

Efecto de una posible interacción entre el pH y la salinidad sobre el crecimiento de *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813

Y. Fernández Torquemada y J. L. Sánchez Lizaso

Unidad de Biología Marina. Departamento de Ciencias del Mar y Biología Aplicada. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante. Apartado 99. E-03080 Alicante, España. Correo electrónico: yolanda.fernandez@ua.es

Recibido en enero de 2003. Aceptado en diciembre de 2003.

RESUMEN

La desalación de aguas marinas mediante ósmosis inversa es una actividad en desarrollo en la cuenca mediterránea cuyos posibles impactos ambientales son poco conocidos. El agua de rechazo de dichas plantas posee una elevada salinidad y un pH relativamente bajo. En el presente trabajo se realizaron experimentos en mesocosmos para estimar el efecto de una posible interacción entre dicho descenso del pH y el incremento de la salinidad sobre el crecimiento de la fanerógama marina *Posidonia oceanica* (L.) Delile, 1813. En los resultados obtenidos no se observó un efecto de la interacción entre ambos factores, pero sí una reducción significativa del crecimiento de la planta frente al aumento de la salinidad y al descenso del pH por separado.

Palabras clave: Impacto ambiental, desalación, carbono inorgánico, mesocosmos, fanerógamas marinas.

ABSTRACT

Effect of a possible interaction between pH and salinity on the growth of Posidonia oceanica (L.) Delile, 1813.

Reverse osmosis seawater desalination is a steadily growing industry in Mediterranean countries, but little information is available regarding its potential adverse environmental impact. Brine discharge from these plants has high salinity and a relatively low pH. The present paper describes mesocosm experiments carried out to determine the effect of a possible interaction between this simultaneous pH reduction and increase in salinity and the growth of the seagrass Posidonia oceanica (L.) Delile, 1813. Our results did not show any effect from the interaction between these two factors, although we did detect a significant growth reduction in plants when high salinities and low pH values occurred separately.

Keywords: Environmental impact, desalination, inorganic carbon, mesocosm, seagrasses.

INTRODUCCIÓN

Debido a la escasez de agua existente en muchos países de la cuenca mediterránea se está produciendo un importante crecimiento de la industria desaladora, principalmente mediante sistemas de

ósmosis inversa, cuyos impactos ambientales son aun poco conocidos. Durante el proceso de desalación se forma un agua de rechazo de elevada salinidad que puede contener además otras sustancias utilizadas en el proceso (Hoepner, 1999; Jodar, Tomás y Latorre, 2001; Einav, Harussi y Perry,

2002). Las sustancias químicas que se añaden al proceso dependen de muchos factores que son específicos de cada planta, pero la que se emplea de modo más general es ácido sulfúrico. El H_2SO_4 se utiliza continuamente en las desaladoras de ósmosis inversa para impedir la formación de depósitos calcáreos sobre sus membranas, de forma que el vertido suele alcanzar pH:7, aunque puede llegar a un valor de pH:3 durante las operaciones de limpieza de la planta (Lattemann y Höpner, 2003).

Por su alta densidad, el vertido se desplaza por el fondo marino, pudiendo afectar a los organismos bentónicos allí presentes (Del Bene, Jirka y Largier, 1994; Gacia y Ballesteros, 2001), como es el caso de las praderas de fanerógamas marinas.

Hasta el momento se conocen muy pocos trabajos sobre los posibles efectos de estos vertidos en las comunidades litorales (Chesher, 1975; Tomasko *et al.*, 1999), y son aun más escasos los centrados en el mar Mediterráneo (Castriota *et al.*, 2001), donde la fanerógama marina *Posidonia oceanica* (L.) Delile 1813 es una especie endémica, de gran importancia (Sánchez Lizaso, 1993) y muy sensible a toda clase de impactos antrópicos (Ruiz, 2000).

