

PROYECTO PARA EL ANÁLISIS INTEGRADO DE LA CUENCA DEL RIO MATANZA-RIACHUELO. DINÁMICA DEL SISTEMA Y BASES PARA SU MONITOREO Y BIORREMEDIACIÓN.

Moretton¹, J.; Iorio², A. F.; Santanatoglia³, O. J.; Korol¹, S.; Lopez¹, L. C. Rendina², A.; Chagas³, C.; De Cabo⁴, L.; Puig⁴, A.; Vigna⁵, M. S.; Magdaleno⁵, A.; Arreghini⁶, S.; Buján⁷, A.; Marchetti⁸, B.

Resumen - La cuenca del Matanza-Riachuelo (2.240 km²) recibe el efecto de la actividad agropecuaria extensiva e intensiva, efluentes generados por varios millones de habitantes y por más de 10.000 industrias. El colector principal de dicha cuenca desemboca en el Río de la Plata en una zona densamente urbanizada lo que genera un grave problema desde el punto de vista sanitario. Los estudios realizados hasta el presente en la cuenca fueron compartimentalizados y con baja integración. En este contexto el rol de la Universidad de Buenos Aires como organismo estatal se ha considerado de suma importancia para documentar los cambios que se producirán en el curso en las distintas etapas del plan de saneamiento. En el presente trabajo se discutirán las características del plan de investigación a realizar en el marco de la Programación Científica 1998-2000 de la Secretaría de Ciencia y Técnica de la UBA. El objetivo general de la investigación será diagnosticar la calidad ambiental y analizar la dinámica del sistema con un enfoque interdisciplinario.

Se espera así establecer las rutas de los contaminantes e identificar los indicadores adecuados para un monitoreo continuo de la cuenca que se analizará distinguiendo los componentes urbanos, periurbanos y rurales. Se categorizará el uso de la tierra en función de los impactos y se realizarán estudios del escurrimiento, físicoquímicos del agua y sedimentos y biológicos que posibilitarán la caracterización del grado de contaminación y el análisis de posibles medidas de biorremediación. Se ha previsto además la selección y optimización de microorganismos con capacidad biorremediadora de contaminantes que se efectuará a partir de muestras de agua y sedimentos.

1 – INTRODUCCION

Históricamente, los ambientes lénticos han sido más estudiados que los cursos de agua. Los ríos son sistemas abiertos, cambiantes a lo largo del tiempo y de su curso, y sometidos al influjo del clima y las características de la cuenca. Su alta variabilidad natural determina la necesidad de contar con gran cantidad de datos a fin de dilucidar su funcionamiento y los principales factores de control. Resulta, además fundamental identificar y cuantificar dos tipos de variables, aquellas que no muestran cambios durante períodos prolongados, cuya determinación puede revelar grandes alteraciones en el modo de funcionamiento del curso, y aquellas que cambian rápidamente y pueden servir como señales tempranas de crisis.

La actividad humana incide en el funcionamiento de los ríos y, en muchos casos, llega a determinarlo. En algunos países se realizan grandes esfuerzos para conocer los efectos de la contaminación en los ríos y evaluar las medidas para remediar o mitigar dicha contaminación. En Argentina los ríos urbanos contaminados, permanecieron casi desconocidos hasta hace pocos años. Sólo se contaba con datos de muestreos puntuales y escasa información sistemática de algunos organismos oficiales. Recientemente se han realizado estudios metodológicamente más precisos que han permitido conocer algunas variaciones estacionales en la concentración de contaminantes así como la composición del plancton,. El hecho de que entidades nacionales y provinciales hayan decidido encarar tareas de saneamiento de éste curso representa una oportunidad histórica para documentar los cambios en la contaminación del curso y evaluar (desde una posición neutral y con base estrictamente científica) la eficiencia de dicho saneamiento.

