

DAÑOS MACROSCÓPICOS Y MICROSCÓPICOS CAUSADOS POR UN AUMENTO DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA-B EN DOS BRIÓFITOS ACUÁTICOS DEL PARQUE NATURAL DE SIERRA CEBOLLERA (LA RIOJA, NORTE DE ESPAÑA)*

J. MARTÍNEZ ABAIGAR¹

E. NÚÑEZ OLIVERA¹

R. TOMÁS¹

N. BEAUCOURT¹

M. A. GARCÍA ÁLVARO¹

M. ARRÓNIZ¹

RESUMEN

El adelgazamiento de la capa de ozono estratosférico como consecuencia de la emisión antropogénica de halocarburos está causando un aumento en la radiación ultravioleta-B (UV-B: 280-315 nm) que llega a la superficie terrestre. Para evaluar los efectos que este aumento puede tener sobre los briófitos acuáticos y su capacidad bioindicadora, se han cultivado dos especies en el laboratorio durante 82 días bajo radiación UV-B suplementaria, y se han analizado las respuestas macro- y microscópicas. Así mismo, se ha comprobado el efecto de la temperatura de cultivo (2 °C y 10 °C) en la aparición de daños. Las especies utilizadas han sido el musgo *Fontinalis antipyretica* y la hepática foliosa *Jungermannia exsertifolia* subsp. *cordifolia*, procedentes del Parque Natural de Sierra Cebollera (La Rioja, norte de España).

El musgo resultó sensible tanto al frío como al aumento en la radiación UV-B y los daños causados por ambos factores eran bastante parecidos: color marrón, depresión del crecimiento, desarrollo del cuerpo fibrilar central, desaparición de los cloroplastos, y presencia de protoplastos grumoso-vesiculosos, vacuolizados y en último término hialinos ("células vacías"). Estos síntomas son poco específicos y se han descrito en varios musgos pleurocárpicos como consecuencia de procesos de senescencia y estrés, tanto natural como antropogénico. La única respuesta específica al aumento en radiación UV-B fue un cambio de color en la pared celular, que pasaba de amarillo a marrón-anaranjado. Esto podría suponer o bien un aumento

* Registrado el 27 de febrero de 2002. Aprobado el 16 de enero de 2003.

1 Investigadores Agregados del Instituto de Estudios Riojanos. Universidad de La Rioja. Complejo Científico-Tecnológico, Madre de Dios 51, 26006 Logroño (La Rioja). E-mail: javier.martinez@daa.unirioja.es

en la síntesis de compuestos absorbentes de radiación UV o bien la aparición de compuestos de degradación de la pared celular.

La hepática estudiada resultó sensible a la radiación UV-B sólo cuando se combinaba con un estrés por frío, y entonces presentaba filidios de color marrón grisáceo y depresión del crecimiento, pero escasos daños celulares. El resto de las muestras tenían un aspecto muy parecido entre sí y completamente normal, tanto a nivel macro- como microscópico.

La mayor tolerancia de *Jungermannia exsertifolia* subsp. *cordifolia* con respecto a *F. antipyretica* podría deberse a la presencia de compuestos absorbentes de radiación UV en los protoplastos de la primera especie. Esta tolerancia parece tener un reflejo ecológico y corológico, de acuerdo con el carácter marcadamente montano de la hepática, puesto que tanto el frío como la radiación UV-B son estreses habituales en sus hábitats típicos.

Nuestros resultados indican que la sensibilidad de los briófitos acuáticos a un aumento en la radiación UV-B depende de la especie, y por lo tanto su utilización como bioindicadores debe estar basada en una adecuada selección de especies y variables morfológicas. El cambio de color de las paredes de *F. antipyretica* parece ser el síntoma más específico y adecuado para este objetivo.

Palabras clave: Briófitos acuáticos, *Fontinalis antipyretica*, *Jungermannia exsertifolia* subsp. *cordifolia*, radiación ultravioleta-B (UV-B), morfología, arroyos, bioindicadores, La Rioja, España.

ABSTRACT

The depletion of the stratospheric ozone layer as a result of anthropogenic emissions of halogenated carbon compounds may cause an increase in the ultraviolet-B radiation (UV-B: 280-315 nm) at ground level. In order to assess the effects of enhanced UV-B radiation on aquatic bryophytes and their possible use as bioindicators, two species were cultured in the laboratory for 82 days with a supplement of UV-B radiation and their macro- and microscopic responses were observed. Also, the effect of temperature (2 °C and 10 °C) on the development of damage was tested. The moss Fontinalis antipyretica and the leafy liverwort Jungermannia exsertifolia subsp. cordifolia, coming from the Natural Park of Sierra Cebollera (La Rioja, northern Spain), were used.

The moss was sensitive to both cold and enhanced UV-B radiation, and the damage caused by both factors were quite similar: brown colour, depressed growth, development of the central fibrillar body, chloroplast disappearance and presence of protoplasts progressively vesiculose, vacuolized and finally hyaline ("empty cells"). These symptoms are little specific and have been described in several pleurocarpous mosses as a response to diverse processes of senescence and stress (both natural and anthropogenic). The unique specific response to the enhanced UV-B radiation was a colour change in the cell walls, from yellow to orange-brown. This could be due to either an enhanced synthesis of UV-absorbing compounds or to a degradation of the cell walls.

The liverwort was sensitive to enhanced UV-B radiation only when this stress was applied simultaneously with cold stress, showing then greyish-brown leaves and depressed growth, although cellular damage was low. The remaining samples looked healthy and their macro- and microscopic appearances were quite similar.

The higher UV-B tolerance shown by Jungermannia exsertifolia subsp. cordifolia as compared with that of F. antipyretica could be due to the presence of UV-absorbing compounds in the protoplasts of the former species. This tolerance may justify the contrasted ecological and chorological ranges of both species, since the more montane character typical of the liverwort could be related to a specific resistance to cold and UV-B radiation, which are common stresses in the environments in which it dominates.

Our results suggest that the sensitivity of aquatic bryophytes to enhanced UV-B radiation is species-specific, and thus their use as bioindicators should be based on a meticulous selection of both the species and the variables employed. The colour change of the cell walls of F. antipyretica seems to be the most specific and adequate symptom to achieve this particular objective.

Key words: Aquatic bryophytes, Fontinalis antipyretica, Jungermannia exsertifolia subsp. cordifolia, ultraviolet-B (UV-B) radiation, morphology, streams, bioindicators, La Rioja, Spain.

0. INTRODUCCIÓN

El adelgazamiento de la capa de ozono estratosférico como consecuencia de la emisión antropogénica de halocarburos está causando un aumento en la radiación ultravioleta-B (UV-B: 280-315 nm) que llega a la superficie terrestre (Lumsden, 1997). Este aumento puede provocar ciertos daños biológicos que afecten a las diferentes formas de vida presentes en la biosfera, incluido el ser humano (Ennis & Marcus, 1996). La radiación UV-B tiene muchos efectos nocivos sobre las plantas, algunos de los cuales son daños al ADN y alteraciones en la fotosíntesis, el crecimiento y el desarrollo (Jansen *et al.*, 1998), aunque todavía persiste cierta controversia causada probablemente por la heterogeneidad de la metodología (Fiscus & Booker, 1995; Allen *et al.*, 1998).

