

Caracterización ecofisiológica de tres especies de briófitos de la Laurisilva canaria

Ecophysiological characterization of three bryophyte species of the Canary Islands Laurel forest



Trabajo de Fin de Grado

Pavel Brito Gutiérrez

Tutorizado por Beatriz Fernández Marín

Grado en Biología

Junio 2021

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría agradecer a mi tutora, Bea, a quien le debo gran parte de mi desarrollo como biólogo. Gracias por tu dedicación, implicación y esfuerzos depositados en este trabajo, pero sobretodo, gracias por darme la oportunidad de formar parte del equipo de ecofisiología y mostrarme el mundo de la investigación. A Águeda y Marcos, por acogerme estos dos años como a uno más del equipo, por su implicación, tanto conmigo, como con este trabajo. Gracias a los tres por transmitirme su pasión por las plantas. Todo lo que he aprendido estos últimos dos años es gracias a ustedes.

A mis compañeras de laboratorio, en especial a Celine, por su apoyo durante la fase experimental del trabajo.

A Ana Losada, por colaborar con la identificación de los briófitos empleados en este trabajo. Gracias por tu dedicación, paciencia y consejos.

A todos y cada uno de mis amigos, por volcarse en todos los aspectos de este trabajo, desde la recolección, toma de datos y redacción. En especial, a Carolina y Alexia, por ser, durante estos cuatro años, partícipes de mi evolución tanto personal como profesional. Gracias por confiar en mí más de lo que yo jamás haré.

A mis padres, hermana, tío y abuela, por ser las manos que me ayudan a levantarme cuando tropiezo. Todo lo que soy es gracias a ustedes.

Finalmente, me gustaría agradecer al Cabildo de Tenerife por otorgar el permiso para hacer posible este estudio.

Índice

1. Resumen	7
2. Introducción.....	8
2.1. Relaciones hídricas en los briófitos.....	9
2.2. Actividad fotosintética y respuesta a la luz.....	10
2.3. Respuesta a las bajas temperaturas.....	11
2.4. Briófitos en la Laurisilva Canaria.....	12
3. Objetivos.....	13
4. Material y métodos	13
4.1. Sitio de estudio y material vegetal.....	13
4.2. Diseño experimental.....	14
4.3. Fotos hemisféricas	15
4.4. Curvas rápidas de luz.....	15
4.5. Ensayo de tolerancia a la desecación.....	16
4.6. Curvas presión-volumen.....	17
4.7. Test de tolerancia a bajas temperatura.....	18
4.8. Determinación del contenido hídrico relativo	19
4.9. Medidas de fluorescencia de la clorofila <i>a</i>	20
4.10. Análisis estadísticos.....	21
5. Resultados.....	21
5.1. Análisis de la transmitancia total.....	21
5.2. Actividad fotoquímica	22
5.3. Tolerancia a la desecación.....	23
5.4. Relaciones hídricas	24
5.5. Efecto de las bajas temperaturas.....	25
6. Discusión	26
6.1. Briófitos y la luz	27
6.2. Briófitos y el agua.....	28
6.3. Briófitos y temperatura.....	30
7. Conclusiones.....	32
8. Bibliografía.....	33

1. Resumen

Los briófitos son un grupo de plantas no vasculares formado por musgos, hepáticas y antocerotes cuya fisiología está determinada por su pequeño tamaño y naturaleza poiquilohídrica. En las Islas Canarias, los briófitos alcanzan su máxima diversidad en la Laurisilva, aunque su ecofisiología en este ecosistema está poco estudiada a pesar de su relevancia ecológica. Por ello, en este trabajo se han caracterizado las relaciones hídricas, con un psicrómetro de termopar; la actividad fotoquímica *in situ* y las tolerancias a desecación y congelación mediante el análisis de la fluorescencia de la clorofila *a*, de tres briófitos abundantes en la Laurisilva: un antocerote (*Anthoceros caucasicus*), una hepática (*Porella canariensis*) y un musgo (*Isothecium myosuroides*). *A. caucasicus* exhibió la mayor actividad fotoquímica bajo intensidades lumínicas bajas, sin embargo, y a diferencia de *P. canariensis* e *I. myosuroides*, resultó sensible a la desecación y a temperaturas inferiores a -5°C. Los resultados obtenidos en este trabajo aportan primeras aproximaciones al funcionamiento de los briófitos en ambientes de Laurisilva, que pueden resultar útiles bajo el contexto actual de cambio climático. Además, se aportan nuevos datos sobre la fisiología de los antocerotes, que, junto a la poca información disponible, sugieren grandes diferencias respecto a musgos y hepáticas.

Palabras clave: briófitos, antocerotes, fotoquímica, relaciones hídricas, tolerancia a la desecación, tolerancia a la congelación

Abstract

Bryophytes are a group of non-vascular plants integrated by mosses, liverworts and hornworts, whose physiology is determined by their small size and poikilohydric strategy. In the Canary Islands, bryophytes reach their maximum diversity in the Laurel forest, however, their ecophysiology within this ecosystem is poorly understood despite their ecological relevance. Thus, in this work, water relations, with a thermocouple psychrometer and *in situ* photochemical activity and desiccation and freezing tolerances by analysis of chlorophyll *a* fluorescence were determined in three bryophyte species abundant in the Laurel forest: a hornwort (*Anthoceros caucasicus*), a liverwort (*Porella canariensis*) and a moss (*Isothecium myosuroides*). *A. caucasicus* exhibited the highest electron transport rate under the lowest light conditions, however, and unlike *P. canariensis* and *I. myosuroides*, was unable to tolerate desiccation and temperatures below -5°C. The results obtained in this work provide first insights to bryophyte

ecophysiology in Laurel forest environments, which can be useful under the current climate change scenario. In addition, new data of hornwort physiology are provided, which, together with the little information available, suggest big differences when compared to mosses and liverworts.

Key words: bryophytes, hornworts, photochemistry, water relations, desiccation tolerance, freezing tolerance

2. Introducción

Un paso crítico en el origen y diversificación de las plantas fue la colonización del medio terrestre. Las nuevas exigencias de este medio, relacionadas fundamentalmente con la disponibilidad hídrica, supusieron profundas transformaciones morfológicas, anatómicas y fisiológicas destinadas a solventar tres necesidades básicas: impermeabilidad, sostén, y conducción hídrica (Crane y Kenrick, 1997; Bateman et al. 1998). En este proceso de colonización y evolución de las plantas terrestres, las primeras que divergieron fueron los briófitos (Gensel, 2008). Los briófitos *sensu lato* son un grupo de pequeñas plantas no vasculares, criptógamas, y embriofitas integrado por tres linajes: musgos (división Bryophyta), hepáticas (división Marchantiophyta) y antocerotes (división Anthocerotophyta). La ubicación filogenética de los briófitos entre las algas verdes estreptófitas y las plantas vasculares, sumado su cada vez más aceptado origen monofilético (Puttick et al. 2018; Sousa et al. 2019; Su et al. 2021), hacen de este grupo un importante recurso para el estudio de las bases fisiológicas de la adaptación al medio terrestre (Ligrone et al. 2012).

Los musgos y las hepáticas forman, sin duda alguna, los linajes más diversos y estudiados, tanto desde una perspectiva molecular como ecofisiológica (Rensing et al. 2020; Kohchi et al. 2021). Los antocerotes, en cambio, forman el grupo menos diverso (Söderström et al. 2016) y el menos estudiado desde un punto de vista ecofisiológico a pesar de sus particularidades biológicas (Frangedakis et al. 2020). En este sentido, el reciente establecimiento de *Anthoceros agrestis* como especie modelo para el estudio de la biología de antocerotes (Szövényi et al. 2015) y la secuenciación de su genoma (Li et al. 2020) abre las puertas a muchas líneas de investigación en las que la ecofisiología tendrá que estar presente para un conocimiento integrado del funcionamiento de este grupo de plantas.

En términos generales, el cuerpo vegetativo de los briófitos presenta, en comparación con el de las plantas vasculares, un reducido tamaño y los tejidos fotosintéticos constan, en muchos casos, de una única a unas pocas células de grosor (Glime, 2017). El hecho de ser tan pequeños, hace que presenten elevados ratios superficie/volumen, creando una mayor área de interacción con la atmósfera por unidad de volumen, lo que condiciona la manera en la que estas plantas interactúan con la humedad, la luz y la temperatura (Proctor et al. 2007; Vanderpoorten y Goffinet, 2009; Glime, 2017).

2.1. Relaciones hídricas en los briófitos

Un factor determinante en las relaciones hídricas de los briófitos, y que los diferencia de las plantas vasculares, es su naturaleza poiquilohídrica. Esta estrategia impide a estas plantas regular activamente el contenido hídrico de sus tejidos, por lo que se equilibran rápidamente con la humedad relativa (HR) del ambiente (Raven, 1995; Proctor et al. 2007). A nivel celular, las relaciones hídricas de los briófitos se asemejan bastante a las de las plantas vasculares, salvo por la presencia, en estado hidratado, de una capa variable de agua extracelular que dificulta sustancialmente su estudio (Proctor et al. 1998).

Cuando la HR disminuye y/o el agua extracelular se evapora, los briófitos se secan rápidamente. En este estado, la mayoría de las especies son capaces de detener su metabolismo, permanecer inactivos por largos periodos de tiempo y, reactivar la actividad metabólica normal tras rehidratarse (Proctor et al. 2007). Esta capacidad, definida como “tolerancia a la desecación”, es bastante común entre musgos y hepáticas, aunque rara y poco estudiada en antocerotes (Alpert, 2006; Wood, 2007). De hecho, *Dendroceros granulatus* es el único antocerote para el que hay indicios de tolerancia a la desecación en tejidos vegetativos, aunque las evidencias experimentales no han sido nunca publicadas (comunicación personal de Proctor, publicada en Wood, 2007). En los briófitos tolerantes a la desecación, durante la deshidratación, se desencadena un sistema de protección constitutivo basado en la acumulación de azúcares osmóticamente activos, expresión de proteínas de la embriogénesis tardía (LEA, por sus siglas en inglés, *Late Embryogenesis Abundant*) y activación del sistema antioxidante (Proctor et al. 2007; Fernandez-Marín et al. 2011; Takezawa, 2018). Se produce, además, la acumulación de transcritos de ARN_m, que son sintetizados durante la desecación y que, durante la rehidratación, están implicados en la reparación y recuperación del estado metabólico normal (Gao et al. 2017). La tolerancia a la desecación puede determinarse mediante test

de deshidratación bajo condiciones controladas, estimando la recuperación de la actividad fotoquímica (capacidad fotosintética potencial) mediante medidas de fluorescencia de la clorofila *a* (López-Pozo et al. 2019).

Otro factor importante en las relaciones hídricas de los briófitos es la propia arquitectura del gametofito (Glime, 2017). Tal es así, que Hedenäs (1999) observó que la variación existente en la estructura del gametofito de varios musgos pleurocárpicos a lo largo de gradientes ambientales se debe en gran medida a caracteres relacionados con la conducción hídrica. La organización, tanto externa como interna, del gametofito está relacionada, no solo con la conducción hídrica, sino con otros muchos parámetros hídricos. Conocer los aspectos relacionados con las relaciones hídricas es vital para comprender el funcionamiento global de los briófitos, pues su relación con el ambiente y otros procesos fisiológicos es evidente (Deltoro et al. 1998; Wang y Bader, 2018). En este sentido, las curvas de presión-volumen (curvas P-V) suponen una herramienta muy útil para determinar los principales parámetros de las relaciones hídricas de los briófitos (Perera-Castro et al. 2021). Algunos de ellos son la capacidad de hidratación máxima del tejido, las propiedades físicas de la pared celular, o la potencialidad del protoplasto para perder agua hasta dejar de ejercer presión sobre la pared celular.

2.2. Actividad fotosintética y respuesta a la luz

La fotosíntesis en los briófitos está condicionada, y a su vez, limitada por la disponibilidad hídrica. Ante un déficit hídrico, los briófitos se secan, detienen su metabolismo y, por consiguiente, cesa la actividad fotosintética a pesar incluso de que se den condiciones lumínicas favorables; por otro lado, un exceso de agua genera una capa extracelular que dificulta la difusión del CO₂ de la atmósfera al tejido y, por consiguiente, el rendimiento fotosintético disminuye (Proctor, 1982; Vanderpoorten y Goffinet, 2009).