El Matanza-Riachuelo es un río de llanura que recibe aportes de la actividad agropecuaria y que, por atravesar una de las zonas más densamente pobladas del país, donde se sitúan gran número de establecimientos industriales, se encuentra entre los más contaminados del conurbano bonaerense. Como resultado de los estudios desarrollados en ríos de la provincia de Buenos Aires (en parte, por integrantes de éste proyecto) se comprobó que los metales pesados disueltos no presentan patrones definidos de concentración en agua a lo largo de estos cursos. La mayoría de los parámetros físicos y

¹ Cátedra de Higiene y Sanidad. FFyB UBA. Junín 956, 1113 Ciudad de Buenos Aires, Argentina
e-mail: jamorett@huemul.ffyb.uba.ar

² Departamento de Química e-mail: aiorio@quiagr.agro.uba.ar

³ Departamento de Suelos Facultad de Agronomía UBA Av. San Martín 4453, 1417 Ciudad de Buenos Aires e-mail: postmast@suelos.agro.uba.ar

⁴ Museo de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia

⁵ Departamento de Ciencias Biológicas FCEyN UBA

⁶ Becaria CIC

⁷ Comisión Nacional de Energía Atómica

⁸ Centro de Estudios Avanzados UBA

químicos para evaluación de contaminación mostraron un gradiente a lo largo de estos ríos. En lo referente a la abundancia de algas se observó un incremento debido principalmente al enriquecimiento progresivo en nutrientes, mientras el deterioro creciente de la calidad del agua habría afectado negativamente a los crustáceos planctónicos. Asimismo, se evaluó que el junco es un organismo adecuado como bioindicador y posible bioremediador. Los estudios de especiación de metales pesados en sedimentos pusieron de manifiesto su diferente afinidad por las fases geoquímicas y la biodisponibilidad.

En el Río Matanza-Riachuelo se detectaron principalmente algas euglenofitas, indicadoras de contaminación orgánica. La concentración de oxígeno disuelto es baja desde cerca de las nacientes. A través de bioensayos con algas se detectó un sostenido deterioro en las aguas desde la cuenca alta hasta la desembocadura, relacionado con la presencia de metales pesados. En la cuenca baja se observó, mediante bioensayos con una batería de organismos, una elevada genotoxicidad. Los índices de calidad del agua calculados revelan que las aguas de la mayor parte del curso no pueden utilizarse en su estado actual con ningún fin.

A pesar de la valiosa información obtenida hasta el presente quedan aún vacíos importantes en el conocimiento, como la correlación entre los niveles de contaminación y los usos de la tierra en la cuenca, los estudios de dinámica de metales pesados en sedimentos, la estructura del zooplancton, etc. A esto debe sumarse una adecuación de las mediciones ya realizadas.

La complejidad que presenta el estudio del funcionamiento de un río con contaminación de distintos tipos llevó a considerar conveniente la convergencia de distintos grupos de investigación que han realizado determinaciones en ríos del área Buenos Aires. Se podrán utilizar así metodologías específicas, ya probadas, en una única cuenca con el fin de integrar los distintos aspectos referidos a la misma y desarrollar estrategias de análisis interdisciplinario que puedan ser aplicadas a otros ambientes acuáticos con problemas de contaminación de origen mixto (agrícola, urbana e industrial).

2 - OBJETIVO

El objetivo del presente proyecto es el estudio interdisciplinario de un río de llanura contaminado, el Matanza-Riachuelo, con el fin de realizar un diagnóstico de la calidad ambiental y de analizar la dinámica del sistema. Se espera establecer rutas de contaminantes e identificar indicadores que sean de utilidad para un posterior monitoreo continuo.

Se categorizará el uso de la tierra en función de los impactos y se realizarán estudios del escurrimiento, físico-químicos del agua y sedimentos y biológicos que posibilitarán la caracterización del grado de contaminación y el análisis de posibles medidas de biorremediación. Se ha previsto, además, la selección y optimización de organismos con capacidad biorremediadora de contaminantes que se efectuará a partir de muestras de agua y sedimentos y el estudio del potencial como bioindicadores de contaminación de distintas especies acuáticas.

