EFFECTO DE LA CONTAMINACION ORGANICA SOBRE INDICES DE FEOFITINIZACION EN TRASPLANTES DE BRIOFITOS ACUATICOS (RIO IREGUA, LA RIOJA, ESPAÑA)

Javier MARTINEZ ABAIGAR y Manuel SANCHEZ DIAZ

Departamento de Fisiología Vegetal, Universidad de Navarra. Apdo. 273. 31080 Pamplona.

Palabras clave: Briofitos acuáticos, contaminación orgánica, índices feofitización.

SUMMARY

ASSESSING ORGANIC POLLUTION ON TRANSPLANTED AQUATIC BRYOPHYTES UTILIZING PHEOPIGMENT RATIOS (IREGUA RIVER, LA RIOJA, SPAIN).

Key words: Aquatic bryophytes, organic pollution, pheopigment ratios.

The OD 665/OD 665 acidified ratio and the OD 430/OD 410 ratio, representing the chlorophylls/pheopigments relative proportion, were utilized as organic pollution indicators. They were tested on transplanted aquatic bryophytes that were collected from an unpolluted area in the upper part of the river and carried to both an unpolluted station located in the middle (BOD_5 0.5-2.5 $mg.l^{-1}$) and to a polluted one in the lower course (BOD_5 4.5-174 $mg.l^{-1}$). Three species were selected: the liverwort Jungermannia cf. exsertifolia Steph. ssp. cordifolia (Dum.) Vaña and the mosses Fontinalis antipyretica Hedw. and Brachythecium rivulare B.S.G.

The liverwort was more sensitive than the mosses, perhaps because of its simpler structure and carpet growth. Results showed good correlation between both ratios and with BOD_5 , being concluded that OD 430/OD 410 ratio is as good indicator as OD 665/OD 665a and easier to utilize since acidification is not needed for its calculation.

INTRODUCCION

En los últimos años han proliferado los estudios sobre bioindicadores que tienen como protagonistas a Briofitos, y varios autores (Leblanc y Rao, 1975; Rao, 1982; Brown, 1984; Mühle, 1984) han realizado revisiones sobre la materia, resaltando las ventajas que tiene este grupo vegetal sobre otros (mayor sensibilidad, posibilidad de integrar la contaminación en el tiempo, etc.). La mayor parte de los trabajos se refieren a diversos aspectos de la contaminación atmosférica y sus efectos sobre los briofitos terrestres y epifitos (SO_2 , metales pesados, herbicidas, contaminación radiactiva, etc.).

Los sistemas acuáticos han recibido sin embargo menor atención. Empain (1973) aplicó el "Índice de Desarrollo" para diferenciar estaciones

IV CONGRESO ESPAÑOL DE LIMNOLOGIA

Actas : 287-297

según su contaminación a lo largo del río Sambre, teniendo en cuenta la diversidad y el cubrimiento de los briofitos en cada estación, de manera similar al Índice de Pureza Ambiental de Leblanc y De Sloover (1970) para epifitos. Empain (1978) definió un índice de calidad de aguas en función de las especies briofíticas presentes y sus respectivos coeficientes de toxifobia. Vrhovsek y col. (1981) intentan establecer un sistema de saprobidad con macrofitos, y apuntan que los musgos son particularmente útiles para una evaluación rápida de las condiciones de polución del río Savinja, comparando posteriormente dos ríos mediante este método y análisis numéricos (Vrhovsek y col., 1984). Jones (1985) utiliza briofitos acuáticos en la prospección geoquímica de oro y plata. Wehr y col. (1983) revisan la metodología para monitorizar metales pesados en el río Hoëgne (Belgica) con ayuda de musgos, y otros autores tratan el mismo tema (Say y Whitton, 1983; Wehr y Whitton, 1983 a y b, entre otros). Asimismo los briofitos acuáticos actúan como indicadores de la contaminación radiactiva (Kirchmann y Lambinon, 1973; Sarosiek y col., 1980; Maurel-Kermarrec y col., 1983).

