



ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

Progetto REACH: impiego della spigola (*D. labrax L.*) nei saggi di tossicità con pesci





ISPRA

Istituto Superiore per la Protezione
e la Ricerca Ambientale

Progetto REACH: impiego della spigola (*D. labrax L.*) nei saggi di tossicità con pesci

Informazioni legali

L'Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA) e le persone che agiscono per conto dell'Istituto non sono responsabili per l'uso che può essere fatto delle informazioni contenute in questo rapporto.

ISPRA - Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale
Via Vitaliano Brancati, 48 – 00144 Roma
www.isprambiente.gov.it

ISPRA, Rapporti 229/2015
ISBN 978-88-448-0737-5

Riproduzione autorizzata citando la fonte

Elaborazione grafica
ISPRA

Grafica di copertina: Alessia Marinelli
Foto di copertina: Servizio AMB LAB

Coordinamento editoriale:
Daria Mazzella
ISPRA – Settore Editoria

26 ottobre 2015

Questa pubblicazione è frutto delle attività lavorative maturate dal Servizio AMB LAB di ISPRA in seno al progetto:

“Regolamento REACH: implementazione dei metodi C1, C13, C14 e C15 (CE 440/2008) sui pesci, utilizzando la specie autoctona *Dicentrarchus labrax* (L.1758)”.

Al progetto hanno partecipato:

Stefania Balzamo (ISPRA, AMB LAB), **Vanessa Bellaria** (ISPRA, AMB LAB), **Monica Buchetti** (ISPRA, AMB LAB), **Fabio Cadoni** (ISPRA, AMB LAB), **Daniela Conti** (ISPRA, AMB LAB), **Manorama Croppo** (ARPA ER – sez provinciale FERRARA), **Olga Faraponova** (ISPRA, AMB LAB), **Stefania Gaudino** (ISPRA, AMB LAB), **Cristina Martone** (ISPRA, AMB LAB), **Donatella Palazzi** (ARPA ER – sez provinciale FERRARA), **Andrea Paina** (ISPRA, AMB LAB), **Alessandra Pati** (ISPRA, AMB LAB), **Elisa Raso** (ISPRA, AMB LAB), **Federica Savorelli** (ARPA ER – sez provinciale FERRARA), **Maria Gabriella Simeone** (ISPRA, AMB LAB), **Pierluigi Trentini** (ARPA ER – sez provinciale FERRARA), **Vanessa Ubaldi** (ISPRA, AMB LAB).

Le fasi sperimentali del progetto REACH con *Dicentrarchus labrax*, sono state effettuate presso il Laboratorio Ittiologico del Servizio AMB LAB di ISPRA e presso il Centro di Saggio ITTIOLAB di ARPA Emilia Romagna, Sez. Provinciale di Ferrara

Il testo “Progetto REACH: impiego della spigola (*D. labrax* L.) nei saggi di tossicità con pesci” è stato redatto da: **Daniela Conti** (ISPRA, AMB LAB)

Ringraziamenti

Si ringrazia il Comitato Tecnico di Coordinamento REACH per il finanziamento erogato.

INDICE

PREMESSA	6
INTRODUZIONE	7
1. I PESCI	9
1.1 Quadro normativo e test di tossicità.....	12
1.1.1 <i>Le linee guida OECD sui pesci</i>	12
1.2 La spigola <i>Dicentrarchus labrax</i>	19
2. STUDI DI TOSSICITA' CON <i>DICENTRARCHUS LABRAX</i> L.	23
3. ANALISI DEGLI STUDI DI TOSSICITA': COMPARAZIONE CON ALTRE SPECIE ITTICHE	62
3.1 I metalli pesanti.....	63
3.1.1 <i>Cadmio</i>	63
3.1.2 <i>Cromo</i>	70
3.1.3 <i>Rame e Nichel</i>	75
3.2 Idrocarburi aromatici.....	81
3.2.1 <i>Benzene</i>	81
3.3 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA).....	86
3.3.1 <i>Naftalene, Pirene e Benzo(a)pirene</i>	81
3.4 Solventi clorurati.....	93
3.4.1 <i>Triclorometano, Diclorometano, 1,2 Dicloroetano</i>	93
3.5 Surfattanti anionici.....	99
3.5.1 <i>Sodio dodecil solfato</i>	99
3.6 Pesticidi.....	109
3.6.1 <i>Simazina, Trifluralin, Endosulfan, Clorpirifos</i>	112
3.7 Altri composti.....	129
3.7.1 <i>Micotossine</i>	129
3.7.2 <i>Glicol di etilenico (DEG)</i>	130
3.7.3 <i>2-Fenossietanolo</i>	131
3.7.4 <i>Colchicina</i>	131
3.7.5 <i>Prodotti disperdenti</i>	135
BIBLIOGRAFIA	142
ALLEGATO 1 DENOMINAZIONE COMUNE, ITALIANA E INGLESE, DELLE SPECIE ITTICHE.....	171

Sii anche tu un pesce, affinché l'onda del mondo non ti inghiotta

S. Ambrogio "De Sacramentis 3,3"



PROGETTO REACH: IMPIEGO DELLA SPIGOLA (*D. LABRAX* L.) NEI SAGGI DI TOSSICITA' CON PESCI

PREMESSA

La spigola o branzino - *Dicentrarchus labrax*, Linnaeus 1758 - è una specie ittica prevalentemente marina, che, tuttavia, può ritrovarsi anche in acque dolci o salmastre grazie alla sua capacità di tollerare ampie variazioni di temperatura e salinità. E' reperibile per gran parte dell'anno in relazione alla considerevole diffusione di impianti di piscicoltura in diversi Paesi dell'Area Mediterranea, è facile da allevare in laboratorio, ed è stata utilizzata in numerosi test previsionali di tossicità ambientale, sia in Italia che in altri Paesi.

L'assenza, nelle linee guida OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) che regolano i test di tossicità con i pesci, di specie ittiche rappresentative del Bacino Mediterraneo, a fronte di richieste normative che, in alcuni casi, prevedono l'utilizzo di specie autoctone (vedi ad esempio, in Italia, il Decreto direttoriale MATTM 25 febbraio 2011), ha costituito il *rationale* del progetto intitolato: **“Regolamento REACH: implementazione dei metodi C1, C13, C14 e C15 (CE 440/2008) sui pesci, con la specie autoctona *Dicentrarchus labrax* (L.1758)”**, approvato e finanziato dal Comitato Tecnico di Coordinamento REACH (DM del 22 novembre 2007 punto 1.7 dell'allegato I) e realizzato dal Servizio di Metrologia Ambientale dell'ISPRA (AMB LAB) nel triennio 2010-2013.

Il progetto, finalizzato all'inserimento della specie mediterranea *D. labrax* tra quelle raccomandate nei metodi OECD, ha comportato diverse fasi sperimentali che sono state effettuate presso le strutture autorizzate: Laboratorio ittologico del Servizio AMB LAB di ISPRA e Centro di Saggio ITTIOLAB di ARPA Emilia Romagna sez. provinciale di Ferrara.

Al termine del progetto, una proposta preliminare di inclusione del branzino tra le specie OECD, è stata presentata al 25th *Working Group of the National Co-ordinators of the Test Guidelines Programme* (WNT) tenutosi a Parigi dall'8 all'11 aprile 2013. L'assemblea WNT, nel riconoscere sia l'importanza della protezione dell'ambiente a livello locale, che lo specifico interesse degli Stati Membri dell'area Mediterranea di poter utilizzare una specie autoctona, disponibile per gran parte dell'anno e facilmente reperibile, ha proposto all'Italia l'elaborazione di un *Guidance Document* (Documento Tecnico a supporto delle Linee Guida) sull'uso del *D. labrax* per l'esecuzione dei saggi di tossicità e di bioaccumulo con i pesci.

Durante l'elaborazione del *Guidance Document* (GD) da parte di ISPRA e nelle fasi preparatorie della presente pubblicazione, l'OECD ha avviato il processo di revisione della linea guida n° 203 riguardante il test acuto con pesci. In tale ambito, i Paesi promotori della revisione hanno deciso di allungare l'elenco delle specie ittiche raccomandate, includendo le specie marine: *Cyprinodon variegatus*, *Menidia menidia*, *Menidia beryllina*, *Menidia peninsulae* e *Dicentrarchus labrax*.

Questo annulla, per il momento, la necessità di un GD dedicato alla nostra specie Mediterranea.

La nuova edizione della Linea Guida OECD n° 203 sarà discussa e sottoposta ad approvazione nei prossimi incontri del WNT OECD.

La presente pubblicazione costituisce una rassegna critica di tutti gli studi di tossicità effettuati con la spigola (nelle diverse fasi del suo ciclo vitale) e pubblicati dalla letteratura scientifica del settore, allo scopo di documentare in modo esaustivo l'impiego di questa specie allo stato attuale. Viene inoltre presentata un'analisi critica di tali studi e un confronto con altre specie ittiche d'acqua dolce e marino/salmastre.

INTRODUZIONE

L'ecotossicologia è la scienza che studia gli effetti di agenti potenzialmente tossici su popolazioni e comunità entro un dato ecosistema. Le funzioni principali dell'ecotossicologia sono:

1. Effettuare previsioni di possibili effetti indesiderati sull'ambiente dovuti all'immissione di singole (o miscele di) sostanze potenzialmente tossiche (stima della tossicità).
2. Verificare gli effetti indesiderati che avvengono nell'ambiente a causa dell'immissione di una o più sostanze potenzialmente tossiche, tenendo conto delle interazioni fisiche, chimiche e biologiche con le diverse componenti biotiche e abiotiche dell'ambiente stesso (biomonitoraggio).

L'approccio ecotossicologico prevede sia valutazioni su campo che saggi di laboratorio.

Su campo, la valutazione degli effetti può essere fatta a livello di popolazioni (variazione del numero di individui, del rapporto tra i sessi, dell'efficienza riproduttiva, ecc.) o di comunità (variazione del numero di specie). Con essa, è possibile ottenere indicazioni sullo stato dell'ambiente, tramite l'analisi quantitativa dei contaminanti direttamente nelle matrici ambientali o negli organismi. Tuttavia, questi studi non forniscono informazioni né riguardo la biodisponibilità dei contaminanti, né riguardo le relazioni tra concentrazione di contaminante ed effetti su organismo, popolazione e comunità. D'altra parte, gli ecosistemi sono strutture complesse, dai confini spesso non ben definiti e le cui dinamiche naturali non risultano ancora completamente note. Non ultimo, negli studi su campo, spesso l'impostazione della sperimentazione è problematica a causa di difficoltà nel reperimento dei siti di controllo. Per tale ragione, sono stati sviluppati saggi o test monospecifici di laboratorio che tentano di approssimare il più possibile le condizioni naturali, e i cui risultati sono utilizzati per fare previsioni sugli ecosistemi.

I saggi ecotossicologici di laboratorio sono prove sperimentali di tossicità, di durata variabile, eseguite con specie animali o vegetali, applicabili a composti chimici e matrici ambientali (effluenti, suoli, sedimenti, rifiuti) per individuarne le proprietà potenzialmente pericolose (*hazard identification*), per effettuare valutazioni di rischio in relazione alle specifiche situazioni espositive e, quando possibile, per identificare i livelli più bassi di esposizione in cui non viene osservato alcun effetto (No Observed Adverse Effect Concentration, NOAEC). Tali saggi prendono in esame diverse tipologie di effetti dannosi (*endpoint*): letali, come la mortalità e subletali come gli effetti sulla riproduzione, sulla crescita (individuale e di popolazione), le alterazioni di parametri metabolici, fisiologici e comportamentali. A tutt'oggi la mortalità costituisce l'*endpoint* maggiormente indagato. In tal senso, un saggio di tossicità consiste nel sottoporre alcuni organismi, a concentrazioni crescenti di campione di prova, per un determinato periodo di tempo, al termine del quale viene quantificato, per ogni concentrazione, il numero di organismi morti.

Sulla base del tempo di esposizione al campione e in funzione della durata del ciclo vitale dell'organismo di prova, i saggi ecotossicologici vengono distinti in: saggi a breve termine o acuti e saggi a lungo termine o cronici. In merito a tale distinzione la letteratura presenta definizioni diverse e a volte contraddittorie. Per gli scopi di questo lavoro si fa riferimento al rapporto ECETOC (1993) riportato da Baudo et al., 2011, secondo cui è possibile distinguere fra:

1. Tossicità acuta – Effetti avversi che si manifestano in un arco temporale breve (non superiore ad un terzo del tempo medio tra nascita e raggiungimento della maturità sessuale e durante il quale l'organismo può essere mantenuto in buone condizioni in assenza di alimentazione) dopo la somministrazione di una singola dose di una sostanza.
2. Tossicità subacuta (subletale) – Effetti avversi che si manifestano dopo l'esposizione ad una sostanza per un periodo $\leq 10\%$ della vita dell'organismo (e durante il quale gli organismi vengono alimentati).
3. Tossicità cronica – Effetti avversi che si manifestano dopo l'esposizione ad una sostanza per un periodo $> 50\%$ della vita dell'organismo.

In molti casi la tossicità acuta è stata identificata con la sola tossicità letale e la tossicità cronica con quella subletale, anche se in realtà vi sono sia saggi di tossicità acuta subletale, che di tossicità cronica letale.

Gli organismi utilizzati nei saggi ecotossicologici devono essere ben conosciuti dal punto di vista biologico, ecologico e genetico e avere le seguenti caratteristiche:

- a) essere sani;
- b) avere comportamento normale;
- c) essere appropriatamente alimentati;
- d) essere della stessa specie, classe ed età;
- e) presentare bassa o nulla mortalità nei controlli.

I saggi possono essere condotti utilizzando una singola specie o più specie diverse in esperimenti indipendenti. La scelta della (o delle) specie è particolarmente importante e viene effettuata sulla base di differenti criteri, a seconda dello scopo dell'indagine.

I principali parametri utilizzati per esprimere la stima di tossicità sono:

LC₅₀ (Lethal Concentration 50): la concentrazione, statisticamente calcolata, di campione di prova che si prevede determini la morte del 50% degli organismi esposti in definite condizioni sperimentali.

EC₅₀ (Effective Concentration 50): la concentrazione, statisticamente calcolata, di tossico campione di prova che si prevede determini l'effetto nel 50% degli organismi esposti in definite condizioni sperimentali.

NOEC (No Observed Effect Concentration): la concentrazione più elevata alla quale non si osserva alcun effetto statisticamente significativo.

LOEC (Lowest Observed Effect Concentration): la più bassa concentrazione alla quale si osserva un effetto statisticamente significativo.

In ambito tossicologico ed ecotossicologico, è opinione consolidata che un singolo organismo o modello sperimentale non sia in grado di rappresentare la complessa varietà di risposte agli *stressori*, nè di garantire risultati attendibili per tutte le possibili tipologie di matrici (Pandard et al., 2006; Baudo et al., 2011). Poichè la sensibilità delle comunità animali e vegetali agli inquinanti varia, in modo significativo, da una specie all'altra, l'impiego di un solo saggio produce risultati con un elevato livello di incertezza. Pertanto, una caratterizzazione ecotossicologica realistica necessita dell'utilizzo di batterie di saggi che impieghino organismi appartenenti a livelli trofici differenti e comprendano valutazioni sia a breve che a lungo termine (Filipic, 1995, Nielsen and Ranck, 1994; Dell'Orto et al., 1997). Inoltre, la combinazione di *endpoint* differenti incrementa ulteriormente il valore predittivo di questi saggi (Bierkens et al., 1998).

Indipendentemente dalla sua specifica applicazione, una batteria di saggi ecotossicologici deve comprendere almeno tre specie di organismi. Gli stadi vitali delle specie selezionate devono essere ben distinti dal punto di vista filogenetico e appartenere a differenti gruppi tassonomici e a livelli funzionali diversi della catena alimentare: produttori primari vegetali, decompositori/saprofiti, detritivori/filtratori, consumatori propriamente detti. (Baudo et al., 2011).

I criteri di scelta degli organismi di una batteria di saggi ecotossicologici sono in parte sovrapponibili a quelli propri dei saggi monospecifici.

1. I PESCI

I Pesci sono *vertebrati che vivono nell'acqua e non hanno temperatura costante, ma prendono quella del loro ambiente; si muovono mediante pinne alcune delle quali sono impari e, quasi sempre ne esistono delle pari; hanno una circolazione semplice, un cuore semplice e respirano per branchie* (Plehn, 1909).

Sono tra i primi vertebrati apparsi sulla terra. La loro grande adattabilità, legata alla capacità di sfruttare le risorse alimentari più differenti, gli ha consentito di colonizzare le acque dolci e salate del nostro pianeta (ubiquità acquatica), diffondendosi molto più di altri vertebrati (Gelosi e Colombari, 2004).

La superclasse Pesci (composta da circa 32,000 specie) comprende 3 classi distinte:

- Placodermi: estinti, vissuti tra 430 e 260 milioni di anni fa
- Condroitti: Pesci cartilaginei, apparsi circa 390 milioni di anni fa
- Osteitti: Pesci ossei, apparsi da circa 400 milioni di anni.

Il 55% delle specie vive in mare e il 45% in acque dolci. L'uno per cento, circa 200 specie, si sposta tra le acque dolci e il mare. I Pesci vivono in ogni possibile habitat acquatico del pianeta. Sono le variabili come ossigeno disciolto, temperatura, torbidità, salinità, correnti e tipo di substrato, competizione e predazione, che stabiliscono dove il pesce può vivere e riprodursi e l'uso dell'habitat può variare con le stagioni o durante la vita dell'animale.

I Pesci sono una parte fondamentale delle catene alimentari acquatiche grazie alla loro abbondanza e alla loro diversità funzionale. Numerosi studi hanno dimostrato che i Pesci hanno effetti diretti sulla struttura e sulle funzioni degli ecosistemi acquatici: la loro presenza, infatti, può causare variazioni nell'uso degli habitat, nella struttura e nelle dinamiche di popolazione, e nel flusso dei nutrienti. Notevoli variazioni si possono verificare quando i pesci vengono rimossi o eliminati da un habitat.

D'altra parte gli ambienti acquatici sono soggetti a forti impatti antropici che alterano il loro stato di salute. La Direttiva Europea sulle acque (UE 2000/60), considerando il corpo d'acqua come un ecosistema il cui stato di salute è anche lo stato di salute degli organismi che lo abitano, afferma che le comunità ittiche sono elementi biologici fondamentali per la classificazione di stato ecologico degli ecosistemi acquatici.

I Pesci sono, dunque, indicatori efficaci della qualità ambientale per i seguenti motivi:

1. Hanno una lunga storia evolutiva e un ampio spettro adattativo.
2. I Teleostei hanno meccanismi biochimici e cellulari simili ad altri vertebrati superiori e all'uomo (figura 1).
3. Sono organismi le cui conoscenze disponibili (anatomiche, fisiologiche, comportamentali ed ecologiche) sono ampie e avanzate.
4. Poiché appartengono ai livelli trofici più alti, integrano la risposta alle perturbazioni ambientali dell'intera rete trofica.
5. Hanno cicli vitali lunghi e possono quindi essere seguiti per lunghi periodi di tempo.
6. Abbiamo su di loro conoscenze sufficienti per allevarli in laboratorio e per eseguire con essi diversi tipi di indagini di tossicità e genotossicità. In quest'ultimo ambito, è possibile effettuare prelievi di sangue, ripetuti (sullo stesso individuo) e non distruttivi, dalla vena caudale o dalle branchie.

I Pesci possono pertanto rappresentare un sistema di allarme precoce di danno ambientale, utilizzabile anche per la valutazione dei potenziali rischi per la salute umana. Essi infatti integrano gli effetti di un'ampia varietà di stress ambientali (figura 2) con risposte individuabili ai diversi livelli dell'organizzazione biologica (dal livello sub-cellulare al livello di comunità), ed evidenziano relazioni tra le risposte individuali e gli effetti a livello di popolazioni e comunità.

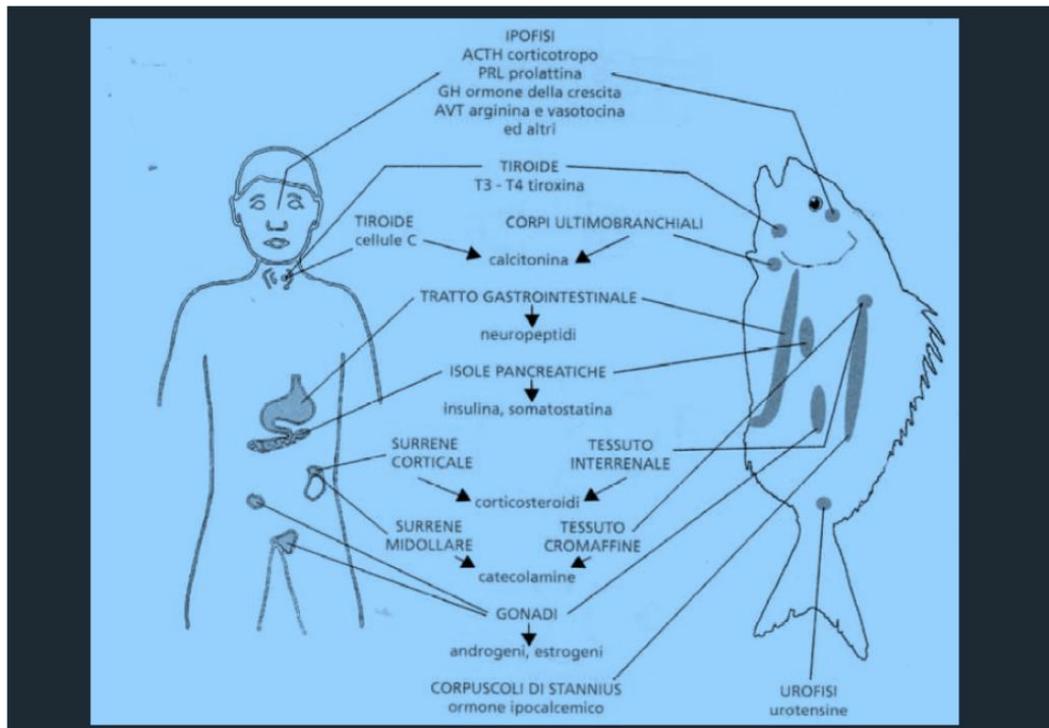


Figura 1 - I teleostei presentano meccanismi biochimici e cellulari da vertebrati. (Disegno tratto da Boglione e Cataldi, 2001)

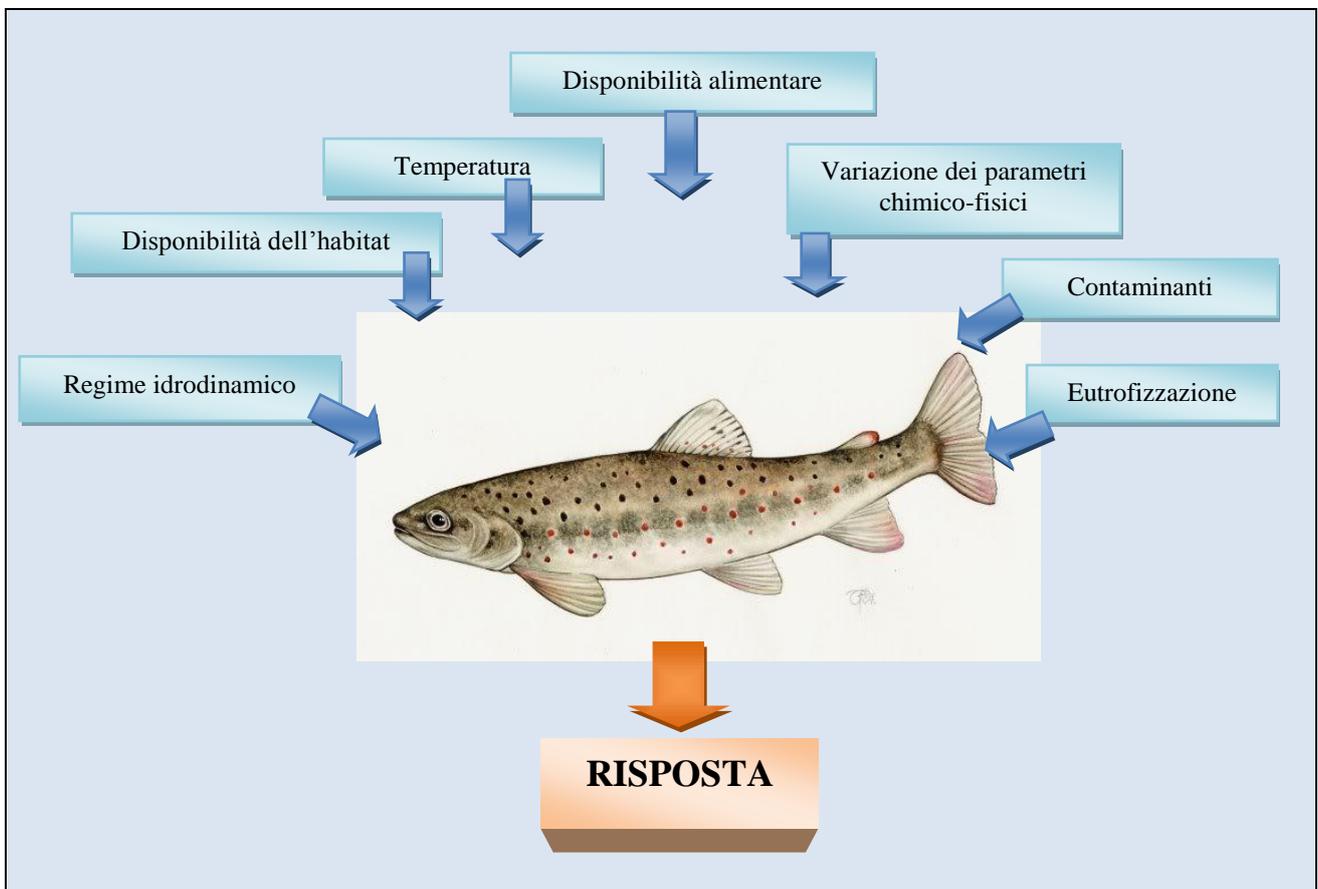


Figura 2 – I Pesci integrano i parametri ambientali (Tratto da Ferrante e Cataldi, 2006 e modificato)

Diverse risposte, ai diversi livelli dell'organizzazione biologica dei Pesci, possono essere utilizzate come indicatori di stress (figura 3): a) risposte a livello sub-cellulare come le alterazioni ormonali; b) risposte a livello cellulare e dei tessuti, come i cambiamenti metabolici, le alterazioni cellulari, i disturbi dell'osmoregolazione, ecc.); c) risposte a livello di organismo come la mortalità, la diminuzione della resistenza alle malattie o l'incremento di anomalie (Tancioni e Scardi, 2005).

