



Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici

STRUTTURAZIONE DI UN DATABASE ECOTOSSICOLOGICO

Stagista : Dott.ssa Cherubini Emanuela

Tutor : Dott.ssa Vagaggini Daria

INDICE

Riassunto

CAP.I. Introduzione.....

§ I.I La contaminazione ambientale pg 3-4

§ I.II. Definizione e campi di studio dell'ecotossicologia..... pg 4-7

§ I.III.I test ecotossicologici..... pg 8-9

§ I.IV. I database ecotossicologici..... pg. 9-11

CAP.II Struttura del database ecotossicologico..... pg. 12-18

CAP.III Risultati.....

§III.I. Bibliografia..... pg. 19-20

§III.II. Specie..... pg. 24-23

§III.III.Test ecotossicologici..... pg. 24-26

§III.IV. Sostanze..... pg. 26-30

§III.V. Conclusioni..... pg. 30-31

Bibliografia.....pg. 32-33

Riassunto

Lo scopo del presente lavoro è la costruzione di un database ecotossicologico nazionale, utilizzabile a supporto della valutazione del danno ambientale. Nella fase di determinazione del danno ambientale infatti, è di estrema utilità avere a disposizione una banca dati che in relazione alle concentrazioni dei contaminanti possa stimare gli effetti sulla componente biotica dell'ecosistema alterato.

La prima parte di questo lavoro è dedicata alla definizione dell'ecotossicologia e dei suoi principali strumenti applicativi: i test e i database ecotossicologici. Vengono inoltre considerati i rapporti che intercorrono fra le esigenze amministrative e normative, l'ecotossicologia, e le varie discipline ne costituiscono il necessario supporto scientifico: la tossicologia, la chimica ambientale e l'ecologia. Segue una descrizione di due database internazionali presenti in rete, EPAECOTOX e Cal/Ecotox.

Nella seconda parte si descrive la struttura del database APAT, costruito tramite il programma Access 2000, contenente sette tabelle (chiamate: "Bibliografia", "Specie", "Habitat", "Sostanze", "Unità di Misura", "Test", "Valori dei Test") con le tre maschere per l'inserimento e la visualizzazione dei dati (chiamate: "Bibliografia", "Specie", "Sostanze / Test").

Il database APAT contiene 935 records che si riferiscono a 33 specie caratteristiche di 4 diversi habitat, 124 sostanze chimiche e 16 tipi di test. Attualmente il database considera specificatamente specie tipiche di ambienti acquatici sotterranei e di corsi d'acqua, con la prospettiva in futuro di estendere il lavoro alle specie nazionali caratteristiche degli altri habitat contemplati nella classificazione Corine Land cover.

Nell'ultima parte del lavoro sono raccolte le elaborazioni condotte sui dati ritenuti più utili ai fini di una caratterizzazione sintetica del database.

I risultati hanno evidenziato in particolare che gli organismi più testati provengono dalle acque superficiali, al contrario per gli organismi tipici di acque sotterranee, si rileva una notevole carenza di test imputabile all'estrema sensibilità di tali specie ai contaminanti e alla conseguente difficoltà a condurre analisi su di essi, e all'incompleta conoscenza tassonomica. Un altro dato rilevante è la preponderanza di test sui metalli pesanti, il che rivela che la maggior parte degli studi è ancora rivolta alle sostanze che notoriamente nel passato hanno prodotto contaminazione ambientale. Poco studiate sono invece le sostanze

di più recente sintesi e diffusione (ormoni, antibiotici), non rappresentando ancora un'emergenza al livello ambientale. Tuttavia il loro massiccio utilizzo nella società attuale, rende auspicabile l'attuazione di studi ecotossicologici, volti a prevenire e quantificare il pericolo potenziale causato dalla diffusione nelle matrici ambientali di queste nuove sostanze.

CAPITOLO 1

INTRODUZIONE

1.1 La contaminazione ambientale

Nonostante i primi danni al patrimonio ambientale derivanti da attività umane si possano far risalire a tempi molto antichi, la preoccupazione per i problemi dell'ambiente è un fatto molto recente, che ha inizio a partire dagli anni successivi alla seconda guerra mondiale (Vighi,1986).

Gli anni Quaranta e Cinquanta possono essere considerati come il periodo di percezione del problema. Inizialmente l'attenzione venne rivolta ai danni provocati dall'immissione di scarichi di origine urbana ed industriale, le cui conseguenze almeno a livello locale e circoscritto potevano essere rilevate spesso sotto forma acuta in maniera piuttosto evidente.

Successivamente si prese coscienza anche dei danni derivanti dalle attività agricole. La veloce evoluzione nella produzione e uso dei pesticidi di sintesi (insetticidi, anticrittogamici, erbicidi) iniziata con la comparsa del DDT nel 1942, portò un miglioramento netto nella produttività agricola, e un innalzamento del livello economico e sociale di intere regioni. L'entusiasmo per questi successi e l'inadeguata conoscenza dei rischi per l'ambiente e per la salute umana, portò ad un uso intensivo e su vasta scala senza nessuna preoccupazione per i possibili effetti collaterali.

Un esempio è dato dall'eutrofizzazione delle acque superficiali, che raggiunse il suo culmine tra la fine degli anni cinquanta e l'inizio degli anni sessanta, un drammatico e crescente problema di contaminazione a livello mondiale.

Questi e altri diversi problemi ambientali spinsero ad una maggiore conoscenza dei problemi di contaminazione ambientale attraverso indagini e studi. A partire dagli anni Sessanta vennero attivati vasti programmi di monitoraggio volti a misurare i livelli ambientali dei principali contaminanti. Parallelamente iniziarono studi per la valutazione

degli effetti nocivi sugli organismi viventi. Questi studi acquisirono una sempre maggiore organicità allo scopo di ottenere risultati che potessero essere comparabili, anche se provenienti da diverse strutture sperimentali.

Fra i risultati più significativi di questo lavoro si possono citare, almeno per quanto riguarda l'ambiente acquatico, il Water Quality Criteria (U.S. Federal Pollution Control Administration, 1968) ed i numerosi della FAO/EIFAC prodotti dalla European Inland, Fishery, Advisory Commission, successivamente raccolti e sintetizzati in un volume (Alabaster e Lloyd, 1980).

Questa fase conoscitiva pose le basi per i primi interventi normativi attuati in campo internazionale a partire dall'inizio degli anni Settanta.

In campo scientifico, sulla base di oltre due decenni di intesa nel campo della quantificazione dei livelli ambientali e degli effetti contaminanti e sotto la spinta di questa necessità di previsione e prevenzione, nasce nella seconda metà degli anni settanta, l'ecotossicologia propriamente detta che si configura come "scienza strettamente applicativa e pragmatica con impostazione essenzialmente revisionale" (Truahaut, 1975).

1.2 Definizione e campi di studio dell'ecotossicologia

L'ecotossicologia può essere considerata come la più giovane fra le scienze che si occupano dei problemi ambientali. La sua consacrazione ufficiale e la definizione del termine "Ecotossicologia" si possono far risalire al 1978 con la pubblicazione del volume "Principles of ecotoxicology" (Butler, 1978). In questo testo fondamentale viene riportata la seguente definizione concordata da un comitato dello SCOPE (Scientific Committee on Problems of Environment):

"L'ecotossicologia riguarda gli effetti tossici degli agenti chimici e fisici sugli organismi viventi, in particolar modo su popolazioni e comunità all'interno di definiti ecosistemi; essa comprende anche lo studio delle modalità di diffusione di questi agenti e delle loro interazioni con l'ambiente."

Quindi l'ecotossicologia non si occupa soltanto della valutazione degli effetti dei potenziali contaminanti sugli organismi e sugli ecosistemi ma si prefigge anche lo studio dei meccanismi che determinano i vari livelli di esposizione ambientale.

La differenza principale fra tossicologia classica e l'ecotossicologia consiste nel fatto che quest'ultima considera almeno quattro diversi ordini di problemi (Truauth, 1975).

La determinazione complessiva infatti dell'effetto di un contaminante ambientale deve basarsi sulla conoscenza, in termini quantitativi di ciascuno dei seguenti distinti processi:

- La modalità di immissione della sostanza: la comprensione del comportamento del composto chimico deve presupporre la conoscenza di come viene introdotto nell'ambiente (immissione puntiforme o diffusa, da un'unica o da più sorgenti), della forma in cui è stata utilizzata (sostanza pura o formulati), dei luoghi e delle modalità di immissione.
- Il tipo di trasporto: essendo regolato da fattori chimici e fisici, può causare trasformazioni (idrolisi, fotolisi, biodegradazione) che producono sostanze con caratteristiche biochimiche completamente diverse da quelle originarie. Una corretta comprensione delle possibili trasformazioni a cui va incontro un composto chimico durante il suo trasporto è essenziale nella prevenzione del possibile effetto di contaminazione ambientale.
- La valutazione dell'esposizione cui uno o più organismi bersaglio possono essere sottoposti. Per far questo è necessario individuare il soggetto bersaglio (uomo, animali domestici, fauna, flora, risorse ambientali nel suo complesso), il tipo e il livello di esposizione a cui può essere sottoposto.
- Infine è necessario valutare la risposta che gli organismi, le popolazioni, le comunità e gli ecosistemi presentano all'esposizione del contaminante.

Per una adeguata valutazione ecotossicologica questi diversi aspetti devono essere affrontati quantitativamente ed in modo integrato.

L'ecotossicologia, per esaminare i problemi derivanti dall'immissione di una sostanza contaminante, deve quindi prendere in considerazione sia le caratteristiche intrinseche della sostanza stessa che ne determinano il movimento e gli effetti sulla biosfera sia le grandezze estrinseche ad essa, dipendenti cioè da fattori economico- produttivi (quantità prodotte o emesse, modalità di scarico) o da fattori ambientali (caratteristiche degli ecosistemi etc.).