Tradicionalmente se ha clasificado a los briófitos como plantas de sombra por exhibir, generalmente, bajos ratios clorofila *a:b*, saturación del proceso fotosintético a bajas irradiancias y bajos puntos de compensación lumínica en comparación con plantas vasculares (Valanne, 1984). Marschall y Proctor (2004) caracterizaron la respuesta a la luz y cuantificaron la proporción de clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides totales de 39 musgos y 16 hepáticas concluyendo que, desde un punto de vista fisiológico, no todos los briófitos pueden clasificarse como plantas de sombra.

Muchos briófitos forman parte de la vegetación de sotobosque, recibiendo una cantidad de luz significativamente inferior a la incidente sobre el estrato herbáceo y arbóreo. A pesar de ello, su actividad fotosintética neta tiene un balance positivo, ya que presentan bajos puntos de compensación lumínica (Glime, 2017); de hecho, si expresamos la actividad fotosintética de los briófitos (como tasa de intercambio de CO₂) en base al contenido en clorofila, esta es muy similar a la de las plantas vasculares (Martin y Adamson, 2001). Se ha comprobado además, que algunos briófitos son capaces de aprovechar los *sunflecks* (incrementos rápidos y breves en la cantidad de luz incidente sobre el suelo y/o vegetación producidos por cambios momentáneos en la apertura del dosel vegetal o en la posición del sol) incrementando la captación de CO₂ durante estos cortos eventos; así, el aparato fotosintético de los briófitos es capaz de adaptarse eficientemente a cambios rápidos en la intensidad de luz que se filtra a través del dosel vegetal (Kubásek et al. 2014).

2.3. Respuesta a las bajas temperaturas

La temperatura es uno de los factores principales que determinan la distribución de las especies vegetales. En este aspecto, los briófitos están presentes desde los trópicos hasta regiones polares y alpinas, donde alcanzan su máxima diversidad (Estébanez et al. 2011), constituyendo, además, en muchos casos, la flora dominante de estas regiones (Longton, 1989). La especial abundancia de briófitos en ambientes fríos podría explicarse atendiendo a dos características fisiológicas: (1) la capacidad de crecer a temperaturas más bajas que las óptimas para las plantas vasculares (Furness y Grime, 1982), y (2) la capacidad de tolerar temperaturas extremadamente bajas y la congelación extracelular (Takezawa, 2018).

Muchos briófitos son capaces de tolerar temperaturas muy bajas a pesar de que la mayoría no experimentan temperaturas bajo cero en su hábitat natural. El grado de tolerancia viene determinado principalmente por el contenido hídrico del tejido, siendo significativamente superior en estado deshidratado que en estado hidratado (Dilks y Proctor, 1975). La respuesta fisiológica al frío es muy similar al mecanismo de tolerancia a la deshidratación (Takezawa, 2018), pues la formación de hielo extracelular crea un gradiente de potencial hídrico entre el interior y exterior celular que produce, en última instancia, la deshidratación de la célula (Wolfe y Bryant, 1999). La deshidratación provoca la inactivación del metabolismo celular y la entrada a un estado criptobiótico bajo el cual,

muchos briófitos de regiones polares pueden tolerar largos períodos de congelación, incluso de hasta seis siglos (Cannone et al. 2017). En algunas especies vasculares de climas templados con la inusual característica de tolerar la deshidratación, se ha hipotetizado que esa adaptación fisiológica podría subyacer en su tolerancia adicional a la congelación (Fernández-Marín et al. 2020; 2021). Esta posible tolerancia cruzada ha sido poco estudiada en briófitos hidratados (Perera-Castro et al. 2020).

2.4. Briófitos en la Laurisilva Canaria

Las Islas Canarias cuentan con 503 especies de briófitos descritas, de las cuales solo 6 son endémicas. Los antocerotes forman el grupo menos diverso, habiendo descritas sólo 6 especies, frente a las 141 de hepáticas y 356 de musgos (Arechavaleta et al. 2010). Se distribuyen por todos los pisos de vegetación de las islas, pero encuentran en la humedad de la Laurisilva el ambiente idóneo para su desarrollo, siendo aquí donde alcanzan la mayor diversidad (Del Arco-Aguilar y Rodríguez-Delgado, 2018), aunque también donde se concentran más de la mitad de los briófitos amenazados (González-Mancebo et al. 2012).

En los bosques nebulosos como la Laurisilva, adquieren especial relevancia los briófitos con carácter epífito, no solo por su abundancia, sino por el papel ecológico que juegan en la captación de humedad (Ah-Peng et al. 2017). En la Laurisilva canaria, la mayoría de briófitos epífitos se desarrollan principalmente sobre 5 árboles: *Laurus novocanariensis*, *Ilex canariensis*, *Ilex perado*, *Morella faya* y *Erica platycodon*. La especificidad de las comunidades epífitas de briófitos hacia el hospedador se establece preferentemente entre grupos de árboles con características similares que entre especies concretas (González-Mancebo et al. 2003). Entre los factores que determinan la composición y riqueza de estas comunidades destacan la disponibilidad hídrica que ofrece el hospedador (Patiño y González-Mancebo, 2011) y su edad, siendo más elevada cuanto más longevo es el árbol (Patiño et al. 2018). Hasta la fecha, sin embargo, no se ha realizado ningún estudio ecofisiológico sobre briófitos en ecosistemas canarios. Además, a escala global, la ecofisiología de antocerotes es un campo de estudio prácticamente desconocido. Esto, sumado a la cada vez más notoria importancia ecológica de los briófitos, al valor y fragilidad de los bosques de Laurisilva, y al contexto actual de cambio climático, hace de primera necesidad conocer cómo responden estos organismos a cambios en las principales variables climáticas: disponibilidad hídrica, luz y temperatura.

3. Objetivos

Por todo lo expuesto en la introducción, el objetivo general del presente Trabajo de Fin de Grado es caracterizar la respuesta ecofisiológica de tres especies de briófitos (un musgo y una hepática, ambos epífitos; y un antocerote) relativamente abundantes en una misma localidad bajo un ambiente de Laurisilva. Para la consecución del mismo, se abordaron los siguientes objetivos específicos en los que se compararán las tres especies:

1. Evaluar la actividad fotoquímica *in situ* en relación a la cantidad de luz recibida en condiciones naturales.
2. Caracterizar las relaciones hídricas y el grado de tolerancia a la desecación.
3. Determinar la tolerancia a bajas temperaturas en estado hidratado y su posible relación con la capacidad de tolerancia a la desecación.

4. Material y métodos

4.1. Sitio de estudio y material vegetal

El estudio se realizó en 3 especies de briófitos: *Anthoceros caucasicus* Steph., un antocerote; *Porella canariensis* (F. Weber) Underw. una hepática foliosa epífita; e *Isothecium myosuroides* Brid., un musgo pleurocárpico epífita. Todas ellas fueron recolectadas en las proximidades del Pico del Inglés (Parque Rural de Anaga, Tenerife), en un área aproximada de 20 m² a ambos márgenes de una antigua carretera, durante el mes de marzo de 2021 (Figura 1). La zona de muestreo, situada a unos 985 m.s.n.m. en las zonas de crestería del noroeste de Anaga, presenta un clima termomediterráneo subhúmedo caracterizado por la presencia de nieblas y precipitaciones abundantes, en torno a los 719 mm anuales; una temperatura media anual de 15 °C y una humedad media del 80,1% (Santana-Pérez, 2014). Los ejemplares recolectados de *A. caucasicus* crecían sobre tierra en talud, los de *P. canariensis* sobre individuos de *Laurus novocanariensis* mientras que los de *I. myosuroides* sobre *Erica* sp. Como material testigo de este trabajo, se depositó una muestra de cada especie en el Herbario de la Universidad de la Laguna (TFC-SEGAI), siendo sus referencias: TFC-Bry n° 24068 para *A. caucasicus*, TFC-Bry n° 24065 para *P. canariensis* y TFC-Bry n° 24066 para *I. myosuroides*. La nomenclatura adoptada en este trabajo, tanto para briófitos como para plantas vasculares ha seguido al Banco de Datos de Biodiversidad Canaria (<https://www.biodiversidadcanarias.es>).

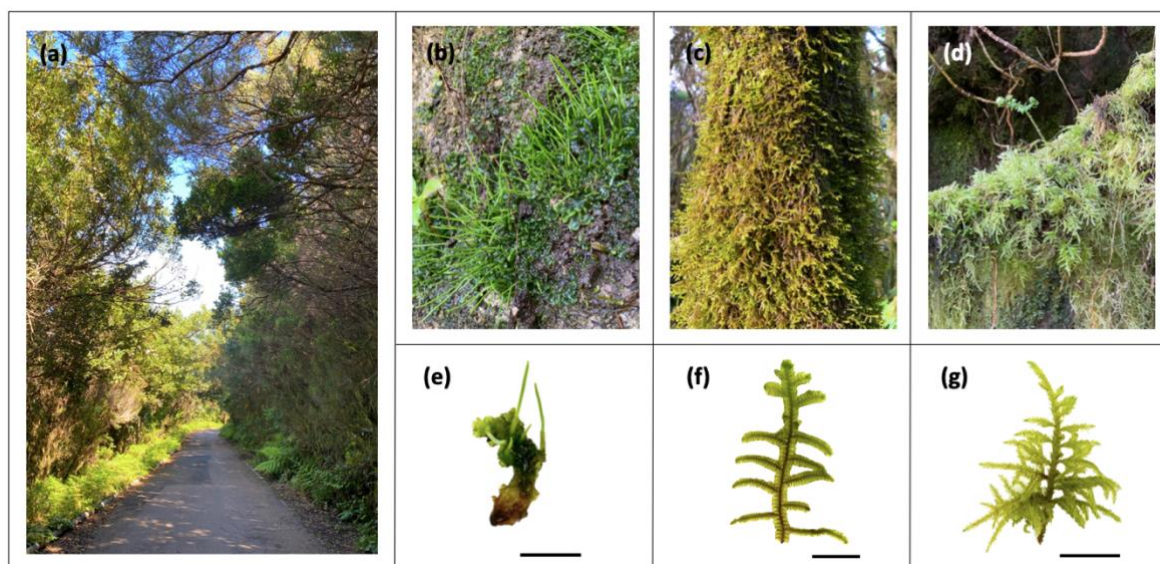


Figura 1. Área y especies de estudio. (a) Aspecto general del sitio de estudio; (b-d) *Anthoceros caucasicus*, *Porella canariensis* e *Isotheicum myosuroides* en estado natural; (e-g) Detalle de *A. caucasicus* con esporofitos, *P. canariensis* e *I. myosuroides*. Escalas: 1 cm.

El material recolectado se introdujo en bolsas plásticas tipo zip con papel humedecido en su interior, a excepción de las muestras del antocerote, que eran introducidas en recipientes plásticos con agua en su interior para evitar su desecación. Una vez recolectado, todo el material se transportó inmediatamente al laboratorio y se almacenó en nevera hasta su uso. Al menos 24 horas antes de cada experimento, el material era rehumedecido y cuidadosamente limpiado para eliminar restos de suelo u otras plantas que pudieran interferir en las medidas.

4.2. Diseño experimental

En concordancia con los tres objetivos específicos del trabajo, se realizaron tres bloques de experimentos como se describe a continuación:

Para evaluar la actividad fotoquímica en relación al ambiente lumínico se cuantificó, por un lado, la apertura del dosel vegetal sobre cada una de las especies para determinar la transmitancia a través de éste mediante la toma de fotografías hemisféricas ([apartado 4.3.](#)). Por otro lado, se analizó la eficiencia fotoquímica en respuesta a radiaciones crecientes mediante curvas rápidas de luz (detalles en [apartado 4.4.](#)). Para caracterizar las relaciones hídricas, se valoró, por un lado, el grado de tolerancia a la desecación (detalles en [apartado 4.5.](#)). Por otro lado, se realizaron curvas de presión-volumen ([sección 4.6.](#)). La respuesta a las bajas temperaturas se estudió en laboratorio sometiendo a las muestras hidratadas a distintas temperaturas bajo condiciones controladas y estimando su

tolerancia a las mismas mediante el análisis de la fluorescencia de la clorofila *a* (detalles en [apartado 4.7.](#)).

