

METAANÁLISIS SOBRE EL EFECTO DE LA ACIDIFICACIÓN EN LAS ESTRATEGIAS DE DEFENSA FRENTE A HERBÍVOROS EN FANERÓGAMAS MARINAS

Andrés Arona Villén

Ecología Marina

Máster en Bioinformática y Bioestadística

Tutora de la UOC:

Romina Astrid Rebrij

Tutoras del IMEDEA-CSIC:

Gema Hernán Martínez

Fiona Tomas Nash

20 de junio de 2023

UOC

Universitat Oberta
de Catalunya

Ficha Del Trabajo Final

Título del trabajo	Metaanálisis sobre el efecto de la acidificación en las estrategias de defensa frente a herbívoros en fanerógamas marinas
Nombre del autor/a	Andrés Arona Villén
Nombre del tutor/a de la UOC	Romina Astrid Rebrij
Nombre del/de la tutora del IMEDEA	Gema Hernán Martínez / Fiona Tomas Nash
Fecha de entrega	20 de junio de 2023
Titulación o programa	Máster en Bioinformática y Bioestadística
Área del trabajo final	Ecología Marina
Idioma del trabajo	Castellano
Palabras clave	Metaanálisis, tamaño del efecto, fanerógamas marinas, cambio climático, acidificación oceánica, herbivorismo

Resumen del Trabajo

Las fanerógamas marinas desempeñan un papel crucial en los ecosistemas costeros al proporcionar hábitat para numerosas especies, contribuir al secuestro de carbono, o a reducir la erosión de las playas al atenuar la energía de las olas. El herbivorismo desempeña un papel fundamental en la regulación de las cadenas tróficas y la transferencia de energía en los ecosistemas marinos, siendo especialmente importante cuando afecta a especies formadoras de hábitat, como fanerógamas marinas. Estas plantas han desarrollado estrategias de resistencia y de tolerancia para protegerse del herbivorismo. Sin embargo, los efectos futuros de la acidificación oceánica podrían alterar el papel ecológico de la herbivoría, modificando las estrategias de defensa de las fanerógamas marinas. Aunque se sugiere que el aumento de CO₂ podría tener efectos positivos en las fanerógamas marinas al incrementar la fotosíntesis, los estudios hasta la fecha no han llegado a conclusiones definitivas sobre los efectos de la acidificación oceánica en sus estrategias defensivas frente al herbivorismo. Para aclarar estos efectos a nivel global, se realizó un metaanálisis multinivel con publicaciones desde 1970 hasta 2022. Los resultados indicaron que la acidificación oceánica podría mejorar la resistencia y tolerancia de las fanerógamas marinas, al mismo tiempo que se observó un aumento significativo del herbivorismo. Sin embargo, estos efectos pueden variar dependiendo de la especie, como en el caso de *Z. muelleri*, donde se encontraron efectos negativos significativos en las estrategias defensivas. Este metaanálisis proporciona una visión más amplia sobre los impactos de la acidificación oceánica en las estrategias defensivas de las fanerógamas marinas frente al herbivorismo.

Abstract

Seagrasses play a crucial role in coastal ecosystems by providing habitat for numerous species, contributing to carbon sequestration, and reducing beach erosion through wave attenuation. Herbivory is essential for regulating trophic chains and energy transfer in marine ecosystems, particularly for habitat-forming species. These plants have developed resistance and tolerance strategies to protect themselves from herbivory. However, the future effects of ocean acidification may alter the ecological role of herbivory by modifying the defense strategies of marine phanerogams. Although increased CO₂ levels are suggested to have positive effects on seagrasses by enhancing photosynthesis, studies to date have not yielded definitive conclusions on the effects of ocean acidification on the defensive strategies of seagrasses against herbivory. To clarify these effects at a global level, a multi-level meta-analysis was conducted, encompassing publications from 1970 to 2022. The results indicate that ocean acidification could enhance the resistance and tolerance of seagrasses, while also showing a significant increase in herbivory. However, these effects may vary depending on the species, as observed in the case of *Z. muelleri*, where significant negative effects on defensive strategies were found. This meta-analysis provides a broader insight into the impacts of ocean acidification on the defensive strategies of seagrasses against herbivory.

1. INTRODUCCIÓN	1
<hr/>	
1.1. CONTEXTO Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO	1
1.2. OBJETIVOS DEL TRABAJO	4
1.3. IMPACTO EN SOSTENIBILIDAD, ÉTICO-SOCIAL Y DE DIVERSIDAD	4
1.4. ENFOQUE Y MÉTODO SEGUIDO	5
1.5. PLANIFICACIÓN DEL TRABAJO	5
1.5.1. PLANIFICACIÓN DE TAREAS	5
1.5.2. HITOS DURANTE EL DESARROLLO DEL TRABAJO	6
1.5.3. ANÁLISIS DE RIESGOS	7
1.5.4. DIAGRAMA DE GANTT	8
1.6. BREVE SUMARIO DE PRODUCTOS OBTENIDOS	9
1.7. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS CAPÍTULOS DE LA MEMORIA	9
2. MATERIALES Y MÉTODOS	10
<hr/>	
2.1. CONSTRUCCIÓN DE LA BASE DE DATOS	10
2.1.1. SELECCIÓN DE ARTÍCULOS	10
2.1.2. EXTRACCIÓN DE DATOS	11
2.3. METAANÁLISIS	14
2.3.1. CONFIGURACIÓN DEL ENTORNO EN R	14
2.3.2. ESTIMACIÓN DEL TAMAÑO DEL EFECTO	14
2.3.3. MODELADO DE LOS DATOS	15
2.3.4. VALIDACIÓN DEL MODELO	15
2.3.4.1. Análisis de la heterogeneidad	15
2.3.4.3. Diagnóstico de residuos	16
2.3.4.4. Sesgo de publicación	17
2.4. REPRESENTACIÓN DE LOS DATOS	18
3. RESULTADOS	20
<hr/>	
3.1. ANÁLISIS DEL PESO ESTADÍSTICO: CONTRIBUCIÓN DE PUBLICACIONES Y MODERADORES	20
3.2. TAMAÑOS DEL EFECTO AGRUPADOS POR GRUPOS Y SUBGRUPOS	23
3.2.1. ESTRATEGIAS DE TOLERANCIA	23
3.2.2. ESTRATEGIAS DE RESISTENCIA	24
3.2.3. HERBIVORÍA	26
3.2.4. TAMAÑO DEL EFECTO GLOBAL DE LAS ESTRATEGIAS Y HERBIVORÍA	26
3.3. EXPLORACIÓN DE LOS MODERADORES	27
3.3.1. MODERADORES Y TAMAÑO DEL EFECTO ESTIMADO DE LAS ESTRATEGIAS DE TOLERANCIA	27
3.3.2. MODERADORES Y TAMAÑO DEL EFECTO ESTIMADO DE LAS ESTRATEGIAS DE RESISTENCIA	28
3.3.3. MODERADORES Y TAMAÑO DEL EFECTO ESTIMADO DE LA HERBIVORÍA	30
3.3.4. EFECTO DE LA DURACIÓN DEL EXPERIMENTO	31
4. CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS	32
<hr/>	
4.1. EFECTOS DE LA ACIDIFICACIÓN OCEÁNICA EN LAS ESTRATEGIAS DE TOLERANCIA	32

4.2. EFECTOS DE LA ACIDIFICACIÓN OCEÁNICA EN ESTRATEGIAS DE RESISTENCIA	33
4.3. EFECTOS DE LA ACIDIFICACIÓN OCEÁNICA EN EL HERBIVORISMO	34
4.4 INTERPRETACIÓN DE LOS MODERADORES	34
4.5. LIMITACIONES	36
4.6. CONCLUSIONES	37
4.7. REFLEXIÓN CRÍTICA	38
4.7.2 ANÁLISIS CRÍTICO DEL SEGUIMIENTO DE LA PLANIFICACIÓN Y METODOLOGÍA	38
4.7.3 EVALUACIÓN DEL IMPACTO EN SOSTENIBILIDAD, ÉTICO-SOCIAL Y DE DIVERSIDAD	38
4.7.4. LÍNEAS DE TRABAJO FUTURO	38
5. GLOSARIO	39
<hr/>	
6. BIBLIOGRAFÍA	40

Contenido de Figuras

Figura 1. Proceso seguido en las inclusiones de artículos siguiendo la revisión sistemática	10
Figura 2. Visualización de la distribución de la varianza total del modelo	15
Figura 3. En la izquierda, tenemos la representación de la distribución de los residuos. En la derecha, tenemos la distribución de los residuos eliminando outliers.	15
Figura 4. Gráfica funnel para visualizar la precisión de las publicaciones incluidos en nuestro metaanálisis. Vemos representado en el eje horizontal el SMD y en el eje vertical el error estándar.	16
Figura 5. Gráfico de barras para visualizar el peso estadístico de las publicaciones incluidos en nuestro metaanálisis.	19
Figura 6. Gráfico de barras para visualizar el peso estadístico de las publicaciones subagrupados por especies incluidos en nuestro metaanálisis.	19
Figura 7. Gráfico de barras para visualizar el peso estadístico de las publicaciones subagrupados por biomas incluidos en nuestro metaanálisis.	20
Figura 8. Gráfico de barras en la parte superior para visualizar el peso estadístico de las publicaciones subagrupados por tipo de tratamiento empleado incluidos en nuestro metaanálisis. Gráfico de barras en la parte inferior para visualizar el peso estadístico de las publicaciones subagrupados por experimentos in situ y ex situ incluidos en nuestro metaanálisis.	21
Figura 9. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia para cada variable y subgrupo (Carbohidratos y contenido en C, Fotosíntesis, Características morfológicas y Actividad metabólica) en el grupo de estrategias de tolerancia.	22
Figura 10. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia para cada variable y subgrupo (Compuestos fenólicos y Calidad Nutricional) en el grupo de estrategias de resistencia.	24
Figura 11. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia para cada variable en el grupo de Herbivoría.	25
Figura 12. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto globales de las estrategias de defensa agrupadas y de la Herbivoría.	25
Figura 13. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia de las Estrategias de Tolerancia subagrupada por moderadores.	26
Figura 14. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia de las Estrategias de Resistencia subagrupada por moderadores	28
Figura 15. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia de la Herbivoría subagrupada por moderadores y del tamaño del efecto global.	29
Figura 16. Relación entre la magnitud del tamaño del efecto y la duración el experimento en días. Se representa en rojo la línea de no efecto y en azul la línea de tendencia del tamaño del efecto junto a su intervalo de confianza del 95%.	31

Contenido de Tablas

Tabla 1. <i>Resumen de rasgos relacionados con las estrategias de defensa de las fanerógamas contra la herbivoría.</i>	4
Tabla 2. <i>Resumen de la planificación de tareas del trabajo de final de máster.</i>	7
Tabla 3. <i>Resumen de los hitos más relevantes del trabajo</i>	8
Tabla 4. <i>Resumen de tipos de posibles riesgos y los planes de mitigación correspondientes.</i>	8
Tabla 5. Código de la variable respuesta, nombre de la variable y breve descripción.	11

1. Introducció

1.1. Contexto y justificación del trabajo

Las fanerógamas marinas desempeñan un papel crucial en los océanos. Son especies ingenieras que proporcionan hábitat y refugio a diversos organismos, como algas, peces e invertebrados (Nordlund et al., 2016). Además, como productores primarios contribuyen a mitigar los impactos negativos del cambio climático mediante la captura de CO₂ inorgánico que convierten en biomasa y, sobretudo, a través de la captura de partículas y la estabilización de los sedimentos (Fourqurean et al., 2012; Mazarrasa et al., 2015). Estas fanerógamas también tienen la capacidad de reducir el impacto del oleaje (Infantes et al., 2012), prevenir la erosión costera (Fonseca & Koehl, 2006), mejorar la claridad del agua y ayudar a reducir la presencia de patógenos (Lamb et al., 2017). En resumen, las fanerógamas marinas ofrecen una amplia gama de servicios ecosistémicos beneficiosos tanto a nivel ambiental como social y económico, lo que resalta la importancia de conservar estas especies. Las fanerógamas marinas están experimentando una alarmante disminución a nivel mundial a un ritmo de 110 km² por año (Waycott et al., 2009). Un ejemplo de esta preocupante tendencia es la disminución de las poblaciones de *Posidonia oceanica*, una especie endémica del mar Mediterráneo, que ha sufrido una reducción del 13 al 50% desde mediados del siglo XIX (Telesca et al., 2015). Debido a su importancia, es vital comprender los posibles impactos del cambio climático en los sistemas formados por fanerógamas marinas

Las interacciones entre especies ocurren en todos los ecosistemas y pueden ser fundamentales para su funcionamiento (Jordano, 2016), sin embargo, pequeños cambios en una interacción pueden tener impactos sustanciales en el ecosistema completo (Mumby, 2017). El herbivorismo es un proceso clave en la regulación de las cadenas tróficas en los ecosistemas marinos y determina la transferencia de energía y materia desde los productores primarios a niveles superiores de la cadena trófica. Además, aquellos herbívoros con una alimentación selectiva pueden influir en las tasas de crecimiento, mortalidad y reproducción de ciertas especies (Maron & Crone, 2006; Wood et al., 2016) resultando en un impacto significativo en la composición de especies de las comunidades vegetales (McNaughton et al., 1989; Hulme, 1996).

El herbivorismo es especialmente relevante cuando afecta a especies formadoras de hábitat, como los bosques de *kelp* o las praderas de fanerógamas marinas, ya que cambios en estos sistemas pueden suponer importantes impactos ecológicos como la pérdida de recursos alimenticios o refugio para otras especies (Steneck et al. 2002; Ellison et al. 2005; Pagès et al. 2012). En el caso de las fanerógamas marinas, los efectos del consumo por parte de los herbívoros pueden ser aún más notables que en los ecosistemas terrestres. De hecho, se calcula que la pérdida de biomasa debido al herbivorismo en sistemas de fanerógamas marinas puede ser entre 5 y 10 veces mayor que en sistemas terrestres (Bakker et al., 2016). Además, se ha observado que los impactos del herbivorismo tienen una mayor relevancia en los ecosistemas marinos (Preen, 1995; Tomas et al., 2005; Prado et al., 2007; Ruíz et al., 2009; Fourqurean et al., 2010; Lal et al., 2010; Heithaus et al., 2014).

Al ser las fanerógamas marinas organismos sésiles, se ven obligadas a defenderse de herbívoros. Para ello, han desarrollado diferentes estrategias de defensa que se pueden clasificar en cuatro mecanismos principales: escape, defensa asociativa, resistencia y tolerancia.

El escape es una estrategia en la cual las plantas evitan la herbivoría al crecer en lugares de difícil acceso para los consumidores (escape espacial) o en momentos donde los consumidores no están presentes (escape temporal). Una estrategia de escape espacial sería el establecerse en acantilados o zonas rocosas (Milchunas & Noy-Meir, 2002). Un ejemplo de estrategia de escape temporal sería la impredecibilidad de la floración en la especie *Posidonia oceanica* (Jahnke et al., 2015).

Las plantas también pueden recibir protección indirecta al asociarse con otros organismos que son tóxicos o poco atractivos para los consumidores, esto se conoce como defensa asociativa. Esta estrategia se basa en que la reducción del crecimiento resultante de la competencia con otra especie es menor que la reducción de biomasa que resultaría de ser consumido por un herbívoro (Hay, 1986). Además, algunas plantas tienen la capacidad de atraer depredadores de sus consumidores mediante la liberación de compuestos volátiles, estableciendo así una relación mutualista que reduce el herbivorismo (Heil, 2008).

Otro mecanismo de defensa es la resistencia, mediante el cual las plantas desarrollan características que las hacen menos atractivas para ser consumidas en caso de no poder escapar (Fritz y Simms, 1992). Por ejemplo, tener hojas más gruesas y con mayor cantidad de fibras dificulta su consumo y digestión (Lincoln, 1993). Asimismo, modificaciones en la composición de las hojas pueden hacer que sean menos atractivas para los consumidores, tanto en términos de su composición como de su calidad nutricional (de los Santos et al., 2012; Ngai & Jefferies, 2004).

En última instancia, las plantas también pueden mitigar el daño físico causado por el herbivorismo a través de mecanismos de tolerancia (Rosenthal & Kotanen, 1994). Estos mecanismos incluyen el aumento de la actividad fotosintética, el incremento del crecimiento de las hojas y otras adaptaciones (Strauss & Agrawal, 1999; Tiffin, 2000; McNaughton, 1983; Hawkes & Sullivan, 2001; Moran & Bjorndal, 2005; Vergés et al., 2008; Sanmartí et al., 2014). Las estrategias de tolerancia y resistencia pueden ser constitutivas, es decir, estar siempre presentes, lo cual requiere de un gasto constante de energía; o inducidas, manifestándose cuando la planta sufre un estímulo o daño.

Tabla 1. Resumen de rasgos relacionados con las estrategias de defensa de las fanerógamas contra la herbivoría.

Escape		Defensa asociativa	Resistencia		Tolerancia
Espacial	Temporal		Física	Química	
Producción de semillas	Semillas en estado latente	Producción de endófitos tóxicos	Producción de cera, celulosa y fibras	Disminuir el contenido de nitrógeno y/o fósforo	Acumular biomasa subterránea
Elongación del estolón	Fenología sincrónica	Crecimiento junto a una especie desagradable	Aumentar el contenido de minerales y cristales	Aumentar el contenido de minerales y cristales	Acumular reservas en los tejidos subterráneos
		Mutualismo con depredadores	Aumentar contenido de espinas, pinchos y tricomas	Aumentar el contenido de fibras	Aumentar la actividad fotosintética
		Asociación a epífitos tóxicos	Aumentar el grosor	Producción de compuestos tóxicos	Aumentar la tasa de crecimiento

Actualmente, nuestro planeta está experimentando cambios medioambientales drásticos debido a la actividad antropogénica de las últimas décadas. Desde el inicio de la Revolución Industrial (siglo XVIII), la quema de combustibles fósiles ha aumentado la concentración de dióxido de carbono (CO₂) en 2 ± 0,1 ppm/año entre 2002 y 2011 en la atmósfera (AR5 1.2.1; IPCC, 2014). Los océanos absorben entre el 30% y el 40% del CO₂ atmosférico (Houghton, 2007), lo que aumenta el carbono inorgánico disuelto y la presión parcial de CO₂ (pCO₂), que reacciona con el agua generando ácido carbónico y reduciendo el pH del agua, lo que provoca la acidificación de los océanos (AO). De hecho, las predicciones del pH superficial en el océano

global muestran que para el año 2100, el pH se reducirá de 8,1 a entre 7,9 y 7,7, dependiendo de si las emisiones de gases de efecto invernadero se reducen en un 70% (RCP2.6) o si se considera un escenario de continuación de las prácticas habituales (RCP 8.5; IPCC, 2019). Este exceso de iones de hidrógeno reacciona con los iones de carbonato, volviéndolos inaccesibles para otras reacciones cruciales para muchos organismos marinos, especialmente para los organismos calcificantes (Kroeker et al., 2010) que utilizan los iones de carbonato para generar carbonato de calcio para sus esqueletos en dos formas cristalinas, calcita o aragonita. Además, la AO puede modificar la interacción ecológica de otros organismos marinos (Gaylord et al., 2015) y cambiar la abundancia y composición de las comunidades marinas (Harley et al., 2012; Linares et al., 2015; Teixidó et al., 2018). Algunos ejemplos de los efectos de la AO en los cambios de la composición de las comunidades marinas son el aumento de las algas sobre los corales, lo que puede alterar la competitividad entre ambas en diferentes regiones (Connell et al., 2013), o pérdidas de biodiversidad en hábitats como arrecifes de corales, comunidades de macroalgas o bancos de mejillones (Sunday et al., 2016).

Mientras que la AO tendría un efecto claramente negativo sobre organismos calcificantes como corales, bivalvos, etc., (Hofmann et al. 2010), se predice que las fanerógamas marinas se beneficiarán del aumento en la disponibilidad de CO_2 (Koch et al., 2013). Las fanerógamas marinas tienen una mayor afinidad fotosintética por el CO_2 disuelto que por otros iones de carbono (C) como el bicarbonato, (Bowes; 1985, Madsen & Sand-Jensen, 1991; Durako, 1993), que es la forma dominante de C inorgánico disuelto en el mar. Entonces, un aumento del CO_2 incrementaría las tasas de fijación de carbono (Giordano et al., 2005; Koch et al., 2013) y reduciría la fotorespiración debido a una mayor difusión de CO_2 , aumentando así la eficiencia de la captación de carbono (Bowes et al., 1971; Ehleringer, 2005) y la fotosíntesis en general (Long et al., 2004). Además, estudios con plantas terrestres han observado que, ante un aumento de asimilación de CO_2 , las plantas muestran aumentos en biomasa, en carbohidratos no estructurales (ej. sacarosa) y en su C:N (Robinson et al., 2012). Sin embargo, la respuesta de las fanerógamas marinas a la disponibilidad de CO_2 no es tan clara y puede variar. Aunque algunos experimentos a largo plazo han encontrado un aumento de la productividad y la densidad a bajo pH (7,6 y 7,3) (Hall-Spencer et al., 2008; Cox et al., 2015), no hay patrones concluyentes sobre los efectos de la AO en la mayoría de las fanerógamas marinas (Campbell & Fourqurean, 2013; Russell et al., 2013; Apostolaki et al., 2014; Takahashi et al., 2016). Además, cambios en las concentraciones de CO_2 no solo afectarían a la productividad de las fanerógamas marinas, sino que también podrían ver afectada su capacidad de resistencia o tolerancia ante el herbivorismo (Strauss & Agrawal, 1999). Cambios ambientales en la disponibilidad de recursos, como las altas concentraciones de CO_2 , pueden tener efectos en cómo las fanerógamas utilizan sus recursos entre diferentes funciones vitales, como son el crecimiento y el metabolismo secundario (Bryant et al., 1983; Herms & Mattson, 1992). Por ejemplo, el aumento del CO_2 puede favorecer el crecimiento a expensas de la producción de compuestos químicos de defensa, lo que podría hacer que las plantas sean más susceptibles al ataque de herbívoros o patógenos (Hamann E. et al, 2021), con costes ecológicos significativos.