Un quadro schematico delle relazioni che intercorrono tra le esigenze amministrative e normative, l'ecotossicologia, e le varie discipline che definiscono il necessario supporto scientifico è rappresentato dallo schema della figura 1.

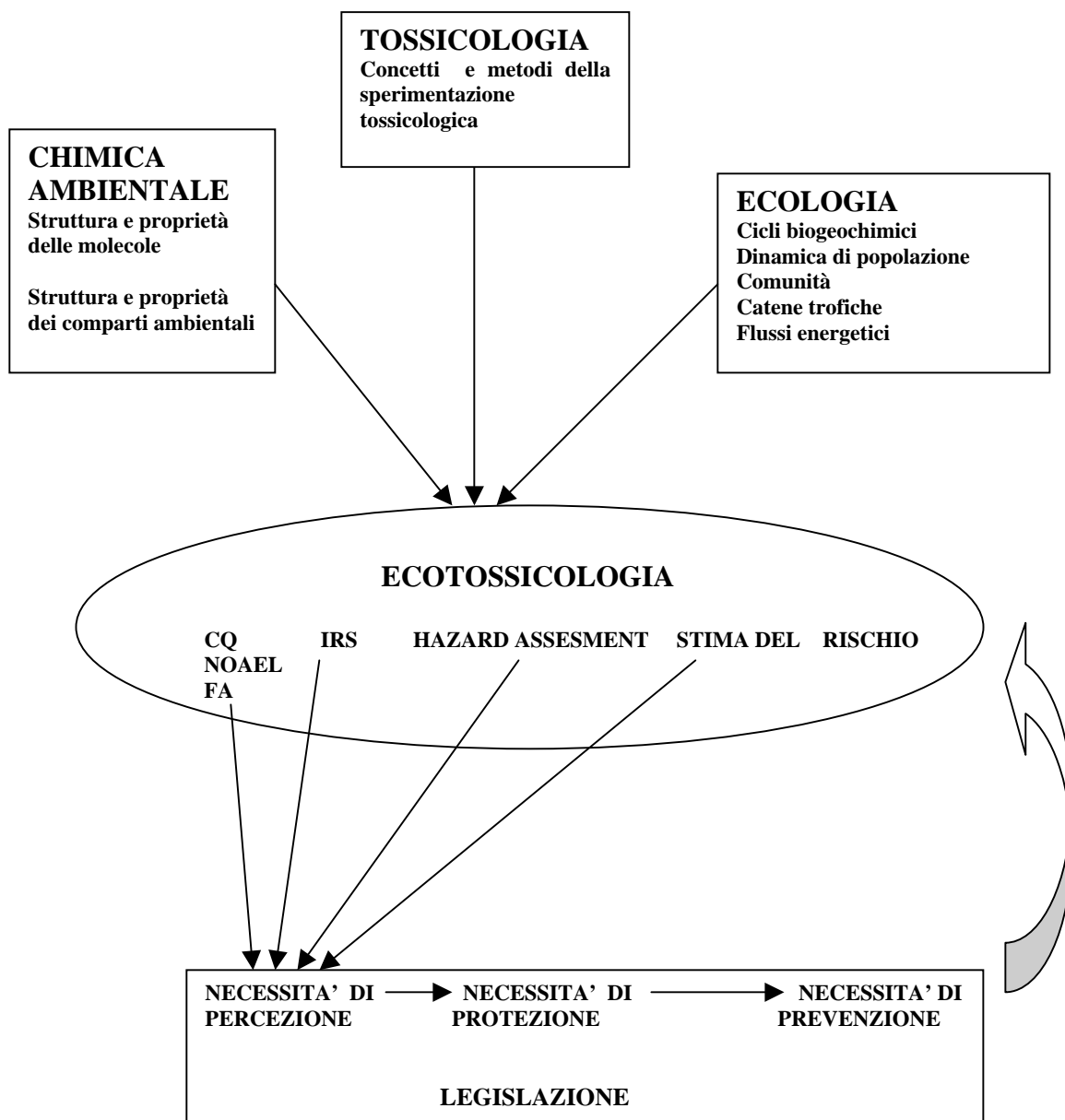


Figura 1. Relazioni tra l'ecotossicologia, le diverse scienze che ne costituiscono le basi informative e concettuali e la legislazione (da Vighi, 1989) .

CQ: criteri di qualità ambientale;

NOAEL: Concentrazione di non effetto
FA: Fattori di applicazione
IRS: sistemi integrati per la classificazione delle molecole

La comunità amministrativa pone alla comunità scientifica precise domande che si originano dalla necessità di percezione, protezione e prevenzione dei danni causati dalla contaminazione.

Tali risposte, fornite dalla tossicologia, dalla chimica ambientale e dall'ecologia, le basi informative e concettuali dell'ecotossicologia si concretizzano nella definizione di criteri di qualità ambientali (CQ), nella valutazione delle concentrazioni ambientali prevedibili (PEC), nella formulazione di sistemi integrati per la classificazione delle molecole (IRS), nella determinazione delle concentrazioni di non effetto (NOAEL), nella ricerca di relazioni quantitative struttura-attività del contaminante per prevedere gli effetti biologici sulla base delle caratteristiche delle molecole, nella quantizzazione dei fattori di applicazione (FA) che consentano di trasformare l'informazione tossicologica in indicazione normativa, che permetta di effettuare monitoraggi mirati che possano fornire un quadro conoscitivo dello stato dell'ambiente, una valutazione del pericolo potenziale (Hazard assessment) e della stima del rischio derivante dall'uso di determinate sostanze chimiche (Vighi, 1986).

L'ecotossicologia parte dal presupposto che i contaminanti migrano nei diversi comparti ambientali. Qualunque sia la matrice (aria, acqua, suolo) infatti nella quale il contaminante viene introdotto, esso tenderà a muoversi verso gli altri comparti in misura maggiore o minore a seconda delle sue caratteristiche. Dal punto di vista ecotossicologico quindi si deve parlare di contaminazione ambientale in senso lato, considerando tutte le varie interazioni fra i diversi comparti ambientali, strettamente connessi fra loro. Si può dire dunque che l'ecotossicologia ha come punto di partenza e oggetto prevalente lo studio delle molecole per arrivare a valutarne l'impatto globale, in modo integrato sull'ecosistema.

Non si parte quindi dallo studio degli ecosistemi e delle loro componenti in condizioni normali e di stress. Per questo motivo non è corretto considerare l'ecotossicologia come una branca dell'ecologia ma piuttosto come una scienza a sé stante che si serve di conoscenze multidisciplinari, dalla chimica alla fisica, dalla biologia all'ecologia stessa.

L'ecotossicologia deve essere considerata quindi come una scienza preposta a produrre informazioni utili per una corretta gestione delle molecole potenzialmente pericolose, per escludere o minimizzare i rischi di un progresso tecnologico senza rinunciare ai benefici che da esso derivano.

1.3 I test ecotossicologici

L'ecotossicologia si pone l'obiettivo di valutare gli effetti acuti e/o cronici di vari composti chimici collegandoli ai fenomeni di trasporto abiotico (volatizzazione, solubilizzazione, assorbimento, ecc) e biotico (catena alimentare). Utili strumenti dell'ecotossicologia sono i test sugli organismi viventi, che quantificano l'effetto di un contaminante su una determinata specie a livello di sopravvivenza o di altri fenomeni (ad esempio l'immobilizzazione, il bioaccumulo ecc...), dando così un'idea precisa della tossicità della sostanza. La tossicità rappresenta una caratteristica sia qualitativa, in quanto l'azione tossica dipende dall'interazione della struttura molecolare con le molecole biologiche, che quantitativa, in quanto l'azione tossica si manifesta solo quando si superano determinati livelli di concentrazione nell'ambiente o in alcuni organi dell'organismo (Raffetto & *al.*, 2001).

Nei test ecotossicologici si rivelano di fondamentale importanza organismi detti bioindicatori; si tratta di organismi in grado di subire variazioni facilmente rilevabili e quantificabili delle loro condizioni naturali (Vighi, 1986).

Un buon bioindicatore deve possedere le seguenti caratteristiche:

- non deve essere troppo sensibile agli inquinanti, altrimenti morirebbe troppo presto, fornendo informazioni per livelli di inquinanti troppo bassi
- deve avere un ciclo vitale lungo, notevole resistenza agli stress ambientali e mostrare accrescimento continuo.

Due parametri fondamentali nella valutazione della tossicità sono l'*esposizione*, cioè la quantità di sostanza disponibile ad entrare nell'organismo, e la *dose*, cioè la quantità di sostanza che effettivamente entra nell'organismo. L'obiettivo a cui si tende nel misurare la tossicità di una sostanza è l'individuazione della concentrazione (quantità biodisponibile) o della dose (quantità che penetra nell'organismo), alle quali il composto tossico è capace di produrre uno o più effetti su organismi tenuti in condizioni controllate (concentrazione del composto tossico e durata dell'esposizione). Con questo criterio si può ricavare la LC50, (concentrazione letale mediana) che corrisponde alla concentrazione che provoca la morte del 50% degli organismi utilizzati in prova dopo periodi di tempo specifici (es. 48, 96 ore).

Un altro tipo di test molto comune si basa sulla EC50 (concentrazione effettiva mediana), intesa come la concentrazione in grado di produrre, per un determinato tempo di trattamento, un'incidenza pari al 50% dell'effetto scelto come misura della tossicità (se l'effetto è la mortalità si ha $EC50=LC50$). Se le risposte degli organismi si manifestano in tempi relativamente brevi si parla di tossicità acuta per risposte invece che si rendono palesi dopo tempi prolungati di tossicità cronica (Hammons, 1981, Lutolam, 1986)

Numerosi altri test vengono correntemente effettuati nelle analisi ecotossicologiche, sarebbe superfluo un elenco dettagliato ma è utile ricordare che i risultati provenienti da questo tipo di sperimentazioni possono rappresentare anche un utile supporto alla valutazione del danno ambientale, quantificando le reazioni degli organismi che rappresentano il bersaglio ultimo delle contaminazioni ambientali. Se i test ecotossicologici possono essere dunque fondamentali per valutazioni di tipo deterministico non è trascurabile il loro ruolo nelle analisi di rischio, procedure che si basano proprio su tali test per arrivare a valutare i dati di tossicità di sostanze a cui la popolazione è o può essere esposta e per quantificare i rischi potenziali per la salute.