4.3. Fotografías hemisféricas

El % de transmitancia total (o apertura del dosel vegetal existente sobre cada una de las poblaciones muestreadas) se cuantificó para cada una de las poblaciones estudiadas. Para ello se tomaron fotos hemisféricas del dosel con una cámara digital Nikon Coolpix 4500 (Nikon, Japón) equipada con un objetivo conversor Ojo de pez Nikon FC-E8 (Nikon, Japón). Las fotos hemisféricas se analizaron con Gap Light Analyzer (GLA) v.2.0 para determinar la transmitancia total a través del dosel vegetal para el período anual completo, después de especificar la latitud y elevación de la localidad, así como la localización del norte en cada una de las fotografías. Se analizaron un total de 4 fotografías para cada especie.

4.4. Curvas rápidas de luz

Las curvas rápidas de luz (CRL) son una útil herramienta para evaluar la actividad fotoquímica y para caracterizar la actividad fotosintética potencial de la planta en un amplio rango de intensidades lumínicas, al representar la tasa de transporte electrónico del cloroplasto (conocida por su abreviatura en inglés como ETR) frente a la irradiancia (Ralph y Gademan, 2005). En esencia, durante las CRL, se somete a las muestras a intensidades lumínicas crecientes de varios segundos de duración (*steps*) y el rendimiento cuántico del fotosistema II (ϕ PSII) se estima al final de cada uno de ellos mediante medidas de fluorescencia de la clorofila *a*. Las CRL se realizaron *in situ* con un fluorímetro MINI-PAM (Walz GmbH, Alemania), y constaron de 9 puntos de medida: el inicial, sin luz actínica; y los 8 siguientes, en los que, tras el pulso de luz saturante, se incrementa la intensidad de la luz actínica (más detalles en la [sección 4.9.](#)). Tras cada pulso, el material vegetal emite una señal de fluorescencia. Se determinan así el valor de fluorescencia basal bajo iluminación (F') y el de fluorescencia máxima bajo iluminación (F_m'), con los que se calcula ϕ PSII, parámetro con el cual se obtiene la ETR, según la siguiente ecuación:

$$ETR = \phi\text{PSII} \cdot \text{PPFD} \cdot 0,5 \cdot 0,84$$

Donde el ϕPSII es el rendimiento cuántico efectivo del PSII, PPFD es la intensidad lumínica (abreviatura del inglés referida a la densidad de flujo de fotones de longitudes de onda relevante para la fotosíntesis) incidente en el material vegetal, 0,5 es un factor que asume que la excitación ocurre por igual en ambos fotosistemas (PSII y PSI), y 0,84 es un factor que indica que la fracción de luz incidente que es realmente absorbida por los fotosistemas es aproximadamente el 84%.

Una vez obtenidas las curvas PPFD vs ETR se procedió a su ajuste polinomial (Solver, Microsoft Excel, 2010) según Smith (1936). A partir de cada curva ajustada, se obtuvieron matemáticamente para cada réplica los siguientes parámetros: la ETR máxima (ETR_{max}); la intensidad lumínica de saturación del PSII (PPFD_{sat}) y la eficiencia cuántica aparente (AQE). Se midieron un total de 6 réplicas para cada especie (Figura 2).

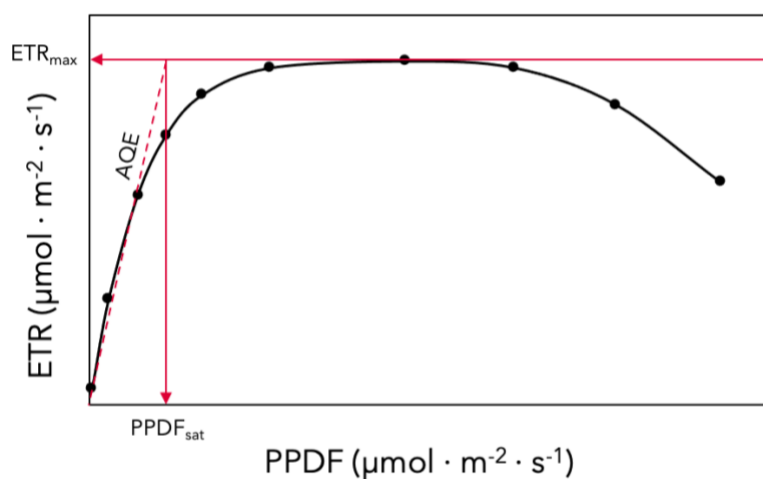


Figura 2. Ejemplo gráfico de una curva rápida de luz en la que se representan de color rojo los distintos parámetros obtenidos. El AQE corresponde a la pendiente de la parte inicial de la curva.

4.5. Ensayo de tolerancia a la desecación

El ensayo de tolerancia a la desecación se realizó mediante el *Falcon Test*, el cual ha demostrado ser capaz de distinguir entre briófitos tolerantes a la desecación (TD) y briófitos sensibles a la desecación (SD), descrito en López-Pozo et al. (2019). El test se basa en la deshidratación del material vegetal a tres condiciones de humedad relativa (HR) distintas (80%, 50% y <10%) en tubos Falcon® de 50 mL y su posterior rehidratación. Para evaluar su tolerancia a la desecación se determinó el peso y la eficiencia fotoquímica máxima (F_v/F_m , detalles en [sección 4.9.](#)), parámetro que se relaciona directamente con la máxima eficiencia fotoquímica del fotosistema II (PSII)

(Maxwell y Johnson, 2000), de cada réplica al inicio del experimento, 24 horas después de la deshidratación y 24 horas después de la rehidratación. Tras las medidas en la rehidratación, las muestras se incubaron en estufa a 75°C durante 2-3 días para la posterior estimación del contenido hídrico relativo en la deshidratación y en la rehidratación (detalles en [sección 4.8.](#)).

Las condiciones de HR se consiguieron con soluciones saturadas de NaCl (para la de 80%) y de MgCl₂ (para la de 50%), mientras que con sílica gel se establece una HR inferior al 10%. Se añadió además un tratamiento control con agua destilada (HR ≈ 100%). Cada tubo Falcon[®] se rellenó con 15 mL de desecante y 0,01-0,1 g de material vegetal, previamente hidratado, eran introducidos en los tubos en una malla plástica con rejilla y cerrados herméticamente. La rejilla permitía el equilibrio de la atmósfera interna y la muestra a la HR deseada, y a su vez evitaba el contacto de la planta con el desecante. Se utilizaron 3 réplicas por tratamiento y especie.

4.6. Curvas presión-volumen

Las curvas de presión-volumen fueron realizadas con un psicrómetro de termopar (WP4C Dewpoint Potential Meter, METEOR Group, Estados Unidos). Cada curva se empezó con muestras hidratadas a turgor tomándose réplicas de aproximadamente 0,1 g cada una para la hepática, 0,14 g para el musgo, y 0,6 g para el antocerote. En primer lugar, se determinó el peso turgente de cada réplica (ver la [sección 4.8.](#)). Inmediatamente después, se colocaron en un pocillo de acero inoxidable y se introdujeron en la cámara del psicrómetro para la determinación del potencial hídrico (Ψ). Antes de la realización de cada curva, el psicrómetro era calibrado con una solución de KCl 0,5 mol/kg. Tras la primera determinación del Ψ , el material vegetal se dejó secar al aire y, a distintos tiempos durante la deshidratación, se medían su peso (peso fresco) y su potencial hídrico correspondiente. Tras 10-12 medidas, las muestras se incubaron en la estufa para obtención de su peso seco y posterior estima de contenido hídrico relativo (CHR) (detalles en [sección 4.8.](#)).

El análisis de las curvas P-V se realizó siguiendo el método descrito por Sack y Pasquet-Kok (2011) y cuya utilidad para briófitos ha sido evidenciada por Perera-Castro et al. (2021). Brevemente, y para cada réplica se obtuvo, por un lado, la relación entre la masa de agua en el interior de la muestra y el potencial Ψ_w correspondiente, y a partir de esta

relación se estimó matemáticamente el contenido hídrico a saturación (CHS). Por otro lado, se obtuvo la relación entre el % relativo de pérdida de agua (1-CHR) y el inverso del potencial hídrico ($1/\Psi$) (Figura 3). A partir de esta relación, se estimaron matemáticamente, los potenciales osmóticos (Ψ_o) y de pared (Ψ_p), así como el punto de pérdida de turgor (abreviado en inglés: TLP). Finalmente se calculó el módulo de elasticidad de la pared (ϵ) como la pendiente entre el Ψ_p y el CHR. Se midieron un total de 3-4 curvas por especie.

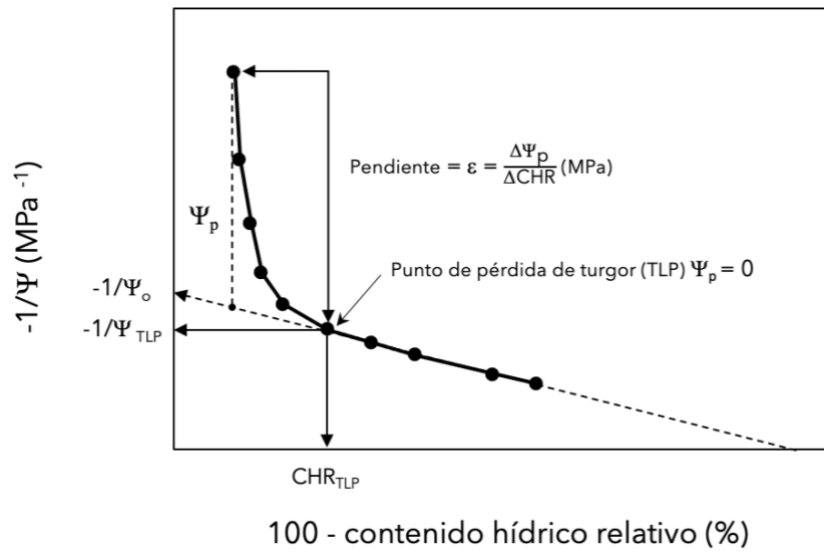


Figura 3. Ejemplo de Curva P-V en la que se representa de manera gráfica los distintos parámetros que se pueden obtener de ella. El punto de pérdida de turgor (TLP) corresponde al punto en el que el potencial de pared (Ψ_p) se hace 0 y el potencial hídrico (Ψ) pasa a depender exclusivamente del potencial osmótico (Ψ_s), a partir de este punto, la curva se vuelve una recta. La coordenada X e Y del TLP se corresponden con el Ψ y CHR en el TLP respectivamente (Ψ_{TLP} , CHR_{TLP}). El punto de corte con el eje Y de la pendiente de la región lineal de la curva corresponde con el potencial osmótico a saturación (Ψ_o). A partir de la distancia entre un punto de la región inicial de la curva con el punto de corte con la recta imaginaria que atraviesa la región lineal de la curva (línea discontinua) se puede calcular el Ψ_p como $\Psi - \Psi_s$ ($\Psi = \Psi_s + \Psi_p$). La pendiente de la región inicial de la curva se relaciona con el módulo de elasticidad de la pared celular (ϵ). Adaptado de Azcon-Bieto (2010).

4.7. Test de tolerancia a bajas temperatura

El efecto de la temperatura, en los tejidos hidratados de las muestras, se estimó mediante análisis de la fluorescencia de la clorofila *a*. En concreto, se empleó el parámetro F_v/F_m el cual es ampliamente utilizado como estimador de viabilidad en este tipo de estudios (Perera-Castro et al. 2018, González-Rodríguez et al. 2021). Todas las medidas de fluorescencia de este experimento se realizaron con un fluorímetro IMAGING-PAM M-Series MINI-version (Walz GmbH, Alemania) (detalles en [sección 4.9.](#)).

