajo: Se aplicó simultáneamente inyección de CO₂ hasta alcanzar un pH cercano a 7,4; y se aumentó la temperatura hasta 32° C, con el uso del termostato.

En el interior de cada unidad experimental se colocaron 6 esqueletos calcáreos de cada grupo seleccionado (bivalvo y coral) previamente pesados. El experimento se llevó a cabo durante 3 semanas, interrumpiendo el mismo cada 6 días, con el fin de ir cuantificando el efecto de las condiciones experimentales de cada tratamiento sobre el peso de los esqueletos calcáreos sujetos a experimentación, y de realizar recambios del agua de mar. Para esto, al finalizar la semana de tratamiento, se lavaban las conchas con agua corriente y agua destilada para eliminar el exceso de sales, se secaron por 24 horas en una estufa a 170° C. Después de

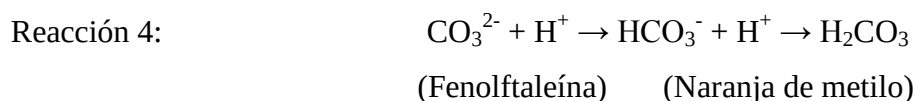
secados los ejemplares se mantuvieron dentro de un desecador para que no absorbieran agua del medio y fueron pesadas en una balanza analítica. Las mediciones de los parámetros fisicoquímicos de los microcosmos se realizaron tres veces al día (7 am, 1 pm y 7 pm) para controlar posibles variaciones en las medidas estipuladas.

Se seleccionó un pH mínimo de 7,4 y una temperatura máxima de 32° C ya que se estima que el pH disminuya en 0,5 unidades y la temperatura aumente 2° C para el 2100. Siendo el valor de pH promedio registrado para la bahía de 7,95 y la temperatura máxima de 30° C en aguas superficiales.

Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos del agua medidos directamente en las peceras fueron: la salinidad, densidad, pH y temperatura. Sin embargo, para medir la concentración de iones carbonato y bicarbonato se extrajo una muestra de agua de cada tratamiento en las distintas etapas del mismo, para realizar las titulaciones correspondientes. Todos los parámetros fueron medidos antes de iniciar los tratamientos, durante y después de los mismos.

La temperatura y el pH del agua se midieron con un microprocesador portátil Walklab TI9000. En cuanto a la salinidad y densidad, las mediciones fueron tomadas con un refractómetro marca ATAGO. La concentración de iones carbonato y bicarbonato se determinaron mediante titulación de una muestra de agua de mar con una solución estandarizada de ácido clorhídrico, mediante dos puntos sucesivos de equivalencia, indicados por el cambio de color de dos indicadores, fenolftaleína y naranja de metilo, respectivamente. La reacción implicada (Reacción 4), es la siguiente (López, 2013):



Si al agregar fenolftaleína se tornaba la muestra rosada, entonces el pH era superior a 8,2 indicando que había muy poco CO₂ libre, pues el dióxido de carbono disuelto se

presentaba como carbonato y bicarbonato. En caso contrario, cuando no se presentaba el color rosado, el pH era menor a 8,2 y el dióxido de carbono disuelto se presentaba bajo las formas de bicarbonato y dióxido de carbono libre (Figura 8) (Rigola, 1990; Roldán y Ramírez, 2008). Para este último caso solo se agrega el naranja de metilo al titular (López, 2012).

Para la titulación se agregaron, en un Erlenmeyer de 250 ml, 30 ml del agua de mar y se agregaron 2 gotas de fenolftaleína, la cual se tornó rosada y se tituló con HCl estandarizado 0,02 M hasta observar el cambio de coloración a transparente, el volumen de ácido añadido correspondía a la cantidad de iones de carbonato presentes en la muestra (Jackson, 1942). Esto solo se realizó con las muestras de los tratamientos con pH alto.

Luego se añadieron dos gotas de naranja de metilo, la cual se tornó naranja y se valoró con una solución de ácido clorhídrico estandarizada 0,02 M hasta observar el cambio en la coloración de naranja a rojo; el volumen de ácido añadido correspondía a la cantidad de iones bicarbonatos presentes en el agua (Jackson, 1942). Obtenidos estos volúmenes se realizaron los cálculos pertinentes para determinar la concentración de los iones carbonato y bicarbonato presentes en la muestra de agua.

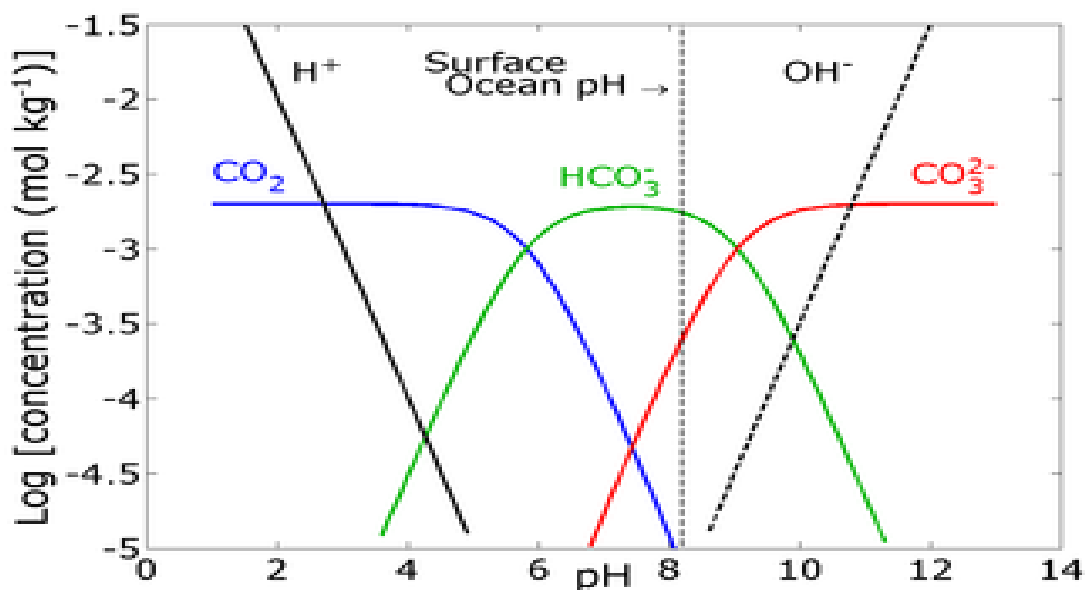


Figura 8. Concentración de las 3 formas del CO_2 inorgánico disuelto en el agua de mar. (Tomada de Millero 1995).

Procesamiento de datos

Concentración de iones carbonato y bicarbonato

Para determinar la concentración de los iones carbonato y bicarbonato presentes en el agua de mar fue necesario relacionar los moles del valorante (HCl) con los moles del analito (carbonato o bicarbonato según sea el caso) (Harris, 2003). Con el volumen de HCl agregado a la muestra de agua de mar y la concentración del ácido se determinó la concentración del ión problema según la siguiente ecuación:

Ecuación 2:
$$C_1V_1 = C_2V_2$$

De la cual se despejó la concentración del ión determinado según se muestra a continuación (Ecuación 2.1):

Ecuación 2.1:
$$C_2 = C_1V_1 / V_2$$

Donde C_1 corresponde a la concentración del ácido y V_1 al volumen del mismo añadido.

C_2 corresponde a la concentración molar del ión determinado y V_2 el volumen del mismo.

Luego para comparar los resultados obtenidos con la gráfica de la concentración de dióxido de carbono, carbonato y bicarbonato (Figura 8); se realizó la conversión a molalidad (mol/kg) mediante las siguientes relaciones:

$$M \text{ (moles del ión determinado /l) } \times l \text{ de la muestra titulada } = \text{ moles}$$

$$\text{ml de la muestra titulada} \times \text{densidad (g/ml)} = \text{Kg}$$

$$m = \text{moles} / \text{kg}$$

Por último se le calculó el logaritmo a la molalidad de cada ión para comparar con la figura 8 (Anexo 3).

Alcalinidad total

La alcalinidad total del agua de mar, se aproxima con la alcalinidad de los carbonatos (Ecuación 3), y se define como la suma de bicarbonato y carbonato en $\mu\text{mol por kg}^{-1}$ de agua de mar (Álvarez-Borrego, 2007):

Ecuación 3:
$$A_T = [\text{HCO}_3^-] + 2[\text{CO}_3^{2-}]$$

Con los valores obtenidos en la titulación para concentración de carbonatos y bicarbonatos se determinó la alcalinidad total para cada tratamiento y cada semana utilizando la ecuación señalada arriba.

Sistema del CO_2 disuelto en los microcosmos

Con los parámetros fisicoquímicos medidos en campo se pudo calcular, mediante el programa CO_2SYS (Pierrot y col. 2006), el dióxido de carbono inorgánico total, concentración de CO_2 disuelto en los microcosmos, fugacidad del CO_2 (presión parcial de dicho gas en el sistema), y saturación de calcita y aragonita.

Pérdida de peso estandarizada

Para el cálculo de la pérdida de peso estandarizada se calculó la diferencia entre el peso al inicio de la semana de cada tratamiento y el peso al final, dicha diferencia se dividió entre el peso inicial para así disminuir el efecto de la diferencia de tamaños iniciales entre las muestras.

Tasa de disolución de las muestras

Para obtener la tasa de disolución estandarizada de las muestras por semana, se calculó la diferencia entre el peso al iniciar la semana de tratamiento y el peso al final y se dividió entre el peso inicial. Luego ese resultado se dividió entre el número de días que estuvo expuesta la muestra al tratamiento durante esa semana (6 días); de esta forma se obtuvo el peso en gramos perdido diariamente por cada muestra. Esto se realizó para las 6 muestras de cada tratamiento y para las tres semanas que duro el ensayo y luego se promediaron las 6

muestras por tratamiento y los tratamientos por las 3 semanas de ensayo para obtener la tasa de disolución promedio estandarizada en función al peso inicial.

Análisis estadísticos

Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos; temperatura, pH y salinidad; fueron promediados por semana para los cuatro tratamientos con la finalidad de comparar las variaciones de los mismos entre los tratamientos. Para determinar si existían diferencias significativas, se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas de Kruskal-Wallis y pruebas a posteriori U-Mann Whitney, debido a que los datos obtenidos no cumplían con el supuesto de normalidad para la aplicación de pruebas paramétricas. Adicionalmente se realizaron comparaciones con base en la desviación estándar de los datos, mediante el uso de graficas de caja y bigotes con el fin de comparar la dispersión y simetría de dicho parámetro entre tratamientos.

Pesos iniciales de las muestras

Para determinar si había homogeneidad entre los pesos iniciales de las muestras sometidas a un mismo tratamiento, se realizaron Anovas de una vía tanto para las muestras de corales como para las conchas de bivalvos, ya que los datos cumplían con el supuesto de distribución normal y homogeneidad de varianza. Todos estos análisis estadísticos fueron realizados mediante el programa Past.

Diseño experimental factorial 2²

El diseño experimental factorial 2² es un modelo multivariado que permite el estudio simultáneo de dos factores sobre una o más variables, empleando el menor número de experiencias posibles. Para la realización de este análisis se tomaron en cuenta como factores CO₂ (A) y temperatura (B) con sus respectivos niveles, alto (+) y bajo (-), para un total de cuatro combinaciones independientes (Tabla 1). Este modelo se aplicó a seis réplicas

(esqueletos) por grupo, considerando como variable respuesta la pérdida de peso estandarizada (peso perdido entre el peso inicial) por un periodo de tres semanas, lo que nos permitió estimar la variación de los efectos en el tiempo.

Tabla 1. Matriz de experimento para el diseño factorial 2^2 aplicado en el ensayo. A: concentración de CO_2 suministrado a los microcosmos y B: temperatura de los mismos.

Nomenclatura		A	B
T1	Control	-	-
T2	Aumento temp.	-	+
T3	Disminución pH	+	-
T4	Combinado	+	+

Este diseño experimental permite determinar el valor estimado de los efectos de los factores principales y el valor para la interacción de los factores y su significancia mediante un análisis de varianza que pone a prueba la hipótesis de igualdad de los factores (pH, temperatura) sobre la pérdida de peso estandarizada, tomando en cuenta las siguientes hipótesis (Montgomery, 2001):

$$\begin{cases} H_0: \tau_1 = \tau_2 = 0 \text{ (el factor A no influye)} \\ H_1: \text{algún } \tau_i \neq 0 \text{ (el factor A influye)} \end{cases}$$

$$\begin{cases} H_0: \beta_1 = \beta_2 = 0 \text{ (el factor B no influye)} \\ H_1: \text{algún } \beta_i \neq 0 \text{ (el factor B influye)} \end{cases}$$

$$\begin{cases} H_0: (\tau\beta)_{ij}=0 \text{ para todos los } i,j \text{ (no hay interacción)} \\ H_1: \text{algún } (\tau\beta)_{ij} \neq 0 \text{ (hay interacción)} \end{cases}$$

Los análisis para el diseño factorial se realizaron mediante el programa Statgraphics plus. Dicho programa calcula el coeficiente de determinación R^2 que nos indica si existe un ajuste de los datos al modelo propuesto.

Comparación de las respuestas entre corales y bivalvos

Para evaluar la diferencia en la pérdida de peso entre corales y bivalvos se realizaron análisis de varianza no paramétricos (Kuskal-Wallis), pues los datos no cumplían con los supuestos de normalidad para pruebas paramétricas.

RESULTADOS

Parámetros fisicoquímicos

pH

El pH promedio del agua de mar de la bahía de Mochima para la fecha del ensayo fue de $7,95 \pm 0,18$. Registrándose valores de pH de 8,16; 7,82 y 7,88 para la primera, segunda y tercera semana del ensayo experimental.

En cuanto a los microcosmos se halló que en general el valor promedio de pH para los distintos tratamientos presentó una tendencia similar en las tres semanas del experimento (Figs. 9, 10 y 11), con valores de pH más elevados en T_1 (control) y en T_2 (aumento de temperatura) y valores más bajos en T_3 (aumento de CO_2) y T_4 (aumento de temperatura y CO_2). Se hallaron diferencias estadísticamente significativas al comparar el pH de los 3 tratamientos (T_2 , T_3 y T_4) y el control, en una misma semana (Kruskal-Wallis: $H=58,01$; $H=47,33$; $H=49,83$; $p<0,05$ para las tres semanas respectivamente).

Los tratamientos sin aumento de la concentración de CO_2 (T_1 y T_2) no produjeron variaciones en el pH ($p>0,05$ durante las tres semanas de tratamiento). En cambio los tratamientos donde sí se aumentó este factor (T_3 y T_4), registraron variaciones en el pH resultando similares entre sí ($p>0,05$ para las tres semanas de tratamiento). Sin embargo, al comparar el pH de los tratamientos a los cuales se les suministró CO_2 (T_3 y T_4), con los tratamientos sin CO_2 (T_1 y T_2), se obtienen diferencias significativas en el pH registrado ($p<0,05$) (Figura 9-11).