Livello	Fauna ittica "indisturbata"	Fauna ittica "disturbata"
Molecolare/Cellulare	Livelli ormonali (corticosteroidi e catecolamine) normali Funzionamento neurotrasmettitori normale Funzionamento cellulare normale Lisosomi stabili Integrità genetica	<ul style="list-style-type: none"> • Incremento degli ormoni corticosteroidi e delle catecolamine (indicatori dello stress) • Danni cromosomici (ad es. aumento della frequenza dei micronuclei) • Incremento delle attività di detossificazione
Individuale	Assenza di anomalie (deformità, pinne danneggiate, lesioni cutanee, tumori) Comportamento normale Accrescimento normale	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento della frequenza di anomalie scheletriche, danni alle pinne ed altre lesioni esterne, tumori • Alterazioni del comportamento • Alterazioni dell'accrescimento
Popolazione	Popolazioni "autosostenute", adeguato reclutamento larvale, normale struttura demografica, distribuzione spaziale prevedibile	<ul style="list-style-type: none"> • Alterazione del reclutamento • Basso numero di giovanili e sub-adulti • Struttura demografica alterata • Distribuzione spaziale alterata
Comunità	Diversità elevata Molti raggruppamenti funzionali presenti (trofici, riproduttivi, tolleranza, ecc.) Interazioni biotiche complesse Cicli stagionali attesi	<ul style="list-style-type: none"> • Bassa diversità • Assenza o variazione dei rapporti tra gruppi (ad es. diminuzione delle specie invertivore e intolleranti) • Riduzione delle interazioni biotiche • Alterazione dei cicli stagionali

Figura 3 – I Pesci come indicatori di stress ambientali. Tratto da Tancioni e Scardi, 2005 e modificato.

1.1 Quadro normativo e test di tossicità con pesci

Nella Comunità Europea, le diverse tipologie di sostanze chimiche sono controllate, per quanto riguarda il rischio per l'uomo e per l'ambiente, attraverso numerosi strumenti legislativi.

La maggior parte delle sostanze chimiche di origine industriale è sottoposta al Regolamento REACH (Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals) CE n. 1907/2006, entrato in vigore il 1 giugno 2007. Questo Regolamento ha modificato radicalmente la disciplina per l'immissione in commercio delle sostanze chimiche, annullando gran parte della normativa preesistente e stabilendo un sistema unico di gestione del rischio chimico. Tale Regolamento prescrive l'obbligo di registrare tutte le sostanze chimiche (come tali o contenute in preparati e articoli) prodotte o importate in quantità pari o superiore a 1 tonnellata/anno, attraverso la presentazione all'ECHA (Agenzia Europea per le sostanze chimiche), di *dossier* tecnici contenenti le informazioni chimico-fisiche, tossicologiche ed ecotossicologiche per definire i rischi potenziali per la salute umana e per l'ambiente. Per le sostanze prodotte e importate in quantità pari o superiore a 10 tonnellate l'anno è previsto, inoltre, un rapporto sulla sicurezza chimica che comprende la valutazione di pericolosità della sostanza e, nel caso in cui essa sia classificata come persistente, bioaccumulabile o molto tossica, anche la descrizione degli scenari di esposizione associati agli usi previsti e la caratterizzazione del rischio.

Poiché il commercio di sostanze e miscele non riguarda solo i mercati interni, ma anche il mercato mondiale, allo scopo di favorire il commercio mondiale e, al contempo, tutelare la salute umana e l'ambiente, le Nazioni Unite (ONU), definendo con estrema attenzione criteri armonizzati per la classificazione e l'etichettatura delle sostanze, nonché i principi per la loro applicazione, hanno creato il Sistema GHS (Sistema mondiale armonizzato di classificazione ed etichettatura delle sostanze chimiche). A tale sistema si adegua il Regolamento Europeo n. 1272/2008, comunemente noto come Regolamento CLP, riguardante la Classificazione, Etichettatura e Imballaggio delle sostanze e delle miscele. Una delle principali finalità del CLP è determinare se una sostanza o miscela presenta proprietà che permettano di classificarla come pericolosa. L'etichettatura di pericolo (*hazard*) ad una sostanza/miscela consente di comunicare la classificazione di pericolo agli utilizzatori, insieme alle necessità di evitare le esposizioni e i rischi da esso derivanti. Le regole di imballaggio, infine, garantiscono la sicurezza delle forniture delle sostanze/miscele pericolose.

Molte delle disposizioni del Regolamento CLP sono legate alle disposizioni del Regolamento REACH e di altre normative comunitarie specifiche, quali quella sui biocidi (Regolamento EU 528/2012) e sui prodotti fitosanitari (EC 1107/2009 e EU 283/2013).

Altri regolamenti Europei specifici sono relativi ai prodotti medicinali per uso umano e veterinario (EMA/CHMP, 2006; EMA/CVMP, 2008) e agli additivi alimentari (EU, 2003, 2008a).

In questo complesso normativo, vige, nella maggior parte dei casi, la regola che, per introdurre una nuova sostanza/miscela sul mercato, sia il principio attivo che il suo prodotto commerciale finale debbano risultare sicuri, non solo per l'uomo, ma anche per l'ambiente. Infatti, nel dossier informativo che accompagna le sostanze, i prodotti o le miscele è prevista la valutazione di rischio per l'ambiente (Environmental Risk Assessment, ERA) che pone in relazione i pericoli della sostanza/miscela/prodotto con l'esposizione effettiva dell'ambiente.

I regolamenti specifici per le diverse tipologie di sostanze (chimici industriali, pesticidi, biocidi, additivi alimentari, farmaci) richiedono valutazioni derivanti da saggi di tossicità con organismi e, per tale scopo, le linee guida di riferimento sono quelle OECD. Ciò che differenzia tra loro le diverse normative sono i valori soglia e i limiti per la determinazione della tossicità, nonché le specie animali e/o vegetali utilizzate, che devono essere rilevanti per il comparto ambientale indagato.

Le linee guida OECD (TG OECD) costituiscono una raccolta dei più importanti metodi di saggio, armonizzati a livello internazionale, utilizzati da governi, industrie e laboratori indipendenti e messi a punto per determinare la sicurezza delle sostanze e dei preparati chimici, inclusi pesticidi e sostanze di sintesi. Tutte le linee guida OECD vengono sviluppate su specifica richiesta degli Stati Membri OECD www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdguidelinesforthetestingofchemicals.htm.

I test con i pesci sono richiesti per fornire dati di tossicità acquatica a breve e lungo termine. Studi aggiuntivi con i pesci possono essere necessari per la valutazione del bioaccumulo e per l'identificazione degli interferenti endocrini. Nella tabella 1 sono riportate le principali normative Europee che richiedono test di tossicità con i pesci.

Tabella 1 – Rassegna dei principali normative Europee che richiedono test con i pesci per la valutazione del pericolo e del rischio ambientale

Tipologia di sostanza	Test con pesci - Linea guida OECD	Normativa Europea
Sostanze chimiche (Classificazione ed etichettatura) Sostanze chimiche (generali o industriali) Fitosanitari Biocidi	Fish acute toxicity test TG 203, 1992 (Tossicità acuta per i pesci metodo C1 del Regolamento 440/2008) e Short Guidance on the Threshold approach for acute fish toxicity ENV/JM/MONO (2010)17	CLP: di per sè “non richiede nuovi test con animali, che devono essere evitati il più possibile” REACH: richiesto per <i>sostanze prodotte o importate</i> ≥ 10 t/anno Regulations EU 528/2012 and EU 283/2013: <i>obbligatorio con la trota</i> Regulation EU 528/2012: <i>obbligatorio con una specie d’acqua dolce (e una specie marina se rilevante)/threshold approach</i> Directive 2004/28/EC; Regulation EC 726/2004 and Guidelines EMA/CVMP, 2008: <i>obbligatorio per livello A</i> Commission Regulation EC 429/2008 ; Regulation EC 1831/2003: richiesto se il <i>PEC dell’acqua superficiale</i> $\geq 0,1$ $\mu\text{g/l}$ or nei sedimenti ≥ 10 $\mu\text{g/Kg}$ Sweden-Naturvårdsverket, 2010; Svezia, Danimarca, Francia, Ilanda, Norvegia- OSPAR, 2000: richiesto se i <i>dati disponibili sono insufficienti</i> Italia Decreto MATTM 25 febbraio 2011: <i>obbligatorio test acuto con branzino o orata</i> Italia Legge 24 marzo 2012, n° 28 che rimanda al Decreto ADR: <i>possibile se alghe e crostacei non forniscono risultati</i>
Farmaci veterinari Additivi alimentari Effluenti Prodotti assorbenti e disperdenti in mare Rifiuti “voci specchio” (per la caratteristica di pericolo H14)	In alternativa: Test di embriotossicità con Danio rerio (zebrafish) – TG 236, 2013	
Sostanze chimiche (Classificazione ed etichettatura) Sostanze chimiche (generali o industriali) Fitosanitari Biocidi Farmaci veterinari Additivi alimentari	Fish early Life-Stage Test - TG 210, 1992	CLP: di per sè “non richiede nuovi test con animali, che dovrebbero essere evitati il più possibile” REACH: richiesto per <i>sostanze prodotte o importate</i> ≥ 100 t/anno se la <i>CSA indica la necessità di ulteriori indagini su specie acquatiche</i> Regulations EU 528/2012 and EU 283/2013: sempre richiesto se <i>l’esposizione dell’acqua superficial è probabile e se il compost è stabile in acqua</i> Regulation EU 528/2012: <i>richiesto per un miglioramento del valore PNEC</i> Directive 2001/83/EC and GL EMA/CHMP, 2006: richiesto per la fase II livello A Directive 2004/28/EC; Regulation EC 726/2004 and Guidelines EMA/CVMP, 2008: <i>richiesto per fase II livello B</i> Sweden- Naturvårdsverket, 2010: <i>dipende dal risultato dei test acuti e se PEC/PNEC > 1</i>
Effluenti Sostanze chimiche (Classificazione ed etichettatura) Sostanze chimiche (generali o industriali) Fitosanitari Biocidi	Fish, Juvenile Growth test - TG 215, 2000 (Test sulla crescita dei pesci giovani, metodo C14 del Regolamento 440/2008)	CLP: di per sè “non richiede nuovi test con animali, che dovrebbero essere evitati il più possibile” REACH: <i>invece del Fish Early Life-Stage Test o del Fish, Short Term Toxicity test on Embryo and Sac-fry stages</i> Regulations EU 528/2012 and EU 283/2013: <i>richiesto solo se il Fish Early Life Stage Test non è appropriato.</i> Regulation EU 528/2012: <i>richiesto per un miglioramento del valore PNEC se $\log K_{ow} < 5$</i>
Sostanze chimiche (Classificazione ed etichettatura) Sostanze chimiche (generali o industriali) Biocidi	Fish, Short Term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages - TG 212, 1998 (Prova di tossicità a breve termine sugli stadi di embrione e di larva con sacco vitellino, metodo C15 del Regolamento 440/2008)	CLP: di per sè “non richiede nuovi test con animali, che dovrebbero essere evitati il più possibile” REACH: invece di <i>Fish Early Life-Stage Test o del Fish Juvenile Growth Test</i> Regulation EU 528/2012: <i>invece del Fish Early Life-Stage Test o del Fish Juvenile Growth Test</i>
Sostanze chimiche (generali o industriali) Fitosanitari Biocidi Farmaci Veterinari Farmaci	Fish short term reproduction assay - TG 229, 2012	REACH: <i>richiesto per interferenti endocrini</i> Regulations EU 528/2012 and EU 283/2013: <i>in base ai dati su mammiferi o altri dati</i> Regulation EU 528/2012: <i>richiesto per interferenti endocrini</i> Directive 2001/83/EC and GL EMA/CHMP, 2006; Directive 2004/28/EC; Regulation EC 726/2004 and Guidelines EMA/CVMP, 2008

continua Tabella 1

Tipologia di sostanza	Test con pesci - Linea guida OECD	Normativa Europea
Sostanze chimiche (generali o industriali) Fitosanitari e Biocidi Farmaci veterinari Farmaci per uso umano	21-day Fish Assay: A Short-Term Screening for Oestrogenic and Androgenic Activity, and Aromatase Inhibition - TG 230, 2009	REACH: <i>richiesto per interferenti endocrini</i> Regulations EU 528/2012 and EU 283/2013; Regulation EU 528/2012: <i>richiesto per interferenti endocrini</i> Directive 2001/83/EC and GL EMA/CHMP, 2006; Directive 2004/28/EC; Regulation EC 726/2004 and Guidelines EMA/CVMP, 2008
Sostanze chimiche (generali o industriali) Fitosanitari Biocidi Farmaci per uso umano Farmaci veterinari Additivi alimentari Prodotti assorbenti e disperdenti in mare	Bioaccumulation in Fish: Aqueous and dietary exposure – TG 305, 2012 (Bioconcentrazione: saggio sui pesci, metodo a flusso continuo, metodo C13 del Regolamento 440/2008)	REACH: <i>richiesto per le sostanze chimiche prodotte o importate al di sopra di 100 t/anno e con log Kow ≥ 3</i> Regulations EU 528/2012 and EU 283/2013: <i>richiesto per i prodotti con log Kow > 3 e considerati stabili</i> Regulation EU 528/2012: <i>richiesto per i detergenti anti-muffa e se log Kow ≥ 3</i> Regulation EC 726/2004 and Guidelines EMA/CVMP, 2008: <i>richiesto per i prodotti con log Kow ≥ 4,5 e per il livello B se log Kow ≥ 3</i> Directive 2001/83/EC and GL EMA/CHMP, 2006; Directive 2004/28/EC: <i>richiesto se in fase II livello B il log Kow ≥ 4</i> Directive 2004/28/EC; Regulation EC 726/2004 and Guidelines EMA/CVMP, 2008: <i>opzionale per la fase II livello B</i> Italia Decreto MATTM 25 febbraio 2011: <i>deve essere fornito il valore di bioconcentrazione per ciascuna sostanza presente nel prodotto. In alternativa deve essere fornito il valore del log Kow</i>
Abbreviazioni: TG: Test Guideline		

Ogni tre anni, la Comunità Europea pubblica un rapporto concernente il numero di animali che sono stati utilizzati dagli Stati Membri per la sperimentazione e per altri usi scientifici. Come mostrato in tabella 2, il numero di pesci impiegato per le valutazioni tossicologiche a scopo normativo è in costante aumento.

Tabella 2 – Numero di pesci utilizzati dagli Stati Membri della Comunità Europea per la sperimentazione in vivo.

Anno di riferimento	Numero totale di pesci utilizzati nella sperimentazione	Studi per la salute dell'uomo e degli animali	Valutazioni tossicologiche (richieste normative)
EU, 2010	1087155	194226	90583
EU, 2013	1397462	179083	474305

1.1.1 Le linee guida OECD sui pesci

Allo stato attuale, le Linee Guida OECD (TG OECD) adottate per i saggi con i pesci sono le seguenti:

- Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test – n° 236 (26 July 2013)
- Fish, Early-life Stage Toxicity Test – n° 210 (26 July 2013)
- Fish Short Term Reproduction Assay – n° 229 (02 October 2012)
- Fish Sexual Development Test – n° 234 (28 July 2011)
- 21-day Fish Assay – n° 230 (8 September 2009)
- Fish, Juvenile Growth Test – n° 215 (21 January 2000)
- Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-Fry Stages – n° 212 (21 September 1998)
- Fish, Acute Toxicity Test – n° 203 (17 July 1992)
- Fish, Early-Life Stage Toxicity Test – n° 210 (17 July 1992)
- Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-day Study – n° 204 (04 Apr 1984)
- Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure – n° 305 (02 October 2012).

Sebbene tutte le TG OECD rispondano a precise necessità normative, senza dubbio alcuni metodi sono utilizzati più ampiamente di altri. Il saggio di tossicità acuta (TG n° 203) che prevede la valutazione della LC₅₀ dopo 96 ore di esposizione, è quello maggiormente raccomandato dalle Autorità regolatorie. Al pari di questo, troviamo la valutazione del potenziale di bioaccumulo delle sostanze chimiche che presentano un elevato coefficiente di ripartizione ottanolo-acqua (K_{ow}) (TG n° 305).

Diversamente, le TG adottate dal 2009 al 2013 - n° 229, 230, 234 - relative all'identificazione degli interferenti endocrini e la n° 236 relativa al saggio di embriotossicità con *Danio rerio* (designato in alternativa al test acuto con giovanili), non sono ancora applicate routinariamente da tutti i Paesi. C'è inoltre una richiesta contenuta anche per i metodi regolati dalla TG n° 204, 212 e 215, tanto che, l'assemblea dei coordinatori nazionali del Programma delle Linee Guida ha in progetto una discussione circa il loro ritiro. In particolare, in merito alla TG n° 204, dopo un'attenta revisione che ha posto in rilievo numerose limitazioni è stata proposta la sua eliminazione.

Nella pubblicazione OECD - Fish Toxicity Testing Framework n° 171 (OECD, 2012) - che offre un quadro riassuntivo generale di tutti gli aspetti dei saggi di tossicità con pesci (condizioni di esposizione, considerazioni statistiche, selezione delle specie, benessere animale, limiti e requisiti di ciascun metodo), si dice che: *The quality of test organism is key to the successful conduct of fish test* (paragrafo 4.4 pag. 71).

Per assicurare l'idoneità di una popolazione di pesci reperita presso allevamenti esterni, è necessario un periodo di acclimatazione in laboratorio prima di effettuare i test di tossicità. Durante l'acclimatazione gli animali devono essere osservati giornalmente per registrare eventuali malattie, comportamenti anomali, segni di stress e numero di morti. I lotti di pesci reperiti presso allevamenti commerciali devono essere accompagnati da una documentazione informativa sulla specie, età, origine, tipo di dieta, ecc.

Nel test di tossicità acuta (TG n° 203) e in quello di crescita (TG n° 215) un acclimatazione di 7 giorni viene considerata accettabile se la mortalità della popolazione ittica in questo tempo risulta minore del 5 per cento. Tale periodo viene prolungato per altri 7 giorni se la mortalità della popolazione risulta compresa tra il 5 e il 10 per cento.

Negli studi a lungo termine, come quello che valuta gli effetti letali e subletali su embrioni e larve (TG n° 210), l'acclimatazione può non essere possibile; in tal caso è preferibile acquistare le uova fecondate da cui sono selezionati gli embrioni idonei per il test.

Nei casi in cui si richiedano pesci capaci di riprodursi (TG n° 229 e 230), quando non è possibile allevare gli animali in condizioni controllate, sono raccomandati periodi di acclimatazione molto lunghi (fino a 4 settimane) per assicurare un completo adattamento degli esemplari alle condizioni di laboratorio.

Nella scelta della specie ittica (ma vale anche per altri organismi) da utilizzare nei saggi di tossicità, i metodi OECD raccomandano che vengano presi in considerazione i seguenti criteri (OECD, 2012):

- facilità di allevamento e manipolazione
- disponibilità di allevamento
- sensibilità (capacità di rilevare la tossicità)
- dati pre-esistenti
- larga distribuzione geografica
- rilevanza ecologica/economica
- esigenze nazionali o regionali

Le dimensioni degli organismi e la loro compatibilità con il tipo di esposizione e gli *endpoint* prescelti costituiscono parametri ulteriori da considerare (Conti et al., 2012).

Nella tabella 3 sono elencate tutte le specie ittiche raccomandate nei diversi metodi OECD. Sono riportate anche le specie definite nelle TG come “specie ben documentate” (*well-documented species*).

I piccoli esemplari di *Danio rerio* e *Oryzias latipes* sono specie raccomandate in quasi tutti i metodi (TG 203, 204, 210, 212, 229, 230 e 234). Ad esempio, nei test con gli stadi embrionali e larvali (TG 210) queste specie sono preferite alla trota arcobaleno (*Oncorhynchus mykiss*), perché la durata complessiva saggio è minore (30 giorni invece di 90 giorni). D'altra parte, per quanto riguarda la valutazione di tossicità acuta, la trota è considerata la specie d'acqua dolce più idonea e sensibile (OECD, 2012; Dyer et al., 2006; Lammer et al., 2009). La trota è la specie d'elezione anche nel test di crescita, perché essendo la sua crescita relativa più marcata che in altre specie, diventa più semplice effettuare questa misura richiesta dal metodo (OECD, 2012).

Allo stato attuale, non ci sono specie ittiche marine raccomandate nei metodi per la valutazione della tossicità acuta (TG n° 203), prolungata (TG n° 204) e della crescita con pesci giovani (TG n° 215). Le sole specie marine raccomandate sono nel metodo n° 210 (*Cyprinodon variegatus* e *Menidia peninsulare*) e nei metodi n° 230, 234, 305 e GD 148 (*Gasterosteus aculeatus*).

Tuttavia, nel test acuto e di tossicità prolungata non sono poste restrizioni particolari alla possibilità di utilizzare specie diverse da quelle raccomandate, a patto che gli organismi selezionati rispondano pienamente ai criteri precedentemente menzionati, e il *rationale* della scelta venga documentato dettagliatamente. In tal senso, dunque, non ci sono restrizioni all'utilizzo di specie estuarine/marine per questi metodi.

Molte specie estuarine/marine sono, comunque menzionate nei metodi n° 212 e n° 305 come “*altre specie che sono state utilizzate*”. La spigola - *Dicentrarchus labrax* L. 1758- è tra queste.

Tabella 3 – Specie ittiche indicate nei diversi metodi OECD

Metodo OECD	Specie raccomandate ¹		Altre specie “ben documentate” che sono state utilizzate ¹	
	Acque dolci	Acque marine/salmastre	Acque dolci	Acque marine/salmastre
Fish acute toxicity TG 203, 1992	<i>Brachydanio rerio</i> <i>Pimephales promelas</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Oryzias latipes</i> <i>Poecilia reticulata</i> <i>Lepomis macrochirus</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>			
Fish, Prolonged Toxicity Test: 14-day Study TG 204, 1984	“It is recommended that the species used for this test be selected from those recommended for the Acute Toxicity Test (TG n° 203)”			
Fish early Life-Stage Test TG 210, 2013	<i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Pimephales promelas</i> <i>Brachydanio rerio</i> <i>Oryzias latipes</i>	<i>Cyprinodon variegatus</i> <i>Menidia sp.</i>		
Fish, Juvenile Growth test TG 215, 2000	<i>Oncorhynchus mykiss</i>		<i>Brachydanio rerio</i> <i>Oryzias latipes</i>	
Fish, Short-term Toxicity Test on Embryo and Sac-fry Stages TG 212, 1998	<i>Oncorhynchus mykiss</i> <i>Brachydanio rerio</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Oryzias latipes</i> <i>Pimephales promelas</i>		<i>Carassius auratus</i> <i>Lepomis macrochirus</i>	<i>Menidia peninsulae</i> <i>Clupea harengus</i> <i>Gadus morhua</i> <i>Cyprinodon variegatus</i>
Fish Embryo Toxicity Test (FET) Test TG 236, 2013	<i>Brachydanio rerio</i>			
Fish short term reproduction assay TG 229, 2012	<i>Brachydanio rerio</i> <i>Pimephales promelas</i> <i>Oryzias latipes</i>			
21-day Fish Assay: A Short-Term Screening for Oestrogenic and Androgenic Activity, and Aromatase Inhibition TG 230, 2009	<i>Oryzias latipes</i> <i>Brachydanio rerio</i>	<i>Gasterosteus aculeatus</i> ^c		
Fish Sexual Development Test (FSDT) TG 234, 2011	<i>Oryzias latipes</i> <i>Brachydanio rerio</i>	<i>Gasterosteus aculeatus</i>		
Androgenized Female Stickleback Screen GD 148, 2011		<i>Gasterosteus aculeatus</i>		

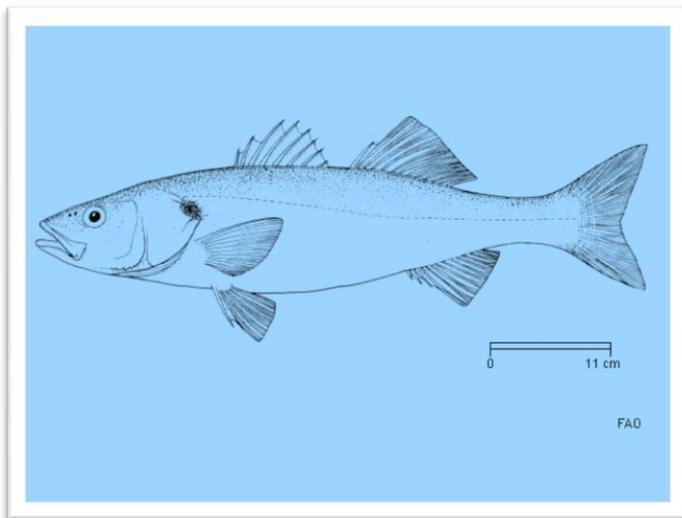
continua **Tabella 3**

Metodo OECD	Specie raccomandate		“Altre specie che sono state utilizzate”
	Acque dolci	Acque marine/salmastre	Acque marine/salmastre
Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure TG 305, 2012	<i>Brachydanio rerio</i> <i>Pimephales promelas</i> <i>Cyprinus carpio</i> <i>Oryzias latipes</i> <i>Poecilia reticulata</i> <i>Lepomis macrochirus</i> <i>Oncorhynchus mykiss</i>	<i>Gasterosteus aculeatus</i>	<i>Gasterosteus aculeatus</i> <i>Dicentrarchus labrax</i> <i>Leiostomus xanthurus</i> <i>Cyprinodon variegatus</i> <i>Menidia beryllina</i> <i>Cymatogaster aggregata</i> <i>Parophrys vetulus</i> <i>Leptocottus armatus</i> <i>Alburnus alburnus</i>

Note: ¹ Per la denominazione comune, italiana e inglese, delle specie ittiche riportate si veda l'allegato 1 alla presente pubblicazione.