Benson-Evans y Williams (1976) y Peñuelas (1984, a) utilizan trasplantes de musgos para indicar la contaminación fluvial, valiéndose de técnicas morfológicas y del análisis de pigmentos, respectivamente. Los trasplantes permiten la implantación de briofitos en los cursos bajos de los ríos, que muchas veces presentan contaminación pero de donde generalmente los briofitos están ausentes (Slack y Glime, 1985; Hutchinson, 1975; Peñuelas y Catalán, 1983), entre otros factores por la incapacidad de competir con fanerógamas en dichos ambientes.

Todavía no se han desarrollado excesivamente las técnicas ecofisiológicas para monitorizar contaminación orgánica con briofitos acuáticos. Peñuelas (1984 a) utiliza la composición pigmentaria y diversos índices de pigmentos, que también se han aplicado en estudios de contaminación atmosférica con líquenes (Rao y Leblanc, 1965; Beekley y Hoffman, 1981; Beltman y col., 1980) y plantas superiores (Rabe y Kreeb, 1980, entre otros muchos), así como en diversos estudios ecológicos (Margalef, 1983).

Para el presente estudio se han utilizado tres especies de briofitos, dos musgos y una hepática, que se trasplantaron desde el curso alto del río Iregua (La Rioja, España) a dos estaciones aguas abajo, una de aguas puras y otra con problemas episódicos de contaminación orgánica. Los índices DO 665/DO 665 acidificada y DO 430/DO 410 se tomaron como indicadores del deterioro sufrido por los briofitos, entre otras variables. Ambos índices tienen relación con la proporción de feopigmentos en los tejidos respecto a la clorofila, y mostraron buenas correlaciones entre sí.

MATERIAL Y METODOS

Recolección y trasplante

Los briofitos sobre los que se realizó la experiencia (la hepática Jungermannia cf. exsertifolia Steph. ssp. cordifolia (Dum.) Vaña y los musgos Fontinalis antipyretica Hedw. y Brachythecium rivulare B.S.G.) fueron recolectados en Mayo de 1986 en el arroyo de los Senestillos, cerca de Pajares (La Rioja), a 1350 m de altitud en la cuenca alta del río Lumbreras, afluente del Iregua. Crecían sobre arcillas arenosas y cuarzarenitas de la facies Purbeck-Weald (Jurásico y Cretácico), y estaban completamente sumergidos. El material recogido fue rápidamente trasplantado a la estación libre de contaminación (Villanueva de Cameros, 900 m de altitud) y a la contaminada (Alberite,

440 m), introduciendo cada especie por separado en bolsas construidas con malla de plástico verde suficientemente laxa para evitar un déficit excesivo de radiación luminosa. Cada grupo de 3 bolsas se fijaba mediante hilo de pita a un mástil metálico, y éste era clavado en el lecho del río de manera que las bolsas, arrastradas por la corriente, se mantuviesen a una profundidad aproximada de 20 cm. En cada estación se colocó un número de mástiles suficiente para realizar una recolecta semanal durante un mínimo de 10 semanas (12 Mayo - 13 Julio de 1986). El procedimiento es el de Benson-Evans y Williams (1976) modificado. Los lugares seleccionados para el trasplante en Alberite y Villanueva se eligieron teniendo en cuenta criterios de similitud de condiciones ambientales (luminosidad, velocidad de corriente), accesibilidad y prevención de destrucción deliberada del montaje.

Cálculo de los índices de feofitinización

El material trasplantado era transportado semanalmente al laboratorio en nevera portátil a 5°C de temperatura, y era lavado en agua destilada y almacenado en oscuridad a 5°C. Dentro de las 24 horas siguientes a la recolección, se seleccionaban los 4 cm. finales de los tallos de Fontinalis, las ramificaciones del año en Brachythecium y los tallos completos de Jungermannia. Se hidrataba completamente el tejido, se eliminaba el agua sobrante con papel de filtro y se pesaban aproximadamente 80 mg. de la primera especie y 150 mg. de las otras dos. Estas cantidades de material eran molidas en mortero manualmente, con 5 ml. de acetona al 80% mantenida a 4°C. El extracto se filtraba por GF/C Whatman, y se medían las absorbancias a 665, 430 y 410 nm. en un espectrofotómetro Spectronic 2000 de Bausch & Lomb. A los 15 minutos tras acidificar el extracto con HCl 1N y agitar (Lorenzen, 1967), se volvía a medir la absorbancia a 665 nm. Se realizaron tres réplicas de cada muestra. Todo el proceso se llevaba a cabo en un ambiente de baja iluminación, para prevenir la foto-oxidación de los pigmentos.