La mayor parte de la investigación realizada sobre los efectos de la radiación UV-B sobre los organismos fotosintéticos se ha centrado en plantas terrestres cultivadas, mientras que los sistemas acuáticos han recibido una atención menor. En los trabajos que tratan de estos últimos sistemas, los organismos más estudiados han sido el fitoplancton y las macroalgas de los ambientes marinos, debido a su crucial importancia como productores primarios, alimento para los animales marinos, fuente de diversos productos naturales útiles, etc. (Franklin & Forster, 1997; Häder, 1997). Los ecosistemas de agua dulce y los organismos que los habitan han sido menos estudiados, de acuerdo con su menor contribución a la biomasa y a la producción primaria global. Sin embargo, los ríos y los lagos tienen una importancia ecológica muy destacada como sistemas locales y, puesto que su profundidad media es inferior a la de los medios marinos, están más expuestos a los efectos dañinos de la radiación UV-B. Estos efectos se han estudiado con cierta profundidad en diversos tipos de algas dulceacuícolas, especialmente en aquellas que forman parte del fitoplancton y del perifiton (Hessen *et al.*, 1997), pero sólo conocemos un trabajo realizado sobre briófitos (Rader & Belish, 1997). Estos autores llevaron a cabo un experimento de campo de 10 semanas de duración, en el que *Fontinalis neomexicana* fue trasplantado desde un lugar de referencia en un arroyo de montaña a dos localidades del mismo arroyo, una en condiciones de sombra y otra situada a pleno sol. Las muestras trasplantadas se irradiaron con radiación UV-B suplementaria, lo que provocó una importante (aunque no signifi-

cativa) reducción en la biomasa con respecto a las situadas en condiciones normales, pero sólo en las muestras expuestas al sol. No obstante, el musgo no creció bajo ninguna de las condiciones impuestas, ni en los controles ni en los tratamientos, y además se registró una pérdida de material en todas las muestras a lo largo del experimento. Estos hechos comprometen la interpretación de los resultados obtenidos.

Dentro del contexto briológico, se conocen bastante más los efectos de la radiación UV-B sobre briófitos terrestres y de turberas que sobre acuáticos. Se han realizado diversos estudios de corta duración sobre especies concretas bajo condiciones de laboratorio o invernadero (Johanson *et al.*, 1995; Sonesson *et al.*, 1996; Ihle & Laasch, 1996; Ihle, 1997; Barsig *et al.*, 1998; Markham *et al.*, 1998; Takács *et al.*, 1999), y también se han llevado a cabo varios trabajos de larga duración a un nivel ecosistémico global en condiciones de campo (Gehrke *et al.*, 1996; Gehrke, 1998, 1999; Montiel *et al.*, 1999; Searles *et al.*, 1999; Phoenix *et al.*, 2001). Las especies más utilizadas han sido *Hylocomium splendens*, varias especies de *Sphagnum* y *Polytrichum commune*, y los ecosistemas más estudiados han sido los brezales circumpolares y las turberas.

Para evaluar los daños provocados por la radiación UV-B se han empleado sobre todo variables fisiológicas relacionadas con el crecimiento, tanto en longitud como en peso seco, pero también se han usado las tasas de fotosíntesis, la composición pigmentaria fotosintética (clorofilas, carotenoides), la fluorescencia de clorofilas, los compuestos absorbentes de radiación UV y los carbohidratos. En varios estudios se ha encontrado una disminución en el crecimiento de los briófitos como respuesta a la radiación UV-B (Sonesson *et al.*, 1996; Gehrke *et al.*, 1996; Markham *et al.*, 1998; Gehrke, 1998, 1999), pero este efecto parece depender de la especie (Gehrke, 1999), del diseño experimental (Sonesson *et al.*, 1996) y de otros factores adicionales como la disponibilidad de agua y la concentración de CO₂ (Gehrke *et al.*, 1996). Los efectos de la radiación UV-B sobre los pigmentos fotosintéticos son menos claros, ya que se han obtenido resultados contradictorios (Gehrke *et al.*, 1996; Barsig *et al.*, 1998; Gehrke, 1998; Searles *et al.*, 1999), aunque el fotosistema II del aparato fotosintético parece verse afectado por periodos relativamente cortos de exposición (de varios minutos a varias horas) a dicha radiación (Ihle & Laasch, 1996; Ihle, 1997; Takács *et al.*, 1999). El aumento en la producción de compuestos absorbentes de radiación UV-B, que podría servir de mecanismo protector, se ha demostrado en la hepática talosa *Conocephalum conicum* (Ihle & Laasch, 1996), pero no en otras varias especies (Gehrke *et al.*, 1996; Barsig *et al.*, 1998; Gehrke, 1998, 1999; Markham *et al.*, 1998; Searles *et al.*, 1999). Incluso algunos autores han señalado efectos neutros o beneficiosos de la radiación UV-B sobre el crecimiento de los briófitos (Johanson *et al.*, 1995; Searles *et al.*, 1999; Phoenix *et al.*, 2001), lo cual contribuye a complicar más el asunto.

En algunos estudios se han descrito respuestas morfológicas y ultraestructurales al aumento en la radiación UV-B, como achaparramiento (Gehrke, 1999), incremento de la esclerofilia de los tejidos (Gehrke, 1998) y degradación de cloroplastos y núcleos (Barsig *et al.*, 1998), pero todavía no existe ningún estudio específico sobre la evaluación macro- y microscópica de los daños producidos. Por lo tanto, el presente estudio es el primero a nivel mundial en el que se ilustran los daños macro- y microscópicos provocados por la radiación UV-B en briófitos.

Existen tres razones principales para estudiar los efectos de la radiación UV-B sobre los briófitos acuáticos de ríos de montaña: 1) son los productores primarios más abundantes en este tipo de ambientes, hostiles para la vida vegetal, y son

importantes también en los ciclos de nutrientes y en las redes alimentarias (Bowden *et al.*, 1999); por consiguiente, cualquier riesgo potencial que afecte a los briófitos acuáticos podría suponer un riesgo para todo el ecosistema; 2) la simplicidad estructural de los briófitos les hace, en principio, muy sensibles a la radiación UV-B, puesto que carecen de las defensas estructurales de las plantas vasculares frente a este tipo de radiación: hojas gruesas con cutículas muy desarrolladas, vellosidades de diverso tipo, epidermis multiestratificada, etc.; y 3) los arroyos de montaña están expuestos de forma natural a varias condiciones que pueden potenciar los daños por radiación UV-B, ya que la porción activa biológicamente de ésta aumenta entre un 5 % y un 20 % por cada 1.000 m de ascenso altitudinal (Björn *et al.*, 1998), y además las bajas temperaturas propias de estos sistemas pueden limitar el desarrollo de los mecanismos reparadores de daños en los organismos fotosintéticos presentes (Björn *et al.*, 1999).

El objetivo de nuestro trabajo es aumentar el conocimiento sobre los efectos de un aumento de la radiación UV-B en briófitos acuáticos de arroyos de montaña, dado que, a pesar de la importancia ecológica de estos organismos, sólo conocemos un estudio sobre esta materia (Rader & Belish, 1997). Para conseguir este objetivo, cultivamos dos briófitos en el laboratorio durante 82 días bajo radiación UV-B suplementaria (con respecto a los niveles normales que se reciben en su ambiente natural), y analizamos los daños macro- y microscópicos que mostraban como respuesta. Así mismo, nos interesaba comprobar si la temperatura de cultivo influye en la aparición de daños, puesto que los briófitos acuáticos de montaña soportan frecuentemente temperaturas frías en condiciones naturales. Concretamente, en los arroyos de la zona de muestreo se dan temperaturas inferiores a 10 °C durante nueve meses al año, y el rango térmico anual es 0-15 °C (García Álvaro, 1999). Estas duras condiciones térmicas podrían limitar el desarrollo de mecanismos protectores frente a la radiación UV-B. Las muestras se recolectaron dentro del Parque Natural de Sierra Cebollera, una zona riojana con un turismo de montaña creciente, que por sus características de altitud e innivación está sometida a un impacto notable de la radiación UV-B. Dado que esta radiación es perjudicial para el ser humano (Ennis & Marcus, 1996), parece aconsejable establecer la capacidad bioindicadora que poseen unos organismos potencialmente sensibles como los briófitos acuáticos, que están presentes de manera importante dentro del Parque (Martínez Abaigar & Ederria, 1992). El hallazgo de organismos bioindicadores facilitaría el desarrollo de estrategias de protección del ser humano frente a la radiación UV-B.

1. MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron muestras de dos briófitos acuáticos, el musgo *Fontinalis antipyretica* Hedw. y la hepática foliosa *Jungermannia exsertifolia* Steph. subsp. *cordifolia* (Dumort.) Vána (de aquí en adelante *J. cordifolia*) en el arroyo de primer orden Senestillos, en la cuenca alta del río Iregua (La Rioja, norte de España) y dentro del Parque Natural de Sierra Cebollera. El arroyo fluye sobre areniscas y cuarcitas de la facies Purbeck-Weald (Jurásico-Cretácico) y la vegetación dominante es un hayedo. Las coordenadas del punto de muestreo, que está ubicado a 1.350 m de altitud, son 42°02' N, 2°37' W. El material de cada especie se tomó de una sola población. Ambas poblaciones vivían separadas tan sólo 1 m, permanentemente sumergidas y bajo las mismas condiciones de irradiación (pleno sol). Las muestras se recolectaron el 15 de junio de 2001, se lavaron en el mismo arroyo, se almacenaron en botellas de plástico y se transportaron al laboratorio en una nevera portátil siempre por debajo de

5 °C. El material se lavó de nuevo con agua del arroyo, y después se seleccionaron muestras sanas de cada especie, con las que se hizo un precultivo en tanques de 40 l rellenos con agua del arroyo oxigenada con un sistema de burbujeo. Las plantas se mantuvieron a 10 °C con un fotoperiodo 10:14 (luz-oscuridad) durante 5 días. La densidad de flujo fotónico (DFF), que se suministraba por tubos fluorescentes con un espectro muy parecido al solar (True-Lite, True Sun), era de 100 mmol m⁻² s⁻¹ en la superficie del agua (sensor cuántico LI-COR LI-190SA).

Después del pretratamiento, se dispusieron dos tanques de 40 l rellenos con agua del arroyo, uno de ellos a 10 °C y otro a 2 °C. La temperatura se controlaba con un baño circulante de agua y un enfriador de inmersión. En cada tanque se colocaron 10 tubos de plástico sumergidos hasta su mitad, y en cada tubo se introdujeron aproximadamente 10 g de peso fresco del briófito correspondiente (ápices de 5 cm de *F. antipyretica* y un tapiz completo de *J. cordifolia*). Se dispusieron 6 tubos para el musgo y 4 para la hepática. Los briófitos estaban sumergidos a una profundidad de 1-2 cm, y se comprobó que era despreciable (inferior al 0.01 %) la atenuación sufrida por la radiación tanto fotosintética como UV al atravesar esta estrecha capa de agua. La radiación se suministraba mediante dos tipos de lámparas fluorescentes, unas de radiación fotosintéticamente activa (RFA) de tipo True-Lite y otras de radiación UV (Philips TL 40W/12). La abertura no sumergida de cada tubo se cubría con un filtro específico para radiación UV, de manera que se establecían dos regímenes de radiación diferentes para cada especie y temperatura:

– Control, sólo con RFA. Para ello se usaban filtros Ultraphan 395 (DigeFra GmbH), que cortan toda la radiación con longitud de onda inferior a 395 nm (toda la UV).

– UV-B, con RFA, UV-A y UV-B. Para ello se usaban filtros Ultraphan 295 (DigeFra GmbH), que cortan fundamentalmente la radiación UV-C. En una serie de experimentos previos (Martínez Abaigar *et al.*, 2001), se había comprobado que la radiación UV-A no tenía efectos biológicos apreciables en las especies utilizadas, por lo que las diferencias entre el Control y el tratamiento UV deben atribuirse a la presencia de radiación UV-B.

Para asegurar la estabilidad de sus propiedades a lo largo del tiempo, las lámparas se mantenían encendidas previamente al experimento hasta que la salida era estable (100 h), y los filtros se preirradiaban y se cambiaban cada 24 h de irradiación (Gehrke, 1998). Los tubos se cambiaban de lugar cada día para evitar posibles diferencias en la irradiancia recibida como consecuencia de su posición bajo las lámparas. Las lámparas de RFA suministraban una DFF de 100 μmol m⁻² s⁻¹ a los briófitos con un fotoperiodo 10:14 (luz-oscuridad), lo cual equivalía a una irradiancia de aproximadamente 16.5 W m⁻². Las lámparas UV se encendían durante 4 h diarias alrededor del mediodía, según el modelo de onda cuadrada. Dado que la efectividad de la radiación UV-B depende notablemente de la longitud de onda (Björn, 1999; Tevini, 2000), se calculó la irradiancia UV-B biológica efectiva (UV-B_{BE}) mediante el espectro de acción generalizado de daños a plantas (Caldwell, 1971) normalizado a 300 nm. En nuestro experimento, la UV-B_{BE} fue 0.67 W m⁻², equivalente a una dosis de 9.6 kJ m⁻² d⁻¹. Esta dosis simulaba una reducción de ozono del 20 % en el sitio de muestreo para unas condiciones de cielo despejado y nivel cero de aerosoles, de acuerdo con un modelo de ordenador (Björn & Teramura, 1993; Björn, com. pers.). Los valores calculados con el modelo se confirmaron *in situ* midiendo la radiación UV-B solar. Las medidas de irradiancia espectral y la comprobación de las características de transmisión de los filtros se hicieron con un

espectrorradiómetro (Macam SR9910), y la DFF se midió con un sensor cuántico (LI-COR LI-190SA). Los briófitos se cultivaron durante 82 días y todas las observaciones se realizaron al final del cultivo.

Las observaciones microscópicas se hacían sobre los filidios situados a 1 cm del ápice en el caso de *Fontinalis antipyretica* y a 5 mm en *Jungermannia cordifolia*. Las fotografías se tomaron con una cámara Nikon F-301 acoplada a un conjunto microfotográfico Nikon Microflex y a un microscopio Nikon Labophot, siempre con las mismas condiciones de apertura de diafragma, intensidad de iluminación, posición del condensador, etc. La película era Kodak Elite Chrome.

2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.1. Daños observados en *Fontinalis antipyretica*

En la Tabla 1 se presenta un resumen comparativo de las características macro y microscópicas de las muestras de esta especie que fueron sometidas a distintas temperaturas (10 °C y 2 °C) y regímenes de radiación (Control y UV-B). Estas características se ilustran en las Fig. 1-3. Se seleccionaron dos caracteres macroscópicos



FIGURA 1. **Aspecto macroscópico de los ápices del musgo acuático *Fontinalis antipyretica*, recolectado en el Parque Natural de Sierra Cebollera, tras 82 días de cultivo en laboratorio bajo diversas condiciones de temperatura y exposición a radiación UV-B suplementaria. Izquierda arriba, muestras cultivadas a 2 °C y expuestas. Izquierda abajo, muestras cultivadas a 2 °C y no expuestas. Derecha arriba, muestras cultivadas a 10 °C y expuestas. Derecha abajo, muestras cultivadas a 10 °C y no expuestas. En la Tabla 1 se detallan las respuestas a los distintos tratamientos.**

TABLA 1. Resumen de las características macro- y microscópicas de *Fontinalis antipyretica* cultivado durante 82 días bajo distintas condiciones de temperatura (10 °C o 2 °C) y radiación ultravioleta-B (UV-B). Las características microscópicas se refieren a las células que ocupan la posición central de cada una de las mitades longitudinales en las que se dividen los filitios aquillados de esta especie