El día anterior a cada medida, el material vegetal era rehumedecido e introducido en placas de Petri cubiertas con papel húmedo para mantener un estado hídrico favorable. En el caso de *A. caucasicus*, los fragmentos de talo empleados para el análisis eran mantenidos en placas de Petri con agua destilada. Tras 24 horas, los fragmentos de talo se pegaron con cinta adhesiva a pequeñas láminas de acetato por cada uno de sus extremos terminales (2 fragmentos por lámina) y se procedió a medir eficiencia fotoquímica máxima antes del tratamiento ($F_v/F_m t_0$). Tras esta primera medida, las láminas de acetato con el material vegetal se metieron en una bolsa plástica tipo zip con papel de secar húmedo para evitar la deshidratación del tejido. Finalmente, las bolsas se introducían en el baño térmico (Hetofrig BC11E, Heto, Dinamarca) a la temperatura deseada por 30 minutos (0, -5, -10 y -15 °C). La temperatura era controlada a lo largo del experimento con un termopar digital (Thandar TH 302, Thurlby Thandar Instruments, Reino Unido). Tras el baño térmico, se medía la fluorescencia de cada muestra para la determinación de la F_v/F_m y, acto seguido, se introducían en una placa de Petri con papel humedecido y se incubaban a 19°C para comprobar si, tras 24 horas, el tejido se recuperaba del daño o no. En cada tratamiento térmico se usaron 6 réplicas por especie.

4.8. Determinación del contenido hídrico relativo

Todas las medidas de peso de este estudio se realizaron con una balanza analítica AB54-S (METTLER TOLEDO, España) de 0,1 mg de precisión. Antes de cada experimento, las muestras vegetales se sumergieron brevemente en agua destilada y el exceso de agua fue eliminado con papel de filtro. Posteriormente, se introdujeron en placas de Petri cubiertas con papel de secar humedecido para mantener una atmósfera saturada de agua. Los briófitos se mantuvieron en las placas de Petri al menos 24 horas antes de realizar los análisis. Pasado este tiempo, el material fue sacado de las placas y pesado en una balanza de precisión para la determinación del peso turgente (P_t). Durante la deshidratación de las muestras en el test de tolerancia a desecación y en las curvas presión-volumen, el peso fresco (P_f) de las muestras era tomado a distintos intervalos. Al finalizar cada experimento, las muestras eran medidas en la estufa durante 2 días a 75°C. Finalizado este tiempo, se midió su peso seco (P_s). Con estos tres datos (P_t , P_f y P_s) se calcula el contenido hídrico relativo según la siguiente expresión:

$$\text{CHR (\%)} = \frac{(P_f - P_s)}{(P_t - P_s)} \cdot 100$$

4.9. Medidas de fluorescencia de la clorofila *a*

Los análisis de la fluorescencia de la clorofila *a* se realizaron con dos tipos de fluorímetros: un MINI-PAM (Walz GmbH, Alemania), para las curvas rápidas de luz; y un IMAGING-PAM (Walz GmbH, Alemania) para los ensayos de tolerancia a la desecación y bajas temperaturas.

Las CRL, al hacerse *in situ*, se realizaron sobre material vegetal aclimatado al ambiente lumínico del momento. Antes de iniciar las curvas, el material era colocado en una pinza Leaf-Clip Holder 2030-B (Walz GmbH, Alemania), provista de un sensor para medir la radiación fotosintéticamente activa (PPFD) incidente sobre la muestra durante la medida. El MINI-PAM emplea una luz LED roja con un pico de emisión a 650 nm como luz de medida para la determinación de la fluorescencia basal (F). Posteriormente, se aplica un pulso de luz saturante con el que inhibe momentáneamente la vía fotoquímica, maximizando la emisión de fluorescencia (F_m'). A partir de estos parámetros se obtiene el rendimiento cuántico del fotosistema II (φPSII) como resultado de la siguiente expresión:

$$\phi\text{PSII} = \frac{\Delta F}{F_m'} = \frac{F_m' - F}{F_m'}$$

Tras la aplicación del pulso saturante, el material vegetal era sometido a luz actínica de intensidad creciente tras cada punto de la curva, salvo en el inicial, que corresponde al punto de semi-oscuridad en el que la luz actínica permanece apagada. La duración entre pulso y pulso era de 15 segundos. Todas las CRL se programaron con el software asociado al MINI-PAM, WinControl (Walz GmbH, Alemania).

El uso del Imaging-PAM en los ensayos de tolerancia a la desecación y a las bajas temperaturas se justifica por la ventaja que este ofrece sobre el MINI-PAM al permitir visualizar la distribución espacial de los cambios en el comportamiento fotoquímico del material vegetal. Al igual que el MINI-PAM, el Imaging-PAM emplea un pulso de luz saturante para determinar la eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II (F_v/F_m). Antes de comenzar con las medidas, el material vegetal era adaptado a oscuridad durante al menos 30 minutos. En primer lugar, se calculó la fluorescencia basal (F_o, para material adaptado a oscuridad). Tras la aplicación del pulso de luz saturante se determinó la fluorescencia máxima (F_m). A partir de estos dos parámetros, se obtuvo la F_v/F_m según la siguiente ecuación:

$$F_v/F_m = \frac{F_m - F_o}{F_m}$$

Finalmente, se obtiene una imagen de la muestra en la que cada pixel corresponde a un valor de F_v/F_m (de 0 a 1), representado con una escala arbitraria de color. A efectos de análisis, se consideró toda el área de la muestra para el cálculo de la F_v/F_m final.

4.10. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS Statistics (IBM, Estados Unidos). Previo a cualquier análisis, se testó la normalidad y la homocedasticidad de cada conjunto de datos mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y el test de Levene respectivamente. Cuando los datos seguían una distribución normal, las diferencias estadísticas entre tratamientos y/o especies se determinaron con un ANOVA de una vía más un test de Tukey como prueba *post-hoc*; en caso contrario, se empleó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis. En todos los casos, se consideraron diferencias estadísticamente significativas con un p-valor inferior a 0,05.

5. Resultados

5.1. Análisis de la transmitancia total

Una fotografía hemisférica representativa del dosel vegetal sobre cada especie se muestra en la Figura 4. Tras el análisis de las fotografías, se hallaron diferencias significativas en el % de transmitancia total del dosel vegetal sobre los ejemplares muestreados de *I. myosuroides* y *A. caucasicus* con respecto a los de *P. canariensis*. En promedio, a través del dosel existente sobre los primeros se filtra una cantidad de luz significativamente inferior a la que se filtra a través del dosel sobre *P. canariensis* (Tabla 1).



Figura 4. Fotografías hemisféricas del dosel vegetal sobre: (a) *A. caucasicus*; (b) *P. canariensis*; (c) *I. myosuroides*. En los tres casos, el norte está situado en la parte superior de la fotografía.

Tabla 1. Transmitancia total (%) del dosel vegetal sobre cada una de las especies estudiadas. Se muestran los valores medios \pm error estándar (n=4)

	<i>A. caucasicus</i>	<i>P. canariensis</i>	<i>I. myosuroides</i>
Transmitancia total (%)	12,17 \pm 1,70 ^b	20,65 \pm 0,17 ^a	13,57 \pm 1,02 ^b

5.2. Actividad fotoquímica

Un ejemplo representativo de las CRL obtenidas para cada especie, así como su ajuste se muestra en la Figura 5. Todas las réplicas de las CRL de cada especie presentaron un buen ajuste en su parte inicial, pero a irradiancias más altas los valores de ETR disminuyeron, alejándose moderadamente del ajuste (Figura 5). Para todos los parámetros derivados de las CRL se hallaron diferencias significativas entre *A. caucasicus* y las dos otras especies (Tabla 2). En las tres especies, la saturación del PSII se produce en un rango de 200-300 $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$, siendo *A. caucasicus* el que presentó el mayor valor de PPFD_{sat} (287 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). *A. caucasicus* mostró un AQE y un ETR_{max} significativamente mayores que *P. canariensis* e *I. myosuroides*. En términos generales, *A. caucasicus* fue la especie que mostró un mayor rendimiento en el uso fotoquímico de la luz absorbida y las mayores tasas de transporte electrónico, mientras que *P. canariensis* e *I. myosuroides* presentaron un comportamiento fotoquímico muy similar.

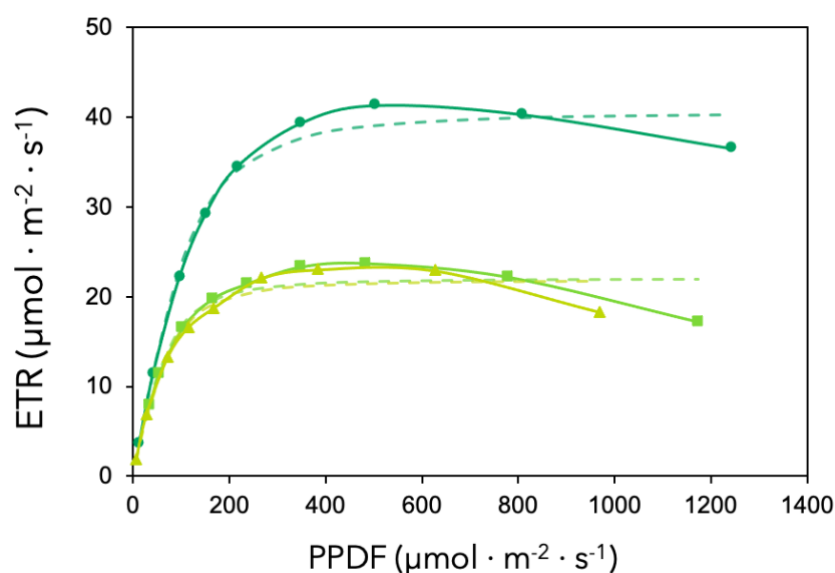


Figura 5. Curvas rápidas de luz de *A. caucasicus* (●), *P. canariensis* (■), *I. myosuroides* (▲), en líneas continuas. Para cada curva se muestra su ajuste correspondiente en línea discontinua. Se muestra una réplica por especie.

Tabla 2. Parámetros derivados de las CRL. Se muestran los datos medios \pm error estándar (n=6). Para un mismo parámetro las letras indican diferencias significativas entre especies. La eficiencia cuántica aparente (AQE) se expresa en μmol de fotones utilizados en la vía fotoquímica por μmol de fotones absorbidos por el PSII.

	<i>A. caucasicus</i>	<i>P. canariensis</i>	<i>I. myosuroides</i>
ETR _{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	40,20 \pm 3,78 ^a	20,85 \pm 0,31 ^b	21,27 \pm 0,25 ^b
PPFD _{sat} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	287 \pm 23 ^a	192 \pm 6 ^b	208 \pm 11 ^b
AQE	0,288 \pm 0,008 ^a	0,225 \pm 0,008 ^b	0,214 \pm 0,009 ^a

5.3. Tolerancia a la desecación

Los resultados del test de desecación (*Falcon Test*) se muestran en la figura 6. El CHR de las muestras disminuyó considerablemente tras la deshidratación en los tres tratamientos (por debajo del 6,5 %), sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre especies. Por el contrario, la respuesta tras la rehidratación fue heterogénea entre especies, pero no entre tratamientos. En promedio, *P. canariensis* fue la especie con mayor recuperación de CHR (82% del inicial), siendo ampliamente superior a la de *A. caucasicus* (19% en promedio) y a la de *I. myosuroides* (37% en promedio) en todos los tratamientos.