1.4 I database ecotossicologici

I database ecotossicologici sono raccolte di dati organizzati su supporto informatico nelle quali vengono riportati i valori dei test, le sostanze e le specie oggetto di indagine, insieme alle condizioni in cui i test vengono effettuati. I dati inseriti nei database provengono in genere o da articoli di letteratura o da esperimenti diretti. I supporti informatici utilizzati permettono di creare generalmente database relazionali, cioè archivi di dati strutturati in tabelle in relazione fra loro, tanto che le informazioni di diverse tabelle possono essere unite ed è possibile fare ricerche da più tabelle contemporaneamente. Il database relazionale così costruito ha diversi vantaggi, come l'univocità dei dati immessi (ogni dato immesso deve rappresentare un solo tipo di informazione che non può essere ripetuta), la consultazione semplice anche per i non addetti ai lavori, una più rapida visualizzazione di informazioni strutturate e una grande facilità nell'inserimento dei dati, che possono essere aggiunti e modificati anche dopo la stesura della banca dati. Questi archivi informatici di dati, inoltre hanno anche il vantaggio che possono essere pubblicati in internet, favorendo la consultazione e la reperibilità di dati a tutti gli utenti indipendentemente dalle distanze.

Esistono in rete alcuni database ecotossicologici tra i più interessanti si ricordano ECOTOX e Cal/Ecotox database .

ECOTOX risulta essere l'archivio ecotossicologico di dati più completo presente attualmente in rete. È stato creato ed è mantenuto in costante aggiornamento dall'U.S.EPA, l'Office of Research and Development (ORD), e il National Health and Environmental Effects Research Laboratory's (NHEERL's) Mid-Continent Ecology Division.

Questo database considera sia gli ambienti acquatici che terrestri e contiene un totale di 10.325 sostanze chimiche, 6026 specie, 19.171 riferimenti bibliografici e 472.705 schede ecotossicologiche (<http://www.epa.gov/ecotox.com>).

In EPAECOTOX le sostanze testate, vengono identificate con il nome scientifico o mediante il CAS registry number, inoltre sono state suddivise all'interno di quattro diverse classi: pesticidi, metalli pesanti, diossine, idrocarburi.

Gli organismi considerati, vengono identificati in base alla loro classificazione tassonomica e allo stadio vitale in cui è stata testata ogni specie. I gruppi tassonomici inseriti nel database comprendono sia vertebrati che invertebrati. Sono inoltre presenti descrizioni delle condizioni in cui sono stati svolti i test, vale a dire le caratteristiche chimiche dell'ambiente in cui è avvenuto il test, il luogo dell'esperimento, il tipo di esposizione e la durata. Gli effetti tossici, sono stati corredati di un codice numerico che contiene informazioni riguardo l'effetto letale, subletale, o residuo della sostanza tossica, e la corrispondente concentrazione della sostanza chimica nel test.

Di minor ampiezza è il Cal/ Ecotox californiano (California toxicity database), creato dall'Office of Environmental Health Hazard Assesment, in collaborazione con l'università della California di Davis, allo scopo di fornire informazioni riguardanti il rischio di contaminazione nelle aree naturali della California. Questo database pur considerando sia gli ambienti acquatici che terrestri, prende in esame soltanto un ristretto numero di specie di mammiferi, uccelli, anfibi e rettili californiani, facendo riferimento per quanto riguarda le sostanze tossiche, prevalentemente ai pesticidi. Nel Cal/ Ecotox sono contenute 120 specie e 200 sostanze. (www.Cal/ecotoxdatabase.com)

Mentre l'ECOTOX ha come uscita della ricerca un file di Excel, il Cal/ Ecotox presenta delle schede in word stampabili a cui si accede cliccando sulla specie o sulla sostanza chimica poste in un elenco del sito.

Il progetto presentato in questo stage, ispirato al panorama internazionale appena descritto, si riferisce alla costruzione di un database ecotossicologico nazionale

utilizzabile a supporto della valutazione del danno ambientale. Nella fase di determinazione del danno ambientale infatti, in cui si documenta lo scenario del danno (la sorgente, le vie d'esposizione dei contaminanti e i bersagli colpiti), è di estrema utilità avere a disposizione una banca dati che in relazione alle concentrazioni dei contaminanti possa stimare gli effetti sulla componente biotica dell'ecosistema alterato(Fabi *et al.*,2004). Essendo tale database uno strumento utile a livello nazionale si è pensato di includere solo test che si riferiscono a specie presenti nella nostra penisola di cui è nota la distribuzione geografica. In tal modo di fronte alla contaminazione di un'area sapendo quali specie sono presenti è possibile attraverso il database stimare se le concentrazioni del contaminante determinano un impatto sulla componente biotica ed eventualmente il tipo di effetti che ne derivano.

Nel capitolo successivo saranno esplicitate tutte le caratteristiche del database con un particolare riferimento ai criteri con i quali è stato costruito.

CAPITOLO 2

STRUTTURA DEL DATABASE

Il database ecotossicologico, ideato a supporto della valutazione del danno ambientale, è un database di tipo relazionale, cioè un archivio di dati strutturati in tabelle poste in relazione fra loro. Questa banca dati è stata costruita tramite ACCESS 2000, programma facente parte del pacchetto Office della Microsoft. Le tabelle, in linguaggio informatico, vengono definite come oggetti utilizzati nell'archiviazione dei dati e sono costituite da campi (colonne) e record (righe). Ciascun campo contiene un'informazione relativa all'argomento della tabella (attributo) mentre ciascun record contiene tutte le informazioni relative ad un'entità dell'argomento. Le proprietà degli argomenti, ad esempio se il dato è di tipo numerico oppure un testo, si visualizzano aprendo la modalità "struttura".

Il database relazionale offre numerosi vantaggi sia nell'aggiunta dei dati che nella consultazione. Questo strumento di catalogazione è infatti un archivio dinamico e interattivo; si possono ad esempio formulare queries, domande poste al database che compiono ricerche sull'archivio di dati, "filtrando" tutti i dati dell'archivio in base a dei criteri di valutazione, che funzionano come limiti entro cui effettuare la ricerca. I risultati di queste specifiche ricerche possono essere visualizzati tramite i Report, dei moduli pronti alla stampa in cui compaiono i risultati delle queries.

Come esposto nel capitolo precedente il database in questione contiene i risultati di una serie di test ecotossicologici, derivanti dalla letteratura scientifica internazionale, effettuati su specie a distribuzione nazionale sottoposte a diversi contaminanti.

La strutturazione del database comprende sette tabelle denominate “Bibliografia”, “Sostanze”, “Specie”, “Habitat”, “Tipi di test” e “Unità di misura” e una tabella di relazione denominata “Valori test”.

Nella tabella “Bibliografia” sono presenti cinque campi relativi a: codice autore, contenente i cognomi degli autori e anno di pubblicazione dell’articolo, nome dell’autore, data di pubblicazione dell’articolo, titolo dell’articolo, nome del periodico da cui è stato tratto, numero del volume e delle pagine dell’articolo.

Le sostanze chimiche con cui sono state effettuati i test sono riportate nella tabella “Sostanze” e ad ognuna è associato il CAS number che la caratterizza.

Nella tabella “Specie” vengono elencate tutte le specie che sono state sottoposte ai test, classificate con il Phylum (o gruppo) di appartenenza, la classe, l’ordine, la famiglia, il nome latino (nomenclatura linneana) e lì dove esistente il nome comune. Le specie considerate sono in prevalenza invertebrati acquatici, e in minor parte vertebrati acquatici, esclusivamente caratteristici di acque sotterranee e di corsi d’acqua.

Nella tabella “Habitat” sono contenuti 18 habitat presi dal terzo livello della classificazione del Corine Land cover (vedi tabella 1), a cui sono stati aggiunti altri 4 habitat sotterranei: ambiente sotterraneo terrestre, acque sotterranee carsiche in terreni alluvionali, acque sotterranee in rocce non carsificabili e acque sotterranee carsiche. Si ribadisce che attualmente il database considera specificatamente specie tipiche di ambienti acquatici sotterranei e di corsi d’acqua (evidenziati in tabella), con la prospettiva in futuro di estendere il lavoro alle specie nazionali caratteristiche degli altri habitat contemplati nella classificazione Corine Land cover.

Habitat
Acque sotterranee carsiche
Brughiere e cespuglieti
Corsi d'acqua, canali e idrovie
Estuari
Lagune
Mari e oceani
Paludi interne
Paludi salmastre
Rocce nude, falesie, rupi affioramenti
Saline
Boschi di latifoglie
Acque sotterranee in rocce non carsificabili
Spiagge, dune, sabbie
Torbiere
Zone intertidali

Habitat
Acque sotterranee in terreni alluvionali
Ambiente sotterraneo terrestre
Aree a pascolo naturale e praterie di alta quota
Aree a vegetazione sclerofilla
Bacini d'acqua
Boschi di conifere

Tabella 1. Habitat presenti nel database. In giallo sono evidenziati quelli considerati finora nell'inserimento dei dati

Nella tabella “Tipi di Test” vengono indicati tutti i test ecotossicologici presi in considerazione nel database con una breve descrizione del loro significato (vedi tabella 2).