Condiciones de cultivo	Características macroscópicas			Características microscópicas			
	Color de los filitios	Ápices verdes de nuevo crecimiento	Cuerpo fibrilar central	Cloroplastos	Paredes celulares	Protoplastos vacuolizados o grumosos-vesiculosos (células "vacías")	Protoplastos hialinos (células "vacías")
10 °C Control	Verde (marrón sólo en la base del vástago)	Muchos, largos	Pequeño o inexistente	Sí, en toda la célula o en su mayor parte	Amarillas	No	No
10 °C UV-B	Verde, marrón verdoso o marrón	Bastantes, cortos	Sí, de tamaño variable	Sí, en los extremos de las células	Amarillas o marrón-anaranjadas	No	No
2 °C Control	Verde, marrón verdoso o marrón	Algunos, muy cortos	Sí, grande (o ausente en las células "vacías")	Sí, en los extremos de las células	Amarillas	A veces	A veces
2 °C UV-B	Marrón o marrón verdoso (nunca verde)	No	Raramente	Muy escasos en los extremos de las células, o ausentes	Amarillas o marrón-anaranjadas	Frecuentes	Frecuentes

(el color de los filidios y la aparición de ápices de nuevo crecimiento) y cinco microscópicos (la presencia del cuerpo fibrilar central y de cloroplastos, el color de las paredes celulares, y la degradación de los protoplastos hacia estados vacuolizados-grumosos o hacia la desaparición de orgánulos coloreados).

El musgo resultó sensible tanto al frío como al aumento en la radiación UV-B, y los daños, tanto macro- como microscópicos, se daban de manera más severa en las muestras cultivadas a 2 °C y expuestas a radiación UV-B suplementaria (Fig. 1, 2B, 3E, 3F, 3G). Las muestras de 2 °C Control y las sometidas a 10 °C y radiación UV-B suplementaria mostraban un nivel intermedio de lesiones, parecido entre sí (Fig. 1, 2, 3C, 3D), mientras que las muestras de 10 °C Control tenían un aspecto macro- y microscópico similar al que exhibían al principio del experimento (Fig. 1, 2, 3A, 3B). La única diferencia destacable entre las muestras Control de 10 °C al principio y al final del experimento era que los ápices de nuevo crecimiento producidos durante el periodo de cultivo eran más estilizados y tiernos que los iniciales (de acuerdo con esta similitud general y para evitar la redundancia, no se ha ilustrado el estado inicial). De la citada similitud se puede deducir que las condiciones de cultivo eran adecuadas y no ocasionaban daños al musgo, de acuerdo también con los resultados derivados de diversas variables fisiológicas (Martínez Abaigar *et al.*, 2001).

Desde un punto de vista global, los daños macroscópicos causados por la radiación UV-B o por el frío incluían:

- Cambios en el color, con predominio de marrón en los filidios afectados frente al verde de los no afectados (Fig. 1-2).
- Escaso o nulo crecimiento en longitud (Fig. 1).

Los daños microscópicos progresaban de la parte media del filidio hacia el ápice, por lo que las células de la parte media mostraban fases más avanzadas de degradación que las apicales. Los daños microscópicos incluían alteraciones celulares como:

- Aparición y progresivo aumento de tamaño del cuerpo fibrilar central, que podía llegar a ocupar prácticamente toda la célula (ver una progresión de este síntoma en las Fig. 3A, 3B, 3D, 3E).
- Progresiva desaparición de los cloroplastos, que iban quedando relegados a los extremos de las células ante el aumento de tamaño del cuerpo fibrilar central (Fig. 3D).
- Cambio de color en la pared celular, que pasaba de amarillo a marrón-anaranjado (Fig. 3C, 3E, 3F).
- En fases avanzadas de la degradación celular, los protoplastos aparecían grumosos-vesiculosos (Fig. 3E) o muy vacuolizados (Fig. 3F), y en último término se volvían hialinos (como si las células estuviesen vacías) salvo a veces en los extremos, en los cuales podían quedar todavía grumos verdosos (Fig. 3G).

Conviene señalar que existía una importante variabilidad en la manifestación de daños dentro de un mismo vástago, donde podían aparecer filidios con distintos niveles de lesiones macro- y microscópicas, e incluso dentro de un mismo filidio, con células afectadas en diferente grado.

Tanto el frío como la radiación UV-B suplementaria provocaban la aparición de daños parecidos, y las diferencias entre ambos tratamientos eran más cuantita-

tivas (cantidad de filidios y células afectados) que cualitativas. No obstante, en el aspecto cualitativo se debe destacar que el cambio de color de las paredes celulares (de amarillo a marrón-anaranjado) parecía ser un síntoma específico de respuesta de *F. antipyretica* a una radiación UV-B suplementaria.

Algunas de las lesiones descritas, como la pérdida de color verde en los ápices, la aparición del cuerpo fibrilar central, la vacuolización de los protoplastos o las "células vacías", se habían encontrado previamente en briófitos acuáticos sometidos a diversos tipos de contaminación o estrés. Concretamente, Glime & Keen (1984) observaron estas lesiones en varias especies (*Fontinalis dalecarlica*, *F. duriaei*, *Rhynchostegium riparioiodes* e *Hygroamblystegium fluviatile*) expuestas en laboratorio a concentraciones crecientes de cobre. Así mismo, Gimeno (1996) y Gimeno & Puche (1999) describieron un síndrome morfológico parecido en muestras trasplantadas de *Fontinalis hypnoides* y *Rhynchostegium riparioiodes* como respuesta a la contaminación de origen difuso presente en el agua, pero también aparecían daños similares en muestras trasplantadas y no sometidas a contaminación. Según nuestras observaciones, ciertos daños celulares típicos de fases tempranas de degradación celular, como la aparición del cuerpo fibrilar cen-

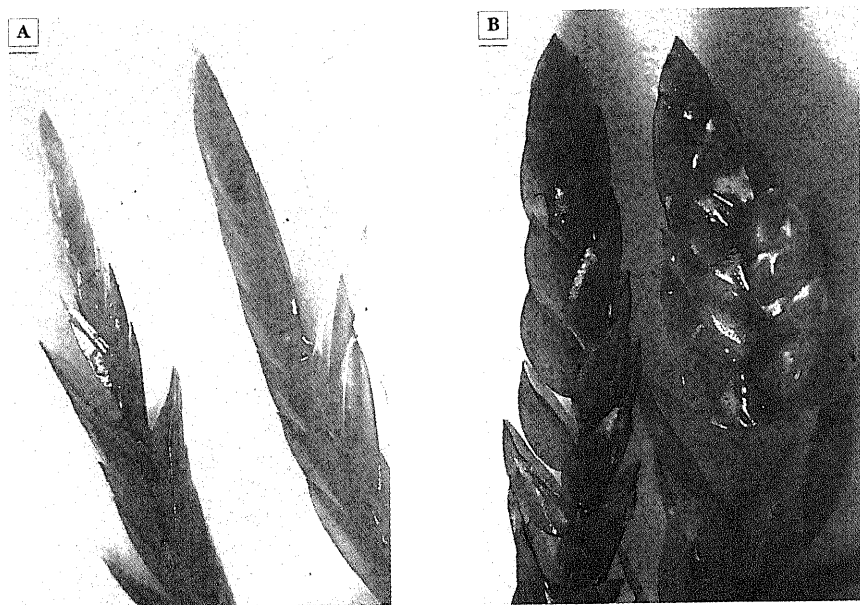


FIGURA 2. *Detalle del aspecto macroscópico de los ápices del musgo acuático Fontinalis antipyretica, recolectado en el Parque Natural de Sierra Cebollera, tras 82 días de cultivo en laboratorio bajo diversas condiciones de temperatura y exposición a radiación UV-B suplementaria. A, ápices cultivados a 10 °C y expuestos (izquierda) o no expuestos (derecha). B, ápices cultivados a 2 °C y expuestos (izquierda) o no expuestos (derecha). En la Tabla 1 se detallan las respuestas a los distintos tratamientos.*