Además, el CO_2 actúa como un gas de efecto invernadero, lo que provoca un aumento en la retención de calor en la atmósfera, resultando en un aumento de la temperatura global y eventos climáticos extremos más frecuentes (IPCC, 2014). De hecho, se calcula que la temperatura media global del océano puede llegar a subir 2°C para 2100 (IPCC, 2021).

Las fanerógamas marinas tienen un rango óptimo de temperatura de crecimiento entre 12 y 26°C, para especies de clima templado, y entre 23 y 32°C, para especies tropicales (Lee et al.,

2007). Aunque algunas especies son más tolerantes a los cambios de temperatura que otras (por ejemplo, *Halodule wrightii*, Koch et al., 2007; *Halophila ovalis*, Ralph, 1998), a partir de cierto umbral de temperatura, la mayoría de los parámetros fisiológicos y de crecimiento en las fanerógamas marinas disminuyen (Nejrup & Pedersen, 2008). Entre los efectos negativos de un aumento de la temperatura se encuentran la disminución de la fotosíntesis y del crecimiento de las fanerógamas marinas (Marsh et al., 1986; Terrados & Ros, 1995; Collier et al., 2011) y un aumento en la mortalidad (Nejrup & Pedersen, 2008; Massa et al., 2009). De hecho, períodos de calentamiento pasados se han asociado con la disminución de algunas poblaciones de fanerógamas marinas (Oviatt, 2004; Díaz Almela et al., 2009; Marbà & Duarte, 2010).

Por lo tanto, es importante tener en cuenta que las respuestas de las fanerógamas marinas al estrés térmico y la disponibilidad de CO₂ pueden ser complejas y dependen de factores como la especie, las condiciones del entorno y la duración del estrés (Collier et al., 2011; Olsen et al., 2012; Collier & Waycott, 2014).

Dada la importancia ecológica de las fanerógamas marinas, es crucial comprender mejor los efectos del cambio climático a diferentes niveles. Puesto que las consecuencias de la AO en las interacciones planta-herbívoro siguen siendo poco estudiadas y hasta ahora no se han establecido patrones generales claros (e.j., Burnell et al., 2013; Arnold et al., 2014; Martínez-Crego et al., 2014; Tomas et al., 2015), en este trabajo nos centramos en comprender en detalle cómo el aumento de CO₂ afecta a las estrategias de defensa de las fanerógamas marinas frente al herbivorismo. Para lograr este objetivo, utilizaremos un enfoque de metaanálisis, que nos permitirá aprovechar las publicaciones científicas publicadas en las últimas décadas para abordar este objetivo. Un metaanálisis es un método sistemático y cuantitativo que combina y resume los resultados de varias publicaciones individuales. Nos permite sintetizar gran cantidad de resultados cuantitativos de diversas publicaciones sobre un determinado tema en un resultado final más preciso y significativo estadísticamente (Sos et al. 2021).

1.2. Objetivos del trabajo

El objetivo de este estudio es realizar un metaanálisis exhaustivo que nos permita estimar las respuestas de las fanerógamas marinas frente al estrés ambiental derivado del cambio climático, específicamente la AO. A través de la síntesis de una gran cantidad de información proveniente de diversos artículos científicos, nuestro objetivo es analizar cómo la acidificación afecta a diversas variables relacionadas con la defensa frente a herbívoros en fanerógamas marinas analizando también la influencia de distintos factores, por ejemplo, la temperatura o la duración del experimento, pueden afectar a estas respuestas. Además, nos proponemos identificar los resultados más significativos estadísticamente para obtener una comprensión profunda de las consecuencias de la AO en las fanerógamas marinas.

1.3. Impacto en sostenibilidad, ético-social y de diversidad

Ampliar el conocimiento sobre cómo reaccionan diferentes especies de fanerógamas marinas ante los impactos del cambio climático puede acelerar el avance científico y la toma de decisiones por gestores de litorales marinos, ejecutando planes de protección y gestión del medio marino más adecuadas.

Las fanerógamas marinas se distribuyen a lo largo de miles de kilómetros desde el subártico hasta regiones tropicales (Short et al., 2007) y proporcionan cruciales servicios socioeconómicos. Proporcionan hábitats de cría, refugio y alimento para peces y una gran diversidad de organismos marinos incluido especies de interés pesquero (Unsworth et al. 2019). Además, proporcionan importantes soluciones basadas en la naturaleza frente al cambio climático, amortiguan el oleaje protegiendo la costa de la erosión y al ser productores primarios (primer eslabón de la cadena trófica), secuestran dióxido de carbono en sus tejidos, y enterrándolos, actúan como sumideros de carbono (Gattuso et al., 2018, Fourqurean et al., 2012).

Estudiar las fanerógamas marinas es la mejor herramienta que tenemos para poder conservarlas y tomar mejores decisiones en un futuro, asegurando así un futuro próspero para este tipo de organismos y para nuestro planeta. De hecho, nuestro estudio se encuadra en los temas de Acción climática (ODS 13) y Vida subacuática (ODS 14), incluidos en la dimensión de Sostenibilidad descrita por los ODS (Objetivos de Desarrollo Sostenible 2030, ONU).

1.4. Enfoque y método seguido

Para garantizar el éxito de nuestro estudio y lograr nuestros objetivos, ha sido fundamental el diseño de una base de datos adecuada. En primer lugar, hemos seleccionado de manera rigurosa los artículos que formarán parte de nuestro metaanálisis. A partir de estos artículos, hemos extraído los datos relevantes para nuestro estudio y los hemos incorporado a nuestra base de datos. En este trabajo en particular, hemos ampliado una base de datos ya existente con artículos publicados entre 2019 y la fecha actual.

Una vez hemos completado nuestra base de datos, hemos aplicado modelos metanalíticos utilizando un código que hemos desarrollado en *R*. Este código implementa las metodologías estadísticas necesarias y nos permite analizar los datos de manera sistemática. Durante este proceso, hemos evaluado el código construido y los resultados obtenidos, asegurándonos de que sean consistentes y confiables.

Además, hemos realizado comparaciones entre las diferentes estimaciones de los tamaños de efecto obtenidos y hemos interpretado exhaustivamente los resultados. Este análisis nos ha permitido obtener conclusiones significativas y brindar una mejor comprensión del impacto de la acidificación oceánica en las estrategias de defensa de las fanerógamas marinas frente al herbivorismo.

1.5. Planificación del trabajo

1.5.1. Planificación de tareas

Tabla 2. *Resumen de la planificación de tareas del trabajo de final de máster.*

Descripción	Fecha de inicio	Fecha de fin
Definición del plan de trabajo. PEC1.	01/03/2023	20/03/2023
Selección de artículos utilizados en el metaanálisis	01/03/2023	24/03/2023
Realización de la PEC1 con el plan de trabajo desarrollado	10/03/2023	20/03/2023
Reunión para concretar objetivos y temas conceptuales del trabajo.	16/03/2023	16/03/2023
Empezar a extraer los datos de los artículos seleccionados	30/03/2023	20/03/2023

Desarrollo del trabajo. Fase 1. PEC2.	21/03/2023	24/04/2023
Extracción de los datos contenidos en gráficos y tablas	30/03/2023	30/04/2023
Construcción del Excel que contenga toda la información necesaria	30/03/2023	30/04/2023
Reunión de seguimiento del trabajo	01/04/2023	01/04/2023
Exploración y comprensión de la metodología a seguir para realizar un metaanálisis	25/03/2023	30/03/2023
Comprobar tener la versión actualizada de R Studio e instalar las librerías requeridas	25/03/2023	30/03/2023
Explorar el formato de entrada del Excel para ser analizado	25/04/2023	30/04/2023
Reunión de seguimiento del trabajo	16/04/2023	16/04/2023
Realización de la PEC2 con el plan de trabajo desarrollado	15/04/2023	24/04/2023

Desarrollo del trabajo. Fase 2. PEC3.	25/04/2023	29/05/2023
Construcción y exploración de la script para realizar el metaanálisis	25/04/2023	29/05/2023
Descripción de los pasos seguidos en RMarkdown	25/04/2023	29/05/2023
Reunión de seguimiento del trabajo	01/05/2023	01/05/2023
Reevaluar y corregir la script de nuestro metaanálisis	20/05/2023	25/05/2023
Reunión de seguimiento del trabajo	16/05/2023	16/05/2023
Obtención y representación de los resultados	25/05/2023	29/05/2023
Interpretación los resultados obtenidos	25/05/2023	29/05/2023
Realización de la PEC3 con el plan de trabajo desarrollado	25/04/2023	29/05/2023
Redacción de la memoria.	25/04/2023	29/05/2023

Cierre de la memoria y presentación. PEC4.	30/05/2023	20/06/2023
Ultimar los detalles finales del script del metaanálisis.	30/05/2023	10/06/2023
Acabar de redactar la memoria y comenzar a construir la presentación del TFM.	30/05/2023	20/06/2023
Concretar las fechas de entrega y reunión de seguimiento de trabajo.	01/06/2023	01/06/2023

Defensa pública. PEC5	03/07/2023	14/07/2023
Acabar la presentación.	03/07/2023	14/07/2023
Defensa oral pública	03/07/2023	14/07/2023

1.5.2. Hitos durante el desarrollo del trabajo

Tabla 3. Resumen de los hitos más relevantes del trabajo

Descripción	Fecha
Entrega del plan de trabajo.	20/03/2023
Entrega desarrollo del trabajo. Fase 1.	24/04/2023
Entrega desarrollo del trabajo. Fase 2.	29/05/2023

Entrega de la memoria	20/06/2023
Entrega de la presentació.	Del 03/07/2023 al 14/07/2023
Defensa pública.	Del 03/07/2023 al 14/07/2023

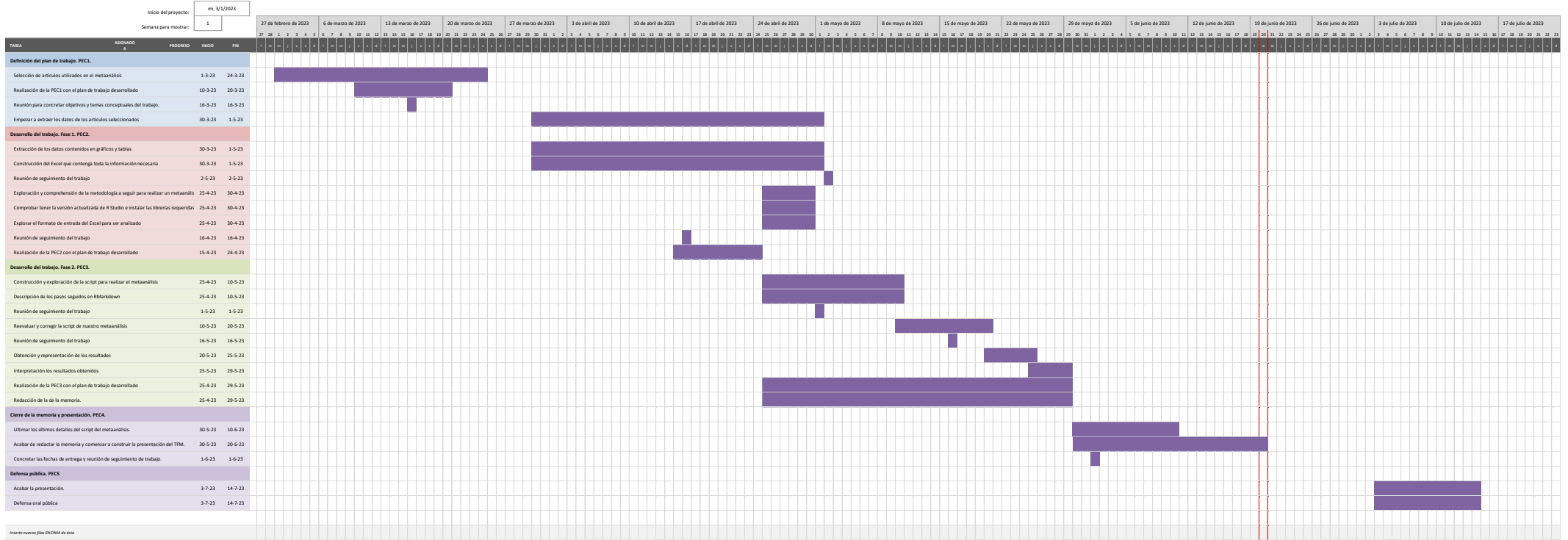
1.5.3. Análisis de riesgos

Tabla 4. Resumen de tipos de posibles riesgos y los planes de mitigación correspondientes.

Descripción del riesgo	Mitigación
Heterogeneidad entre publicaciones.	Aplicar un criterio adecuado e incluir publicaciones similares a nivel temático y metodológico.
Sesgo de publicación.	Realizar una búsqueda exhaustiva de artículos en diferentes revistas e incluirlos en el metaanálisis independientemente de sus resultados.
Problemas con las librerías a utilizar.	Investigar sobre las librerías y realizar varias pruebas
Número elevado de artículos seleccionados	Se adaptarán los objetivos al tiempo disponible reduciendo el número de variables predictoras (temperatura o acidificación)
Problemas con la gestión del tiempo y plazos de entrega.	Organizar las tareas a realizar y presentar objetivos realistas.

1.5.4. Diagrama de gantt

Calendario



1.6. Breve resumen de productos obtenidos

Publicación de un artículo científico que resuma y sintetice la evidencia disponible, proporcionando estimaciones cuantitativas de los efectos del AO sobre las estrategias de defensa frente a herbívoros en fanerógamas marinas, explorando la heterogeneidad entre publicaciones y el efecto de otros factores (ambientales o experimentales) en la respuesta observada.

1.7. Breve descripción de los capítulos de la memoria

Sección 1: Introducción

Esta sección tiene como objetivo proporcionar un contexto sobre la importancia de las fanerógamas marinas, el papel fundamental del herbivorismo y los impactos del cambio climático en las interacciones entre consumidores y plantas. Además, se resaltan los puntos de mayor interés y se explican las cuestiones que se pretenden abordar en este trabajo. También se incluye información detallada sobre la planificación y desarrollo de la investigación.

Sección 2: Materiales y métodos

En esta sección del trabajo, hemos descrito las distintas etapas involucradas en la realización de un metaanálisis. En primer lugar, se llevó a cabo la construcción de una base de datos utilizando las publicaciones seleccionadas, de las cuales se extrajeron los datos relevantes para nuestro estudio. Una vez completada la base de datos, el siguiente paso consistió en ajustar un modelo multinivel utilizando el software R. Por último, se presentaron y analizaron los resultados obtenidos, centrándonos en los parámetros que proporcionan información significativa sobre nuestro modelo.

Sección 3: Resultados

En esta sección mostramos todos los resultados obtenidos a partir de nuestro metaanálisis multinivel. La mayor parte de resultados están representados en una gráfica de tipo *forest*. En esta sección nos centramos en hacer un análisis descriptivo de nuestros resultados.

Sección 4: Conclusiones y trabajos futuros

En esta sección, abordamos las implicaciones ecológicas derivadas de nuestros resultados, interpretando aquellos hallazgos más relevantes y respaldándonos en estudios previos. Además, presentamos las principales conclusiones de nuestro trabajo, destacando las limitaciones que deben tenerse en cuenta y mencionando los planes futuros que resultan de interés.

2. Materiales y métodos

2.1. Construcción de la base de datos

2.1.1. Selección de artículos

La primera etapa de nuestro trabajo ha consistido en recopilar publicaciones relevantes que proporcionaran datos de interés. Para lograrlo, hemos introducido palabras clave en la plataforma *Web of Science* para encontrar los artículos que abordaran el tema de la AO. Utilizamos diversas combinaciones de palabras clave: [seagrass* and CO₂ or seagrass* and acidif* or seagrass* and pH or zostera* and CO₂ or zostera* and acidif* or zostera* and pH or posidonia* and CO₂ or posidonia* and acidif* or Posidonia* and ph or Thalassia* and CO₂ or Thalassia* and acidif* or Thalassia* and ph or halodule* and CO₂ or halodule* and acidif* or halodule* and ph or Eelgrass* and CO₂ or eelgrass* and acidif* or eelgrass* and pH or neptune grass and CO₂ or neptune grass* and acidif* or neptune grass* and pH or turtlegrass and CO₂ or turtlegrass and acidif* or turtlegrass* and pH or shoal grass and CO₂ or shoal grass and acidif* or shoal grass* and pH].

Nuestro metaanálisis ha abarcado publicaciones desde 1970 hasta 2023, y para este trabajo en particular, hemos agregado publicaciones desde 2019 hasta la fecha actual (20/06/2023) a nuestra base de datos. Para garantizar el cumplimiento de los criterios de selección, hemos revisado los títulos y resúmenes de 404 artículos relacionados con la AO. A partir de esta revisión inicial, hemos preseleccionado 30 artículos. Luego, tras una revisión crítica de la metodología y resultados de cada uno de ellos, hemos reducido la lista a 12 artículos que cumplían con nuestros criterios (Figura 1).

Los criterios que hemos utilizado son: (i) las publicaciones deben tener un grupo de control; (ii) las publicaciones deben proporcionar valores de pH o CO₂ tanto en el grupo de control como en los grupos de tratamiento; (iii) no se incluyeron experimentos de corta duración con aumento de CO₂ (por ejemplo, horas o pocos días); (iv) la acidificación debe haber sido inducida mediante el aumento de CO₂ en estado gaseoso o mediante condiciones naturales, como fumarolas volcánicas; (v) los estudios deben haberse realizado sobre fanerógamas completas, no solo fragmentos.

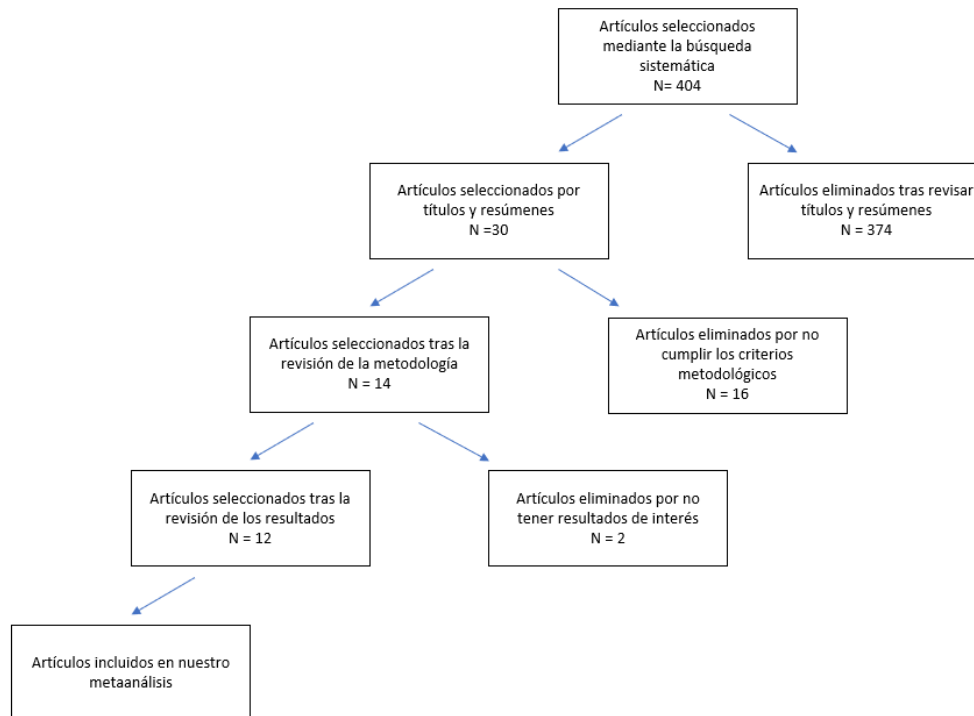


Figura 1. Proceso seguido en las inclusiones de artículos siguiendo la revisión sistemática

Tras la inclusión de los artículos publicados en 2019 en adelante, la base de datos contiene en total datos de 50 publicaciones y 1072 observaciones.

2.1.2. Extracción de datos

Una vez hemos seleccionado los artículos pertinentes, procedimos a extraer las medias, réplicas y desviaciones estándar de las variables respuesta de los grupos control y tratamiento para calcular el tamaño del efecto. En los casos en que no se especificara un grupo de control específico, hemos seleccionado como control el tratamiento que utilizara la concentración más baja de CO₂. Para obtener estos datos, hemos utilizado diversas fuentes, como gráficas, tablas y fragmentos de texto. En el caso de las gráficas, hemos empleado el programa *WebPlotDigitizer*, el cual nos ha permitido extraer datos numéricos de diferentes tipos de gráficas, como gráficas XY, gráficas de barras, diagramas polares, diagramas ternarios y mapas. Utilizando herramientas sencillas de medición de distancias y ángulos, hemos podido obtener los datos numéricos de imágenes de gráficas o mapas. Por otro lado, para los datos contenidos en tablas o texto, hemos realizado la extracción manualmente.