Tipo di test	Descrizione del test
BAF	Fattore di bioaccumulo
EC50	Concentrazione alla quale il 50% degli organismi presenta un determinato effetto avverso
LC50	Concentrazione letale per il 50% degli organismi analizzati
LOAEL	Livello più basso di dose che produce effetto tossico
LOEC	La minima concentrazione osservata in corrispondenza della quale si riscontra un effetto significativo sugli organismi analizzati
NOAEL	Livello più alto di dose che non produce effetto tossico
NOEC	La più alta concentrazione osservata in corrispondenza della quale non si riscontrano effetti avversi per gli organismi analizzati
LC100	Concentrazione letale per il 100% degli organismi
% MORTALITA'	Percentuale di individui morti alla concentrazione testata
IC25	Concentrazione che inibisce crescita o sopravvivenza del 25%
IC20	Concentrazione che inibisce crescita o sopravvivenza del 20%
BCF	Fattore di bioconcentrazione: espresso come rapporto tra la concentrazione della sostanza nell'organismo e quella nel mezzo considerato
LT50	Tempo che impiegano il 50% degli organismi a morire
%IMMOBILITA'	Percentuale di individui immobilizzati alla concentrazione testata

Tabella 2. Test ecotossicologici

Nell'ultima tabella “Unità di misura” vengono riportate le unità di misura convenzionalmente utilizzate nei test ecotossicologici

Unità di misura
µ/L
mg Kg
mg/L
µg/L
t/anno
µg/m

Unità di misura
mg/m
mg/Nm
mg/kg sostanza secca
p.p.m.s.s.
µg/g peso secco
L/kg
µg/g peso bagnato
h
ppm

Tabella 3.Unità di misura presenti nel database.

La tabella “Valori test” è l’unica tabella relazionale dove sono state collegate fra loro le informazioni provenienti dalle precedenti tabelle. In essa infatti, sottoforma di codici numerici, sono presenti: la sostanza tossica, la specie oggetto del test, l’habitat della specie, l’autore dell’indagine e il tipo di test effettuato. E’ riportato inoltre il valore del test, la durata dell’esposizione e le condizioni fisico chimiche dell’ambiente in cui è stato svolto l’esperimento. Questa tabella quindi consente di aver una visione chiara e sintetica di tutti i dati contenuti nel database.

A livello operativo dopo avere definito in ogni tabella la tipologia di dato da inserire, si è proceduto alla creazione di maschere (o schede) per l’inserimento delle informazioni. Le maschere consentono di creare mappe di inserimento dati e presentano diversi vantaggi funzionali: sono molto efficienti, in quanto ognuna visualizza solo determinate informazioni nel modo desiderato, consentono una facile immissione dei dati che possono essere modificati, corretti e aggiunti. Nel presente database sono state create tre maschere per la visualizzazione grafica e per facilitare l’inserimento dei dati: una per la bibliografia (figura 1) una per le specie (figura 2) ed una per i valori dei test (figura 3).

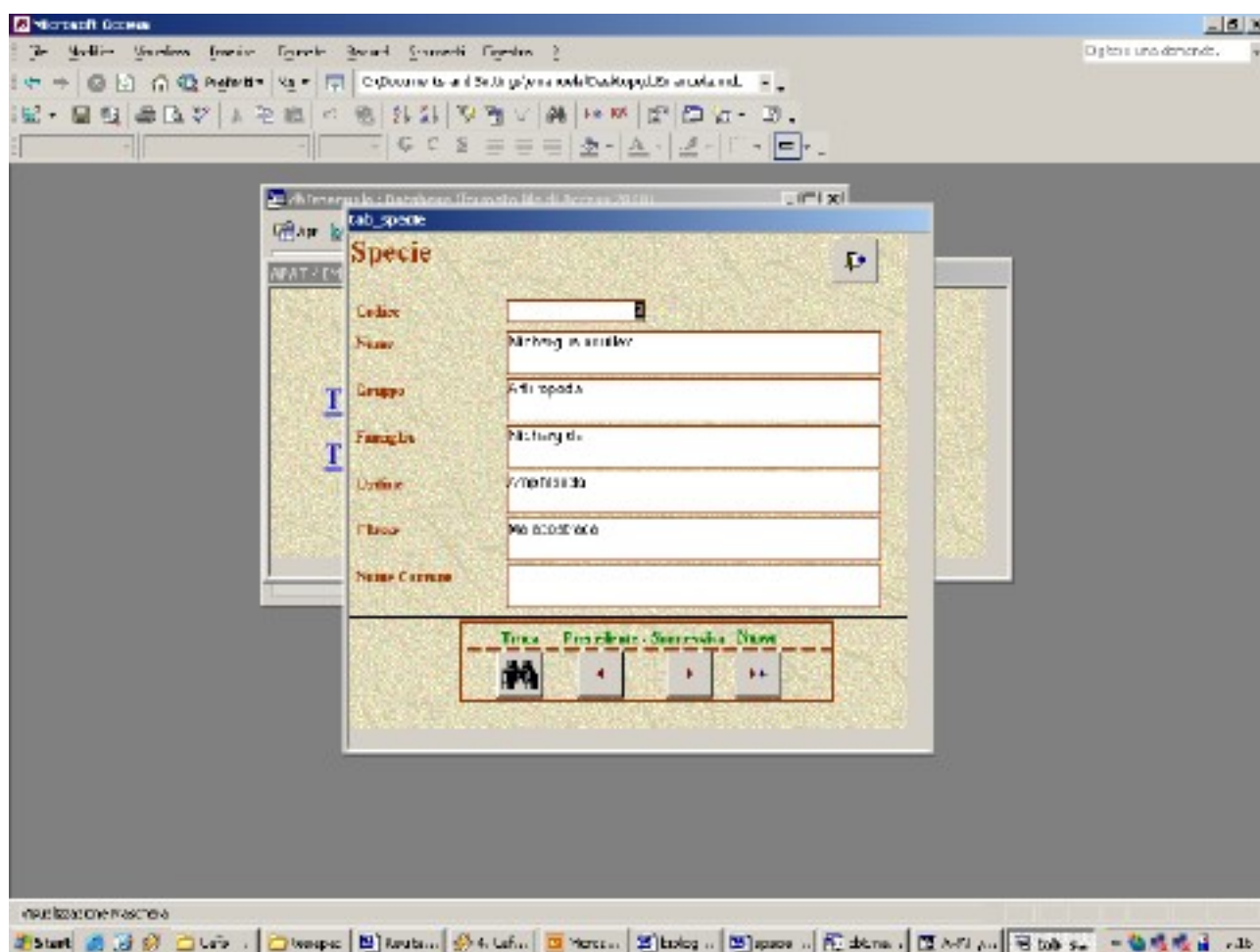


Figura 3.Maschera Specie

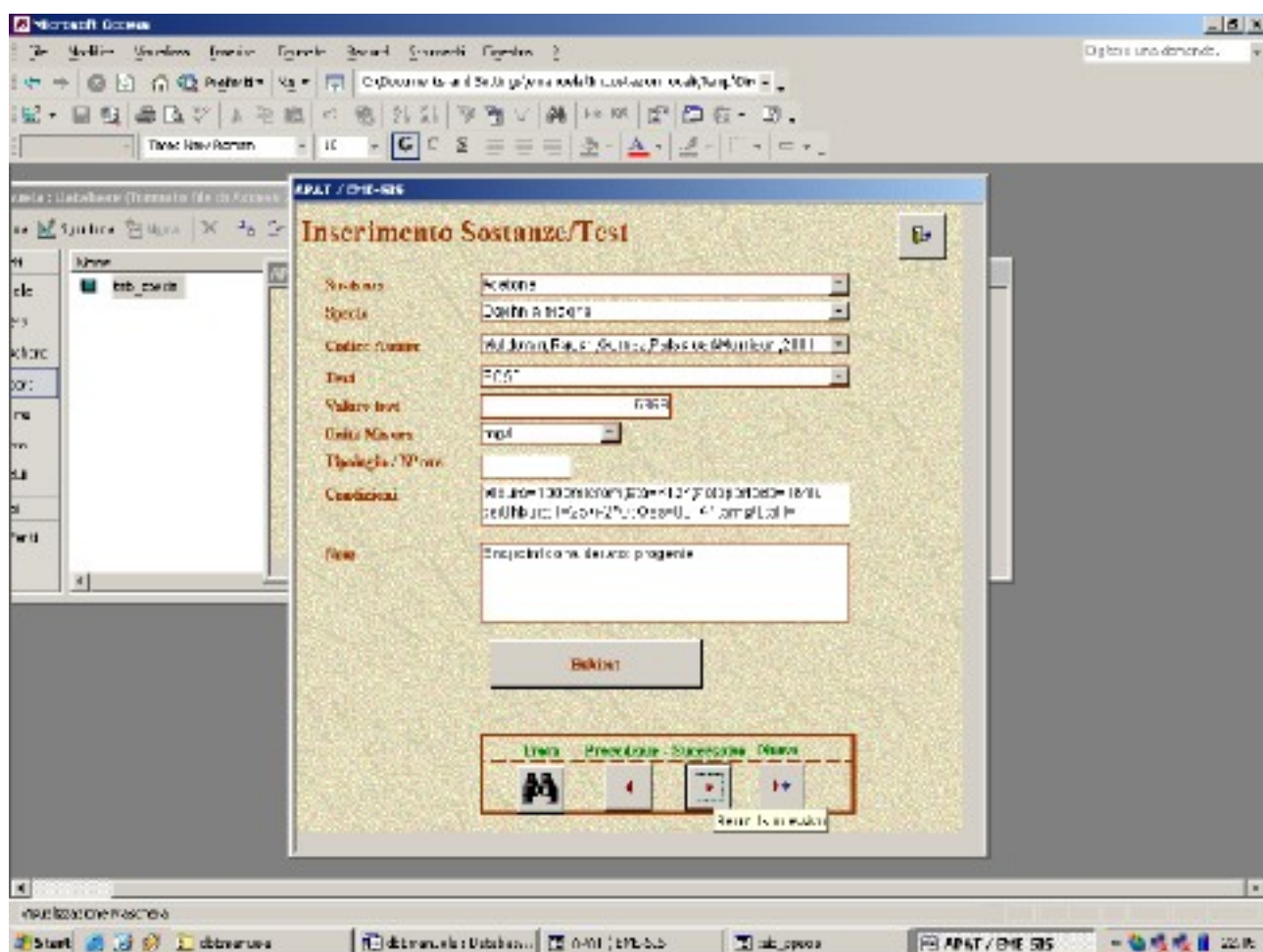


Figura 4. Maschera Sostanze /Test

CAPITOLO TRE

RISULTATI

Vengono di seguito riportati i risultati ottenuti dall'elaborazione dei dati ritenuti più utili al fine di una caratterizzazione sintetica del database.