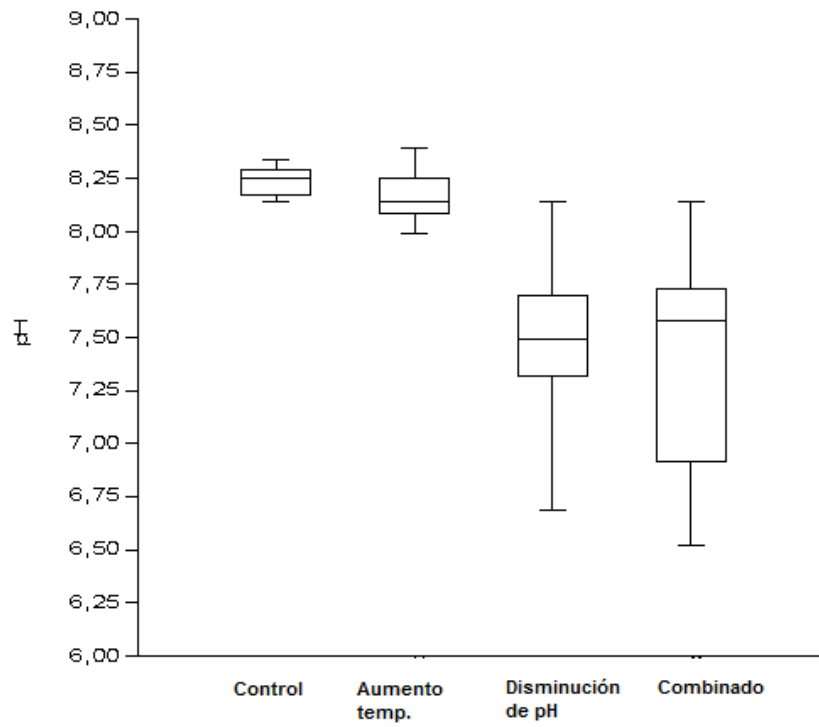


Figura 9. pH promedio de los cuatro tratamientos para la primera semana de ensayo.

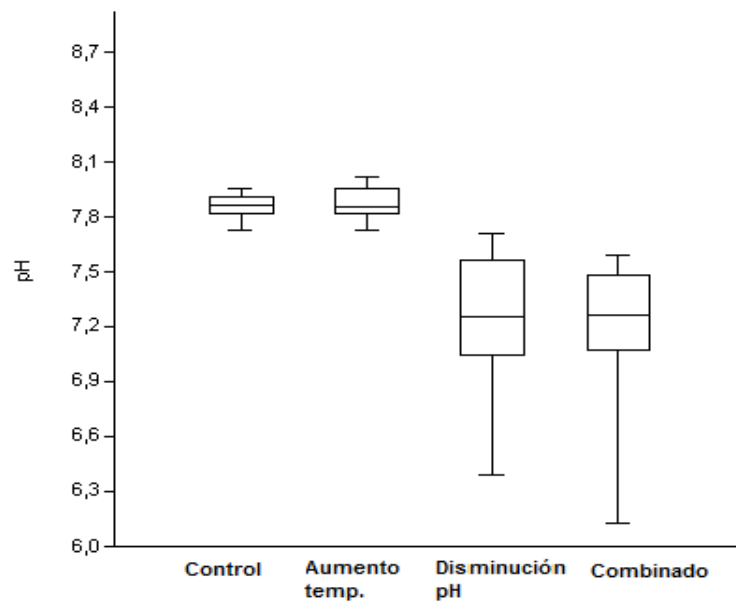


Figura 10. pH promedio de los cuatro tratamientos para la segunda semana del ensayo.

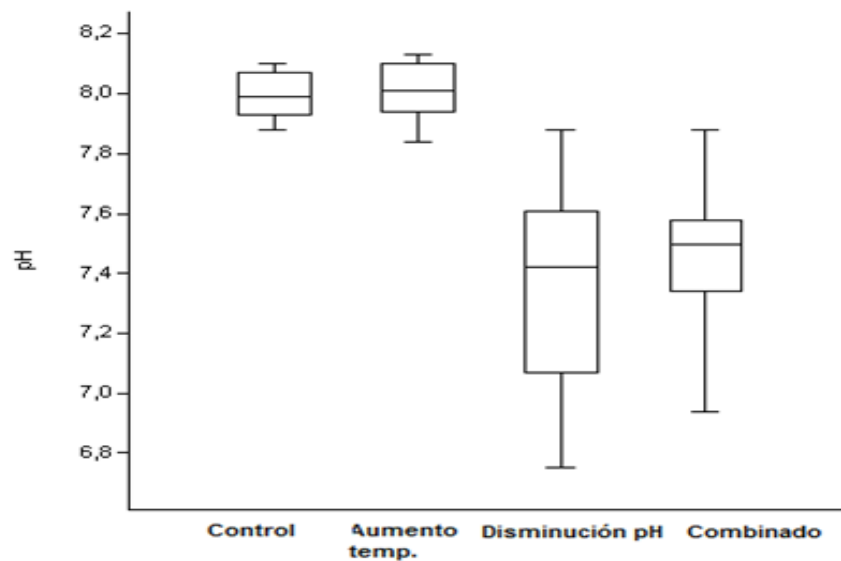


Figura 11. pH promedio de los cuatro tratamientos para la tercera semana del ensayo.¹

En las figuras 12, 13 y 14 se observan las variaciones diarias del pH (tres medidas diarias) para los tres tratamientos y el control durante cada semana. Las curvas de pH para T₁ y T₂ presentan comportamientos similares durante las tres semanas; presentando una ligera disminución del pH con el aumento de la temperatura durante la primera semana y un ligero aumento del pH durante los días 5 y 6 de la segunda semana, y a partir del cuarto día de la tercera semana. Esto se debe a las variaciones de temperatura y salinidad de los sistemas que afectan el pH de los mismos. Cabe destacar, que en ambas curvas (T₁ y T₂) se aprecia una caída del valor de pH promedio durante el inicio de la segunda semana experimental que va aumentando con el transcurso de los días. En estos ensayos se aprecian valores de pH constantes a lo largo de cada día registrándose en desviaciones estándar muy pequeñas.

Por el contrario, en las curvas de pH de T₃ y T₄, los valores registrados presentan mayores fluctuaciones a lo largo del día. En estas curvas se observa una disminución de pH abrupta para el día 3 de la segunda semana, en T₃ a $6,73 \pm 0,33$ y T₄ a $6,83 \pm 0,61$.

¹ En las gráficas de cajas y bigotes, el rectángulo (caja) se encuentra alineado inferiormente con el primer cuartil (Q1) y superiormente por el tercer cuartil (Q3). La línea horizontal que divide el rectángulo representa la mediana. Las líneas horizontales que se ubican por encima y debajo del rectángulo (bigotes) representan la medición más grande y más pequeña del conjunto de datos.

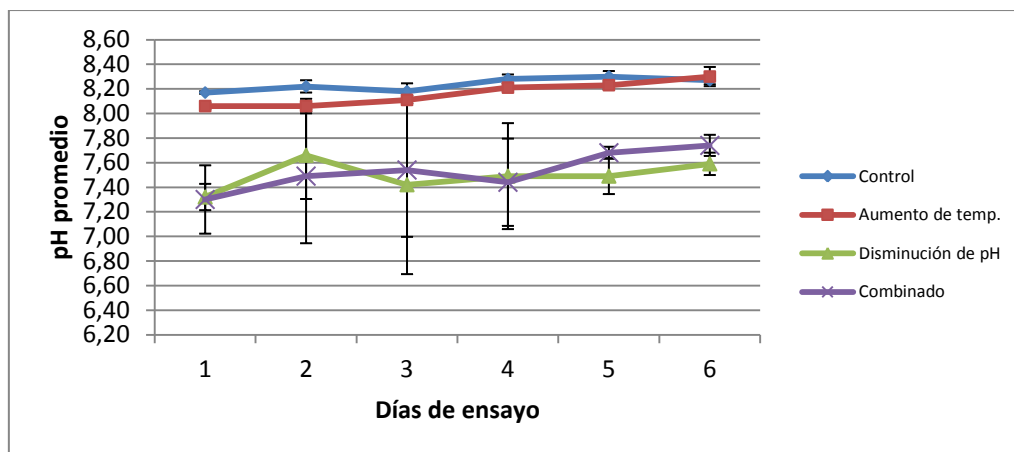


Figura 12. Variación diaria de pH en los 4 tratamientos para la primera semana del ensayo.

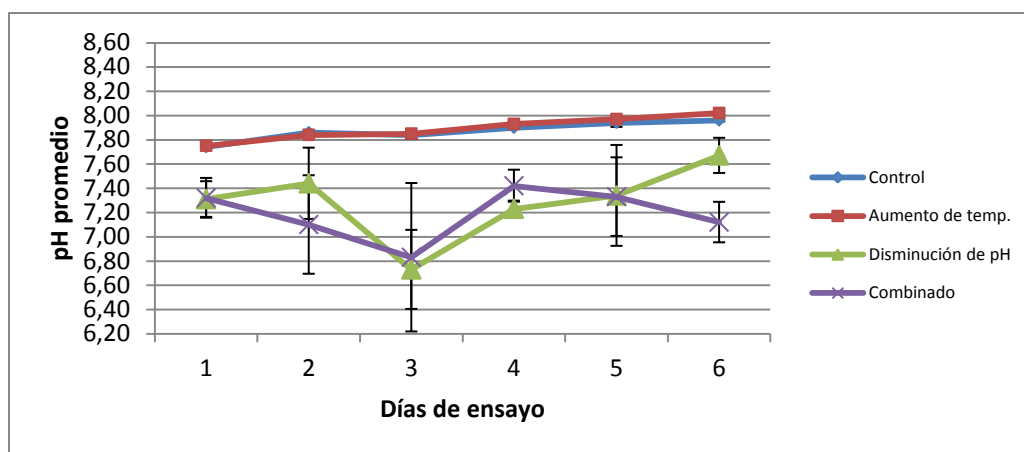


Figura 13. Variación diaria de pH en los 4 tratamientos para la segunda semana del ensayo.

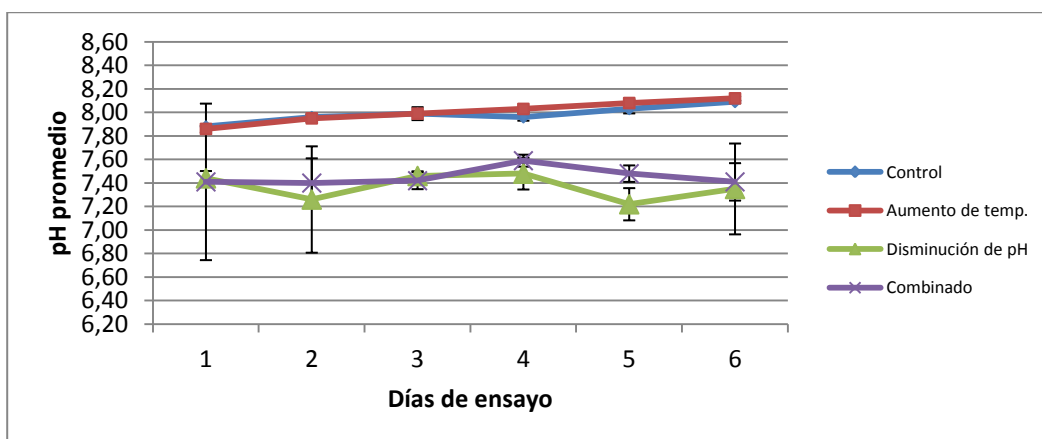


Figura 14. Variación diaria de pH en los 4 tratamientos para la tercera semana del ensayo.

Temperatura

En la bahía de Mochima la temperatura del agua cercana a la Estación de investigaciones donde se realizó este estudio presentó un valor promedio de $24,1 \pm 1,15^{\circ} \text{C}$, registrándose valores de temperatura promedio de $24,2$; $23,0$ y $25,3^{\circ} \text{C}$ para la primera, segunda y tercera semana, respectivamente.

Al igual que para el pH, en los microcosmos se halló que en general el valor promedio de temperatura para los distintos tratamientos presenta una tendencia similar en las tres semanas del experimento. Por otra parte, la temperatura promedio presenta diferencias significativas entre los 3 tratamientos y el control para las tres semanas del ensayo (Kruskal-Wallis; $H=56,67$; $H=47,52$; $H=50,30$; $p < 0,05$ para las tres semanas respectivamente). Sin embargo, luego de aplicar las pruebas a posteriori, U-Mann-Whitney, los promedios de temperatura resultaron estadísticamente semejantes para el control y el tratamiento con disminución de pH (T_1 y T_3) con valores promedio de: $26,08 \pm 1,13^{\circ} \text{C}$ y $26,28 \pm 1,08^{\circ} \text{C}$ ($p=0,5786$) para la primera semana; $26,31 \pm 1,10^{\circ} \text{C}$ y $26,33 \pm 1,03^{\circ} \text{C}$ ($p=0,8799$) para la segunda semana; y $26,24 \pm 0,96^{\circ} \text{C}$ y $26,35 \pm 1,94^{\circ} \text{C}$ ($p=0,759$) para la tercera semana, respectivamente. Así como el tratamiento aumento de temperatura y el tratamiento combinado (T_2 y T_4), con valores promedios de: $31,99 \pm 2,01^{\circ} \text{C}$ y $32,25 \pm 1,76^{\circ} \text{C}$ ($p=0,776$) para la primera semana; $31,81 \pm 1,17^{\circ} \text{C}$ y $32,11 \pm 1,01^{\circ} \text{C}$ ($p=0,3264$) para la segunda semana; y $32,41 \pm 1,09^{\circ} \text{C}$ y $32,47 \pm 1,01^{\circ} \text{C}$ ($p=0,7692$) para la tercera semana.

En cuanto a los promedios de temperatura, los tratamientos con aumento de este factor (T_2 y T_4) y el control; y dichos tratamientos con relación a T_3 (disminución de pH) presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Estas diferencias se pueden apreciar en las figuras 15, 16 y 17; en donde a su vez, se destaca mayor similitud en los datos durante la última semana, y mayor dispersión durante la primera semana del ensayo.

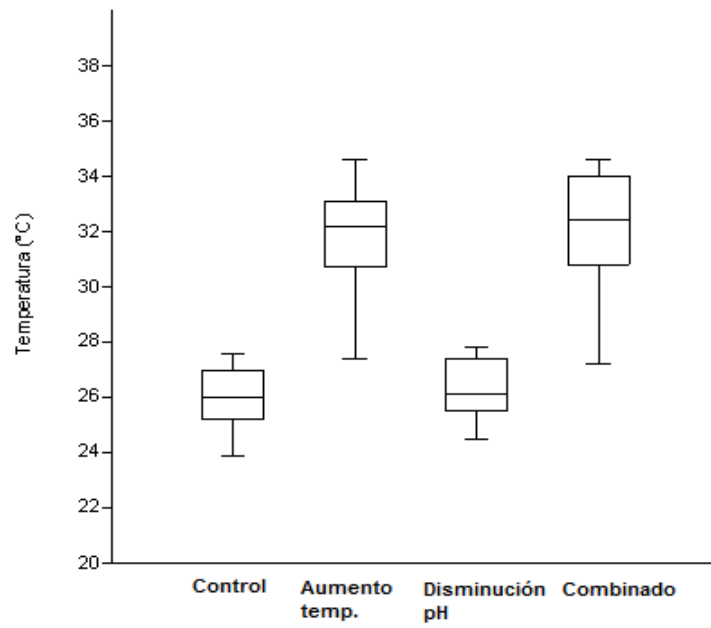


Figura 15. Temperatura promedio para la primera semana de tratamiento.