Además, nuestra base de datos (*OA_database.xlsx*) recopila una amplia variedad de información sobre las publicaciones incluidas. Esto incluye datos de la publicación (año, autores, título, etc.), el diseño experimental (duración, réplicas, tratamientos, etc.) y el objeto de estudio (género, especie, ontogenia, etc.), entre otros detalles.

Se incluyeron tratamientos de CO₂, así como tratamientos de efectos combinados de CO₂ y temperatura. Asimismo, hemos creado nuevas categorías para agrupar nuestras variables respuesta (Tabla 1) según los tipos de características que representan, como carbohidratos y contenido de carbono, fotosíntesis, características morfológicas, actividad metabólica, compuestos fenólicos, calidad nutricional, epífitos y herbivoría. Estas variables han sido agrupadas en estrategias de tolerancia y resistencia frente al herbivorismo, con la excepción de

las variables de epífitos y herbivoría, las cuales no se han agrupado como ninguna de estas estrategias (Tabla 1 del Anexo 1)

Tabla 5. Código de la variable respuesta, nombre de la variable y breve descripción.

Código de la variable	Nombre de la variable	Descripción de la variable
13C_leaves_	Isótopo C13 en hojas	Proporción del isótopo C13 en las hojas.
15N_leaves_	Isótopo N15 en hojas	Proporción del isótopo N15 en las hojas.
AB_	Relación entre la biomasa aérea y la biomasa subterránea	Proporción de biomasa aérea y biomasa subterránea de la planta.
AbovegroundBM_	Biomasa aérea	Cantidad de biomasa aérea
alpha_	Eficiencia cuántica de la fotosíntesis	Parámetro que indica la eficiencia cuántica de la fotosíntesis en relación con la pendiente inicial de la curva de respuesta a la luz.
BelowgroundBiomass_	Biomasa subterránea	Cantidad de biomasa subterránea.
C_below_	C en raíces o rizoma	Concentración de carbono en las raíces o rizomas de la planta.
C_leaves_	C en hojas	Concentración de carbono en las hojas de la planta.
Chlorophyll a	Clorofila a	Concentración de clorofila a, un pigmento clave en el proceso de fotosíntesis.
CN_below_	C/N en raíces y/o rizomas	Relación carbono/nitrógeno en las raíces y/o rizomas de la planta.
CN_leaves_	C/N en hojas	Relación carbono/nitrógeno en las hojas de la planta.
CN_wholeseagrass_	C/N en toda la planta	Relación carbono/nitrógeno en toda la planta.
CP_leaves_	C/P en hojas	Relación carbono/fósforo en las hojas de la planta.
Defense_belowphenolics	Compuestos fenólicos en raíces	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las raíces de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leavesacetov	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leavescoumaric	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leavesferulic	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leavesgallylic	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leaveslignin	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leavesphenolics	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leavesproantho	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leavesstyr4HBA	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_leavesvainillin	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_lignin_solid	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_lignin_solid14	Compuestos fenólicos en hojas	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_rootstyr4HBA	Compuestos fenólicos en raíces	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las raíces de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_rootsacetov	Compuestos fenólicos en raíces	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las raíces de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_rootsproantho	Compuestos fenólicos en raíces	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las raíces de la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_shootsvainillin	Compuestos fenólicos en hojas o planta completa	Diferentes compuestos fenólicos presentes en las hojas o en toda la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Defense_wholephenolics	Compuestos fenólicos en toda la planta	Diferentes compuestos fenólicos presentes en toda la planta, que pueden desempeñar un papel en la defensa contra herbívoros u otros estreses.
Energeticsurplus_	Excedente energético	Relación entre la Productividad Primaria Bruta y la Respiración, que indica si la planta está generando más energía de la que consume.
Epiphyte_biomass	Biomasa de epífitas	Cantidad de biomasa acumulada por las epífitas, que son organismos que crecen sobre la superficie de las plantas sin ser parásitos.
Epiphyte_CaCO3	Carbonato de calcio de epífitas	Cantidad de carbonato de calcio presente en los epífitos, que puede influir en la estructura y la función de la comunidad epifítica.
Epiphyte_cover	Cobertura de epífitos en hojas	Porcentaje de superficie de las hojas cubierta por epífitos, que puede tener efectos en la capacidad fotosintética y en la salud de la planta.
Epiphyte_load	Carga de epífitas	Cantidad total de biomasa de epífitos en la planta.
ETRmax_	Tasa máxima de transporte de electrones	Máxima tasa a la que los electrones son transportados durante la fotosíntesis, que puede indicar la eficiencia fotosintética de la planta.
GPP_	Productividad Primaria Bruta	Cantidad total de energía capturada por las plantas a través de la fotosíntesis, antes de deducir la energía utilizada en la respiración.
Growth_leaf_	Crecimiento foliar	Tasa de crecimiento de las hojas, que puede ser indicativa del estado de salud y la productividad de la planta.
Herbivore_biomass_consumed	Biomasa de hojas consumida por herbívoros	Cantidad de biomasa de hojas que es consumida por herbívoros, lo cual puede tener efectos en la estructura de la planta y en las interacciones tróficas.
Herbivore_consumption_rate	Tasa de consumo de hojas por herbívoros	Velocidad a la cual los herbívoros consumen hojas, que puede indicar la intensidad del herbivorismo en la planta.
Ic_	Irradiancia de compensación	Nivel de luz necesario para que la tasa de fotosíntesis sea igual a la tasa de respiración, lo cual indica el umbral de luz requerido para mantener el equilibrio energético en la planta.

Ik_	Irradiancia de saturación	Nivel de luz a partir del cual la tasa de fotosíntesis ya no aumenta, ya que la planta ha alcanzado su máxima capacidad de utilizar la luz para la fotosíntesis.
N_below_	Nitrógeno en raíces	Cantidad de nitrógeno presente en las raíces de la planta, que es un nutriente esencial para el crecimiento y desarrollo de las plantas.
N_leaves_	Nitrógeno en hojas	Cantidad de nitrógeno presente en las hojas de la planta, que es un nutriente esencial para la síntesis de proteínas y otros compuestos.
N/P_leaves_	Relación N/P en hojas	Proporción entre los niveles de nitrógeno y fósforo en las hojas de la planta, que puede indicar la disponibilidad relativa de estos nutrientes.
NPP_	Productividad Primaria Neta	Cantidad de energía capturada por las plantas a través de la fotosíntesis, después de deducir la energía utilizada en la respiración.
NSC_leaves_	Carbohidratos no estructurales en hojas	Cantidad de carbohidratos no estructurales, como sacarosa y almidón, presentes en las hojas de la planta, que pueden servir como reserva de energía.
NSC_rhizome	Carbohidratos no estructurales en rizoma	Cantidad de carbohidratos no estructurales presentes en el rizoma de la planta, que pueden servir como reserva de energía.
NSC_root	Carbohidratos no estructurales en raíces	Cantidad de carbohidratos no estructurales presentes en las raíces de la planta, que pueden servir como reserva de energía.
Nuptake_nitrate	Captación de nitrato	Capacidad de la planta para absorber y utilizar nitrato, una forma de nitrógeno inorgánico.
Nuptake_reductase	Captación por reductasa	Capacidad de la planta para reducir y absorber compuestos nitrogenados reducidos, como amonio.
P_leaves_	Fósforo en hojas	Cantidad de fósforo presente en las hojas de la planta, que es un nutriente esencial para diversos procesos metabólicos.
Plant_cover_	Cobertura de la planta	Porcentaje de superficie cubierta por las plantas en el área de estudio, que puede indicar la abundancia y distribución de las plantas.
Pmax_	Tasa máxima de fotosíntesis	Máxima tasa a la cual la planta es capaz de realizar la fotosíntesis, que puede depender de factores como la disponibilidad de luz y nutrientes.
Productivity_	Productividad	Capacidad de la planta para producir biomasa y capturar energía a través de la fotosíntesis.
Protein_	Contenido de proteínas	Cantidad de proteínas presentes en la planta, que son componentes esenciales para diversas funciones biológicas.
R_	Respiración	Proceso mediante el cual las plantas liberan energía almacenada en forma de carbono, utilizando oxígeno y produciendo dióxido de carbono.
relativegrowthrate_	Tasa de crecimiento relativa	Velocidad a la cual la planta está creciendo en relación con su tamaño o estado actual.
shoot_density_	Densidad de brotes	Número de brotes presentes en un área determinada, que puede indicar la densidad y estructura de la planta.
Shoot_recruitment_	Reclutamiento de brotes	Proceso mediante el cual nuevos brotes se incorporan a la población de plantas, lo cual puede influir en la dinámica de la comunidad vegetal.
Size_Leaf	Tamaño de las hojas	Variables relacionadas con el tamaño de las hojas, como la longitud máxima de las hojas, el número de hojas y el ancho de las hojas.
Size_rhizome_	Tamaño del rizoma	Variables relacionadas con el tamaño del rizoma, como la longitud del rizoma.
Size_root_	Tamaño de las raíces	Variables relacionadas con el tamaño de las raíces, como la longitud de las raíces y el número de raíces.
Starch_below_	Almidón en raíces o rizoma	Cantidad de almidón presente en las raíces o el rizoma de la planta, que puede servir como reserva de energía.
Starch_leaves_	Almidón en hojas	Cantidad de almidón presente en las hojas de la planta, que puede servir como reserva de energía.
Structure_leaf	Parámetros estructurales de las hojas	Características relacionadas con la estructura de las hojas, como la resistencia a la rotura.
Sucrose_below_	Sacarosa en raíces o rizoma	Cantidad de sacarosa presente en las raíces o el rizoma de la planta, que puede servir como reserva de energía.
Sucrose_leaves_	Sacarosa en hojas	Cantidad de sacarosa presente en las hojas de la planta, que puede servir como reserva de energía.
Total_Biomass_	Biomasa total	Cantidad total de biomasa presente en la planta, que incluye tanto la parte aérea como las raíces.
Yield_	Rendimiento fotosintético	Eficiencia fotosintética de la planta, que indica la cantidad de energía capturada por unidad de luz absorbida.

Como resultado de este proceso, obtuvimos una base de datos en formato xlsx que contiene todos los datos desglosados, incluyendo todas las variables presentes en cada uno de los artículos.

2.3. Metaanálisis

El metaanálisis tiene una estructura metodológica que hemos desarrollado en varias etapas: definición de los objetivos de la investigación, búsqueda sistemática de la literatura, selección de las publicaciones, extracción de datos, modelado, validación y análisis de los datos, y presentación de los resultados.

2.3.1. Configuración del entorno en R

El metaanálisis se llevó a cabo utilizando el software *R*. Para realizar este tipo de análisis, hemos utilizado dos paquetes principales: '*meta*' y '*metafor*'. Estos paquetes tienen funcionalidades similares y son ampliamente utilizados para realizar metaanálisis en investigaciones científicas. Además, se ha agregado una serie de paquetes que nos proporcionaron herramientas fundamentales para analizar, validar y representar nuestros datos (1. Librerías, Anexo 3).

En particular, el paquete '*metafor*' (Viechtbauer, 2010) nos ha proporcionado una serie de funciones que nos han permitido llevar a cabo el análisis multi-nivel, realizar pruebas de heterogeneidad y estudiar el sesgo de publicación, realizar análisis de sensibilidad y generar gráficos tipo *forest*.

2.3.2. Estimación del tamaño del efecto

El tamaño del efecto es una medida estandarizada que nos permite cuantificar la magnitud de la asociación entre dos grupos (Tratamiento vs Control) en relación a una variable respuesta. Esta medida se basa en la información recopilada de diferentes publicaciones que analizan la misma variable. Su objetivo principal es indicar la probabilidad relativa de que ocurra un resultado en el grupo de tratamiento en comparación con el grupo de control.

En un metaanálisis, cada estudio contribuye a la respuesta global del tema en cuestión de acuerdo con su tamaño y precisión, es decir, las publicaciones con mayor número de sujetos y menor varianza tienen más peso en el resultado final.

En nuestro caso, fue necesario decidir el método para calcular el tamaño del efecto, que depende de la naturaleza de nuestra base de datos. Las dos opciones principales son la diferencia de medias estandarizada (*SMD*, por sus siglas en inglés o Hedges'g) y la transformación logarítmica de la razón (*LTR*, por sus siglas en inglés). Ambos métodos calculan la magnitud de la asociación entre los grupos en publicaciones que miden una variable continua, pero utilizan diferentes enfoques de cálculo. Sin embargo, teníamos variables respuesta que incluían valores iguales a 0 o negativos, lo que podía generar errores en el cálculo utilizando *LTR*. Por lo tanto, hemos considerado que el método más adecuado para nuestro análisis es el *SMD*. Más información sobre los diferentes métodos y sus fórmulas están detalladas en el capítulo '3. Cálculo del tamaño del efecto' del Anexo 3.

Para calcular los tamaños de efecto estimados y las varianzas y covarianzas correspondientes, hemos utilizado la función *escalc()* del paquete '*metafor*'. Para realizar este cálculo de manera adecuada, hemos especificado *SMD* como el método de cálculo y hemos añadido las medias y desviaciones estándar de los grupos de tratamiento y control para realizar los cálculos pertinentes.

Con respecto a la interpretación de los resultados del tamaño del efecto, hemos aplicado la siguiente clasificación para su mejor comprensión:

- Un tamaño del efecto SMD de 0,2 indica una diferencia pequeña entre los dos grupos.
- Un tamaño del efecto SMD de 0,5 indica una diferencia moderada entre los dos grupos.
- Un tamaño del efecto SMD de 0,8 indica una diferencia grande entre los dos grupos.

Esta clasificación (Cohen, J. 1992) nos permitió explicar de manera clara y comprensible los resultados obtenidos en relación al tamaño del efecto.

2.3.3. Modelado de los datos

Una vez que hemos calculado los tamaños del efecto y su respectiva matriz de varianzas y covarianzas, hemos realizado el metaanálisis. Previamente hemos determinado el tipo de modelo a aplicar: de efectos fijos, de efectos aleatorios, una metaregresión o un metaanálisis multinivel. Para la elección del modelo, hemos considerado la heterogeneidad y el posible anidamiento entre publicaciones. En nuestro caso, el modelo que mejor se ajustó a la naturaleza de nuestros datos es el metaanálisis multinivel. Las publicaciones tenían múltiples niveles de agrupación y, a partir del metaanálisis multi-nivel, hemos podido obtener estimaciones más precisas y ajustadas de la variabilidad entre los diferentes niveles de agrupación. Para generar este modelo hemos utilizado la función *rma.mv()* del paquete '*metafor*'.

En un modelo multinivel la varianza se distribuye en tres niveles: El primer nivel se atribuye al error de muestreo, mientras que el segundo y tercer nivel representan la variabilidad inter e intra grupal respectivamente, que dependen de los niveles de agrupación que especifiquemos. Para decidir el modelo que mejor se ajustaba a nuestra base de datos, hemos diseñado varios modelos con un nivel de agrupación acorde a la naturaleza de nuestros datos y nuestra interpretación teórica. Para decidir el modelo que mejor se ajustaba a nuestros datos, hemos comparado el *Akaike Information Criterion (AIC)* y el *Bayesian Information Criterion (BIC)*, que son medidas utilizadas para evaluar el ajuste de modelos estadísticos. A valores de *AIC* y *BIC* más bajo, mejor ajuste del modelo. En una primera instancia pudimos ver que el modelo con el ID del estudio como nivel de agrupamiento fue el que mejor se ajustaba (Tabla 1 del Anexo 2). Mientras que la variación intragrupal (Nivel 3) que mejor se ajustaba era el de ID de la observación (Tabla 2 del Anexo 2). Es decir, nuestro modelo multinivel considera anidamiento entre publicaciones, y heterogeneidad entre y dentro de las publicaciones.

2.3.4. Validación del modelo

Para comprobar que los métodos y pruebas que realizan nuestro modelo multinivel son adecuadas, hemos validado nuestro modelo. Para ello evaluamos la heterogeneidad y la cantidad precisa de varianza capturada por cada nivel en nuestro modelo, la distribución de los residuos y el sesgo de publicación.

2.3.4.1. Análisis de la heterogeneidad

La heterogeneidad la hemos evaluado utilizando el estadístico Q de Cochran y el estadístico I^2 . El propio modelo *rma.vm()* presenta un test Q de heterogeneidad que podemos consultar al ejecutar la función *summary()* sobre nuestro modelo ('6.1 Análisis de heterogeneidad', Anexo 3). El valor p del estadístico Q fue menor que el nivel de significancia establecido (p -valor < 0,05), se rechaza la hipótesis nula de homogeneidad, lo que indica que efectivamente existe heterogeneidad entre los tamaños del efecto de las publicaciones. Es decir, comprobamos que hay diferencias entre las publicaciones que podrían influir en los resultados y que deben tenerse en cuenta a la hora de interpretar el análisis conjunto.

Para calcular la distribución de varianzas entre niveles, hemos definido la función *var.comp()* (Harrer, M., 2023). Esta función calcula y descompone la varianza total en la variación de muestreo, la heterogeneidad entre publicaciones, la variabilidad dentro de las publicaciones. Obtuvimos que la varianza atribuida a errores de muestreo representaba un 19,33% (Nivel 1), la variabilidad entre publicaciones un 38,61% (Nivel 2) y la variabilidad dentro de las publicaciones un 42,07% (Nivel 3) (Figura 2).

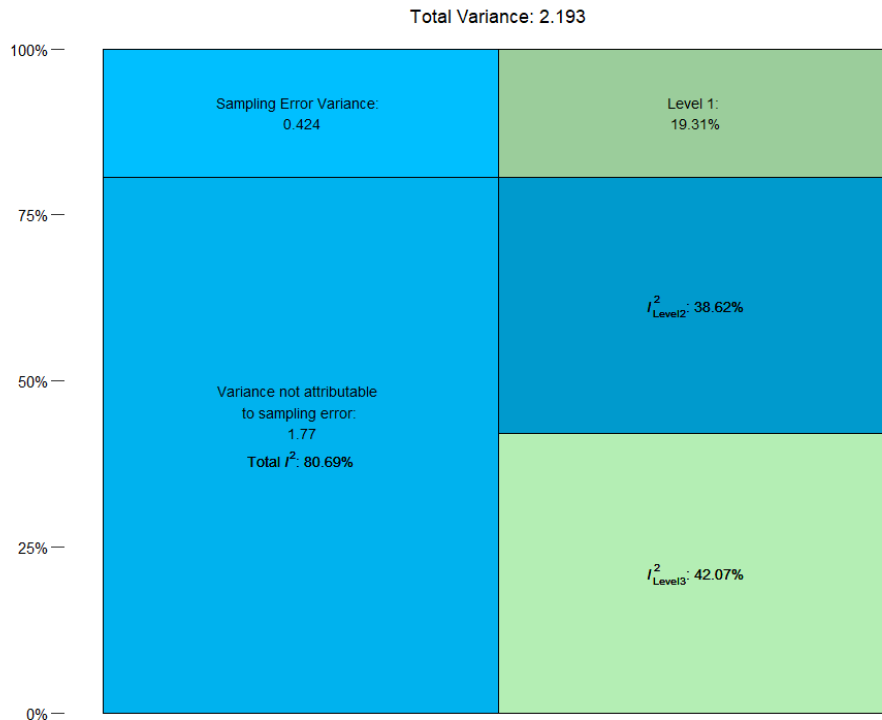


Figura 2. Visualización de la distribución de la varianza total del modelo

2.3.4.3. Diagnóstico de residuos

Hemos analizado la normalidad de los residuos, ya que es un buen indicador de si el modelo se ajusta adecuadamente a nuestros datos. Realizamos una prueba de Shapiro-Wilk y un análisis de la distribución de los residuos mediante un gráfico de cuantiles *QQplot* (Figura 3) para examinar si nuestros datos siguen una distribución normal ('6.3 Diagnóstico de residuos', Anexo 3). Al ser el p-valor menor que el nivel de significancia (p-valor < 0,05), rechazamos la hipótesis nula de que los datos siguen una distribución normal y concluimos que los datos no siguen una distribución normal. Adicionalmente, este diagnóstico nos sirvió para detectar y eliminar de nuestro modelo valores *outliers*.

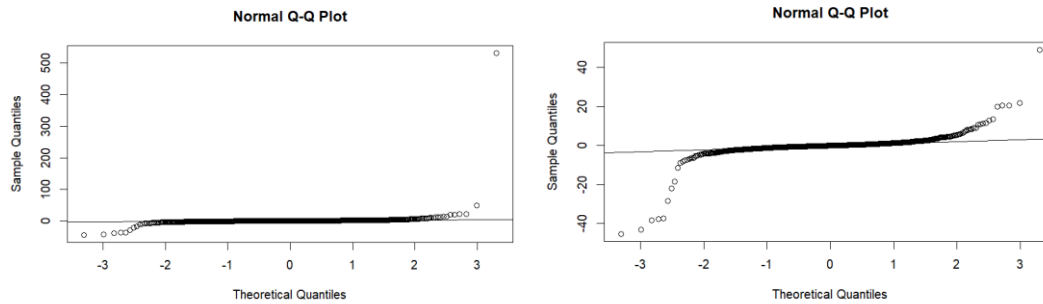


Figura 3. En la izquierda, tenemos la representación de la distribución de los residuos. En la derecha, tenemos la distribución de los residuos eliminando outliers.