3 – METODOLOGÍA

3.1 - Análisis morfofisiográfico y ambiental

Se analizarán y categorizarán los antecedentes de suelos, geología, hidrología y geomorfología del área en estudio (Karr, 1987; Munn, 1979; Meentemeyer y Box, 1987; Risser *et al.*, 1987). Se analizarán mosaicos fotográficos a escala 1:50.000 e imágenes satelitarias a escala 1:250.000, obteniéndose un mapa preliminar de unidades físico-geográficas que permitirá delimitar la cuenca, ajustado con corroboración a campo. Se ubicarán áreas muestrales homogéneas representativas de los diferentes usos de la tierra (rural intensivo-extensivo, urbano, periurbano, industrial), para un análisis a mayor detalle 1:20.000 y ajustadas con realidad de campo (CEPAL, 1989; Garay, 1995; Banco Mundial, 1994). Se identificarán transectas para confirmar límites a campo de unidades cartográficas y se identificarán puntos de muestreo de aguas de escurrimiento, corroborando a campo el fácil acceso a las mismas. Se medirá el impacto de cada uso separado cartográficamente y se identificarán las fuentes (industrias, desagües cloacales y pluviales, residuos domésticos, etc.), factores de contaminación (usos agrícolas intensivo-extensivo, asentamientos humanos, turismo recreativo, etc.) y nuevas estructuras de servicios (obras contra inundaciones) (CEPAL, 1989; Garay, 1995; Banco Mundial, 1994; Reboratti y Prudkin, 1985). Se elaborarán mapas temáticos con las diferentes intensidades de usos de las tierras.

3.2 - Estimación del potencial de polución de algunos pesticidas

Los pesticidas están expuestos en el suelo principalmente a tres mecanismos; biodegradación, lixiviación y escurrimiento lateral. Para poder estimar la magnitud de cada uno de estos mecanismos, se procederá a determinar las constantes de partición y adsorción de cada pesticida para los suelos presentes en la cuenca en estudio (Mc Duffie, 1981; Jury *et al.*, 1987). Para este fin se determinarán en laboratorio las respectivas isotermas de adsorción (Lagmuir y/o Freundlich) y se medirán las

residualidades de los pesticidas y sus metabolitos en muestras de suelos tomadas en el campo a distintos intervalos de tiempo a partir de su aplicación (Isensee y Sadeghi, 1993).

También se medirán las respectivas concentraciones en el agua de escurrimiento y en los sedimentos arrastrados por la erosión (Raju *et al.* 1993) en sitios próximos, aguas abajo de los lotes tratados y en el punto de salida de la cuenca.

3.3 - Extracción de pesticidas del agua

Se realizará una concentración por extracción líquido/líquido en un extractor tipo GOULDEN y se cuantificarán e identificarán los pesticidas y sus metabolitos (López-Avila *et al.* 1990):

a) por cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masa (GC/MS)

b) por cromatografía de líquidos de alta performance (HPLC).

3.4 - Especiación de metales pesados en sedimentos y sólidos suspendidos

Los sitios de muestreo de sedimentos estarán distribuidos en los tramos superior, medio e inferior del río Matanza, contemplando sitios de baja y alta contaminación. Las muestras se colectarán utilizando cilindros de plexiglass de 4,5 cm de diámetro. Las mismas se transportarán al laboratorio en bolsas de polietileno a 4°C, se secarán al aire y se tamizarán por malla de 2 mm, liberándolas de restos diversos, posteriormente se guardarán por no más de dos días para los análisis.

3.4.1 - Extracción secuencial. La especiación de los metales se realizará por el esquema secuencial de Tessier(1979).

3.4.2 - Determinación de los sulfuros ácidos volátiles (AVS). Su determinación operacionales se efectuará por adición de ácido frío al sedimento y posterior análisis del sulfuro liberado según Allen (1993).

3.4.3-Fraccionamiento de materia orgánica. Para el fraccionamiento de la materia orgánica se procederá según el método recomendado por la international Humic Substances Society (IHSS). Para aislar las sustancias húmicas acuáticas se pondrá a punto la técnica desarrollada por Thurman y Malcolm (1981). Se realizarán, además, experiencias para determinar la capacidad de interacción de muestras naturales purificadas, tanto de ácidos húmicos como de fúlvicos, con diferentes metales tendientes a observar la afinidad de las moléculas orgánicas por dichos metales.

3.4.4- Determinación de iones metálicos solubles en agua complejados con la materia orgánica (Sims and Patrick,1978). A los efectos de determinar el carbono orgánico disuelto (COD) una alícuota de todos los extractos obtenidos se acidificará a pH <3, se saturará con He durante 10 minutos y se medirá la concentración por ICPAES usando la línea 193.09 de C(I) (Kerven *et al.*, 1995.)