3.1. Bibliografia

Le informazioni contenute in questo archivio sono state estratte da un totale di 48 riferimenti bibliografici, provenienti da articoli pubblicati esclusivamente su periodici. Prevalentemente si tratta di periodici riguardanti il monitoraggio delle acque (Water Research, Acqua & Aria, Hydrobiologia, Aquatic Toxicology, Freshwater Biology etc..) e riviste di Tossicologia (Ecotoxicology and Environmental safety, Contamination and Toxicology, Toxicology in Vitro etc..). In minor parte hanno contribuito alla costruzione del database periodici riguardanti la biochimica (Chemosphere).

Le date di pubblicazione vanno dal 1983 al 2003 ma la maggior percentuale di articoli è relativa agli anni 2002-2003 (11%) (Fig.1). Molti articoli rappresentano delle review, in cui gli autori riportano un cospicuo numero di test citando numerose fonti bibliografiche.

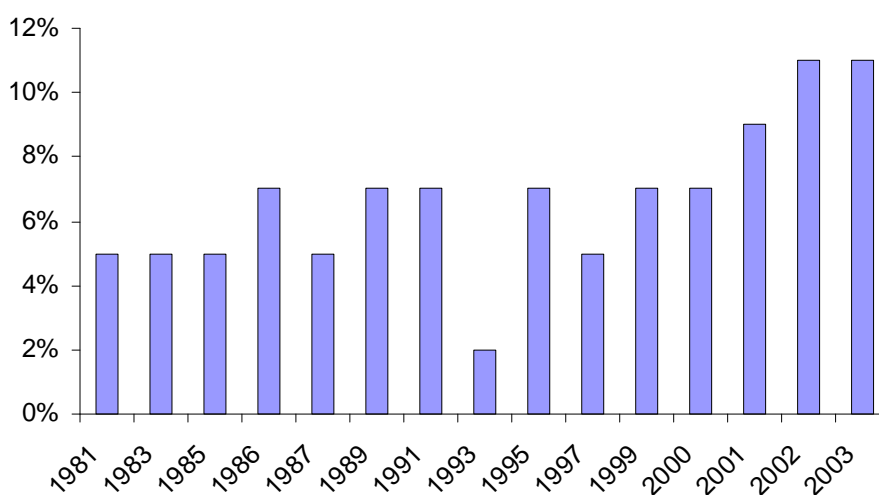


Figura 5. Presenze in percentuale delle varie date di pubblicazione nel database.

Le informazioni raccolte dagli articoli hanno permesso di costruire un database di 935 records, ognuno costituito dalla sostanza, dalla specie testata, dal tipo di test con il suo valore, dall'unità di misura e dalle condizioni in cui il test è stato effettuato.

3.2 . Specie e Habitat

I dati raccolti fanno riferimento a 33 specie di invertebrati e vertebrati acquatici, provenienti da due habitat in particolare: l'ambiente acquatico sotterraneo (suddiviso a sua volta in acque sotterranee carsiche, acque sotterranee in rocce non carsificabili e acque sotterranee in terreni alluvionali) e quello dei corsi d'acqua superficiali.

Come si nota dalla figura 2 le specie presenti nel database provengono in maggioranza da ambienti di acque superficiali (59%), in buona parte da ambienti acquatici ipogei (26%), mentre la minoranza alberga in ambienti di transizione, cioè nell'ecotono tra le acque superficiali e quelle sotterranee (15%).

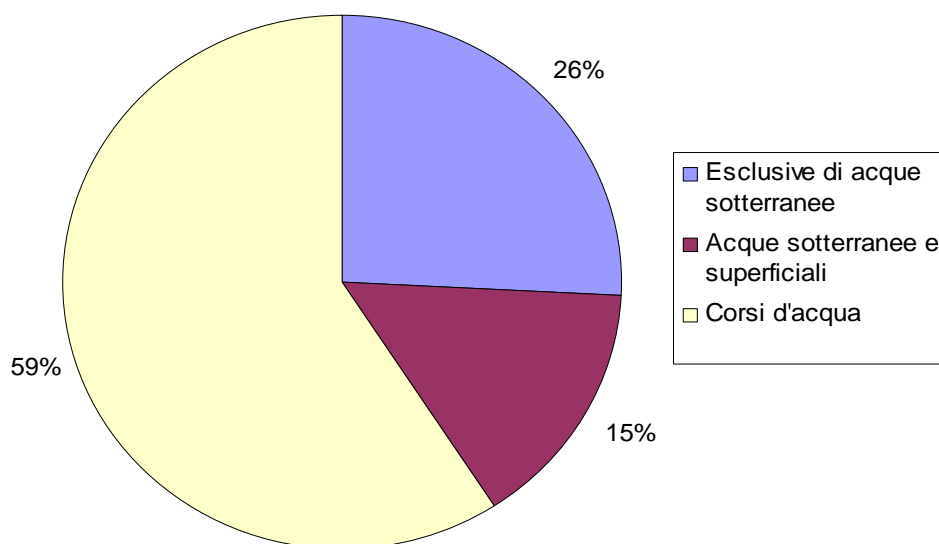


Figura 2 . Presenza delle specie appartenenti agli habitat considerati.

Allo scopo di avere una più precisa descrizione degli organismi trattati, si riporta in Tabella 1 la classificazione sistematica delle 33 specie del database.

Nome specie	Phylum	Subphylum	Classe	Ordine	Famiglia	Nome comune
Niphargus aquilex	Arthropoda	Crustacea	Malacostraca	Amphipoda	Niphargidae	
Proasellus cavaticus	Arthropoda	Crustacea	Malacostraca	Isopoda	Asellidae	
Proasellus coxalis africanus	Arthropoda	Crustacea	Malacostraca	Isopoda	Asellidae	
Proasellus slavus vindobonensis	Arthropoda	Crustacea	Malacostraca	Isopoda	Asellidae	
Asellus aquaticus	Arthropoda	Crustacea	Malacostraca	Isopoda	Asellidae	
Gammarus pulex	Arthropoda	Crustacea	Malacostraca	Amphipoda	Gammaridae	
Acanthocyclops robustus	Arthropoda	Crustacea	Maxillopoda	Cyclopoida	Cyclopidae	
Parastenocaris germanica	Arthropoda	Crustacea	Maxillopoda	Harpacticoida	Parastenocarididae	
Achantocyclops vernalis	Arthropoda	Crustacea	Maxillopoda	Cyclopoida	Ciclopidae	
Diacyclops bicuspidatus	Arthropoda	Crustacea	Maxillopoda	Cyclopoida	Ciclopidae	
Diacyclops aff. disjunctus	Arthropoda	Crustacea	Maxillopoda	Cyclopoida	Ciclopidae	
Paracyclops fimbriatus	Arthropoda	Crustacea	Maxillopoda	Cyclopoida	Ciclopidae	
Megacyclops viridis	Arthropoda	Crustacea	Maxillopoda	Cyclopoida	Ciclopidae	
Diacyclops felix	Arthropoda	Crustacea	Maxillopoda	Cyclopoida	Ciclopidae	
Astacus astacus	Arthropoda	Crustacea	Malacostraca	Decapoda	Astacidae	
Procambarus clarkii	Arthropoda	Crustacea	Malacostraca	Decapoda	Cambaridae	
Daphnia magna	Arthropoda	Crustacea	Branchiopoda	Cladocera	Daphniidae	
Ceriodaphnia dubia	Arthropoda	Crustacea	Branchiopoda	Cladocera	Daphniidae	
Cypridopsis vidua	Arthropoda	Crustacea	Ostracoda	Cypridopsida	Cypridopsidae	
Baetis	Arthropoda	Hexapoda	Insecta	Ephemeroptera	Baetidae	
Agapetus fuscipes	Arthropoda	Hexapoda	Insecta	Trichoptera	Glossosomatidae	
Tubifex tubifex	Annelida		Oligochaeta	Tubificida	Tubificidae	
Lumbriculus variegatus	Annelida		Oligochaeta	Lumbriculida	Lumbriculidae	
Caenorhabditis elegans	Nematoda		Secernentea	Rhabditida	Rhabditidae	
Dreissena polymorpha	Mollusca		Bivalvia	Veneroida	Dreissenidae	
Proteus anguinus	Chordata	Vertebrata	Amphibia	Urodela	Proteidae	
Cyprinus Carpio	Chordata	Vertebrata	Osteichthyes	Cypriniformes	Cyprinidae	Carpa
Salmo [trutta] trutta	Chordata	Vertebrata	Osteichthyes	Salmoniformes	Salmonidae	Trota fario
Oncorhynchus mykiss	Chordata	Vetebrata	Osteichthyes	Salmoniformes	Salmonidae	Trota iridea
Ictalurus melas	Chordata	Vertebrata	Osteichthyes	Siluriformes	Ictaluridae	Pesce gatto
Micropterus salmoides	Chordata	Vertebrata	Osteichthyes	Perciformes	Centrarchidae	Persico trota
Gasterosteus aculeatus	Chordata	Vertebrata	Osteichthyes	Gasterosteiformes	Gasterosteidae	Spinarello

Tabella 4. Classificazione sistematica delle specie presenti nel database.