Dada la no normalidad de nuestros residuos, hemos especificado la prueba no paramétrica 't', en nuestro modelo multi-nivel.

2.3.4.4. Sesgo de publicación

Como a sesgo de publicación nos referimos a la tendencia que las publicaciones científicas, para ser publicados, a presentar resultados significativos, ya que los resultados no significativos tienden a ser menos propensos a ser publicados. El sesgo de publicación se ha evaluado a través de un método adaptado para meta-análisis de tres niveles (Rodgers, M. A. & Pustejovsky, J. E. 2021). Hemos representado un gráfico tipo *funnel*, realizado un modelo de *Egger* y hemos aplicado una prueba *fail-safe N*.

La gráfica *funnel* (Figura 4) representa el error estándar frente a valores residuales. Para interpretarlo, debemos fijarnos en la distribución de los puntos. Una distribución simétrica y homogénea en forma de embudo nos indicaría que no hay sesgo de publicación. Pero en nuestro caso, la asimetría nos indica la posible presencia de sesgo de publicación.

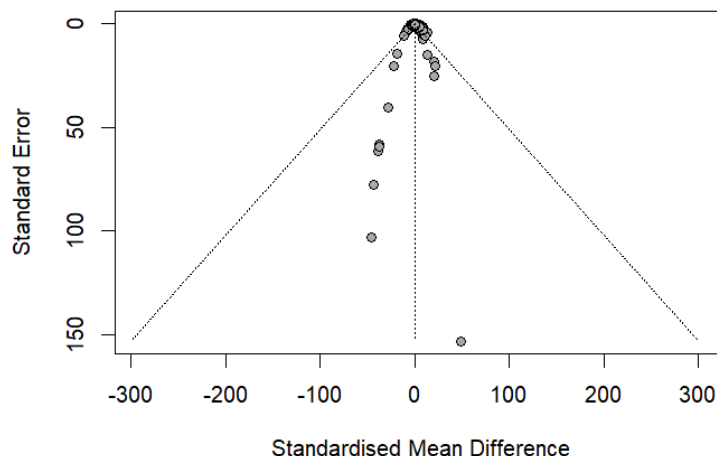


Figura 4. Gráfica *funnel* para visualizar la precisión de las publicaciones incluidos en nuestro metaanálisis. Vemos representado en el eje horizontal el SMD y en el eje vertical el error estándar.

La prueba de *Egger* es comúnmente utilizada para evaluar el sesgo de publicación en metaanálisis. Sin embargo, puede que no sea directamente aplicable a metaanálisis multilevel. A partir de la metodología propuesta por Rodgers, M. A. y Pustejovsky, J. E (2021) hemos

adaptado la prueba de *Egger* para su uso en un metaanálisis multi-nivel. Básicamente, hemos incluido como moderador las varianzas y covarianzas de los tamaños del efecto en el modelo y, a partir de este, hemos aplicado la función *coef_test()* sobre nuestro nuevo modelo. El resultado significativo, nos sugiere que en las publicaciones incluidos en el metaanálisis hay un sesgo de publicación (*'6.4 Sesgo de publicación'*, Anexo 3).

Por otro lado, la prueba *fail-safe N* nos proporcionó una estimación del número mínimo de publicaciones no encontrados o no publicados para anular el resultado significativo del metaanálisis.

El valor alto de *fail-safe N* (*Fail-safe N* = 16174) y el resultado significativo observados nos indican una mayor robustez de los resultados, ya que requeriría un gran número de publicaciones no encontrados o no publicados para cambiar la significancia estadística.

2.4. Representación de los datos

Para la representación de nuestros resultados hemos utilizado principalmente la librería *ggplot2()*. Podemos ver el desarrollo de representación de figuras en el Capítulo *'7. Representación del metaanálisis'* del Anexo 3, el cual está dividido en subcapítulos donde se explica cada una de las partes representadas.

Los tamaños del efecto estimados en el metaanálisis han sido representados mediante un gráfico tipo *forest*. Este tipo de gráfica nos proporciona una representación clara y concisa de los elementos más importantes de nuestro modelo. En el eje vertical, hemos representado los subgrupos según el moderador especificado. En el eje horizontal ha representado la estimación del tamaño del efecto cuyo tamaño es directamente proporcional al tamaño muestral del subgrupo. A este punto se le añade una línea horizontal que representa el 95% del intervalo de confianza. Al final del gráfico, se muestra un punto que representa el efecto combinado de todos los subgrupos, también con su intervalo de confianza. Adicionalmente, hemos incluido la línea de 'no efecto' como una línea vertical ubicada en el valor 0 del eje horizontal. Los asteriscos junto a los puntos nos indican niveles de significancia, con *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ y * $p < 0.05$.

En primer lugar, hemos representado el peso estadístico asociado a cada estudio y porcentaje del peso asociado a diferentes moderadores (Figura 5, 6 y 7). Esta es una medida que indica la contribución relativa de ese estudio en la estimación global del efecto. La hemos calculado teniendo en cuenta tanto el tamaño muestral del estudio como la variabilidad de los resultados obtenidos. Esta representación nos ha dado una visión global de la distribución de nuestros datos y de qué factores eran más representativos en nuestro modelo.

En segundo lugar, hemos representado los tamaños del efecto para cada variable, subgrupo y grupo. Frente a la gran diversidad de variables respuesta a partir de las cuales hemos estimado los tamaños del efecto, hemos organizado las variables en grupos y subgrupos. Los grandes grupos están compuestos por aquellas variables respuesta que podemos considerar (I) estrategias de resistencia, (II) estrategias de tolerancia y (III) herbivorismo. Asimismo, estos grandes grupos los hemos dividido en subgrupos de la siguiente manera: Las estrategias de resistencia las hemos subagrupado en compuestos fenólicos y calidad nutricional (Figura 9); las estrategias de tolerancia hemos subagrupado en carbohidratos y contenido en carbono, actividad fotosintética, características morfológicas y actividad metabólica (Figura 8); y por último tendríamos el grupo de herbivoría sin subagrupar (Figura 10).

En último lugar, hemos explorado las variaciones de la herbivoría y de las estrategias de resistencia y tolerancia según diferentes moderadores (Figura 11, 12 y 13). Para cada grupo hemos explorado 5 moderadores: (I) El tipo de especie de planta marina, (II) El tipo de bioma donde se ha desarrollado el estudio según el artículo de Green, Short y Spalding (2008), donde se desarrolló un modelo bioregional para analizar la distribución y diversidad global de las praderas marinas, (III) efecto de un aumento de temperatura, (IV) Diseño experimental in situ o ex situ, (V) La duración del experimento. Sin embargo, para estimar los tamaños del efecto de las estrategias de tolerancia y resistencia, nos hemos encontrado con que ciertas variables con estimas positivas indican una mejora de las estrategias, de la misma manera que ciertas variables con estimas negativas también nos han sugerido una mejora. Es decir, algunas variables nos indican mejoras en las estrategias de tolerancia y resistencia indiferentemente de si su tamaño del efecto es negativo o positivo. Por ejemplo, un aumento en la relación de carbono y nitrógeno en hojas podría implicar una estrategia de resistencia debido a una disminución de la calidad nutricional, al igual que también lo sería una disminución en la cantidad de nitrógeno en hojas. Hemos considerado ambas situaciones como estrategias de resistencia. Para poder incluir todas las variables en la estima de las estrategias, hemos decidido estandarizar las variables calculando el valor inverso de los tamaños del efecto en aquellas variables con un tamaño del efecto negativo, pero con un efecto positivo sobre las estrategias (*Ic_*, *R_*, *Ik_*, *P_leaves_*, *N_leaves_*, *C_leaves_*, *Protein_*, *13C_leaves_* y *15N_leaves_*). Debemos tener en cuenta que nuestro objetivo en este apartado no era definir en detalle el efecto de la acidificación sobre las estrategias frente al herbivorismo de las fanerógamas, sino explorar posibles variaciones de estos efectos dependiendo de los moderadores. También, es importante que consideremos esta conversión a la hora de interpretar los resultados.

Para determinar el tamaño del efecto de los moderadores, hemos estimado un nuevo modelo a partir del validado anteriormente. Este nuevo modelo contiene la especificación “*mods*”, en este apartado especificamos la variable moderadora. De esta manera también hemos podido observar el tamaño del efecto descompuesto por subgrupos. Por ejemplo, si especificamos como moderador la variable que especifica el tipo de especie de planta marina, obtendremos un modelo que estima el tamaño del efecto concreto para cada tipo de especie de planta marina. Asimismo, la representación difiere según el tipo de variable (continua o discreta) que queramos mostrar. Por ejemplo, el moderador “duración del experimento” (Figura 14) es una variable continua, por lo que su representación difiere al resto de moderadores discretos. Para representarlo, en el eje horizontal representamos los valores del moderador y el eje vertical representamos los tamaños del efecto.

3. Resultados

El modelo multinivel que hemos elegido es el que utiliza la variación entre publicaciones (Nivel 2) y la variación entre observaciones dentro de mismas publicaciones (Nivel 3), como niveles de anidamiento. Los resultados de este modelo muestran un tamaño del efecto general de 0,2187 (IC 95%: -0,0692 - 0,5067). Aunque este tamaño del efecto denota un efecto bajo de tendencia positiva, el p-valor nos indica que esta estimación no es significativa estadísticamente. Además, el intervalo de confianza del 95% cruza la línea de no efecto. Todo esto nos hace pensar que no hay un efecto destacable de la acidificación sobre las fanerógamas marinas. Sin embargo, esta es una visión demasiado generalista considerando la complejidad del modelo, por lo que hemos explorado más a fondo nuestros resultados.

3.1. Análisis del Peso Estadístico: Contribución de publicaciones y Moderadores

Primeramente, hemos calculado el porcentaje de peso estadístico con el que contribuye en el modelo cada una de las publicaciones incluida en nuestro metaanálisis. Esto nos ha permitido visualizar qué autores tienen un mayor peso estadístico en nuestro modelo, es decir, cuál de ellos representa una mayor contribución o influencia en los resultados del modelo.

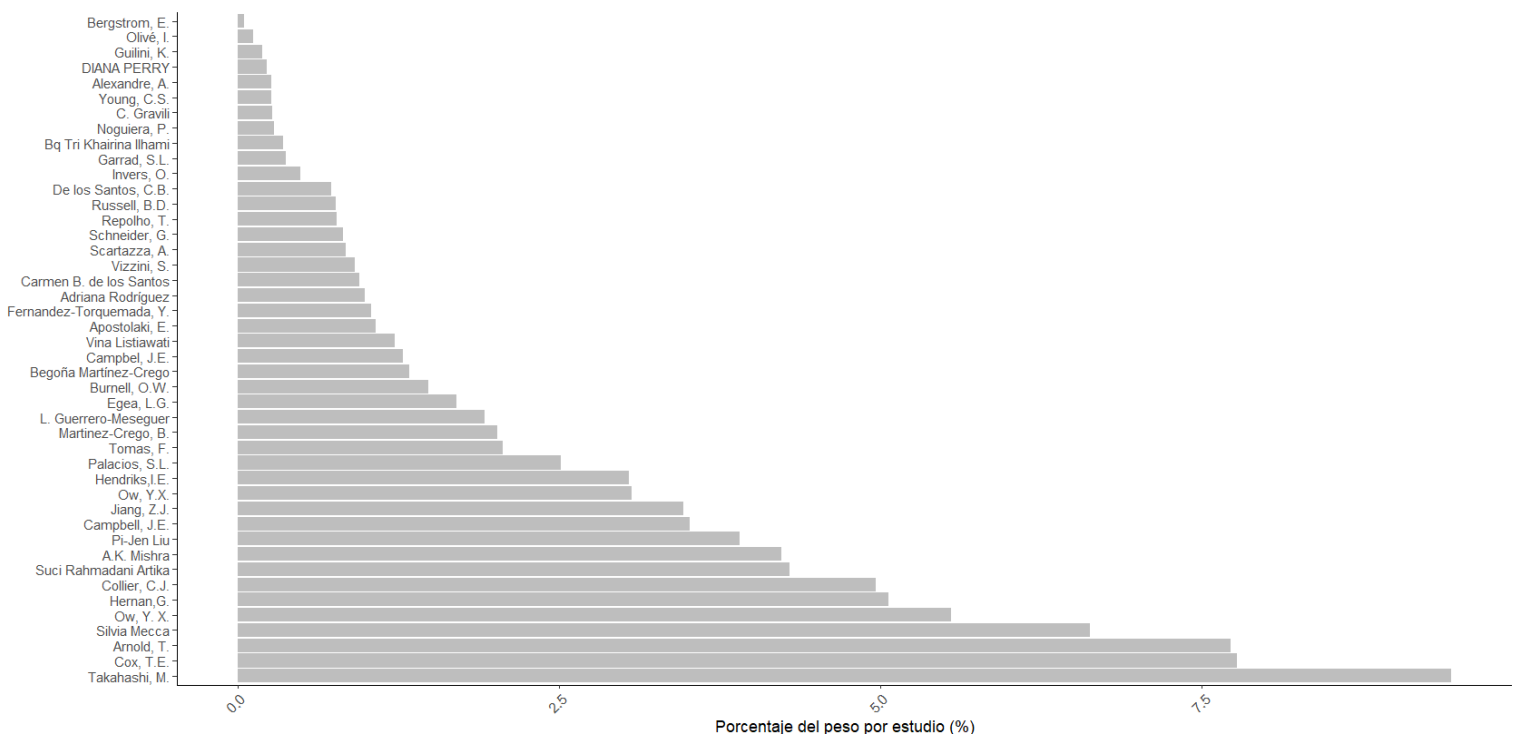


Figura 5. Gráfico de barras para visualizar el peso estadístico de las publicaciones incluidos en nuestro metaanálisis.

Podemos observar en la Figura 5 que los artículos de Takahashi M. (9,44%), Cox T. E. (7,77%) y Arnold T. (7,72%) son los que contribuyen con un mayor peso estadístico en nuestro modelo.

El uso de moderadores nos permite contextualizar nuestros datos y visualizar cómo afecta la acidificación a las estrategias de las fanerógamas marinas frente al herbivorismo a diferentes niveles. A modo descriptivo, la visualización del peso estadístico de diferentes variables moderadoras nos permite tener una idea clara de la representatividad de cada categoría en el análisis.

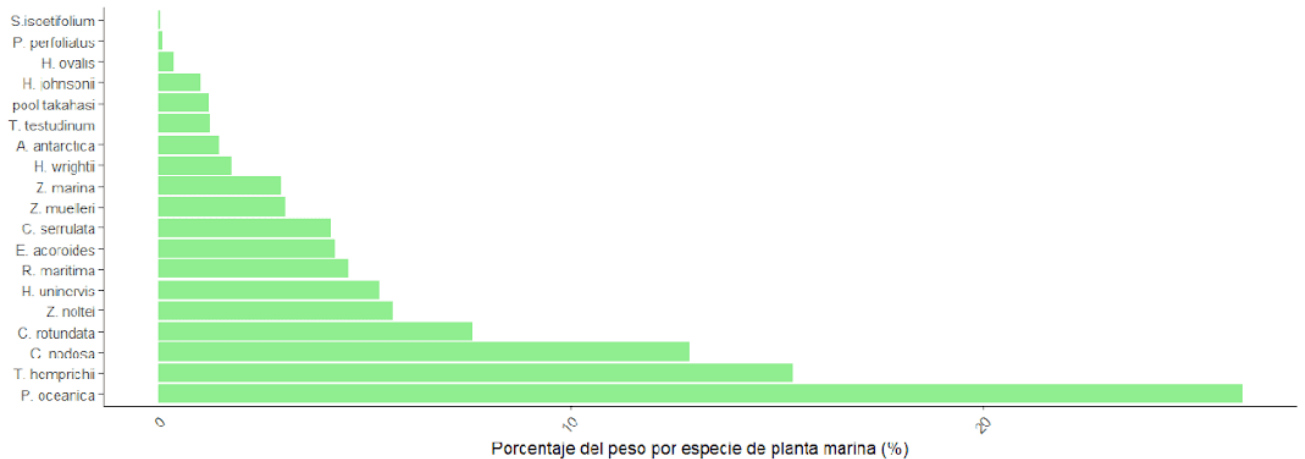


Figura 6. Gráfico de barras para visualizar el peso estadístico de las publicaciones subagrupados por especies incluidos en nuestro metaanálisis.

En primer lugar, hemos representado las 18 especies que incluye nuestro estudio, de las 60 especies que podemos identificar a nivel mundial (Les et al. 1997). Vemos como las especies de fanerógamas marinas con un mayor peso estadístico son las especies *Posidonia oceanica*, *Thalassia hemprichii* y *Cymodocea nodosa*, representando un 26,29%, 15,41% y 12,87% del peso estadístico. Por otro lado, *Syringodium isoetifolium*, *Potamogeton perfoliatus* y *Halophila ovalis*, son las especies que tienen un menor peso, representando menos de un 1% del peso estadístico del modelo.

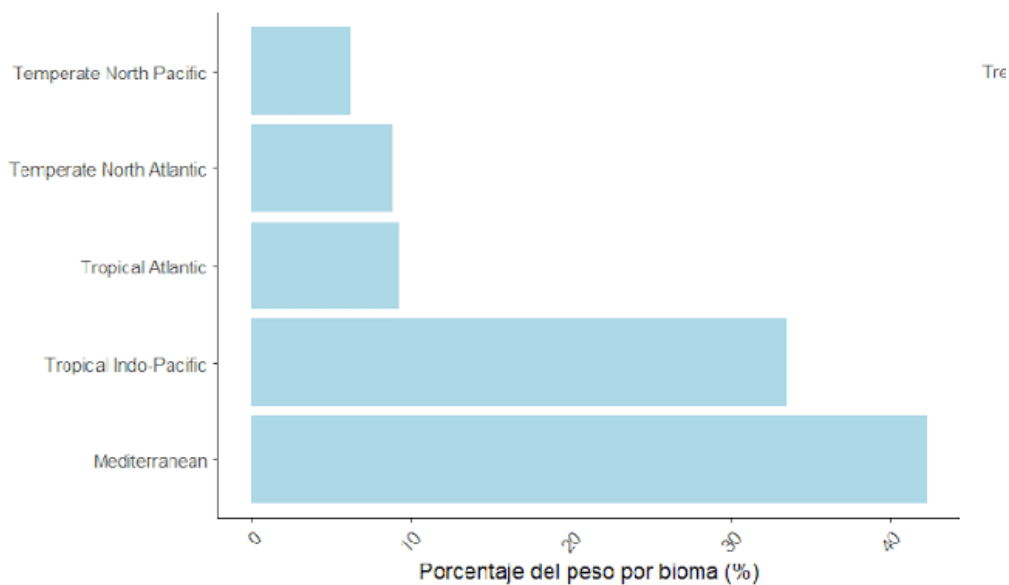


Figura 7. Gráfico de barras para visualizar el peso estadístico de las publicaciones subagrupados por biomas incluidos en nuestro metaanálisis.

Por otro lado, las seis grandes distribuciones o biomas que son el Templado del Atlántico Norte, el Atlántico Tropical, el Mediterráneo, el Templado del Pacífico Norte, el Indo-Pacífico Tropical y los Océanos Templados del Sur (Short et al. 2007). Según esta clasificación, los biomas con una mayor representatividad son el Mediterráneo (42,23%) y el Indo-Pacífico Tropical (33,52%). Las zonas menos descritas son los Océanos Templados del Sur, de los cuales no hemos encontrado ninguna observación, el Atlántico Tropical (9,23%), el Templado del Atlántico Norte (8,84%), y el Templado del Pacífico Norte (6,19%).

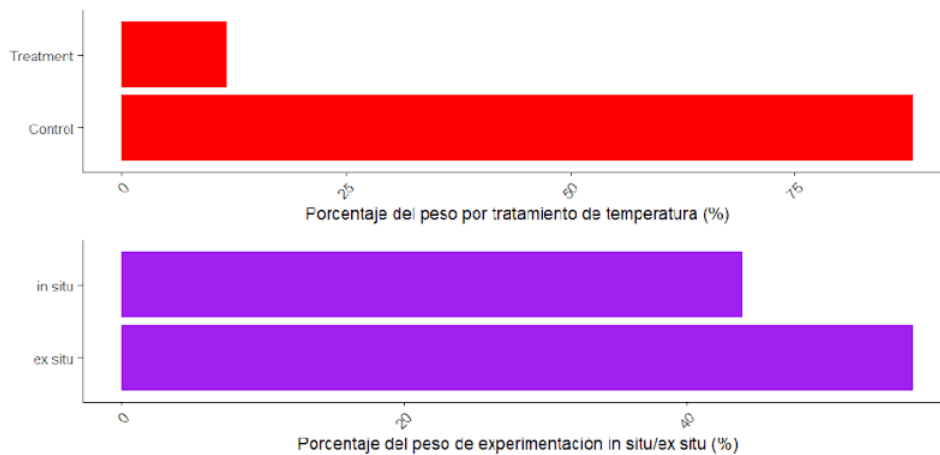


Figura 8. Gráfico de barras en la parte superior para visualizar el peso estadístico de las publicaciones subagrupados por tipo de tratamiento empleado incluidos en nuestro metaanálisis. Gráfico de barras en la parte inferior para visualizar el peso estadístico de las publicaciones subagrupados por experimentos in situ y ex situ incluidos en nuestro metaanálisis.