3.5 - Determinaciones físico-químicas en aguas superficiales

En cada punto de muestreo fijado, se determinará: oxígeno disuelto, pH, conductividad eléctrica, temperatura, turbidez con disco de Secchi y sólidos suspendidos. Se tomarán muestras de agua superficial por triplicado, filtradas *in situ* a través de filtros Whatman GFC y trasladadas al laboratorio a 4°C. Allí se determinarán las concentraciones de fósforo reactivo soluble con molibdato ascórbico; nitratos por método de hidrazina; nitritos por diazotación según Strickland y Parsons (1968). El amonio será determinado por el método del indofenol azul (Mackereth *et al.*, 1978). Calcio y Magnesio se determinarán por titulación con EDTA; sodio y potasio por fotometría de llama; bicarbonatos por titulación con heliantina; sulfato por turbimetría y cloruros por titulación con nitrato de plata, según APHA (1985). Se tomarán muestras en botellas color caramelo que serán fijadas con HSO₄ para la determinación de nitrógeno y fósforo total. El fósforo total se determinará por digestión ácida y NT por Kjeldhal (APHA, 1985). Se tomará, además, una muestra de agua fijada con HNO₃ en cada punto de muestreo para determinar el contenido de metales pesados según la técnica de Tessier (1979).

3.6 - Experiencias de biorremediación con plantas acuáticas

Se realizarán experiencias en laboratorio sometiendo a la vegetación a distintas dosis de Zn. Para ello se colectarán al inicio de la estación de crecimiento, retoños de tamaño homogéneo y sedimento de una zona no contaminada que servirá como sustrato para las plantas. Se llevarán a cabo dos tratamientos con distintas dosis de Zinc (1500 mg Zn/ gr. de sedimento seco y 2500 mg Zn/ gr. de sedimento seco); se colocarán en cada recipiente 1,5 kg de sedimento seco, el cual se mezclará con

una cantidad conocida de cloruro de zinc de modo de obtener una mezcla homogénea de sedimento, metal pesado y agua. Estos tratamientos se contrastarán con un ensayo control de las mismas características. Finalizada la experiencia se cosecharán las plantas y se determinará la concentración de zinc en las distintas partes, contenido de N y P totales y biomasa.

Asimismo, se pretende evaluar la incidencia de distintos factores tales como: contenido de materia orgánica y contenido de P sobre la captación de Zn por la planta. Para ello se efectuarán las siguientes experiencias:

Se colectarán plantas pequeñas y sedimentos provenientes de una zona de bajo impacto. Los brotes se harán crecer en el sedimento hasta obtener plantines de tamaño homogéneo que serán trasplantados a recipientes sometidos a distintos tratamientos. Cada tratamiento se realizará por triplicado. Se controlará el Eh, pH y conductividad eléctrica.

Al final del bioensayo se colectarán las plantas y se determinará el contenido de Zn en las distintas partes, biomasa final y la biomasa final relativa tallo/raíz.

Las experiencias se repetirán con el agregado de fósforo

3.7 - Estudios de genotoxicidad

Para los estudios de genotoxicidad se utilizará el sistema de *Salmonella*/microsomos (ensayo de Ames) cuyos resultados en determinaciones realizadas en muestras de aguas han sido probados internacionalmente. Se analizarán muestras de agua de superficie las cuales, además, serán concentradas por pasaje a través de resinas. Para ampliar la información en lo referente a daños inducidos al genoma se realizará el ensayo con *Bacillus subtilis* rec que permite estimar la actividad de los sistemas de reparación de la molécula de ADN y el ensayo con *Saccharomyces cerevisiae* D7, un organismo eucarionte, que permite controlar la inducción de intercambios de material genético entre cromosomas. Por último, si se considerara conveniente, se estudiará con *Allium cepa* la inducción de aberraciones cromosómicas.

Las metodologías a emplear en cada caso se describen a continuación:

3.7.1-Ensayo de Ames. Para el ensayo de Ames se seguirá la técnica de incorporación en placa descrita en Maron y Ames (1983) con y sin activación microsomal.

3.7.2-Ensayo Rec. Para el ensayo Rec se utilizará la técnica de determinación de la eficiencia de plaqueo según lo descrito por Mazza *et al.* (1982). Las cepas usadas para este ensayo serán: *Bacillus subtilis* PB 1652 (rec⁺) y PB 1791 (rec⁻), gentilmente cedidas por el Dr. Mazza.