Los estudios sobre los efectos de un único factor en fanerógamas marinas son bastante comunes, sin embargo, son muy pocas las investigaciones dedicadas a interacciones o a condiciones más complejas, donde la combinación de varios factores puede provocar alteraciones en la respuesta de las plantas (Ralph, 1999). De forma aislada, las variaciones en el pH pueden afectar a la fotosíntesis de los vegetales marinos al alterar las concentraciones de CO_2 y HCO_3^- en sistemas cerrados (Beer, Eshel y Waisel, 1977), pero también poseen efectos fisiológicos, al influir en los gradientes electroquímicos, e incluso se han descrito efectos tóxicos (Beer, 1989; Katz *et al.*, 2000; Touchette y Burkholder, 2000). En cuanto a la salinidad, un aumento de ésta puede actuar sobre la fotosíntesis (Kerr y Strother, 1985), el metabolismo (Van Katwijk *et al.*, 1999), la reproducción (Ramage y Schiel, 1998), el crecimiento (McMillan y Moseley, 1967) e, incluso, la supervivencia (Vermaat, Verhagen y Lindenburg, 2000) de algunas especies de fanerógamas marinas.

El objetivo de este trabajo es estimar el efecto de una posible interacción entre la variación de estos dos factores, pH y salinidad, sobre el crecimiento de *P. oceanica*, condiciones que se darían ante un eventual vertido de aguas de rechazo de una desaladora sobre esta comunidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con plantas recogidas mediante buceo con escafandra autónoma en una pradera superficial (4-8 m) de la cala de Los Estudiantes (Villajoyosa, Alicante). Inmediatamente después de la recolección, las plantas fueron trasladadas en un recipiente con abundante agua de mar al laboratorio, donde fueron colocadas en tanques de 300 l.

En cada uno de los tanques se dispusieron entre 10 y 20 haces independientes de crecimiento ortotropo, marcados por el método de Ziemann (1974) modificado para, posteriormente, poder determinar su crecimiento de forma sencilla. Después de aproximadamente 10 días, los haces se recogieron, se separaron sus hojas y se midió la superficie de cada una de ellas. Además, ya que el crecimiento de muchas fanerógamas marinas suele depender del tamaño de las mismas (Terrados Muñoz, 1991), se comprobó que los haces utilizados en cada experimento fuesen similares en todo lo posible.

Se realizaron tres experimentos en los que se trabajó con dos salinidades: la del agua de mar como control (38) y una superior (40 y 43), que se obtuvo empleando sal para salazón de las salinas de Santa Pola, que no posee ningún tipo de aditivo. Su concentración se midió mediante un conductímetro Thermo Orion 1230 (resolución: $\pm 0,1$). A su vez, en cada experimento se emplearon dos pH distintos: uno que actuaba a modo de control, por ser el valor medio del agua de mar (pH:8,2), y otro inferior (pH:6, pH:7 y pH:7,5), que se consiguió añadiendo H_2SO_4 . Su valor se controló mediante un pH-metro 507 Crison (precisión: $\pm 0,01$) y, cuando se detectaron variaciones en el mismo, se corrigieron mediante la adición de más ácido. Cada uno de estos cuatro tratamientos estaba replicado en tres tanques (figura 1). Como la concentración de carbono inorgánico del agua de mar cambia con el pH, se realizaron valoraciones a lo largo de los experimentos para conocer dicha variación.

El resto de condiciones físicoquímicas dentro de los tanques se mantuvieron constantes todo lo posible durante cada experimento. Principalmente se controló la temperatura (22-26 °C) y la iluminación, que, con un fotoperiodo de 12 h luz y 12 h de oscuridad y una RFA (radiación fotosintéticamente activa, $\lambda = 400-700$ nm) de 31-67 $\mu\text{mol quanta}/\text{m}^2/\text{s}$, se medía con un fotómetro LiCor 192 SA.