1.2 La spigola *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758)

La spigola o branzino, *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus, 1758), è un teleosteo marino appartenente alla famiglia *Moronidae* (figura 4). Presenta un corpo piuttosto allungato e robusto che può raggiungere e superare il metro di lunghezza ed un peso di 12 Kg. Il nome del genere *Dicentrarchus* (Linnaeus, 1758) deriva dalla presenza di due pinne dorsali: la prima è formata da 8-10 grossi raggi erettili e la seconda con una spina e 12-13 raggi sottili. Il dorso è grigio o grigio-verdastro, i fianchi argentei e il ventre bianco. La colorazione è tuttavia variabile in funzione dell'ambiente: nelle lagune e in allevamento appare verdastra, mentre in mare è grigio argentea. Negli immaturi il dorso e i fianchi sono cosparsi di piccole macchie scure. Ben visibile è la linea laterale grazie alla quale il branzino riesce a percepire la presenza delle proprie prede in qualsiasi condizione meteo marina.



Classe: Actinopterygii

Ordine: Perciformes

Famiglia: Moronidae

Figura 4 – *Dicentrarchus labrax* (Linnaeus 1758) Disegno tratto da: www.ilmaredamare.com

Le pinne non hanno colorazioni particolari salvo qualche sfumatura grigiastrea. La testa è grande, con bocca terminale ampia, moderatamente protrattile, con una mandibola piuttosto prominente munita di denti conici e sottili disposti in più serie su mascelle, vomere e palato. L'opercolo presenta due spine.

Il branzino in natura vive in tutto il Mar Mediterraneo, nel Mar Nero e nell'oceano Atlantico dal Senegal alla Norvegia. E' una specie prevalentemente marina, ma euritermica (2 – 32 °C) ed eurialina (salinità 0,5 – 36 ‰), capace quindi di vivere anche in acque salmastre e dolci. Spesso si sposta da uno all'altro di questi habitat seguendo il flusso delle maree. In mare, è presente abitualmente lungo le coste ad una profondità compresa tra 10 e 100 metri. In acque salmastre, si ritrova nelle lagune, all'interno di porti o in vicinanza di scarichi urbani. In acqua dolce, preferisce gli ambienti dei fiumi a lenta corrente, dei quali risale il corso anche per molti chilometri (Ferraresso, 2010).

Le spigole adulte vivono a coppie o isolate, mentre i soggetti immaturi e i sub-adulti sono gregari. In primavera, si possono vedere branchi di giovani branzini che compiono migrazioni trofiche dalle acque costiere marine a quelle salmastre, richiamati dal riscaldamento delle lagune. Da gennaio a febbraio, invece, i giovani adulti migrano, per la riproduzione, dalle acque dolci a quelle salmastre e quindi al mare.

L'attività riproduttiva del branzino nel mar Mediterraneo si manifesta in acque costiere con salinità superiore al 30‰ principalmente nei mesi invernali tra gennaio e marzo, mentre sulle coste britanniche da marzo a giugno. La maturità sessuale è raggiunta a 2 anni nei maschi e 3 anni nelle femmine delle popolazioni del Mediterraneo e, più tardi, a 4-7 anni nei maschi e 5-8 anni nelle femmine delle popolazioni dell'Atlantico.

La strategia riproduttiva si basa sulla fecondazione esterna di un numero elevato di uova pelagiche galleggianti con diametro di 1,15 -1,16 mm, rilasciate dalla femmina (circa 140000 uova per Kg di peso della femmina) in concomitanza dei periodi di proliferazione planctonica, per garantire alla prole nella fase larvale (zooplanctofaga) disponibilità trofiche sufficienti. Dopo circa 3 giorni di incubazione, originano piccole larve di 3-4 mm, la cui organogenesi continua (in funzione della temperatura) dopo la schiusa dopo la quale le larve traggono energia dal riassorbimento del sacco vitellino. Le piccole larve migrano verso zone

lagunari, raggiungendo anche zone di acque dolci, dove rimangono fino al raggiungimento della maturità sessuale.

Considerata una specie di pregio, la spigola ha un ruolo di primaria importanza nell'acquacoltura Europea soprattutto quella del bacino Mediterraneo. E' stata la prima specie marina non-salmoide ad essere allevata e commercializzata in Europa al termine di approfonditi programmi di ricerca scientifica (1960-1970) per lo studio dei processi che sono alla base delle tecniche di allevamento intensivo.

L'allevamento di *D. labrax* ha avuto inizio nel bacino Mediterraneo negli anni '80. Attualmente, è la specie ittica più importante dal punto di vista commerciale (figura 5) ed è ampiamente allevata nell'area Mediterranea. Turchia (47013), Grecia (44100 t), Spagna (17548 t) e Italia (6500 t), sono i produttori maggiori (FAO, dati di produzione riferiti al 2011).



Figura 5 – Paesi produttori di spigole. Tratto da FAO Fishery Statistics, 2006

Il ciclo di produzione del branzino all'interno di un allevamento moderno inizia con la semina di uova mantenute all'interno di incubatoi per circa 40 giorni. La raccolta delle uova fecondate è resa agevole dal fatto che queste risultano trasparenti e galleggiano, mentre quelle non fecondate sono bianche e tendono a depositarsi sul fondo delle vasche. Le uova fecondate sono poi sottoposte ad una ulteriore selezione mediante scrematura, per separare quelle migliori aventi diametro poco superiore ad 1 mm e peso di circa 1 mg. Dopo la schiusa (al terzo giorno di emissione), si libera la larva provvista di sacco vitellino, che costituisce la riserva energetica fino a che l'organismo non sarà in grado di alimentarsi con plancton vivo.

All'interno delle aziende è quindi necessario provvedere alla produzione di organismi zooplanctonici (rotiferi, alghe, crostacei) per il nutrimento delle larve. La somministrazione di *Artemia salina* può avere inizio quando le larve di branzino raggiungono 25 giorni di età (primo appastamento), mentre nei giorni precedenti sono utilizzate popolazioni planctoniche di dimensioni inferiori come l'alga *Chlorella minutissima* e il rotifero *Brachionus plicatilis*. Segue la fase di "svezzamento" in cui le larve sono indotte a consumare mangime sintetico, più semplice da approvvigionare e somministrare. Questa fase si completa verso il 30°-40° giorno di vita. Con il mangime sintetico vengono ultimati gli sviluppi organogenetici e le larve subiscono una metamorfosi, assumendo le caratteristiche peculiari di pesce. Verso la fine del 2° mese di vita, un'ulteriore crescita porterà allo sviluppo degli avannotti, aventi un peso compreso tra 0,5 e 1 g che potranno essere seminati nelle vasche di pre-ingrasso dove gli animali permangono fino ad un anno di età durante il quale sono sottoposti ai primi programmi di selezione. Dopo un'ulteriore crescita e selezione per taglie, i branzini sono trasferiti nelle vasche da ingrasso. Una volta raggiunta la taglia di circa 350 g, in 15-24 mesi, in funzione della temperatura dell'acqua, il pesce può essere commercializzato. Tra questi esemplari saranno selezionati i capi idonei ad incrementare il parco riproduttori. Nella figura 6 è mostrato uno schema di ciclo riproduttivo di un allevamento intensivo.

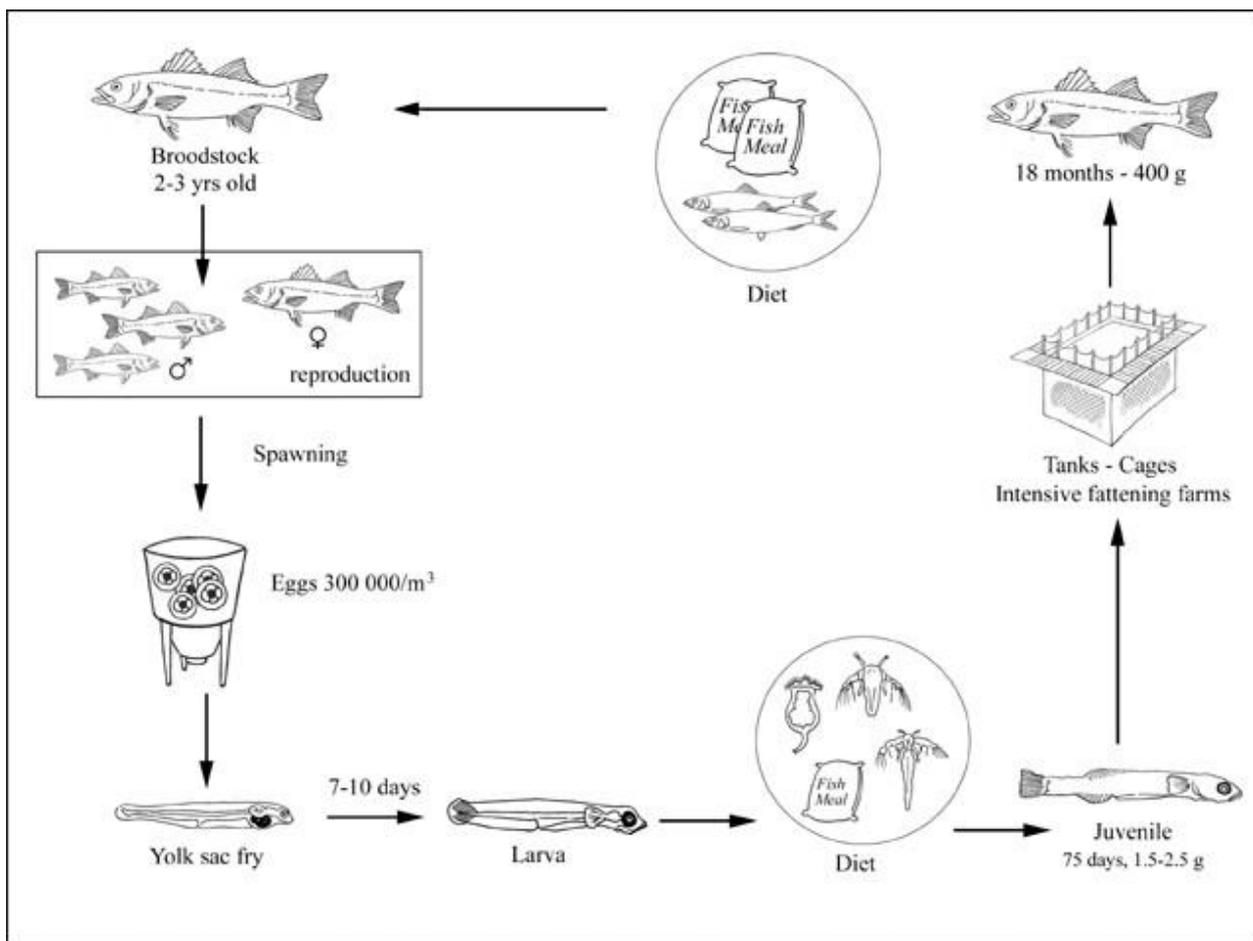


Figura 6 – Ciclo riproduttivo del *Dicentrarchus labrax* (L.) in un sistema intensivo. Tratto da FAO Fisheries and Statistics http://fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchuslabrax_labrax/en

Negli allevamenti di tipo estensivo, il processo riproduttivo del branzino inizia con la scelta dei riproduttori maschi e femmine che sono allevati in appositi bacini alimentati con acqua di mare, dove gli animali raggiungono in modo naturale la maturità, seguendo il ciclo stagionale tipico della specie. La maturazione degli animali avviene con l'arrivo dei primi freddi, con un picco tra Gennaio e Febbraio per la zona Mediterranea. In tale periodo entrambi i sessi presentano un rigonfiamento del ventre. Questi sono attentamente selezionati e trasferiti nelle vasche di deposizione dove le uova raggiungono la maturazione e i maschi, emettendo i propri prodotti sessuali, completano il processo di fecondazione. Le uova fecondate galleggianti sono raccolte mediante un getto di acqua che sviluppa una corrente circolare e la presenza di un tubo contro corrente che preleva le uova. Queste vengono trasferite in vasche di incubazione (1 m³; loading = 50-150 uova/L) in cui l'acqua, mantenuta alla temperatura di 13-18 °C, e la concentrazione di ossigeno maggiore di 5 ppm, assicurano un regolare sviluppo embrionale. Ha quindi inizio il ciclo riproduttivo. La selezione nel branzino è di tipo "massale", cioè si attua scegliendo a ogni generazione, quegli individui che, per caratteristiche morfologiche e/o funzionali, sono ritenuti i più idonei per l'allevamento. Tuttavia, con questo sistema non si controllano gli accoppiamenti (accoppiamento casuale) e non si conoscono le genealogie della progenie F1, ma si mantiene invariata la struttura genetica della popolazione, fatte salve le variazioni di frequenza casuali dovute al numero limitato di individui e allo stabilirsi di una parentela tra i componenti del gruppo dopo alcune generazioni di riproduzione in condizioni di isolamento. In figura 7 è mostrato uno schema di sistema estensivo di allevamento del branzino.

Per una rassegna completa e aggiornata sull'acquacoltura italiana si rimanda a Parisi et al., 2014.

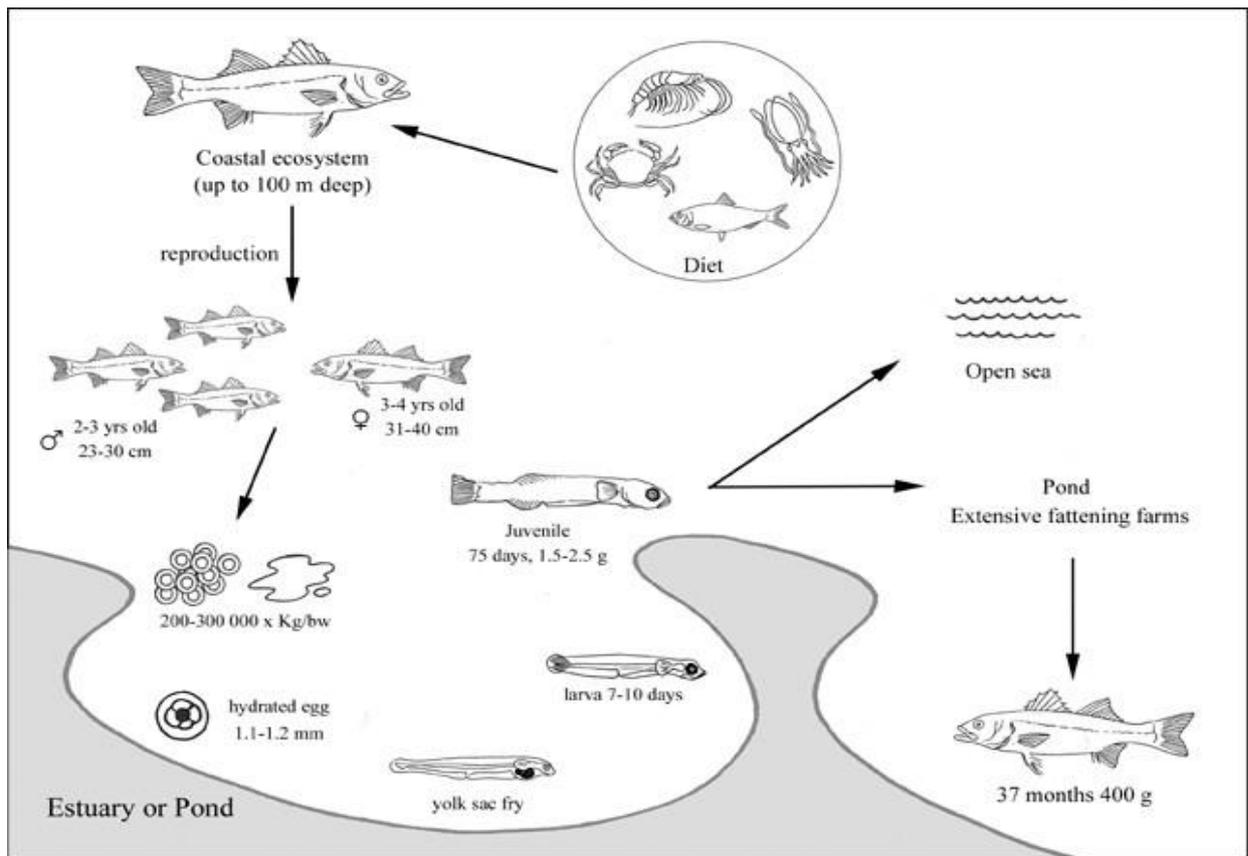


Figura 7 - Ciclo riproduttivo del *Dicentrarchus labrax* (L.) in un sistema estensivo. Tratto da FAO Fisheries and Statistics http://fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchuslabrax_labrax/en

2. STUDI DI TOSSICITÀ CON *DICENTRARCHUS LABRAX* L.

L'acquisizione dei dati di tossicità sulla spigola è stata effettuata consultando il database ECOTOXicology (EPA ECOTOX version 4) e attraverso i motori di ricerca PubMed and Google Web Search. Dall'analisi di circa 126 pubblicazioni individuate, riguardanti vari aspetti dell'uso del branzino (tossicologia, biomarker, bioaccumulo, monitoraggio, genetica, ecc.) 34 di questi riguardano studi di tossicità e sono stati quindi considerati in questo rapporto.

I singoli contributi sono presentati in maniera sintetica attraverso schede che descrivono gli elementi ritenuti rilevanti e di seguito elencati:

1. Riferimenti bibliografici (autori, titolo, pubblicazione)
2. *Abstract* (nella lingua originale dell'articolo)
3. Sostanze (sostanza in esame, sostanza di riferimento, veicolo)
4. Sistema di saggio (specie, stadio vitale, età, lunghezza, peso)
5. Condizioni del test di tossicità (metodo di riferimento, procedura, durata, tipo di esposizione, ecc.)
6. Effetti misurati
7. Risultati
8. Commenti

Le sostanze chimiche e le matrici ambientali valutate per la tossicità su spigola sono le seguenti:

1. metalli pesanti

Cadmio, Cromo, Piombo, Mercurio, Rame, Nickel

2. idrocarburi aromatici

Benzene, Pirene, Naphtalene

3. Solventi clorurati

Triclorometano, Diclorometano, 1,2 dicloroetano

4. Surfattanti anionici

Sodio dodecil solfato

5. Glicol di etilenico (DEG)

6. 2-fenossietanolo (2PE)

7. Erbicidi

Simazina e Trifluralin

8. Insetticidi organoclorurati

Endosulfan

9. Insetticidi organofosfati

Chlorpyrifos

10. Micotossine

Ocratossina A e Aflatossina B1

11. Antiparassitari

Ivermectina

12. Composti inorganici

Nitrati, Nitriti, Ammonio cloruro, Diossido di carbonio

13. Agenti citotossici

Colchicina

14. Acque di Formazione (PFW)

15. Effluenti

16. Sedimenti marini

17. Disperdenti

18 Oil wathering

19. Microalghe marine

La maggior parte degli studi condotti con la spigola sono stati effettuati in Italia al fine di valutare l'idoneità di questa specie come organismo modello per test di tossicità a breve e lungo termine. Alcune di queste ricerche sono state realizzate nell'ambito di progetti nazionali sviluppati per finalità normative, quali:

- “Sostanze Prioritarie: i pesci (*Dicentrarchus labrax*, *Cyprinus carpio*) quali organismi bersaglio in test ecotossicologici, di bioconcentrazione e in saggi finalizzati a valutazioni di genotossicità”, progetto sviluppato nell'ambito del Progetto Nazionale di monitoraggio delle acque superficiali MATTM, APAT e ARPA ER (Spaggiari et al., 2005).
- “Programma di ricerca TAXA. Sperimentazione di test tossicologici su organismi marini, ai fine dell'applicabilità del D.D. 23.12.2002”, progetto sviluppato da ICRAM concernente la valutazione di specie

marine da utilizzare nelle procedure per la valutazione di idoneità dei prodotti assorbenti e disperdenti impiegati in mare in caso di sversamento accidentale di prodotti petroliferi (ICRAM Taxa, 2005).

- Progetto UNICHIM per la convalida del saggio di tossicità acuta secondo il metodo OECD n° 203 (1992) con la specie *D. labrax* (Mariani et al., 2007; Mariani et al., 2009)
- “Regolamento REACH: implementazione dei metodi C1, C13, C14 e C15 (CE 440/2008) sui pesci, utilizzando la specie autoctona *Dicentrarchus labrax* (L. 1758)”, progetto approvato e finanziato dal Comitato Tecnico di Coordinamento REACH e sviluppato dal Servizio di Metrologia Ambientale di ISPRA (2010-2013).

Nella tabella 4 sono riassunti in modo schematico gli studi di tossicità descritti nelle schede bibliografiche a seguire.

Tabella 4 – Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata descritti nelle schede bibliografiche successive

Sostanza	Tossicità acuta (h)	Tossicità prolungata (gg)	Altro (gg)	Riferimento bibliografico ¹
Cd • 2,5 H ₂ O	24 e 96	7	-	Gelli et al., 2004
	96 h	28	-	Gelli et al., 2005
Cd	24, 48 e 96	7	-	Spaggiari et al., 2005
	48	-	-	Roméo et al., 2000
Cu	48	-	-	Roméo et al., 2000
Pb	24, 48 e 96	7	-	Spaggiari et al., 2005
Hg	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
Ni	24, 48 e 96	7	-	Spaggiari et al., 2005
Pirene	96	-	-	Almeida et al., 2012
Benzene	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
Naftalene	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
Triclorometano	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
Diclorometano	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
1,2 Dicloroetano	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
SDS	24	-	-	Spaggiari et al., 2005
	24	-	-	Roncarati et al., 2001
	24	-	-	Cicero et al., 2004
	24 e 48	-	-	Mariani et al., 2007
	48	-	-	Mariani et al., 2009
	96	28	-	Gelli et al., 2005
	96	-	-	ICRAM Taxa, 2005
	96	-	-	Piovani, 2007
	96	-	-	Mariani et al., 2006
	96	-	-	Conti et al., 2015
DEG	96	-	-	Tornambè et al., 2012
	24 e 96	-	-	Mariani et al., 2005
2-fenossietanolo	0,1-1 e 96 h	-	-	Basaran et al., 2007; Marsic-Lucic 2005
Simazina	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
Trifluralin	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
Endosulfan	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
Clorpirifos	24, 48 e 96	-	-	Spaggiari et al., 2005
Ocratossina	96	-	-	El-Sayed et al., 2009
Aflatossina B	96	-	-	El-Sayed and Khalil, 2009
Ivermectina	-	40	-	Athanassopoulou et al., 2002
NH ₃ e NH ₃ -NH ₄ ⁺	96	-	-	Person-Le Ruyet et al., 1995
	-	-	63	Lemarié et al., 2004
	-	62	-	Coeurdacier and Dutto, 1999
N-NO ₂	96	7	-	Saroglia et al., 1981
NH ₃ -N	96	-	-	Tudor et al., 1994
Diossido di carbonio	120	-	-	Grottum and Sigholt, 1996
Colchicina	48	-	-	Roche et al., 1993
FPW	24	-	-	Mariani et al., 2004
	96	-	-	Tornambè et al., 2012
	96	-	-	Manfra et al., 2012
Effluenti	-	28	-	Diniz et al., 2011
Sedimenti marini	96	28	-	Palazzi et al., 2009
Disperdenti	-	14	-	Conti et al., 2007
	48 e 96	9, 14 e 28	-	ICRAM Taxa, 2005
Oil wathering	96	7 e 14	-	Tornambè et al., 2009
Microalghe marine	96	-	-	Faimali et al., 2012

Note: ¹ I riferimenti bibliografici sono riportati nelle schede a seguire e non sono presenti nella bibliografia finale del rapporto.

Di questi studi, 28/34 riguardano la tossicità acuta (24, 48, 72 e 96 ore), 11/34 riguardano anche la valutazione della tossicità prolungata (7,9, 14 e 28 giorni) e un solo studio prende in esame gli effetti subletali (crescita).