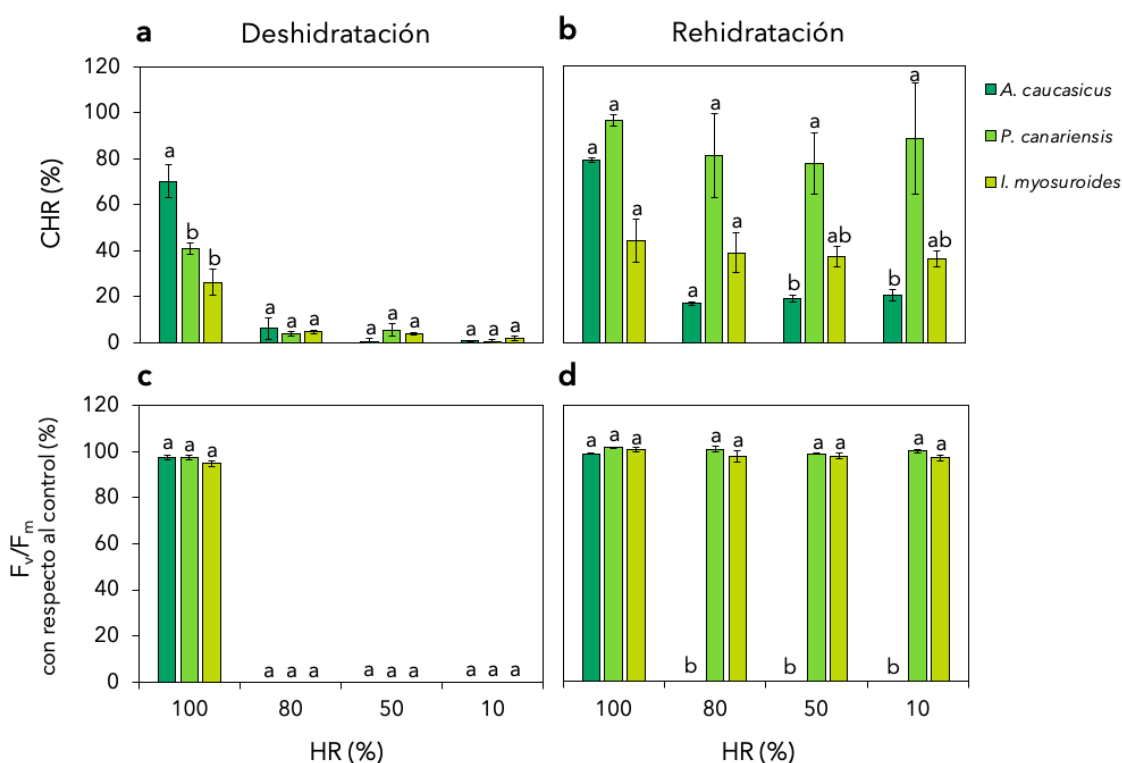


Figura 6. Resultados del *Falcon Test*. (a) Contenido hídrico relativo (%) de cada especie tras 24 horas en cada tratamiento de humedad relativa (HR); (b) Contenido hídrico relativo (%) de cada especie después de 24 horas en rehidratación. (c) F_v/F_m (%) con respecto a los valores iniciales) tras la deshidratación en las 4 HR ensayadas; (d) Recuperación promedio del F_v/F_m (% de los valores iniciales) tras 24 horas en rehidratación. Cada barra muestra el valor medio \pm error estándar (n=3). Las letras indican diferencias significativas entre especies dentro de un mismo tratamiento.

En las tres especies, los valores iniciales de F_v/F_m eran superiores o cercanos a 0,7 (Tabla 1). Los valores de F_v/F_m tras la deshidratación y rehidratación se expresan, en la Figura 6, como (%) respecto al inicial. Tras 24 horas, las tres especies sufrieron una reducción total de su rendimiento fotoquímico máximo en los tres tratamientos de HR (80, 50 y <10%). Tras la rehidratación, *P. canariensis* e *I. myosuroides* recuperaron prácticamente la totalidad de su F_v/F_m inicial: el 100% ($100 \pm 0,55$) y 97% ($97,63 \pm 0,26$) respectivamente, en promedio con los tres tratamientos de HR. No se hallaron diferencias entre estas dos especies en ninguno de los tratamientos. Por el contrario, *A. caucasicus* no logró recuperar su actividad fotoquímica en ninguno de los tres tratamientos. En los tratamientos control (HR \approx 100%), las tres especies mantuvieron valores casi idénticos a los de su F_v/F_m inicial.

Tabla 3. Valores de F_v/F_m inicial de las especies en cada tratamiento del *Falcon Test*. Los datos se expresan como media \pm error estándar (n=3). (100 = tratamiento control con agua; 80 = NaCl; 50 =MgCl₂; <10 = sílica gel). Las letras indican diferencias significativas entre especies dentro de un mismo tratamiento.

Especie	HR (%)			
	100	80	50	10
<i>A. caucasicus</i>	0,721 \pm 0,014 ^a	0,715 \pm 0,002 ^a	0,720 \pm 0,001 ^a	0,713 \pm 0,006 ^a
<i>P. canariensis</i>	0,703 \pm 0,005 ^a	0,694 \pm 0,011 ^a	0,684 \pm 0,004 ^b	0,698 \pm 0,010 ^{ab}
<i>I. myosuroides</i>	0,637 \pm 0,002 ^b	0,641 \pm 0,010 ^b	0,651 \pm 0,010 ^c	0,645 \pm 0,022 ^b

5.4. Relaciones hídricas

Las curvas P-V de las tres especies se muestran en la Figura 7 y los parámetros derivados de ellas en la Tabla 4. *A. caucasicus* presentó los valores más bajos entre las tres especies para todos los parámetros estudiados, salvo para el contenido hídrico a saturación (CHS), el cual es significativamente superior ($33,22 \pm 1,82$ g H₂O \cdot g⁻¹ P_s) al de *P. canariensis* ($3,32 \pm 0,25$) e *I. myosuroides* ($3,49 \pm 0,22$) (Tabla 4).

De las tres especies estudiadas, *A. caucasicus* presentó el valor más alto de Ψ_0 ($-0,39 \pm 0,04$ MPa) y el más pequeño de ϵ ($0,63 \pm 0,17$ MPa), mientras que *P. canariensis* presentó el valor de Ψ_0 más alto y el valor de ϵ más alto. A pesar de la variación existente en estos parámetros, las tres especies presentan un CHR_{TLP}, estadísticamente similar (49,28 % en promedio). Sin embargo, el potencial hídrico correspondiente a ese punto de pérdida de turgor fue muy diferente en las tres especies, siendo *A. caucasicus* la especie que pierde

su turgor a potenciales hídricos más positivos y *P. canariensis* la que soporta el potencial hídrico más negativo antes de perder su turgor.

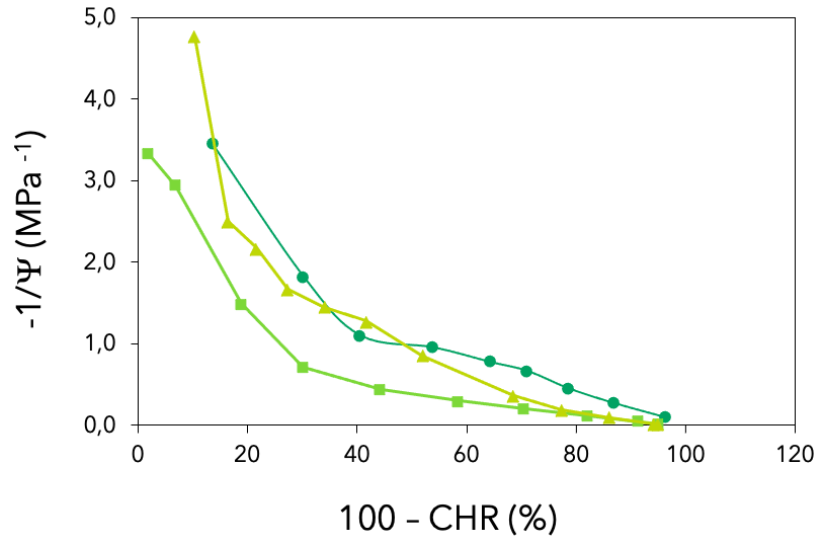


Figura 7. Curvas P-V representativas de *A. caucasicus* (●), *P. canariensis* (■) e *I. myosuroides* (▲)

Tabla 4. Parámetros de las relaciones hídricas de los briófitos estudiados. Los datos en la tabla se muestran como la media ± error estándar. (n=3). Las letras indican diferencias significativas entre especies para un mismo parámetro.

	<i>A. caucasicus</i>	<i>P. canariensis</i>	<i>I. myosuroides</i>
CHS (g H ₂ O · g P _s ⁻¹)	33,22 ± 1,82 ^a	3,32 ± 0,25 ^b	3,49 ± 0,22 ^b
Ψ _o (MPa)	-0,394 ± 0,041 ^b	-1,241 ± 0,146 ^a	-0,634 ± 0,037 ^b
Ψ _{TLP} (MPa)	-0,857 ± 0,086 ^b	-2,513 ± 0,308 ^a	-1,422 ± 0,080 ^b
CHR _{TLP} (%)	47,30 ± 0,62 ^a	51,64 ± 1,41 ^a	48,90 ± 1,27 ^a
ε (MPa)	0,630 ± 0,171 ^b	1,942 ± 0,313 ^a	0,773 ± 0,061 ^{ab}

5.5. Efecto de las bajas temperaturas

En las tres especies, los valores iniciales de F_v/F_m eran superiores o cercanos a 0,7 (Tabla 5). Los valores de F_v/F_m tras el tratamiento térmico y el periodo de recuperación se expresaron en (%) respecto al F_v/F_m inicial antes del baño, tal y como se muestra en la Figura 8. En términos generales, se observa una mayor sensibilidad a las bajas temperaturas en *A. caucasicus* que en las otras dos especies, presentando graves reducciones en su F_v/F_m tras los tratamientos de -10 y -15°C (26,75 ± 8,62 % y 15,13 ± 6,93 % respectivamente), de los cuales no se recupera pasadas 24 horas.

Tanto *P. canariensis* como *I. myosuroides* exhibieron gran capacidad para tolerar todas las temperaturas ensayadas en este experimento, sufriendo leves reducciones en su F_v/F_m tras la exposición al frío, pero de las cuales lograban alcanzar, tras el periodo de

recuperación, valores cercanos a los iniciales (>85% del F_v/F_m inicial en todos los tratamientos). No se encontraron diferencias significativas entre estas dos especies en ninguno de los tratamientos térmicos, salvo en la recuperación tras la exposición a 0°C.

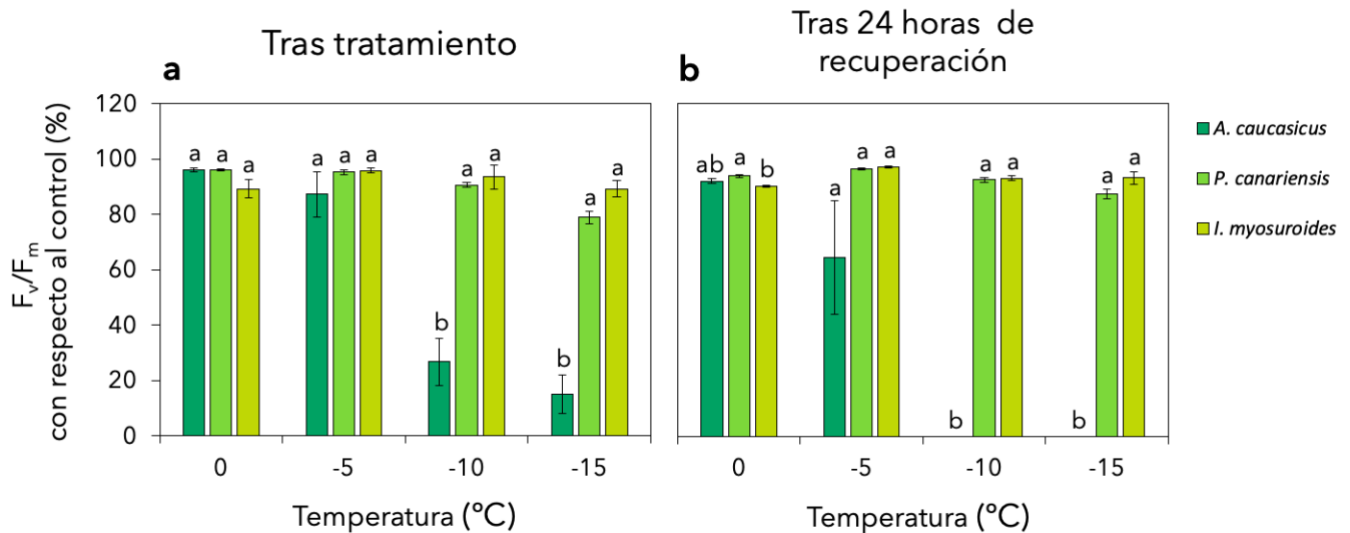


Figura 8. Resultados del test de tolerancia a bajas temperaturas. (a) Reducción media del F_v/F_m (% con respecto a los valores iniciales) bajo las 4 temperaturas ensayadas; (b) Recuperación promedio del F_v/F_m (% de los valores iniciales) tras 24 horas en rehidratación. Cada barra muestra el valor medio \pm error estándar ($n=6$). Las letras indican diferencias significativas entre especies bajo un mismo tratamiento.