Después, hemos considerado los tratamientos únicamente de acidificación (*Control*) frente a los tratamientos múltiples de acidificación más temperatura (*Treatment*). Dado el objeto de nuestro estudio, tenemos una mayor cantidad de publicaciones que estudian únicamente los efectos de la acidificación, con un 88,25% de observaciones, frente a un 11,75% de tratamientos que estudian los efectos combinados de la acidificación más la temperatura.

En último lugar, vemos que el número de observaciones de publicaciones *in situ* versus *ex situ* están descritos de forma aproximadamente pareja. El porcentaje de observaciones in situ es de un 43,98% mientras que el porcentaje ex situ es de un 56,02%.

3.2. Tamaños del efecto agrupados por grupos y subgrupos

3.2.1. Estrategias de Tolerancia

A continuación, hemos descrito las variables respuesta de nuestro modelo, las hemos agrupado según las estrategias de defensa frente al herbivorismo. Dentro de las estrategias de tolerancia (Figura 9), hemos identificado 36 variables respuesta que hemos clasificado en 4 subgrupos diferentes. Valores positivos del tamaño del efecto en variables nos indican efectos positivos sobre las estrategias de defensa, mientras que tamaños del efecto negativos nos indican un impacto negativo sobre las estrategias.

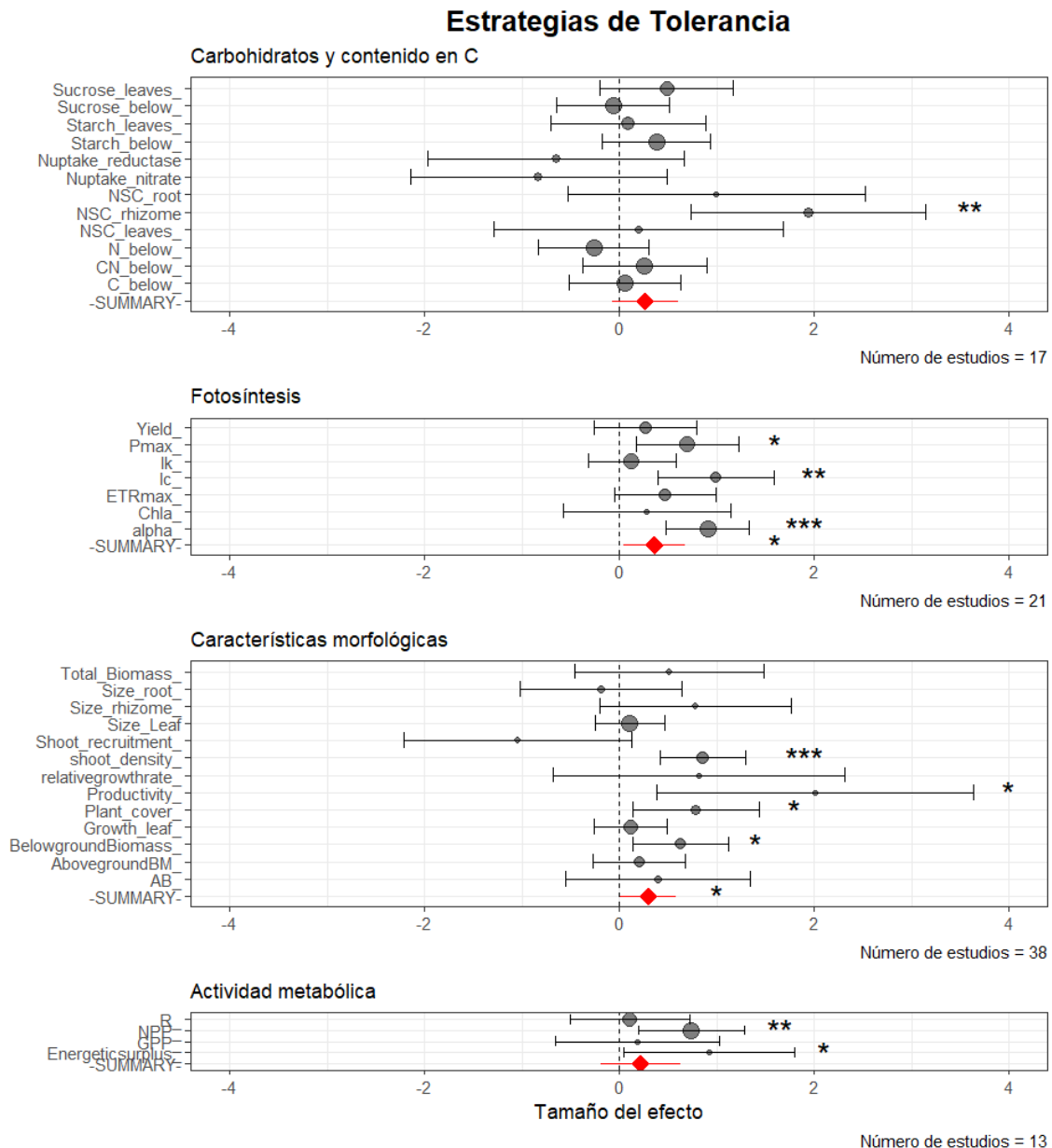


Figura 9. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia para cada variable y subgrupo (Carbohidratos y contenido en C, Fotosíntesis, Características morfológicas y Actividad metabólica) en el grupo de estrategias de tolerancia.

En relación a las variables de carbohidratos y contenido de carbono, el tamaño del efecto representa un valor estimado de 0,2636 (CI 95%: -0,0746 – 0,601). No se observa una tendencia clara ni un efecto significativo en estas variables. Sin embargo, se ha identificado *NSC_rhizome_* como variable significativa en este subgrupo, que muestra un tamaño del efecto de 1,9386 (IC 95%: 0,7296 – 3,1476) y un p-valor significativo. Esto indica que hay una cantidad significativamente mayor de sacarosa y almidón en el rizoma en los grupos tratamiento en comparación con los grupos control.

Las variables respuesta relacionadas con la fotosíntesis tienen una estimación general positiva significativa de 0,3598 (IC 95%: 0,042 – 0,677). Además, algunas variables específicas muestran tamaños de efecto significativos. Las variables *Pmax_*, *Alpha_* y *Ic_* presentan cambios positivos significativos entre grupos, con tamaños de efecto estimados de 0,6968 (IC 95%: 0,1695 – 1,2241), 0,9087 (IC 95%: 0,4827 – 1,3346) y 0,994 (IC 95%: 0,3937 – -1,5944), respectivamente.

En relación a las características morfológicas, hemos observado que el tamaño del efecto global es significativo, con una estimación de 0,2992 (IC 95%: 0,013 – 0,677). Esto nos indica un cambio positivo significativo bajo/moderado en el grupo tratamiento en comparación con el grupo control. Al analizar en detalle las variables que componen este grupo, encontramos que cuatro de ellas muestran un efecto significativo y positivo. La variable *shoot_density_* (densidad de haces) presenta un tamaño del efecto estimado de 0,8572 (IC 95%: 0,4197 – 1,2947), lo que indica un aumento considerable en la cantidad de haces en el grupo tratamiento. Además, la variable *Productivity_* (productividad) muestra un tamaño del efecto estimado de 2,0118 (IC 95%: 0,3859-3,6376), lo que sugiere un aumento moderado a elevado en la productividad. La variable *Plant_cover_* (cobertura de la planta) presenta un tamaño del efecto estimado de 0,7861 (IC 95%: 0,1378 – 1,4344), lo que indica un incremento moderado a alto en el área de cobertura de la planta expuesta a la acidificación. Por último, la variable *BelowgroundBiomass_* (biomasa subterránea) muestra un aumento moderado en la cantidad de biomasa subterránea en los grupos tratamiento, con un tamaño del efecto estimado de 0,6254 (IC 95%: 0,1351 – 1,1158).

En el subgrupo de actividad metabólica, se observa una tendencia positiva en las estimaciones del tamaño del efecto. En general, el tamaño del efecto global es positivo, con una estimación de 0,221 (IC 95%: -0,191 – 0,632). Dentro de este subgrupo, las variables respuesta que destacan son *NPP_* (productividad primaria neta) y *Energeticsurplus_* (relación entre productividad primaria bruta y la respiración). Se observa un aumento moderado a elevado en la productividad primaria neta en los grupos tratamiento, con una estimación del tamaño del efecto de 0,7422 (IC 95%: 0,2024 – 1,2821). Asimismo, se observa un incremento en la relación entre la productividad primaria bruta y la respiración, aunque con un tamaño muestral menor y un intervalo de confianza amplio, con una estimación del tamaño del efecto de 0,9256 (IC 95%: 0,0465 – 1,8047).

3.2.2. Estrategias de Resistencia

En cambio, hemos dividido las estrategias de resistencia (Figura 10) en dos subgrupos que agrupan 28 variables respuesta: compuestos fenólicos y calidad nutricional.

Estrategias de Resistencia

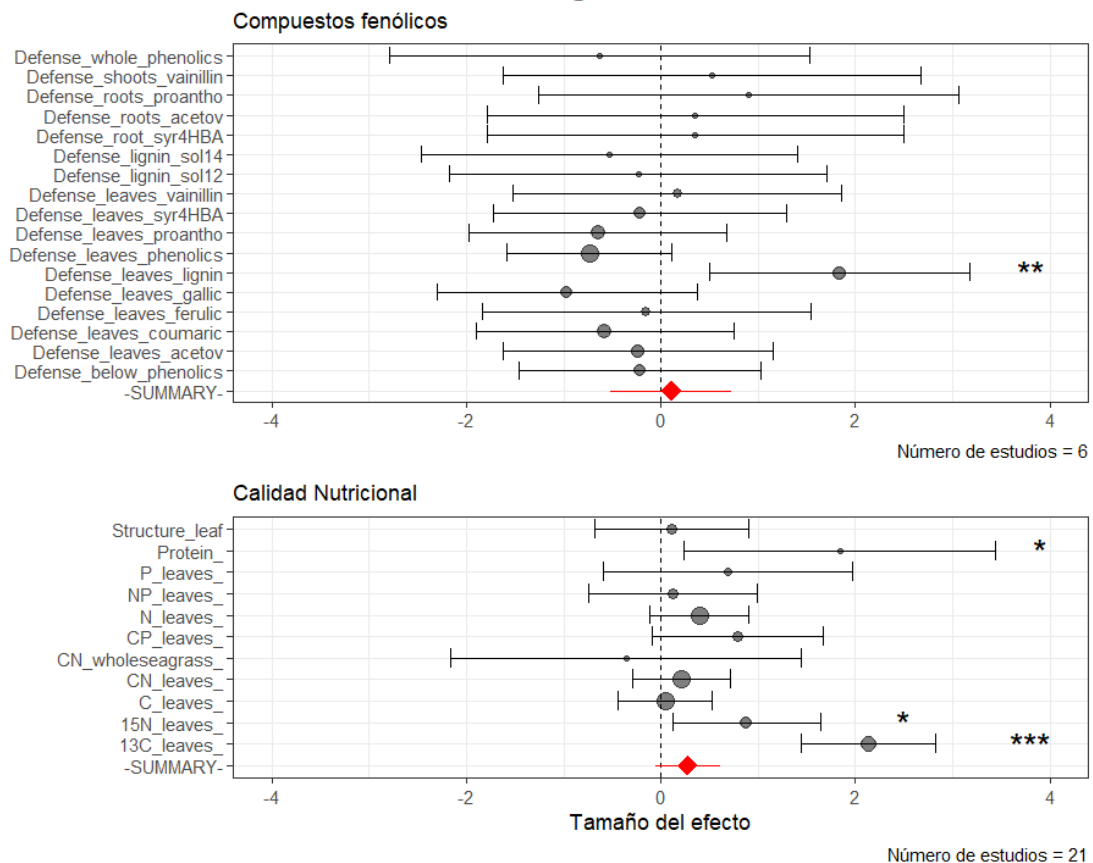


Figura 10. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia para cada variable y subgrupo (Compuestos fenólicos y Calidad Nutricional) en el grupo de estrategias de resistencia.

El subgrupo de compuestos fenólicos en general no muestra un efecto significativo en el tamaño del efecto, con una estimación de 0,1084 (IC 95%: -0,512 – 0,728). Sin embargo, la variable respuesta *Defense_leaves_lignin_*, que representa el contenido de lignina, muestra un efecto significativo positivo con una estimación del tamaño del efecto de 1,8382 (IC 95%: 0,496 – 3,1803). Esto indica un aumento significativo y elevado en la cantidad de lignina en las fanerógamas expuestas a condiciones de acidificación.

El subgrupo de calidad nutricional muestra un tamaño del efecto positivo de 0,2761 (IC 95%: -0,058 – 0,609), aunque no significativo. Esto sugiere que no hay un efecto generalizado positivo en las variables respuesta que componen este subgrupo. Sin embargo, tres de estas variables presentan estimaciones del tamaño del efecto significativas. La variable *13C_leaves_*, que representa el contenido de carbono 13 en hojas, muestra un aumento significativo del tamaño del efecto en las fanerógamas expuestas a acidificación, con una estimación del tamaño del efecto de 2,1302 (IC 95%: 1,4404 – 2,82). De manera similar, la variable *15N_leaves_*, que representa la cantidad de nitrógeno 15 en hojas, también muestra un aumento moderado significativo en los grupos tratamiento, con un estimado de 0,8825 (IC 95%: 0,12 – 1,6450). Por último, la variable *Protein_*, que indica la cantidad de proteínas, presenta un aumento significativo en las fanerógamas expuestas a acidificación, con un valor de 1,841 (IC 95%: 0,2391 – 3,4428).

3.2.3. Herbivoría

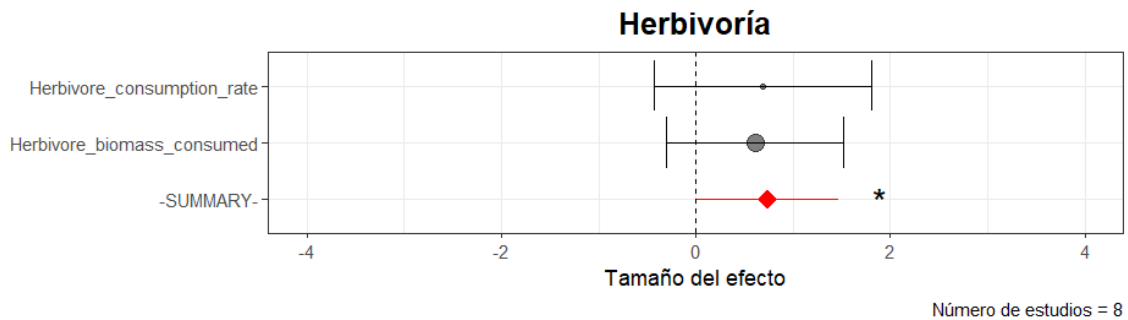


Figura 11. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia para cada variable en el grupo de Herbivoría.

En el grupo de herbivoría, las variables respuesta Herbivore_biomass_consumed (biomasa de hojas consumida por herbívoros) y Herbivore_consumption_rate (ratio de consumo de hojas por herbívoros) no muestran un tamaño del efecto significativo. Sin embargo, observamos una tendencia positiva en ambos casos, lo que indica un aumento en la herbivoría en condiciones de acidificación. El tamaño del efecto general estimado es positivo y significativo de 0,7384 (IC 95%: 0,007 – 1,469).

3.2.4. Tamaño del efecto global de las estrategias y herbivoría

Por último, hemos representado las estimas de nuestro modelo para las estrategias de resistencia, de tolerancia y de herbivoría (Figura 12).

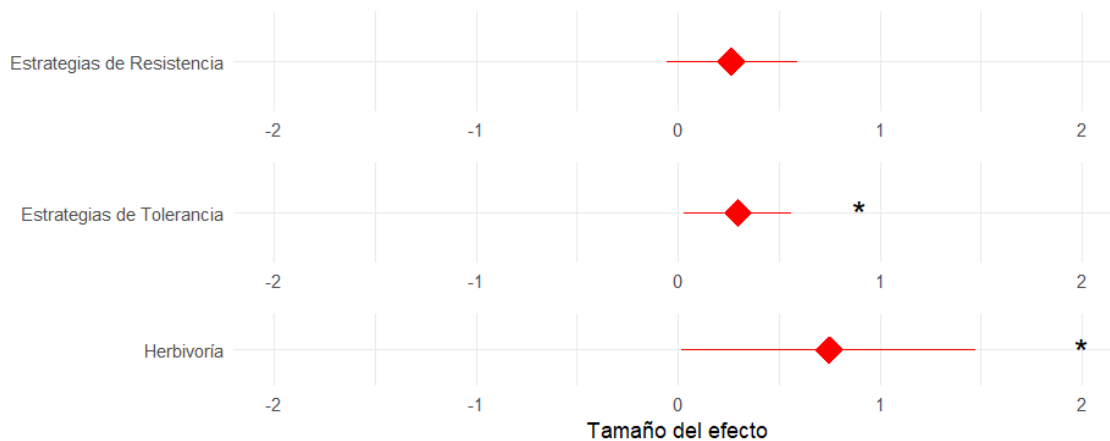


Figura 12. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto globales de las estrategias de defensa agrupadas y de la Herbivoría.

Podemos ver que, en situación de acidificación, tanto las estrategias de defensa como el herbivorismo se verían favorecidas. Estos resultados serían significativos en el caso de las estrategias de tolerancia, con un valor estimado de 0,2977 (IC 95%: 0,031 – 0,563) y en el herbivorismo, con un valor estimado de 0,7467 (IC 95%: 0,019 – 1,474). En el caso de las estrategias de resistencia el tamaño del efecto es de 0,2661 (-0,057 – 0,589), aunque la tendencia es positiva, el valor estimado no es significativo.

3.3. Exploración de los moderadores

Además del análisis global, hemos realizado un análisis de moderadores para investigar si las variaciones en los tamaños de efecto pueden ser atribuidas a características o factores específicos. Para ello, hemos explorado los moderadores más relevantes para cada estrategia de defensa contra el herbivorismo.

3.3.1. Moderadores y tamaño del efecto estimado de las estrategias de tolerancia

A continuación, hemos representado un gráfico de *forest* que muestra los tamaños de efecto de las estrategias de tolerancia, considerando la especie de fanerógama marina estudiada, el tipo de bioma, la inclusión de tratamiento de temperatura y el entorno experimental (*in situ* o *ex situ*). La Figura 13 nos proporciona una visualización clara de cómo estas variables moderadoras influyen en los tamaños de efecto de las estrategias de resistencia.

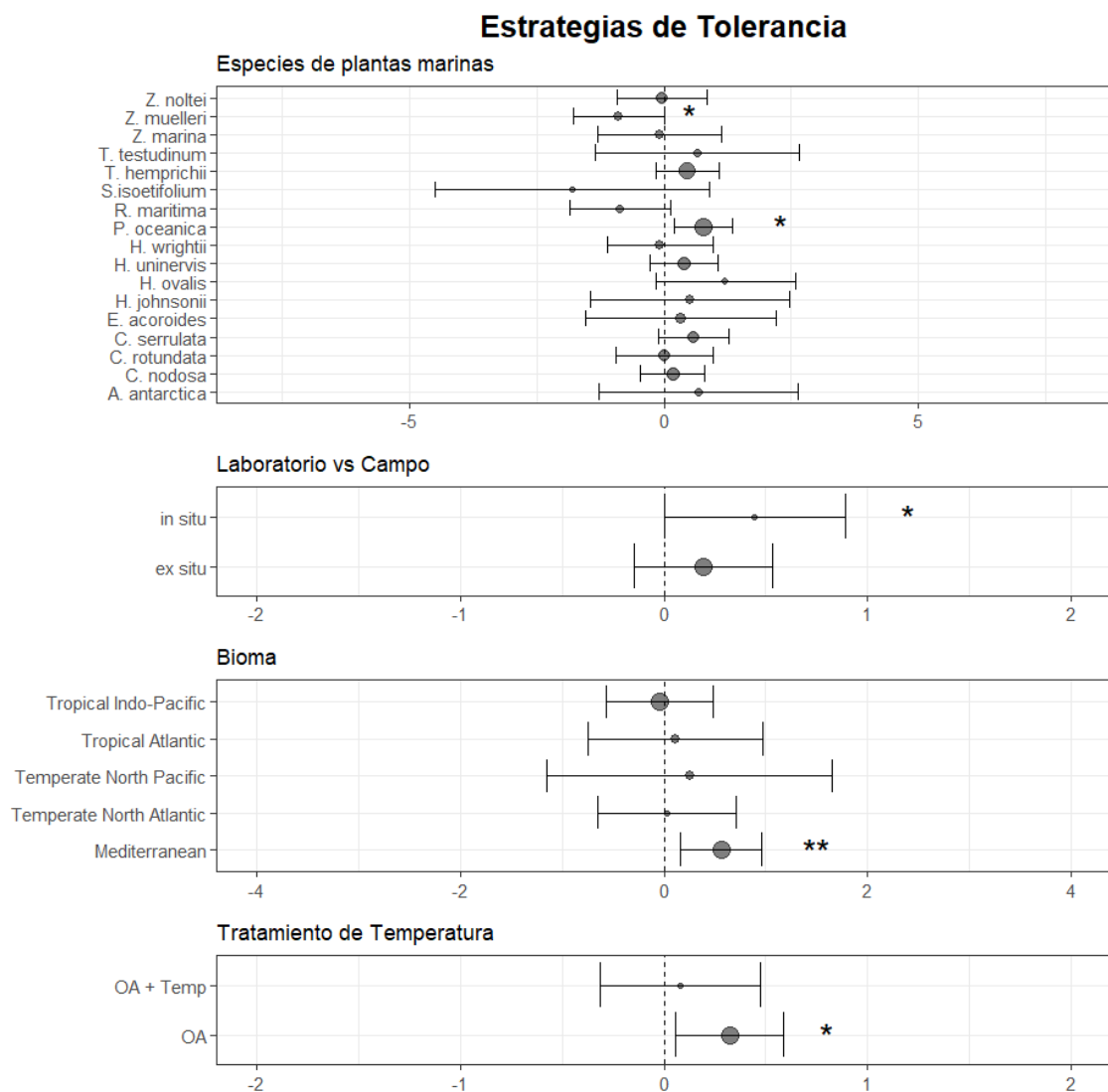


Figura 13. Gráfico de *forest* representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia de las Estrategias de Tolerancia subagrupada por moderadores.