Para detectar las posibles diferencias significativas entre los distintos tratamientos se realizaron

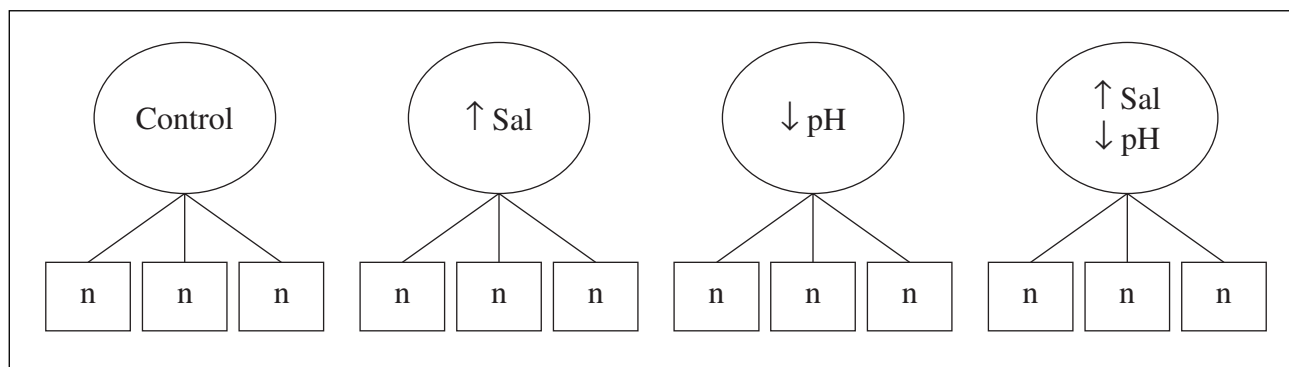


Figura 1. Esquema del diseño de los tres experimentos realizados, donde aparecen los cuatro tratamientos con sus tres réplicas correspondientes, siendo n el número de haces en cada tanque.

anova de dos factores fijos y ortogonales, la salinidad y el pH, con un factor tanque anidado, y éste, a su vez, con 10 réplicas (los haces), para lo que se empleó el programa GMAV.5. El modelo lineal de las fuentes de variación usado fue

$$X_{ijkn} = \mu + \text{Sal}_i + \text{pH}_j + \text{Sal} \cdot \text{pH}_{ij} + \text{Tanque} (\text{Sal} \cdot \text{pH})_{k(ij)} + \text{Residual}_{n(kij)}$$

Antes del análisis se comprobó la homogeneidad de la varianza mediante el test de Cochran (Underwood, 1997). El nivel de significación empleado en todos los casos fue 0,05.

RESULTADOS

Los haces de *P. oceanica* utilizados en los distintos tratamientos dentro de cada experimento tenían un tamaño similar (tabla I). Esta comprobación se realizó para descartar la influencia del tamaño de los mismos, ya que el crecimiento de muchas fane-

rógamas marinas suele depender del tamaño de sus haces.

El crecimiento de las plantas alcanzó los mayores valores, entre 0,28 y 0,46 cm²/día · haz, en los tratamientos de salinidad control (figura 2), disminuyendo de forma significativa en los tanques en que ésta se aumentó a 43, como se puede apreciar en dos de los experimentos realizados (tabla II). Sin embargo, en el experimento efectuado a menor salinidad, de 40, no se halló ninguna diferencia significativa respecto al tratamiento control.

El efecto aislado del pH no causó efectos significativos en los dos primeros experimentos, en los que se empleó pH:7,5 y pH:7 (tabla II). Si resultó ser significativo en el experimento en que se trabajó con pH:6 (tabla II), que provocó una disminución importante en el crecimiento de los haces de *P. oceanica* (figura 2). Se ha de destacar que en ese tratamiento, además, se pudo observar la aparición de un alto porcentaje de manchas de necrosis en las hojas de las plantas.

Tabla I. Resultados de los análisis de varianza realizados con los datos de superficie foliar de los haces en cada uno de los tres experimentos (gl): grados de libertad; (CM): cuadrados medios; (F): F de Sneedecor; (ns): no significativo.