Tabla 5. Valores de F_v/F_m inicial de las especies en cada tratamiento del test de tolerancia al frío. Se muestran los datos medios \pm error estándar ($n=3$). Las letras indican diferencias significativas entre especies dentro de un mismo tratamiento

Especie	Temperatura (°C)			
	0	-5	-10	-15
<i>A. caucasicus</i>	0,772 \pm 0,005 ^a	0,721 \pm 0,006 ^a	0,733 \pm 0,004 ^a	0,728 \pm 0,008 ^a
<i>P. canariensis</i>	0,733 \pm 0,003 ^{ab}	0,714 \pm 0,003 ^a	0,696 \pm 0,008 ^{ab}	0,705 \pm 0,003 ^a
<i>I. myosuroides</i>	0,698 \pm 0,001 ^b	0,633 \pm 0,005 ^b	0,642 \pm 0,009 ^b	0,655 \pm 0,007 ^b

6. Discusión

Por primera vez, se ha estudiado la ecofisiología de briófitos en ecosistemas canarios. Los resultados obtenidos en este trabajo constituyen una primera aproximación al funcionamiento de los briófitos en un ambiente natural de Laurisilva. Como se nombró en la introducción, teniendo en cuenta el papel ecológico que juegan los briófitos en los ecosistemas (Turetsky, 2003), sumado al valor de los bosques de Laurisilva y su actual declive debido al cambio climático (He et al. 2016), los datos de este estudio pueden resultar útiles para el desarrollo de protocolos y/o estrategias dirigidas de conservación y

protección, tanto de estas especies como de los bosques de Laurisilva. Este estudio aporta, además, información novedosa en otro ámbito. El conocimiento sobre la biología de los antocerotes ha incrementado considerablemente en los últimos años, sin embargo, son pocos los estudios publicados sobre su fisiología. Recientemente, se ha puesto de manifiesto las potenciales aplicaciones biotecnológicas de los antocerotes en el incremento en la fijación de carbono (Li et al. 2017) y nitrógeno (Frangedakis et al. 2020) en plantas de interés agronómico debido a la presencia de pirenoides (Vaughn et al. 1990) y cianobacterias simbióticas (Adams y Duggan, 2008). En este sentido, los datos aportados en este estudio contribuyen en especial al conocimiento sobre la biología de los antocerotes, y pueden ser de utilidad para futuras investigaciones en este campo.

6.1. Briófitos y la luz

Los montes de Laurisilva son formaciones boscosas frondosas en las que solo el 4,2% de la radiación global incidente llega al suelo (Aschan et al. 1994). No obstante, estos datos no son totalmente comparables a los obtenidos en el presente estudio por dos motivos: (1) porque los análisis de la transmitancia global fueron realizados a la altura de las poblaciones muestreadas y no a la altura del suelo; y (2) por la presencia en el área de estudio de una carretera asfaltada que divide el bosque en dos. Las fotografías hemisféricas fueron tomadas en poblaciones presentes a ambos márgenes de esta carretera. La presencia de carreteras puede cambiar drásticamente las condiciones microclimáticas de los ecosistemas mediante variaciones en la cobertura del dosel vegetal y la cantidad de luz que penetra a través de él (Coffin, 2007). En este sentido, Delgado et al. (2007) determinó que, en zonas de Laurisilva, la luz incidente a nivel del suelo es significativamente superior en los bordes de carretera ($2000 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ PPF) que en el interior del bosque. Esta cantidad de luz es ampliamente superior a la cual los tres briófitos estudiados en el presente TFG saturan el flujo electrónico.

Se encontraron diferencias cuantitativas en la cantidad de luz que se filtra a través del dosel vegetal de *I. myosuroides* y *A. caucasicus* con respecto al de *P. canariensis*, sin embargo, curiosamente, no se hallaron diferencias significativas en ningún parámetro derivado de las CRL entre *P. canariensis* e *I. myosuroides*. Las CRL de los tres briófitos estudiados presentaron características comunes: buen ajuste en su parte inicial, saturación a bajas irradiancias ($200\text{-}300 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$) y fotoinhibición a intensidades de luz moderadas ($400\text{-}600 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$), siendo esto último menos evidente en *A. caucasicus*.

Este comportamiento es bastante similar al descrito para briófitos de ambientes sombríos de la Laurisilva azoriana (Gabriel y Bates, 2003) y de bosques húmedos de África e Inglaterra (Proctor, 2002), muchos de los cuales incluso alcanzan la saturación del ETR a PPFD significativamente más bajas ($<100 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$). *A. caucasicus* presentó una mayor variabilidad en su respuesta a la luz con valores de ETR_{max} situados en un rango de $29\text{-}54 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$. Además, es, entre las tres especies, la que mayor eficiencia tiene en el uso de los fotones absorbidos, al presentar un AQE significativamente superior al de *P. canariensis* e *I. myosuroides*, a pesar ser la especie que recibe la cantidad de luz más baja ($12,17 \pm 1,70 \%$). Estos resultados sugieren que *A. caucasicus* es la especie mejor adaptada a ambientes sombríos, al ser capaz de exhibir un espectro más amplio de actividad fotoquímica (transporte electrónico para la fotosíntesis) a condiciones lumínicas bajas. Sin embargo, no experimentó fenómenos de fotoinhibición tan marcados como los *P. canariensis* e *I. myosuroides*. Se hipotetiza que, en briófitos de sombra, los procesos de fotoinhibición a PPFD moderados se deben a la incapacidad de mitigar la producción de especies reactivas de oxígeno debido a la presencia mecanismos de disipación energética débiles (Proctor y Bater, 2018).

Los antocerotes constituyen, entre las plantas terrestres, un grupo excepcional al ser los únicos en disponer de un mecanismo concentrador de CO_2 (MCC) basado en la presencia de pirenoides (Hanson et al. 2002). Los pirenoides son agregaciones de la enzima ribulosa-1,5-bisfosfato-carboxilasa-oxigenasa (Rubisco) presente en los cloroplastos de muchas algas y algunos géneros de antocerotes (Vaughn et al. 1990; 1992) entre ellos, el género *Anthoceros* (Villareal y Renner, 2012). La presencia de pirenoides en antocerotes supone la expresión de un metabolismo fotosintético diferente al presente en musgos y hepáticas (Smith y Griffith, 1996; Hanson et al. 2002), y que podría explicar las diferencias en la actividad fotoquímica entre ellas. La fijación de carbono en musgos y hepáticas con tejidos fotosintéticos monoestratificados, como *P. canariensis* e *I. myosuroides*, está limitada por la resistencia que oponen sus tejidos a la difusión del CO_2 (Carriquí et al. 2019). Por el contrario, en las plantas con pirenoide, las reservas de CO_2 podrían proporcionar una mayor capacidad para aprovechar PPFDs más altos sin saturar el flujo de electrones a través de la cadena transportadora. Es por ello que cabría esperar que estas especies fueran menos propensas a la fotoinhibición (Guidi et al. 2019), sin embargo, hasta el momento no existen evidencias que confirmen dicha hipótesis.

6.2. Briófitos y el agua

Los resultados obtenidos en el *Falcon Test* sugieren que *P. canariensis* e *I. myosuroides* son especies tolerantes a la desecación al recuperar los valores de F_v/F_m iniciales tras la rehidratación. Por el contrario, la no recuperación del CH y de la actividad fotoquímica en *A. caucasicus* tras la rehidratación evidencian que durante la deshidratación se producen daños celulares irreversibles que le impiden la actividad metabólica normal tras la rehidratación. Por lo tanto, *A. caucasicus* debe considerarse una especie sensible a la desecación. Los parámetros obtenidos a partir de las curvas P-V difieren en parte con los observados por Proctor (1999). En su estudio, Proctor determinó que las hepáticas talosas presentan valores de Ψ_0 situados entre -0,4 y -0,9 MPa y valores pequeños de ϵ ; mientras que musgos y hepáticas foliosas exhiben Ψ_0 entre -1 y -1,5 MPa, y valores de ϵ elevados, lo cual se cumple para *P. canariensis* pero no para *I. myosuroides*, que presenta valores más cercanos a los obtenidos para *A. caucasicus*. De los tres briófitos estudiados, *P. canariensis* es el único capaz de mantener la turgencia de sus células a Ψ bastante negativos (inferiores a -2 MPa), esto es lógico, teniendo en cuenta que también es la que presentó el mayor contenido de solutos osmóticamente compatibles y la pared celular más rígida. Altos valores de ϵ se corresponden con paredes gruesas y rígidas, mientras que valores pequeños indican paredes finas y de gran plasticidad (Proctor, 1999). No obstante, bajo microscopio óptico, el grosor de las paredes celulares de *I. myosuroides* parece no diferir a simple vista con las de *P. canariensis*. Proctor (1999) hipotetizó que bajos valores de ϵ en especies tolerantes a la desecación podría estar relacionado con la presencia de paredes flexibles capaces de soportar grandes cambios en el volumen celular en los ciclos deshidratación-rehidratación sin sufrir daños. Por otro lado, Gonzalez-Mancebo et al. (2003), en base a las aportaciones en escurrido cortical en varias especies de la Laurisilva canaria de Aboal et al. (1999), sugirió que los árboles del género *Erica* (forofito de *I. myosuroides*) generan un microambiente más seco del generado por *Laurus novocanariensis* (forofito de *P. canariensis*). En base a lo anteriormente expuesto, la gran elasticidad mostrada por las paredes celulares de *I. myosuroides* podría representar parte de los mecanismos de tolerancia a periodos secos más frecuentes a los que *P. canariensis*, por su preferencia por sustratos y lugares más húmedos (Gonzalez-Mancebo et al. 2003; 2004), pudiera experimentar.

En lo que respecta a *A. caucasicus*, éste pierde la turgencia de sus células a Ψ muy bajos (menos de -1 MPa) y es, de las tres especies estudiadas, la que presentó un menor contenido de osmolitos y las paredes celulares más laxas. Aunque actualmente los datos

disponibles sobre relaciones hídricas de antocerotes son insuficientes, las similitudes en los valores de Ψ_o y ε de *Anthoceros agrestis* (Perera-Castro et al. 2021), con los obtenidos en este estudio para *A. caucasicus*, en relación los datos aportados por Proctor (1999) para hepáticas talosas podrían indicar rasgos ecofisiológicos comunes entre ambos grupos de briófitos, probablemente debidos a semejanzas estructurales (gametofito taloso pluriestratificado).

A. caucasicus presentó además un contenido hídrico, expresado en g de H₂O por g P_s⁻¹, significativamente superior al resto y, aunque no se cuantificó, también es la especie que presentó la menor velocidad de desecación. Bajas cinéticas de desecación y altos contenidos hídricos están relacionados con especies sensibles a la desecación (Seel et al. 1992), lo cual se correlaciona con lo observado para *A. caucasicus* en este estudio; en base a estas aportaciones, Wang y Bader (2018) sugieren que especies con estas características adoptan una estrategia basada en mantenerse húmedo el mayor tiempo posible para evitar la desecación. Curiosamente, en comparación con otros musgos y hepáticas, *A. caucasicus* presenta un alto contenido de ácidos urónicos en sus paredes celulares, entre los que destacan polímeros de un disacárido no detectado hasta el momento en ningún otro linaje de plantas terrestres (α -GlcA-(1→3)-Gal), el cual se relaciona con el incremento en la capacidad de retención de agua (Popper y Fry, 2002). En base a lo anteriormente expuesto, los datos aportados en este estudio parecen indicar que *A. caucasicus*, a pesar de ser una especie sensible a la desecación, dispone de mecanismos fisiológicos dirigidos a evitar, o al menos retrasar, la deshidratación.