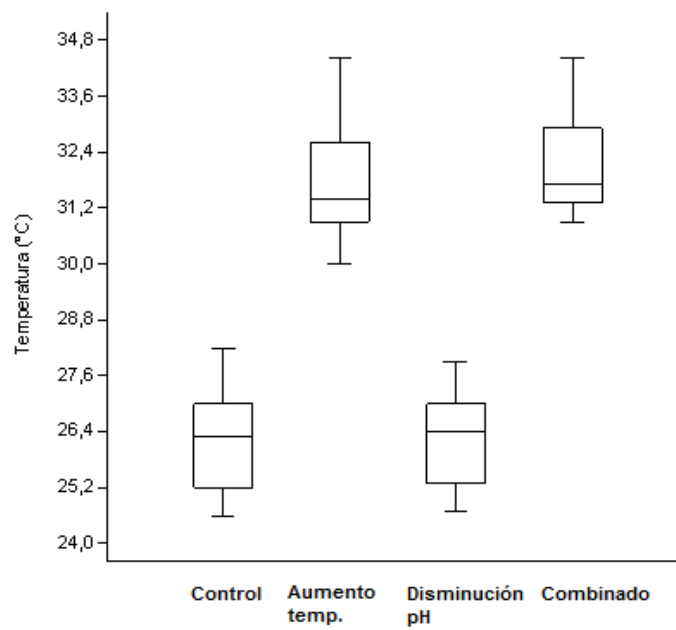


Figura 16. Temperatura promedio para la segunda semana de tratamiento.

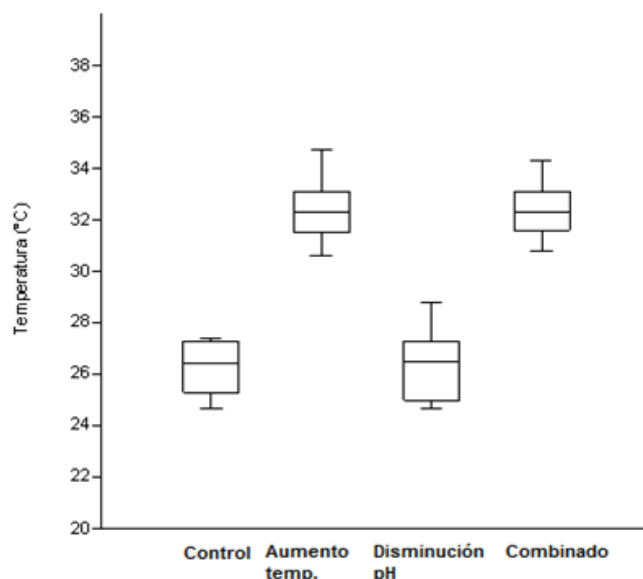


Figura 17. Temperatura promedio para la tercera semana de tratamiento.

En cuanto a las variaciones diarias de temperatura durante el ensayo experimental (Figuras 18 a 20), se registraron desviaciones estándares muy elevadas para los 4 tratamientos durante las tres semanas, presentando dos valores atípicos, el tercero y sexto día de la primera semana para los tratamientos T₂ (aumento de temp.) y T₄ (combinado), registrándose un delta de temperatura para el tercer día de 5,7° C en T₂ y 3° C en T₄; y para el sexto día de 5,3° C y 7° C respectivamente. A su vez se registraron fluctuaciones notables de la temperatura durante la primera semana de tratamiento.

Sin embargo el control y el tratamiento con disminución de pH presentan un comportamiento similar durante las tres semanas del ensayo experimental, exceptuando un incremento atípico para el tercer día de la primera semana registrándose en un valor promedio de 27,5° C.

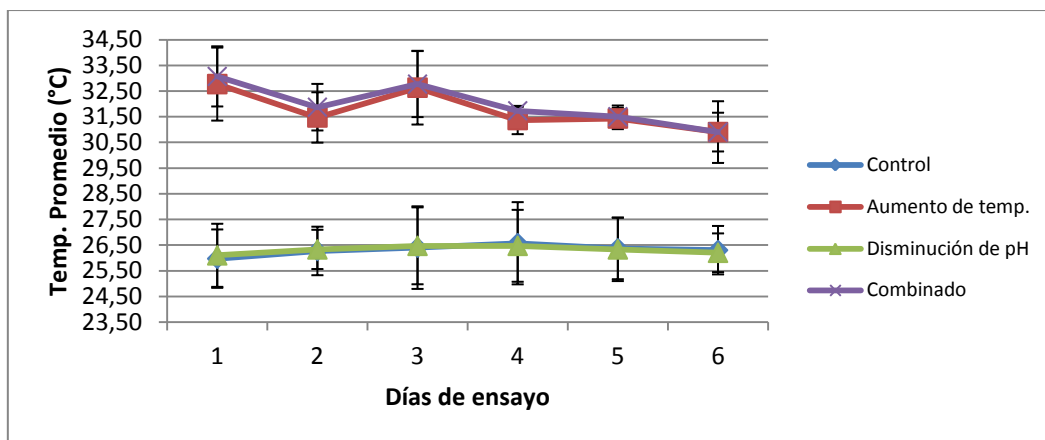


Figura 18. Variación diaria de temperatura en los 4 tratamientos para la primera semana del ensayo.

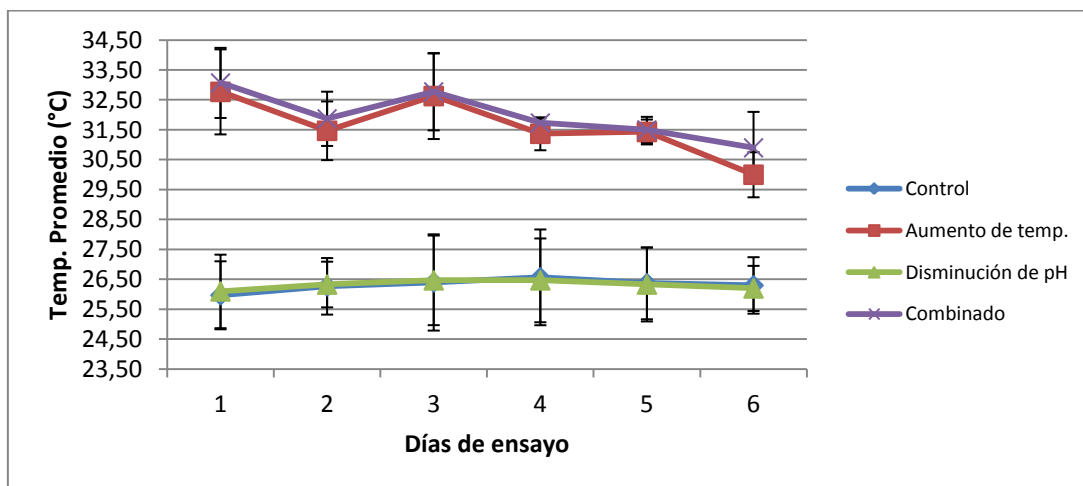


Figura 19. Variación diaria de temperatura en los 4 tratamientos para la segunda semana del ensayo.

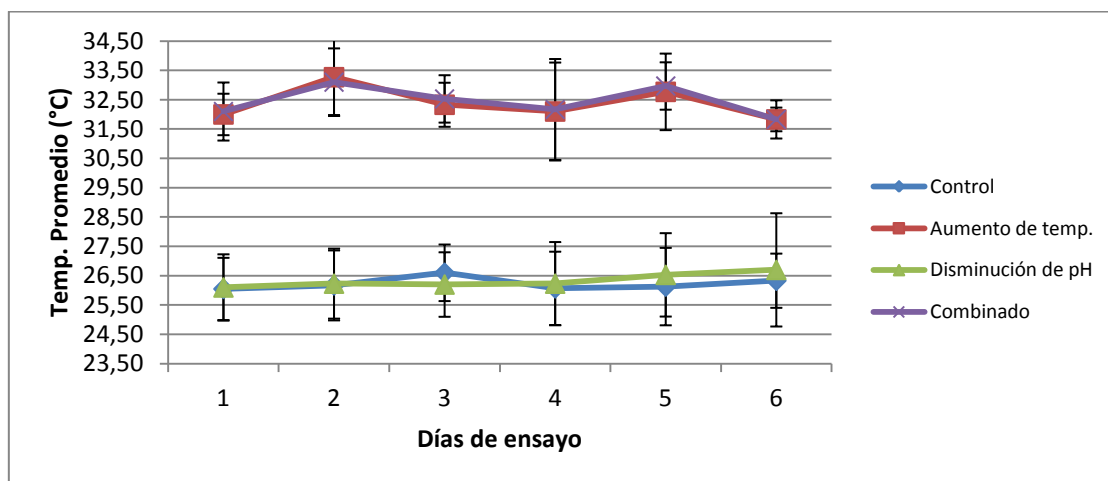


Figura 20. Variación diaria de temperatura en los 4 tratamientos para la tercera semana del ensayo.

Salinidad

La salinidad es uno de los parámetros más estables; por tal motivo se aprecian valores estadísticamente similares en los tres tratamientos y el control, para las tres semanas de ensayo (Kruskal-Wallis; $p > 0,05$); registrándose valores promedios de T_1 , T_2 , T_3 y T_4 de $37,20 \pm 0,81$; $37,18 \pm 0,79$; $37,25 \pm 0,86$ y $37,13 \pm 0,76$ para la primera semana, $37,00 \pm 0,51$; $36,81 \pm 0,65$; $37,31 \pm 0,94$ y $37,00 \pm 0,73$ para la segunda semana y $37,18 \pm 0,52$; $37,00 \pm 0,61$; $37,29 \pm 0,58$ y $37,24 \pm 0,66$ para la tercera semana, respectivamente.

Comparando entre los tratamientos por semana, la salinidad se mantuvo más constante en el control (T_1) para la segunda semana y en el tratamiento con aumento de temperatura (T_2) para la tercera semana del ensayo experimental, siendo 37‰ el valor predominante en ambos casos (Figuras 22 y 23). A su vez, se registraron valores menores de salinidad para la segunda semana (Figura 22), presentando la mayor dispersión de los datos para el tratamiento combinado. Por último se registró mayor dispersión de datos durante la tercera semana de ensayo (Figura 23).

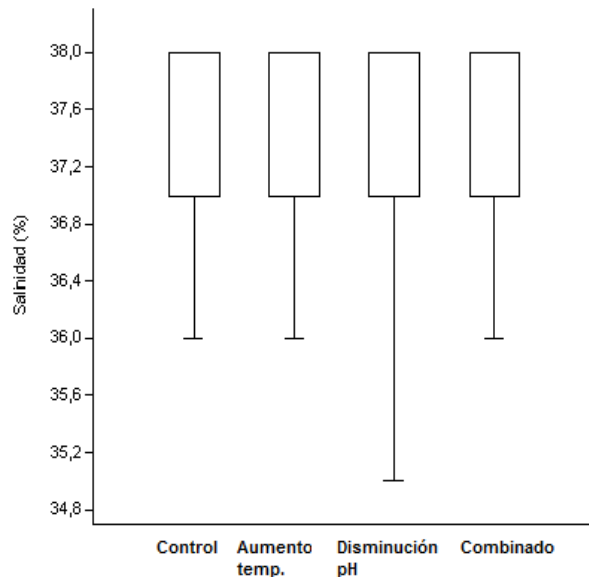


Figura 21. Salinidad promedio para la primera semana de tratamiento.

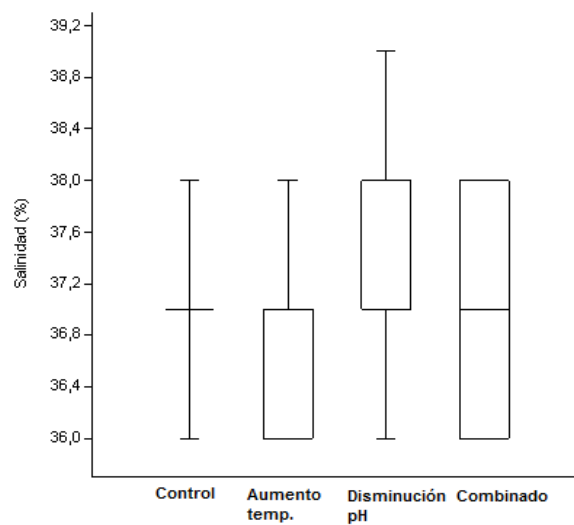


Figura 22. Salinidad promedio para la segunda semana de tratamiento.

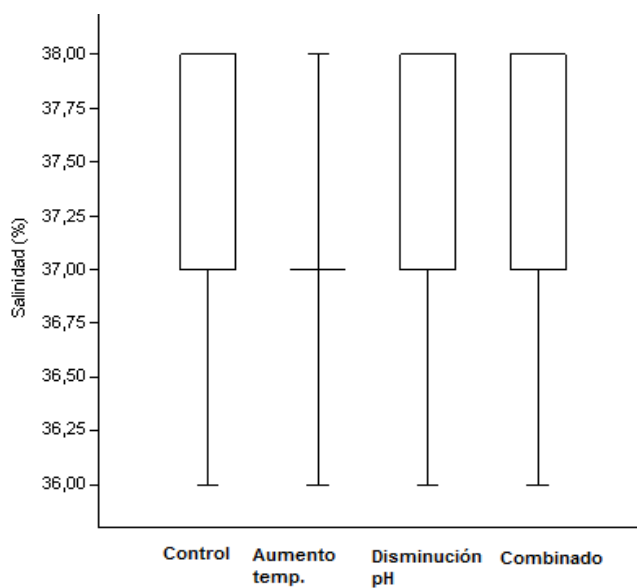


Figura 23. Salinidad promedio para la tercera semana de tratamiento.

Sistema del CO₂ disuelto en los microcosmos

Los valores de pH en el agua de mar dependen del balance de las distintas especies químicas presentes en las reacciones 1 y 2, descritas en la introducción.

En los tratamientos con inyección de CO₂ se registraron valores mayores de concentración de bicarbonatos, CO₂ disuelto y fugacidad del CO₂. Mientras que en los tratamientos sin inyección de CO₂ se registraron valores más altos de concentración de carbonatos y estados de saturación de la aragonita y calcita. Los tratamientos con aumento de temperatura registran valores más altos de alcalinidad (Tabla 2, Anexo 4). En cuanto al TCO₂ presenta variaciones muy leves, más no estadísticamente significativas, en todos los microcosmos (Kruskal-Wallis, H=5,205; p=0,1574).

Tabla 2. Sistema del CO₂ disuelto en los microcosmos para los cuatro tratamientos durante las 3 semanas del ensayo experimental. Alcalinidad total (At), dióxido de carbono inorgánico total (TCO₂), concentración de CO₂ [CO₂], de carbonato [HCO₃⁻] y bicarbonato [CO₃²⁻], fugacidad del CO₂ (fCO₂); saturación de calcita (ΩCa) y aragonita (ΩAr)

Semana	Tratamiento	At (mmol/kg)	TCO ₂ (μmol/kg)	[HCO ₃ ⁻] (μmol/kg)	[CO ₃ ²⁻] (μmol/kg)	[CO ₂] (μmol/kg)	fCO ₂ (μatm)	ΩCa	ΩAr
1	Control	2450,5	2192,2	1912	269,25	10,87	391,8	6,32	4,18
	Aumento temperatura	2628,7	2329,4	2007,4	310,69	11,32	466,6	7,43	5,01
	Disminución pH	2241,5	2206,4	2083,7	78,94	43,82	1594,8	1,87	1,24
	Combinado	2377,5	2330	2188,9	94,33	46,74	2056,1	2,27	1,55
2	Control	2456,9	2227,4	1971,6	242,69	13,07	492,1	5,76	3,84
	Aumento temperatura	2390,9	2121,9	1832,3	279,3	10,29	413,8	6,67	4,48
	Disminución pH	2429,7	2381,7	2245,3	92,22	44,09	1660,1	2,21	1,47
	Combinado	2606,6	2597,6	2454,1	76,25	67,31	2730,5	1,84	1,24
3	Control	2251,4	2008,6	1746,1	252,66	9,89	369	5,94	3,95
	Aumento temperatura	2318,52	2022,1	1709,1	304,71	8,31	335,3	7,2	4,84
	Disminución pH	2247,8	2209,9	2085,2	81,34	43,37	1594,6	1,91	1,27
	Combinado	2377,7	2315,7	2173,3	102,27	40,13	1621,7	2,42	1,63

Pérdida de peso en los organismos

Las muestras sometidas a un mismo tratamiento presentaban pesos diferentes, registrándose en desviaciones estándar muy elevadas (Tabla 3). Sin embargo al aplicar Anova de una vía se determinó que dichas diferencias no son estadísticamente significativas (Anova: $F=0,119$; $p=0,94$ para corales y $F=0,289$; $p=0,83$ para bivalvos).