Experimento	Efecto	gl	CM	F	p	F versus
1	Salinidad (43)	1	162,0060	0,04	ns	Tanque (sal · pH)
	pH:7,5	1	163,8237	0,04	ns	Tanque (sal · pH)
	Sal · pH	1	9 382,5999	2,55	ns	Tanque (sal · pH)
	Tanque (sal · pH)	8	3 679,9585			
2	Salinidad (40)	1	20 291,9618	1,12	ns	Tanque (sal · pH)
	pH:7	1	3 100,2234	0,17	ns	Tanque (sal · pH)
	Sal · pH	1	700,9300	0,04	ns	Tanque (sal · pH)
	Tanque (sal · pH)	8	18 161,6226			
3	Salinidad (43)	1	36 834,9240	14,08	ns	Tanque (sal · pH)
	pH:6	1	1 189,0310	0,49	ns	Tanque (sal · pH)
	Sal · pH	1	139,1592	0,06	ns	Tanque (sal · pH)
	Tanque (sal · pH)	8	2 443,3259	2,62		

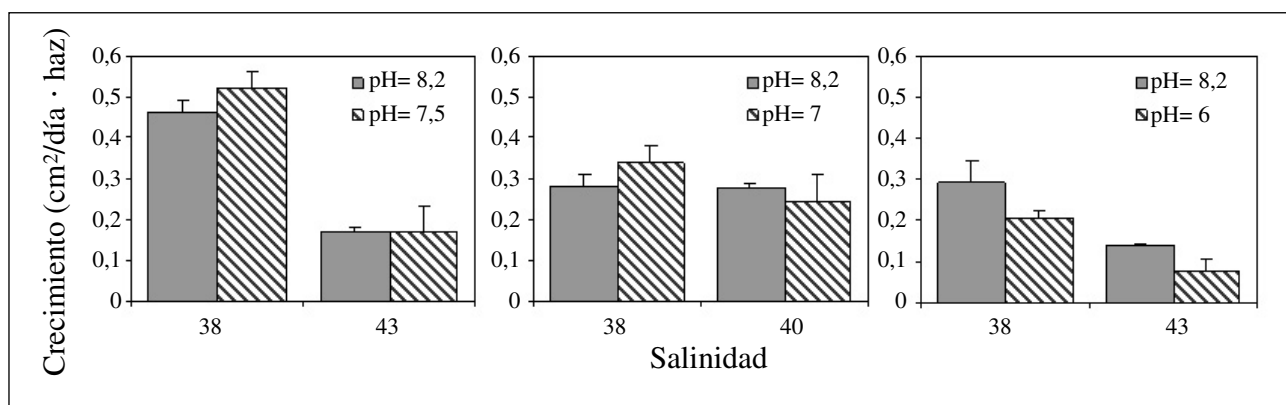


Figura 2. Valores medios del crecimiento de *Posidonia oceanica* frente a los cambios de salinidad y pH indicados (las barras representan el error típico).

Por el contrario, en ninguno de los tres experimentos realizados se llegó a obtener resultados significativos de la interacción entre las variaciones conjuntas de la salinidad y del pH sobre el crecimiento de esta especie (tabla II).

En cuanto a la concentración de carbono inorgánico, se mantuvo cercana a la del pH original (pH:8,2) en el experimento 1 (de pH:7,5), llegando a disminuir casi un 40 % en el segundo experimento (de pH:7), con valores 1,97 mM de HCO_3^- y 11,1 μM de CO_2 , mientras que en el de pH:6 se redujo en el 95 %, alcanzando valores de 0,15 mM de HCO_3^- y 0,84 μM de CO_2 .

DISCUSIÓN

El pH y la salinidad son factores considerados relativamente constantes en mar abierto. El efecto

tampón del sistema carbonato-bicarbonato actúa manteniendo el pH. Por otra parte, cualquier variación del pH puede influir en la concentración y forma de carbono inorgánico disuelto (CID) disponible en el medio. Estas condiciones se verían alteradas ante el vertido de una desaladora de ósmosis inversa, que provocaría un aumento considerable de la salinidad y un ligero descenso del pH, factores que, al variar conjuntamente, podrían actuar de forma sinérgica o antagonista sobre los organismos presentes. En nuestros experimentos se estudió la combinación de ambos factores sobre el crecimiento de la fanerógama marina *P. oceanica* y no se observó ningún tipo de interacción, pudiéndose explicar los resultados obtenidos por los efectos causados de forma aislada por cada uno de estos agentes.