6.3. Briófitos y temperatura

Los resultados obtenidos en el test de tolerancia a bajas temperaturas sugieren que *P. canariensis* e *I. myosuroides* son especies tolerantes a un amplio rango de temperaturas bajo 0 al alcanzar valores de F_v/F_m semejantes a los iniciales tras la recuperación. Por el contrario, la importante e irreversible reducción de la F_v/F_m en los tratamientos más intensos (-10 y -15°C) sugieren que *A. caucasicus*, a diferencia de las otras dos especies, es extremadamente sensible a temperaturas inferiores a -5°C.

Como se indicó en la introducción, existen evidencias de que los mecanismos de tolerancia a la desecación y al frío en briófitos son similares (Takezawa, 2018). Sin embargo, no todos los briófitos tolerantes a la desecación son tolerantes a temperaturas bajo cero en estado hidratado (Perera-Castro et al. 2020). No obstante, los resultados

obtenidos en este estudio parecen indicar que existe correlación en la tolerancia en ambos estreses para *P. canariensis* e *I. myosuroides*. Uno de los principales mecanismos de tolerancia al frío y desecación es la acumulación de azúcares osmóticamente compatibles como la sacarosa (Rütten y Sartorius, 1992). No obstante, Smirnoff (1992) comprobó que no todos los briófitos tolerantes disponen de mecanismos de acumulación inducibles, sino que, por el contrario, algunos son capaces de mantener de manera constitutiva (con o sin estrés) altos niveles de azúcares en sus tejidos. Si bien no se ha determinado si *P. canariensis* o *I. myosuroides* disponen de mecanismos de acumulación de azúcares durante su exposición a bajas temperaturas, la gran magnitud de los valores de Ψ_0 en estado hidratado indican altos niveles de osmolitos compatibles que podrían estar relacionados con su capacidad para tolerar las bajas temperaturas.

En muchas plantas vasculares, el frío provoca cambios en la composición y propiedades de la pared celular, haciéndola más gruesa, previniendo posibles daños por congelación, aumentando así su capacidad de tolerancia al frío (Rajashekar y Lafta, 1996). Recientemente, se ha puesto de manifiesto que plantas con altos valores de ϵ y, por consiguiente, con paredes rígidas, exhiben mayores grados de tolerancia a la congelación (Zhang et al. 2016); a su vez, se ha demostrado que, en algunas plantas, entre las que se incluyen algunos musgos (Lenné et al. 2010), la presencia de paredes flexibles parece ser un mecanismo de tolerancia a la congelación al permitir una rápida pérdida de agua, evitando la formación de hielo (Stegner et al. 2020). Estas dos estrategias de tolerancia basadas en las propiedades elásticas de las paredes celulares podrían estar ejemplificadas en *P. canariensis* e *I. myosuroides* respectivamente, y ser el motivo por el cual dos briófitos con ϵ significativamente distintos experimentan casi el mismo grado de tolerancia a las bajas temperaturas. En base a lo expuesto anteriormente, la incapacidad de *A. caucasicus* de tolerar temperaturas por debajo de -5°C podría deberse a la existencia de un bajo contenido en azúcares compatibles y paredes delgadas, que, sumado a su elevado contenido hídrico, podrían favorecer la formación de pequeños cristales de hielo que causarían daños celulares irreversibles.

A pesar de ser capaces de resistir temperaturas extremadamente frías, en la Laurisilva no se llega a experimentar temperaturas bajo cero (Del Arco-Aguilar y Rodríguez-Delgado, 2018). No obstante, esta información podría ser útil para desarrollar protocolos de criopreservación para posibles tareas de conservación *ex situ* bajo el contexto actual de cambio climático, en el cual los briófitos se encuentran especialmente amenazados debido

a su sensibilidad a las altas temperaturas (He et al. 2016) y en el que se espera que el área de distribución de la Laurisilva disminuya y baje en altitud como consecuencia de una menor incidencia de nieblas, aumento de las temperatura y humedad relativa (Speerling et al. 2004, Del Arco-Aguilar, 2008). En este aspecto, se hace necesario la realización de un test de tolerancia a altas temperaturas para evaluar y predecir la respuesta de estos organismos ante el cada vez más notorio incremento en la temperatura global. Dicho test ya está en realización y se ha planificado su publicación, junto con el resto de resultados obtenidos en este TFG a lo largo de este año.

7. Conclusiones

- *A. caucasicus* fue la especie fotoquímicamente más eficiente de las tres (mayor AQE, y ETR_{max}) y la mejor adaptada a la sombra al exhibir la mayor ETR_{max} bajo las condiciones lumínicas más pobres. *P. canariensis* e *I. myosuroides* presentaron una actividad fotoquímica similar entre sí, a pesar de recibir distinta cantidad de luz en sus localidades naturales.
- *A. caucasicus* fue la única especie incapaz de tolerar la desecación. Por el contrario, *P. canariensis* e *I. myosuroides* son briófitos tolerantes a la desecación.
- Para las especies estudiadas existe relación entre la capacidad de tolerar la desecación y congelación. Además, los bajos valores de Ψ_o y altos valores de ϵ se relacionan con la capacidad para tolerar ambos estreses.
- En estado hidratado *A. caucasicus* fue la especie más sensible a las bajas temperaturas (incapaz de tolerar temperaturas inferiores a $-5^{\circ}C$) mientras que *P. canariensis* e *I. myosuroides* toleraron todo el rango de temperaturas estudiadas.

Conclusions

- *A. caucasicus* was the most was the most photochemically efficient species (highest AQE and ETR_{max}) and the best shade-adapted species as it exhibited the highest ETR_{max} in the poorest light conditions. *P. canariensis* and *I. myosuroides* displayed similar photochemical activity despite the differences in the amount of light received among them.
- *A. caucasicus* was the only species unable to withstand desiccation. On the contrary, *P. canariensis* and *I. myosuroides* were desiccation tolerant bryophytes.

- When hydrated, *A. caucasicus* was the most sensitive species to low temperature being unable to tolerate temperatures below -5°C ; by contrast, *P. canariensis* and *I. myosuroides* tolerated all the temperature range tested.
- Considering all together the three species studied, a relationship between desiccation and freezing tolerances was found. In addition, for these species, low values of Ψ_0 and high values of ε seem to be relate to the ability to tolerate both stresses.

8. Bibliografía

- Aboal JR, Morales D, Hernández M, Jiménez MS. 1999.** The measurement and modelling of the variation of stem flow in a laurel forest in Tenerife. Canary Islands. *Journal of Hydrology* 221: 161-175.
- Adams DG, Duggan PS. 2008.** Cyanobacteria–bryophyte symbioses. *Journal of Experimental Botany* 59: 1047-1058.
- Ah-Peng C, Cardoso AW, Flores O, West A, Wilding N, Strasberg D, Hedderson TAJ. 2017.** The role of epiphytic bryophytes in interception, storage, and the regulated release of atmospheric moisture in a tropical montane cloud forest. *Journal of Hydrology* 548: 665-673.
- Alpert P. 2006.** Constraints of tolerance: Why are desiccation-tolerant organisms so small or rare? *Journal of Experimental Biology* 209: 1575-1584.
- Arechavaleta M, Rodríguez S, Zurita N, García, A. 2010.** Lista de especies silvestres de Canarias. Hongos, plantas y animales terrestres. Gobierno de Canarias.
- Aschan G, Jiménez MS, Morales D, Losch R. 1994.** Aspectos microclimáticos de un bosque de laurisilva en Tenerife. *Vieraea* 23: 125-141.
- Azcón-Bieto J, Talón M. 2008.** Fundamentos de Fisiología Vegetal. (Ed) *Interamericana-McGraw-Hill*, Madrid.
- Banco de Datos de Biodiversidad de Canarias.** Gobierno de Canarias <https://www.biodiversidadcanarias.es/biota/> Consultado el 3 de junio de 2021.
- Bateman RM, Crane PR, DiMichele WA, Kenrick PR, Rowe NP, Speck T et al. 1998.** Early evolution of land plants: Phylogeny, physiology, and ecology of the primary terrestrial radiation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29: 263-292.
- Cannone N, Corinti T, Malfasi F, Gerola P, Vianelli A, Vanetti I, Zaccara S, Convey P, Guglielmin M. 2017.** Moss survival through in situ cryptobiosis after six centuries of glacier burial. *Scientific Reports* 7: 4438.
- Carriquí M, Roig-Oliver M, Brodribb TJ, Coopman R, Gill W, Mark K et al. 2019.** Anatomical constraints to non-stomatal diffusion conductance and photosynthesis in lycophytes and bryophytes. *New Phytologist* 222: 1256-1270.
- Coffin AW. 2007.** From roadkill to road ecology: A review of the ecological effects of roads. *Journal of Transport Geography* 15: 396-406.
- Crane PR, Kenrick P. 1997.** The origin and early evolution of plants on land. *Nature (London)* 389: 33-39.
- Del Arco-Aguilar M. 2008.** La flora y la vegetación canaria ante el cambio climático actual. En Afonso-Carrillo, J. (Ed.), *Naturaleza amenazada por los cambios en el clima*. 105-140.
- Del Arco-Aguilar M, Rodríguez-Delgado O. 2018.** Vegetation of the Canary Islands. (Ed) *Springer International Publishing*, Cham.
- Delgado JD, Arroyo NL, Arévalo JR, Fernández-Palacios JM. 2007.** Edge effects of roads on temperature, light, canopy cover, and canopy height in laurel and pine forests (Tenerife, Canary Islands). *Landscape and Urban Planning* 81: 328-340.
- Deltoro VI, Calatayud A, Gimeno C, Barreno E. 1998.** Water relations, chlorophyll fluorescence, and membrane permeability during desiccation in bryophytes from xeric, mesic, and hydric environments. *Canadian Journal of Botany* 76: 1923-1929.
- Dilks T, Proctor M. 1975.** Comparative experiments on temperature responses of bryophytes: assimilation, respiration and freezing damage. *Journal of Bryology* 8: 317-336
- Estébanez B, Draper I, Medina R. 2011.** Briófitos: una aproximación a las plantas

terrestres más sencillas. *Memorias de la Real Sociedad Española de Historia Natural. Segunda época* 9: 19-73.

Fernández-Marín B, Míguez F, Becerril JM, García-Plazaola JI. 2011. Dehydration-mediated activation of the xanthophyll cycle in darkness: is it related to desiccation tolerance? *Planta* 234: 579-588.

Fernández-Marín B, Nadal M, Gago X, Fernie A, Lopez-Pozo M, Artetxe U, García-Plazaola J, Verhoeven A. 2020. Born to revive: Molecular and physiological mechanisms of double tolerance in a paleotropical and resurrection plant. *New Phytologist* 226: 741-759.

Fernández-Marín B, Arzac M, Lopez-Pozo M, Laza J, Roach T, Stegner M, Neuner G, García-Plazaola J. 2021. Frozen in the dark: night activity of xanthophyll cycle, xylem attributes and desiccation-tolerance interplay in fern resistance to winter. *Journal of Experimental Botany* 72: 3168-3184.

Frangedakis E, Shimamura M, Villarreal JC, Li FW, Tomaselli M, Waller M, Sakakibara K, Renzaglia KS, Szövényi, P. 2021. The hornworts: morphology, evolution and development. *New Phytologist* 229: 735-754.

Furness SB, Grime JP. 1982. Growth rate and temperature responses in bryophytes II. A comparative study of species of contrasted ecology. *Journal of Ecology* 70: 525-536.

Gabriel R, Bates JW. 2003. Responses of photosynthesis to irradiance in bryophytes of the Azores laurel forest. *Journal of Bryology* 25: 101-105.

Gao B, Li X, Zhang D, Liang Y, Yang H, Chen M et al. 2017. Desiccation tolerance in bryophytes: The dehydration and rehydration transcriptomes in the desiccation-tolerant bryophyte *Bryum argenteum*. *Scientific Reports* 7: 7571.

Gensel PG. 2008. The earliest land plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 39: 459-477.

Glime JM. 2017. Vol. 1. Physiological ecology. En: Glime, J. M., Ed. *Bryophyte ecology*. Michigan Technological University and the International Association of Bryologists.