3.7.3 Ensayo de levaduras. En la detección de conversión génica y reversión génica mitótica con la cepa *Saccharomyces cerevisiae* D7 se seguirá la técnica descrita por Zimmermann *et al.* (1975).

3.7.4-Determinación de inducción de aberraciones cromosómicas en células vegetales. El ensayo se llevará a cabo con bulbos de *Allium cepa* L. (Liliaceae) (2n=16), según lo descrito por Fiskejo (1985). Como control negativo se utilizará agua mineral no carbonatada, con una concentración de calcio y magnesio de 50 ppm. y pH neutro.

3.8 - Bioensayos de inhibición del crecimiento algal

Se utilizará el alga verde *Selenastrum capricornutum* Printz para estudiar los efectos combinados de nutrientes e inhibidores del crecimiento (en especial metales pesados) según Miller (1978).

3.9-Análisis de fitoplancton

Para los análisis cuantitativos se tomarán muestras de superficie en frascos de PVC y se fijarán con solución de Lugol. Los recuentos algales se realizarán en microscopio invertido según Utermöhl (1958). Otra muestra se colectará para análisis taxonómicos con red de 15 µm de malla: una se fijará con formalina al 3 % y otra sin tratar para los aislamientos. Las algas serán identificadas con microscopio óptico y cultivadas en Bold's Basal Medium. Con las especies aisladas se realizarán estudios de ultraestructura por microscopía electrónica para detectar mecanismos de detoxificación intracelulares, así como bioensayos para probar resistencia a metales pesados.

3.10 - Análisis de zooplancton

Para el muestreo de zooplancton se filtrarán 100 l de agua subsuperficial tomada con bomba de succión, a través de una red de 48 µm de abertura de poro. Se tomarán además muestras para análisis cualitativos. Las muestras se fijarán con formol 3 - 5 %. En el laboratorio se realizarán las determinaciones (realizando disecciones bajo lupa cuando se requieran y observando los preparados en microscopio). Para los análisis cuantitativos se tomarán submuestras con pipetas tipo Hensel - Stempel y se efectuarán los recuentos de crustáceos planctónicos en cámara de Bogorov (5 ml) bajo microscopio estereoscópico. Los recuentos de rotíferos se llevarán a cabo en "plankton counting plate" (1 ml) bajo microscopio. Para los recuentos se seguirán pautas similares a las de Lewis (1979) y para la metodología en general se siguen las recomendaciones de Edmondson (1971).

3.11 - Ensayos de biorremediación con microorganismos autóctonos

Se seleccionarán, a partir de muestras de agua y sedimentos microorganismos autóctonos con capacidad para biodegradar contaminantes químicos habitualmente detectados en la cuenca (Korol *et al.* 1995).

Se realizarán ensayos de biodegradación con los microorganismos solos y asociados para determinar la influencia de distintos factores bióticos y abióticos en el proceso.