Tabla 3. Peso promedio inicial (g) y desviación estándar de las muestras (n=6 para corales y bivalvos) por tratamiento.

	Control (T1)	Aumento Temp. (T2)	Disminución pH (T3)	Combinado (T4)
Corales	9,475±1,807	9,651±1,665	9,047±2,555	9,603±1,633
Bivalvos	3,603±0,712	3,709±0,896	3,869±1,140	4,097±1,108

Al comparar el peso promedio inicial con el peso final de los organismos, luego de aplicar cada tratamiento, se observa en todos una tendencia a perder peso incluyendo el control, registrándose en las tablas 4 y 5 como delta de peso estandarizado en gramos por semana.

En el control, los corales (Tabla 4) registran una pérdida de peso inesperada durante la segunda semana, incluso la pérdida es mayor que la obtenida para el resto de los tratamientos. En cambio, para los bivalvos (Tabla 5), el tratamiento con inyección de CO₂ registra mayor pérdida de peso que los demás tratamientos, siendo mayor durante la primera semana del ensayo experimental.

Tabla 4. Pérdida de peso promedio estandarizada y desviación estándar de los fragmentos de coral (n=6) para cada tratamiento por semana.

Tratamientos	1 ^{era} semana	2 ^{da} semana	3 ^{era} semana
Control	0,0013±0,0009	0,0022±0,0012	0,0012±0,0005
Aumento de temp.	0,0013±0,0006	0,0008±0,0004	0,0011±0,0005
Disminución de pH	0,0021±0,0010	0,0016±0,0005	0,0022±0,0009
Combinado	0,0025±0,0015	0,0020±0,0007	0,0019±0,0010

Tabla 5. Pérdida de peso promedio estandarizada y desviación estándar de las conchas de bivalvos (n=6) para cada tratamiento por semana.

Tratamientos	1 ^{era} semana	2 ^{da} semana	3 ^{era} semana
Control	0,0003±0,0002	0,0005±0,0002	0,0001±0,0001
Aumento de temp.	0,0005±0,0005	0,0001±0,0002	0,0004±0,0007
Disminución de pH	0,0036±0,0016	0,0022±0,0015	0,0016±0,0014
Combinado	0,0028±0,0009	0,0016±0,0016	0,0012±0,0009

Tasa de disolución de los organismos

En cuanto a la tasas de disolución de los esqueletos de CaCO_3 , se observaron algunas diferencias entre las dos especies. Para los corales se obtuvo una mayor velocidad de pérdida en el tratamiento combinado y menor para el tratamiento con aumento de temperatura, destacándose una tasa de disolución muy alta para el tratamiento control (Tabla 6.a). A diferencia de los bivalvos, en donde se registra mayor pérdida de peso por día en el tratamiento con inyección de CO_2 (disminución de pH), seguido en magnitud por el tratamiento combinado, mientras que el control y el tratamiento con aumento de temperatura presentan una tasa de disolución muy baja, diferenciándose en un orden de magnitud (Tabla 6.b). En los Anexos 5-8 se encuentran las figuras para la tasa de disolución por muestra, para ambos grupos de muestras.

Tabla 6. Tasa de disolución promedio de las tres semanas expresada por día. Los valores fueron estandarizados respecto al peso inicial de cada muestra en cada semana. (a): Tasa de disolución para corales (g/d). (b): Tasa de disolución para bivalvos (g/d).

a		b	
Tratamiento	Tasa de disolución (g/d)	Tratamiento	Tasa de disolución (g/d)
Control	2,60E-04± 9,00E-05	Control	4,46E-05± 3,08E-05
Aumento de temperatura	1,80E-04± 4,00E-05	Aumento de temperatura	5,47E-05± 3,86E-05
Disminución de pH	3,30E-04± 6,00E-05	Disminución de pH	4,06E-04± 1,69E-04
Combinado	3,60E-04± 5,00E-05	Combinado	3,07E-04± 1,38E-04

Diseño experimental factorial 2²

En la tabla 7 se aprecian los valores estimados de los efectos para los factores estudiados y la interacción entre ambos, tanto para las tres semanas del ensayo por separado, como para los valores acumulados. Los valores positivos indican que la relación entre el efecto del factor (CO₂ o temperatura) y la respuesta de la variable (pérdida de peso estandarizada) es proporcional, es decir, a medida que el factor incrementa, la pérdida de peso incrementa. Mientras que los valores negativos indican que la respuesta es inversamente proporcional, es decir, a medida que el factor aumenta la pérdida disminuye (Figura 24).

Tabla 7. Efectos estimados y acumulados de los factores CO₂, temperatura y la interacción de ambos. Los valores en negrita indican los efectos estadísticamente significativos para esa semana. Los efectos acumulados se expresan como S12 (primeras dos semanas) y S123 (para las tres semanas de tratamiento. (a): Valores estimados para corales. (b): Valores estimados para bivalvos.

a				b			
Semanas	CO ₂	T	Interacción	Semanas	CO ₂	T	Interacción
S1	0,00100	0,00017	0,00020	S1	0,00270	-0,00026	-0,00054
S2	0,00030	-0,00050	0,00088	S2	0,00160	-0,00048	-0,00011
S3	0,00094	-0,00014	-0,00014	S3	0,00110	-0,000058	-0,000325
S12	0,00129	-0,00033	0,00110	S12	0,00438	-0,00074	-0,00065
S123	0,00220	-0,00050	0,00095	S123	0,00552	-0,000783	-0,00096

En la figura 24 también se puede observar la magnitud de los efectos de los factores. En la figura 24.a, para los corales se observa que la magnitud del efecto del factor CO_2 es mayor para la primera y tercera semana y menor para la segunda semana (siempre positiva), mientras que para el factor temperatura la magnitud del efecto es positiva durante la primera semana y negativa durante la segunda y tercera semana. En cambio para los bivalvos (Figura 24.b), la magnitud del efecto CO_2 decrece con el tiempo, mientras que la magnitud del efecto T es mayor durante la segunda semana de tratamiento y no se observa efecto durante la tercera semana.

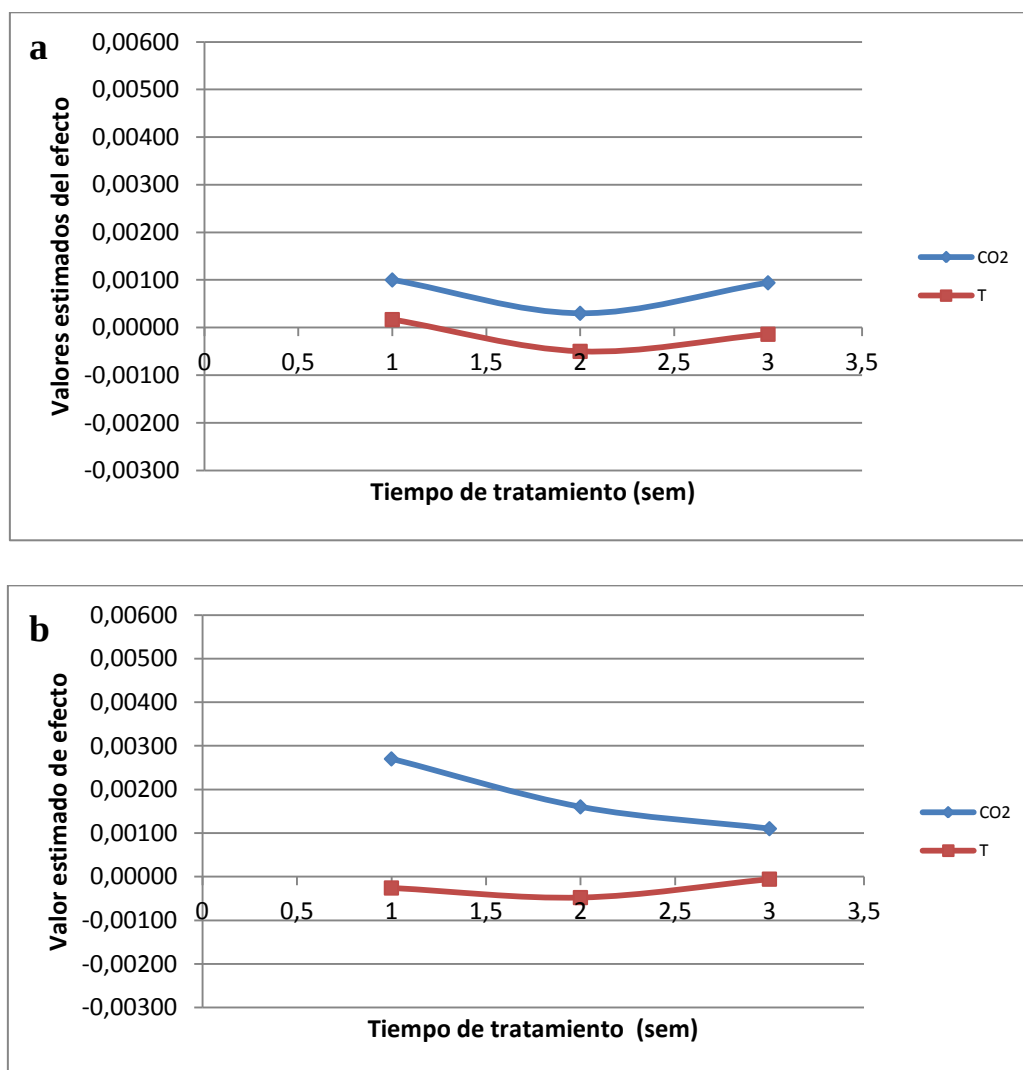
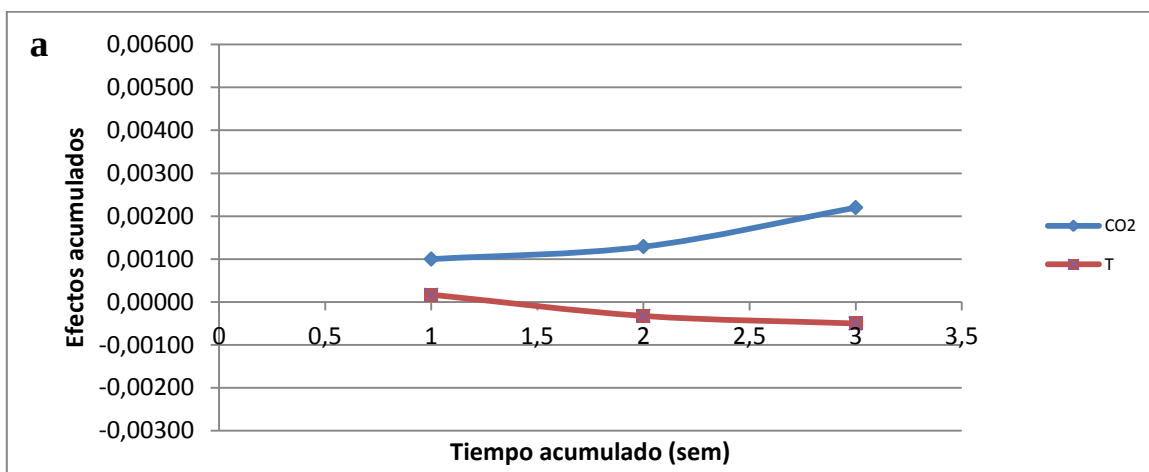


Figura 24. Efectos estandarizados en función del tiempo para los dos factores estudiados. **(a):** Valores estimados del efecto para corales. **(b):** Valores estimados del efecto para bivalvos.

Relacionando lo anteriormente explicado, para los corales y bivalvos tenemos una relación positiva entre la pérdida de peso por el factor CO_2 , es decir que al incrementar las concentraciones de dióxido de carbono disuelto aumenta la pérdida de peso. Con la diferencia de que para los corales, la pérdida de peso debida al factor es menor durante la segunda semana, mientras que para los bivalvos la pérdida decrece con el tiempo. En cambio para el factor temperatura, en los corales, se observa durante la primera semana una relación positiva, es decir, que al aumentar la temperatura, la pérdida de peso estandarizada es mayor más no estadísticamente significativa; mientras que durante la segunda y tercera semana para los corales y las tres semanas para bivalvos la respuesta es negativa, señalando que un aumento de la temperatura conlleva a una disminución de la pérdida de peso.

En cambio, en la figura 25 se observan los efectos acumulados de los factores; indicando, tanto para corales como bivalvos, que la pérdida de peso debido al CO_2 aumenta con el tiempo, es decir que durante las tres semanas hay pérdida, variando la velocidad de la misma. En los corales la velocidad de pérdida aumenta con el tiempo de exposición de las muestras al factor; mientras que en los bivalvos la velocidad disminuye con el tiempo. En cuanto al factor temperatura, la velocidad de pérdida disminuye con el aumento del tiempo de exposición al factor para bivalvos y aumenta para corales.



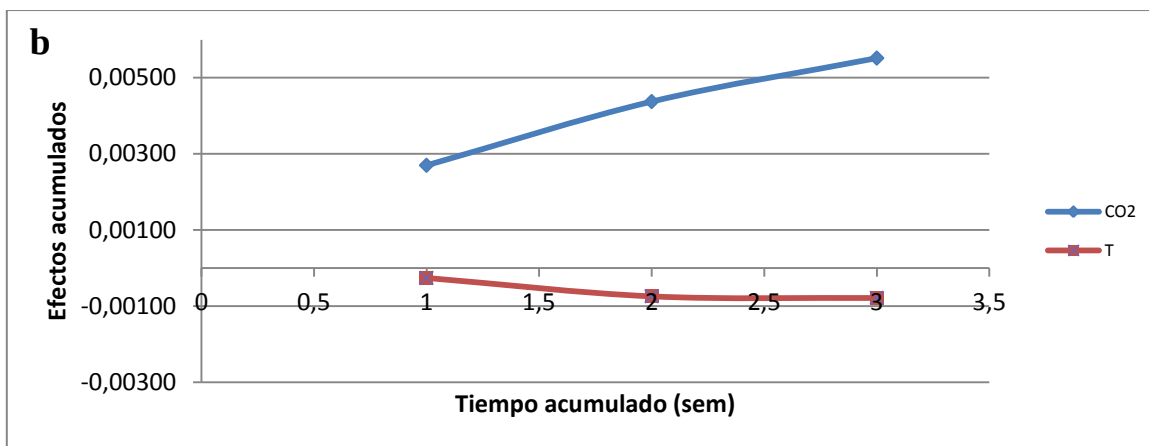


Figura 25. Efectos acumulados de los factores estudiados. **(a):** Valores estimados del efecto para corales. **(b):** Valores estimados del efecto para bivalvos.

En las figuras 26 y 28 se puede comparar la respuesta de la variable (pérdida de peso estandarizada) a los efectos del CO₂, temperatura y a la interacción de ambos factores, por semana para corales y bivalvos. En estas figuras las barras representan el efecto estandarizado, mientras que el eje x señala el valor crítico a partir del cual hay significancia del efecto del factor (nivel crítico, $t = 2,13$ en un 95% de confianza), señalado por la línea vertical. Los signos positivos o negativos de los efectos representan su relación directa o inversamente proporcional (respectivamente) con la respuesta de la variable.