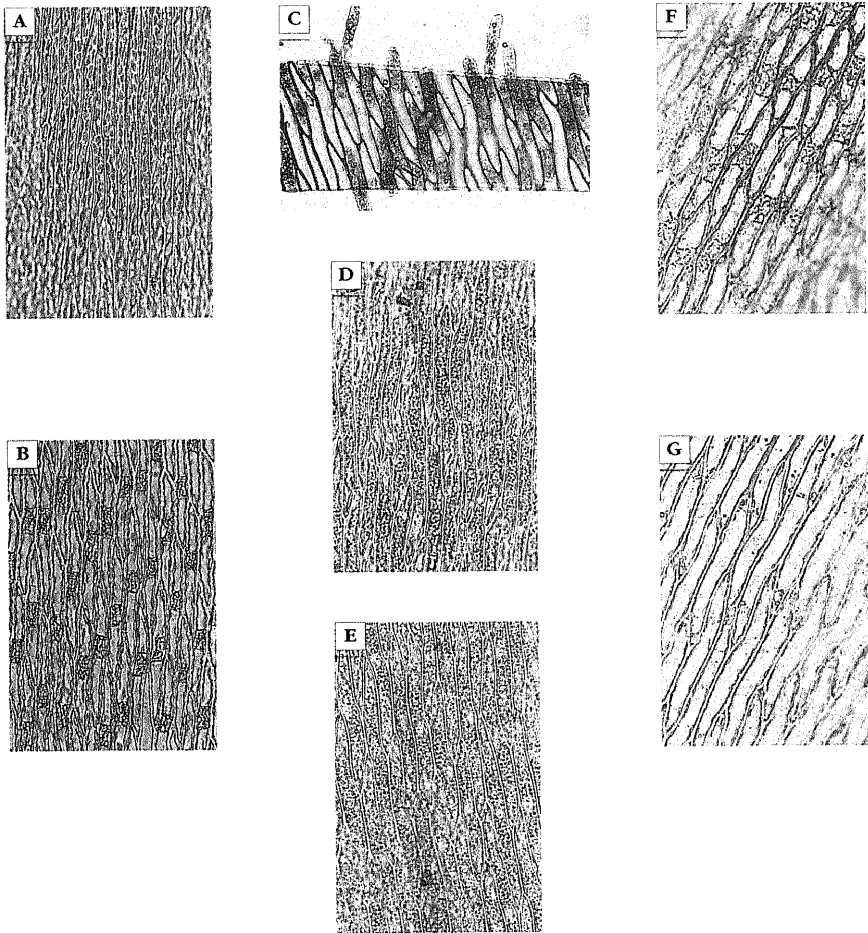


FIGURA 3. Detalles microscópicos de las células centrales de los filidios del musgo acuático *Fontinalis antipyretica*, recolectado en el Parque Natural de Sierra Cebollera, tras 82 días de cultivo en laboratorio bajo diversas condiciones de temperatura y exposición a radiación UV-B suplementaria (en la Tabla 1 se especifican las respuestas a los distintos tratamientos). A, B, muestras cultivadas a 10 °C y no expuestas; el cuerpo fibrilar central no existe (A) o es de tamaño pequeño (B). C, muestras cultivadas a 10 °C y expuestas; las paredes celulares frontales aparecen de tono marrón-anaranjado, una vez que los protoplastos han salido de las células por presión. D, muestras cultivadas a 2 °C y no expuestas; el cuerpo fibrilar central ocupa gran parte de la célula y los cloroplastos están restringidos a los extremos de ésta. E, F y G, muestras cultivadas a 2 °C y expuestas; se observan estados progresivos de degradación: protoplastos grumosos-vesiculosos y paredes transversales marrón-anaranjadas (E), protoplastos vacuolizados, sin apenas contenido celular aparente, y paredes transversales marrón-anaranjadas (F), y finalmente células “vacías” (G).

tral, ocurren en muestras aparentemente sanas y no sometidas a estreses antropogénicos, por lo que estos daños también parecen estar relacionados con los procesos de senescencia y/o estrés que pueden sufrir los briófitos de manera natural. De hecho, hemos detectado lesiones macroscópicas y microscópicas, aunque poco avanzadas y poco generalizadas, en muestras cultivadas a una temperatura fría (2 °C) que puede resultar estresante, pero que se alcanza habitualmente en invierno en los arroyos de procedencia (García Álvaro 1999; Beaucourt 2000). Esto parece apoyar la hipótesis de que los daños descritos son poco específicos y aparecen como respuesta a muy diversos procesos de senescencia y estrés, tanto natural como antropogénico. Hasta el momento, estos daños se han señalado únicamente en musgos pleurocárpicos con células alargadas. Por lo tanto, no se puede concluir que sean síntomas de estrés o senescencia generalizables a todos los tipos morfológicos de musgos ni, por supuesto, al conjunto de los briófitos.

El único síntoma específico que hemos detectado como respuesta al aumento de radiación UV-B es el cambio de color de las paredes celulares, que pasa de amarillo a marrón-anaranjado. Este fenómeno podría estar causado por un aumento en la síntesis de compuestos absorbentes de radiación UV, como ciertos derivados fenólicos que poseen dicho color y pueden estar presentes en las paredes celulares (Jansen *et al.*, 1998; Searles *et al.*, 1999; Gröniger *et al.*, 2000). Sin embargo, la potencial protección conferida por dichos compuestos no parece resultar muy útil en *Fontinalis antipyretica*, y en otros briófitos no se ha podido demostrar un aumento en los compuestos absorbentes de UV como respuesta a un suplemento de este tipo de radiación (Gehrke *et al.*, 1996; Barsig *et al.*, 1998; Gehrke, 1998, 1999; Markham *et al.*, 1998; Searles *et al.*, 1999). Por lo tanto, se podría apuntar como hipótesis alternativa que el cambio de color obedeciera al propio proceso de degradación de la pared celular inducido por la radiación UV-B. La resolución de esta disyuntiva requiere más investigación.

2.2. Daños observados en *Jungermannia cordifolia*

La Tabla 2 muestra un resumen comparativo de las características macro- y microscópicas que presentaba esta especie en respuesta a la temperatura (10 °C y 2 °C) y al régimen de radiación (Control y UV-B), características que se ilustran en las Fig. 4-7. Se seleccionaron dos caracteres macroscópicos (el color de los filidios y la presencia de ápices de nuevo crecimiento) y cuatro microscópicos (la presencia de cuerpos oleíferos y cloroplastos, el color de las paredes celulares, y la degradación de los protoplastos hacia estados grumosos). Como en el caso de *F. antipyretica*, el aspecto de las muestras de 10 °C Control al final del experimento era muy similar a su aspecto inicial, por lo que no se han incluido ilustraciones del estado inicial.