Come si vede in figura 3, la maggior parte delle specie per le quali sono stati rinvenuti test ecotossicologici appartengono al phylum Arthropoda (67%), di seguito troviamo il phylum Chordata (21%) mentre i phyla Annelida, Mollusca e Nematoda contribuiscono in minori quantità alla composizione del database.

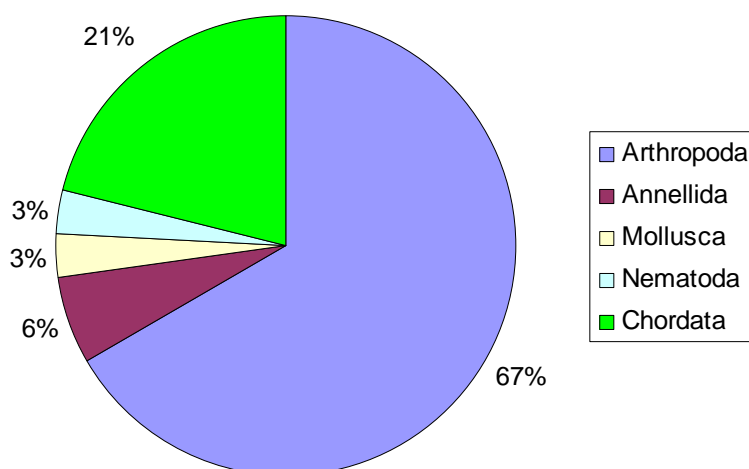


Figura 6. Composizione percentuale dei vari phyla nel database.

Analizzando la percentuale dei singoli subphyla (fig. 4), tra gli Arthropoda il gruppo Crustacea è prevalente rispetto agli Hexapoda (68%, 25% rispettivamente), e in generale gli invertebrati hanno presenze maggiori rispetto ai vertebrati (7%).

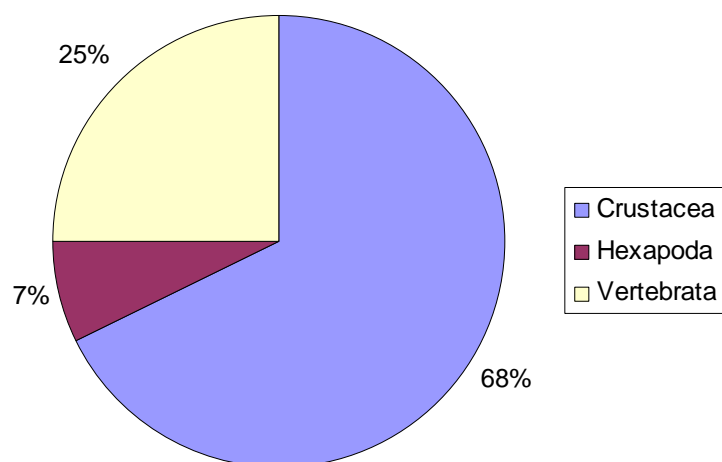


Figura 4. Presenza percentuale dei subphylum nel database

Tra i Crustacea un'elevata percentuale (42%) appartiene alle Classi Maxillopoda e Malacostraca, con una minor frequenza sono presenti i Branchiopoda, (11%), e con una minima gli Ostracoda (5%) (fig 5).

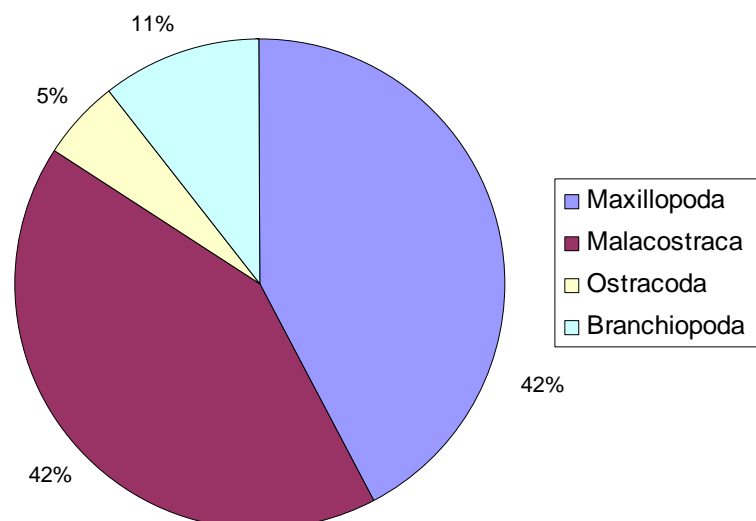


Figura 5. Presenza percentuale delle classi del subphylum Crustacea

Come mostra la figura 6 quasi la totalità dei test ecotossicologici riguardano specie tipiche di corsi d'acqua superficiali (95%), in minori percentuali acque sotterranee o entrambe.

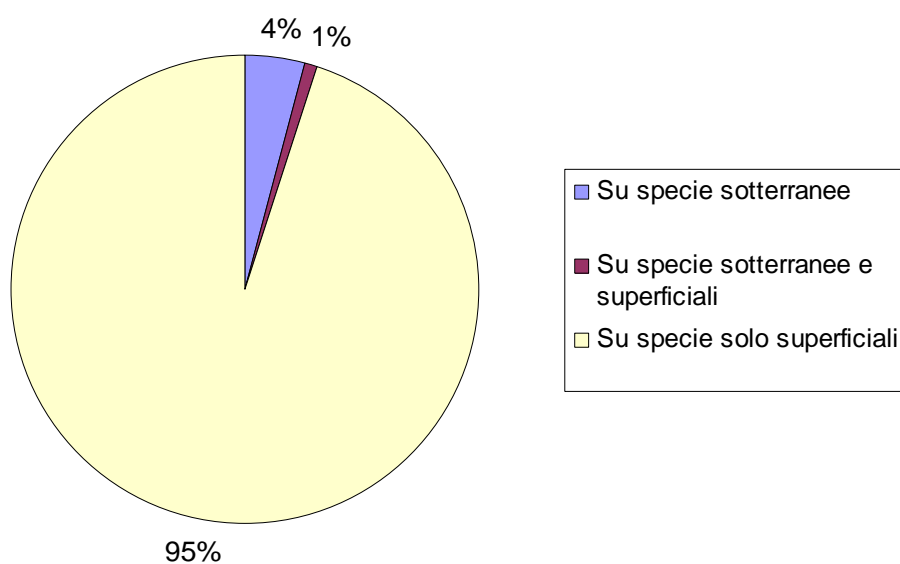


Figura 6. Numero di test effettuati sulle specie appartenenti ai vari habitat.

3.3 Test ecotossicologici

I tipi di test ecotossicologici considerati rientrano in tre principali categorie: alla prima appartengono i test che si basano sull'analisi delle concentrazioni nocive (EC50, LC50, LOEC, NOEC, LC100, IC25, IC20, IC25, IC20), alla seconda quelli che si basano sull'analisi delle dosi tossiche (NOAEL, LOAEL), alla terza appartengono i test che si riferiscono al tempo di morte e che prevedono misure della percentuale degli individui che subiscono effetti tossici (LT50 %, MORTALITA', % IMMOBILITA'). La distinzione tra le prime due categorie è necessaria in quanto la tossicità può essere misurata tramite l'individuazione di una concentrazione (quantità biodisponibile) o della dose (quantità che penetra nell'organismo) tossica. La prima è funzione della concentrazione della sostanza tossica nell'ambiente che circonda l'organismo, mentre la seconda fa riferimento esclusivamente alla quantità della sostanza accumulata all'interno della specie in analisi.

Il test più frequentemente usato nelle indagini ecotossicologiche presenti nel database risulta essere l'LC50 (31,1%), che misura la concentrazione letale per il 50% degli organismi. l'LC50 è spesso usato negli studi ecotossicologici per la sua versatilità; consente infatti una rapida valutazione della tossicità, tramite la mortalità della metà degli individui considerati. In secondo luogo abbiamo LC100 (24,8%) mentre l'EC50 è il terzo test in ordine di frequenza percentuale nel database (20,9 %), esso prende in considerazione la concentrazione alla quale il 50% degli organismi presenta un determinato effetto avverso. Il quarto test in ordine di presenza nel database è il BAF (14,3%) o fattore di bioaccumulo: misura la quantità di sostanza tossica accumulata nei tessuti o negli organi dell'individuo esposto. Il LOAEL, livello più alto di dose che non produce effetto tossico, è un test che ha una presenza del 5% nel database, segue il BCF o fattore di bioconcentrazione, espresso come rapporto tra la concentrazione della sostanza nell'organismo e quella nel mezzo considerato (frequenza del 2%). Il NOEC, ovvero la più alta concentrazione osservata in corrispondenza della quale non si riscontrano effetti avversi per gli organismi analizzati, è presente per l'1,2%, mentre i test che considerano i tempi di mortalità o le percentuali di mortalità si ritrovano solo in minima parte nel database. Infatti l'LT50, test che misura il tempo che impiegano il 50% degli organismi a morire, e la % di mortalità hanno una frequenza solo dello 0,4% e 0,3% rispettivamente (fig7).

Complessivamente, i test che risultano più frequenti nel database sono quelli basati sulla misura delle concentrazioni tossiche, seguono quelli che considerano la dosi mentre quelli meno presenti sono i test sulle misure delle % di mortalità e sui tempi di mortalità.