Mientras que en la figura 27 se evidencia gráficamente el efecto significativo de la interacción de ambos factores para los corales en la segunda semana de tratamiento, en este gráfico se observa que, aunque no es significativa, la pérdida de peso es mayor cuando los dos factores (CO₂ y temperatura) poseen el mismo nivel que al considerar la variación de un solo factor. Las gráficas de interacción para los 4 tratamientos tanto para corales como bivalvos se pueden visualizar en los Anexos 1 y 2.

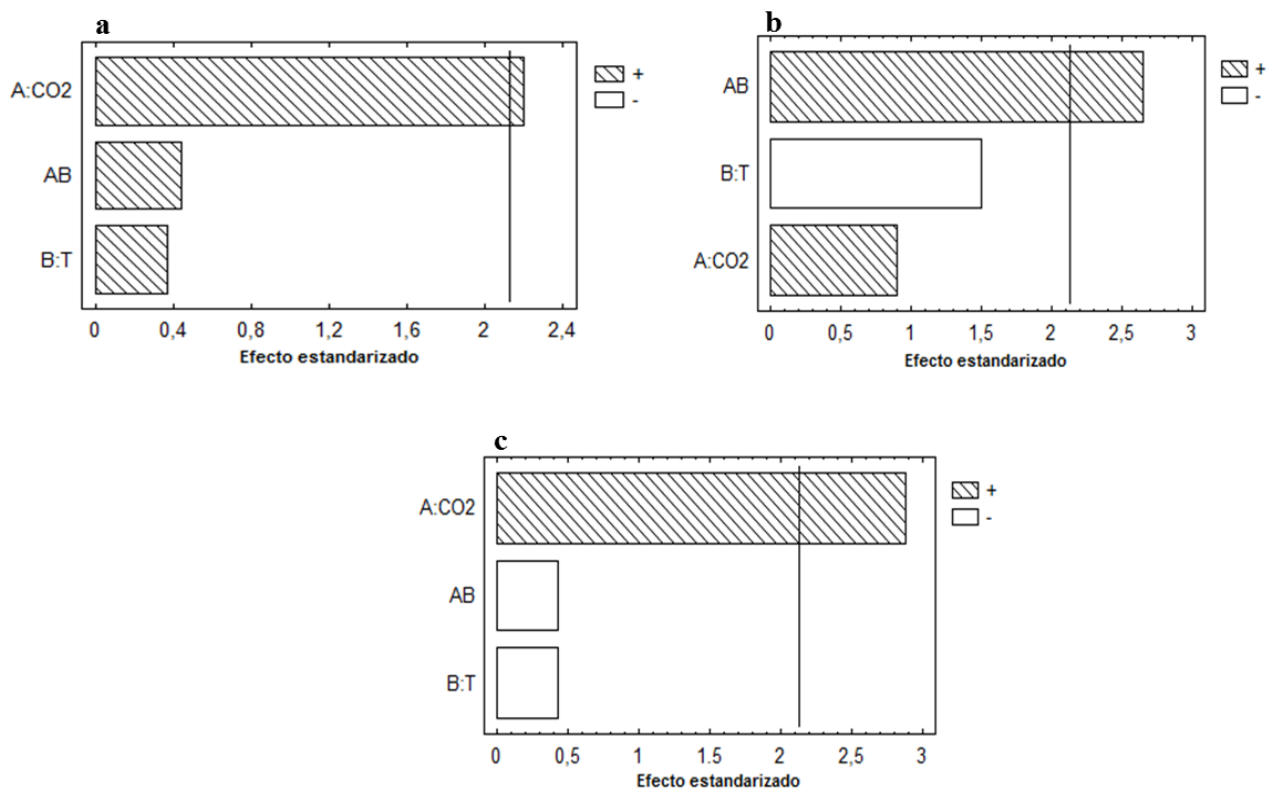


Figura 26. Gráficas de Pareto de los efectos estandarizados de los factores (A: concentración de CO₂, B: Temperatura y AB: Interacción de ambos factores) para el diseño experimental factorial 2² y su nivel de significancia, para corales. **(a):** Respuesta para la primera semana de tratamiento. **(b):** Respuesta para la segunda semana de tratamiento. **(c):** Respuesta para la tercera semana de tratamiento.

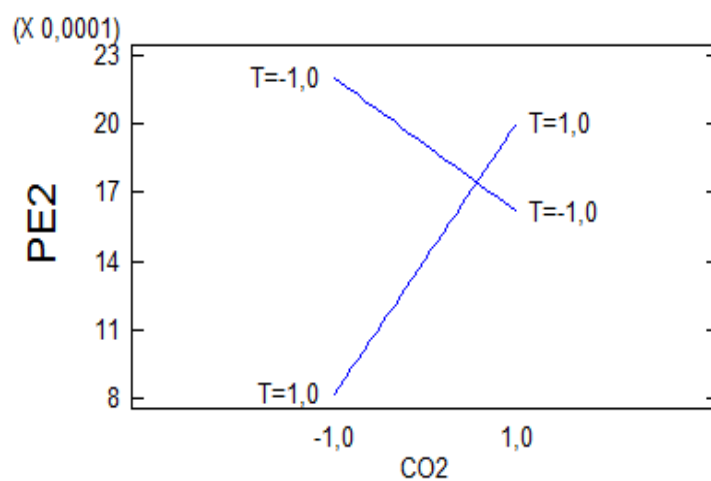


Figura 27. Interacción entre los factores para corales. PE2 se refiere a la pérdida de peso estandarizada para la segunda semana.

En la figura 28 se representa la respuesta de la variable pérdida de peso estandarizada de bivalvos en una sola gráfica ya que el comportamiento fue similar durante las tres semanas de duración del ensayo.

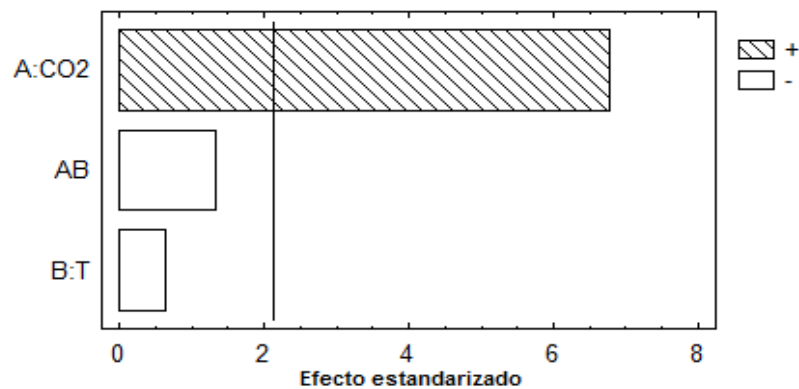


Figura 28 Gráficas de Pareto de los efectos estandarizados de los factores (A: concentración de CO₂, B: Temperatura y AB: Interacción de ambos factores) para el diseño experimental factorial 2² y su nivel de significancia, para bivalvos. La gráfica representa el efecto de los factores para las tres semanas de tratamiento.

En la siguiente tabla se observan los valores obtenidos para el coeficiente de determinación r^2 , el cual indica el grado de ajuste del modelo a los datos obtenidos (porcentaje de la variación de peso que puede explicar el modelo). Los resultados se presentan para cada semana para cada grupo estudiado.

Tabla 8. Valores obtenidos para el coeficiente de determinación R^2 por semana para los dos grupos de muestras.

Semana	Corales	Bivalvos
1	32,67%	77,40%
2	46,34%	63,59%
3	43,05%	56,95%

Comparación entre la pérdida de peso para corales y bivalvos

Por último, al comparar la pérdida de peso entre corales y bivalvos se observan diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de muestras, para cada uno de los tratamientos (Tabla 9).

Tabla 9. Kruskal-Wallis para comparar la pérdida de peso entre corales y bivalvos por cada tratamiento.

Tratamiento	H	p
Control	8,31	0,003948
Aumento de temperatura	7,41	0,005588
Disminución de pH	7,41	0,00648
Combinado	8,31	0,003885

DISCUSIÓN

Parámetros fisicoquímicos

pH

El pH de los océanos se encuentra regulado por el dióxido de carbono disuelto en el agua, ácido carbónico, carbonato y bicarbonato (Turekian, 1974); la presencia de estos compuestos en el agua de mar le confieren una característica amortiguadora o búffer a los

océanos. Debido a este parámetro, el sistema de CO_2 se mantiene en equilibrio, producto del “Principio de Le Chatelier”, el cual indica que al variar la concentración de uno de los compuestos químicos que integra al sistema, el mismo se desplaza entre especies en solución hasta alcanzar un nuevo equilibrio, manteniendo así el pH en el agua de mar (Chang y col. 2013).

El pH del agua superficial del mar es ligeramente alcalino, con un valor promedio de $8,2 \pm 0,3$ pudiendo variar debido a las variaciones locales, regionales y estacionales (Raven y col. 2005). El pH promedio registrado para la bahía de Mochima es de $7,95 \pm 0,18$, a este valor de pH predomina la concentración de bicarbonato (HCO_3^-) y en menor medida, los carbonatos (CO_3^{2-}), siendo muy baja la concentración de CO_2 . En el presente estudio se alteró la condición de pH promedio del agua, contenida en los microcosmos T_3 y T_4 , mediante el aumento de la concentración de CO_2 . A medida que la concentración de CO_2 aumenta, el sistema, para mantener el equilibrio del mismo, desplaza la reacción hacia los productos aumentando la concentración de H_2CO_3 (ácido carbónico) (Reacción 1.a); este ión se disocia dando como producto los iones de HCO_3^- y H^+ (Reacción 1.b); el CO_3^{2-} presente en solución reacciona con los iones libres H^+ favoreciendo la formación de HCO_3^- y disminuyendo así su concentración. Por lo tanto, el aumento de la concentración de H^+ determina la disminución del pH del agua.

Al incrementar la temperatura del medio (tal como se hizo en T_2) ocurre una disminución logarítmica del pH, no mayor de 0,1 unidades por cada 10°C para una solución de agua dulce en equilibrio; esto ocurre por efecto termodinámico, en donde el aumento de la temperatura tiende a aumentar el estado entrópico² del sistema, desplazando la reacción en el sentido que sea mayor el grado de libertad, así el estado ionizado³ es el más probable (Detro y col. 1994). Sin embargo, en el agua de mar existe otro factor que influye, como por ejemplo la solubilidad del CO_2 (Álvarez-Borrego, 2007). Cuando la temperatura aumenta, reduce la solubilidad del CO_2 , disminuyendo la concentración de dicho compuesto en el agua y aumentando la concentración de carbonatos y los iones OH^- , esto favorece un aumento del pH. Estos efectos se combinan entre sí, solapando la variación de pH debido a la temperatura.

² Entropía Es una función de estado que define el grado de libertad de las moléculas que intervienen en el sistema.

³ Ionización: Método físico o químico por el cual se producen iones. Los iones son átomos o moléculas que han ganado o perdido electrones

Por tal motivo, se observa variaciones mínimas del pH al aumentar la temperatura, registrándose para la primera semana una disminución, y para el sexto día de la segunda semana, así como, el cuarto y quinto día de la tercera semana se observa en general un aumento del pH.

La disminución de pH registrada para las muestras del control (T_1) y el tratamiento con aumento de temperatura (T_2), en la segunda semana de ensayo, se debió al cambio en la dirección del viento en el día de la toma de agua. La estación biológica está muy cerca de la planta de tratamiento de las aguas residuales del pueblo de Mochima, la cual no se encuentra operativa, por lo que el agua residual llega al mar sin ser tratada. El día en el cual se hizo el recambio de agua correspondiente a la segunda semana del experimento el viento sopló en dirección oeste-este, arrastrando las aguas residuales hacia la toma de agua de la estación, originando un aumento en las concentraciones de nutrientes y de materia orgánica. Esta condición anómala influyó en el pH de los microcosmos, observándose una disminución en el pH en el agua de mar bombeada en los microcosmos para la segunda semana.

Las variaciones diarias de pH para los tratamientos con inyección de CO_2 se debe a la característica amortiguadora del agua de mar, que tiende a restablecer el pH original del medio para alcanzar nuevamente su estado de equilibrio (Principio de Le Chatelier); por lo tanto, si se disminuye este parámetro, favoreciendo el aumento de las concentraciones de bicarbonato y dióxido de carbono, a medida que pasen las horas, el medio tiende a restablecer el equilibrio y aumenta la concentración de carbonato, dando como consecuencia la disminución de bicarbonato, aumentando el pH. Por otro lado, la caída del pH registrada para el tercer día de la tercera semana de ensayo se debió a un error de manipulación, ya que se inyectó una mayor cantidad de CO_2 , registrándose en una disminución de pH significativa.

Temperatura

La temperatura del agua de mar es un parámetro fisicoquímico que se encuentra influenciado por la temperatura del ambiente, hora del día y circulación del aire (López, 2012). La Bahía de Mochima se caracteriza por presentar temperaturas superficiales menores a

25° C durante los meses de enero a mayo, debido al fenómeno de surgencia costera (González y col. 2006; Sánchez, 2006), sin embargo, este fenómeno no actúa siempre con la misma intensidad y duración (Quintero y col. 2004; Sánchez, 2006). Al tomar el agua de mar para los microcosmos, se registraron valores de temperatura entre 23 y 24° C durante el mes de febrero y 25,3° C durante la última semana de experimentación, la cual coincidió con el inicio del mes de marzo. Este aumento de temperatura, durante la última toma de muestra, coincide con el primer máximo de radiación solar en Mochima (Quintero y col. 2004), esto produce un aumento de la temperatura atmosférica en esta zona y por consiguiente de la temperatura en la superficie del mar.

Por otra parte, la temperatura ambiental, en la bahía de Mochima, puede alcanzar variaciones diarias entre 0,62 y 2,89° C (Quintero y col. 2004). Lo anterior explica lo observado en los microcosmos, donde la temperatura presentó variaciones diarias importantes, tal como lo indican las desviaciones estándares elevadas; a su vez, en los tratamientos sin modificación de temperatura, se observaron valores mayores a los registrados durante la toma de agua (promedios de 26° C). En estos tratamientos la temperatura de los microcosmos se encuentra en equilibrio con la temperatura del ambiente con el fin de disminuir la manipulación excesiva de los mismos y permitir recrear en mayor medida las condiciones del ecosistema natural. Por lo tanto existe un efecto de la temperatura ambiental sobre estos ensayos.

En cuanto a las anomalías en los valores de temperatura, durante la primera semana del ensayo experimental para el tratamiento con aumento de esta variable y el tratamiento combinado, debemos señalar que fueron ocasionadas por fallas en los termostatos durante el cuarto y quinto día de tratamiento, por lo que fue necesario reemplazarlos por otros termostatos para el inicio de la segunda semana, consiguiendo así estabilizar los valores de temperatura durante el resto del ensayo experimental.

Es importante destacar que no se realizó una calibración adecuada del electrodo con el cual se midió la temperatura, pues la calibración se realizó a temperatura ambiente en lugar de calibrarse también a 32° C antes de la medición del parámetro en los tratamientos, arrastrando

de esta forma un error relativo por defecto durante el ensayo experimental de -1,0625%, para los tratamientos con aumento de este factor.

Salinidad

La salinidad del océano está definida como la cantidad de gramos de sales disueltas en 100 gramos de agua de mar, siendo uno de los parámetros más estables (Turekian, 1974), pudiendo variar por dos factores: el primero, por aumento de la temperatura ya que esto da como consecuencia, un aumento en la evaporación del agua y por lo tanto un aumento en la concentración de sales; en segundo lugar, el aporte de agua dulce ya sea por ríos o aguas tratadas que desemboquen en la costa. Para evitar el primer factor se buscó precisamente un flujo continuo de agua con renovación de la misma entre mediciones de los esqueletos. El segundo factor no afecta el ensayo experimental ya que los microcosmos se encuentran aislados.