Jungermannia cordifolia resultó sensible a la radiación UV-B sólo cuando se combinaba con un estrés por frío (Tabla 2). En efecto, las muestras cultivadas bajo radiación UV-B y a 2 °C tenían, macroscópicamente, la mayoría de los filidios de color marrón grisáceo (Fig. 4, 5B, 6B), excepto los 2-3 filidios apicales que estaban envueltos y protegidos por los inmediatamente inferiores (Fig. 5B); además, no había ramificaciones de nuevo crecimiento (Fig. 4, 5B). Microscópicamente, los daños celulares eran escasos, aunque dependían del grado de afectación del filidio. En filidios poco afectados, las células presenta-

TABLA 2. Resumen de las características macro- y microscópicas de *Jungermannia cordifolia* cultivada durante 82 días bajo distintas condiciones de temperatura (10 °C o 2 °C) y radiación ultravioleta-B (UV-B). Las características microscópicas se refieren a las células centrales de los filidios

Condiciones de cultivo	Características macroscópicas			Características microscópicas			
	Color de los filidios	Ápices verdes de nuevo crecimiento	Cuerpos oleíferos	Cloroplastos	Paredes celulares	Protoplastos grumosos	
10 °C Control	Verde	Muchos	Si	Si, aplicados a las paredes transversales y dispersos por el citoplasma	Hialinas	No	
10 °C UV-B	Verde	Muchos	Si	Si, aplicados a las paredes transversales y dispersos por el citoplasma	Hialinas	No	
2 °C Control	Verde	Algunos	Si	Si, aplicados a las paredes transversales	Hialinas	No	
2 °C UV-B	Marrón grisáceo	No	Si	Si, aplicados a las paredes transversales	Marrón-grisáceas	A veces	



FIGURA 4. *Aspecto macroscópico de los ápices de la hepática acuática Jungermannia cordifolia, recolectada en el Parque Natural de Sierra Cebollera, tras 82 días de cultivo en laboratorio bajo diversas condiciones de temperatura y exposición a radiación UV-B suplementaria. Izquierda arriba, muestras cultivadas a 2 °C y expuestas. Izquierda abajo, muestras cultivadas a 2 °C y no expuestas. Derecha arriba, muestras cultivadas a 10 °C y expuestas. Derecha abajo, muestras cultivadas a 10 °C y no expuestas. En la Tabla 2 se detallan las respuestas a los distintos tratamientos.*

ban un aspecto bastante normal, con los cuerpos oleíferos típicos y los cloroplastos aplicados contra la pared, pero las paredes celulares eran de color marrón grisáceo (Fig. 7B). En los filidios más afectados, las células mostraban un contenido algo más grueso y vesiculoso y las paredes igualmente de color marrón grisáceo, pero se seguían conservando los cuerpos oleíferos y los cloroplastos (Fig. 7C).

El resto de las muestras (2 °C Control, 10 °C UV-B, y 10 °C Control) presentaban un aspecto muy parecido entre sí y completamente normal, tanto a nivel macro- como microscópico (Fig. 4, 5A, 5B, 6A, 7A). Los filidios eran verdes, normales (Fig. 6A), y los vástagos presentaban ramificaciones de nuevo crecimiento, más abundantes en las muestras cultivadas a 10 °C (Fig. 4, 5A, 5B). Las células también mostraban un aspecto normal, con cuerpos oleíferos y cloroplastos, y las paredes carecían de tonos marrones y eran completamente transparentes (Fig. 7A). En ocasiones, los cloroplastos de los cultivos de 10 °C estaban, además de aplicados a la pared, dispersos por el citoplasma, pero esta característica también se observó en las muestras iniciales que se pusieron en cultivo y su significado necesita más investigación.

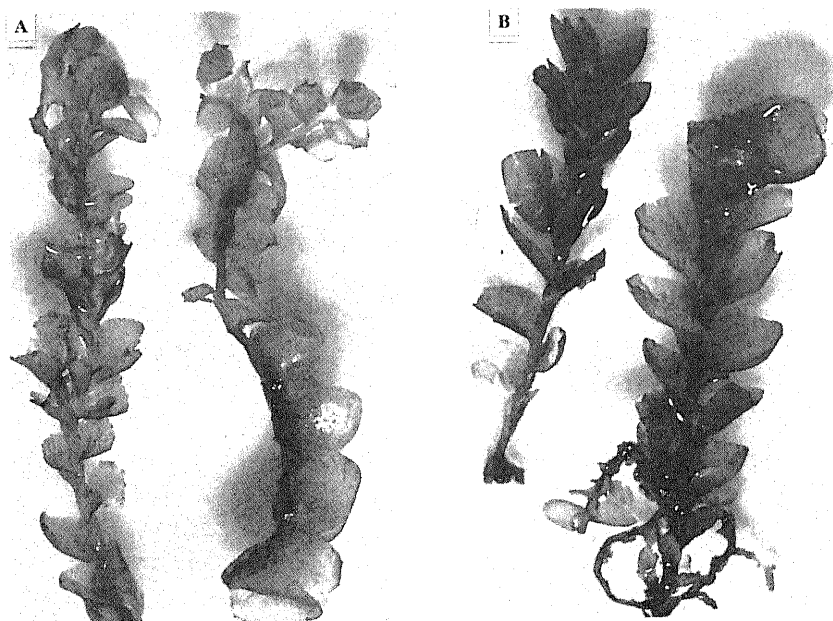


FIGURA 5. *Detalle del aspecto macroscópico de los ápices de la hepática acuática Jungermannia cordifolia, recolectada en el Parque Natural de Sierra Cebollera, tras 82 días de cultivo en laboratorio bajo diversas condiciones de temperatura y exposición a radiación UV-B suplementaria. A, ápices cultivados a 10 °C y expuestos (izquierda) o no expuestos (derecha). B, ápices cultivados a 2 °C y expuestos (izquierda) o no expuestos (derecha). En la Tabla 2 se detallan las respuestas a los distintos tratamientos.*

3. CONCLUSIONES

Nuestros resultados indican claramente que las dos especies estudiadas tienen diferente sensibilidad a un aumento en la radiación UV-B y que *Fontinalis antipyretica* es más sensible que *Jungermannia cordifolia*. Por lo tanto, y como ocurre en plantas vasculares (Day, 2001), la sensibilidad de los briófitos a la radiación UV-B depende de la especie y no se puede hablar de una misma sensibilidad de los briófitos como grupo.

El diferente comportamiento de ambas especies podría deberse, al menos en parte, a la presencia de compuestos absorbentes de radiación UV, de carácter soluble, en los protoplastos de *J. cordifolia*. De hecho, su concentración es muy alta en esta especie de manera natural, e incluso se encontró un aumento del 20 % como respuesta a la radiación UV-B suplementaria (Martínez Abaigar *et al.*, 2001). Por el contrario, en *F. antipyretica* la concentración natural es sumamente baja y no aumenta con el tratamiento de radiación UV-B (Martínez