4 - REFERENCIAS

- ALLEN, H.E. (1993). The significance of trace metal speciation for water, sediment and soil quality criteria and standards. *The Sci. Of Total Environ.* 23-45.
- APHA (1985). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. 16th ed. American Public Health Assoc., Washington DC. 1268 pp.
- BANCO MUNDIAL (1994). Departamento de Medio Ambiente. Libro de consulta para evaluación ambiental. Trabajos Técnicos Nos. 139/ 140/ 154.
- CEPAL (1989). Santiago de Chile. Planificación y gestión de desarrollo en áreas en expansión de la frontera agrícola en América Latina.
- EDMONDSON, W. T and G. G. WINBERG (Eds.) (1971). *A manual on methods for the assessment of secondary productivity in freshwaters*. IBP, Handbook N 17. Blakwell Scientific Publ., Oxford and Edinburgh: 358 pp.
- FISKESJÖ, G. (1985). The *Allium* test as a standard environmental monitoring. *Hereditas* 102:99-112.
- GARAY, F.(1995). El conurbano bonaerense relevamiento y análisis. Conamba, Ministerio del Interior, Argentina.
- ISENSEE, A.R. and SADEGHI, A.M. (1993). Impact of tillage practice on runoff and pesticide transport. *J. Soil. and Water Cons.* 48 (6): 523-527.
- JURY, W.A; FOCHT, D.D and Farmer, W.J. (1987). Evaluation of pesticide groundwater pollution potential from standard indices of soil chemical adsorption and biodegradation. *J. Environ. Qual.* 16 (4): 422-428.
- KARR, J. R. (1987). Biological monitoring and environmental assessment: a conceptual framework. *Environmental Management* 11 (2): 249-256.
- KERVEN G.L. , OSTATEK -BOCZYNSKI Z., EDUARDS D.G., ASHU C.J. and OWERCZKIN (1995). Chromatographic techniques for the separation of Al and associated organic ligands present in soil solution. In RA Dat et al (eds) *Plant Soil Interactions at low pH* (Kluwer Academic Publishers, Netherlands).
- KOROL, S.; FORTUNATO, M.S.; MALACALZA, C. y DAQUINO, M. (1995). Biodegradación de efluentes líquidos de la industria cosmética. *Acta Farm. Bonaerense* 14(4): 249-255.
- LEWIS, W. M. Jr. (1979). *Zooplankton community analysis: studies on a tropical system*. Springer Verlag, New York: 168 pp.
- LÓPEZ-AVILA, V.; DODHIWALA, N.S AND BECKERT, W.F. (1990). Supercritical fluid extraction and its applications to environmental analysis. *J. Chromat. Sci.*28:468-476.
- MACKERETH, F.;J., HERON and J. TALLING. (1978). *Water analysis: Some revised methods for limnologists*. Freshwater Biological Association Scientific Public. Nro 36.
- MARON, Dand AMES B. (1983). Revised Methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113: 173-215
- MAZZA G. (1982). *Bacillus subtilis* "rec Assay" Test with isogenic strains. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 177-184.
- Mc DUFFIE, B. (1981). Estimation of octanol-water partition coefficient for organic pollutants using reverse-phase HPLC. *Chemosphere* 10: 73-83.
- MEENTEMEYER, V. and E.O. BOX (1987). Scale effects in landscape studies. In TURNER, M.G. (Ed) *Landscape heterogeneity and disturbance*, Springer - Verlag. New York.: 15-34.

SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GESTÃO DE RECURSOS HÍDRICOS.

Gramado, RS, de 5 a 8 de Outubro de 1998

- MILLER, W.E., J.C. GREENE, and T. SHIROYAMA (1978). The *Selenastrum capricornutum* Printz algal assay bottle test. Experimental design, application, and data interpretation protocol. EPA-600/9-78-018 (U.S. Environmental Protection Agency), 126 p.
- MUNN, R. E. (Ed.) (1979). Environment impact assessment principles and procedure. Edit. John Wiley and Sons.
- RAJU, G.S; MILLETE, J.A and KHAN, S. U. (1993). Pollution potential of selected pesticides in soils. Chemosphere 26 (8): 1429-1442.
- REBORATTI, C. and PRUDKIN, N. (1985). El conflicto entre produccion, sociedad y medio ambiente. Expansion agricola en el sur de Salta. Desarrollo Económico 99, vol.25.
- RISSER, P.G.; KARR, J.R.;and FORMAN, R.T.T.(1987) Landscape ecology: Directions and approaches. Illinois Natural History Survey. Spec. Public. 2, lii, Nat.Hist. Survey, Champaign.
- SIMS J.L. and PATRICK,Jr. W. (1978). The distribution of micronutrient cation in soil under conditions of varying redox potential and pH. Soil Sci. Soc. Am. J. vol 42:258-262.
- STRICKLAND J. and PARSONS T. (1968). A practical handbook for seawater analysis. Bulletin 125. J. Fish. Res. Bd. Can., Ottawa, Canadá, 185 p. TESSIER,A., P.G.C. CAMPBELL, and M. BISSON. (1979). Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. Analytical Chemistry, vol.51, no 7, 844.
- THURMAN E.M. and MALCOLM R.L.(1981). Preparative Isolation of Aquatic Humus Substances. Environ. Sci. Technol. 15:463-466.
- UTERMÖHL, H (1958). Zur vervollkommung der quantitativen phytoplankton Methodik, Mitt. Internat. Verein. Limnol. 9:1-38
- ZIMMERMANN F. K., KERN R. y RASENBERGER H. (1975). A yeast strain for simultaneous detectio of induced mitotic crossing-over, mitotic gene conversion and reverse mutation. Mutat. Res. 28: 381-388.