Análisis de aguas

Fueron realizados con muestras tomadas semanalmente de forma paralela a las recolecciones de briofitos en Villanueva y Alberite, y dentro de las 24 horas siguientes a su recogida. Los análisis comprendían un total de 20 parámetros físico-químicos habituales. La temperatura se medía "in situ".

Tratamiento estadístico

Se aplicaron tests de significación de las medias para establecer las diferencias significativas a tres niveles diferentes (5%, 1% y 1 por mil). Los datos se procesaron con un ordenador Apple.

Nomenclatura taxonómica

Para los musgos se siguió a Casas (1981) y para las hepáticas a Duell (1983).

RESULTADOS

Con respecto a la caracterización físico-química de las estaciones de trasplante, Villanueva se establecía como una estación poco mineralizada (conductividad entre 77 y 128 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ en el periodo muestreado) y libre de contaminación (DBO_5 entre 0,5 y 2,5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$). Alberite mostraba una mineralización acusada (298-756 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$) y sufría episodios de contaminación orgánica, como en general ocurre en los cursos bajos de los principales ríos rioja-

Fig. 1.- Evolución de la BOD₅ en el período muestreado en la estación contaminada (Alberite, ●) y pura (Villanueva, ○).

Changes in BOD₅ in the sampled period, at the polluted (Alberite, ●) and control stations (Villanueva, ○).

nos (ATP, 1984). La mineralización de Alberite provino de dos fuentes: el aporte de cationes del sustrato geológico que atraviesa el río desde Villanueva (calizas del Jurásico y conglomerados terciarios, en su mayor parte), y el abonado de las importantes huertas y cultivos de las vegas del río aguas arriba de Alberite. La evolución de la DBO₅ queda reflejada en la Fig. 1. Mostró en Alberite un máximo relativo en la semana 2 con 15,1 mg.l⁻¹, y un máximo absoluto en las semanas 7 y 9 con valores en torno a 170 mg.l⁻¹.

El índice DO 665/DO 665 acidificado mostró unos valores iniciales (semana 0, material recolectado en Pajares y no trasplantado) de 1,469 en *Jungermannia*, 1,540 en *Fontinalis* y 1,466 en *Brachythecium* (Fig. 2-4). En la estación de Villanueva, el índice se mantuvo en general por encima de estos valores, sin grandes variaciones a lo largo del tiempo. En Alberite, *Jungermannia* registró un significativo aumento en la semana 1, para descender fuertemente en la 2 y 3 (1,279), recuperarse en el período 4-6 (1,430) y volver a caer posteriormente (mínimo de 1,148). En *Fontinalis* y *Brachythecium*, el cociente conservó sus registros iniciales o los incrementó ligeramente hasta las semanas finales, en las que bajó significativamente.

El índice DO 430/DO 410 valía inicialmente 1,282 en *Jungermannia*, 1,360 en *Fontinalis* y 1,310 en *Brachythecium* (Fig. 2-4). La evolución en el tiempo es muy similar al anterior índice, con un rango de variación parecido (en torno a 0,5 unidades) y coeficientes de variación muy bajos, en general

Fig. 2.- Cambios de los índices DO 665/DO 665 acidificado (A) y DO 430/DO 410 (B) en la estación contaminada (Alberite, ●) y pura (Villanueva, ○) para *Jungermannia* cf. *exsertifolia* ssp. *cordifolia*. Cada valor es media de tres, y se representan los errores típicos.
Changes in OD 665/OD 665 acidified ratio (A) and in OD 430/OD 410 ratio (B) at the polluted (Alberite, ●) and control stations (Villanueva, ○) for *Jungermannia* cf. *exsertifolia* ssp. *cordifolia*. Each value is the mean of three, and standard deviation values are given.