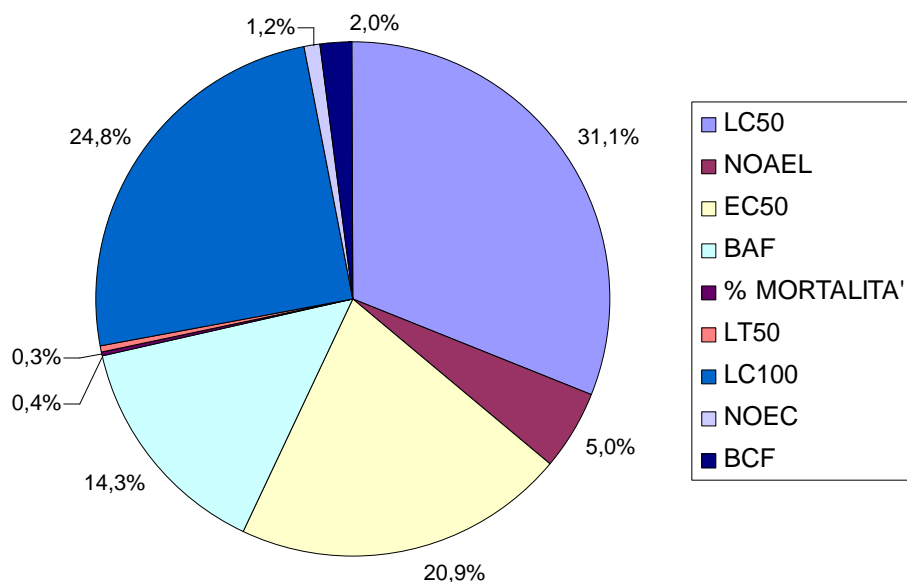


Figura 7. Percentuali di test rinvenute negli studi contenuti nel database.

Un'ulteriore suddivisione delle tipologie dei test presenti può essere effettuata sulla base della durata dei tempi di esposizione. Come si vede dalla figura 8 i test di tipo acuto (durata fino a 96 h) sono nettamente prevalenti su quelli di tipo cronico (esposizione >96h).

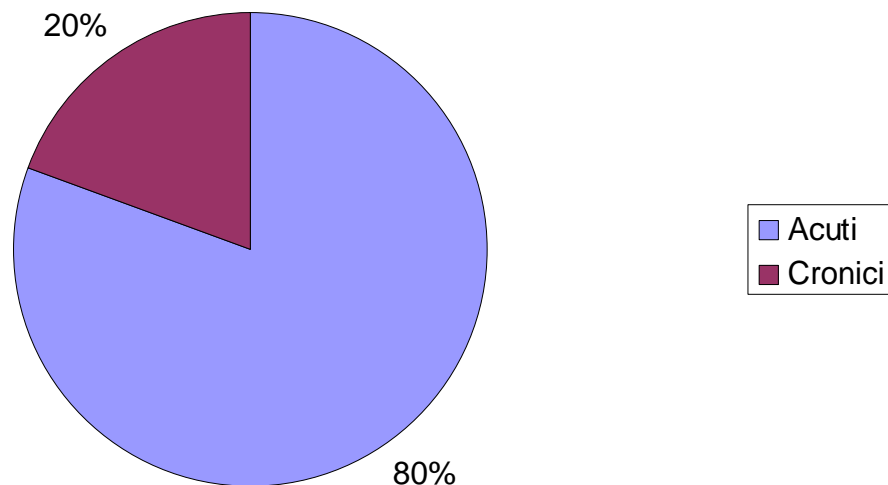


Figura 8. Percentuale di presenza di test di tipo acuto e cronico nel database

3.4. Sostanze

Nel database sono presenti complessivamente 124 sostanze suddivise nei gruppi riportati in tabella

Tabella sostanze			
METALLI PESANTI E LORO COMPOSTI		ALTRI COMPOSTI INORGANICI	
Alluminio	Nichel	ammonio	Nitrato (come NO ₃)
Argento	Nitrato di cadmio	Clorito	Fluoruri
Arsenico	Piombo	Solfato di ammonio	
Cadmio	Rame		
Clorito di mercurio	Selenio		
Cloruro di berillio	Solfato di rame		
Cloruro di cobalto	Solfato di zinco		
Cloruro di Nichel	Zinco		
Cobalto	Antimonio		
Cromo totale	Bromuro di potassio		
Dicromato di potassio	Palladio		
Ferro	Platino		
Ferrocianuro di Potassio	Rodio		
Malachite verde	Cianuro di odio		
Manganese	Ipcloclorito di sodio		
Mercurio	Nitrito di sodio		
	Tallio		

Tabella 1. Sostanze presenti nel database.

Tabella sostanze			
IPA	FENOLI	COMPOSTI AROMATICI	ALIFATICI CLORURATI
Antracene	Pentaclorofenoli	Benzene	Pentacloroetano,
Pirene	Reorcinolo	Piridina	Tetracloroetilene
Fenantrene	2,4-Dicloro-6-Metilfenolo	Sale di sodio di acido benzoico	Triclorometano
Fluorantrene	2,4-Dinitro-6-Metilfenolo	Stirene	Esacloroetano
Naftaline	2,4-Dinitrofenolo	Toluene	1,1-Dicloroetano
Benzo(a)pirene	2-Clorofenolo	4-Bromofenilfeniletere	1,1,-Dicloroetilene
Bemzo(e)pirene	4-Cloro-6-Metilfenolo	Etilbenzene	1,1,1-Tricloroetano
	4-Clorofenolo	1,2 Diclorobenzene	1,1,2,2-Tetracloroetano
	4-Nitrofenolo	1,2,4 Triclorobenzene	1,2,-Dicloroetano
	Fenolo	1,2,4,5 Tetraclorobenzene	1,2-Dicloroetilene
	2,3,4,6-Tetraclorofenolo	1,4 Diclorobenzene	1,2-Dicloropropano
	2,3,5,6-Tetraclorofenolo	Pentaclorobenzene	Carbonio teracloruro
	2,4,6-Triclorofenolo	Esaclorobenzene	Diclorometano
	2,4,6-Trinitrofenolo	Clorobenzene	Tricloroetilene
	Bisfenolo A	Rumene	
	Cresoli	Bisfenile	
		Esteri dell'acido ftalico	
		3,4,-Dicloroanilina	
		Anilina	
		Nitrobenzene	
		PCB	
PESTICIDI	ALTRI COMPOSTI ORGANICI		
Timolo	Acetone	Etilenestradiolo	
Atrazina	Acetonitrile	n-eptanolo	
Methomyl	Alcol etilico	n-propanolo	
2,4-Diclorofenolo	Alcol metilico	Cloroacetaldeide	
2,4,5-Triclorofenolo	Acetaldeide	Diclorofluorometano	
Paraoxon	Formaldeide	Dietanolammina	
DDD	Fosfato trietilico	Diidrocloreuro di etilenediammina	
DDT	Acrilonitrile	Salicil aldeide	
DDE	Etanolo	Propionato etilico	
	Allilammina		

Tabella 1. Sostanze presenti nel database

Prendendo in considerazione tre principali gruppi di sostanze: idrocarburi, metalli pesanti e pesticidi, che rappresentano i contaminanti maggiormente pericolosi per l'ambiente si è valutato in che percentuale questi composti erano presenti nel database, ottenendo il grafico in Fig. 9.

E' evidente che i metalli pesanti rappresentano il gruppo maggiormente testato (58%), una buona percentuale di test riguarda anche idrocarburi (37 %), mentre una minor parte è stata dedicata allo studio della tossicità dei pesticidi (5 %) (fig. 9).

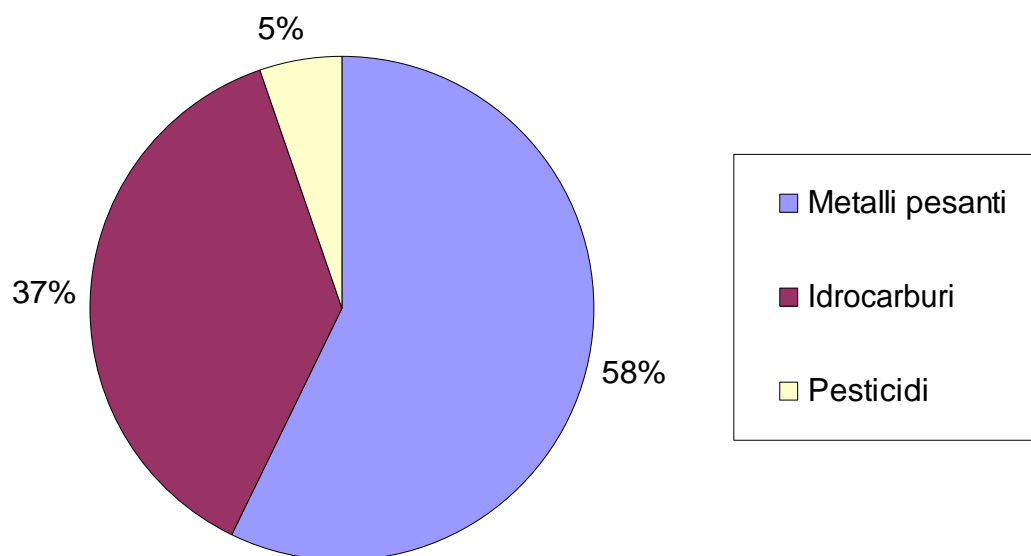


Figura 9. Presenza percentuale dei vari gruppi di sostanze chimiche nel database.

All'interno del gruppo dei metalli pesanti, si può notare che esiste una prevalenza di test effettuati sul Cadmio (23%), seguito in ordine di frequenza dallo Zinco (16%), dal mercurio e dal rame (14%). Il Piombo, il Nichel e il Cromo, sono presenti nel database in percentuale pressoché equivalente (11%, 9%, 10%), mentre il Selenio risulta il metallo meno frequente dagli studi raccolti (3%) (fig.10).