La salinidad promedio fue de 37‰ durante el tiempo de duración del ensayo experimental. Estos altos valores de salinidad se deben a la baja intensidad y frecuencia de precipitaciones para la fecha, coincidiendo con la temporada de sequía en la región (Quintero y col. 2004; Sánchez, 2006).

La mayor variación de salinidad se registró para el tratamiento con disminución de pH y el tratamiento combinado, pues al aumentar el dióxido de carbono disuelto en el microcosmo, las concentraciones de bicarbonato y calcio disuelto aumentan, siendo la concentración de estos factores parte de los componentes principales que determinan la salinidad del agua de mar (Turekian, 1974). Además en el tratamiento combinado la salinidad también se vio afectada por el aumento de la temperatura, por efecto de una mayor concentración de dichas sales.

Sistema del CO₂ disuelto en los microcosmos

La química del carbono en el agua de mar es muy compleja, debido a que no todos los compuestos químicos del TCO₂ se pueden medir directamente. Sin embargo, en la actualidad, con la medición de dos de estas cuatro variables: A_T, pCO₂, TCO₂ y pH; se puede calcular la

distribución de todas las especies de carbonato (Pérez y col. 2000; Kleypas y col. 2006). En este estudio se utilizaron el pH y la alcalinidad total.

La alcalinidad como medida directa de la concentración de carbonato y bicarbonato, es un factor químico que regula el pH del mar (Ramírez, 1983), junto con el TCO_2 , la temperatura, salinidad y presión (Hernández-Ayón y col. 2003; Álvarez-Borrego, 2007). En nuestro sistema, la alcalinidad se encuentra influenciada por el aumento de temperatura, ya que esto aumenta la concentración de carbonato de los microcosmos registrándose en un aumento de dicha medida. A su vez, el aumento de la concentración de CO_2 disuelto en el medio aumenta la concentración de bicarbonato, dando una disminución en la concentración de carbonato, manteniéndose este valor casi constante.

El TCO_2 es la suma de todos los compuestos químicos del dióxido de carbono inorgánico total (Ecuación 1). Al disminuir el pH de un microcosmo por inyección de CO_2 , se alteran significativamente las concentraciones de los demás compuestos químicos del TCO_2 , con el fin de mantener constante dicho parámetro (principio de Le Chatelier) (Álvarez-Borrego, 2007). Por tal motivo, en los microcosmos, a medida que añadimos dióxido de carbono, aumenta la presión de CO_2 en nuestros sistemas, el carbonato se solubiliza obligando a la disminución de la concentración de dicho ión, y así, aumenta la concentración de bicarbonato, obteniendo constantes las concentraciones de TCO_2 .

El TCO_2 para las aguas superficiales del Atlántico oscila entre 1.947,4 y 2.200 $\mu\text{moles/kg}$ (Álvarez-Borrego, 2007; González-Dávila y col. 2010); los valores mínimos de carbonato, bicarbonato y dióxido de carbono disuelto son: 200, 1.974,4 y 10 $\mu\text{moles/kg}$, respectivamente (Millero, 1995; Álvarez-Borrego, 2007, Hoegh-Guldberg y col. 2007; González-Dávila y col. 2010), siendo comparables estos valores con los obtenidos en el ensayo experimental para el tratamiento control. Las variaciones de estas concentraciones concuerdan con el tratamiento aplicado en cada caso. Por otra parte, la A_T oscila entre 2.287,31 y 2.331,59 $\mu\text{moles/kg}$ para valores de salinidad entre 34 y 36‰, valor de pH entre 7,94 y 8,013 y de temperatura entre 23 y 25° C (Pérez y col. 2000). Los valores de alcalinidad son mayores en el ensayo experimental; esto se debe a los valores elevados de temperatura y

salinidad de los microcosmos, están afectando la concentración de los iones en el sistema influyendo en un aumento de la alcalinidad del medio.

La presión parcial del CO_2 expresada en términos de fugacidad del CO_2 ($f\text{CO}_2$) se encuentra fuertemente relacionada con la variación de temperatura oscilando entre valores cercanos a 390 μatm a 25° C (González-Dávila y col. 2010). Este parámetro es proporcional a la concentración de CO_2 , por lo tanto, al aumentar la concentración de dióxido de carbono aumenta la presión y si se disminuye su concentración baja la presión (Chang y col. 2013). Los valores de $f\text{CO}_2$ obtenidos para el control son cotejables con los valores registrados por González-Dávila y colaboradores, (2010).

Al aumentar la temperatura disminuye la concentración y presión del CO_2 , coincidiendo esto con los resultados obtenidos para el tratamiento de aumento de temperatura para la segunda y tercera semana, sin embargo, durante la primera semana se observa mayor concentración de dióxido de carbono y mayor presión. Esto puede deberse a error en la titulación ya que la alcalinidad total da mayor para el tratamiento con aumento de temperatura.

La disminución de pH afecta el estado de saturación para la aragonita y la calcita (Ω_{ar} y Ω_{ca} , respectivamente). El Ω_{ar} en la superficie de los océanos oscila entre 3,4 y 3,65 (a 25°C de temperatura y 35‰ de salinidad) (Hoegh-Guldberg y col. 2007; González-Dávila y col. 2010); pudiendo variar por el aumento de presión y disminución de pH hasta valores de 1,4 o cercanos a este; en cambio Ω_{ca} registra valores mayores de 5,44 y decrece a valores cercanos a 2 con la disminución de pH y aumento de presión (González-Dávila y col. 2010).

En líneas generales, se puede comparar el sistema del CO_2 entre los tratamientos con inyección de este gas y los tratamientos sin inyección del mismo, apreciándose grandes diferencias; sin embargo, como se mencionó anteriormente, la temperatura afecta las concentraciones de TCO_2 , así como la solubilidad del dióxido de carbono (Chang y col. 2013), por lo tanto, entre el control, el tratamiento con aumento de temperatura, el tratamiento con inyección de CO_2 y el combinado, se observan diferencias en menor escala. La concentración de carbonato es mayor en los tratamientos con aumento de temperatura que en los tratamientos sin variación de este factor, mientras que la concentración de CO_2 es menor. Esto se debe a que el aumento de la temperatura disminuye la solubilidad del CO_2 , aumentando la

concentración de carbonato y disminuyendo la concentración de bicarbonato y del dióxido de carbono, tal como se explicó anteriormente.

Pérdida de peso en los organismos

Nuestros resultados sugieren que una disminución de pH de los océanos de 0,6 unidades causada por el incremento de los niveles de CO₂ disuelto en el agua conllevaran a un aumento en la tasa de disolución de los esqueletos de corales y bivalvos. Esto se debe a que al aumentar las concentraciones de dióxido de carbono disuelto en el mar, aumentan las concentraciones de bicarbonato y protones (H⁺), resultando en la disminución de pH; el carbonato reacciona con el exceso de protones libres, disminuyendo la disponibilidad de dicho ión para reaccionar con el calcio y formar carbonato de calcio (Reacción 3). Esto disminuye el estado de saturación del carbonato de calcio resultando en una disolución de los esqueletos calcáreos de las muestras.

A su vez, la estabilidad de la calcita y aragonita se ve afectada por la cantidad del CO₂ en el agua de mar y este factor se encuentra parcialmente determinado por la temperatura del agua (Guinotte y Frabry, 2008). Como se mencionó anteriormente, el aumento de la temperatura disminuye la solubilidad del CO₂, por lo tanto disminuye la concentración de dióxido de carbono disuelto, aumenta la concentración del carbonato y aumenta el pH por el incremento de los iones OH⁻, favoreciendo la precipitación porque aumenta el estado de saturación del carbonato de calcio, o por lo menos no afectando la disolución, ya que la tasa de disolución del carbonato de calcio está inversamente relacionado con la temperatura (McClintock y col. 2009). Sin embargo, en nuestros resultados se observa una tendencia a perder peso en los tratamientos, aunque no son estadísticamente significativas. Esto significa que existen otros factores que están afectando la superficie de las muestras.

Lo mismo se aprecia en el tratamiento donde las condiciones fisicoquímicas del microcosmo se asemejan a la del mar en equilibrio. Si no hay variaciones de la concentración de carbonato y bicarbonato del medio no se espera observar pérdida de peso. Sin embargo esto ocurre en el control. Estas pérdidas de peso inesperadas en estos tratamientos pueden deberse a que las muestras se colectaron a orillas de las playas a nivel de la zona intermareal por lo

tanto se encontraban expuestas a efectos erosivos tales como agua, viento, cambios de temperatura, etc. Estos efectos actúan sobre la estructura externa de las muestras degradando a las mismas desde mucho antes de someterla a los tratamientos, debilitando la estructura incluso antes de su uso para el ensayo, por lo tanto al manipularlas durante los tratamientos registran pérdidas de peso, siendo mayor para los corales.

Según los resultados de este trabajo, el efecto de la temperatura y la concentración de CO_2 con relación a la pérdida de peso de los organismos estudiados son opuestos, siendo significativa únicamente la concentración de CO_2 . Por lo tanto, en el tratamiento combinado (T_4) se debería observar una pérdida de peso menor al tratamiento con inyección de CO_2 (T_3). Esto se cumple en los bivalvos, mas no para los corales.

Estas diferencias entre las conchas de bivalvos y los esqueletos del coral, se deben a las diferencias estructurales de los esqueletos calcáreos de los mismos. En general, los bivalvos poseen tres capas: el periostraco y dos capas de carbonato de calcio. El primero forma una capa de proteína en el exterior de la concha, que confiere protección y proporciona el sitio de nucleación para el carbonato de calcio. La capa interior suele ser de aragonita nacarada, mientras que la capa exterior suelen ser de calcita, aragonita o una combinación de ambos (Harper, 2000; Raven y col. 2005; Hahn y col. 2012). A su vez, también poseen una proporción de matriz orgánica, en su mayoría entre los cristales de carbonato de calcio, como láminas dentro de la concha o dentro de los cristales individuales que afecta la solubilidad de la misma, ya sea retrasándola como promoviéndola (Harper, 2000). En cambio los corales poseen una matriz orgánica que permite la cristalización del carbonato de calcio en forma de aragonita (Sandeman, 2012). Estas diferencias estructurales influyen sobre la velocidad de disolución y sobre los factores que afectan a un grupo u otro, siendo menor la velocidad de disolución para bivalvos que para corales al aumentar la temperatura y aumentar la concentración de CO_2 .

La disolución de los esqueletos calcáreos de organismos marinos se encuentra regulado por la interacción de varios factores (Iglesias-Prieto y col. 2014), tales como: el estado de saturación del carbonato de calcio, las propiedades fisicoquímicas del mar, la proporción de la

matriz orgánica en el esqueleto, la estructura cristalina del carbonato de calcio y el tamaño de los cristales. Sin embargo existe otro factor importante que afecta la disolución de los esqueletos de carbonato de calcio, que es la relación superficie/ volumen de las muestras (Harper, 2000). El peso estandarizado en función al peso inicial se encuentra asociado al área de superficie de la muestra. Las muestras de bivalvos poseen un peso menor que los fragmentos de corales y los corales poseen menor área superficial en contacto con los factores corrosivos que los bivalvos. Esto se traduce en una pérdida de peso menor en los tratamientos con aumento en la concentración de CO₂ para los corales, ya que este es el factor que genera una respuesta significativa en la pérdida de peso.

Por otro lado, un factor que pueda estar ejerciendo influencia en las anomalías en las pérdidas de peso en los tratamientos, puede ser la variabilidad en peso y tamaño de las muestras, aun cuando el análisis estadístico señala que nos son significativos, pero como se mencionó anteriormente, el área superficial en contacto con el agua influye en la velocidad de disolución.

Con la excepción del tratamiento con disminución de pH por efecto del aumento de la concentración de CO₂, los bivalvos sufrieron una pérdida de peso menor (estadísticamente significativa) que los corales, confirmando con esto, que las diferencias estructurales son un factor de peso en la disolución de los esqueletos.

La forma de ejecución del experimento nos permite estimar la variación de los efectos en el tiempo, ya que se llevó a cabo durante tres semanas en las cuales se tomaron en cuenta las variaciones fisicoquímicas naturales, al recambiar el agua al finalizar una semana de tratamiento. La respuesta de los corales a los factores estimados y la respuesta de los bivalvos al factor temperatura, demuestran un efecto mayor durante la segunda semana de tratamiento. Sin embargo los bivalvos responden al factor CO₂ disminuyendo la pérdida a medida que aumenta el tiempo de exposición al factor. Estos resultados confirman que hubo una variación anómala durante la segunda semana de tratamiento, coincidiendo con los errores experimentales y cambios de las variables fisicoquímicas ambientales durante dicha semana. Por otra parte, los efectos acumulados de los factores indican que la disolución y la velocidad

de la misma aumentan con el aumento de CO₂, siendo comparables estos resultados con los obtenidos por Nienhuis (2009). Es importante señalar que durante el ensayo experimental no hay continuidad en los tratamientos, sin embargo si la hay en la pérdida de peso porque se sometieron a los tratamientos los mismos organismos durante las tres semanas.

Por último es importante destacar que los valores de determinación del modelo factorial parecen indicar, que éste no explica la variabilidad de la pérdida de peso durante las tres semanas de ensayo (Tabla 8), posiblemente por las anomalías presentadas durante la elaboración del ensayo experimental. Por tal motivo se podrían plantear cambios metodológicos con el fin de obtener resultados más precisos.

CONCLUSIONES

- El aumento de la concentración de dióxido de carbono disuelto en los microcosmos reduce el pH del medio, causando un incremento significativo en la disolución de los esqueletos de carbonato de calcio de *Asaphis deflorata* y *Orbicella annularis*.
- Al incrementar la temperatura del medio disminuye la tasa de disolución de los esqueletos de ambas especies, ya que el aumento de este factor afecta directamente proporcional el estado de saturación de la calcita y de la aragonita e inversamente a la constante de solubilidad del carbonato de calcio.
- Existen diferencias en las tasas de disolución de los esqueletos de las dos especies estudiadas, tanto para el tratamiento de incremento de la temperatura como para el aumento de dióxido de carbono.
- La pérdida de peso de los esqueletos de *O. annularis* y *A. deflorata* es resultado de la interacción de varios factores, tales como: el estado de saturación del carbonato de calcio, las propiedades fisicoquímicas del mar, el peso inicial de los mismos y posiblemente la forma, tamaño y composición mineralógica de los esqueletos.
- En los microcosmos, la concentración del dióxido de carbono fue determinante en la pérdida de peso de los esqueletos de ambas especies. Sin embargo, la interacción de los factores estudiados (CO₂ y Temperatura) no afecta significativamente la disolución de los esqueletos, al menos para las condiciones experimentales aquí consideradas.
- El modelo factorial 2² no permitió explicar de forma similar, la variabilidad en la pérdida de peso de los esqueletos de las dos especies. El mejor ajuste del modelo se obtuvo para los bivalvos

En función de los resultados de este estudio experimental se concluye, de manera general, que las condiciones de dióxido de carbono atmosférico generadas por el cambio climático, afectan directamente al equilibrio del sistema dióxido en los sistemas marinos, produciendo consecuencias negativas en los organismos que presentan esqueletos de carbonato de calcio, pudiendo conducir al deterioro y pérdida eventual de los mismos. La velocidad de pérdida de estos esqueletos dependerá principalmente del aumento del CO₂ disuelto en el agua y del grupo taxonómico implicado.