González-Mancebo JM, Losada-Lima A, McAlister S. 2003. Host Specificity of Epiphytic Bryophyte Communities of a Laurel Forest on Tenerife. *The Bryologist* 106: 383-394.

González-Mancebo JM, Romaguera F, Losada-Lima A, Suárez A. 2004. Epiphytic bryophytes growing on *Laurus azorica* (Seub.)

Franco in three laurel forest areas in Tenerife (Canary Islands). *Acta oecologica* 25: 159-167.

González-Mancebo JM, Dirkse GM, Patiño J, Romaguera F, Werner O, Ros RM, Martín JL. 2012. Applying the IUCN Red List criteria to small-sized plants on oceanic islands: conservation implications for threatened bryophytes in the Canary Islands. *Biodiversity and Conservation* 21: 3613-3636.

González-Rodríguez ÁM, Pérez-Martín EM, Brito P, Fernández-Marín B. 2021. Unexpected vulnerability to high temperature in the mediterranean alpine shrub *Erysimum scoparium* (Brouss. ex Willd.) Wettst. *Plants* 1: 379.

Guidi L, Lo-Piccolo E, Landi M. 2019. Chlorophyll Fluorescence, Photoinhibition and Abiotic Stress: Does it Make Any Difference the Fact to Be a C3 or C4 Species? *Frontiers in Plant Science* 10: 174.

Hanson D, Andrews TJ, Badger MR. 2002. Variability of the pyrenoid-based CO₂ concentrating mechanism in hornworts (Anthocerotophyta). *Functional Plant Biology* 29: 407-416.

He X, He KS, Hyvönen J. 2016. Will bryophytes survive in a warming world? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 19: 49-60.

Hedenäs L. 1999. How important is phylogenetic history in explaining character states in pleurocarpous mosses? *Canadian Journal of Botany* 77: 1723-1743.

Kohchi T, Yamato KT, Ishizaki K, Yamaoka S, Nishihama R. 2021. Development and Molecular Genetics of *Marchantia polymorpha*. *Annual review of plant biology* <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-082520-094256>

Kubásek J, Hájek T, Glime JM. 2014. Bryophyte photosynthesis in sunflecks: Greater relative induction rate than in tracheophytes. *Journal of Bryology* 36: 110-117.

Lenné T, Bryant G, Hocart CH, Huang CX, Ball MC. 2010. Freeze avoidance: a dehydrating moss gathers no ice. *Plant, Cell & Environment* 33: 1731-1741

Li FW, Villarreal-Aguilar JC, Szövényi P. 2017. Hornworts: an overlooked window into carbon-concentrating mechanisms. *Trends in Plant Science* 22: 275-277.

Li FW, Nishiyama T, Waller M, Frangedakis E, Keller J, Li Z et al. 2020. *Anthoceros* genomes illuminate the origin of land plants and

- the unique biology of hornworts. *Nature Plants* 6: 259-272.
- Ligrone R, Duckett JG, Renzaglia KS. 2012.** Major transitions in the evolution of early land plants: a bryological perspective. *Annals of Botany* 109: 851-871.
- Longton RE. 1988.** Adaptation and strategies of polar bryophytes. *Botanical Journal of the Linnean Society* 98: 253-268.
- López-Pozo M, Flexas J, Gulías J, Carriqui M, Nadal M, Perera-Castro AV et al. 2019.** A field portable method for the semi-quantitative estimation of dehydration tolerance of photosynthetic tissues across distantly related land plants. *Physiologia Plantarum* 167: 540-555.
- Marschall M, Proctor M. 2004.** Are bryophytes shade plants? photosynthetic light responses and proportions of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total carotenoids. *Annals of Botany* 94: 593-603.
- Martin CE, Adamson VJ. 2001.** Photosynthetic capacity of mosses relative to vascular plants. *Journal of Bryology* 23: 319-323.
- Maxwell K, Johnson GN. 2000.** Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Patiño J, González-Mancebo JM. 2011.** Exploring the effect of host tree identity on epiphyte bryophyte communities in different Canarian subtropical cloud forests. *Plant Ecology* 212: 433-449.
- Patiño J, Gómez-Rodríguez C, Pupo-Correia A, Sequeira M, Vanderpoorten A. 2018.** Trees as habitat islands: Temporal variation in alpha and beta diversity in epiphytic laurel forest bryophyte communities. *Journal of Biogeography* 45: 1727-1738.
- Perera-Castro AV, Brito P, González-Rodríguez ÁM. 2018.** Changes in thermic limits and acclimation assessment for an alpine plant by chlorophyll fluorescence analysis: F_v/F_m vs. Rfd. *Photosynthetica* 56: 527-536.
- Perera-Castro AV, Flexas J, González-Rodríguez ÁM, Fernández-Marín B. 2020.** Photosynthesis on the edge: photoinhibition, desiccation and freezing tolerance of Antarctic bryophytes. *Photosynthesis Research* <https://doi.org/10.1007/s11120-020-00785-0>
- Perera-Castro AV, Nadal M, Flexas J. 2021.** What drives photosynthesis during desiccation? Mosses and other outliers from the photosynthesis-elasticity trade-off. *Journal of Experimental Botany* 71: 6460-6470.
- Popper ZA, Fry SC. 2003.** Primary cell wall composition of bryophytes and charophytes. *Annals of Botany* 91: 1-12.
- Proctor M. 1982.** Physiological ecology. En: Smith AJE, ed. *Bryophyte ecology*. London: Chapman and Hall, 333-81.
- Proctor M, Nagy Z, Csintalan Z, Takács Z. 1998.** Water-content components in bryophytes: Analysis of pressure-volume relationships. *Journal of Experimental Botany* 49: 1845-1854.
- Proctor M. 1999.** Water-relations parameters of some bryophytes evaluated by thermocouple psychrometry. *Journal of Bryology* 21: 263-270.
- Proctor M. 2002.** Ecophysiological measurements on two pendulous forest mosses from Uganda, *Pilotrichella ampullaceal* and *Floribundaria floribunda*. *Journal of Bryology* 24: 223-232.
- Proctor M, Oliver M, Wood A, Alpert P, Stark L, Cleavitt N, Mishler, B. 2007.** Desiccation-tolerance in bryophytes: a review. *The Bryologist* 110: 595-621.
- Proctor M, Bates JW. 2018.** Chlorophyll-fluorescence measurements in bryophytes: evidence for three main types of light-curve response. *Journal of Bryology* 40: 1-11.
- Puttick MN, Morris JL, Williams TA, Cox CJ, Edwards D, Kenrick P et al. 2018.** The interrelationships of land plants and the nature of the ancestral embryophyte. *Current Biology* 28: 733-745.
- Rajashekar CB, Lafta A. 1996.** Cell-Wall Changes and Cell Tension in Response to Cold Acclimation and Exogenous Abscisic Acid in Leaves and Cell Cultures. *Plant Physiology* 111: 605-612.
- Ralph PJ, Gademann R. 2005.** Rapid light curves: A powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquatic Botany* 82: 222-237.
- Raven J. 1995.** The early evolution of land plants: aquatic ancestors and atmospheric interactions. *Botanical Journal of Scotland* 47: 151-175.
- Rensing SA, Goffinet B, Meyberg R, Wu S, Bezanilla M. 2020.** The Moss *Physcomitrium (Physcomitrella) patens*: A Model Organism for Non-Seed Plants. *The Plant Cell* 32: 1361-1376.
- Rütten D, Santarius KA. 1992.** Relationship between frost tolerance and sugar concentration of various bryophytes in summer and winter. *Oecologia* 91: 260-265.
- Sack L, Pasquet-Kok, J. 2011.** Leaf pressure-volume curve parameters. PrometheusWiki. <http://prometheuswiki.org/tiki->

[index.php?page=Leaf+pressure-volume+curve+parameters&highlight=pressure%20volume](#). Consultado en abril de 2021.

Santana-Pérez LM. 2014. Estudio climático sucinto de Anaga. *Cabildo de Tenerife* 94.

Seel WE, Baker NR, Lee JA. 1992. Analysis of the decrease in photosynthesis on desiccation of mosses from xeric and hydric environments. *Physiologia Plantarum* 86: 451-458.

Smirnoff N. 1992. The carbohydrates of bryophytes in relation to desiccation tolerance, *Journal of Bryology* 17: 185-191.

Smith EL. 1936. Photosynthesis in Relation to Light and Carbon Dioxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 22: 504-511.

Smith EC, Griffiths H. 1996. The occurrence of the chloroplast pyrenoid is correlated with the activity of a CO₂-concentrating mechanism and carbon isotope discrimination in lichens and bryophytes. *Planta* 198: 6-16.

Söderström L, Hagborg A, von Konrat M, Bartholomew-Began S, Bell D, Briscoe et al. 2016. World checklist of hornworts and liverworts. *PhytoKeys* 59: 1-828.

Sousa F, Foster PG, Donoghue PCJ, Schneider H, Cox CJ. 2019. Nuclear protein phylogenies support the monophyly of the three bryophyte groups (Bryophyta Schimp.) *New Phytologist* 222: 565-575.

Sperling FN, Washington R, Whittaker RJ. 2004. Future Climate Change of the Subtropical North Atlantic: Implications for the Cloud Forests of Tenerife. *Climatic Change* 65: 103-123.

Stegner M, Lackner B, Schäferholte T, Buchner O, Xiao N, Gierlinger N et al. 2020. Winter nights during summer time: Stress physiological response to ice and the facilitation of freezing cytorrhysis by elastic cell wall components in the leaves of a nival species. *International Journal of Molecular Sciences* 21: 1-18.

Su D, Yang L, Shi X, Ma X, Zhou X, Hedges S, Zhong B. 2021. Large-Scale Phylogenomic Analyses Reveal the Monophyly of Bryophytes and Neoproterozoic Origin of Land Plants. *Molecular Biology and Evolution* <https://doi.org/10.1093/molbev/msab106>

Szövényi P, Frangedakis E, Ricca M, Quandt D, Wicke S, Langdale JA. 2015. Establishment

of *Anthoceros agrestis* as a model species for studying the biology of hornworts. *BMC Plant Biology* 15: 98.

Takezawa D. 2018. Mechanisms Underlying Freezing and Desiccation Tolerance in Bryophytes. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 108: 167-187.

Turetsky MR. 2003. The role of bryophytes in carbon and nitrogen cycling. *The bryologist* 106: 395-409.

Valanne N. 1984. Photosynthesis and photosynthetic products in mosses. En Dyer, A. F., Duckett, J. G., eds. *The experimental biology of bryophytes*. London: Academic Press 257-273.

Vanderpoorten A, Goffinet B. 2009. Introduction to Bryophytes. Cambridge University Press, Cambridge.

Vaughn KC, Campbell EO, Hasegawa J, Owen HA, Renzaglia KS. 1990. The pyrenoid is the site of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase accumulation in the hornwort (Bryophyta: Anthocerotae) chloroplast. *Protoplasma* 156: 117-129.

Vaughn KC, Ligrone R, Owen HA, Hasegawa J, Campbell EO, Renzaglia KS, Monge-Najera J. 1992. The anthocerot chloroplast: A review. *New Phytologist* 120: 169-190.

Villarreal JC, Renner SS. 2012. Hornwort pyrenoids, carbon-concentrating structures, evolved and were lost at least five times during the last 100 million years. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 109: 18873-18878.

Wang Z, Bader MY. 2018. Associations between shoot-level water relations and photosynthetic responses to water and light in 12 moss species. *AoB PLANTS* 10: ply034.

Wolfe J, Bryant G. 1999. Freezing, drying and/or vitrification of membrane-solute-water systems. *Cryobiology* 39: 103-129.

Wood AJ. 2007. The nature and distribution of vegetative desiccation-tolerance in hornworts, liverworts and mosses. *The Bryologist* 110: 163-177.

Zhang YJ, Bucci SJ, Arias NS, Scholz FG, Hao GY, Cao KF, Goldstein G. 2016. Freezing resistance in Patagonian woody shrubs: the role of cell wall elasticity and stem vessel size. *Tree Physiology* 36: 1007-1018.