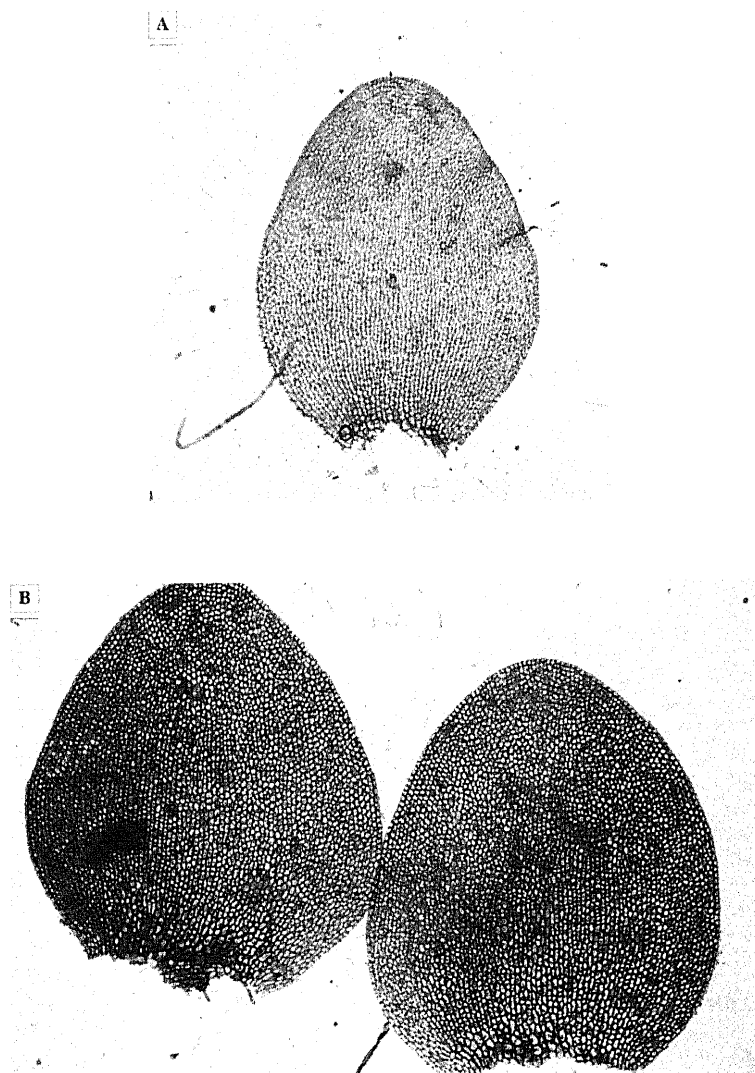


FIGURA 6. *Aspecto de los filidios de la hepática acuática Jungermannia cordifolia, recolectada en el Parque Natural de Sierra Cebollera, tras 82 días de cultivo en laboratorio bajo diversas condiciones de temperatura y exposición a radiación UV-B suplementaria. A, muestras cultivadas a 10 °C y no expuestas; aunque se ha omitido la presentación de ilustraciones específicas, exhiben un aspecto similar las muestras cultivadas a 10 °C y expuestas, y las cultivadas a 2 °C y no expuestas. B, muestras cultivadas a 2 °C y expuestas. En la Tabla 2 se detallan las respuestas a los distintos tratamientos.*

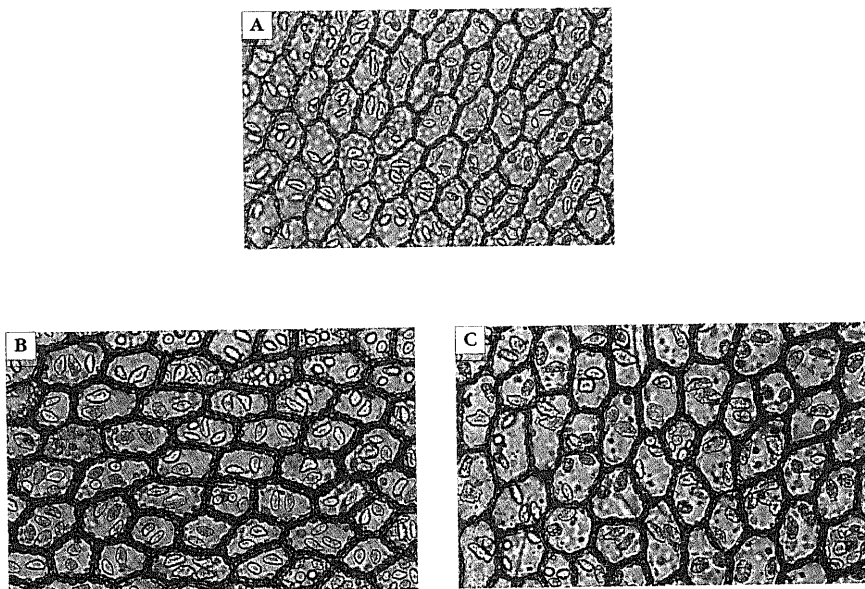


FIGURA 7. *Detalles microscópicos de las células centrales de los filidios de la hepática acuática Jungermannia cordifolia, recolectada en el Parque Natural de Sierra Cebollera, tras 82 días de cultivo en laboratorio bajo diversas condiciones de temperatura y exposición a radiación UV-B suplementaria (en la Tabla 2 se especifican las respuestas a los distintos tratamientos). A, muestras cultivadas a 10 °C y no expuestas; aunque se ha omitido la presentación de ilustraciones específicas, exhiben un aspecto similar las muestras cultivadas a 10 °C y expuestas, y las cultivadas a 2 °C y no expuestas. B y C, muestras cultivadas a 2 °C y expuestas; se observan estados progresivos de degradación: paredes frontales de color marrón-grisáceo (B) y protoplastos grumosos (C).*

Abaigar *et al.*, 2001). Sin embargo, queda por dilucidar en este aspecto si *F. antipyrretica* también es capaz de sintetizar otros tipos de compuestos absorbentes de UV para depositarlos en la pared celular y, en caso afirmativo, por qué le confieren un grado tan bajo de protección. Así mismo, hace falta más investigación para evaluar la posibilidad de utilizar los compuestos absorbentes de radiación UV que están presentes en *J. cordifolia* como fotoprotectores en el ser humano.

La diferente sensibilidad de ambos briófitos, tanto al frío como al aumento de la radiación UV-B, también podría tener una raíz genética, que además estaría en relación con sus contrastadas ecología y corología. *Jungermannia cordifolia* es una especie subártica-subalpina en Europa (Duell, 1983), típica de arroyos oligotróficos de montaña, mientras que *F. antipyrretica* tiene una distribución y un rango ecológico mucho más amplios (Martínez Abaigar & Ederra, 1992). La mayor adaptación de la hepática a los ambientes montanos podría estar basada, entre otros factores,

en una mayor tolerancia al frío y a la radiación UV-B, puesto que ambos tipos de estreses son habituales en los hábitats colonizados y dominados por ella. No obstante, en la misma cuenca del Iregua se han encontrado poblaciones de *F. antipyretica* en el piso oromediterráneo, altamente expuestas al frío y a la radiación UV-B, por lo que se puede suponer que al menos algunas poblaciones pueden sobrevivir bajo estas condiciones.

Nuestros resultados sugieren que, para utilizar los briófitos acuáticos como bioindicadores ecológicos de daños por un aumento de radiación UV-B, debería precisarse meticulosamente tanto la especie como la variable empleadas. En tanto se estudien las respuestas morfológicas de un mayor número de especies, el cambio de color de las paredes de *F. antipyretica* (de amarillo a marrón-anaranjado) parece ser el síntoma más específico y, por lo tanto, el más adecuado para detectar un posible aumento en la radiación UV-B.

4. AGRADECIMIENTOS

A la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología (proyecto PB98-0202) por la financiación del trabajo, al Ministerio de Educación, Cultura y Deportes y al Gobierno de La Rioja (Consejería de Educación, Cultura, Juventud y Deportes, I Plan Riojano de I+D) por las becas concedidas a M. Arróniz, y al Prof. L.O. Björn (Lund, Suecia) por hacer los cálculos de los modelos de ozono y radiación UV-B.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Allen, D.J., Nogués, S., Baker, N.R., 1998. Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis? *Journal of Experimental Botany*. (49), 1775-1788.
- Barsig, M., Schneider, K., Gehrke, C., 1998. Effects of UV-B radiation on fine structure, carbohydrates, and pigments in *Polytrichum commune*. *The Bryologist*. (101), 357-365.
- Beaucourt, N., 2000. *Ecofisiología de la producción en briófitos acuáticos*. Tesis Doctoral, Universidad de La Rioja, Departamento de Agricultura y Alimentación, Logroño.
- Björn, L.O., Teramura, A.H., 1993. Simulation of daylight ultraviolet radiation and effects of ozone depletion. En: *Environmental UV Photobiology* (ed. A.R. Young), pp. 41-71. Plenum Press, New York.
- Björn, L.O., Callaghan, T.V., Gehrke, C., Johanson, U., Sonesson, M., Gwynn-Jones, D., 1998. The problem of ozone depletion in northern Europe. *Ambio*. (27), 275-279.
- Björn, L.O., Callaghan, T.V., Gehrke, C., Johanson, U., Sonesson, M., 1999. Ozone depletion, ultraviolet radiation and plant life. *Chemosphere: Global Change Science*. (1), 449-454.
- Björn, L.O., 1999. Ultraviolet-B radiation, the ozone layer and ozone depletion. En: *Stratospheric ozone depletion: the effects of enhanced UV-B radiation on terrestrial ecosystems* (ed. J. Rozema), pp. 21-37. Backhuys Publishers, Leiden.