Tampoco se detectaron efectos significativos ante reducciones ligeras del pH (pH:7 y pH:7,5), apareciendo una disminución importante del creci-

Tabla II. Resultados de los análisis de varianza practicados al crecimiento de las plantas en los tres experimentos (gl): grados de libertad; (CM): cuadrados medios; (F): F de Sneedecor; (ns): no significativo; (*): $p < 0,05$; (**): $p < 0,01$; (***) : $p < 0,001$.

Experimento	Efecto	gl	CM	F	p	F versus
1	Salinidad (43)	1	36,0631	155,02	***	Tanque (sal · pH)
	pH:7,5	1	0,0662	0,28	ns	Tanque (sal · pH)
	Sal · pH	1	0,2326	0,70	ns	Tanque (sal · pH)
	Tanque (sal · pH)	8	0,1110	2,10	*	Residual
	Residual	108	0,1631			
2	Salinidad (40)	1	0,0782	2,41	ns	Tanque (sal · pH)
	pH:7	1	0,0061	0,19	ns	Tanque (sal · pH)
	Sal · pH	1	0,0324	1,78	ns	Tanque (sal · pH)
	Tanque (sal · pH)	8	0,0131	2,47	*	Residual
	Residual	108	0,0577			
3	Salinidad (43)	1	0,5805	31,02	***	Tanque (sal · pH)
	pH:6	1	0,1653	8,83	*	Tanque (sal · pH)
	Sal · pH	1	0,0045	0,24	ns	Tanque (sal · pH)
	Tanque (sal · pH)	8	0,0187	4,7	**	Residual
	Residual	108	0,0040			

miento de la planta a pH:6, valor en el que se ha comprobado que se produce un descenso importante de la concentración de CID (del 95 %). La concentración de CID total en el agua de mar es de aproximadamente 2,2 mM, pero al hallarse ésta a pH:8,2, la mayoría se encuentra en forma de bicarbonato. En un sistema cerrado, ante una disminución de pH se produciría un aumento de la concentración de CO₂ disuelto en el agua, favoreciéndose la fotosíntesis de *P. oceanica* en condiciones de limitación de carbono (Invers, 2001). Sin embargo, el vertido de una desaladora se realizaría en un medio abierto, situación que intentamos reproducir con nuestros tanques, donde al bajar el pH mediante la adición de ácido sulfúrico se ocasionaría una transformación de HCO₃⁻ a CO₂, que en agua saturada difunde a la atmósfera a gran velocidad, produciéndose un importante descenso en la concentración de CID que, como ya se ha comprobado para esta especie, provocaría un descenso en su tasa fotosintética (Invers, 2001) y, probablemente, en su crecimiento. Estos efectos podrían explicarse por una reducción en el metabolismo y un mayor gasto de las reservas de las plantas. Además, a pH:6 también se observó un gran porcentaje de hojas necróticas, lo que podría deberse a los mismos efectos tóxicos ya observados en otros vegetales (Bowes y Salvucci, 1989).

Por otro lado, se ha comprobado cómo el aumento de salinidad provoca una disminución del crecimiento de *P. oceanica*, como sucede a otras fanerógamas marinas (McMillan y Moseley, 1967; Biebl y McRoy, 1971), aunque hemos de destacar la baja tolerancia obtenida para esta planta. Estos efectos negativos pueden ser debidos a un aumento de la respiración y una disminución de la tasa fotosintética (Biebl y McRoy, 1971; Kraemer *et al.*, 1999), que causaría un desequilibrio en el balance de carbono, afectando, por tanto, el crecimiento de las plantas. Las variaciones de salinidad también provocan cambios metabólicos, como el aumento de la concentración de prolina (Romero *et al.*, 2001), compuesto cuya producción requiere mayor gasto energético por parte de la planta.