In generale, gli studi di tossicità sono stati effettuati con tutti gli stadi vitali del branzino (uova, larve, post-larve, giovanili e adulti), ma la maggior parte di essi (66,6%) è stata realizzata con i giovanili di questa specie.

Si riporta l'esplicazione delle note e delle abbreviazioni utilizzate nelle schede bibliografiche successive.

Note:

¹ Sostanze: comprendono la Sostanza in esame (sostanza chimica, miscela di sostanze, ecc.) saggiata mediante test di tossicità, la Sostanza o Tossico di Riferimento (sostanza utilizzata per valutare la sensibilità dell'organismo di prova) e il Veicolo: (solvente, disperdente, o altro utilizzato per la dissoluzione della sostanza in esame).

² Tipo di test: tossicità acuta, tossicità prolungata, test di crescita, test di bioaccumulo, ecc.

³ Metodo di riferimento: ISO; Linee guida OECD, UNI, ecc.

⁴ Location: Studio di laboratorio (LAB) or studio in situ (IN SITU)

⁵ Procedura: test senza rinnovo del mezzo (statico, STAT), con rinnovo parziale del mezzo (semi-statico, semi-STAT) o a flusso continuo (flusso continuo, FC)

⁶ Medium: acqua di mare naturale o ricostituita; acqua distillata, acqua deionizzata, terreno di coltura, ecc..

⁷ Esposizione: come l'organismo viene esposto alla sostanza in esame o di riferimento (in acqua, per via intradermica, per bocca, ec..)

⁸ Frequenza di rinnovo: vale per le esposizioni mediante iniezione intradermica o per bocca

⁹ Effetti misurati (endpoint): ad es. mortalità, effetti a livello morfologico, comportamentale, crescita, riproduzione

¹⁰ Risultati: possono essere espressi come mortalità percentuale (M%), come LC/EC50; come LOEC, NOEC o altro

Abbreviazioni (*in ordine alfabetico*)

B: buio

bwt: body weight (per peso corporeo)

conc: concentrazione

CV: coefficiente di variazione

exp.: esperimento

expos.: esposizione

EC₅₀: dose di effetto per il 50% degli organismi

FC: procedura a flusso continuo

gg: giorni

h: ore

IC95%: intervallo di confidenza al 95%

L: luce

LAB: studi di laboratorio

LC₅₀: dose letale per il 50% degli organismi

LT50: tempo letale per il 50% degli organismi

LOEC: Lowest Observable Effect Concentration

M: media

NA: Non applicabile

NR: Non riportato

NOEC: No Observable Effect Concentration

semi-STAT: procedura semi-statica (con rinnovo del medium)

ST: scarto tipo

STAT: procedura statica (senza rinnovo del medium)

Autori: Almeida JR, Gravato C, Guilhermino L.
Titolo: Challenges in assessing the toxic effects of polycyclic aromatic hydrocarbons to marine organisms: a case study on the acute toxicity of pyrene to the European seabass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.)
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Chemosphere</i> 2012 vol 86: 926-937
Abstract The acute toxicity (96 h) of pyrene (PY) to European seabass (<i>Dicentrarchus labrax</i>) juveniles assessed in a semi-static bioassay (SSB) and in a static bioassay (SB) was compared in laboratorial conditions (water PY concentrations: 0,07-10 mg/l). In the SSB procedure, that assessed mainly the toxicity of PY and its metabolites, main findings were: 1) increased level of bile PY metabolites, of PY-type compounds in the brain, liver and muscles; 2) a significant inhibition of glutathione S-transferase activity; 3) complete impairment of the swimming velocity at all the PY concentrations. In the SB, where the overall toxicity of PY, its metabolites and environmental degradation products was evaluated, 19% and 79% of PY decay in test media was found at 12 and 96 h, respectively. In general the effects were similar to those of SSB, but with significant effects being induced at higher PY concentrations indicating that the parental compound is more toxic than its environmental degradation products. Other differences relatively to the SSB were: increased levels of PY-type substances in the liver suggesting more accumulation in this organ. These findings highlight the need of carefully considering experimental design options when assessing the toxicity of readily degradable substances to marine fish, and stress the importance of taking into consideration the toxicity of environmental degradation products in addition to toxic effects of the parental substance for marine ecological risk assessment.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Pyrene (PY)	
Numero CAS: NR	Produttore: Sigma-Aldrich Chemical Corporation (USA)
Concentrazioni: 0,07- 0.15 – 0.31 – 0.63 – 1.25 – 2.5 – 5 - 10 mg/l	

VEICOLO¹	
Nome: Acetone	
Numero CAS: NR	Concentrazioni: 10 g pyrene in 1 l of acetone (solvent control: 0.5 ml acetone in 4 l of seawater)

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: Allevamento Vila Nova de Mil Fontes, Portogallo	
Stadio vitale: giovanili	Età: NR
Lunghezza (cm): test semi-STAT: 8,1 ± 0,7; Test STAT: 8,5 ± 0,7 (lunghezza standard)	Peso (g): test semi-STAT: 8,7 ± 0,2; Test STAT: 10,4 ± 2,4 (peso totale di 10 pesci)

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta	Metodo di riferimento ³ : OECD GL 203 o C1 (CE 440/2008)				
Location⁴: LAB	Procedura ⁶ : semi-STAT e STAT.				
Medium⁶: acqua di mare artificiale					
Esposizione⁷: in acqua	Durata: 96 h Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: semi-STAT: ogni 12 h				
N° di pesci utilizzati: 10/conc	Repliche: NR		N° di test: NR		
Caratteristiche del medium					
T (°C) 18 ± 1	pH NR	Salinità (‰) NR	O₂ NR	Fotoperiodo (h) 14 L:10 B	

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰		
	Test STAT: nessuna mortalità.		
	Test semi-STAT:	PY (mg/l)	Mortality %
		0,63	30
	5	50	
	LOECca: 0,07 mg/L LOEC vn: 0,15 mg/L		
STATISTICA¹³: Vedi il lavoro originale			

Abbreviazioni: ca: capacità di alimentazione; vn: velocità nuoto

COMMENTI: Nella scheda non sono riportati gli altri risultati del lavoro riguardanti i biomarker .

Autori: Athanassopoulou F, Ragias V, Roth M, Liberis N, Hatzinikolaou S.
Titolo: Toxicity and pathological effects of orally and intraperitoneally administered Ivermectin on sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>)
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Diseases of aquatic organisms</i> 2002 vol 52: 69-76
Abstract The toxicity and histopathology of Ivermectin (used to control infections of ectoparasitic copepods or sea lice) was studied in 3 and 35 g sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.) following in-feed, oral intubation and injection administration at dose rates ranging from 0,5 to 3,5 mg/Kg. Estimated LD ₅₀ values for 3 g fish, reared at 20°C, were 0,335 mg/Kg (oral intubation) and 0,106 mg/Kg (injection) and for fish reared at 11°C were 0,839 mg/Kg (oral intubation) and 1,023 mg/Kg (injection). For 35 g fish reared at 11°C, the estimated LD ₅₀ was 0,523 mg/Kg (oral intubation) and 0,361 mg/Kg (injection). No sign of toxicity were observed when the compound was administered via the feed at 0,5 and 0,7 mg/Kg. However toxicity was observed at dose rates of 0,2 mg/kg and higher when the compound was administered via oral intubation and at 0,5 mg/Kg when administered via injection. The compound was significantly more toxic to fish reared at 11 than at 20°C and to 3g than to 35 g sea bass when administered via injection. Histopathological examination of the major organs revealed pathology was largely restricted to gills and intestinal tissue.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Ivermectina 1% w/v soluzione veterinaria iniettabile. La soluzione è stata diluita in olio di fegato di merluzzo.	
Numero CAS: NR	Produttore: Valaneq Agvet
Concentrazioni:	
Metodo di somministrazione	
Intubazione	Iniezione
3,5 - 2,5 - 1,5 - 1,0 - 0,5 - 0,05 mg/kg fish	0,7 - 0,5 - 0,3 - 0,2 - 0,1 - 0,05 mg/kg fish

VEICOLO¹	
Nome: Olio di fegato di merluzzo	
Numero CAS: NR	Concentrazioni: NR

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: Allevamento	
Stadio vitale: NR	Età: NR
Lunghezza (cm): NR	Peso (g): 3 g e 35 g

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità prolungata		Metodo di riferimento ³ : NR	
Location⁴: LAB		Procedura ⁶ : NA	
Medium⁶: NR		Durata: 40 gg	
Esposizione⁷: nel cibo, intubazione orale e iniezione		Frequenza di applicazione ⁸ : NR	
N° di pesci utilizzati: da 25 a 100 pesci		Rinnovo delle soluzioni: NA	
Caratteristiche del <i>medium</i>		Repliche: no	
		N° di test: NR	
T (°C) 11 e 20	pH 8,2	Salinità (‰) 25	O₂ NR
			Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰				
	Pesci peso (g)	T (°C)	n° pesci/conc.	LD _{50-40gg} mg/Kg	IC95%
	Intubazione				
	3	20	100	0.839	0.628-1.121
	3	11	60	0.335	0.299-0.375
	35	11	25	0.523	0.340-0.805
	Iniezione				
	3	20	100	1.023	0.739-1.415
	3	11	100	0.106	0.083-0.136
	35	11	25	0.361	0.284-0.458
	STATISTICA¹³: Analisi Probit				

Autori: Basaran F., Sen H., S. Karabulut
Titolo: Effects of 2-phenoxyethanol on survival of normal juveniles and malformed juveniles having lordosis or nonfunctional swimbladders of European sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>)
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Aquaculture Research</i>/2007/38/ 933-939
Abstract The objectives of this study were to evaluate the effects of 2-phenoxyethanol (2-PE), which is an anaesthetic, on survival rates of normal juveniles and malformed juveniles having lordosis or non functional swim bladders of European sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L., 1758) and to establish the LC ₅₀ after exposure at 2-PE concentrations of 0,05-0,1-0,15-0,2-0,25-0,3-0,35-0,4 and 4,5 ml/l and LT ₅₀ after 10-, 20-, 30-, 40-, 50- and 60-min time periods, at temperature 19 ± 0.5 °C, salinity 38 g/ L, pH 7,4-7,8 and dissolved oxygen >8 mg/L. Between concentrations of 0,05 and 0,25 ml/L, 2-PE did not cause any mortality or toxicity on normal, lordosis and non functional swimbladder juveniles of sea bass during the 60-min exposure period. On the other hand, significance in each group fish in their mortality rates between concentrations of 0,30 and 0,45 ml/l was observed (P<0,05). The non-functional swimbladder juveniles showed lower LC ₅₀ than normal and lordosis juveniles respectively. Also, non-functional swimbladders juveniles showed lower LT ₅₀ than normal and lordosis juveniles respectively. At concentrations of 0,30-0,35-0,40 and 0,45 ml/L, induction times were found to be significantly different among the three groups (P<0,05). Recovery times were not found to be significantly different in two groups at concentrations of 0,30 and 0,40ml/L (P> 0,05). The toxic effect of 2-PE on sea bass juveniles increased depending on the exposure times (P<0,05). The most suitable concentrations of 2-PE were 0,30,0,35 ml/l between minutes 10 and 30, although the normal juveniles can resist to 0,45 ml/l of 2-PE concentration for 20 min. The 2-PE showed toxicity in relation to the concentrations and exposure time combinations among the three groups in the order; non-functional swimbladder fish > lordosis fish > normal fish.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: 2-fenossietanolo (2-PE)	
Numero CAS: NR	Produttore: Tekno-Farm, Izmir, Turchia
Concentrazioni: 0,05 - 0,1 - 0,15 - 0,2 - 0,25 - 0,3 - 0,35 - 0,4 - 0,45 ml/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: Aquaculture (Akva-Tek hatchery, Izmir, Turkey)	
Stadio vitale: 3 gruppi di giovanili: NF (normali); LF (con lordosi); NFSBF (con vescica natatoria non funzionante)	Età: 5 mesi
Lunghezza (cm): NF: 0,67± 0,003; LF: 0,66 ± 0,003; NFSBF: 0,64± 0,002	Peso (g): NF e LF: 2,7 ± 0,03; NFSBF: 2,4 ± 0,03

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: NR			
Location⁴: LAB		Procedura⁶: FC			
Medium⁶: acqua di mare		Durata: 10, 20, 30, 40, 50, 60 min; tempo di recupero 24h Frequenza di applicazione⁸: NA Rinnovo delle soluzioni: NA			
Esposizione⁷: acqua					
N° di pesci utilizzati: 45/concen./esposizione e 45 nel controllo		Repliche: 3 (15 pesci/replica)	N° di test: NR		
Caratteristiche del medium					
T (°C) 19 ± 0,5	pH 7,4 – 7,8	Salinità (‰) 38	O₂ > 8 mg/l	Fotoperiodo (h) Naturale	

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰			
	Sono riportati solo i risultati del gruppo NF:			
	t di espos.(min)	LC₅₀ml/L	IC95%	
	10 and 20	0,0	0,0	0,0
	30	0,379	0,366	0,394
	40	0,362	0,349	0,376
	50	0,323	0,309	0,335
	60	0,312	0,295	0,325
	Conc. (ml/L)	LT₅₀ (min)	IC95%	
	0,30	69,38	58,69	96,18
	0,35	39,94	36,96	43,12
	0,40	33,89	26,49	40,73
	0,45	26,98	17,14	35,32
Per i risultati dei pesci LF e NFSBF vedi articolo originale				
STATISTICA¹³: Analisi di regressione lineare Probit; test di Kruskal-Wallis, Pearson's χ^2 (versione 9.0, SPSS Chicago,IL,USA)				

Autori: Cicero AM., Mariani L., Savorelli F., Roncarati A., Gelli F.; Palazzi D., Pregnotato L.
Titolo: Prove preliminari di riproducibilità intralaboratorio nella conduzione di saggi ecotossicologici con <i>Dicentrarchus labrax</i> (L.). Preliminary trials for determining intralaboratory variability in ecotoxicological bioassays using <i>Dicentrarchus labrax</i> (L.)
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Biologia Marina Mediterranea</i> (2004) 11: 496-498
Abstract Preliminary trials for determining intralaboratory variability of a 24 h toxicity test method was carried out using 30 day old <i>Dicentrarchus l.</i> (Teleostei: Moronidae) larvae exposed to the reference toxicant Sodium lauryl sulphate. The results of these trials confirm the possibility to candidate the European sea bass as bioassay organism for validation procedures for acute tests.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Sodio lauril solfato (o sodio dodecil solfato) – SLS o SDS	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: 6,31 - 3,55 - 1,99 - 1,12 - 0,63 mg/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: NR	
Stadio vitale: larve	Età: 30 gg
Lunghezza (cm): NA	Peso (g): NA

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : NR	
Location⁴: LAB		Procedura ⁶ : STAT	
Medium⁶: NR			
Esposizione ⁷ : acqua		Durata: 24 h Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: NA	
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.		Repliche: 3	N° di test: 10 test/operatore
Caratteristiche del <i>medium</i>			
T (°C) 20 ± 1	pH NR	Salinità (‰) 30 ± 1	O ₂ NR
			Fotoperiodo (h) 16L : 8 B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰			
		Operatore A	Operatore B	Operatore C
	LC₅₀-24 h (LCL and UCL 95%) mg/l	2,04 (1,38-2,52)	2,90 (2,64-3,18)	2,66 (1,99-2,3,55)
STATISTICA¹³: Software USEPA Toxstat (Probit and Trimmed-Spearman-Karber)				
COMMENTI: Ogni risultato di LC ₅₀ -24h è la media di 10 esperimenti. L'analisi statistica (ANOVA e t-test) mostra differenze significative tra i tre operatori (F _{2,27} = 10,27; p < 0,01)				

Autori: Coeurdacier JL, Dutto G.
Titolo: Effect of chronic exposure to ammonia on alterations of proteins and immunoglobulins in sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>) serum.
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Aquatic Living Resource</i> 1999 vol 12(4): 247-253
Abstract The aim of this study was to examine the correlation between chronic ammonia (unionized fraction NH ₃ and the ionized fraction NH ₄ ⁺) exposure (at sublethal concentrations) and alteration in Immunoglobulin (IG) and total protein concentrations or in the protein molecular weight profile (PMWP) in sea bass, as well as, to evaluate the capability of this species to compensate for these alterations.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Nitrati (frazione non ionizzata) NH₃ (UIA-N) e Nitrati totali NH₃ + NH₄⁺ (TA-N)	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: gruppo 1: UIA-N 0,204 mg/L (= 12% del valore di LC₅₀-96h) ; gruppo 2: UIA-N 0,340 mg/L (= 20% del valore di LC₅₀-96h)	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: Ifremer laboratory	
Stadio vitale: NR	Età: NR
Lunghezza (cm): NR	Peso (g): 131,3 ± 4,3 g

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: NR		Metodo di riferimento³: NR	
Location⁴: LAB		Procedura⁶: FC	
Medium⁶: acqua di mare		Durata: 62 gg (seguiti da 54 gg di recupero)	
Esposizione⁷: acqua		Frequenza di applicazione⁸: NA	
N° di pesci utilizzati: 110 pesci divisi in 3 gruppi (controllo, esposizione gruppo 1 e esposizione gruppo 2).		Repliche: 2/conc.	N° di test:
Caratteristiche del medium			
T (°C) 22 ± 1	pH NR	Salinità (‰) 30 ± 1	O₂ >80%
		Fotoperiodo (h) 16L : 8 B	

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Conc. delle proteine totali del siero, profilo proteico elettroforetico e conc. delle immunoglobuline dopo 0, 21 e 62 gg e dopo il periodo di recupero (116 gg)	RISULTATI¹⁰ Dopo 21 gg di esposizione, le conc. di proteine totali del siero e di immunoglobuline è minore rispetto al gruppo di controllo. Dal 21° al 62° giorno di esposizione, la concentrazione di proteine aumenta.
STATISTICA¹³: ANOVA	

Autori: Conti D, Martone C, Cadoni F, Bellaria V, Balzamo S, Belli M.
Titolo: Saggio di tossicità cronica sul branzino <i>Dicentrarchus labrax</i> (L.): influenza della stabilità chimica delle sostanze tossiche.
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Biologi Italiani</i> (2007) Anno XXXVII – n° 1: 45-50
Abstract The aim of the study was to assess the feasibility of fish prolonged test (14 days) using a semi-static procedure with aeration for evaluating the toxicity of dispersants leaked in marine ecological disasters. Semi-static prolonged toxicity tests were performed on <i>Dicentrarchus labrax</i> specimens supplied by two different saltwater fish farms. The LC ₅₀ and NOEC values were calculated. Dispersant samples analysis by spectrophotometer with and without aeration shown that the oxygen influences the chemical stability of the dispersant. The results are a preliminary examination of the problem concerning the chemical stability of tested substances in order to avoid the underestimate of the LC ₅₀ and NOEC values.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Disperdente dei prodotti petroliferi . Nome commerciale: Safety Sea Cleaner 2 (SSC2)	
Numero CAS: NA	Produttore: NR
Concentrazioni: I lotto 25 – 12,5 – 6,25 – 3,12 – 1,56 mg/L; II lotto 25 – 12,5 – 6,25 – 3,12 mg/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: I lotto: allevamento Ca'Zuliani, Rovigo; II lotto: allevamento di Civitavecchia (RM)	
Stadio vitale: Giovanili	Età: NR
Lunghezza (cm): I lotto: 3,837 ± 0,238 cm II lotto: 5,273 ± 0,622 cm	Peso (g): I lotto: 0,459 ± 0,067 g II lotto: 1,286 ± 0,523 g

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST ² : tossicità a lungo termine		Metodo di riferimento ³ : OECD TG n° 204		
Location ⁴ : LAB		Procedura ⁶ : semi-STAT con areazione		
Medium ⁶ : acqua di mare artificiale (Instant Ocean)		Durata: 14 gg		
Esposizione ⁷ : acqua		Frequenza di applicazione ⁸ : NA		
N° di pesci utilizzati: I lotto: 5 pesci/conc.; II lotto: 3 pesci/conc.		Repliche: 3/conc.	N° di test: 1 per lotto	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 1	pH 7,5-8,0	Salinità (‰) 20 ± 1	O₂ >80%	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI ⁹ : Mortalità	RISULTATI ¹⁰		
		I lotto	II lotto
	LC_{50-14 gg} (IC 95%) mg/L	13,53 (12,50 – 15,04)	14,11 (11,67-17,10)
	NOEC mg/L	6,25	6,25
STATISTICA ¹³ : LC₅₀ con metodo Probit; NOEC con test di Dunnet			

Autori: Conti D, Balzamo S, Paina A, Martone C, Cadoni F, Savorelli F, Croppo M, Bellaria V, Pati a.
Titolo: European Sea Bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L. 1758) as a sentinel species in Europe to study the effects of contaminants.
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Annual Research & Review in Biology</i> 8(4): 1-13, 2015, Article n° ARRB. 20527 ISSN: 2347-565X, NLM ID: 101632869. www.sciencedomain.org
Abstract The current study was designed to evaluate whether European Sea Bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L. 1758) can be used as a sentinel species to test contaminants. For this aim the acute lethality (96 h) of anionic surfactant sodium dodecyl sulfate (SDS) on sea bass juveniles at two different water salinity percentages (20‰ and 5 ‰) were tested in order to assess how the water salinity may affect the sensitivity of the sea bass to SDS. A comparison with results from scientific literature especially freshwater species was also reported.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Sodio dodecil solfato (SDS)	
Numero CAS: 151-21-3	Produttore: Panreac PA-ACS (99%)
Concentrazioni: I gruppo: 2.5 - 3.6 - 5.0 -7.1-10 mg/L ; II gruppo 10 -16 - 25 - 40 – 63 mg/L; III gruppo 1 - 5 - 9 - 13 -17 mg/L; III gruppo 5 - 9 -13 -17- 21 mg/L; IV gruppo 2.5 - 5 -10 - 20 – 40 mg/L; V gruppo 6 - 9 - 12 -15 -18 mg/L; V gruppo: 3.5 - 5.5 - 7.5- 9.5 -11.5 mg/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: allevamento Ca'Zuliani, Rovigo; allevamento Caldoli di Lesina (Foggia)	
Stadio vitale: Giovanili	Età: NR
Lunghezza (cm): vedi tabella 27 del presente rapporto	Peso (g): vedi tabella 27 del presente rapporto

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : OECD TG n° 203		
Location⁴: LAB		Procedura ⁶ : semi-STAT con areazione		
Medium⁵: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)		Durata: 96 h		
Esposizione⁷: acqua		Frequenza di applicazione ⁸ : NA		
N° di pesci utilizzati: 7-10/concentrazione		Repliche: 3/conc.		N° di test:
Caratteristiche del medium				
T (°C) 19,5-20,5	pH 8,4-8,5	Salinità (‰) 5 e 20	O₂ >80%	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰			
		Peso	LT	LC_{50-96h} (mg/L)
		(g)	(cm)	20‰ 5‰
	I	0.068±0.03	2.23±0.22	5.76 (5.2-6.40)
	II	0.50±0.07	3.90±0.30	- 13.50 (12.43 – 14.67)
	III	0.66±0.22	4.64±0.29	6.71 * 14.87 *
IV	0.94±0.34	4.79±0.52	9.50 (8.2-11.0)	14.14 (12.32-16.24)
V	1.42±0.05	5.40±0.07	8.12 (7.55-8.73)	13.81 (13.09-14.57)
STATISTICA¹³: LC ₅₀ con metodo Trimmed-Spearman Karber (versione 1.5)				

Autori: Diniz MS, Pereira R, Freitas AC, Rocha-Santos TAP, Castro L, Peres I, Duarte AC.
Titolo: Evaluation of the sub-lethal toxicity of bleached kraft pulp mill effluent to <i>Carassius auratus</i> and <i>Dicentrarchus labrax</i>
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Water Air Soil Pollution</i> 2011 vol 217: 35-45
Abstract The main objective of this study was to evaluate the exposure effects of a secondary-treated bleached Kraft pulp mill (BKME) in two species of fish: <i>Carassius auratus</i> and <i>Dicentrarchus labrax</i> . Both species were exposed to five concentration (1-10-25-50-100%) of secondary-treated effluent for 21 days. At the end of exposure, samples of livers were collected for CYP1A determination and histopathological evaluation. The results show significant changes of CYP1A induction in carpo exposed to 50% and in sea bass exposed to 25% of effluent. Histopathological alterations were also observed according to the different concentrations.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Effluenti provenienti da cartiere	
Numero CAS: NA	Produttore: NR
Concentrazioni 1% – 10% – 25% – 50% – 100% (ottenute mediante diluizione con acqua corrente dechlorurata)	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: I lotto: allevamento Ca'Zuliani, Rovigo; II lotto: allevamento di Civitavecchia (RM)	
Stadio vitale: Giovanili	Età: < 1 anno
Lunghezza (cm): NR	Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità cronica (effetti sub letali)		Metodo di riferimento³: NR	
Location⁴: LAB		Procedura⁶: semi-STAT	
Medium⁶: acqua di mare		Durata: 28 gg	
Esposizione⁷: acqua		Frequenza di applicazione⁸: NA	
N° di pesci utilizzati: 36 pesci totali → 6 pesci/conc. divisi in 2 repliche		Rinnovo delle soluzioni: ogni 48 h	Repliche: 2/conc.
N° di test: NR		Caratteristiche del medium	
T (°C)	pH	Salinità (‰)	O₂
16 ± 1	7,2±0,3	34	>60%
		Fotoperiodo (h)	
		16 h L: 8 h B	

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità percentuale	RISULTATI¹⁰ Una mortalità del 100% è riportata dopo 14 gg di esposizione all'effluente alle concentrazioni del 50% e del 100%.
STATISTICA¹³: vedi articolo originale	
COMMENTI: Il lavoro presenta altri risultati riguardanti altri biomarker che non sono riportati nella presente scheda.	