menores al 5%. En Villanueva todas las especies conservaron dichos valores durante todo el experimento. En Alberite, *Jungermannia* llegó a un mínimo relativo en la semana 3 (0,948) y al mínimo absoluto en la 9 (0,774), con descensos y recuperaciones significativas al 1 por mil. *Brachythecium* y *Fontinalis* mantuvieron los cocientes iniciales hasta la semana 6, con resultados significativamente más bajos que en Villanueva en el primero pero no en el segundo; sin embargo, a partir de la semana 7 se observó un acusado descenso en ambas especies, hasta mínimos de 1,131 y 0,902, respectivamente.

Las correlaciones entre las medias semanales de ambos índices en la estación contaminada fueron de 0,95 en *Jungermannia* y 0,98 en *Fontinalis*, pe-

Fig. 3.- Cambios de los índices $DO\ 665 / DO\ 665\ acidificado$ (A) y $DO\ 430 / DO\ 410$ (B) en la estación contaminada (Alberite, ●) y pura (Villanueva, ○) para *Fontinalis antipyretica*. Cada valor es media de tres, y se representan los errores típicos.

Changes in $OD\ 665 / OD\ 665\ acidified$ ratio (A) and in $OD\ 430 / OD\ 410$ ratio (B) at the polluted (Alberite, ●) and control stations (Villanueva, ○) for *Fontinalis antipyretica*. Each value is the mean of three, and standard deviation values are given.

ro sólo de 0,33 en *Brachytheceum*. En Villanueva las correlaciones son muy bajas.

DISCUSION

En la extracción de pigmentos se ha preferido la acetona al 80% que otros métodos recientemente desarrollados para briofitos, como el dimetilsulfóxido (Alpert, 1984; Raeymaekers, 1986 a y b), por la mayor información disponible para el primero en cuanto a comportamiento de los pigmentos extraídos.

La cuantificación de pigmentos de degradación de las clorofilas ha

Fig. 4.— Cambios de los índices DO 665/DO 665 acidificado (A) y DO 430/DO 410 (B) en la estación contaminante (Alberite, ●) y pura (Villanueva, ○) para *Brachythecium rivulare*. Cada valor es media de tres, y se representan los errores típicos.

Changes in OD 665/OD 665 acidified ratio (A) and in OD 430/OD 410 ratio (B) at the polluted (Alberite, ●) and control stations (Villanueva, ○) for *Brachythecium rivulare*. Each value is the mean of three, and standard deviation values are given.

sido una técnica ampliamente usada en la estimación de la vitalidad de poblaciones de fitoplancton, líquenes, briofitos y plantas superiores. Fundamentalmente se han descrito ecuaciones para el cálculo de feofitina a (Lorenzen, 1967), pigmento marrón producto de la degradación de clorofila a, mediante acidificación del extracto en diversos disolventes, forzando la sustitución del Mg quelado en la molécula de clorofila por dos protones. Las feofitinas tienen su máximo de absorción en el azul a longitudes de onda más cortas (410–415 nm frente a los aproximadamente 435 de las clorofilas), y el máximo en el rojo ligeramente hacia longitudes de onda más largas (diferencia de 1–5 nm), según señala Vernon (1960). Sin embargo, al acidificar extractos de vegetales con clorofilas a y b, aparecen sus dos feofitinas correspondientes,

con lo que existe una mezcla de al menos cuatro pigmentos (Vernon, 1960), con la añadida dificultad de que las velocidades de feofitinización de ambas clorofilas son diferentes (Laval-Martin, 1985). De aquí el riesgo de utilizar tan sólo el contenido en feofitina a de las muestras como indicador de vitalidad, y la cautela con que sería deseable aplicar las diversas ecuaciones para obtener los contenidos en clorofilas, pues en extractos con feofitinas se estarán invariablemente sobreestimando las clorofilas (Laval-Martin, 1985). Por otra parte, una acidificación excesiva provoca la degradación ulterior de las feofitinas hacia feoforbidas u otros productos más simples (Goodwin, 1965; Holm-Hansen y Riemann, 1978), registrándose resultados absurdos al aplicar las ecuaciones de Lorenzen (1967).