Se ha de matizar que estos experimentos han sido realizados en las condiciones controladas de un mesocosmos y en cortos periodos de tiempo, por lo que las repuestas observadas podrían diferir de las que se den en condiciones naturales, durante un mayor tiempo de exposición y con la variación e influencia de otros factores, como la iluminación y la

temperatura. En todo caso, los ligeros descensos del pH que puede provocar el vertido de agua de rechazo de una desaladora en condiciones de funcionamiento normal no provocarían efectos negativos sobre la planta ni efectos sinérgicos con la salinidad. Habría que considerar que en condiciones excepcionales se puede producir una limpieza ácida de las membranas en las que el pH puede descender a 3 (Lattemann y Höpner, 2003). En estas condiciones sería conveniente neutralizar el agua de rechazo antes de su vertido. De acuerdo con nuestros resultados, el aumento de salinidad sería el principal factor que puede provocar una afeción a las praderas de *P. oceanica*, ya que esta especie parece ser muy poco tolerante a su incremento en comparación con otras fanerógamas marinas.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por Aguas de la Cuenca del Segura a través del CEDEX y por una beca FPI de la Generalitat Valenciana (CTBPRR/2002/83). La empresa Mundomar ha facilitado la instalación de los experimentos. Marta Díaz-Valdés Farray ha colaborado en la recogida de plantas en el mar. Gracias también a Olga Invers por sus comentarios y consejos.

BIBLIOGRAFÍA

- Beer, S. 1989. Photosynthesis and photorespiration of marine angiosperms. *Aquatic Botany* 34: 153-166.
- Beer, S., A. Eshel e Y. Waisel. 1977. Carbon metabolism in seagrasses. I. Utilization of exogenous inorganic carbon species in photosynthesis. *Journal of Experimental Botany* 28: 1180-1189.
- Biebl, R. y C. P. McRoy. 1971. Plasmatic resistance of respiration and photosynthesis of *Zostera marina* at different salinities and temperatures. *Marine Biology* 8: 48-56.
- Bowes, G. y M. E. Salvucci. 1989. Plasticity in the photosynthetic carbon metabolism of submersed aquatic macrophytes. *Aquatic Botany* 34: 233-266.
- Castriota, L., Ç. M. Beltrano, O. Giambalvo, P. Vivona y G. Sunseri. 2001. A one-year study of the effects of a hyperhaline discharge from a desalination plant on the zoobenthic communities in the Ustica Island Marine Reserve (Southern Tyrrhenian Sea). En: *36 th CIESM Congress* (septiembre, 2001. Monte Carlo, Mónaco): 4 pp.
- Chesher, R. H. 1975. Biological impact of a large-scale desalination plant at Key West, Florida. En: *Tropical marine pollution*. E. J. Ferguson y R. E. Johannes (eds.): 99-181. Elsevier Scientific Publishing Company. Ámsterdam.