Al considerar la especie de planta marina como moderadora, no hemos observado una tendencia clara en los tamaños del efecto. Algunas especies, como *Z. muelleri*, presentan un tamaño del efecto negativo y significativo. Contrariamente, hemos observamos un resultado

significativo y positivo en *P. oceanica*. Lo mismo sucede al observar las tendencias, ciertas especies presentan tendencias positivas, mientras otras negativas.

En cuanto a los estudios realizados *in situ* versus *ex situ*, hemos podido observar valores significativos y positivos en los tratamientos realizados *in situ*, lo que nos sugiere un aumento moderado de las estrategias de tolerancia en condiciones de acidificación.

En relación al tipo de bioma como moderador, no se puede apreciar una tendencia clara. Sin embargo, sí podemos apreciar un efecto considerablemente significativo en el caso del Mediterráneo.

Por otro lado, al observar las publicaciones que incluyen tratamientos múltiples de temperatura y acidificación en comparación con aquellos que solo consideran acidificación, encontramos que el estimador es significativo en el caso de las publicaciones que únicamente consideran acidificación. Esto indica un aumento moderado en las estrategias de tolerancia frente a la acidificación.

3.3.2. Moderadores y tamaño del efecto estimado de las estrategias de resistencia

A continuación, hemos explorado cómo las estimaciones de los tamaños del efecto de las estrategias de resistencia varían en relación a los mismos moderadores mencionados anteriormente. Hemos representado estas fluctuaciones para comprender mejor la influencia de los moderadores en los tamaños del efecto.

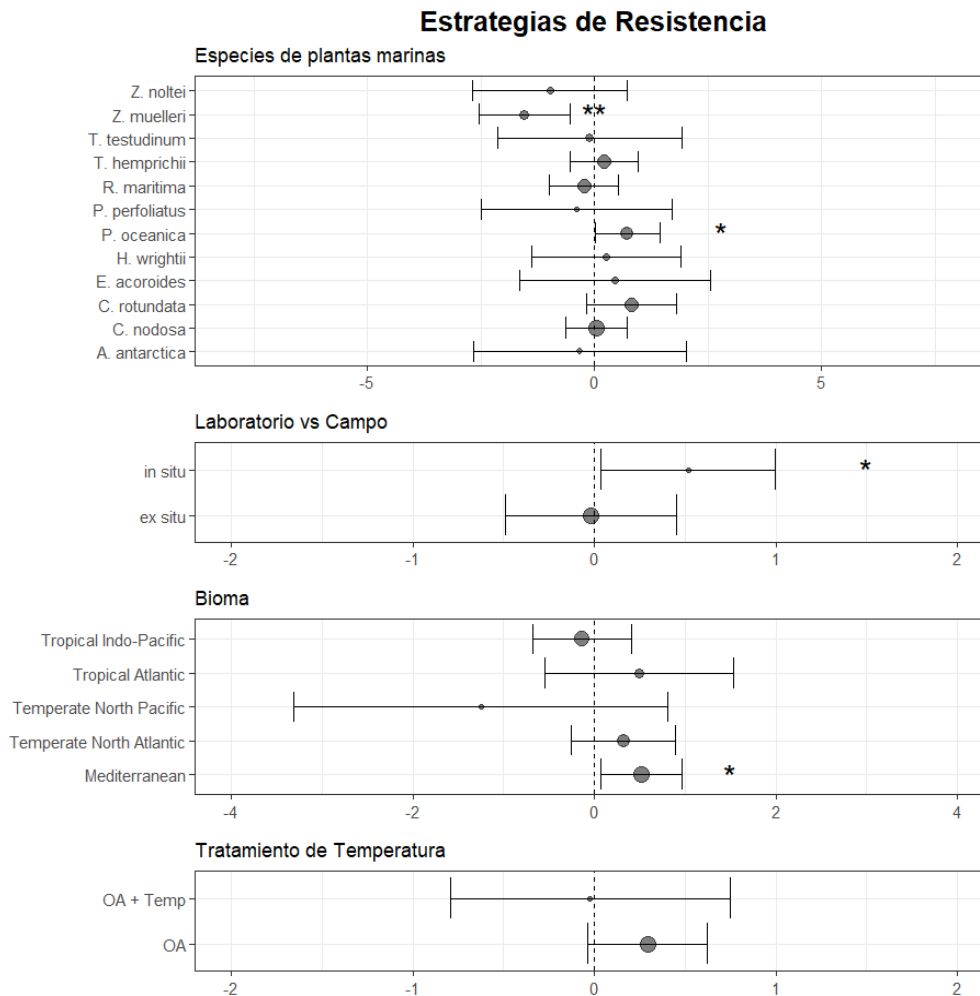


Figura 14. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia de las Estrategias de Resistencia subagrupada por moderadores.

Al observar la especie de fanerógama marina (Figura 14), hemos encontrado estimas significativas en los tamaños del efecto estimados que denotan un efecto positivo moderado en *P. oceanica* y un efecto negativo moderado en *Z. muelleri*. La gran parte de los estimadores se sitúan cerca de cero, con tendencias positivas o negativas, y los intervalos de confianza del 95% son amplios. Esto nos indica que los efectos de la acidificación en las estrategias de resistencia pueden varía mucho según la especie.

Por otro lado, encontramos estimaciones significativas al considerar algunas características del diseño experimental. Al comparar los tamaños del efecto entre publicaciones realizados in situ y ex situ, encontramos un tamaño del efecto significativamente positivos en las publicaciones realizados in situ. Esto indica que las estrategias de resistencia mejoran notablemente en los grupos tratamiento de las publicaciones realizados in situ, mientras que en las publicaciones ex situ no se observan tamaños del efecto significativos.

Del mismo modo, al considerar el bioma donde se ha desarrollado el estudio como factor moderador, hemos encontrado diferencias significativas en los tamaños del efecto estimados. En el Mediterráneo hemos observado efectos significativos. Para el resto de los biomas las estimas no son significativas.

Además, al comparar publicaciones que incluyen tanto tratamientos de temperatura como de acidificación con aquellos que solo consideran tratamientos de acidificación, encontramos resultados que indican un aumento significativo de las estrategias de resistencia en condiciones de OA.

3.3.3 Moderadores y tamaño del efecto estimado de la herbivoría

Por último, hemos explorado la influencia de estos moderadores en el tamaño del efecto estimado de la herbivoría.

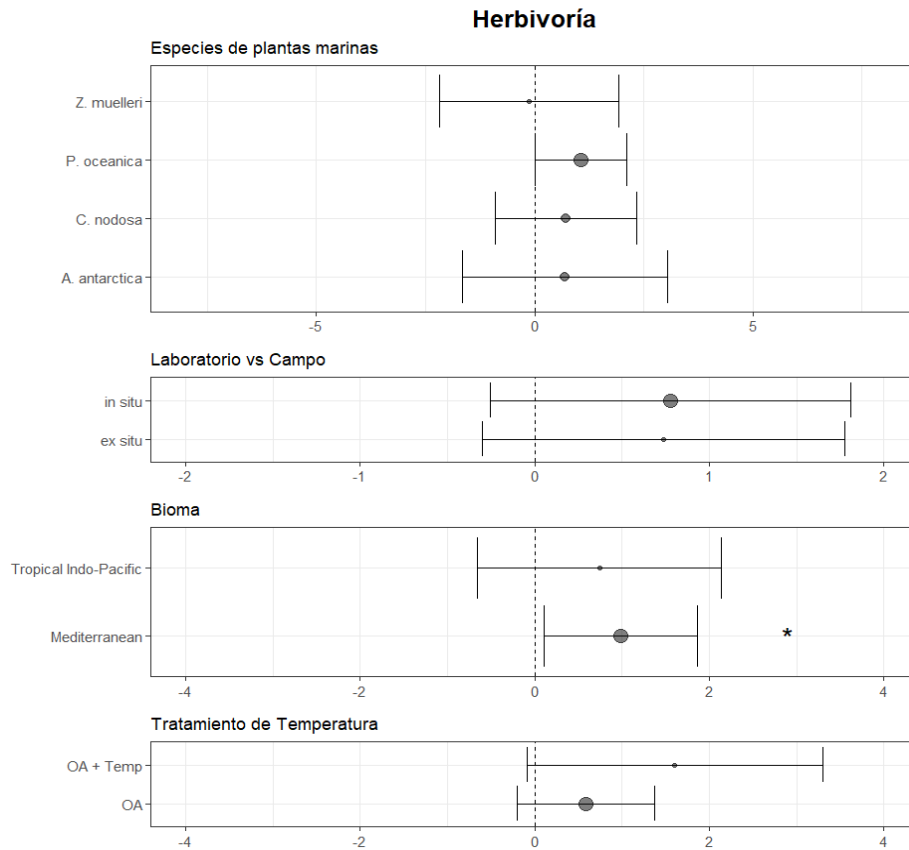


Figura 15. Gráfico de forest representado los tamaños del efecto, intervalos de confianza del 95% y el nivel de significancia de la Herbivoría subagrupada por moderadores y del tamaño del efecto global.

En el caso de las especies de fanerógamas como moderadoras, hemos incluido menos especies (4 de 18) en comparación con las especies incluidas como moderadoras en las estrategias de resistencia y tolerancia debido a que el número menor de publicaciones. Aun así, hemos obtenido resultados con una tendencia claramente positiva, como en el caso de *P. oceanica*.

Según la ubicación del diseño experimental, no hemos obtenido resultados significativos, aunque sí tenemos una tendencia claramente positiva tanto en diseños experimentales *in situ* y *ex situ*.

Considerando los biomas como moderadores, hemos incluido menos categorías (2 de 5). Además, observamos una tendencia positiva en ambos biomas, que es significativa en el caso del mar Mediterráneo, principalmente debido al efecto positivo en *P. oceanica*.

Por último, hemos visto que tanto tratamientos de acidificación (OA), como tratamientos múltiples de temperatura más acidificación (OA + Temp) afectan de una manera positiva, pero no significativa al herbivorismo.

3.3.4. Efecto de la duración del experimento

A continuación, hemos analizado cómo evoluciona el tamaño del efecto promedio a lo largo del tiempo en las estrategias de resistencia, tolerancia y herbivorismo. Al examinar los parámetros del modelo obtenido, hemos encontrado que, en los tres grupos, el estimador es muy cercano a cero, lo que sugiere que la duración del experimento no tiene una influencia significativa en el tamaño del efecto de las estrategias de tolerancia, resistencia y herbivoría.

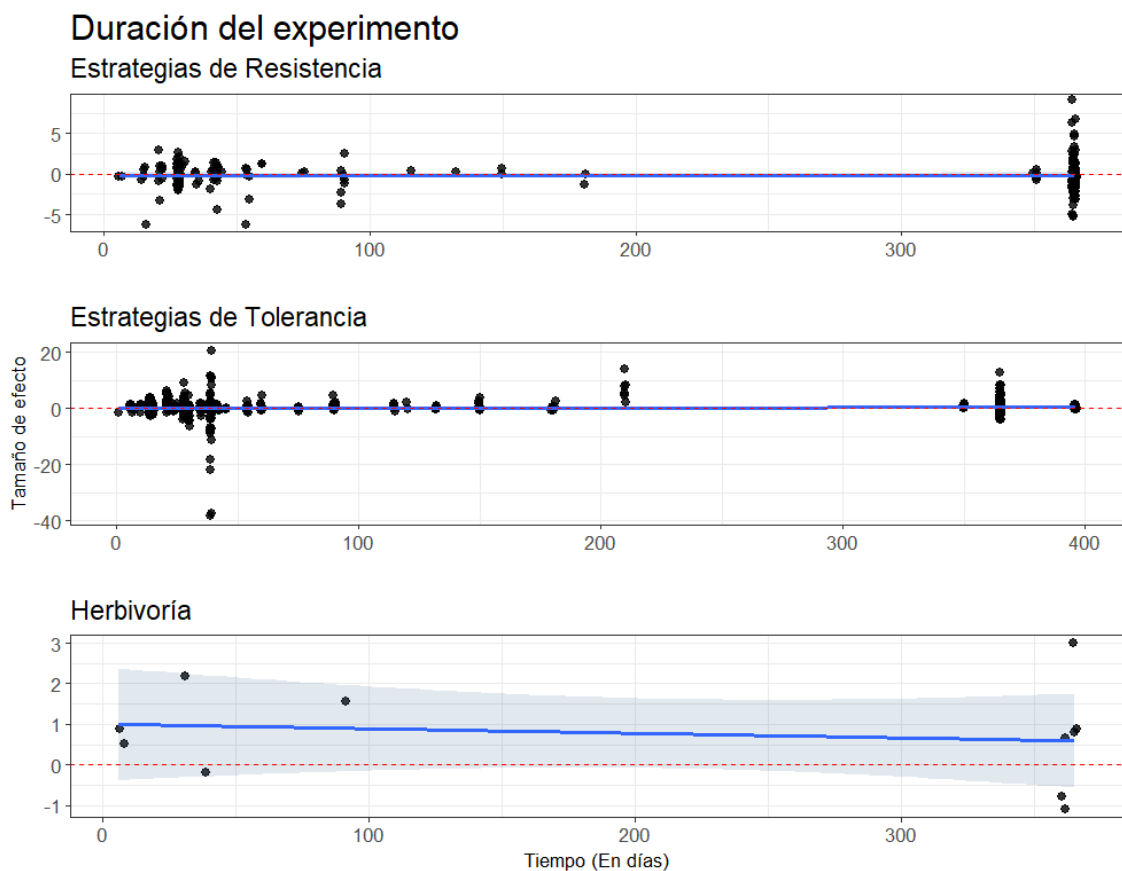


Figura 16. Relación entre la magnitud del tamaño del efecto y la duración el experimento en días. Se representa en rojo la línea de no efecto y en azul la línea de tendencia del tamaño del efecto junto a su intervalo de confianza del 95%.

Como hemos mencionado previamente, hemos observado que la tendencia en las figuras es prácticamente constante en torno a 0, solapándose con la línea de no efecto, con una ligera inclinación positiva en las estrategias de tolerancia y resistencia. En el caso de la herbivoría, se observa una tendencia ligeramente negativa, aunque con un tamaño muestral notablemente menor. Por lo que podemos decir que la duración del experimento no tiene un impacto sobre las estrategias frente al herbivorismo, y el herbivorismo per se, aunque si se observa que las publicaciones de mayor duración tienen una mayor variabilidad.

4. Conclusiones y trabajos futuros

Los resultados presentados en publicaciones desde 1970 nos muestran como un aumento del CO₂ puede tener un efecto positivo significativo en algunas variables específicas involucradas en las estrategias de tolerancia y de resistencia frente al herbivorismo, además de ciertas tendencias que, aunque no significativas, sugieren una influencia del aumento del CO₂ sobre otras características de las fanerógamas marinas.

4.1. Efectos de la acidificación oceánica en las estrategias de tolerancia

Varias publicaciones han explorado las respuestas de ciertas variables involucradas en las estrategias de tolerancia de las fanerógamas a elevados niveles de CO₂ en fanerógamas terrestres. Estos estudios han encontrado mejoras en la morfología, crecimiento y fisiología de la planta (Curtis & Wang, 1998) o aumentos en la actividad fotosintética, la productividad y la biomasa (Poorter et al., 1996; Owensby et al., 1999) ante un aumento del nivel de CO₂. También, hay evidencias de cambios en la interacción consumidor-productor consecuencia del aumento del CO₂ (Stiling & Cornelissen, 2007).

Los resultados de nuestro metaanálisis (Figura 8) confirman la suposición de que la acidificación tiene un efecto positivo sobre la gran parte de las variables relacionadas con estrategias de tolerancia. Para empezar, la actividad fotosintética presenta un tamaño del efecto global significativo. Además, observamos tamaños de efecto significativos en la tasa máxima de fotosíntesis, la eficiencia cuántica de la fotosíntesis y la irradiancia compensatoria. Esto implica que las fanerógamas marinas son capaces de capturar y utilizar más eficientemente la luz solar, lo que se traduce en una mayor producción de energía y biomasa. La significancia positiva de la irradiancia compensatoria indica que la planta requiere menos luz para compensar el CO₂ producido en la respiración, lo que resulta en un balance neutro en condiciones de menor radiación solar. En general, estos resultados indican que la actividad fotosintética aumenta y se vuelve más eficiente en condiciones de CO₂ elevado ya que las fanerógamas marinas tienen más afinidad por el CO₂ disuelto y requiere menos gasto energético el uso de CO₂ disuelto (Koch, 2013; Larkum et al., 2017).

El aumento de la actividad fotosintética aumentaría la productividad de la planta, lo que tiene efectos directos en la actividad metabólica de esta. Esta mayor energía permite que la planta incremente su actividad metabólica (Bernays & Chapman, 1994) y, a su vez, una mayor productividad puede derivar en una mayor acumulación de energía utilizada para acelerar su metabolismo. De hecho, aunque el tamaño del efecto global no es significativo, fanerógamas expuestas a concentraciones elevadas de CO₂ muestran incrementos moderados a elevados en la productividad primaria neta y en la relación entre la productividad primaria bruta y la respiración. Esto significa que en condiciones de acidificación las fanerógamas tienen más capacidad para crear biomasa, potencialmente fijando más carbono como se sugiere en Giordano et al. (2005) o Koch et al. (2013).

Ya hemos visto cómo la acidificación tendría efectos positivos sobre las capacidades fotosintéticas y metabólicas de las fanerógamas marinas. Esta mayor producción de energía y de fijación de carbono tendría un efecto directo en sus características morfológicas. De hecho, nuestros resultados presentan tendencias positivas ante la acidificación, con tamaños del efecto que son significativos en el caso de densidad de haces, la productividad, la cobertura de la planta y la biomasa subterránea. Es decir, las fanerógamas crecen más rápidamente en condiciones de acidificación, lo cual favorecería su capacidad compensatoria ante la pérdida de biomasa por el herbivorismo.

En cuanto a los carbohidratos y el contenido en carbono, no observamos un efecto significativo en el tamaño del efecto global. Sin embargo, dentro de este subgrupo, los carbohidratos no estructurales en el rizoma muestran un tamaño del efecto considerablemente alto y significativo, lo que indica una mayor cantidad de sacarosa y almidón en el rizoma en los grupos de tratamiento en comparación con el grupo de control. Este hecho nos sugiere que la planta tendría una mayor cantidad de reservas energéticas en estructuras subterráneas, protegidas del herbivorismo, lo cual también favorecería su tolerancia. Este refugio subterráneo permite a las fanerógamas marinas persistir cuando el herbivorismo es intenso (Valentine, J. F., & Heck, K. L. Jr., 1997).

4.2. Efectos de la acidificación oceánica en estrategias de resistencia

También, los resultados muestran que la acidificación tiene un efecto generalizado positivo, aunque no significativo, en las estrategias de resistencia de las fanerógamas marinas. Es decir, la acidificación podría tener efectos positivos, pero en esta estrategia defensiva concreta las consecuencias no son tan claras.

Si observamos más específicamente a los tamaños de los efectos de las diferentes variables de este grupo, por un lado, hemos visto un descenso generalizado de la calidad nutricional de las fanerógamas marinas. Recordemos que hemos invertido los valores los tamaños de efecto de las variables *P_leaves_*, *N_leaves_*, *C_leaves_*, *Protein_*, *13C_leaves_* y *15N_leaves_*, ya que descensos en estas variables nos indican un descenso de la calidad nutricional de la planta, y por lo tanto, un efecto positivo en las estrategias de resistencia. De hecho, podemos ver una tendencia claramente positiva en las variables especificadas. Esto nos indica que la planta, en condiciones de acidificación, sea menos apetecible para los consumidores y que estos, a su vez, escojan una presa alternativa más nutritiva (Kant et al. 2015). A su vez, hemos visto aumentos del tamaño del efecto en el $\delta^{13}C$, lo que nos indica que la planta está utilizando una nueva fuente de carbono para su crecimiento, con una concentración de $\delta^{13}C$ diferente a la fuente anterior. Esto demuestra la capacidad de la planta de aprovechar la nueva fuente de carbono. Por otro lado, hemos visto un tamaño del efecto significativamente positivo en el $\delta^{15}N$, el cual está estrechamente relacionado con el nitrógeno contenido por la planta. Este aumento del tamaño del efecto, nos indica un descenso de la cantidad de nitrógeno en la planta. Un aumento del CO_2 absorbido, podría diluir la cantidad de nitrógeno presente en los tejidos de la planta, haciéndola menos interesante nutricionalmente. Esto reafirmaría los resultados de publicaciones en las que se ha observado un decrecimiento de la calidad nutricional en fanerógamas marinas expuestas a acidificación (Jiang et al., 2010; Campbell & Fourqurean, 2013; Takahashi et al., 2016). Ambas mediciones ($\delta^{15}N$ y $\delta^{13}C$) nos proporcionan información sobre los cambios en la fuente de aire que la planta utiliza en su metabolismo (Takahashi, M. 2015 y Arnold, T. et al 2014). Es decir, la planta, en vez de recurrir a reservas energéticas, es capaz de captar el incremento de CO_2 proporcionado y aprovecharlo a su favor, y a la vez, reforzar sus estrategias de resistencia al disminuir su calidad nutricional.