Los índices pigmentarios utilizados en el presente trabajo sólo poseen un valor comparativo, pero no se ven alterados por algunas de las dificultades descritas. El índice $DO\ 430/DO\ 410$ se calcula sin someter a la muestra al proceso de acidificación, aprovechando los diferentes máximos de absorción de las clorofilas y sus correspondientes feofitinas en el azul, aunque en esa zona del espectro pueden interferir los carotenoides (Ronen y Galun, 1984). Al cociente $DO\ 665/DO\ 665$ acidificado puede afectarle un exceso de ácido, obteniéndose valores superiores a los reales, y quizá sea esa la causa de las bajas correlaciones encontradas entre ambos índices en algunos casos.

Los dos cocientes procuran información sobre la vitalidad de las poblaciones de briofitos y sobre los efectos de la contaminación orgánica en Alberite, donde las correlaciones obtenidas entre ambos índices son muy altas en Jungermannia y Fontinalis, así como las correlaciones entre la DBO_5 y ambos índices (mayores que 0.95 en Fontinalis y alrededor de 0.70 en Jungermannia). En Brachythecium sólo la $DO\ 430/DO\ 410$ muestra correlación con la DBO_5 (0.91), por lo que hay que pensar en un exceso de acidificación en la obtención del otro cociente en esta especie. Correlaciones similares a las descritas se observaron, en la estación contaminada, entre ambos índices y la DBO_5 acumulada en el tiempo. De aquí pues se ratifica la utilidad de los cocientes experimentados en la monitorización de la contaminación orgánica en ríos. Peñuelas (1984 a) ya advirtió la adecuación óptima del índice $DO\ 665/DO\ 665$ ac. para esta aplicación, y también lo utilizó en la estimación de los efectos de la emersión de briofitos acuáticos y la inmersión de terrestres (Peñuelas, 1984 b), pero no experimentó con el cociente $DO\ 430/DO\ 410$, que resulta igualmente significativo y más cómodo de obtener. Sin embargo, Rabe y Kreeb (1980) encuentran preferible la concentración de clorofila a en estudios de contaminación atmosférica sobre plantas superiores, que las concentraciones de feofitinas. Los métodos aplicados a cada caso dependerán pues del vegetal y la contaminación que se deseen estudiar.

En Villanueva las correlaciones entre ambos índices son bajas, pero la interpretación de sus resultados en el tiempo es similar: prácticamente no hay alteraciones en la vitalidad inicial de las especies, lo que asegura que los briofitos utilizados soportan bien los trasplantes y pueden considerarse como poblaciones-control. Los índices también mostraron en Villanueva bajas correlaciones con la DBO_5 , por lo que se infiere que en esta estación son otros factores distintos de la contaminación orgánica los que influyen en la evolución de los índices en el tiempo.

Ambos cocientes son capaces de discriminar la diferente sensibilidad de las especies a la contaminación orgánica: Jungermannia es la especie más sensible, ya que acusa el primer episodio de contaminación en Alberite, aunque se recupera posteriormente para caer definitivamente en la segunda conta-

minación, mucho más severa y prolongada, y originada por la apertura de un nuevo punto de vertido de aguas residuales directamente al río, unos 50 m. aguas arriba del lugar donde estaban situados los trasplantes. Fontinalis (Peñuelas, 1984 a) y Brachythecium son más resistentes, y sólo se deterioran en la segunda contaminación. Esta diferente sensibilidad puede relacionarse con la menor capacidad de regulación de la hepática frente a los musgos, influida por su mayor simplicidad estructural, su forma de crecimiento formando densos céspedes (que pueden albergar más material particulado que los tallos individualizados y flexibles de Fontinalis), y la disposición de sus hojas, desplegada frente a la imbricación de los filidios de los musgos. El efecto de la morfología de los briofitos y líquenes sobre la absorción de materiales ya fue apuntada por Rao y col. (1977) en relación con la contaminación atmosférica, encontrando que los factores más importantes eran la densidad de población, la forma de crecimiento y las propiedades de la cutícula.