Autori: El-Sayed YS, Khalil RH, Saad TT.
Titolo: Acute toxicity of ochratoxin-A in marine water-reared sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.)
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Chemosphere</i> 2009 vol 75: 878-882
Abstract The toxic effect of ochratoxin-A (OTA) on sea bass was studied by an acute toxicity test (flow-through system). Acute oral 96 h median lethal concentration (LC ₅₀) value and behavioral changes of OTA were evaluated. The toxicity data were statistically evaluated using two methods: Finney's Probit Analysis and Behrens-Karber's. The 96 h LC ₅₀ value was found to be 277 µg/kg bwt (Finney's Probit) and 285 µg/kg bwt (Behrens-Karber). The two methods are in good accordance. The behavioral changes of sea bass were primarily observed as nervous and respiratory manifestations. In conclusion, sea bass is a species highly sensitive to OTA making them a useful experimental model for aquatic mycotoxigenic problems.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Ocratossina-A (OTA) (Micotossina, prodotta come metabolite secondario da <i>Aspergillus ochraceus</i>)	
Numero CAS: NA	Produttore: Sigma Chemical Co., USA
Concentrazioni: 50-100-150-200-250-300-350-400 µg/Kg bwt	

VEICOLO¹	
Nome: olio di semi di mais	
Numero CAS: NR	Concentrazioni: 0,05 mg di OTA per 0,5 ml di olio di semi di mais

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: allevamento privato nel governatorato di Al-Behera	
Stadio vitale: Adulti	Età: NR
Lunghezza (cm): NR	Peso (g): 40 ± 2

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: NR		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: FC		
Medium⁵: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)		Durata: 96 h		
Esposizione⁷: orale		Frequenza di applicazione⁸: NA		
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.		Repliche: no		N° di test: 1
Caratteristiche del medium				
T (°C)	pH	Salinità (‰)	O₂	Fotoperiodo (h)
22,3 ± 1,8	8,2	38	75%	Naturale

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰	
	Mortalità del 100% dopo 96 h	400 µg/Kg bwt
	LC50-96 h (IC95%) ^a	277 (244,4- 310,7) µg/Kg bwt
	LC50-96 h ^b	285 µg/Kg bwt
STATISTICA¹³: ^a Finney's Probit Analysis (EPA 1999); ^b Behrens-Karber's method (Klassen, 1991)		

Autori: El-Sayed YS, Khalil RH.
Titolo: Toxicity, biochemical effects and residue of aflatoxin B1 in marine water-reared sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.)
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Food and Chemical Toxicology</i> 2009 vol 47: 1606-1609
Abstract The present study was undertaken to assess the susceptibility and toxicity of Aflatoxin B1 (AFB1) to sea bass by behavioral and biochemical evaluations. The estimated oral acute median lethal concentration (96 h LC ₅₀) of AFB1 was 0,18 mg/kg bwt. Abnormal behavioral responses and signs of toxicity were assessed. The prolonged oral administration of 0.018 mg/Kg bwt AFB1 to sea bass for 42 successive days induced a significant increase in serum transaminases and alkaline phosphatase activities and significant decrease in plasma proteins.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Aflatossina B1 (AFB1)	
Numero CAS: NA	Produttore: Sigma Chemical Co., USA
Concentrazioni: 0,05-0,10-0,15-0,20-0,25-0,30-0,35-0,40 mg/Kg bwt	

VEICOLO¹	
Nome: olio di semi di mais	
Numero CAS: NR	Concentrazioni: 0,05 mg di OTA per 0,5 ml di olio di semi di mais

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: allevamento privato nel governatorato di Al-Behera	
Stadio vitale: Adulti	Età: NR
Lunghezza (cm): NR	Peso (g): 40 ± 2

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: NR		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: FC		
Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)				
Esposizione⁷: orale		Durata: 96 h Frequenza di applicazione⁸: NA Rinnovo delle soluzioni: NA		
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.		Repliche: no	N° di test: 1	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 22,3 ± 1,8	pH 8,2	Salinità (‰) 38	O₂ 75%	Fotoperiodo (h) Naturale

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰		
	LC50-96 h (IC95%)^a		0.18 (0.143-0.205) µg/Kg bwt
STATISTICA¹³: ^a Finney's Probit Analysis (EPA 1999)			

Autori: Faimali M, Giussani V, Piazza V, Garaventa F, Corrà C, Asnaghi V, Privitera D, Gallus L, Cattaneo-Vietti R.
Titolo: Toxic effects of harmful benthic dinoflagellate <i>Ostreopsis ovata</i> on invertebrate and vertebrate marine organisms
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Marine Environmental Research</i> (2012) 76: 97-107
Abstract In order to improve the knowledge about the direct toxicity of benthic microalga <i>Ostreopsis ovata</i> on invertebrate and vertebrate marine organisms, an ecotoxicological screening on crustaceans and fish was performed. The toxic effects of different concentrations of <i>O. ovata</i> cultivated in laboratory was investigated on <i>Artemia salina</i> , <i>Tigriopus fulvus</i> , <i>Amphibalanus Amphitrite</i> and juveniles of the sea bass <i>Dicentrarchus labrax</i> . A crossed design was used: testing two different temperatures (20 and 25°C), four different cell concentrations and four treatments. The results indicate that the toxicity of cultured microalgae is related to the presence of living <i>O. ovata</i> cells, and that this effect is amplified by temperature. Crustacean <i>A. salina</i> is resulted the most sensitive specie event at concentrations below the Environmental Alarm Threshold set by the Italian Ministry of Health.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: <i>Cellule di Ostreopsis ovata</i>	
Numero CAS: NA	Produttore: NR
Concentrazioni: 4000 – 400 – 40 – 4 cell/mL (and four different treatments)	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: allevamento privato nel governatorato di Al-Behera	
Stadio vitale: larve e giovanili	Età: 30-60 gg
Lunghezza (cm): NR	Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : OECD TG n° 203		
Location⁴: LAB		Procedura ⁶ : semi-STAT		
Medium⁶: acqua di mare naturale filtrata		Durata: 96 h		
Esposizione⁷: acqua		Frequenza di applicazione ⁸ : NA		
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.		Repliche: no		N° di test: 1
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 1	pH NR	Salinità (‰) 37	O₂ NR	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰	
	LC _{50-96h} (IC 95%) cellule di <i>O.ovata</i> /mL	540,71 (496,74 – 588,57)
STATISTICA¹³: Trimmed-Spearman-Karber analysis (Finney, 1978)		

Autori: Gelli F, Cicero AM, Melotti P, Roncarati A, Pregolato L, Savorelli F, Palazzi D, Mariani L, Casazza G.
Titolo: A proposal of method to evaluate the quality of marine waters: optimization of 7 days bioassays using <i>Dicentrarchus labrax</i> (L.) juveniles
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Chemistry and Ecology</i> 2004
Abstract European sea bass juveniles were exposed to cadmium chloride (CdCl ₂ ·2,5 H ₂ O) as reference toxicant. The effects were evaluated on the survival rates of the fish throughout 7 days. The LC ₅₀ after 24 h and 7 days of exposure were: 6,17 (5,44-6,99) mg/L Cd ²⁺ and 3,43 (2,87 - 4,07) Cd ²⁺ , respectively. We propose the 7 days method to be used for estimating the chronic toxicity of marine waters. The high availability of sea bass at every stage of the life cycle, gives the opportunity to employ it as test organism for defining the environmental quality standards.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Cloruro di cadmio emipentaidrato (CdCl₂·2,5 H₂O)	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: 25,1-12,6- 6,31-3,16-1,58 mg/L Cd²⁺	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: NR	
Stadio vitale: giovani	Età: NR
Lunghezza (cm): 2,43±0,05 cm	Peso (g): 0,12±0,02 g

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta e a lungo termine		Metodo di riferimento ³ : NR	
Location ⁴ : LAB		Procedura ⁶ : semi-STAT	
Medium ⁶ : acqua di mare artificiale (Instant Ocean)		Durata: 24 h , 96 h e 7 gg	
Esposizione ⁷ : acqua		Frequenza di applicazione ⁸ : NA	
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.		Rinnovo delle soluzioni: ogni 24 h	
Caratteristiche del <i>medium</i>		Repliche: 3	N° di test: NR
T (°C)	pH	Salinità (‰)	O ₂
20 ± 1	7,8-8,5	30 ± 2	>60%
		Fotoperiodo (h)	
		16 hL : 8 h B	

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰	
	LC ₅₀ -24 h (IC 95%) mg/L	6,17 (5,44-6,99)
	LC ₅₀ -96 h (IC 95%) mg/L	3,94 (3,30-4,07)
	LC ₅₀ -7gg (IC 95%) mg/L	3,43 (2,87-4,07)
STATISTICA¹³: Software USEPA Toxstat (Probit and Trimmed-Spearman-Karber)		

Autori: Gelli F, Savorelli F, Floris B, Roncarati A, Pregnolato L, Trentini PL, Pantaleoni L, Conti D, Bellaria V.
Titolo: Impiego del branzino (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.) quale organismo bersaglio in test ecotossicologici e di bioconcentrazione
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Biologia Marina Mediterranea</i> 2005 vol 12: 684-687
Abstract: Different stages of <i>D. labrax</i> L. juveniles (6 ± 2 cm total length) were exposed to sodium lauryl sulphate (SLS) in 96 h short term and 28-day prolonged toxicity tests and to cadmium chloride (CC) in bioconcentration test. SLS LC ₅₀ -96 h and NOEC-28d were $7,28 \pm 0,47$ mg/L and 5 mg/L, respectively. The data obtained by exposure of the sea bass to different concentration of CC in 14-d bioconcentration assay showed increasing of the Bioconcentration Factor (BCF).

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Sodio Lauril Solfato (o Sodio dodecil solfato) e Cloruro di cadmio emipentaidrato ($\text{CdCl}_2 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$)	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: SLS: concentrazioni non riportate; $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O} = 100$ and $0,019 \mu\text{g/L}$	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: NR	
Stadio vitale: giovanili	Età: NR
Lunghezza (cm): $5,75 \pm 0,2$	Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST ² : tossicità acuta e prolungata e bioaccumulo	Metodo di riferimento ³ : Acute Toxicity: USEPA, 1993; Prolonged Toxicity : OECD n° 204			
Location ⁴ : LAB	Procedura ⁶ : semi-STAT			
Medium ⁶ : acqua di mare artificiale (Instant Ocean)				
Esposizione ⁷ : acqua	Durata: 96 h e 28 gg Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: NR			
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.	Repliche: 3		N° di test: NR	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 1	pH NR	Salinità (‰) 20 ± 1	O ₂ NR	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI ⁹ : Mortalità e potenziale di bioconcentrazione	RISULTATI ¹⁰ SLS → LC ₅₀ -96h = $7,28 \pm 0,47$ mg/L SLS → NOEC 28d = 5 mg/L $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$ 100 $\mu\text{g/L}$ → BCF-7gg = 1,70; BCF-14gg = 3,10 $\text{CdCl}_2 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$ 0,019 $\mu\text{g/L}$ → BCF-7gg = 352,6; BCF-14gg = 1579
STATISTICA ¹³ : NR	

Autori: ICRAM Taxa (autori vari)
Titolo: Programma di ricerca TAXA: Sperimentazione di test tossicologici su organismi marini, ai fini dell'applicabilità del DD 23.12.2002
Rivista/Anno/vol/pag: ICRAM Relazione finale/ Aprile 2005
Abstract <i>Dicentrarchus labrax</i> L. è una specie della batteria di test prevista dalla Legislazione italiana per una valutazione tossicologica dell'ambiente acquatico nel caso dell'uso dei prodotti disperdenti secondo il DD 23.12.2002. Nel presente studio (svolto in 3 fasi) è stata stimata la tossicità acuta e cronica dei disperdenti Safety Sea Cleaner 2 (SSC2), Finasol (ORS2) e Biosol (BIO) e del tossico di riferimento Sodio Dodecil Solfato (SDS). Come protocolli di riferimento sono state usate linee guida OECD n. 203 e n. 204. I test sono stati condotti da diversi laboratori italiani.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME			
Nome: disperdenti: Safety Sea Cleaner 2 (SSC2), Finasol OSR 2 (OSR2), Bioversal (BIO)			
Numero CAS: NR	Produttore: NR		
Concentrazioni:			
Tossicità acuta:	SSC 2	48 h	10,0 – 5,0 – 2,5 – 1,25 mg/L
		96 h	100 – 50,10 – 22,40 - 10 mg/l
	OSR 2	96 h	2240 – 1780 – 1580 – 1260 - 1000 mg/l
Tossicità prolungata	BIO	96 h	1000 – 100 – 10 – 1 – 0,1 mg/l
	SSC 2	9 gg	80 – 40 – 20 – 10 – 5 mg/l
		14 gg	25,0 – 12,5 – 6,25 – 3,12 – 1 mg/l
		28 gg	31,60 – 15,80 – 7,94 – 3,98 mg/l
	OSR 2	9 gg	1780 – 1580 – 1260 - 1000 mg/l
	BIO	9 gg	800 – 400 – 200 – 100 – 50 mg/l
SOSTANZA DI RIFERIMENTO			
Nome: Sodio dodecil solfato (SDS)			
Numero CAS: NR	Produttore: NR		
Concentrazioni: 1,25 – 2,5 – 5,0 – 10,0 -20 mg/L;			

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: Allevamento Ca' Zuliani (Rovigo, Italia)	
Stadio vitale: giovanili	Età: 50-60 gg
Lunghezza (cm): SSC2: acuto 4,20± 0,3; prolungato 4,39 ± 0,4 e 3,0 ± 0,5. OSR2: acuto 6,32 ± 0,4; prolungato 6,40 ± 0,3. SDS: lotto 1) 4,04± 0,3; lotto 2) 5,35±0,2; lotto 3) 6,70±0,2; lotto 4) 7,84±0,3	Peso (g): SSC2: acuto 0,60 ± 0,1; prolungato 0,67 ± 0,1. OSR2: acuto 2,07 ± 0,3; prolungato 2,09 ± 0,3. SDS: lotto 1) 0,53± 0,1; lotto 2) 1,37±0,1; lotto 3) 2,95±0,1; lotto 4) 4,77±0,2

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta e prolungata		Metodo di riferimento³: OECD TG n° 203 e 204		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: SDS, SSC2 e OSR2: semi-STAT		
Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)		Durata: acuto: 48 e 96 h; prolungato 9, 14 e 28 gg		
Esposizione⁷: acqua		Frequenza di applicazione⁸: NA		
		Rinnovo delle soluzioni: ogni 48 h		
N° di pesci utilizzati: 5-10 pesci/conc.		Repliche: 3	N° di test: NR	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 1	pH 7,5-8,5	Salinità (‰) 20 ± 0,5	O₂ 70-100%	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

<u>EFFETTI MISURATI</u> ⁹ : Mortalità	<u>RISULTATI</u> ¹⁰			
Endpoint	SDS mg/l	SSC2 mg/l	OSR2 mg/l	BIO mg/l
LC50-96h (±SD) Valore medio (4 lotti di pesci, 1 lab)	7,33±0,53	-	-	-
LC50-96h (±SD) Valore medio (4 lab.)	7,07	-	-	-
NOEC 28 gg	5 ± 0,0	-	-	-
LC50-96h (±SD) Valore medio (3 exp.)	-	30,8 ±0,45	1954,7±6,49	-
NOEC 14 d (1 lab)	-	15,80	1260±0,0	-
NOEC 14 d (4 lab.)	-	6,25	-	-
NOEC 9 d	-	20	-	-
LOEC 9 d	-	40	-	-
NOEC 9 d	-	-	-	100
LOEC 9 d	-	-	-	200

STATISTICA¹³: software USEPA “ToxStat”: acuto - test Spearman - Karber (TSK), Probit; cronico – NOEC (Dunnett’s test)

Autori: Lemarié G, Dosdat A, Covès D, G. Dutto, E. Gasset, J. Person-Le Ruyet
Titolo: Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (<i>Dicentrarchus labrax</i>) juveniles
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Aquaculture</i> 229 (2004) 479-491
Abstract Chronic effects of ammonia were studied in juvenile seabass, <i>Dicentrarchus labrax</i> (mean weight = 11 g), exposed for 63 days to eight stable ammonia concentrations, ranging from 0.24 to 0.90 mg L ⁻¹ unionised ammonia nitrogen (UIA-N), respectively, from 6.1 to 22.3 mg L ⁻¹ total ammonia nitrogen (TA-N). Temperature (21.8 °C), pH (8.0), salinity (37.0 ppt), and oxygen concentration (over 80 % saturation at the outlet) were maintained constant. Fish were fed using a self-feeder device, and they were starved during the last 8 days. Mortality of 28.9 and 42.6% occurred within the first 8 days at the two highest UIA-N concentrations, respectively, 0.90 and 0.88 mg L ⁻¹ . From days 0 to 55, a 1.8-fold increase in weight gain was observed under the 0.90- mg L ⁻¹ UIA-N condition, compared to a 3.4-fold increase in the control. By the end of the experiment, plasma ammonia level were positively related to ambient ammonia concentrations, and oxygen consumption recorded in fasting fish was significantly dependent on ammonia concentrations. In seabass juveniles, the 0.26- mg L ⁻¹ UIA-N, concentration, under an average pH of 8.0, can be considered as a safe long-term limit conditions in seawater.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Cloruro di ammonio (NH₄Cl) sia come NH ₃ (UIA-N) che come somma di NH ₃ e NH ₄ ⁺ -N (TA-N)	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: UIA-N: da 0,24 a 0,90 mg L⁻¹; TA-N: da 6,1 a 22,3 mg L⁻¹	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: NR	
Stadio vitale: giovanili	Età: NR
Lunghezza (cm):	Peso (g): 11 (in media)

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: test di crescita		Metodo di riferimento³: NR		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: FC		
Medium⁶: NR				
Esposizione⁷: acqua di mare naturale, filtrata, sterilizzata con UV, privata dei gas e suddivisa in taniche mediante gravità.		Durata: 63 gg Frequenza di applicazione⁸: NA Rinnovo delle soluzioni: NR		
N° di pesci utilizzati: 230 pesci/conc.		Repliche: NO	N° di test: NR	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 21,8	pH 8,0	Salinità (‰) 37	O₂ >80%	Fotoperiodo (h) 16 h L: 8 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: 1) Mortalità; 2) riduzione della crescita	RISULTATI¹⁰	
	LC₅₀-8gg	UIA-N > 0,9 mg/L TA-N > 22,3 mg/L
	EC₅₀ - 55 gg	UIA-N 0,9 mg/L TA-N 22 mg/L
STATISTICA¹³: I dati sulla crescita sono stati elaborati mediante regressione lineare; i coefficienti di regressione sono stati comparati mediante t-Test Student. Le differenze fra i trattamenti sono state valutate mediante ANOVA.		
COMMENTI: Gli altri risultati sui biomarker comportamentali (nuoto) non sono riportati nella presente scheda.		

Autori: Mariani L., L. Manfra, C. Maggi, F. Savorelli, R. Di Mento, A.M. Cicero
Titolo: Produced formation waters: a preliminary study on chemical characterization and acute toxicity by using fish larvae (<i>Dicentrarchus labrax</i> L. 1758)
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Fresenius Environmental Bulletin</i> /2004/13/1427-1432
Abstract This paper illustrates a preliminary toxicological assessment of the produced formation waters (PFW) including analytical determinations and acute toxicity bioassay by using the European sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.1758) fish larvae. To accomplish this goal, PFW samples were collected from an off-shore gas platform located in the Central Adriatic Sea (Italy) and characterized by chemical analysis. The chemical characterization, concerning inorganic and organic compounds, was carried out using filtered (0,45µm Millipore filters) and non-filtered PFW samples, but also the PFW solid fraction. The inorganic elements (Fe, Cu, Ni, Mn, Pb, Zn, Cd, Hg) were found to be linked only to the solid fraction. The aromatic hydrocarbons (C< 12) and phenols, which are petroleum volatile fractions, were absent in all the matrices analysed. The toxicological bioassay was performed by using 30 days old fish larvae. The test results, expressed as PFW LC ₅₀ 24h (lethal dilution percentage), were 18,1 % for filtered and 17,7 % for unfiltered samples. Nevertheless, during the first five hours of acute test phase the response time to PFW toxicity of larvae resulted to be shorter in unfiltered samples than in filtered ones. This observed response might be related to chemical compounds linked to the solid PFW fraction or, more simply, to the ingestion and absorption of particulate matter by test organisms.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Produced Formation Waters – PFW	
Numero CAS: NR	Produttore: Piattaforma del mare Adriatico centrale (Italia)
Concentrazioni: PFW filtrate (0,45 µm): 100%-50,1 %- 25,1%- 12,6%- 6,3% PFW non filtrate: 100%- 50,1 %- 25,1%- 12,6%-6,3%	
SOSTANZA DI RIFERIMENTO	
Nome: Sodio lauril solfato, SLS (o sodio dodecil solfato, SDS); Solfato di rame penta idrato; Cloruro di cadmio emipentaidrato	
Numero CAS: NR	Concentrazioni: NR

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: Allevamento Nuova Azzurro (Civitavecchia-Roma)	
Stadio vitale: larve	Età: 30 gg dopo la schiusa
Lunghezza (cm): 0,86±0,09 (lunghezza totale)	Peso (g): 0,03±0,001

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST ² : tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : EPA/600/4-90/027F,1993. OECD n° 203, 1992 modificato		
Location ⁴ : LAB		Procedura ⁶ : STAT		
Medium ⁶ : acqua di mare artificiale (Instant Ocean)				
Esposizione ⁷ : acqua		Durata: 24 h Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: NA		
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.		Repliche: 3	N° di test: 3	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 1	pH 7,5±0,5	Salinità (‰) 30 ± 1	O₂ 75%±3%	Fotoperiodo (h) 16 h L: 8 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI ⁹ : Mortalità	RISULTATI ¹⁰		
		PFW filtrata	PFW non filtrata
	LC₅₀ 24 h (IC 95%)	18,1 (17,29 – 18,96) %	17,7 (12,6 – 25,1) %
	Tempo di risposta di tutte le larve esposte a PFW		
		100%	50%
	PFW filtrata	45 min	5 h
	PFW non filtrata	1,5 h	>5 h
STATISTICA ¹³ : TOxStat software package (Trimmed-Spearman-Karber method) e analisi Probit.			

Autori: Mariani L., De pascale D, Faraponova O, Tornambè A, Sarni A, Giuliani S, Ruggiero G, Onorati F, Magaletti E.

Titolo: The use of a test battery in marine ecotoxicology: the acute toxicity of sodium dodecyl sulfate

Rivista/Anno/vol/pag: *Environmental Toxicology*/2006/21/ 373-379

Abstract In the study a battery composed of *Vibrio fischeri* (Bacteria), *Dunaliella tertiolecta* (Algae), *Tigriopus fulvus* (Crustacea), *Paracentrotus lividus* (Echinodermata) and *Dicentrarchus labrax* (Pisces) was used for acute toxicity testing of sodium dodecyl sulphate (SDS). SDS is an anionic surfactant widely employed in industry, agriculture and domestic usage and is found in abundance in the environment, particularly in the sea. The mean values of EC₅₀ obtained were 2,6- 4,8-7,4- 3,2-7,3 mg/L for *V. Fischeri*, *D. Tertiolecta*, *T. Fulvus*, *P. Lividus* and *D. Labrax*, respectively. The results indicate the high acute toxicity of SDS with respect to all the trophic levels represented by the target species.

Sono riportati solo i risultati su *D. labrax*

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME

Nome: **Sodio dodecil solfato (SDS)**

Numero CAS: NR

Produttore: NR

Concentrazioni: **1,25- 2,5 – 5,0 – 10,0 - 20,0 mg/L**

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: *Dicentrarchus labrax* L. (European sea bass)

Allevamento di provenienza: allevamento di Tor Valdaliga (Civitavecchia-Rome)

Stadio vitale: giovanili

Età: NR

Lunghezza (cm): 5±1 (lunghezza totale)

Peso (g): 0,82±0,3

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: Acute Toxicity OECD TG n° 203		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: STAT		
Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)				
Esposizione⁷: acqua		Durata: 96 h Frequenza di applicazione⁸: NA Rinnovo delle soluzioni: NA		
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.		Repliche: 3		N° di test: 3
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 1	pH 7,5±0,5	Salinità (‰) 20 ± 1	O₂ 75%±3%	Fotoperiodo (h) 16 h L: 8 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰			
	LC₅₀-96 h (IC 95%) mg/L			M±ST
	test 1	test 2	test 3	
7,07 (5,0-10,0)	7,07 (5,0-10,0)	7,88 (7,10-8,19)	7,34±0,47	
STATISTICA¹³: TOxStat software package (Trimmed-Spearman-Karber method) e metodo grafico.				