Por otro lado, la lignina se encuentra en las paredes celulares de tejidos leñosos y en otras partes de las fanerógamas, proporcionando rigidez, resistencia mecánica y protección contra patógenos y factores ambientales. Los herbívoros tienden a evitar este tipo de estructuras rígidas por otras más digestibles (Mariani & Alcoverro, 1999 y Brand-Gardner, 1999). Por un lado, observamos un aumento significativo de la cantidad de lignina en condiciones de acidificación. Sin embargo, en el resto de los componentes fenólicos incluidos en nuestro

estudio no se observan cambios significativos en situaciones de acidificación. De hecho, podemos ver una tendencia negativa o cercana a la línea de no efecto en la mayoría de ellos (Figura 9). Esto nos sugiere que las plantas experimentaron un cambio en su metabolismo secundario, alejándose de la producción de fenoles solubles, pero manteniendo o incrementando la producción de fenoles insolubles (polifenoles), como la lignina (Arnold, T. et al, 2014). Por lo tanto, la acidificación sí que podría tener un impacto negativo sobre las estrategias de resistencia fenólicas y hacer que las fanerógamas sean más susceptibles ante el herbivorismo.

4.3. Efectos de la acidificación oceánica en el herbivorismo

En este análisis hemos añadido variables que miden parámetros que definen el herbivorismo en algunas publicaciones. Hemos podido comprobar como el tamaño del efecto es positivo para las variables incluidas (Figura 11) que nos indican un aumento de la actividad de los consumidores en condiciones de acidificación. Esto reafirma los resultados de Stiling et al., (2007) sobre el aumento de la abundancia y cambio de la composición de la comunidad de consumidores en condiciones de acidificación. También este factor es crucial para entender la necesidad de activación de estrategias frente al herbivorismo por las fanerógamas marinas en condiciones de AO. Sin embargo, el tamaño muestral de las variables que analizan factores sobre la herbivoría es bajo (Número de publicaciones = 8) y los tamaños del efecto no son significativos, aunque con una clara tendencia positiva. Este efecto positivo, podría verse compensado, al mejorar las plantas las estrategias de tolerancia por el efecto de la acidificación.

Además, diferentes especies de herbívoros podrían responder de manera diferente a los cambios impulsados por el CO₂ en las estrategias de defensa de las plantas (Bezemer y Jones, 1998; Tomas et al., 2015). Por ejemplo, epibiontes calcáreos disminuirían su abundancia en condiciones de bajo pH (Cox et al., 2015), mientras que aquellos no calcáreos se verían favorecidos por la disminución de competencia (Rodolfo Metalpa et al., 2010). Por ejemplo, en erizos de mar expuestos a una alta concentración de pCO₂ se ha visto una disminución de la tasa de alimentación y un retraso en el desarrollo de las gónadas, o un aumento en la respiración (Kurihara, H. et al, 2013). Es decir, es importante considerar los efectos de la acidificación a nivel de especie, para comprender mejor los cambios en la composición de herbívoros en los ecosistemas. También, cambios en la calidad nutricional o en la densidad de las fanerógamas podrían tener efectos sobre el herbivorismo (Stiling P. et al, 2015).

Aunque nuestros resultados muestran un aumento generalizado del herbivorismo en condiciones de acidificación, conocer qué factores inducen cambios en la magnitud de la herbivoría es elemental para entender mejor los efectos de la acidificación sobre los consumidores primarios. Además, asumimos que este aumento de la herbivoría estaría compensado por la mejora de las estrategias defensivas de las fanerógamas marinas en condiciones de AO.

4.4 Interpretación de los moderadores

Al considerar los moderadores (Figura 13, Figura 14, Figura 15 y Figura 16), obtenemos estimaciones significativas en ciertos subgrupos y ciertas tendencias que nos permiten determinar si los tamaños del efecto en las estrategias de defensa fluctúan significativamente dentro de un grupo de moderadores. Por el contrario, si las estrategias de defensa mantienen tamaños del efecto parecidos o con una misma tendencia, sugiere que las estrategias de defensa siguen un patrón generalizado dentro del moderador especificado.

Observamos que la mayoría de las especies de fanerógamas marinas muestran mejoras en sus estrategias de tolerancia y resistencia. Incluso se observan efectos significativos en algunas especies como *P. oceanica*. Sin embargo, también encontramos que algunas especies presentan tamaños de efecto negativos, que es significativo en el caso de *Z. muelleri*. Esto sugiere que, aunque en general se espera una mejora en las estrategias frente al herbivorismo debido a la acidificación, algunas especies pueden no verse afectadas o incluso experimentar efectos negativos. Como hemos visto, algunas especies de praderas marinas pueden responder de manera diferente a los cambios en los niveles de CO₂, lo que puede afectar su capacidad de competir por recursos como la luz solar, los nutrientes y el espacio. Esto podría llevar a cambios en la distribución de especies, donde algunas especies de praderas marinas pueden tener ventaja competitiva sobre otras en un entorno con niveles más altos de CO₂ (Short, F. T., & Neckles, H. A., 2009). Además, existen publicaciones que muestran que incluso dentro de una misma especie puede haber diferencias intraespecíficas (Máñez-Crespo, J. et al 2020). Por tanto, es importante considerar diferencias en los efectos de la AO en diferentes especies y poblaciones concretas.

Cuando analizamos el tipo de estudio (*in situ* vs. *ex situ*) como moderador, observamos que ambos diseños muestran un aumento moderado significativo en las estrategias de tolerancia y resistencia frente a la acidificación. Esto podría atribuirse a una interacción más intensa entre los consumidores y las fanerógamas en un entorno natural, lo que activa de manera más notable las estrategias de resistencia. Por ejemplo, se ha visto como la herbivoría inducida aumenta la producción de compuestos fenólicos totales en las hojas e induciendo estrategias de resistencia (Fiona T. et al, 2015). Además, algunos de los estudios que estudian los efectos de la acidificación en fanerógamas marinas *ex situ* no consideran herbivorismo o recrean mesocosmos que no reflejan en totalidad la realidad. Por lo tanto, podríamos atribuir aumentos significativos de las estrategias de defensa al herbivorismo al efecto combinado de acidificación más estrés del herbivorismo.

En relación a la inclusión del tratamiento de temperatura junto con la acidificación, observamos que las publicaciones que consideran ambos tratamientos muestran un aumento moderado o bajo en las estrategias de tolerancia y resistencia, en comparación con aquellos que consideran únicamente la acidificación. La acidificación, como un factor independiente, puede favorecer estas estrategias al aumentar la actividad fotosintética debido a una mayor disponibilidad de CO₂. Sin embargo, la temperatura puede actuar como un factor estresante que compensa el efecto positivo de la acidificación en las estrategias frente al herbivorismo. Para comprender mejor estas condiciones, sería recomendable estudiar el efecto aislado de la temperatura.

Al considerar el tipo de bioma como moderador, no encontramos una tendencia clara en los tamaños del efecto de las estrategias de tolerancia. Sin embargo, observamos un efecto positivo significativo en las publicaciones desarrollados en el Mediterráneo. Esta región se caracteriza por tener una alcalinidad hasta un 10% más alta en comparación con las aguas oceánicas promedio, lo que la hace químicamente más capaz de absorber CO₂. Además, la rápida ventilación de sus aguas profundas contribuye a esta capacidad (Orr, J. C. et al 2016). Esta mayor sensibilidad del Mediterráneo a la acidificación, al ser una cuenca semicerrada, puede resultar en una mejor adaptación de las fanerógamas que habitan en él ante situaciones de acidificación, en comparación con las fanerógamas de otros biomas. En cuanto a las estrategias de resistencia, encontramos un efecto positivo generalizado y significativo tanto en el Atlántico Norte Templado como en el Mediterráneo. Esto sugiere que las estrategias de resistencia se ven favorecidas por la acidificación de manera general, independientemente del bioma. La

significatividad de estos biomas podría atribuirse a su mayor peso estadístico en comparación con los otros biomas estudiados.

Por último, en cuanto a la duración del experimento, observamos que el tamaño del efecto estimado es muy cercano a cero, lo que sugiere que la duración del experimento no tiene una influencia significativa en el tamaño del efecto de las estrategias frente al herbivorismo.

4.5. Limitaciones

Como todo estudio, nuestra investigación tiene una serie de limitaciones que es importante tener en cuenta. En primer lugar, el metaanálisis es una técnica de investigación secundaria que se basa en publicaciones publicados. Las pruebas realizadas nos sugieren que las publicaciones de nuestro metaanálisis están sujetos a sesgos de publicación. Esto podría deberse al descarte de publicaciones con resultados no significativos en revistas. Esto tendría un impacto sobre nuestros resultados y es un condicionante a la hora de extraer conclusiones firmes.

En segundo lugar, aunque hemos utilizado un modelo multinivel que permite tener en cuenta la variabilidad entre y dentro de las publicaciones; hay otras fuentes de variabilidad que no hemos podido tener en cuenta. Hay una variabilidad atribuida a una serie de factores, como la especie de fanerógama marina, la localización geográfica, diseño experimental, estadio de la planta en el momento del experimento, entre otros. A pesar de que sí que podemos explorar cada factor como moderador, no podemos incluir toda la variabilidad atribuida a estos factores en nuestro modelo.

En tercer lugar, nuestra capacidad para identificar efectos significativos puede estar limitada por el tamaño de la muestra. En este caso, el tamaño de la muestra se refiere al número de publicaciones incluidos en el metaanálisis. Por lo que diferencias en las estimas de los subgrupos y de ciertas variables podrían deberse a un bajo tamaño muestral. Por ejemplo, las estrategias de tolerancia estarían mejor representadas al tener una mayor contribución de publicaciones (Figura 9) respecto a las estrategias de resistencia (Figura 10). En el caso de la herbivoría, nuestro metaanálisis cuenta únicamente con 11 observaciones de 8 publicaciones diferentes, y en el caso de compuestos fenólicos, cuenta con 51 observaciones de 6 estudios diferentes. Por tanto, nuestros resultados podrían estar sesgados por los resultados de unas pocas publicaciones. Además, el bajo tamaño muestral (número de publicaciones) tendría efectos sobre el nivel de significancia de nuestros resultados en estas variables.

En cuarto lugar, es importante destacar que las estimaciones de las estrategias de tolerancia y resistencia no describen de manera completamente realista el comportamiento de estas estrategias. Para comprender de manera más precisa cómo cada variable influye en la magnitud de estas estrategias, es necesario realizar un análisis más detallado. Esto implica descomponer la influencia parcial de cada variable en su respectiva estrategia y evaluar su contribución relativa. Al hacerlo, podremos obtener una imagen más completa y precisa de cómo diferentes factores afectan el desarrollo y la expresión de las estrategias de tolerancia y resistencia en las fanerógamas marinas.

Por último, es crucial reconocer la importancia de considerar el efecto de múltiples variables en el estudio de las estrategias de las fanerógamas marinas frente al herbivorismo. En particular, resulta fundamental incluir la variabilidad de la temperatura como factor clave, ya que el cambio climático y los impactos antropogénicos tienen el potencial de generar cambios significativos en los patrones de temperatura de los ecosistemas marinos. Esto nos permitiría tomar decisiones

informadas y desarrollar estrategias de conservación efectivas para proteger y preservar la salud de las fanerógamas marinas.

4.6. Conclusiones

- La AO tiene un efecto positivo sobre las estrategias de resistencia y tolerancia de las fanerógamas marinas frente al herbivorismo. Esto sugiere que la acidificación está alterando de manera significativa las estrategias defensivas de las fanerógamas marinas para protegerse del herbivorismo.
- Se han encontrado aumentos significativos del herbivorismo en condiciones de acidificación.
- Hemos observado que las estimaciones de los tamaños de efecto en las estrategias varían según las especies y los biomas. Esto sugiere que puede haber variaciones en los efectos de la AO en las estrategias de respuesta al herbivorismo, dependiendo del contexto de la especie y la ubicación del estudio. Por lo tanto, es crucial tener en cuenta las condiciones específicas de cada estudio al analizar el impacto de la acidificación en estas estrategias.
- Los estudios *in situ* mostraron un aumento moderado de las estrategias de resistencia y tolerancia en comparación con las publicaciones *ex situ*. Esto indica que las condiciones naturales del entorno marino podrían influir en la respuesta de las fanerógamas marinas a la acidificación y promover estrategias más pronunciadas. Los estudios *ex situ*, realizados en condiciones controladas de laboratorio, pueden no capturar completamente las interacciones complejas y los efectos del entorno natural.
- Los tratamientos de acidificación combinados con temperatura no muestran un efecto significativo. Esto sugiere que el aumento de temperatura puede tener un impacto perjudicial en las estrategias de las fanerógamas marinas frente al herbivorismo. Estos hallazgos resaltan la importancia de considerar los efectos sinérgicos de múltiples factores de estrés ambiental.
- La duración de la exposición a condiciones de acidificación no tiene efecto sobre las estrategias frente al herbivorismo.

4.7. Reflexión crítica

4.7.1 Cumplimiento de los objetivos

Gracias al presente trabajo hemos logrado obtener una visión más global y significativa sobre los impactos de la AO en las fanerógamas marinas. Aunque hay ciertos factores que no hemos logrado explicar, hemos podido extraer conclusiones a partir del análisis propuesto que nos ayudan a comprender mejor el impacto de la acidificación sobre las estrategias defensivas de las fanerógamas marinas y su interacción con el herbivorismo. Podemos confirmar que los objetivos se han logrado satisfactoriamente.

4.7.2 Análisis crítico del seguimiento de la planificación y metodología

La planificación propuesta se ha seguido de forma adecuada durante la realización del trabajo. Los puntos establecidos han sido suficientes para completar con éxito el trabajo. Hemos tenido que modificar el calendario de tareas, ya que en una primera estancia es difícil estimar los tiempos de duración de cada tarea. En las primeras fases del trabajo activamos un plan de mitigación, ya que en las primeras fases del trabajo queríamos explorar los impactos del cambio climático (incluyendo acidificación y temperatura) en las fanerógamas marinas. Al ver la elevada carga de trabajo, y el tiempo disponible, decidimos centrarnos únicamente en los impactos de la acidificación oceánica. De esta manera hemos podido completar con éxito el presente trabajo.

4.7.3 Evaluación del impacto en sostenibilidad, ético-social y de diversidad

Dada la importancia ecológica de las fanerógamas marinas, es prioritario considerar cualquier tipo de peligro que afecte a la conservación de estas preciadas especies. Como hemos visto en el punto 1.3 de este trabajo, nuestro estudio se encuadra en los temas de Acción climática (ODS 13) y Vida subacuática (ODS 14), incluidos en la dimensión de Sostenibilidad descrita por los ODS (Objetivos de Desarrollo Sostenible 2030, ONU).

Las conclusiones presentes en este trabajo ayudan a tener un mayor conocimiento del efecto de la AO, factor de riesgo en el océano derivado del cambio climático, sobre las fanerógamas marinas. Este conocimiento puede servir de base para nuevos estudios científicos que traten temáticas semejantes y para tomar decisiones adecuadas a la hora de conservar los ecosistemas marinos.

Hemos visto de manera generalizada que la acidificación puede tener un impacto positivo sobre las estrategias de defensa frente al herbivorismo, haciendo a las fanerógamas marinas más resistentes y tolerantes. Pero también hemos visto que hay especies que pueden sufrir impactos negativos. Así que es de vital importancia continuar estudiando estos efectos sobre diferentes especies.

4.7.4. Líneas de trabajo futuro

Para continuar y complementar este trabajo, realizaremos un metaanálisis para estudiar los efectos del aumento de temperatura sobre las estrategias defensivas de las fanerógamas marinas. Esto nos dará una visión más generalizada y realista de los impactos del cambio climático en este contexto.

5. Glosario

Término	Descripción
Metaanálisis	Es una técnica estadística utilizada para combinar y analizar de forma sistemática los resultados de múltiples estudios científicos independientes sobre un tema específico. El objetivo del metaanálisis es obtener una estimación cuantitativa más precisa del efecto promedio o las relaciones entre variables en comparación con los estudios individuales.
Tamaño del efecto	Se refiere a la magnitud o amplitud de una diferencia o asociación entre variables en un estudio. En el contexto de un metaanálisis, el tamaño del efecto es una medida cuantitativa que indica la fuerza o magnitud de la relación entre las variables en todos los estudios incluidos.
Fanerógamas marinas	Son plantas marinas que se caracterizan por tener tejidos y órganos bien diferenciados y visibles. Las fanerógamas marinas son plantas superiores que se adaptan a vivir en ambientes acuáticos, como los océanos y los mares, y pueden incluir plantas como las algas marinas y las angiospermas marinas.
Cambio climático	Se refiere a los cambios a largo plazo en los patrones climáticos globales y regionales. Estos cambios incluyen variaciones en la temperatura, la precipitación, los vientos y otros elementos climáticos, y están relacionados principalmente con las actividades humanas que generan emisiones de gases de efecto invernadero.
Acidificación oceánica	Es un fenómeno causado por el aumento de la concentración de dióxido de carbono (CO ₂) en los océanos. Cuando el CO ₂ se disuelve en el agua del mar, forma ácido carbónico, lo que disminuye el pH del agua y la hace más ácida. La acidificación oceánica tiene efectos perjudiciales en los organismos marinos, especialmente aquellos que construyen estructuras calcáreas, como los corales y los moluscos.
Herbivorismo	Es una forma de interacción biológica en la que un organismo se alimenta de tejido vegetal, como hojas, tallos o frutos. Los herbívoros son animales que tienen adaptaciones especializadas para consumir y digerir material vegetal como fuente principal de alimento.
Metaanálisis multinivel	Es una extensión del metaanálisis convencional que incorpora múltiples niveles de análisis, como estudios que abarcan diferentes grupos de población, ubicaciones geográficas o períodos de tiempo. El metaanálisis multinivel permite examinar las diferencias y las fuentes de variabilidad entre los diferentes niveles, proporcionando una visión más completa de los resultados de los estudios incluidos.
Fotosíntesis	Es el proceso mediante el cual las plantas y algunos otros organismos utilizan la energía de la luz solar para convertir el dióxido de carbono y el agua en azúcares y oxígeno. La fotosíntesis es esencial para la producción de alimentos y la liberación de oxígeno en la atmósfera.
Defensas fenólicas	Son compuestos químicos producidos por las plantas como parte de sus mecanismos de defensa contra herbívoros, patógenos y otros factores de estrés. Las defensas fenólicas incluyen una variedad de compuestos, como taninos, flavonoides y ligninas, que pueden tener propiedades antimicrobianas, antioxidantes y repelentes para proteger a la planta de daños.
<i>In situ</i>	Es una expresión latina que significa "en su lugar" o "en el sitio". En el contexto científico, se utiliza para referirse a experimentos, observaciones o análisis realizados directamente en el entorno natural o real donde ocurren los fenómenos estudiados.
<i>Ex situ</i>	Es una expresión latina que significa "fuera de su lugar" o "fuera del sitio". En el contexto científico, se utiliza para referirse a experimentos, observaciones o análisis realizados fuera del entorno natural o real, en condiciones controladas de laboratorio o en otros lugares específicos.

6. Bibliografía

Arias-Ortiz, A., Serrano, O., Masqué, P., Lavery, P. S., Mueller, U., Kendrick, G. A., Rozaimi, M., Esteban, A., Fourqurean, J. W., Marbà, N., Mateo, M. A., Murray, K., Rule, M. J. & Duarte, C. M. (2018). A marine heatwave drives massive losses from the world's largest seagrass carbon stocks. *Nature Climate Change* 8, 1–7.

Arnold, T., Freundlich, G., Weillau, T., Verdi, A., & Tibbetts, I. R. (2014). Impacts of groundwater discharge at Myora Springs (North Stradbroke Island, Australia) on the phenolic metabolism of eelgrass, *Zostera muelleri*, and grazing by the juvenile rabbitfish, *Siganus fuscescens*. *PLoS One*, 9(8), e104738.

Arnold, T., Mealey, C., Leahey, H., Miller, A. W., Hall-Spencer, J. M., & Milazzo, M. (2014). Ocean acidification and the loss of phenolic substances in marine plants. *PLoS ONE*, 9(7), e101435.

Bakker ES, Wood KA, Pagés JF et al. (2016) Herbivory on freshwater and marine macrophytes: A review and perspective. *Aquatic Botany*, 135, 18–36.

Beca-Carretero, P., Olesen, B., Marbà, N. & Krause-Jensen, D. (2018b). Response to experimental warming in northern eelgrass populations: comparison across a range of temperature adaptations. *Marine Ecology Progress Series* 589, 59–72.