- Del Bene, J. V., G. Jirka y J. Largier. 1994. Ocean brine disposal. *Desalination* 97: 365-372.
- Einav, R., K. Harussi y D. Perry. 2002. The footprint of the desalination processes on the environment. *Desalination* 152: 141-154.
- Gacia, E. y E. Ballesteros. 2001. El impacto de las plantas desalinizadoras sobre el medio marino: la salmuera en las comunidades bentónicas mediterráneas. En: *Conferencia Internacional: El Plan Hidrológico Nacional y la Gestión Sostenible del Agua. Aspectos Medioambientales, Reutilización y Desalación* (junio, 2001. Zaragoza, España): 10 pp.
- Hoepner, T. 1999. A procedure for environmental impact assessments (EIA) for seawater desalination plants. *Desalination* 124: 1-12.
- Invers, O. 2001. *Contribució al coneiximent de l'ecofisiologia de la nutrició en fanerògames marines d'aigües temperades*. Tesis doctoral. Departament de Ecologia. Universitat de Barcelona: 176 pp.
- Jodar, J., J. E. Tomás y M. Latorre. 2001. Agricultura y desalación en la cuenca del Segura. En: *I Congreso Nacional AEDyR. La desalación y reutilización del siglo XXI* (noviembre, 2000. Murcia, España): 16 pp.
- Katwijk, M.M. van, G. H. W. Schmitz, A. P. Gasseling y P. H. van Avesaath. 1999. Effects of salinity and nutrient load and their interaction on *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series* 190: 155-165.
- Katz, S., Z. Kizner, Z. Dubinsky y M. Friedlander. 2000. Responses of *Porphyra linearis* (Rhodophyta) to environmental factors under controlled culture conditions. *Journal of Applied Phycology* 12: 535-542.
- Kerr, E. A. y S. Strother. 1985. Effects of irradiance, temperature and salinity on photosynthesis of *Zostera muelleri*. *Aquatic Botany* 23: 177-183.
- Kraemer, G. P., R. H. Chamberlain, P. H. Doering, A. D. Steinman y M. Hanisak. 1999. Physiological responses of transplant of the freshwater angiosperm *Vallisneria spiralis* along a salinity gradient in the Caloosahatchee Estuary (Southwestern Florida). *Estuaries* 22 (1): 138-148.
- Latemann, S. y T. Höpner. 2003. *Seawater desalination. Impacts of brine and chemical discharge on the marine environment*. Balaban Desalination Publications. L'Aquila: 142 pp.
- McMillan, C. y F. N. Moseley. 1967. Salinity tolerances of five marine spermatophytes of Redfish Bay, Texas. *Ecology* 48 (3): 503-506.
- Ralph, P. J. 1999. Photosynthetic response of *Halophila ovalis* (R. Br.) Hook. f. to combined environmental stress. *Aquatic Botany* 65: 83-96.
- Ramage, D. L. y D. R. Schiel. 1998. Reproduction in the seagrass *Zostera novaezelandica* on intertidal platforms in southern New Zealand. *Marine Biology* 130: 479-489.
- Romero, J., E. Gacia, O. Invers, M. Manzanera y E. Ballesteros. 2001. Investigación conjunta sobre los efectos fisiológicos de los vertidos de aguas de rechazo de estaciones desaladoras en praderas naturales de *Posidonia oceanica*. Informe técnico. Departamento de Ecología. Universidad de Barcelona. Barcelona, España: 53 pp.
- Ruiz, J. M. 2000. *Respuesta de la fanerógama marina Posidonia oceanica (L.) Delile a perturbaciones antrópicas*. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. Murcia, España: 212 pp.
- Sánchez Lizaso, J. L. 1993. *Estudio de la pradera de Posidonia oceanica (L.) Delile de la Reserva Marina de Tabarca (Alicante): Fenología y producción primaria*. Tesis doctoral. Universidad de Alicante. Alicante, España: 121 pp.
- Terrados Muñoz, J. 1991. *Crecimiento y producción de las praderas de macrofitos del Mar Menor, Murcia*. Tesis doctoral. Universidad de Murcia. Murcia, España: 229 pp.
- Tomasko, D. A., N. J. Blake, C. W. Dye y M. A. Hammond. 1999. Effects of the disposal of reverse osmosis seawater desalination discharges on a seagrass meadow (*Thalassia testudinum*) offshore of Antigua, West Indies. En: *Seagrasses: Monitoring, Ecology, Physiology and Management*. S. A. Bortone (ed.): 99-112. CRC Press. Boca Raton. Florida. EE UU.
- Touchette, B. W. y J. M. Burkholder. 2000. Overview of the physiological ecology of carbon metabolism in seagrasses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 250: 133-167.
- Underwood, A. J. 1997. *Experiments in Ecology. Their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press. Cambridge, Reino Unido: 504 pp.
- Vermaat, J. E., F. C. A. Verhagen y D. Lindenburg. 2000. Contrasting responses in two populations of *Zostera noltii* Hornem. to experimental photoperiod manipulation at two salinities. *Aquatic Botany* 67: 179-189.
- Zieman, J. C. 1974. Methods for the study of the growth and production of turtle grass, *Thalassia testudinum* König. *Aquaculture* 4: 139-143.