Autori: Mariani L., A. Tornambè, E. Magaletti, F. Onorati, C. Virno Lamberti, A.M. Cicero
Titolo: The acute toxicity responses of <i>Dicentrarchus labrax</i> to diethylene glycol exposure: introductory remarks
Rivista/Anno/vol/pag: Poster for ISTA – International Symposium on Toxicity Assessment, Skiathos, Greece, June 12th- 17th 2005
Abstract Diethylene glycol (C ₄ H ₁₀ O ₃), is an organic compound, used in a variety of consumer and industrial applications. Due to its wide use, a not negligible amount of this compound is released into the environment and in particular into the sea. There is a lack of research data on toxicity of diethylene glycol in seawater. The aim of the present study is to evaluate the toxicity responses of a marine fish species to diethylene glycol exposure, in order to provide a contribution for the definition of the maximum allowable concentration of diethylene glycol in seawater. In general, the ecotoxicological evaluations using fish species mainly regard American species as indicated by EPA (U.S. EPA, 1993). In the present work, the European sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L., 1758) of different ages is chosen to test the acute toxicity.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Glicol dietilenico (C₄H₁₀O₃) (DEG)	
Numero CAS: 111-46-6	Produttore: NR
Concentrazioni: post larvae: 3,16 – 6,31 – 12,6 - 25,1 – 50,1 g/L; giovanili: 25-30-35-40-45-50 g/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: Impianto di acquacoltura <i>Nuova Azzurro</i> (Civitavecchia, Roma)	
Stadio vitale: post-larve e giovanili	Età: 25-35-45 gg and 80 gg
Lunghezza (cm): giovanili 80 gg = 4±1	Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : US EPA, 1993 modificato (Cicero, 2003); OECD n° 203, 1992		
Location⁴: LAB		Procedura ⁶ : STAT		
Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)				
Esposizione⁷: acqua		Durata: 24 e 96 h Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: NA		
N° di pesci utilizzati: pesci di 25-35-45 gg: 10/camera di saggio; pesci di 80 gg: 5/camera di saggio		Repliche: 3	N° di test: NR	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 2	pH 7,0±0,5	Salinità (‰) post larve: 30 ± 1 giovanili: 20 ± 1	O₂ NR	Fotoperiodo (h) 16 h L: 8 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰		
		EC₅₀-24 h	EC₅₀ 96 h
	Post larve	from 22,12 to 30,09 g/L	from 4,11 to 8,49 g/L
	Giovanili	> 40 g/L	> 40 g/L
STATISTICA¹³: NR			

Autori: Mariani L., Savorelli F., Bellaria V., Cadoni F., Cigfar M., De Luca Picione F., Di Lorenzo B., Francesa M., Giacco E., Manzo S., Martone C., Masullo P., Modugno S., Palazzi D., Pane L., Sansone G.
Titolo: Impiego del branzino (<i>Dicentrarchus labrax</i> , L. 1758) in esercizi di interconfronto. Sperimentazione per la validazione e normazione della metodica di test tossicologici acuti con specie ittiche marine mediterranee.
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Biologia Marina Mediterranea</i> /2007/14, 1/ 73-77
Abstract Non viene riportato

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Sodio dodecil solfato (SDS)	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: 6,31 - 3,98 - 2,51 - 1,58 - 1,00 mg/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: allevamento di Tor Valdaliga (Civitavecchia-Rome)	
Stadio vitale: giovanili	Età: 50 gg
Lunghezza (cm): 1,21±0.14	Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : OECD TG n° 203; interlaboratory comparisons: ISO/IEC 43-2:1997; ILAC-G13:2000		
Location⁴: LAB		Procedura ⁶ : STAT senza areazione		
Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)		Durata: 24 h e 48 h		
Esposizione⁷: acqua		Frequenza di applicazione ⁸ : NA		
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.		Repliche: 3		N° di test: 7 laboratori
Caratteristiche del medium				
T (°C) 21 ± 2	pH NR	Salinità (‰) 30 ± 1	O₂ NR	Fotoperiodo (h) 16 h L: 8 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰		
		24 h	48 h
	LC₅₀ ±ST (mg/L)*	2,93 ± 0,52	0,90 ± 0,50
	CV** (variabilità inter-laboratorio)	2,2 - 13,0 %;	2,7 - 9,7 %
*I valori di LC50 sono valori medi ottenuti su 7 laboratori; **Il limite di riferimento per il CV è 20%			
STATISTICA¹³: Per il calcolo della LC ₅₀ : TOxStat software package (Trimmed-Spearman-Karber method). Variabilità inter-laboratorio (CV%) con Z-score 95% ($\alpha/2=0,025$) (ISO/DIS 13528:2002 (E)) and Grubbs test (ISO 5725-2:1994) e outliers con test di Cochran (ISO 5725-2:1994).			

Autori: Mariani L., F. Savorelli, V. Bellaria, F. Cadoni, M. Cigar, F. De Luca Picione, B. Di Lorenzo, M. Francese, E. Giacco, S. Manzo, C. Martone, P. Masullo, S. Modugno, D. Palazzi, L. Pane, G. Sansone

Titolo: Standardizzazione di un protocollo per saggi di tossicità acuta con larve di spigola (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) : 2° esercizio di interconfronto

Rivista/Anno/vol/pag: *Biologia Marina Mediterranea*/2009/14, 2/ 24-30

Abstract In order to verify the intra- and interlaboratory variability of the test, 7 laboratories conducted 48 h acute bioassays exposing 50 days old seabasses (*Dicentrarchus labrax*, L. 1758) (Teleostei: Serranidae) (L.S. 12,11±1,44 mm) to the toxicant sodium dodecyl sulfate. The average LC₅₀ 48 h was 2,90±0,50 mg/L. Statistical analyses showed no significant differences in the data produced by most of the laboratories

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME

Nome: **Sodio dodecil solfato (SDS)**

Numero CAS: NR

Produttore: NR

Concentrazioni: **6,31 - 3,98 - 2,51 - 1,58 - 1,00 mg/L**

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: *Dicentrarchus labrax* L. (European sea bass)

Allevamento di provenienza: allevamento di Tor Valdaliga (Civitavecchia-Rome)

Stadio vitale: giovanili

Età: 70 gg

Lunghezza (cm): 1,731±0,154

Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta	Metodo di riferimento ³ : Acute Toxicity OECD TG n° 203			
Location⁴: LAB	Procedura ⁶ : STAT senza areazione			
Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)				
Esposizione⁷: acqua	Durata: 24 e 48 h Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: NA			
N° di pesci utilizzati: 10 pesci/conc.	Repliche: 3		N° di test: 5 lab. Ogni lab 2 test	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 21 ± 2	pH NR	Salinità (‰) 30 ± 1	O₂ NR	Fotoperiodo (h) 16 h L: 8 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰		
		24 h	48 h
	LC₅₀ ±ST (mg/L)	3,98 ± 0,99	3,87 ± 1,03
	CV (variabilità inter-laboratorio)	< 20%	< 20%
STATISTICA¹³: TOxStat software package (Trimmed-Spearman-Karber method) e metodo grafico.			

Autori Manfra L., Tornambè A., Savorelli F., Rotini A., Canepa S., Mannozi M., Cicero AM.

Titolo Ecotoxicity of diethylene glycol and risk assessment for marine environment

Rivista/Anno/Vol/pag Journal of Hazardous Materials/2015/284/130-135

Abstract The aim of this study was to evaluate long-term toxic effects of Diethylene glycol (DEG) on indicator species of the marine environment as algae (*Phaeodactylum tricorutum*), crustaceans (*Artemia franciscana*), mollusks (*Tapes philippinarum*) and fish (*Dicentrarchus labrax*). A range of No Observed effect concentrations (365-25,000 mg/L) has been identified. Based on the toxicity results and the ratio between Predicted Environmental Concentration (PEC) and Predicted No-Effect Concentration (PNEC), the authors estimated the Maximum Allowable Concentration (MAC) of DEG in the marine environment.

Nella scheda sono riportati solo i dati relativi al branzino *D. labrax*

SOSTANZE¹

SOSTANZA IN ESAME

Nome: **Diethylene glycol (DEG)**

Numero CAS: **111-46-6** | Produttore: **Carl Roth GmbH, Germany**

Concentrazioni: 1° test: **3,16-4,47-6,31-8,91 g/L**
2° test: **2,51-3,55-5,01 -7,08 g/L**

SUBSTRATO BIOLOGICO

NOME DELLA SPECIE: *Dicentrarchus labrax* L. (European seabass)

Allevamento di provenienza: "Agroittica Calderoli" (Lesina – Puglia – Italia)

Stadio vitale: **giovanili**

Età: **80 gg**

Lunghezza (cm): **4,00±0,24**

Peso (g): **0,65±0,15**

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: LONG-TERM TOXICITY		Metodo di riferimento³: OECD TG 215			
Location⁴: LAB		Procedura⁵: semi-STAT			
Medium⁶: acqua di mare sintetica (Instant Ocean)					
Esposizione⁷: acqua		Durata del test: 28 gg Frequenza di applicazione⁸: NA			
N° di pesci utilizzati: 5/replica/concentrazione/controllo		Repliche: 3			
Caratteristiche del medium					
T 20±1	pH NR	Durezza NA	Salinità (‰) 20±1	O₂: NR	Fotoperiodo 14L:10D

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹ CRESCITA	Risultati¹⁰:				
		1° test	2° test	media	
	NOEC 28 gg mg/L	6310	5010	5660	
	DEG	Dati di tossicità	FA	PNEC mg/L	MAC mg/L
	Rilascio costante o frequente	TA	1000	5,9	5,9
		TLT	100	56,6	
	Rilasci intermittenti	TLT	50	7,3	59
		TA	100	59,0	
	<small>Note: FA: Fattore di valutazione; TA: dati di tossicità acuta; TLT: dati di tossicità a lungo termine. Per i dati di tossicità presi in considerazione si veda il lavoro originale.</small>				
	Procedura statistica: ANOVA e Test di Dunnett (USEPA ToxStat software, version 1.5) per la stima della NOEC. Il tasso di crescita (r) è stato calcolato come segue: $r_{28} = \ln W_{28} - \ln W_1 / (t_{28} - t_1) \times 100$; dove W corrisponde al peso degli organismi alla fine (t_{28}) e all'inizio del test t_1.				

COMMENTI: Non viene rilevata una tossicità a lungo termine con DEG nè con il branzino, nè con le altre specie testate. La scala di sensibilità è la seguente: *T. philippinarum* (crescita) > *D. labrax* (crescita) > *P. tricorutum* (crescita) > *T. philippinarum* (mortalità) > *A. franciscana* (mortalità) e l'endpoint della crescita risulta più sensibile della valutazione della mortalità

Autori: Manfra L., Maggi C., Bianchi J., Mannozi M., Faraponova O., Mariani L., Onorati F., Tornambè A., Virno Lamberti C., E. Magaletti

Titolo: Toxicity evaluation of produced formation waters after filtration treatment

Rivista/Anno/vol/pag: *Natural Science*/2010/2, 1/33-40

Abstract The aim of the study was to assess the toxicity of Produced Formation Waters (PFWs) - obtained from 3 natural gas platforms located in the Adriatic Sea (Italy) - after a further filtration treatment carried out in laboratory. The ecotoxicological bioassays have been conducted on test organisms belonging to different trophic levels such as bacteria (*Vibrio fischeri*), algae (*Dunaliella tertiolecta*), crustacean (*Tigriopus fulvus*) and fishes (*Dicentrarchus labrax*). The PFWs resulted toxic. The species more sensitive to the tested PFWs were *Tigriopus fulvus*, *Dicentrarchus labrax* and *Vibrio fischeri*. A chemical characterization related to the contaminants present in the PFWs was performed. Barium, zinc and manganese showed the most concentrations among the metals and the lower molecular weight components were common among the organic compounds. The highest toxicity was recorded in PFWs (PFW₁ and PFW₂) containing the highest concentrations of some metals (Ba, Mn and Zn) and/or BTEX.

SOSTANZE¹

SOSTANZA IN ESAME

Nome: **3 Produced Formation Waters – PFW immediatamente filtrate**

Numero CAS: NR

Produttore: **Piattaforma del mare Adriatico centrale (Italia)**

Concentrazioni: **6-12-25-50-100 %**

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: *Dicentrarchus labrax* L. (European sea bass)

Allevamento di provenienza: impianto di allevamento ASA, Roma

Stadio vitale: giovanili

Età: 80 gg

Lunghezza (cm): 3,74±0,28

Peso (g): 0,48±0,08

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta	Metodo di riferimento ³ : EPA/600/4-90/027F,1993. OECD n° 203, 1992			
Location⁴: LAB	Procedura ⁵ : STAT			
Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)				
Esposizione⁷: acqua	Durata: 96 h Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: NA			
N° di pesci utilizzati: 5 pesci/conc./replica	Repliche: 3		N° di test: 3	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 1	pH 7,5±0,5	Salinità (‰) 20 ± 1	O₂ NR	Fotoperiodo (h) 16 h L: 8 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰			
		PFW1	PFW2	PFW3
	EC₅₀-96 h (IC 95%)	32 % (27-39)	15% (-)	47 % (-)
	EC₁₅- 96 h (IC 95%)	23 % (15 – 28)	11% (-)	15 % (-)
	NOEC 96 h	13 %	6 %	6 %
Valutazione di tossicità	Tossico	Tossico	Tossico	
STATISTICA¹³: Analisi Probit e test di Dunnett.				

Autori: Marsic-Lucic' J., Mladineo I., and Tudor M.
Titolo: Comparative effectiveness of 2-phenoxyethanol and Propiscin as anesthetics for juvenile sea bass <i>Dicentrarchus labrax</i> L.
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Aquaculture International</i> /2015/13/543-553
Abstract The comparative effectiveness of 2-phenoxyethanol and Propiscin as anesthetics were studied on juvenile sea bass. Both anesthetics showed low toxicity and good hypnotic characteristics, however median survival times at the same concentration of both anesthetics differed. Propiscin showed much lower LT ₅₀ than 2-phenoxyethanol, pointing towards its elevated toxicity in juvenile sea bass, even the same concentrations of Propiscin induced slower anesthesia than 2-phenoxyethanol. The most suitable Propiscin concentration for anesthesia was 0,56 ml/L, while the most suitable concentration of 2-phenoxyethanol was 0,32 ml/L for juvenile sea bass. Mortalities after 96 h were induced with Propiscin at lower concentrations than of 2-phenoxyethanol, resulting in the conclusion that the 2-phenoxyethanol is a safer anesthetic for use with juvenile sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i> L.).

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: 2 fenossietanolo (2-PE) e Propiscina (Pr)	
Numero CAS: NR	Produttore: 2-PE: Merck; Pr: IRS, Polonia)
Concentrazioni: 2-PE: 0,032-0,056-0,10-0,18-0,24-0,28-0,32-0,56-1,0 mL/L	
Pr: 0,032-0,056-0,10-0,18-0,32-0,56-1,0 mL/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: NR	
Stadio vitale: larve	Età: NR
Lunghezza (cm): NR	Peso (g): 2PE: 0,86±0,1; Pr: 0,79±0,09

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST ² : tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : UNEP Manual for testing of the acute lethal toxicity of pollutants to marine fish and invertebrates (1989)		
Location ⁴ : LAB		Procedura ⁶ : NR		
Medium ⁶ : acqua di mare		Durata: 120 h Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: NA		
Esposizione ⁷ : acqua				
N° di pesci utilizzati: NR		Repliche: NR	N° di test: NR	
Caratteristiche del medium				
T (°C)	pH	Salinità (%)	O ₂	Fotoperiodo (h)
2PE: 18,5±0,9 Pr: 18,4±1,1	2PE: 8,12±0,03 Pr: 8,1±0,02	2PE: 36,6 ±0,9 Pr: 37,1±0,9	NR	12 L: 12 B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI ⁹ : Mortalità (M)	RISULTATI ¹⁰		
		2-PE (mL/L)	Pr (mL/L)
	M 0%	96 h: 0,032 e 0,056	-
M 100%	96 h: >0,32	48 h: 0,18 e 0,1 60 h: 0,056 e 0,032	
STATISTICA ¹³ : NR			

COMMENTI: Il 2-PE risulta un anestetico più sicuro ed efficiente della Pr su larve di branzino. In termini di tossicità, la mortalità, a parità di tempo di esposizione, è indotta con la Pr a concentrazioni più basse rispetto al 2-PE.

Autori: Palazzi D, Altavilla E, Ferioli A, Gelli F, Savorelli F, Trentini PL.
Titolo: Una batteria di organismi test per la caratterizzazione ecotossicologica dei sedimenti oggetto di movimentazione del porto di Ravenna. <i>An ecotoxicological battery tests for the characterisation of sediments to be dredged in Ravenna harbour</i>
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Biologia Marina Mediterranea (2009) 14: 52-56</i>
Abstract The main objective was to evaluate the ecotoxicity of sediments to be dredged in Ravenna (Italy) harbor and subjected to remediation treatments. This assessment was carried out by two different batteries of test organisms (freshwater and marine). Nine different species (<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> , <i>Phaeodactylum tricornutum</i> , <i>Brachionus calyciflorus</i> , <i>Brachionus plicatilis</i> , <i>Daphnia magna</i> , <i>Ceriodaphnia dubia</i> , <i>Artemia franciscana</i> , <i>Acartia tonsa</i> and larvae of <i>Dicentrarchus labrax</i>) have been exposed to eluates of sediment for different exposure time (acute and chronic toxicity test). The results showed that the battery of marine organism is applicable to classify the sediments according to Italian Legislation (D.Lgs 152/2006 art. 109). The battery of freshwater organisms was demonstrated to be suitable for the ecotoxicological evaluation of sediments designed for their reuse in agriculture.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Eluati di sedimenti marini	
Numero CAS: NA	Produttore: NR
Concentrazioni: NR	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: NR	
Stadio vitale: larve	Età: NR
Lunghezza (cm): NR	Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta e prolungata		Metodo di riferimento ³ : OECD TG n° 203, 1992		
Location ⁴ : LAB		Procedura ⁶ : NR		
Medium ⁶ : NR				
Esposizione ⁷ : acqua		Durata: 96 h e 28 gg Frequenza di applicazione ⁸ : NA Rinnovo delle soluzioni: NA		
N° di pesci utilizzati: NR		Repliche: NR	N° di test: NR	
Caratteristiche del medium				
T (°C) NR	pH NR	Salinità (‰) NR	O ₂ NR	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰ EC _{20-96h} = ≥ 90%; NOEC 28g = 100%
STATISTICA¹³: NR	

Autori: Piovani F.
Titolo: Messa a punto di metodi ecotossicologici.
Rivista/Anno/vol/pag: Tesi di stage APAT 2007
Abstract: Non presente

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Sodio dodecil solfato (SDS)	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: 2,5-4,0-5,0-6,0-7,5 mg/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: NR	
Stadio vitale: giovanili	Età: 60 gg
Lunghezza (cm): 3,1-4,0	Peso (g): 0,15-0,41

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST ² : tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : OECD TG n° 203, 1992		
<i>Location</i> ⁴ : LAB		Procedura ⁶ : semi-STAT		
<i>Medium</i> ⁶ : acqua di mare artificiale (Instant Ocean)		Durata: 96 h		
Esposizione ⁷ : acqua		Frequenza di applicazione ⁸ : NA		
N° di pesci utilizzati: 7/conc.		Repliche: 3		N° di test: 3
Caratteristiche del <i>medium</i>				
T (°C)	pH	Salinità (‰)	O ₂	Fotoperiodo (h)
20±1	NR	33	>60%	12 h L: 12 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI ⁹ : Mortalità	RISULTATI ¹⁰ EC ₅₀ -96h (IC 95%) = 5,13 (4,59- 5,34) mg/L * *media di 3 esperimenti indipendenti
STATISTICA ¹³ : Trimmed Spearman-Kärber (versione 1.5)	

Autori: Person-Le Ruyet J, Chartois H, Quemener L.
Titolo: Comparative acute ammonia toxicity in marine fish and plasma ammonia response
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Aquaculture</i> 1995, vol 136: 181-194
Abstract The first aim of this study was to determine the approximate lethal ammonia concentrations (UIA-N) and the period of acute lethal action in three marine fish species - seabass (<i>Dicentrarchus labrax</i>), seabream (<i>Sparus aurata</i>) and turbot (<i>Scophthalmus maximus</i>) – using short term toxicity test (6 - 96 h) with continuous-flow procedure. Median 6, 12, 24, 48, 72 and 96-h LC ₅₀ of UIA-N were calculated using a probit analysis. At the end of toxicity tests the effects of sublethal ammonia concentrations were evaluated in fish exposed for 4 days to different ammonia concentrations. The sensitivity to ammonia of seabass, seabream and turbot juveniles is compared and blood ammonia disturbance thresholds are discussed.

Sono presentati solo i risultati relativi a *D. labrax*

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Ammonio nelle forme di: NH₃ (UIA-N) e come NH₃ + NH₄⁺-N (TA-N)	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: UIA-N (mg/L): gruppo BA1: 1,18 - 4,60; gruppo BA2: 1,66 - 6,43; gruppo BA3: 1,0 - 4,48; gruppo BA4: 0,80 - 5,60; gruppo BA5: 0,52 - 4,04; gruppo BA6: 1,0 - 4,90	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: NR	
Stadio vitale: giovanili (6 gruppi da BA1 a BA6)	Età: NR
Lunghezza (cm): da 8,1±0,4 a 19,9±0,7*	Peso (g): da 5,9±0,7 a 92,6±8,3*

*Valori medi. Per i valori dei giovanili dei diversi gruppi vedi articolo

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: non specificato		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: FC		
Medium⁶: NR				
Esposizione⁷: acqua		Durata: 96 h		
		Frequenza di applicazione⁸: NA		
		Rinnovo delle soluzioni: NR		
N° di pesci utilizzati: 58 pesci totali divisi in 6 gruppi		Repliche: NO	N° di test: 5-6	
Caratteristiche del medium				
T (°C)	pH	Salinità (‰)	O₂	Fotoperiodo (h)
18	8,15	34,5	75-89%	NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: 1) Mortalità	RISULTATI¹⁰						
		6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	96 h
	LC₅₀*:	2,98	2,35	2,04	1,81	1,85	1,77
	mg/L	n= 6	n= 6	n= 6	n= 6	n= 5	n= 5
*media di 5-6 esperimenti indipendenti con pesci di diverse dimensioni. Per gli IC95% si veda articolo originale							
STATISTICA¹³: Analisi Probit							

Autori: Roche H, Bogé G, and Pérès G.
Titolo: Toxicity of colchicines towards a marine fish, <i>Dicentrarchus labrax</i>
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Comp. Biochem. Physiol.</i> 1993 vol 106C: 371-375
Abstract Hematology and blood biochemistry parameters were examined in order to determine the metabolic or endocrine disturbances caused by colchicines intoxication in sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>) aged 1+. The detection of non-lethal effects of colchicines requires the use of a broad concentration range (6,25-1020 mg/L). The 48h LC ₅₀ was 1020 mg/L a value which is close to that previously reported in the reference fresh water fish <i>Brachidanio rerio</i> . Exposure to 50 and 125 mg/L colchicines for 48 h resulted in 100% mortality one week after treatment. Colchicine involves the concomitant increase of packed cell volume and hemoglobin concentration in whole blood, in the concentration range of 12,5-1020 mg/L. The activity of erythrocyte antioxidant enzymes undergoes low amplitude variations after 48 h exposure to colchicines, regardless of concentration. Two days after recovery, decreased SOD, and increased catalase and peroxidase activities were shown.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Colchicine	
Numero CAS: NR	Produttore: Roussel UCLAF Society
Concentrazioni: 6,25 – 12,5 – 25 – 50 – 100 – 1020 mg/L	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: IFREMER (DEVA-Sud breeding facilities Palavas, Hérault, France)	
Stadio vitale: NR	Età: > 1 anno
Lunghezza (cm): 19,5 (lunghezza media)	Peso (g): 97 (peso medio)

*Valori medi. Per i valori individuali si veda articolo originale

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: NR		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: NR		
Medium⁶: acqua di mare naturale filtrata		Durata: 48 h		
Esposizione⁷: acqua.		Frequenza di applicazione⁸: NA		
N° di pesci utilizzati: 8-10/conc.		Repliche: NR		N° di test: NR
Caratteristiche del medium				
T (°C) 14 ±1 °C	pH NR	Salinità (‰) NR	O₂ NR	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: 1) Mortalità	RISULTATI¹⁰		
	LC_{10-48h}	LC_{50-48h}	LC_{90-48h}
		mg/L	
	838 (258-2715)+	1020 (371-2829)*	1254 (113-3861)*
*95% confidence limits			
STATISTICA¹³: Analisi Probit (Finney, 1981; AFNOR, 1985)			

Autori: Roncarati A, Gelli F, Melotti P, Palazzi D, Pregnolato L, Savorelli F, Cicero AM, Casazza G.

Titolo: Impiego del branzino (*Dicentrarchus labrax* L.) nello svolgimento di test ecotossicologici: effetti di un tossico di riferimento (sodio laurilsolfato) su diversi stadi vitali.

Use of European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) in ecotoxicological tests: effects of a standard reference toxicant (sodium laurylsulphate) on different phases of development.