Los índices descritos, pues, revelan su utilidad en la monitorización de la contaminación orgánica en ríos, y las correlaciones encontradas entre ambos índices (DO 665/DO 665 acidificada y DO 430/DO 410), y también con la DBO₅, permiten proponer el segundo como más cómodo en su utilización que el primero e igual de efectivo, cuando no se requieran contenidos totales de feofitinas.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero reconocimiento al Instituto de Estudios Riojanos, del cual es becario J.M.A., así como a Ana Martínez de Mingo (Laboratorio Químico de Navarra) por los análisis de agua.

BIBLIOGRAFIA

- ALPERT, P. 1984. Analysis of chlorophyll content in mosses through extraction in DMSO. Bryologist 87 (4): 363-365.
- ATP, S.A. 1984. Bases para un plan de saneamiento y recuperación de los afluentes del Ebro en la Comunidad Autónoma de la Rioja (no publicado).
- BEEKLEY, P.K.; HOFFMAN, G.R. 1981. Effects of sulfur dioxide fumigation on photosynthesis, respiration and chlorophyll content of selected lichens. Bryologist 84 (3): 379-389.
- BELTMAN, I.M.; DE KOK, L.J.; KUIPER, J.C.; VAN HASSELT, P.R. 1980. Fatty acid composition and chlorophyll content of epiphytic lichens and a posible relation to their sensitivity to air pollution. Oikos 35 (3): 321-326.
- BENSON-EVANS, K.; WILLIAMS, P.F. 1976. Transplanting aquatic bryophytes to assess river pollution. J. Bryol. 9: 81-92.
- BROWN, D.H. 1984. Uptake of mineral elements and their use in pollution monitoring.- En: DYER, A.F. y DUCKETT, J.G. (eds.); The experimental biology of Bryophytes, Ac. Press. pp. 229-256.
- CASAS SICART, C. 1981. The Mosses of Spain. An annotated check-list. Treballs de l'Institut Botànic de Barcelona, 7: 1-58.
- DUELL, R. 1983. Distribution of the European and Macaronesian Liverworts (Hepaticophytina), Bryologische Beitrage 2: 1-115.

- EMPAIN, A. 1973. La végétation bryophytique aquatique et subaquatique de la Sambre belge; son déterminisme écologique et ses relations avec des pollutions des eaux. Lejeunia 69: 1-58.
- 1978. Relations quantitatives entre les populations de bryophytes aquatiques et la pollution des eaux courantes. Définition d'un indice de qualité des eaux. Hydrobiologia, 60: 49-74.
- GOODWIN, T.W. 1965. Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments. Ac. Press.
- HOLM-HANSEN, O.; RIEMANN, B. 1978. Chlorophyll a determination: improvements in methodology. Oikos 30: 438-447.
- HUTCHINSON, G.E. 1975. A treatise on Limnology, vol. III. Limnological Botany. John Wiley & Sons.
- JONES, K.C. 1985. Gold, silver and other elements in aquatic bryophytes from a mineralized area of North Wales, U.K. J. Geochemical Exploration, 24: 237-246.
- KIRCHMANN, R.; LAMBINON, J. 1973. Bioindicateurs végétaux de la contamination d'un cours d'eau par les effluents d'une centrale nucléaire à eau pressurisée. Bull. Soc. R. Bot. Belg. 106 (2): 187-201.
- LAVAL-MARTIN, D.L. 1985. Spectrophotometric method of controlled pheophytinization for the determination of both chlorophylls and pheophytins in plant extracts. Anal. Biochem. 149 (1): 121-129.
- LEBLANC, F.; RAO, D.N. 1975. Effects of air pollutants on lichens and bryophytes. En: MUDD, J.B. y KOZLOWSKI, T.T. (eds.). Responses of plants to air pollution, Ac. Press, pp. 237-272.
- y DE SLOOVER. 1970. Relation between industrialisation and the distribution and growth of epiphytic lichens and mosses in Montreal. Can.J.Bot. 48:1485-1496.
- LORENZEN, C.J. 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. Limnol. Oceanog. 12: 343-346.
- MARGALEF, R. 1983. Limnología. Ed. Omega. Barcelona.
- MAUREL-KERMARREC, A.; PALLY, M.; FOULQUIER, L.; HEBRARD, J.P. 1983. Cinétique de la fixation d'un mélange de Césium 137, de Chrome 51, de Cobalt 60, de Manganèse 54 et de Sodium 22 par Platyhypnidium riparioides (Hedw.) Dix. Cryptog. Bryol. Lichenol. 4 (4): 299-313.
- MUHLE, H. 1984. Moose als Bioindikatoren. En: SCHULTZE-MOTEL, W. (ed.) Advances in Bryology, vol. 2, J. Cramer, Vaduz, pp. 65-89.
- PEÑUELAS, J. 1984 a. Pigments of aquatic mosses of the river Muga, NE Spain, and their response to water pollution. Lindbergia 10: 127-132.
- 1984 b. Pigment and morphological response to emersion and immersion of some aquatic and terrestrial mosses in NE Spain. J. Bryol. 13: 115-128.
- y CATALAN, J. 1983. Distribution longitudinale des bryophytes d'un fleuve méditerranéen du NE de l'Espagne: le Fluvià. Anal. Limnol. 19 (3): 179-185.