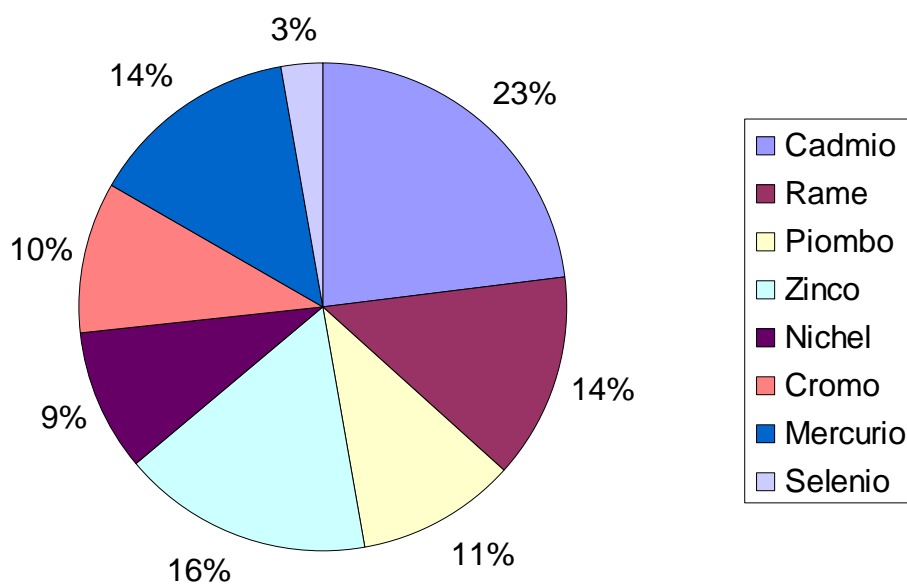


Figura 10. Composizione percentuale del gruppo dei metalli pesanti.

Gli idrocarburi sono stati suddivisi in tre gruppi: IPA, composti aromatici, fenoli, alifatici clorurati e per ciascuno di essi è stata calcolata la presenza percentuale nel database.

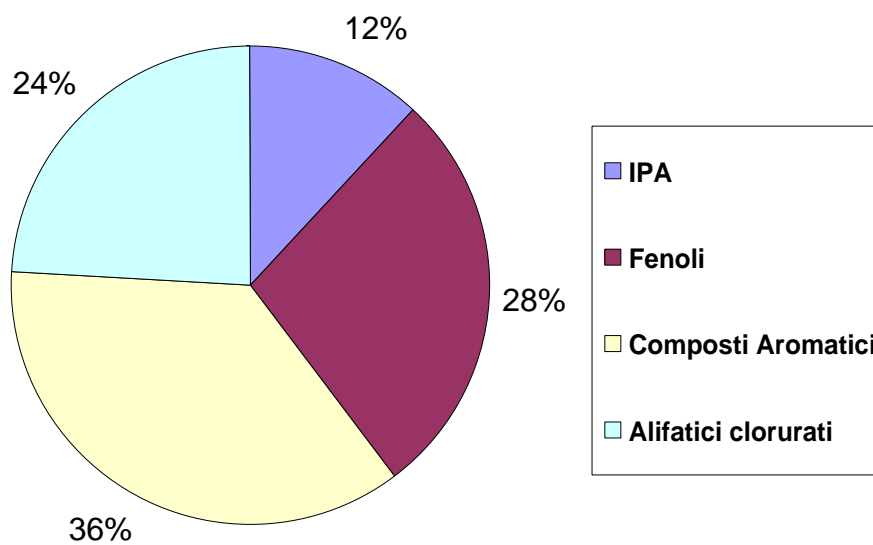


Figura 11. Composizione percentuale del gruppo degli idrocarburi.

Come si vede dal grafico gli idrocarburi maggiormente testati sono i composti aromatici (36%), seguono i fenoli (28%) e gli alifatici clorurati (24%), mentre gli idrocarburi policiclici aromatici risultano essere il gruppo meno frequente nel database.

3.5 CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Pur essendo il lavoro di costruzione del database in una fase ancora iniziale, dai 935 records presenti è possibile estrapolare delle informazioni piuttosto interessanti. Il primo dato che emerge con chiarezza è che i test effettuati su specie tipiche di acque sotterranee sono in numero molto inferiore rispetto a quelli effettuati su specie superficiali. L'ambiente ipogeo è caratterizzato da condizioni fisico-chimiche stabili e da organismi perfettamente adattati a questo equilibrio statico dell'ambiente. Ogni variazione nella composizione delle acque dovuta alla presenza di elementi (es. metalli pesanti) o sostanze (es. idrocarburi aromatici o pesticidi) inquinanti altera in maniera eclatante l'equilibrio di questo delicato ecosistema. Proprio la stabilità ambientale rende le specie di acque sotterranee più vulnerabili rispetto a quelle superficiali; condurre dunque dei test ecotossicologici è molto più difficile e tale difficoltà è accresciuta dal fatto che la conoscenza tassonomica di questi gruppi non è ancora completa. Se consideriamo che molti fenomeni di inquinamento coinvolgono le falde ci rendiamo conto della forte necessità di incrementare le conoscenze e gli studi ecotossicologici sull'ambiente sotterraneo, anche in relazione alla stretta connessione che questo ha con gli ambienti superficiali.

Tra le specie di ambiente superficiale, presenti nel database, si trovano invece degli ottimi bioindicatori e bioaccumulatori (es. *Dreissena polymorfa*), in grado di misurare gli effetti tossici in termini di modifiche morfologiche, fisiologiche o genetiche al livello di organismo, di popolazione e comunità. Il panorama di specie superficiali è notevolmente più ampio e, oltre agli invertebrati, un buon numero di test è stato effettuato su vertebrati, in particolare sui pesci. Questi ultimi si prestano bene ai test di bioaccumulo, con metodiche standardizzate.

Dall'analisi degli inquinanti i metalli pesanti e gli idrocarburi, si presentano come i gruppi maggiormente testati, questo porta a pensare che una buona parte dell'ecotossicologia si concentra sulle sostanze che finora notoriamente hanno creato molti dei problemi di contaminazione ambientale. Pochi studi sono stati rinvenuti invece su sostanze meno conosciute (es. ormoni, antibiotici ec..) probabilmente perché ancora non rappresentano un'emergenza a livello ambientale, ma considerando il loro massiccio utilizzo nella società attuale sarebbe auspicabile che si aprano nuovi campi di ricerca in tal senso. Tutte queste considerazioni nascono anche dall'esame dei database internazionali citati nel capitolo introduttivo.

L'ulteriore ampliamento del database per questi e per altri ambienti, così come previsto dal progetto, potrà offrire un panorama più dettagliato della situazione e diventare, come già in precedenza accennato, uno strumento operativo di supporto alla valutazione del danno ambientale. I dati a disposizione si riferiscono infatti a specie distribuite nella nostra penisola e dunque nella determinazione del danno si riveleranno di estrema utilità, se opportunamente incrociati con la distribuzione biogeografica delle specie o con programmi di monitoraggio effettuati sui siti inquinati

BIBLIOGRAFIA

ALABASTER J.S., LLOYD R. 1980. Water quality criteria for freshwater fish, *Butterworth scientific*, London.

BINELLI A., RICCIARDI F., PROVINI A. 2003. -Valutazione del rischio tossicologico: tre approcci a confronto. *Società Italiana di Ecologia, XIII Congresso Nazionale*.

BUTLER G.C. 1978. Principles of ecotoxicology. Jhon wiley and sons, New York.

FABI S., PAGLIANO E. & VAGAGGINI D. 2004. Analisi delle istruttorie apat per la valutazione del danno ambientale (ex art. 18 l. 349/86). Presentato al XIV Congresso della società Italiana di Ecologia 4-6 Ottobre.

FUNARI E., ADE P., BOTTONI P., FERRARA F., ORRU M.A. 2001. Selezione delle sostanze prioritarie per i corpi idrici e definizione degli obiettivi di qualità. ANPA.RTI_CTM.AIM1/2001.

HAMMONS A.S. 1981.-Methods for ecological toxicology.A crititcal review of laboratory multispecies tests. *Ann. Arbor.Science publ.Inc..ANN*; Arbor Michigan.

IRSA.1973. Metodi analitici per le acque. *Quaderni dell'Istituto di Ricerca sulle acque*:11.

LICHTIFIELD J.T. WILCOXON F.1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments.*J. Farmacolo.Exp.Ther.*:96-99.

LLOYD R., CALAMARI D. 1987. Water Quality Criteria for European freshwater fish: the role of EIFAC (FAO). *Water Quality bulletin*:12/ 100.

LOOMIS T.A.1974.Essentials of toxicology. *Lea and Febriger*. Philadelphia

LUTOLA M. 1986. Use of laboratory ecosystems for the evaluation of environmental contaminants. *Reviews in Environmental Toxicology*:2/41.

RAFFETTO G., FUNARI E., PAGNOTTA R., PETTINE M., CARLINI E., TOMEI V., ALBANESE S..2001. Elementi per la caratterizzazione fisicochimica, biologica ed ecotossicologica dei parametri addizionali (d.lgs 152/99) nella matrice acquosa, nel sedimento e nel biota. ANPA.RTI CTN_AIM 4./2001

TRUAHAUT R. 1975. Ecotoxicology. A new branch of toxicology. In *Ecological toxicology research* (eds. ad. mcintyre and c.f. mills). proc. NATO science com. Conf. Mt. Gabriel. Quebec. May 6-10, 1974, Plenum press. New York.

UMWELTBUNDESAMT U. 1978. Test for ecological effects of chemicals.
Umweltbundesamt Report: E. Schmidt Verlag, Berlin.

U.S. FEDERAL WATER POLLUTION CONTROL AND ADMINISTRATION. 1968.
Water quality criteria. *Report of the national technical advisory committee to the secretary of the interior federal pollution control administration*. Washington, DC.

VIGHI M. 1989. Ecotossicologia. Guida generale organica sull'ambiente. *Garante scientifico C.I.R.S.A.L.*

VIGHI M. 2003. - L'evoluzione del concetto di qualità ambientale: dal 'Red Book' dell'U.S. EPA alla Direttiva Quadro sulle Acque. *Società Italiana di Ecologia, XIII Congresso Nazionale*.

WARREN C.E. 1971. Biology and Water Pollution control. *W.B. Saunders Company*.

Siti internet consultati:

[www. Epaecotox.com](http://www.Epaecotox.com)

www.Cal/ecotoxdatabase.com

www.oehha.org/cal_ecotox