RECOMENDACIONES

- Replantear el diseño experimental tomando en cuenta los siguientes cambios en la metodología:
 1. Seleccionar fragmentos de coral de colonias diferentes pero bajo las mismas condiciones fisicoquímicas del medio. Así como también tomar las muestras de organismos vivos de edades similares (tanto de corales como bivalvos).
 2. Aumentar el número de réplicas y disminuir la variabilidad inicial en las muestras.
 3. Mantener constante el agua durante todo el ensayo experimental y disminuir la variabilidad de los factores.
 4. Tomar en cuenta otras variables respuesta.
- Estudiar la interacción entre la disolución de los esqueletos con la calcificación, para obtener una estimación más real del efecto de la acidificación de los océanos y sus consecuencias sobre los organismos marinos de nuestras costas.
- Profundizar en el conocimiento de las estructuras y composición mineralógica de las conchas de *Asaphis deflorata*, pues es una especie de gran interés comercial en el oriente del país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allemand D., Ferrier-Pagès C., Furla P., Houlbrèque F., Puverel S., Reynaud S., Tambutté É., Tambutté S., Zoccola D. 2004. Biomineralisation in reef-building corals: from molecular mechanisms to environmental control. *C. R. Palevol* **3**: 453–467

Álvarez-Borrego S. 2007. Principios generales del ciclo del carbono en el océano. En: B. Hernández y G. Gaxiola (eds.) *Carbono en ecosistemas acuáticos de México*. SEMARNAT/INE/ CICESE. 11- 28.

Calderón-Aguilera L., H. Reyes-Bonilla y J. Carriquiry. 2007. El papel de los arrecifes coralinos en el flujo de carbono en el océano: Estudios en el Pacífico mexicano. En: *Carbono en Ecosistemas Acuáticos de México*. Gaxiola-Castro G. y B. Hernández (Eds.). Instituto Nacional de Ecología. 215-226.

Cargnin-Ferreira E. y Sarraquete C. 2008. *Histofisiología de moluscos bivalvos marinos*. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Madrid- España.

Chang R., Goldsby K. 2013. *Química*. Editorial Mc Graw-Hill. 11ª edición. México, México.

Doney S., Fabry V., Feealy R. y Kleypas J. 2009. Ocean Acidification: The Other CO₂ Problem. *Annu. Rev. Mar. Sci.* **1**:169–192

Dotro P., Nardi M., Rodríguez D., Rodríguez V. 1994. Estudio de la evolución del pH en función de la temperatura. E.M.E.T. N°4, D.E. XVIII, Hipólito Yrigoyen. Buenos Aires-Argentina.

Esteves M. 2011. Cambios a corto plazo del fitoplancton durante la época de surgencia en la Bahía de Mochima, Edo. Sucre. Tesis de Licenciatura. Universidad de Oriente, Sucre, Venezuela.

Fabry V. 2008. Marine Calcifiers in a High-CO₂ Ocean. *Science* DOI: 10.1126/science.1157130

- Fabrizius K. E. 2008. Ocean Acidification and Coral Reef. *Coral Reefs*. **27**: 455- 457.
- Fine M. y Tchernov D. 2007. Scleractinian coral species survive and recover from decalcification. *Science* **315**: 1811.
- Frieler K., Meinshausen M., Golly A., Mengel M., Lebek K., Donner S.D. y Hoegh-Guldberg O. 2012. Limiting global warming to 2° C is unlikely to save most coral reefs. *Nature clim. Change*. DOI: 10.1038/NCLIMATE1674
- Gattuso, J., Frankignoulle M. y Smith S. 1999. Measurement of community metabolism and significance in the coral reef CO₂ source-sink debate. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **96**: 13017–13022.
- González-Dávila M., Santana-Casiano J.M. y Llinás O. 2010. The water column distribution of carbonate system variables at the ESTOC site from 1995 to 2004. *Biogeosciences*. **7**: 3067-3081
- González F., Zoppi E. y Montiel E. 2006. Productividad primaria del fitoplacton en la bahía de Mochima, Venezuela. *Invest. Mar.*, Valparaíso. **34**: 37-45.
- Guinotte J., Fabry V. 2008. Ocean Acidification and Its Potential Effects on Marine Ecosystems. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* DOI: 10.1196/annals.1439.013
- Hahn S., Rodolfo-Metalpa R., Griesshaber E., Schmahl W. W., Buhl D., Hall-Spencer J. M., Baggini C., Fehr K. T., y Immenhauser A. 2012. Marine bivalve shell geochemistry and ultrastructure from modern low pH environments: environmental effect versus experimental bias. *Biogeosciences*. **9**: 1897–1914
- Harper E.M. 2000. Are calcitic layers an effective adaptation against shell dissolution in the Bivalvia?. *J. Zool., Lond.* **251**:179- 186
- Harris D. 2003. Análisis químico cuantitativo. Editorial Reverte. 3ª Edición. Barcelona-España.

Hernández- Ayón, J., Zirino, A., Marinote, S., Camino-Herrera, R y Galindo- Beer, M. 2003. Relación pH-densidad en el agua. *Ciencias Marinas* **29** (4): 497- 508.

Hilmi N., Allemand D., Dupont S., Safa A., Haraldsson G., Nunes P., Moore C. y colaboradores. 2012. Toward improved socio-economic assessments of ocean acidification's impacts. *Mar Bio*. DOI 10.1007/s00227-012-2031-5

Hoegh-Guldberg O., Mumby P. J., Hooten A. J., Steneck R. S., Greenfield P., Gomez E., Harvell C. D., Sale P. F., Edwards A.J., Caldeira K., Knowlton N., Eakin R., Iglesias-Prieto N., Muthiga N., Bradbury R.H., Dubi A. y Hatziolos M.E. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science* **318**: 1737- 1742.

Iglesias-Prieto R., Galindo-Martínez C., Enríquez S. y Carricart-Ganivet J. 2014. Attributing reductions in coral calcification to the saturation state of aragonite, comments on the effects of persistent natural acidification. *PNAS*. DOI 10.1073/pnas.1318521111.

Instituto Nacional de Parques. 1973. Decreto de creación del Parque Nacional Mochima. Gaceta Oficial N° 30.285, 20 de diciembre.

IPCC, 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Houghton, J.T.,Y. Ding, D.J. Griggs, M. Noguer, P.J. van der Linden, X. Dai, K. Maskell, and C.A. Johnson (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA,.

IPCC, 2007. Cambio climático 2007: Informe de síntesis. Contribución de los Grupos de trabajo I, II y III al Cuarto Informe de evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático [Equipo de redacción principal: Pachauri, R.K. y Reisinger, A. (directores de la publicación)]. IPCC, Ginebra, Suiza.

Jackson M. L. 1942. Análisis químico de los suelos. Ediciones Omega. Barcelona, España.

Jiménez M. y Liñero-Araña I. 2002. Moluscos en praderas de *Thalassia testudinum* en Isla Larga, Bahía de Mochima, Edo. Sucre, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univ. Oriente* **41**: 55-65.

Jokiel P., I. Rodgers, I. Kuffner, A. Anderson, E. Cox y F. Mackenzie 2008. Ocean acidification and calcifying reef organisms: a mesocosm investigation. *Coral Reefs*. **27**(3):473-483.

Kleypas J., Buddemeier R., Archer D., Gattuso J., Langdon C. y Opdike B. 1999. Geochemical consequences of increased atmospheric carbon dioxide on coral reefs. *Science* **284**: 118-20.

Kleypas J., Buddemeier R. y Gattuso J. 2001. The future of coral reefs in an age of global change. *Int. J. Earth Sci.* **284**: 118–120.

Kleypas, J., Feely, R., Fabry, V., Langdon, C., Sabine, C. y Robbins, L. 2006. Impacts of ocean acidification on coral reefs and other marine calcifiers: A Guide for future research, report of a workshop held 18–20 April 2005, St. Petersburg, FL, sponsored by NSF, NOAA, and the U.S. Geological Survey.

Kleypas J. y Hoegh-Guldberg O. 2008. Coral reefs and climate change: susceptibility and consequences. En: Status of Caribbean coral reefs after bleaching and hurricanes in 2005. Wilkinson C. y D. Souter (Eds). Global Coral Reef Monitoring Network. Australia. 19-29.

Leclercq N., Gattuso J. y Jaubert J. 2000. CO₂ partial pressure controls the calcification rate of a coral community, *Global Change Biol.* **6**: 1–6.

López, M. 2012. Hidrogeoquímica de las aguas de Cariaco, Estado Sucre, Venezuela. Tesis de Grado, Universidad de Oriente. Venezuela.

López, V. 2013. Hidrogeoquímica de aguas termales de las zonas de El Pilar y Los Ipures, Estado Sucre, Venezuela. Tesis de Grado, Universidad de Oriente. Venezuela.

- Martin, S., Rodolfo-Metalpa, R., Ransome, E., Rowley, S. Buia, M. C. 2008. Effects of naturally acidified seawater on seagrass calcareous epibionts. *Biol. Lett.* **4**: 689–692.
- Marubini F., C. Ferrier-Pagés, P. Furla y D. Allemand 2008. Coral calcification responds to seawater acidification: a working hypothesis toward a physiological mechanism. *Coral Reefs*. **27** (3): 491-499.
- McClintock J., Angus R., McDouals M., Amsler S. y Vohdra Y. 2009. Rapid dissolution of shell of weakly calcified Antarctic benthic macroorganisms indicates high vulnerability to ocean acidification. *Antarctic Science* **21**: 449-456
- Méndez de E, E., Ruiz, L., Torres de J, A., Álvarez, M., Fariña, A., Sant, S., Prieto, A., Barrios, J y Marin B. 2004. Nuevos registros para la ictiofauna marina del Parque Nacional Mochima, Venezuela. *Boletín del centro de Investigaciones Biológicas*. **38**: 20- 31.
- Millero, F. J. 1995. Thermodynamics of the carbon dioxide system in the oceans. *Geochim. Cosmochim. Acta*. **59**: 661-677.
- Ministerio del Poder Popular para el Ambiente. 2010. Atlas de áreas protegidas de Venezuela, 10 parques nacionales. INPARQUES. República Bolivariana de Venezuela.
- Montgomery D. 2001. Design and Analysis of Experiments. John Wiley and Sons, INC. 5th Edition. USA.
- Nienhuis S. 2009. Multiple impacts of ocean acidification on calcifying marine invertebrates. Tesis de Maestría, The University of British Columbia. Vancouver, Canadá.
- Parker L.M., Ross P., O'Connor W. 2010. Populations of the Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata*, vary in response to ocean acidification. *Mar Biol* **158**:689–697
- Pérez F., Ríos A., Rellán T. y Álvarez M. 2000. Determinación potenciométrica rápida de la alcalinidad en agua de mar: Perfeccionamiento del método. *Ciencias Marinas* **26**:463-478

Pierrot, D. E y Wallace, D. W. 2006. MS Excel Program Developed for CO₂ System Calculation ORNL/CDIAC-105a. Carbon Dioxide Information Analysis Center.

Pörtner H. 2008. Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: a physiologist's view. *Mar Ecol Prog Ser.* **373**: 203–217

Quintero A., Bonilla J., Serrano L., Amaro M., Rodríguez B., Terejova G. y Figueroa Y. 2004. Características ambientales de la bahía de Mochima y adyacencias de la cuenca de Cariaco, Venezuela. *Bol. Inst. Oceanogr. Venezuela, Univer. Oriente.* **43**: 49-64

Ramírez G. 1983. Características físico-químicas de la Bahía de Santa Marta (Agosto 1980-Julio 1981). *An. Inst. Inv. Mar.* **13**:111-121.

Riebesell, U. y col. 2007. Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean. *Nature* **450**: 545–548.

Rigola M. 1990. Tratamientos de aguas industriales: Aguas de proceso y residuales. Marcombo S.A. Barcelona- España.

Rodolfo- Metalpa R., Houlbrèque F., Tambutté É., Boisson F., Baggini C., Patti F., Jeffree R., Fine M., Foggo A., Gattuso J. y Hall-Spencer M. 2011. Coral and mollusc resistance to ocean acidification adversely affected by warming. *Nature Climate Change*. DOI: 10.1038/NCLIMATE1200

Roldán G. y Ramírez J. 2008. Fundamentos de limnología Neotropical. Editorial Universidad de Antioquia. 2^{da} edición. Medellín- Colombia.

Sandeman I. 2012. Preliminary results with a torsion microbalance indicate that carbon dioxide and exposed carbonic anhydrase in the organic matrix are the basis of calcification on the skeleton surface of living corals. *Rev. Biol. Trop.* **60**: 103- 120

Sánchez A. 2006. Evaluación espacial y temporal de las comunidades bentónicas presentes en la costa litoral rocosa de la Bahía de Mochima, Parque Nacional Mochima. Tesis de Licenciatura. Universidad Central de Venezuela. Caracas- Venezuela.

Turekian K. 1974. Los océanos; Fundamentos de las ciencias de la tierra. Editorial Omega. Barcelona-España

Veron J. E. 2008. Mass extinctions and ocean acidification: biological constraints on geological dilemmas. *Coral Reef*. **27**(3):459- 472.

Watka L. 2009. Using mesocosms in marine ecology: a laboratory experiment in the rocky intertidal zone with extended commentary on current uses. Tesis de Maestría. University of Massachusetts Dartmouth. Estados Unidos.

Widdicombe S, Needham H.R (2007) Impact of CO₂-induced seawater acidification on the burrowing activity of *Nereis virens* and sediment nutrient flux. *Mar Ecol Prog Ser* **341**: 111–122.

Wood H., Spicer J., Lowe D.M y Widdicombe S. 2010. Interaction of ocean acidification and temperature; the high cost of survival in the brittlestar *Ophiura ophiura*. *Mar Biol*. **157**: 2001-2013.