- RABE, R.; KREEB, K.H. 1980. Bioindication of air pollution by chlorophyll destruction in plant leaves. Oikos 34 (2): 163-167.
- RAEYMAEKERS, G. 1986 a. Chlorophyll extraction in mosses through DMSO. Bryol. Times, 38: 4-5.
- y LONGWITH, J.E. 1986 b. The use of DMSO as a solvent to extract chlorophyll from mosses. Acta Bot. Hung. (en prensa).
- RAO, D.N. 1982. Responses of bryophytes to air pollution. En: SMITH, A.J.E. (ed.), Bryophyte Ecology, Chapman & Hill, pp. 445-472.
- y LEBLANC, F. 1965. Effects of sulfur dioxide on the lichen alga, with special reference to chlorophyll. Bryologist, 69: 69-75.
- ; ROBITAILLE, G.; LEBLANC, F. 1977. Influence of heavy metal pollution on lichens and bryophytes. J. Hattori Bot. Lab. 42: 213-239.
- RONEN, R.; GALUN, M. 1984. Pigment extraction from lichens with dimethyl sulfoxide (DMSO) and estimation of chlorophyll degradation. Env. Exp. Bot. 24 (3): 239-245.
- SAROSIEK, J.; KAMINSKI, R.; SZCZERBINSKI, K. 1980. Radiosensitivity of the moss Drepanocladus aduncus. Acta Soc. Bot. Pol. 49 (4): 511-526.
- SAY, P.J.; WHITTON, B.A. 1983. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses: 1. Fontinalis antipyretica. Hydrobiologia 100 (0): 245-260.
- SLACK, N.G.; GLIME, J.M. 1985. Niche relationships of mountain stream bryophytes. Bryologist 88 (1): 7-18.
- VERNON, L.P. 1960. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts. Anal. Chem. 32: 1144-1150.
- VRHOVSEK, D.; MARTINCIC, A.; KRALJ, M. 1981. Evaluation of the polluted Savinja River, Slovenia, Yugoslavia, with the help of macrophytes. Hydrobiologia, 80 (2): 97-110.
- ; MARTINCIC, A.; KRALJ, M. 1984. The applicability of some numerical methods and the evaluation of Bryophyta indicator species for the comparison of the degree of pollution between 2 rivers. Arch. Hydrobiol. 100 (4): 431-444.
- WEHR, J.D.; EMPAIN, A.; MOUVET, C.; SAY, P.J.; WHITTON, B.A. 1983. Methods for processing aquatic mosses used as monitors of heavy metals. Water Res. 17 (9): 985-992.
- y WHITTON, B.A. 1983 a. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 2. Rhynchostegium riparioides. Hydrobiologia, 100 (0): 261-284.
- y WHITTON, B.A. 1983 b. Accumulation of heavy metals by aquatic mosses. 3. Seasonal changes. Hydrobiologia 100 (0): 285-292.