Rivista/Anno/vol/pag: *Rivista Italiana di Acquacoltura* 2001a 36: 43-52

Abstract The Italian law D.Lgs 152/99 introduces the compulsoriness to carry out short-term and chronic toxicity tests using autochthonous euryhaline species in order to evaluate marine and coastal water quality together with chemical-physical data of the same area. To this purpose, European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) was used as test organism for short-term and chronic bioassays. Different stages of sea bass were exposed to the reference toxicant sodium laurylsulphate (SLS) in 24-h short-term and 28-days prolonged-term toxicity tests. At a concentration of 100 mg/L SLS was observed a 100% mortality in fish juveniles (0,84 and 3,4 g). The same effect was also observed at a concentration of 10 mg/L SLS in fish larvae (0,005 g), post-larvae (0,06 g) and eyed eggs. The SLS LC₅₀-24h decreased in relation to the body weight of the organisms tested. In particular, LC₅₀-24h values resulted the following: 10,72 and 9,85 mg/L in juveniles of 3,4 g and 0,84 g, 5,78 mg/L in postlarvae (0,06 g), 1,89 mg/L in larvae (0,005 g), < 1,12 mg/L in eyed eggs. In the 28-day prolonged toxicity test no mortality was observed and sea bass inside the prototype floating cage showed an increase of condition index (k= 0,90) (mean body weight = 4,73 g; mean length= 8,04 cm). The results obtained in the present study demonstrated that sea bass is a suitable marine species to be used for toxicity testing. In particular, 30- and 90-day-old sea bass larvae are more sensitive than juveniles and they have demonstrated to be easy to maintain under laboratory conditions. On the other hand, for tests with eyed eggs, a deeper knowledge about the technical aspects and exposure conditions is required.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME

Nome: Sodio dodecil solfato (SDS)

Numero CAS: NR

Produttore: NR

Concentrazioni: 6,31 - 3,98 - 2,51 - 1,58 - 1,00 mg/L

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: *Dicentrarchus labrax* L. (European sea bass)

Allevamento di provenienza: allevamento di Tor Valdaliga (Civitavecchia-Rome)

Stadio vitale: uova (EE), larve (L), post-larve (PL), giovanili (J)

Età: EE: 70-80 h dopo la fecondazione; L 30 gg; PL 90 gg

Lunghezza (cm): L 30 gg: 11 mm (valore medio)

Peso (g): L = 0,005; PL = 0,06; J = 0,84 e 3,4 (valori medi)

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta

Metodo di riferimento³: NR

Location⁴: LAB

Procedura⁶: STAT

Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)

Esposizione⁷: acqua

Durata: 24 h

Frequenza di applicazione⁸: NA

Rinnovo delle soluzioni: NA

N° di pesci utilizzati: 30 EE/conc; 10 L-PL-J/conc.

Repliche: 3

N° di test: NR

Caratteristiche del medium

T (°C)
20 ± 0,5

pH
NR

Salinità (‰)
EE= 35
L= 20±1;
PL e J= 15±1

O₂
NR

Fotoperiodo (h)
10 h L: 14 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità

RISULTATI¹⁰

Life stage	100% Mortalità 24 h (mg/L)	LC ₅₀ -24 h (mg/L)	28 gg di esposizione
J 3,4 g	100	10,72	No mortality
J 0,84 g	100	9,85	-
PL 0,06 g	10	5,78	-
L 0,005	10	1,89	-
EE	10	< 1,12	-

STATISTICA¹³: NR

Autori: Roméo M, Bennani N, Gnassia_Barelli M, Lafaurie M, Girard JP.

Titolo: Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*

Rivista/Anno/vol/pag: *Aquatic Toxicology* 2000 vol 48: 185-194

Abstract Copper and Cadmium were injected into the fish *Dicentrarchus labrax*. Cu as Cd-treated fish showed an enlargement of the lysosomal membrane of the kidney (pronephros), Cu being more toxic than Cd. Following injection, metal uptake (Cd, Cu and Zn), measured in muscle, liver and kidney, was much higher with cadmium treatment than with copper, the kidney being the main accumulating organ of Cd in which metal accumulation is correlated with increased zinc level, suggesting metallothionein induction. In vivo exposure to metal decreases the lysosomal membrane stability of pronephros with a half dose of 127 ng/g Cu and 735 ng/g Cd. Lipid peroxidation, expressed as malondialdehyde equivalents (MDA) and catalase (CAT) activity were measured in kidney subcellular fractions. When added in vitro, Cu significantly raises the MDA level (365% at 200 µM), Cd having a lower effect (20% at 500 µM). CAT activity is significantly reduced by Cd whereas Cu does not produce any significant effect at the tested concentrations. Results suggest that although both metals cause in vivo damage to pronephros lysosomal membrane, Cu activates the redox process generating oxyradicals but does not affect in vitro the protective CAT activity unlike Cd which appears to weakly participate in oxyradical generation but alters in vitro protective CAT activity.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: Rame (Cu) e cadmio (Cd)	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: Cd: 500 – 1000 – 2000 ng/g; Cu: 50 – 250 – 1000 ng/g	
VEICOLO¹	
Nome: Cloruro di sodio (NaCl)	
Numero CAS:	Concentrazione: 9 ‰

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: da acquacoltura (allevamento non specificato)	
Stadio vitale: post-giovanili	Età: NR
Lunghezza (cm): circa 20	Peso (g): 130 ± 5

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento ³ : NR		
Location⁴: LAB		Procedura ⁶ : NA		
Medium⁶: acqua di mare artificiale (Instant Ocean)				
Esposizione⁷: iniezione intraperitoneal (i.p.i.)		Durata: 48 h Frequenza di applicazione ⁸ : NR Rinnovo delle soluzioni: NA		
N° di pesci utilizzati: NR		Repliche: NR	N° di test: NR	
Caratteristiche del medium				
T (°C) 18	pH NR	Salinità (‰) 28	O₂ NR	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰ LC ₅₀ -48h= 3000 ng/g Cd LC ₅₀ -48h = 2500 ng/g Cu
STATISTICA¹³: I confronti statistici dei risultati sono stati effettuati mediante test non-parametrico Mann-Whitney U-test.	
COMMENTI: Per gli altri risultati si consulti l'articolo originale	

Autori: Saroglia MG, Scarano G, and Tibaldi E.
Titolo: Acute toxicity of nitrite to sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>) and European eel (<i>Anguilla anguilla</i>)
Rivista/Anno/vol/pag: <i>J. World Maicul. Soc</i> 1981, vol 12: 121-126
Abstract Static acute toxicity tests of 4 and 7 days duration were performed on sea bass (<i>Dicentrarchus labrax</i>) and European eel (<i>Anguilla Anguilla</i>). Acute nitrite toxicity was studied on sea bass exposed in seawater to different temperatures ranging from 13 to 27°C and at different size (ranging from 1,2 to 15 cm standard length) and on eel exposed at salinities ranging from 0 to 36 g/l.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: N-NO₂	
Numero CAS: NR	Produttore: NR
Concentrazioni: NR	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: da acquacoltura (allevamento non specificato)	
Stadio vitale: NR	Età: NR
Lunghezza (cm): 1,2 - 1,5 - 4,0 - 5,5 - 6,0 - 12 - 15 (lunghezza standard)	Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: NR		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: STAT		
Medium⁶: NR		Durata: 96 h e 7 gg		
Esposizione⁷: acqua		Frequenza di applicazione⁸: NR		
N° di pesci utilizzati: da 10 a 30		Rinnovo delle soluzioni: NA		Replique: NR
N° di test: 6		Caratteristiche del medium		
T (°C)	pH	Salinità (‰)	O₂	Fotoperiodo (h)
17-27	8,1-8,4	36±0,5	NR	NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰			
	Lugh. pesci (cm)	T (°C)	EC₅₀ -96h* mg/L N-NO₂	EC₅₀ 7gg* mg/L N-NO₂
	12.0	13	293	289
	1.2	17	309	--
	1.5	17	211	207
	4.0	17	274	240
	5.5	23	220	188
	15.0	23	170	140
	6.0	27	154	91.4
	15.0	27	95	--
*per gli IC95% consultare l'articolo originale				
STATISTICA¹³: Analisi Probit (Finney, 1971)				
COMMENTI: Per gli altri risultati si consulti l'articolo originale				

Autori Spaggiari R, Gelli F, Palazzi D, Pregnolato L, Venturini F, Savorelli F, Modugno S, Floris B, Roncarati A, Conti D.

Titolo Sostanze prioritarie: I pesci (*Dicentrarchus labrax*, *Cyprinus carpio*) quali organismi bersaglio in test ecotossicologici, di bioconcentrazione e in saggi finalizzati a valutazioni di genotossicità

Journal/Year/Vol/pag Progetto Nazionale di monitoraggio acque superficiali/ 2005 MATTM, APAT, ARPA ER-Sezione provinciale di Ferrara/63pp

Abstract Non riportato

Sono presentati solo i risultati dei saggi di tossicità

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME

Nome: Cadmio (Cd), Piombo (Pb), Mercurio (Hg), Nichel (Ni), chlorpyrifos, simazine, endosulfan, trifluralin, Triclorometano, Diclorometano, 1,2 dicloroetano, Naphthalene, Benzene

Numero CAS: NR

Produttore: NR

Concentrazioni utilizzate: **tossicità acuta: NR**

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: *Dicentrarchus labrax* L. (European seabass)

Fornitore: **Allevamento (non specificato)**

Stadio vitale: **test acuto: larve (L) e giovanili;**

Età: **NR**

Lunghezza (cm): **J 134 gg: 5,76 ± 0,03**

Peso (g): **J 134 gg: 1,507 ± 0,049**

TEST CONDITIONS

TIPO DI TEST: Tossicità acuta e prolungata

Metodo di riferimento³: **OECD n° 203, 1992; USEPA,1993;**

*Location*⁴: **LAB e in situ**

*Procedura*⁵: **test acuto 24 e 48h: STAT; test acuto 96 h e 7gg: semi-STAT;**

*Medium*⁶: **acqua di mare artificiale Instant Ocean®**

*Esposizione*⁷: **acqua**

Durata: 24-48-96 h
Frequenza di applicazione: **NA**
Frequenza di rinnovo⁸: **NR**

N° pesci utilizzati: **vedi articolo originale**

Replicate : **vedi articolo originale**

Caratteristiche del *medium*:

T (°C)
20±1

pH
NR

Salinità (‰)
20 ± 1;

O₂
70-100%

Fotoperiodo:
vedi articolo originale

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹

Mortalità

RISULTATI¹⁰

I risultati di tossicità acuta sono riportati nella pagina seguente

Statistica: **Metodo TSK-Trimmed-Spearman-Kärber; Probit (ToxStat software package)**

RISULTATI¹⁰

stadio vitale	LC ₅₀ 24h (IC 95%)	LC ₅₀ 48h (IC 95%)	LC ₅₀ 96h (IC 95%)	LC50 7 gg (IC95%)
<u>SDS, mg/l</u>				
L 30 gg	1,89 (1,65-2,15)	-	-	-
<u>Cd, mg/l</u>				
L 35 gg	3,16 (2,42-4,60)	1,16 (0,36-4,84)	0,69 (0,38-1,22)	-
J 60 gg	17,78 (12,60-25,10)	-	-	-
J 85 gg	6,17 (5,44-6,99)	5,49 (4,84-6,24)	3,94 (3,30-4,68)	3,62 (2,88-4,34)
<u>Pb, mg/l</u>				
J 60 gg	8,04 (7,20-8,98)	5,32(4,65-6,08)	4,35 (4,10-4,61)	-
J 85 gg	4,46 (3,16-6,31)	4,31 (4,08-4,56)	4,31 (4,08-4,56)	4,31 (4,08-4,56)
<u>Hg, mg/l</u>				
J 60 gg	0,98 (0,77-1,66)	0,15 (0,13-0,18)	0,09 (0,09-0,10)	-
<u>Ni, mg/l</u>				
J 60 gg	8,92 (6,31-12,60)	8,32 (7,71-8,98)	8,32 (1,71-8,98)	-
J 85 gg	8,32 (7,71-8,98)	8,32 (7,71-8,98)	8,32 (7,71-8,98)	8,32 (7,71-8,98)
<u>Benzene, mg/l</u>				
J (3,5 cm; 0,33 g)	133,4 (100,0-178,0)	118,91 (96,8-146,1)	75,03 (56,3-100,0)	
<u>Naphthalene, mg/l</u>				
J (3,5 cm; 0,33 g)	14,10	14,10	10,71	
<u>Triclorometano, mg/l</u>				
J (3,5 cm; 0,33 g)	750,3 (563,0-1000,0)	473,3 (385,2-581,6)	473,3 (385,2-581,6)	
<u>Diclorometano, mg/l</u>				
J (3,5 cm; 0,33 g)	1187,4 (1000,0-1410,0)	1187,43 (1000,0-1410,0)	1108,4 (979,9-1253,8)	
<u>1,2 Diclorometano, mg/l</u>				
J (3,5 cm; 0,33 g)	707,8 (501,0-1000,0)	707,8 (501,0-1000,0)	707,8 (501,0-1000,0)	
<u>Simazina, mg/l</u>				
L 40 gg	164,1 (142,5-414,1)	118,8 (102,5-145,8)	84,62 (73,77-95,32)	
<u>Trifluralin, µg/l</u>				
L 40 gg	100 (70-130)	90 (70-120)	51 (30-76)	
<u>Endosulfan, µg/l</u>				
L35 gg	3 (2-5)	1,36	< 1	
<u>Chlorpvrifos, µg/l</u>				
J (3,5 cm; 0,33 g)	14,05 (9,22-21,4)	14,05 (9,22-21,4)	7,08 (4,69-10,7)	

COMMENTI: Per i risultati sul bioaccumulo e sulla genotossicità si consulti l'articolo originale

Autori: Tornambè A, Giuliani S, Della Torre C, Amato E, Buffagni M, Catalano B, Crisari A, Moltedo G, Onorati F, Savorelli F, Magaletti E.

Titolo: Approccio ecotossicologico per la valutazione degli effetti su organismi marini dovuti ad inquinamento da idrocarburi in mesocosmo.

Ecotoxicological approach for the evaluation of environmental effects of eathered oil exposure on marine organisms: a two months experiment in mesocosm.

Rivista/Anno/vol/pag: *Biologia Marina Mediterranea* (2009) 16: 187-199

Abstract The aim of this study was to assess the toxicity of weathered oil on marine biota. An experimental design of two months exposure was tested in a mesocosm system. Bioassays and biomarkers analysis were performed on *Paracentrotus lividus*, *Mytilus galloprovincialis*, and *Dicentrarchus*. Our results indicate the usefulness of this experimental set-up to define the effects of oil spill in the sea.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME

Nome: **Oil wathering**

Numero CAS: NA

Produttore: NA

Concentrazioni: NR

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: *Dicentrarchus labrax* L. (European sea bass)

Allevamento di provenienza: NR

Stadio vitale: giovanili

Età: NR

Lunghezza (cm): 2,6 ± 0,2 (lunghezza standard media)

Peso (g): NR

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta	Metodo di riferimento ³ : OECD TG n° 203			
Location⁴: LAB	Procedura ⁶ : FC (mesocosmo)			
Medium⁶: NR				
Esposizione⁷: acqua di mare naturale filtrata	Durata: 96 h; 7 gg e 14 gg Frequenza di applicazione ⁸ : NR Rinnovo delle soluzioni: NA			
N° di pesci utilizzati: da 10 a 30	Repliche: NR	N° di test: 6		
Caratteristiche del medium				
T (°C) 14 ±1	pH NR	Salinità (‰) 40±1	O₂ NR	Fotoperiodo (h) NR

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰			
	Exp	M 96 h (%)	M 7gg (%)	M 14 gg (%)
	G1	10	10	66,6
	G5	10	23,3	70,0
	G10	10	43,3	76,6
G30	0	0,0	26,6	
STATISTICA: Si veda articolo originale				
COMMENTI: Per gli altri risultati su biomarker si consulti l'articolo originale				

Autori: Tornambè A, Manfra L, Mariani L, Faraponova O, Onorati F, Savorelli F, Cicero AM, Virno Lamberti C, Magaletti E.

Titolo: Toxicity evaluation of diethylene glycol and its combined effects with produced waters of off-shore gas platforms in the Adriatic Sea (Italy): bioassays with marine/estuarine species.

Rivista/Anno/vol/pag: *Marine Environmental Research* (2012) 77: 141-149

Abstract Diethylene glycol (DEG) is commonly used to dehydrate natural gas in off-shore extraction plants and to prevent formation of gas hydrates. It may be released into the sea accidentally or in discharged produced waters (PWs). PWs samples from off-shore gas platforms in the Adriatic Sea (Italy) have been used in this study. The objectives of the study were: a) to evaluate the toxicity of DEG for marine organisms; b) to evaluate if a high DEG content in PWs may alter their toxicity; c) to verify whether the DEG threshold concentration established by Italian Legislation (3,5 g/L) for PWs discharged at sea is safe for marine environment. Ten different species (*Vibrio fischeri*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Dunaliella tertiolecta*, *Brachionus plicatilis*, *Artemia franciscana*, *Tigriopus fulvus*, *Mytilus galloprovincialis*, *Crassostrea gigas*, *Tapes philippinarum* and *Dicentrarchus labrax*) have been exposed to DEG; four of these species (*V. fischeri*, *P. tricornutum*, *A. franciscana* and *D. labrax*) were also exposed to PWs in combination with DEG. The results showed that: a) DEG is not toxic at levels normally detected in Adriatic PWs; b) DEG in combination with PWs showed additive or synergistic effects; c) short-term bioassays showed that the DEG limit of 3,5 g/L could be acceptable.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME

Nome: **Glicol dietilenico; Produced Waters (PWs); 3) PWs + DEG**

Numero CAS: NA

Produttore: NA

Concentrazioni*: DEG = 25 – 30 – 35 – 40 – 45 – 50 g/L

PW +DEG = PW1) 10,4% -15,6% -23,4% -35,1% + 25 g/L; PW2) 10,8% + 25 g/L; 10,8% + 38,3 g/L; - 10,8% + 3,5 g/L; PW3) 14,6% + 25 g/L; - 14,6%+ 38,3 g/L; - 14,6%+ 3,5 g/L

*Concentrazioni utilizzate su *D.labrax*

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: *Dicentrarchus labrax* L. (European sea bass)

Allevamento di provenienza: NR

Stadio vitale: giovanili

Età: 80 gg

Lunghezza (cm): 3,74 ± 0,28

Peso (g): 0,48 ± 0,08

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: OECD TG n° 203		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: STAT		
Medium⁶: NR				
Esposizione⁷: acqua di mare naturale filtrata		Durata: 96 h Frequenza di applicazione⁸: NA Rinnovo delle soluzioni: NA		
N° di pesci utilizzati: 7/conc		Repliche: 3		N° di test: NR
Caratteristiche del medium				
T (°C) 20 ± 1	pH 7,5 ± 0,5	Salinità (‰) 30	O₂ NR	Fotoperiodo (h) 16 h L: 8 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità

RISULTATI¹⁰

DEG: EC₅₀-96h = 40,3 ± 0,3 g/L; EC_{15/20}-96h = 38,3 ± 0,4 g/L; NOEC = 25 g/L.
Classificazione di tossicità: Non tossico

PWs+DEG

EC ₅₀ -96 h (%)			EC _{15/20} -96 h (%)			NOEC -96 h (%)		
PW1	PW2	PW3	PW1	PW2	PW3	PW1	PW2	PW3
32,0 (27-39)	15,5 (nc)	12,6	6,3	6,3	14,6 (nc)	12,6	6,3	6,3

Classificazione di tossicità: PW1= Tossico; PW2= Tossico; PW3= Tossico

STATISTICA: Si veda articolo originale

COMMENTI: Per gli altri risultati sulle altre specie si consulti l'articolo originale

Autori: Tudor M., I. Katavic, J. Marsic-Lucic
Titolo: Acute toxicity of ammonia to juvenile sea bass
Rivista/Anno/vol/pag: <i>Aquaculture</i> / 1994/128/ 89-95
Abstract Acute toxicity of ammonia to juvenile sea bass at three aeration levels of test tanks is expressed as median lethal time (LT50). Two statistically significant components were distinguished by principal component analyses (PC) between the chemical parameters (pH, O ₂ concentration and un-ionized ammonia) and their interactions in each tank. The first PC describes the phase properties of pH, O ₂ concentration and NH ₃ . The second PC describes the toxicity due to the dissociation of added NH ₄ Cl to experimental tanks. It is negatively correlated with pH and positively correlated with NH ₃ . LC50 is highly negatively correlated with the second PC whereas the correlation with the first is negative and considerably poorer.

SOSTANZE

SOSTANZA IN ESAME	
Nome: NH ₃ -N	
Numero CAS: NA	Produttore: NA
Concentrazioni: about 10, 18, 32, 56 mg/L (by addition NH ₄ Cl)	

SISTEMA DI SAGGIO

SPECIE: <i>Dicentrarchus labrax</i> L. (European sea bass)	
Allevamento di provenienza: Institute of Oceanography and Fisheries, Split	
Stadio vitale: giovanili	Età: 2 mesi
Lunghezza (cm): 2	Peso (g): 0,052

CONDIZIONI DEL TEST

TIPO DI TEST²: tossicità acuta		Metodo di riferimento³: UNEP/FAO/IAEA, 1989		
Location⁴: LAB		Procedura⁶: STAT		
Medium⁶: NR		Durata: 96 h		
Esposizione⁷: acqua di mare naturale (con livelli di NH ₄ * < 0,01 mg/L)		Frequenza di applicazione⁸: NR		
		Rinnovo delle soluzioni: NA		
N° di pesci utilizzati: 20/contenitore		Repliche: 2	N° di test: 6	
Caratteristiche del medium				
T (°C)	pH	Salinità (‰)	O₂	Fotoperiodo (h)
19 ±1	8,1±0,05	36	75%	12 h L: 12 h B

RISULTATI

EFFETTI MISURATI⁹: Mortalità	RISULTATI¹⁰ 100-h median lethal lime LT ₅₀ of juvenile was recorded at 10,5 mg/L total ammonia concentration (0,3 mg NH ₃ -N/L).
STATISTICA: Probit (Hailov, K.M., V .P. Parchevski, 1983).	

3. ANALISI DEGLI STUDI DI TOSSICITA': COMPARAZIONE CON ALTRE SPECIE ITTICHE

3.1 I metalli pesanti

I metalli sono sostanze naturali naturalmente presenti nella crosta terrestre che possono essere reintrodotti nell'ambiente attraverso processi geologici, biologici e antropogenici. Tra le sorgenti naturali vi sono le erosioni, le eruzioni vulcaniche, gli incendi boschivi e il bioaccumulo (mediante introduzione nella catena alimentare). Le cause antropogeniche più importanti per l'immissione di metalli nell'ambiente sono la combustione dei combustibili fossili, l'estrazione e il trattamento dei minerali, la lavorazione industriale dei metalli e lo smaltimento dei rifiuti civili e industriali. Nelle zone industriali le emissioni di metalli in atmosfera sono maggiori di quelle naturali.

In base alla loro azione biologica i metalli possono essere suddivisi in essenziali e non essenziali. I metalli essenziali sono quegli elementi coinvolti nel metabolismo dell'organismo, senza i quali esso non può crescere o completare il suo ciclo vitale e che non possono essere sostituiti da nessun altro elemento. I metalli non essenziali non possiedono alcuna funzione fisiologica per gli organismi e a volte, alcuni di essi interferiscono con i normali processi biologici risultando tossici.

L'interesse ecotossicologico per elementi inorganici come i metalli dipende non tanto dal fatto che un'eventuale carenza possa limitare la crescita degli organismi, ma piuttosto dalla constatazione che essi possono produrre effetti indesiderati quando la loro concentrazione nell'ambiente è al di sopra di certi limiti (tossicità potenziale) (Baudo e Perin, 2012).

Con la definizione di "metalli pesanti" vengono identificati quegli elementi che presentano le seguenti caratteristiche:

- hanno una densità superiore a 5 g/cm^3 e numero atomico superiore a quello del calcio
- quando sono sottoposti ad un campo magnetico si comportano come cationi
- presentano una bassa solubilità dei loro idrati
- hanno tendenza a formare legami complessi
- hanno affinità con i solfuri nei quali tendono a concentrarsi
- hanno diversi stati di ossidazione a seconda del pH

Vengono considerati metalli pesanti, elementi, quali: alluminio (Al), Antimonio (Sb), Ferro (Fe), Argento (Ag), Bario (Ba), Berillio (Be), Cadmio (Cd), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Manganese (Mn), Mercurio (Hg), Molibdeno (Mo), Nickel (Ni), Piombo (Pb), Rame (Cu), Stagno (Sn), Titanio (Ti), Tallio (Tl), Vanadio (V) e Zinco (Zn). Ad essi si aggiungono alcuni metalloidi con proprietà simili a quelle dei metalli pesanti, che sono: Arsenico (As), Bismuto (Bi) e Selenio (Se).

Alcuni metalli pesanti (ad eccezione di Fe e Al), poiché presenti nella litosfera in concentrazioni inferiori a 0,1%, sono definiti anche "elementi in traccia".

In Italia, gli elementi, metalli pesanti o elementi in traccia, che devono essere tenuti sotto controllo nelle acque sono i seguenti:

- Cd, Pb, Hg e Ni (Inquinanti prioritari - Direttiva 2013/39/UE)
- Sb, As, Cr (totale e cromo VI), Se, V (Decreto Ministeriale 260/2010)

I metalli pesanti sono inquinanti altamente tossici per gli organismi viventi. La caratteristica che li rende particolarmente pericolosi è la loro persistenza nell'ambiente. Si tratta infatti, di elementi non biodegradabili, che non possono essere distrutti o rimossi dall'ambiente, ma solo trasferiti da un comparto all'altro. Per questo la valutazione della loro pericolosità deve tener conto della loro biodisponibilità cioè della facilità con cui essi possono entrare a contatto con gli organismi interagendo con i processi biologici (Baudo e Perin, 2012).