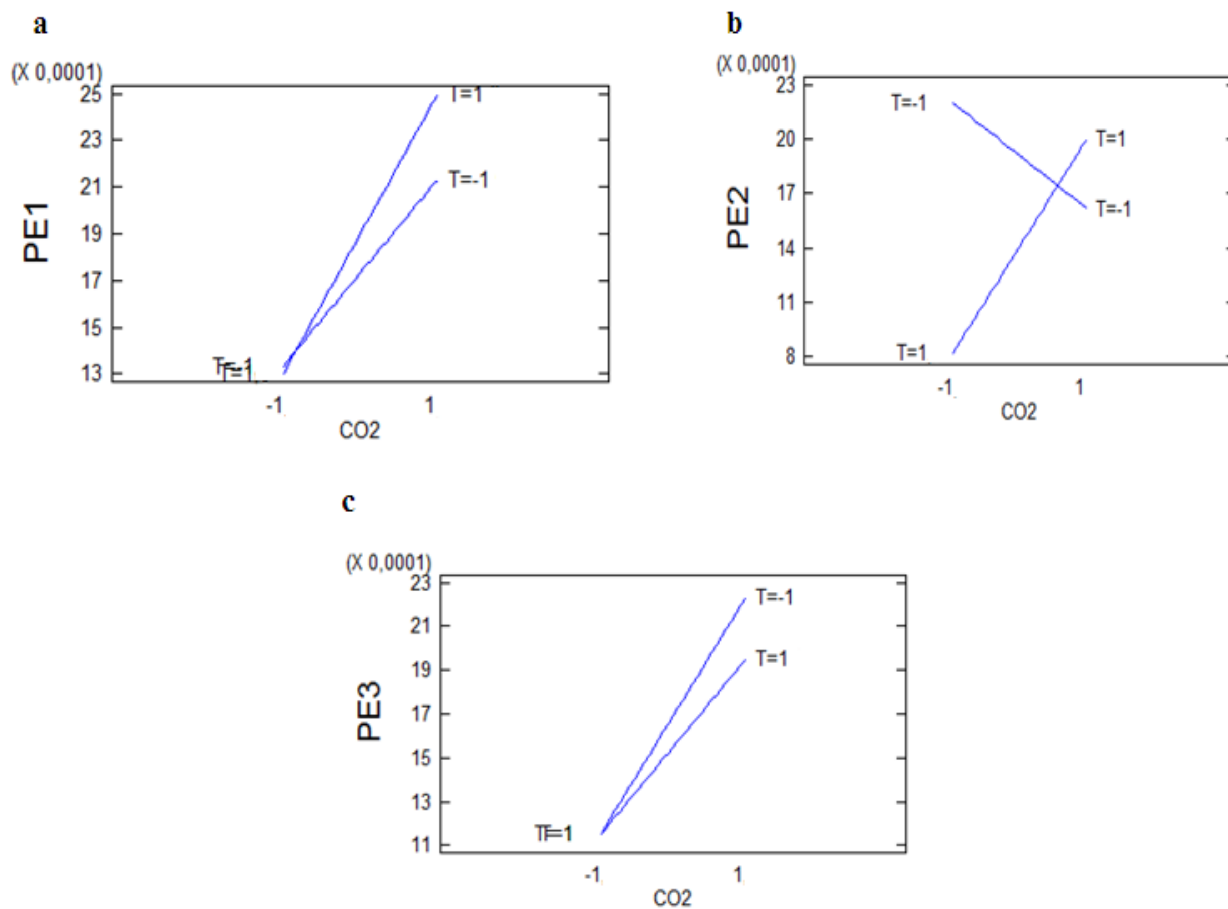
Zhang G., Fang X., Guo X., Li L., Luo R., Xu F., Yang P. y col. 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*. DOI:10.1038/nature11413

Consulta en línea

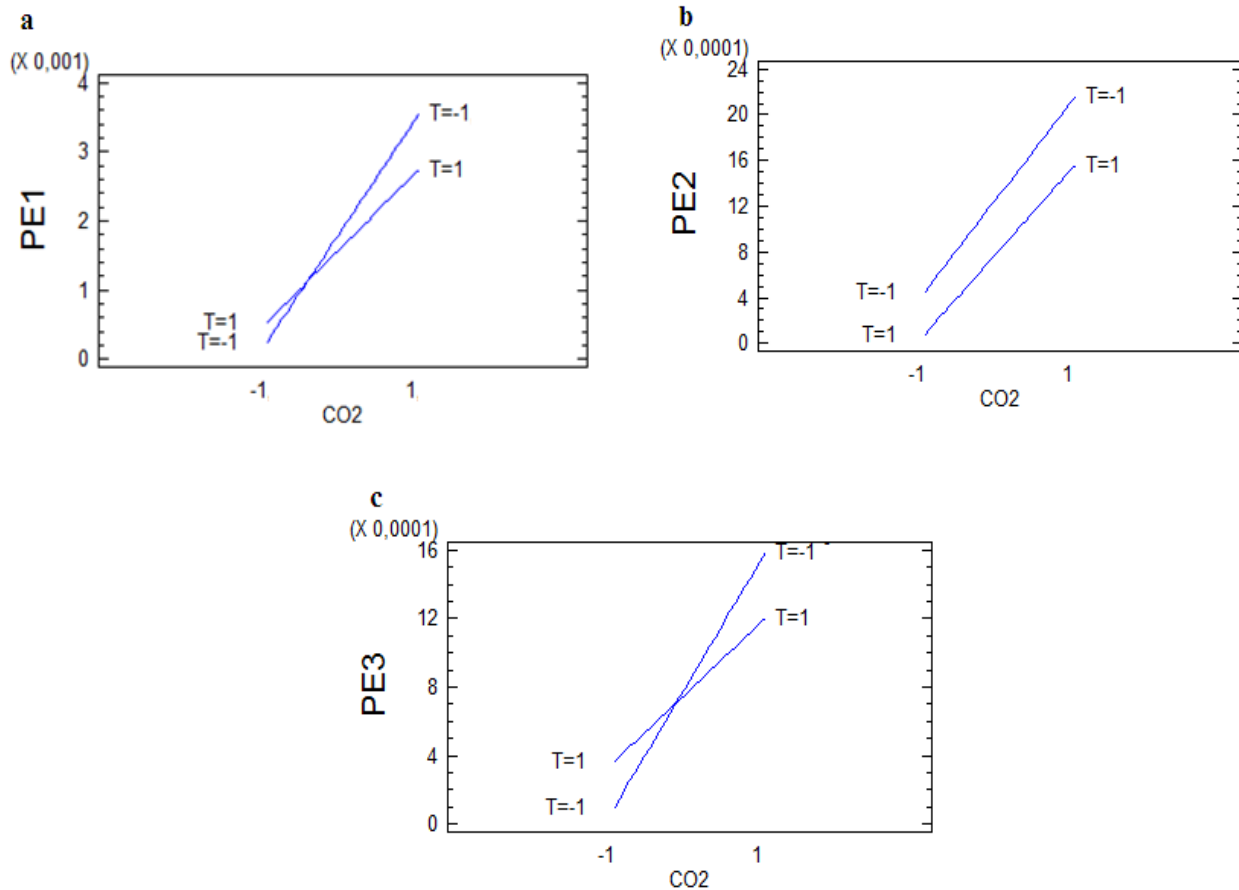
Raven J., Caldeira K., Elderfield H., Hoegh-Guldberg O., Liss P., Riebesell U. Shepherd J., Turley C. y Watson A. 2005. Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide. Policy Document 12/05. The Royal Society. [En línea]. Available from: www.royalsoc.ac.uk

www.google.com/intl/es/earth/ [Consulta: 04 de junio de 2013].

ANEXOS



Anexo 1. Interacción entre los factores y sus niveles de estudio, por semana para corales. PE1, PE2 Y PE3 se refieren a la pérdida de peso estandarizada para la semana 1, 2 o 3 respectivamente. **(a):** Interacción para la primera semana. **(b):** Interacción para la segunda semana. **(c):** Interacción para la tercera semana.



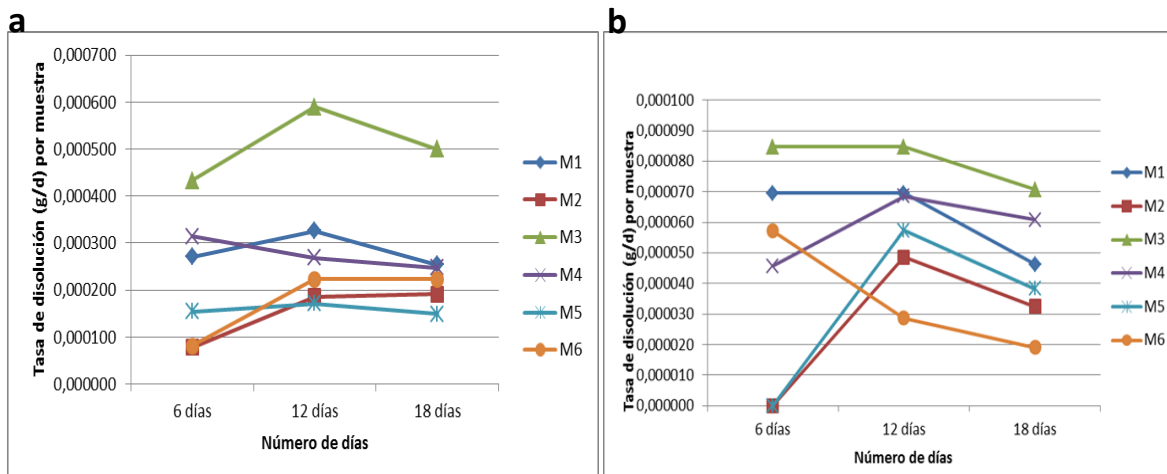
Anexo 2. Interacción entre los factores y sus niveles de estudio, por semana para corales. PE1 PE2 y PE3 se refieren a la pérdida de peso estandarizada para la semana 1, 2 o 3 respectivamente. **(a):** Interacción para la primera semana. **(b):** Interacción para la segunda semana. **(c):** Interacción para la tercera semana.

Anexo 3. Concentración de iones carbonato y bicarbonato expresada en el logaritmo de la concentración molal obtenidos mediante titulación colorimétrica.

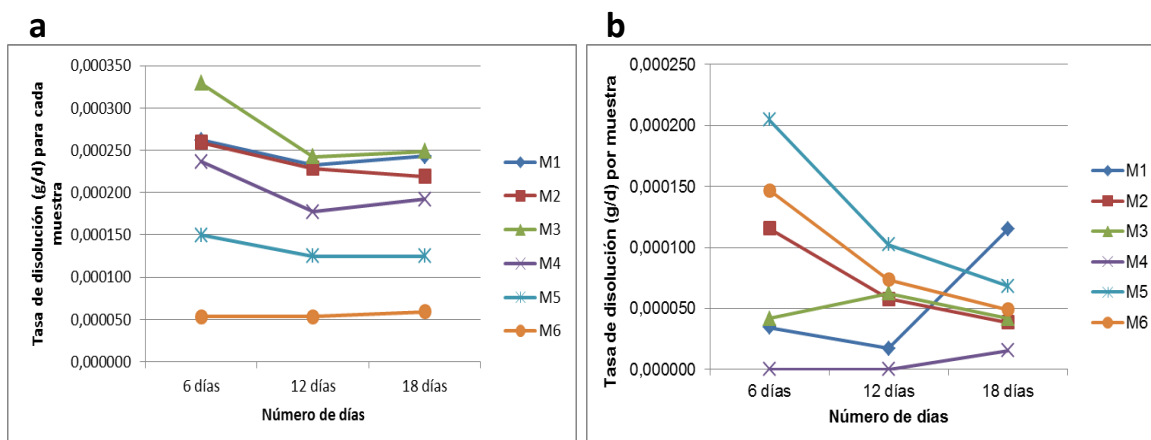
Semana	Tratamiento	Log [CO ₃ ²⁻]	Log [HCO ₃ ⁻]
1	Control	-3,624	-2,679
	Aumento de temperatura	-3,489	-2,677
	Disminución de pH	-	-2,642
	Combinado	-	-2,616
2	Control	-3,551	-2,701
	Aumento de temperatura	-3,551	-2,712
	Disminución de pH	-	-2,609
	Combinado	-	-2,578
3	Control	-3,630	-2,720
	Aumento de temperatura	-3,569	-2,729
	Disminución de pH	-	-2,640
	Combinado	-	-2,615

Anexo 4. Promedio, de las tres semanas de ensayo, del sistema del CO₂ disuelto en los microcosmos, en los tres tratamientos. Alcalinidad total (At), dióxido de carbono inorgánico total (TCO₂), concentración de CO₂ [CO₂], de carbonato [HCO₃⁻] y bicarbonato [CO₃²⁻], fugacidad del CO₂ (fCO₂); saturación de calcita (ΩCa) y aragonita (ΩAr).

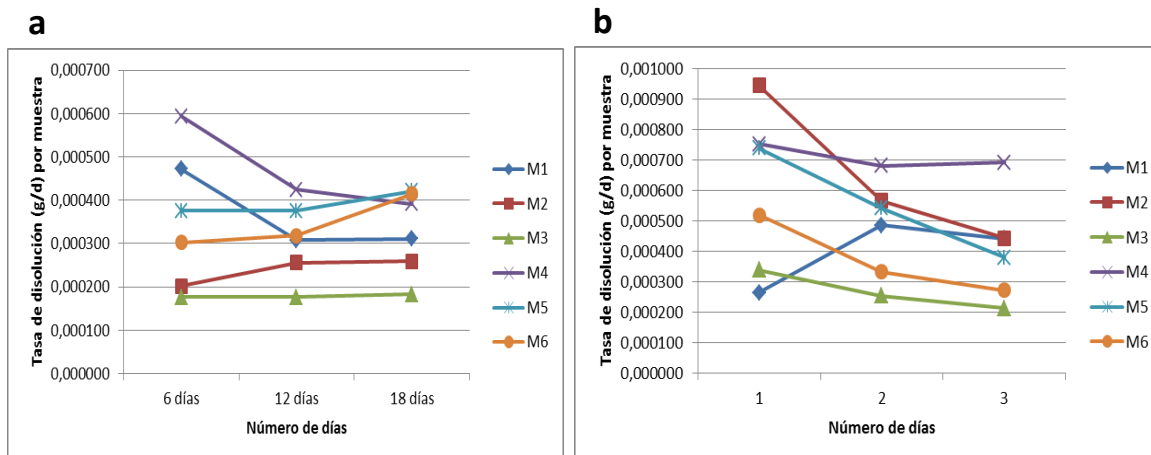
Tratamiento	At (mmol/kg)	TCO ₂ (μmol/kg)	[HCO ₃ ⁻] (μmol/kg)	[CO ₃ ²⁻] (μmol/kg)	[CO ₂] (μmol/kg)	pCO ₂ (μatm)	ΩCa	ΩAr
Control	2498,97	2142,73	1876,57	254,87	11,28	418,93	6,01	3,99
Aumento temp.	2573,10	2157,80	1849,60	298,23	9,97	406,43	7,10	4,78
Disminución pH	2344,50	2266,00	2138,07	84,17	43,76	1621,60	2,00	1,33
Combinado	2492,33	2414,43	2272,10	90,95	51,39	2142,40	2,18	1,47



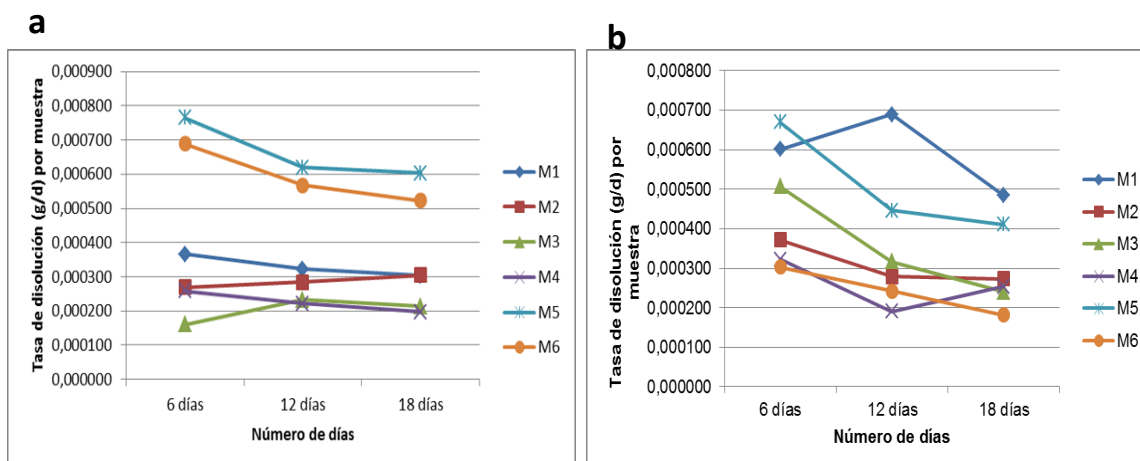
Anexo 5. Tasa de disolución (g/d) por cada muestra del control. **a:** corales. **b:** bivalvos.



Anexo 6. Tasa de disolución (g/d) por cada muestra del tratamiento con aumento de temperatura. **a:** corales. **b:** bivalvos.



Anexo 7. Tasa de disolución (g/d) por cada muestra del tratamiento con aumento de concentración de CO_2 . **a:** corales. **b:** bivalvos.



Anexo 8. Tasa de disolución (g/d) por cada muestra del tratamiento con aumento de concentración de CO_2 y aumento de temperatura. **a:** corales. **b:** bivalvos.