- Bowden, W.B., Arscott, D., Pappathanasi, D., Finlay, J., Glime, J.M., LaCroix, J., Liao, C.L., Hershey, A., Lampella, T., Peterson, B., Wollheim, W., Slavik, K., Shelley, B., Chesterton, M.B., Lachance, J.A., LeBlanc, R.M., Steinman, A., Suren, A., 1999. Roles of bryophytes in stream ecosystems. *Journal of the North American Benthological Society*. (18), 151-184.
- Caldwell, M.M., 1971. Solar UV irradiation and the growth and development of higher plants. En: *Photophysiology: current topics in photobiology and photochemistry*, Vol. 6 (ed. A.C. Giese), pp. 131-177. Academic Press, New York.
- Day, T.A., 2001. Ultraviolet radiation and plant ecosystems. *Ecosystems, evolution, and ultraviolet radiation* (eds. C.S. Cockell & A.R. Blaustein), pp. 80-117. Springer, New York.
- Duell, R., 1983. Distribution of the European and Macaronesian liverworts (Hepaticophytina). *Bryologische Beitrage*. (2), 1-115.
- Ennis, C.A., Marcus, N.H., 1996. *Biological consequences of global climate change*. University Science Books, Sausalito, California, 1-53.
- Fiscus, E.L., Booker, F.L., 1995. Is increased UV-B a threat to crop photosynthesis and productivity? *Photosynthesis Research*. (43), 81-92.
- Franklin, L.A., Forster, R.M., 1997. The changing irradiance environment: consequences for marine macrophyte physiology, productivity and ecology. *European Journal of Phycology*. (32), 207-232.
- García-Álvaro, M.A., 1999. *Contenido de nutrientes minerales y composición pigmentaria fotosintética en briófitos acuáticos: una perspectiva ecofisiológica*. Tesis Doctoral, Universidad Pública de Navarra, Departamento de Ciencias del Medio Natural, Pamplona.
- Gehrke, C., Johanson, U., Gwynn-Jones, D., Björn, L.O., Callaghan, T.V., Lee, J.A., 1996. Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on terrestrial subarctic ecosystems and implications for interactions with increased atmospheric CO₂. *Ecological Bulletins*. (45), 192-203.
- Gehrke, C., 1998. Effects of enhanced UV-B radiation on production related properties of a *Sphagnum fuscum* dominated subarctic bog. *Functional Ecology*. (12), 940-947.
- Gehrke, C., 1999. Impacts of enhanced ultraviolet-B radiation on mosses in a subarctic heath ecosystem. *Ecology*. (80), 1844-1851.
- Gimeno, C. 1996. *Flora y vegetación briológica de algunos ríos de la Comunidad Valenciana. Experiencias con briófitos como bioindicadores/biomonitores de contaminación fluvial*. Tesis Doctoral, Universitat de València, Departament de Biología Vegetal, València.
- Gimeno, C., Puche, F., 1999. Chlorophyll content and morphological changes in cellular structure of *Rhynchostegium riparioides* (Hedw.) Card. (Brachytheciaceae, Musci) and *Fontinalis hypnoides* Hartm. (Fontinalaceae, Musci) in response to water pollution and transplant containers on Palancia river (East Spain). *Nova Hedwigia*. (68), 197-216.
- Glime, J.M., Keen, R.E., 1984. The importance of bryophytes in a man-centered world. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory*. (55), 133-146.

- Gröniger, A., Sinha, R.P., Klisch, M., Häder, D.P., 2000. Photoprotective compounds in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae. A database. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. (58), 115-122.
- Häder, D.P. (ed.), 1997. *The effect of ozone depletion in aquatic ecosystems*. Academic Press, Austin (Texas), 1-275.
- Hessen, D.O., De Lange, H.J., Van Donk, L., 1997. UV-induced changes in phytoplankton cells and its effects on grazers. *Freshwater Biology*. (38), 513-524.
- Ihle, C., Laasch, H., 1996. Inhibition of photosystem II by UV-B radiation and the conditions for recovery in the liverwort *Conocephalum conicum* Dum. *Botanica Acta*. (109), 199-205.
- Ihle, C., 1997. Degradation and release from the thylakoid membrane of Photosystem II subunits after UV-B irradiation of the liverwort *Conocephalum conicum*. *Photosynthesis Research*. (54), 73-78.
- Jansen, M.A.K., Gaba, V., Greenberg, B.M., 1998. Higher plants and UV-B radiation: balancing damage, repair and acclimation. *Trends in Plant Science*. (3), 131-135.
- Johanson, U., Gehrke, C., Björn, L.O., Callaghan, T.V., Sonesson, M., 1995. The effects of enhanced UV-B radiation on a subarctic heath ecosystem. *Ambio*. (24), 106-111.
- Lumsden, P. (ed.), 1997. *Plants and UV-B. Responses to Environmental Change*. Cambridge University Press, Cambridge. 1-370.
- Markham, K.R., Ryan, K.G., Bloor, S.J., Mitchell, K.A., 1998. An increase in the luteolin: apigenin ratio in *Marchantia polymorpha* on UV-B enhancement. *Phytochemistry*. (48), 791-794.
- Martínez-Abaigar, J., Ederra, A., 1992. Brioflora del río Iregua (La Rioja, España). *Cryptogamie, Bryologie Lichénologie*. (13), 47-69.
- Martínez-Abaigar, J., Núñez-Olivera, E., Beaucourt, N., García-Álvaro, A., Tomás, R., Arróniz, M., 2001. Different physiological responses of two aquatic bryophytes to enhanced ultraviolet-B radiation. *Second Symposium for European Freshwater Sciences* (Toulouse, Francia).
- Montiel, P., Smith, A., Keiller, D., 1999. Photosynthetic responses of selected Antarctic plants to solar radiation in the southern maritime Antarctic. *Polar Research*. (18), 229-235.
- Phoenix, G.K., Gwynn-Jones, D., Callaghan, T.V., Sleep, D., Lee, J.A., 2001. Effects of global change on a sub-Arctic heath: effects of enhanced UV-B radiation and increased summer precipitation. *Journal of Ecology*. (89), 256-267.
- Rader, R.B., Belish, T.A., 1997. Short-term effects of ambient and enhanced UV-B on moss (*Fontinalis neomexicana*) in a mountain stream. *Journal of Freshwater Ecology*. (12), 395-403.
- Searles, P.S., Flint, S.D., Díaz, S.B., Rousseaux, M.C., Ballaré, C.L., Caldwell, M.M., 1999. Solar ultraviolet-B radiation influence on *Sphagnum* bog and *Carex* fen ecosystems: first field season findings in Tierra del Fuego, Argentina. *Global Change Biology*. (5), 225-234.
- Sonesson, M., Callaghan, T.V., Carlsson, B.A., 1996. Effects of enhanced ultraviolet radiation and carbon dioxide concentration on the moss *Hylocomium splendens*. *Global Change Biology*. (2), 67-73.

- Takács, Z., Csintalan, Z., Sass, L., Laitat, E., Vass, I., Tuba, Z., 1999. UV-B tolerance of bryophyte species with different degrees of desiccation tolerance. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. (48), 210-215.
- Tevini, M., 2000. UV-B effects on plants. En: *Environmental pollution and plant responses* (eds. S.B. Agrawal & M. Agrawal), pp. 83-97. Lewis Publishers, Boca Raton.