Bertelli, C. M., & Unsworth, R. K. (2014). Protecting the hand that feeds us: seagrass (*Zostera marina*) serves as commercial juvenile fish habitat. *Marine Pollution Bulletin*, 86(1-2), 209-215.

Bowes, G., Holaday, A. S., & Hall, A. E. (1971). Stomatal responses to humidity in sugarcane and some C4 and C3 plants. *Plant Physiology*, 47(6), 832-836.

Bowes, M. H. (1985). Interactions between growth irradiance and nitrogen nutrition in determining the carbon balance of photosynthesis in *Selenastrum minutum*. *Plant Physiology*, 78(4), 658-661.

Brand-Gardner S. J., Lanyon J. M., Limpus C. J. (1999) Diet selection by immature green turtles, *Chelonia mydas*, in subtropical, Moreton Bay, south-east Queensland. *Aus J Zool* 47: 181–191.

Bryant, J. P., Chapin, F. S., & Klein, D. R. (1983). Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. *Oikos*, 40(3), 357-368.

Campbell J. E., Fourqurean J. W. (2013) Effects of in situ CO₂ enrichment on the structural and chemical characteristics of the seagrass *Thalassia testudinum*. *Marine Biology*, 160, 1465–1475.

Chefaoui, R. M., Duarte, C. M. & Serrao, E. A. (2018). Dramatic loss of seagrass habitat under projected climate change in the Mediterranean Sea. *Global Change Biology* 24, 4919–4928.

Cohen, J. (1992). Statistical power analysis. *Current directions in psychological science*, 1(3), 98-101.

Collier, C. J. & Waycott, M. (2014). Temperature extremes reduce seagrass growth and induce mortality. *Marine Pollution Bulletin* 83, 483–490.

Collier, C. J., Ow, Y. X., Langlois, L., Uthicke, S., Johansson, C. L., O'Brien, K. R., Hrebien, V. & Adams, M. P. (2017). Optimum temperatures for net primary productivity of three tropical seagrass species. *Frontiers in Plant Science* 8, 1446.

- Collier, C. J., Uthicke, S. & Waycott, M. (2011). Thermal tolerance of two seagrass species at contrasting light levels: implications for future distribution in the great barrier reef. *Limnology and Oceanography* 56, 2200–2210.
- Collier, C. J., Villacorta-Rath, C., Takahashi, M. & Waycott, M. (2014). Seagrass proliferation precedes mortality during hypo-salinity events: a stress-induced morphometric response. *PLoS One* 9, e94014.
- Costanza, R., de Groot, R., Sutton, P., van der Ploeg, S., Anderson, S. J., Kubiszewski, I., ... & Turner, R. K. (2014). Changes in the global value of ecosystem services. *Global environmental change*, 26, 152-158.
- Cox, T. E., Williams, G. J., Klein, C. J., & Wilson, K. A. (2015). Avoiding offshore drilling risks: scientists' responses to the Deepwater Horizon oil spill. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 13(2), 82-87.
- Crystal-Ornelas, R. (2020). *robcrysalornelas/meta-analysis_of_ecological_data*: First release (Version v0.1.0). Zenodo.
- Doney S. C., Ruckelshaus M., Emmett Duffy J. et al. (2012) Climate change impacts on marine ecosystems. *Annual Review of Marine Science*, 4, 11–37.
- Duarte, B., Martins, I., Rosa, R., Matos, A. R., Roleda, M. Y., Reusch, T., Engelen, A. H., Serrao, E. A., Pearson, G. A. & Marques, J. C. J. C. M. (2018). Climate change impacts on seagrass meadows and macroalgal forests: an integrative perspective on acclimation and adaptation potential. *Frontiers in Marine Science* 5, 190.
- Durako, M. J. (1993). Effects of inorganic carbon availability on the photosynthetic physiology of *Thalassia testudinum* Banks ex König. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 167(1), 21-39.
- Ehleringer J.R. (2005) The influence of atmospheric CO₂, temperature, and water on the abundance of C3/C4 taxa. In: *A History of Atmospheric CO₂ and its Effects on Plants, Animals and Ecosystems* (eds Ehleringer JR, Cerling TE, Dearing MD), pp. 214–231. Springer, New York.
- Ehleringer, J. (2005). Isotopic studies of plant-water relations. In *Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science* (pp. 283-310). Blackwell Publishing.
- Fonseca M.S., Koehl M. a R. (2006) Flow in seagrass canopies: The influence of patch width. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 67, 1–9.
- Fourqurean J., Manuel S., Coates K., Kenworthy W., Smith S. (2010) Effects of excluding sea turtle herbivores from a seagrass bed: Overgrazing may have led to loss of seagrass meadows in Bermuda. *Marine Ecology Progress Series*, 419, 223-232.
- Fourqurean, J. W., Duarte, C. M., Kennedy, H., Marbà, N., Holmer, M., Mateo, M. A., ... & Jackson, J. B. C. (2012). Seagrass ecosystems as a globally significant carbon stock. *Nature Geoscience*, 5(7), 505-509.
- Fritz R.S., Simms E.L. (1992) *Plant Resistance to Herbivores and Pathogens, ecology, evolution, and genetics*. (eds Fritz RS, Simms EL). Univ. of Chicago Press, Chicago.

Gattuso, J. P., Magnan, A., Bopp, L., Cheung, W. W. L., Duarte, C. M., Hinkel, J., ... & Turley, C. (2018). Ocean solutions to address climate change and its effects on marine ecosystems. *Frontiers in Marine Science*, 5, 337.

Giordano, M., Beardall, J., & Raven, J. A. (2005). CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution. *Annual Review of Plant Biology*, 56, 99-131.

Green, E. P., Short, F. T., & Spalding, M. D. (2008). Global seagrass distribution and diversity: A bioregional model. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 350(1-2), 3-20.

Hall-Spencer, J. M., Rodolfo-Metalpa, R., Martin, S., Ransome, E., Fine, M., Turner, S. M., ... & Kelly, M. (2008). Volcanic carbon dioxide vents show ecosystem effects of ocean acidification. *Nature*, 454(7200), 96-99.

Hammer, K. J., Borum, J., Hasler-Sheetal, H., Shields, E. C., Sand-Jensen, K. & Moore, K. A. (2018). High temperatures cause reduced growth, plant death and metabolic changes in eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series* 604, 121–132.

Harrer, M. (2023). `mlm.variance.distribution`. Código fuente disponible en GitHub. Recuperado de <https://raw.githubusercontent.com/MathiasHarrer/dmetar/master/R/mlm.variance.distribution.R>

Hawkes C V., Sullivan JJ (2001) The impact of herbivory on plants in different resource conditions: a meta analysis. *Ecology*, 82, 2045-2058.

Heithaus M.R., Alcoverro T., Arthur R. et al. (2014) Seagrasses in the age of sea turtle conservation and shark overfishing. *Frontiers in Marine Science*, 1, 1-6.

Hermes, D. A., & Mattson, W. J. (1992). The dilemma of plants: to grow or defend. *The Quarterly Review of Biology*, 67(3), 283-335.

Hofmann, G. E., Barry, J. P., Edmunds, P. J., Gates, R. D., Hutchins, D. A., Klinger, T., ... & Sewell, M. A. (2010). The effect of ocean acidification on calcifying organisms in marine ecosystems: an organism-to-ecosystem perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 41, 127-147.

Hulme P.E. (1996) Herbivory, plant regeneration, and species coexistence. *Journal of Ecology*, 84, 609-615.

Hulme, M. (1996). Climate change and southern Africa: an exploration of some potential impacts and implications in the SADC region. *Global Environmental Change*, 6(4), 381-402.

Infantes E, Orfila A, Simarro G, Terrados J, Luhar M, Nepf H (2012) Effect of a seagrass (*Posidonia oceanica*) meadow on wave propagation. *Marine Ecology Progress Series*, 456, 63–72.

IPCC (2014) IPCC, 2014: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (eds Pachauri RK, Meyer LA). Geneva, 151 pp.

Jordà, G., Marbà, N. & Duarte, C. M. (2012). Mediterranean seagrass vulnerable to regional climate warming. *Nature Climate Change* 2, 821–824.

- Kant, M. R., Jonckheere, W., Knecht, B., Lemos, F., Liu, J., Schimmel, B. C. J., ... & Alba, J. M. (2015). Mechanisms and ecological consequences of plant defence induction and suppression in herbivore communities. *Annals of botany*, 115(7), 1015-1051.
- Kim, M., Qin, L. Z., Kim, S. H., Song, H. J., Kim, Y. K. & Lee, K. S. (2019). Influence of water temperature anomalies on the growth of *Zostera marina* plants held under high and low irradiance levels. *Estuaries and Coasts* 43, 463–476.
- Koch, M., Bowes, G., Ross, C., & Zhang, X. H. (2013). Climate change and ocean acidification effects on seagrasses and marine macroalgae. *Global Change Biology*, 19(1), 103-132.
- Kurihara, H., Yin, R., Nishihara, G. N., Soyano, K. & Ishimatsu, A. Effect of ocean acidification on growth, gonad development and physiology of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherrimus*. *Aquat. Biol.* 18, 281–292 (2013).
- Lal A, Arthur R, Marbà N, Lill AWT, Alcoverro T (2010) Implications of conserving an ecosystem modifier: Increasing green turtle (*Chelonia mydas*) densities substantially alters seagrass meadows. *Biological Conservation*, 143, 2730-2738.
- Lamb J.B., Water J.A.J.M., Van De, Bourne D.G., Altier C. (2017) Seagrass ecosystems reduce exposure to bacterial pathogens of humans, fishes, and invertebrates. 355, 731–733.
- Les, D. H., Cleland, M. A., & Waycott, M. (1997). Phylogenetic studies in Alismatidae, II: evolution of marine angiosperms (seagrasses) and hydrophily. *Systematic Botany*, 443-463.
- Long, S. P., Ainsworth, E. A., Rogers, A., & Ort, D. R. (2004). Rising atmospheric carbon dioxide: plants face the future. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 591-628.
- Madsen, T. V., & Sand-Jensen, K. (1991). Photosynthetic carbon assimilation in aquatic macrophytes. *Aquatic Botany*, 41(1-3), 5-40.
- Máñez-Crespo, J., Tuya, F., Fernández-Torquemada, Y., Royo, L., del Pilar-Ruso, Y., Espino, F., ... & Tomas, F. (2020). Seagrass *Cymodocea nodosa* across biogeographical regions and times: Differences in abundance, meadow structure and sexual reproduction. *Marine Environmental Research*, 162, 105159.
- Marbà, N. & Duarte, C. M. (2010). Mediterranean warming triggers seagrass (*Posidonia oceanica*) shoot mortality. *Global Change Biology* 16, 2366–2375.
- Marín-Guirao, L., Bernardeau-Esteller, J., García-Muñoz, R., Ramos, A., Ontoria, Y., Romero, J., Pérez, M., Ruiz, J. M. & Procaccini, G. (2018). Carbon economy of Mediterranean seagrasses in response to thermal stress. *Marine Pollution Bulletin* 135, 617–629.
- Maron, J. L., & Crone, E. (2006). Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1595), 2575-2584.
- Mayot, N., Boudouresque, C. F. & Leriche, A. (2005). Unexpected response of the seagrass *Posidonia oceanica* to a warm-water episode in the North Western Mediterranean Sea. *Comptes Rendus Biologies* 328, 291–296.
- Mazarrasa I, Marbà N, Lovelock CE et al. (2015) Seagrass meadows as a globally significant carbonate reservoir. *Biogeosciences*, 12, 4993–5003.

- McNaughton SJ (1983) Compensatory plant growth as a response to herbivory as a response to herbivory. *Oikos*, 40, 329–336.
- McNaughton SJ, Oesterheld M, Frank DA, Williams KJ (1989) Ecosystem level patterns of primary productivity and herbivory in terrestrial habitats. *Nature*, 341, 142–4.
- McNaughton, S. J., Banyikwa, F. F., & McNaughton, M. M. (1989). Promotion of the cycling of diet-enhancing nutrients by African grazers. *Science*, 238(4825), 508–510.
- Metafor Project. (n.d.). Forest Plot with Superscripts. Retrieved from https://www.metafor-project.org/doku.php/plots:forest_plot_with_superscripts
- Milchunas DG, Noy Meir I (2002) Grazing refuges, external avoidance of herbivory and plant diversity. *Oikos*, 99, 113–130.
- Moran KL, Bjorndal KA (2005) Simulated green turtle grazing affects structure and productivity of seagrass pastures. *Marine Ecology Progress Series*, 305, 235–247.
- Mumby, P. J. (2017). Embracing a world of subtlety and nuance on coral reefs. *Coral Reefs*, 36(3), 1003–1011.
- Nejrup, L. B. & Pedersen, M. F. (2008). Effects of salinity and water temperature on the ecological performance of *Zostera marina*. *Aquatic Botany* 88, 239–246.
- Nguyen, H. M., Kim, M., Ralph, P. J., Mari´n-Guirao, L., Pernice, M. & Procaccini, G. (2020a). Stress memory in seagrasses: first insight into the effects of thermal priming and the role of epigenetic modifications. *Frontiers in Plant Science* 11, 494.
- Nguyen, H. M., Yadav, N. S., Barak, S., Lima, F. P., Sapir, Y. & Winters, G. (2020b). Responses of invasive and native populations of the seagrass *Halophila stipulacea* to simulated climate change. *Frontiers in Marine Science* 6, 812.
- Nie G, Hendrix DL, Webber AN, Kimball BA, Long SP (1995) Increased accumulation of 6. References 145 carbohydrates and decreased photosynthetic gene transcript levels in wheat grown at an elevated CO₂ concentration in the field. *Plant physiology*, 108, 975–983.
- Nordlund LM, Koch EW, Barbier EB, Creed JC (2016) Seagrass ecosystem services and their variability across genera and geographical regions. *PLoS ONE*, 11, 1–23.
- Olsen, Y. S., S_anchez-Camacho, M., Marba`, N. & Duarte, C. M. (2012). Mediterranean seagrass growth and demography responses to experimental warming. *Estuaries and Coasts* 35, 1205–1213.
- Orr, J. C., Le Vu, B., Palmieri, J., Dutay, J. C., Sevault, F., & Somot, S. (2016). Projected acidification of the Mediterranean Sea. *American Geophysical Union*, 2016, AH21A-06.
- Orth, R. J., Carruthers, T. J. B., Dennison, W. C., Duarte, C. M., Fourqurean, J. W., Heck Jr, K. L., ... & Williams, S. L. (2006). A global crisis for seagrass ecosystems. *Bioscience*, 56(12), 987–996.
- Ow YX, Collier CJ, Uthicke S (2015) Responses of three tropical seagrass species to CO₂ enrichment. *Marine Biology*, 162, 1005–1017.
- Ow YX, Vogel N, Holtum JAM, Flores F, Uthicke S (2016) Nitrate fertilisation does not enhance CO₂ responses in two tropical seagrass species. *Scientific Reports*, Under review.

- Palacios SL, Zimmerman RC (2007) Response of eelgrass *Zostera marina* to CO₂ enrichment: Possible impacts of climate change and potential for remediation of coastal habitats. *Marine Ecology Progress Series*, 344, 1–13.
- Prado P, Tomas F, Alcoverro T, Romero J (2007) Extensive direct measurements of *Posidonia oceanica* defoliation confirm the importance of herbivory in temperate seagrass meadows. *Marine Ecology Progress Series*, 340, 63–71.
- Preen A (1995) Impacts of dugong foraging on seagrass habitats: observational and experimental evidence for cultivation grazing. *Marine Ecology Progress Series*, 124, 201–213.
- Robinson, S. A., Wasley, J., Tobin, A. K., & Livingstone, S. R. (2012). Antarctic lichens show distinctive responses to changes in temperature and light regimes. *American Journal of Botany*, 99(4), 791–800.
- Rodgers, M. A., & Pustejovsky, J. E. (2021). Evaluating meta-analytic methods to detect selective reporting in the presence of dependent effect sizes. *Psychological methods*, 26(2), 141.
- Rosenthal JP, Kotanen PM (1994) Terrestrial plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology & Evolution*, 9, 145–148.
- Ruíz JM, Pérez M, Romero J, Tomas F (2009) The importance of herbivory in the decline of a seagrass (*Posidonia oceanica*) meadow near a fish farm: an experimental approach. *Botanica Marina*, 52, 449–458.
- Sanmartí N, Saiz L, Llagostera I, Pérez M, Romero J (2014) Tolerance responses to simulated herbivory in the seagrass *Cymodocea nodosa*. *Marine Ecology Progress Series*, 517, 159–169.
- Sos, V. J. E., Abella, J. A. L., Villach, L. G., & Oliver, M. B. (2021). Metaanálisis: una forma básica de entender e interpretar su evidencia. *Revista de Senología y Patología Mamaria*, 34(1), 44–51.
- Stiling, P., & Cornelissen, T. (2007). How does elevated carbon dioxide (CO₂) affect plant–herbivore interactions? A field experiment and meta-analysis of CO₂-mediated changes on plant chemistry and herbivore performance. *Global change biology*, 13(9), 1823–1842.
- Strauss SY, Agrawal AA (1999) The ecology and evolution of plant tolerance to herbivory. *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 179–185.
- Strydom, S., Murray, K., Wilson, S., Huntley, B., Rule, M., Heithaus, M., Bessey, C., Kendrick, G. A., Burkholder, D., Holmes, T., Fraser, M. W. & Zdunic, K. (2020). Too hot to handle: unprecedented seagrass death driven by marine heatwave in a world heritage area. *Global Change Biology* 26, 3525–3538.
- Takahashi M, Noonan SHC, Fabricius KE, Collier CJ (2016) The effects of long term in-situ CO₂ enrichment on tropical seagrass communities at volcanic vents. *ICES Journal of Marine Sciences*, 73, 876–886.
- Takahashi, M. (2015). Inorganic carbon assimilation in marine calcifiers: Coordination of CO₂ concentrating mechanisms and multiple carbonic anhydrases. *Frontiers in Marine Science*, 2, 79.
- Telesca, L., Belluscio, A., Criscoli, A., Ardizzone, G., Apostolaki, E. T., Frascchetti, S., Gristina, M., Knittweis, L., Martin, C. S. & Pergent, G. (2015). Seagrass meadows (*Posidonia oceanica*) distribution and trajectories of change. *Scientific Reports* 5, 12505.

- Tiffin P (2000) Mechanisms of tolerance to herbivore damage: What do we know? *Evolutionary Ecology*, 14, 523–536.
- Tomas F, Martinez-Crego B, Hernan G, Santos R (2015) Responses of seagrass to anthropogenic and natural disturbances do not equally translate to its consumers. *Global Change Biology*, 21, 1–10.
- Tomas F, Turon X, Romero J (2005) Effects of herbivores on a *Posidonia oceanica* seagrass meadow: importance of epiphytes. 287, 115–125.
- Trisos, C. H., Merow, C. & Pigot, A. L. (2020). The projected timing of abrupt ecological disruption from climate change. *Nature* 580, 496–501.
- Unsworth, R. K., Nordlund, L. M., & Cullen-Unsworth, L. C. (2019). Seagrass meadows support global fisheries production. *Conservation Letters*, 12(4), e12666.
- Valentine, J. F., & Heck, K. L. Jr. (1997). Seagrass herbivory: evidence for the continued grazing of marine grasses. *Estuaries*, 20(2), 331–341.
- Vergés A, Pérez M, Alcoverro T, Romero J (2008) Compensation and resistance to herbivory in seagrasses: induced responses to simulated consumption by fish. *Oecologia*, 155, 751–60.
- Viechtbauer, W. (2010). Conducting Meta-Analyses in R with the metafor Package. *Journal of Statistical Software*, 36 (3).
- Waycott, M., Duarte, C. M., Carruthers, T. J. B., Orth, R. J., Dennison, W. C., Olyarnik, S., Calladine, A., Fourqurean, J. W., Heck, K. L. & Hughes, A. R. (2009). Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106, 12377–12381.
- Waycott, M., Duarte, C. M., Carruthers, T. J. B., Orth, R. J., Dennison, W. C., Olyarnik, S., ... & Serrano, O. (2009). Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(30), 12377–12381.
- Waycott, M., Duarte, C. M., Carruthers, T. J., Orth, R. J., Dennison, W. C., Olyarnik, S., ... & Williams, S. L. (2009). Accelerating loss of seagrasses across the globe threatens coastal ecosystems. *Proceedings of the national academy of sciences*, 106(30), 12377–12381.
- Wood KA, O’Hare MT, McDonald C, Searle KR, Daunt F, Stillman RA (2016) Herbivore regulation of plant abundance in aquatic ecosystems. *Biological Reviews*.
- Wood, S. A., Koldewey, H., Mead, A., Griffiths, A. M., Broderick, A. C., & Godley, B. J. (2016). Do marine turtles have sensory and physiological mechanisms to assess water quality? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 484, 69–76.
- York, P. H., Gruber, R. K., Hill, R., Ralph, P. J., Booth, D. J. & Macreadie, P. I. (2013). Physiological and morphological responses of the temperate seagrass *Zostera muelleri* to multiple stressors: investigating the interactive effects of light and temperature. *PLoS One* 8, e76377.
- Hamann, E., Blevins, C., Franks, S. J., Jameel, M. I., & Anderson, J. T. (2021). Climate change alters plant–herbivore interactions. *New Phytologist*, 229(4), 1894–1910.