Diversi metalli pesanti sono ubiquitariamente presenti negli ecosistemi acquatici dove bioaccumulano soprattutto nei pesci, nei molluschi e nei sedimenti. I pesci che vivono in ecosistemi inquinati presentano diversi metalli depositati nei tessuti in quantità che variano in funzione dell'affinità dei metalli per i diversi tessuti, dei tassi di assunzione, deposizione ed escrezione. Il livello dei metalli nei tessuti ittici di solito segue questa scala: $\text{Fe} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cd} > \text{Hg}$ (Jeziarska and Witeska, 2006).

Nei pesci le possibili aree di assorbimento dei metalli in soluzione sono: le branchie (assunzione dal tratto respiratorio), l'intestino (assunzione per ingestione) e il rivestimento esterno del corpo (assunzione transcutanea).

Nei pesci, sia la tossicità che il bioaccumulo dei metalli può dipendere dalla loro concentrazione, dal tempo di esposizione, dalla modalità di assunzione, dalle condizioni ambientali (temperatura dell'acqua, pH, durezza dell'acqua e salinità) e da fattori intrinseci alla specie (età del pesce e abitudini alimentari).

La temperatura dell'acqua può causare differenze nella deposizione di un metallo nei vari organi. Ad es., temperature molto elevate promuovono l'accumulo di Cd nei reni e nel fegato, probabilmente a causa dei maggiori tassi metabolici negli animali.

L'acidificazione delle acque (ad es. a causa del fenomeno delle piogge acide) può aumentare il tasso di bioaccumulo di alcuni metalli sia in modo indiretto, aumentando la solubilità dei composti metallici, che in modo diretto, danneggiando l'epitelio che diviene così più permeabile. È stato osservato, ad esempio, che le concentrazioni di Cd e Pb sono considerevolmente più elevate nei pesci presenti in laghi acidificati (Horwitz et al., 1995).

La durezza dell'acqua (concentrazione di calcio) influenza considerevolmente l'assunzione dei metalli attraverso l'epitelio delle branchie. Playle et al. (1992) hanno mostrato che elevate concentrazioni di calcio nell'acqua riducono l'accumulo di Cu nelle branchie e Baldisserotto et al. (2005) hanno riportato che diete ad elevato contenuto di ioni Ca^{2+} proteggono i pesci contro un'eccessiva assunzione di Cd. Il calcio riduce anche l'assunzione di Zn in *Oncorhynchus mykiss* (Barron and Albeke, 2000). L'influenza del Ca e delle sostanze umiche (HS) sulla tossicità del Cd, studiata su embrioni e larve di *Danio rerio*, ha mostrato che sia il Ca che le HS possono avere un effetto protettivo (Meinelt et al., 2001).

Le variazioni di salinità per la tossicità dei metalli pesanti sono particolarmente importanti negli ecosistemi estuarini abitati prevalentemente da specie eurialine. In molti casi è stata osservata un aumento della tossicità dei metalli (Cd, Cr, Cu, Hg, Ni e Zn) al diminuire della salinità (O'Hara, 1973, Hall and Anderson, 1995; Leung et al., 2001; Verslycke et al., 2003) probabilmente a causa della maggiore biodisponibilità dello ione metallico libero a bassi valori di salinità. In altri studi, oltre ad osservare lo stesso tipo di correlazione negativa tra tossicità e salinità per valori al di sotto del 5‰, è stato anche riportato un aumento della tossicità di Cu e Hg all'aumentare della salinità al di sopra del 25‰ (Lawson, 2011; Fidelia et al., 2013).

3.1.1 Cadmio

Il Cd è un elemento piuttosto raro in natura dove non esiste allo stato nativo; esistono alcuni rari minerali del Cd quali il solfuro (greenockite) e il carbonato basico (otavite). Viene prodotto in discrete quantità come sottoprodotto della fusione dello Zn dal relativo minerale, la sfalerite (ZnS) o blenda nel quale il Cd è un'impurità significativa, costituendo fino al 3%.

Circa il 75% del Cd viene utilizzato per la produzione delle batterie al Ni-Cd, mentre il restante 25% viene utilizzato nella cadmiatura come protezione superficiale di materiali metallici quali acciaio, ferro e rame.

Altri impieghi del Cd sono:

- leghe metalliche bassofondenti e per saldatura;
- leghe metalliche ad alta resistenza all'usura;
- barriera per controllare le reazioni di fissione nucleare;
- in campo fotografico e nella fabbricazione di fuochi artificiali, gomme, vernici fluorescenti, vetri e porcellane;
- nella costruzione di apparati radiofonici e televisivi;
- produzioni di pigmenti (giallo di Cd);
- stabilizzatore nell'industria di materiale plastico (pvc);
- tracciante atmosferico nell'industria aerospaziale;
- rivelatore delle immagini nella tomografia assiale computerizzata (TAC);
- produzione di fanghi di depurazione e di presidi fitosanitari per l'agricoltura come pesticidi e fungicidi e in molti fertilizzanti quali i concimi fosfati.

Sono molti i materiali che insospettabilmente contengono Cd, alcuni esempi sono: le foglie di tabacco (che lo assorbono dal suolo e dall'acqua di irrigazione), le protesi dentarie, la ceramica delle stoviglie, le sostanze antiruggine, i prodotti di scarto delle gomme e l'acqua potabile (se le tubature sono in ferro galvanizzato).

L'introduzione del Cd nell'ambiente avviene soprattutto attraverso l'atmosfera come conseguenza di fenomeni naturali (eruzioni vulcaniche, incendi, aerosol oceanici e altro), durante l'estrazione del metallo (come sottoprodotto della raffinazione dei minerali di Zn), per combustione di combustibili fossili, fanghi e rifiuti e da depositi di materiali solidi (depositi di rifiuti e di scorie, concimi fosfatici). Nel suolo, al Cd proveniente dall'atmosfera, si lega quello delle sostanze contenute nel terreno, determinando un accumulo del metallo negli strati superiori del terreno. La mobilità del Cd nel suolo dipende da parecchi fattori incluso il pH del suolo e la disponibilità di materia organica. Generalmente, questo metallo si lega fortemente alla

materia organica del suolo che lo “immobilizza”, rendendolo tuttavia disponibile alle piante da cui viene facilmente assorbito e determinandone l’ingresso nelle catene alimentari.

Le concentrazioni maggiori di Cd si ritrovano in alcuni funghi selvatici, nei molluschi e nei reni degli animali macellati. A causa della contaminazione del tabacco con Cd e dell’assorbimento di questo per via inalatoria, il fumo di tabacco aumenta l’esposizione a Cd.

Il Cd è un composto altamente tossico capace di accumularsi negli organismi viventi. Negli ecosistemi acquatici, questo elemento viene più prontamente assunto dagli organismi direttamente dall’acqua nella sua forma ionica libera (Cd^{2+}) assorbita mediante diffusione passiva o trasporto mediato da *carrier* attraverso le branchie (assunzione respiratoria). E’ stato suggerito che gli ioni Cd entrino nelle cellule a cloruri dell’epitelio branchiale attraverso i canali del calcio. (Olsson, 1998). La forma metallica associata a materiale organico, invece, viene ingerita e assorbita per endocitosi attraverso l’intestino (assunzione intestinale). Una volta che si trova dentro le cellule, il metallo può interagire con componenti citoplasmatici come gli enzimi (effetto tossico) e le metallothioneine (probabile detossificazione). Nei pesci il Cd bioaccumula in vari organi. In generale, i reni sono il primo organo bersaglio (Thomas et al., 1983; Kuroshima, 1992; Kumar and Singh, 2010). Ad es. in *Cyprinus carpio* è stato osservato questo ordine di accumulo: reni>fegato>branchie (Sumet and Blust, 2001). Simili pattern di bioaccumulo sono stati rilevati anche in *Clarias batrachus* (Kumar et al., 2005).

Nella figura 8 è mostrato il ciclo del Cd negli ecosistemi acquatici (Kumar and Singh, 2010).

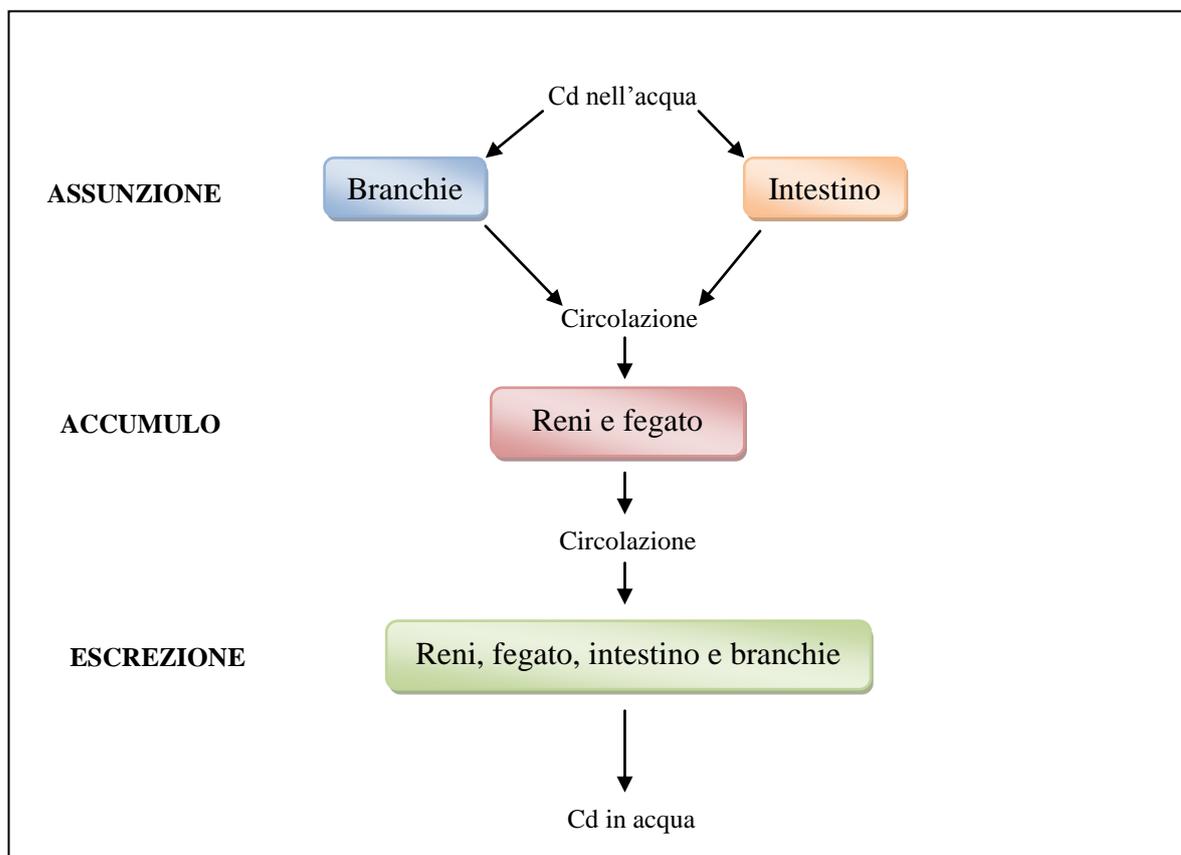


Figura 8 – Ciclo del Cd negli ecosistemi acquatici. Tratto da Kumar and Singh (2010) e modificato.

E’ noto da tempo che la durezza dell’acqua influenza la tossicità del Cd. *Oryzias latipes* esposti per 18 giorni in un mezzo acquoso con durezza 200 mg $CaCO_3/l$ hanno registrato un valore di NOEC pari a 30 $\mu g/l$, mentre se il mezzo acquoso aveva durezza di 100 mg $CaCO_3/l$ il valore di NOEC era 5 volte più basso (Canton and Sooff, 1982). Esemplari di *Oncorhynchus mykiss* esposti a Cd in mezzi acquosi con durezza di 63 ± 2 e 300 ± 17 hanno mostrato valori di LC_{50-96h} pari a 1,3 e 2,6 mg/l, rispettivamente (Pascoe et al., 1986). In generale, è stato osservato che la tossicità del Cd diminuisce all’aumentare della durezza dell’acqua (Calmari et al., 1980; Niyogi et al., 2008; Mebane et al., 2009). Il Cd probabilmente compete con gli ioni Ca^{2+} sulla superficie branchiale (Niyogi et al., 2008).

Come per altri metalli pesanti, la tossicità del Cd aumenta al diminuire della salinità del mezzo acquoso di esposizione (Leung et al., 2001; Versylycke et al., 2003). Hall et al., 1995 ha riportato, con la specie

Cyprinodon variegatus, valori di LC50-96h pari a 180,3, 312,4 e 495,5 µg/l di Cd²⁺ a salinità del 5, 15 e 25‰, rispettivamente.

Nella tabella 5 sono riassunti gli studi di tossicità acuta relativi allo ione Cd²⁺ su specie ittiche d'acqua dolce e marino/salmastra.

Nella tabella 6 sono riassunti gli studi di tossicità prolungata relativi allo ione Cd²⁺ su specie ittiche d'acqua dolce e marino/salmastra.

Nella tabella 7 sono riportati i dati di tossicità relativi allo ione Cd²⁺ sul branzino (*D. labrax*). La quasi totalità dei risultati deriva da studi effettuati da laboratori italiani. Sono riportati anche dati riferiti alla sperimentazione effettuata in seno al progetto “Regolamento REACH: implementazione dei metodi C1, C13, C14 e C15 (CE 440/2008) sui pesci, utilizzando la specie autoctona *Dicentrarchus labrax* L.1758” (come descritto nel capitolo 2) ottenuti dal laboratorio ittiologico di ARPAER sezione provinciale di Ferrara e dal laboratorio di Metrologia Ambientale dell'ISPRA.

Come mostrato nell'istogramma della figura 9, a parità di stadio vitale e tempo di esposizione, si conferma l'aumento di tossicità del Cd al diminuire della salinità (LC₅₀-96 h: 2,6 mg/l a 20‰ vs 0,00107 mg/l a 5‰ e 15,5 mg/l a 20‰ vs 8,1 a 5‰)

Per la denominazione comune, italiana e inglese, delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda l'allegato 1 alla presente pubblicazione.

Tabella 5 - Sommario degli studi di tossicità acuta (LC_{50}/EC_{50}) con cadmio (Cd^{2+}) su specie ittiche d'acqua dolce e marino/salmastra

Specie ittiche	Stadio Vitale/età	P (g)	LT (cm)	Durezza/Salinità	t espos.	LC_{50} - EC_{50} ($\mu g/L$)	IC 95% ($\mu g/L$)	Riferimento bibliografico
Acqua dolce								
<i>Danio rerio</i>	Em	-	-	-	48 h	5500	-	Lahnsteiner, 2008
<i>Cyprinus carpio</i>	L	-	-	100 mg/l $CaCO_3$	96 h	4,3	-	Suresh et al., 1993b
<i>Cyprinus carpio</i>	a	0,18	0,023	-	48 h	3095	2710—3530	Ramesha et al., 1996
					96 h	2840	2541-3175	
<i>Cyprinus carpio</i>	a	2,6	0,046	-	48 h	3143	2695-3665	Ramesha et al., 1996
					96 h	2913	2237-3887	
<i>Cyprinus carpio</i>	a	-	-	100 mg/l $CaCO_3$	96 h	17,1	-	Suresh et al., 1993b
<i>Cyprinus carpio</i>	J	5,0	0,061	-	24 h	5012	4616-5441	Ramesha et al., 1996
					48 h	4936	4588-5309	
					96 h	4559	4239-4904	
<i>Cyprinus carpio</i>	J	55-60	10-12	232,58 mg/l $CaCO_3$	96 h	6120	-	Alkahem, 1993
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	0,131	-	92-110 mg/l $CaCO_3$	96 h	3,7	3,2-4,3	Besser et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,36	-	-	96 h	0,83	0,72-1,0	Mebane et al., 2012
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	3-4 w.	0,207	-	90-124 mg/l $CaCO_3$	96 h	5,4	-	Besser et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	-	-	41 mg/l $CaCO_3$	96 h	1,5	-	Buhl and Hamilton, 1991
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	8,8	-	44,4 mg/l $CaCO_3$	96 h	3	-	Phipps and Holcombe, 1985
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,289-1,15	-	29,3-89,3 mg/l $CaCO_3$	96 h	0,5-2,5	-	Stratus Consulting 1999
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J 2-3 m	0,496	-	90-124 mg/l $CaCO_3$	96 h	5,2	4,7-5,9	Besser et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	a	0,10	0,021	-	96 h	37,9	27,1-53,1	Buhl and Hamilton, 1991
<i>Oncorhynchus mykiss</i>				20 mg/l $CaCO_3$	96 h	2,53	-	Hollis et al., 2000
<i>Oncorhynchus mykiss</i>				140 mg/l $CaCO_3$	96 h	18,0	-	Szebedinsky et al., 2001
<i>Oncorhynchus mykiss</i>				140 mg/l $CaCO_3$	96 h	22,0	-	Hollis et al., 1999
<i>Pimephales promelas</i>	< 24 h	-	-	-	96 h	237	-	Erten-Unal et al., 1998
<i>Pimephales promelas</i>	2-4 d	-	-	6-28 mg/l $CaCO_3$	48 h	8,9	7,7-10,1	Suedel et al., 1997
					96 h	4,8	4,1-5,5	
<i>Pimephales promelas</i>	L 1-7 d	-	-	70-90 mg/l $CaCO_3$	48 h	35,4	-	Diamond et al., 1997
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	55 mg/l $CaCO_3$	96 h	40,9	-	EPA, 2001
				62 mg/l $CaCO_3$	96 h	114	-	EPA, 2001
				63 mg/l $CaCO_3$	96 h	80,8	-	EPA, 2001
				65 mg/l $CaCO_3$	96 h	120	-	EPA, 2001
				66 mg/l $CaCO_3$	96 h	135	-	EPA, 2001
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	-	48 h	7900	6700-9000	Abdelghani et al., 1995
Acqua marino/salmastra								
<i>Fundulus heteroclitus</i>	L	-	-	20 ‰	48 h	32,0	-	EPA, 2001
<i>Fundulus heteroclitus</i>	L	-	-	30 ‰	48 h	7800	-	EPA, 2001
<i>Fundulus heteroclitus</i>	J	-	-	20 ‰	96 h	114	-	EPA, 2001
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	-	20 ‰	48 h	60	-	EPA, 2001
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	-	30 ‰	48 h	43	-	EPA, 2001

continua tabella 5

Specie ittiche	Stadio Vitale/età	P (g)	LT (cm)	Durezza/Salinità	t espos.	LC ₅₀ -EC ₅₀ (µg/l)	IC 95% (µg/l)	Riferimento bibliografico
<i>Menidia menidia</i>	L	-	-	20 ‰	48 h	1600-2200	-	EPA, 2001
<i>Menidia menidia</i>	-	-	-	30 ‰	48 h	12,0	-	EPA, 2001
<i>Menidia menidia</i>	L	-	-	20 ‰	48 h	13,0	-	EPA, 2001
<i>Rivulus marmoratus</i> ¹	J 30 d	-	-	10 ‰	96 h	18,8	-	EPA, 2001
<i>Rivulus marmoratus</i> ¹	A 120 d	-	-	10 ‰	96 h	32,2	-	EPA, 2001
<i>Mugil cephalus</i>	L	-	0,010	37,3 ‰	96 h	7,079	-	EPA, 2001
<i>Mugil cephalus</i>	J	-	0,050	37,3 ‰	96 h	28,0	-	EPA, 2001

Abbreviazioni: a: avannotto; A: adulto; E: uova; Em: embrione; d: giorni; h: ore; IC: intervallo di confidenza; J: giovanili; L: larve; LT: lunghezza totale; m: mesi; P: peso; w: week

Note: ¹ specie d'acqua dolce e salmastra

Tabella 6 - Sommario degli studi di tossicità prolungata (LC₅₀/EC₅₀) con cadmio (Cd²⁺) su specie ittiche d'acqua dolce e marine/estuarine

Specie ittiche	Stadio Vitale/età	P (g)	LT (cm)	Durezza/Salinità	t espos.	LC ₅₀ -EC ₅₀ (µg/L)	IC 95% (µg/L)	LOEC (µg/L)	NOEC (µg/L)	Riferimento bibliografico
Acqua dolce										
<i>Carassius auratus</i>	Em-L	-	-	195 mg/l CaCO ₃	7 d	0,170	-	-	-	EPA, 2001
<i>Pimephales promelas</i>	L 2-4 d	-	-	6-28 mg/l CaCO ₃	7 d	4,4	3,7-5,2	-	-	Suedel et al., 1997
					10 d	1,6	1,3-2,0	-	-	Suedel et al., 1997
					14 d	2,3	2,1-2,6	-	-	Suedel et al., 1997
<i>Pimephales promelas</i>	L	-	-	89-107 mg/l CaCO ₃	7 d	200	-	-	-	USEPA, 1985
<i>Micropterus salmoides</i>	Em	-	-	99 mg/l CaCO ₃	8 d	0,0016	-	-	-	EPA, 2001
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	E	-	-	-	53 d	2,5	-	-	-	Mebane et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Em-L	-	-	140 mg/l CaCO ₃	28 d	0,140	-	-	-	Mebane et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	125 mg/l CaCO ₃	10 d	0,010-0,030	-	-	-	Mebane et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	82 mg/l CaCO ₃	8 d	0,017	-	-	-	Mebane et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	-	-	89-107 mg/l CaCO ₃	7 d	0,70	-	-	-	Mebane et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	0,13	-	92-110 mg/l CaCO ₃	96 h	0,0037	0,0032-0,0043	-	-	Besser et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	0,21	-	92-110 mg/l CaCO ₃	28 d	0,0055	-	-	-	Besser et al., 2007
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	120 mg/l CaCO ₃	7 d	-	-	2,0	-	Scott et al., 2003
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	349 mg/l CaCO ₃	21 d	-	-	25,0	-	Sullivan et al., 1978
Acqua marino/salmastra										
<i>Menidia menidia</i>	-	-	-	12 ‰	19 d	< 160	-	-	-	USEPA, 1985
				20 ‰		540				
				30 ‰		970				
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	A	-	-	22 mg/l CaCO ₃	9 d	0,004	-	-	-	EPA, 2001
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	J	-	-	22 mg/l CaCO ₃	9 d	0,002	-	-	-	EPA, 2001

Abbreviazioni: A: adulto; E: uova; Em: embrione; d: giorni; h: ore; IC: intervallo di confidenza; J: giovanili; L: larve; LT: lunghezza totale; P: peso

Tabella 7 - Sommario degli studi di tossicità con cadmio (Cd^{2+}) su *D. labrax*. I riferimenti bibliografici sono nelle schede.

SV e età	P (g)	LT (cm)	T (C°)	S (‰)	Procedura	t. espos.	LC ₅₀ (mg/L)	±ST	IC 95% (mg/L)	NOEC (mg/L)	LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
L 15 d	-	-	20±1	30±1	S	24 h	5,19	-	3,91-6,46	-	-	Gelli et al., 2002
L 30 d	-	-	20±1	30±1	S	24 h	7,88	-	6,45-9,50	-	-	
L 35 d	-	-	20±1	20±1	S	24 h	3,16	-	2,40-4,60	-	-	Spaggiari et al., 2005
J 60 d	-	-	20±1	20±1	S	24 h	17,80	-	12,60-25,10	-	-	
J 60 d	-	-	20±1	30±1	S	24 h	17,82	-	16,70-19,10	-	-	Gelli et al., 2002
J	0,12±0,02	2,43±0,05	20±1	30±1	R	24 h	6,17	-	5,44-6,99	-	-	Gelli et al., 2004
L 35 d	-	-	20±1	20±1	S	48 h	1,16	-	3,60-4,84	-	-	Spaggiari et al., 2005
J	0,64±0,12	4,64±0,29	19±1	5	R	48 h	19,83	-	15,99-24,99	-	-	Lab. Metrologia Ambientale ISPRA – dati non pubblicati
A	130±5	20,0	18	28	-	48 h	0,003 ^a	-	-	-	-	Roméo et al., 2000
A	130±5	20,0	18	28	-	48 h	0,0007 ^b	0,0002	-	-	-	
L 35 d	-	-	20±1	20±1	S	96 h	0,69	-	0,38-1,22	-	-	Spaggiari et al., 2005
J	0,068±0,03	2,23±0,22	20±1	5	R	96 h	0,00107	-	0,00099-0,0016	-	-	Lab. Ittiologico ARPA Ferrara – dati non pubblicati
J	0,068±0,03	2,23±0,22	20±1	20	R	96 h	2,6	-	2,3-2,9	-	-	
J	0,12±0,02	2,43±0,05	20±1	30±1	R	96 h	3,94	-	3,30-4,68	-	-	Gelli et al., 2004
J	0,66±0,22	4,64±0,29	20	5	R	96 h	2,33	-	1,03-5,24	-	-	Lab. Metrologia Ambientale ISPRA – dati non pubblicati
J	0,94±0,34	4,79±0,52	20±1	5	R	96 h	8,1	-	7,2-9,2	-	-	Lab. Ittiologico ARPA Ferrara – dati non pubblicati
J	0,94±0,34	4,79±0,52	20±1	20	R	96 h	15,5	-	13,8-17,3	-	-	
E	-	-	15±1	37	R	7 d	1,71	-	1,6-1,83	1,0	3,2	Lab. Ittiologico ARPA Ferrara – dati non pubblicati
J 85 d	-	-	20±1	20±1	R	7 d	3,62	-	2,88-4,34	-	-	Spaggiari et al., 2005

Abbreviazioni: d: giorni; E: uova; h: ore; IC: intervallo di confidenza; J: giovanili; L: larve; LT: lunghezza totale; P: peso; R: test semistatico con rinnovo del mezzo; SV: stadio vitale; S: salinità; ST: scarto tipo; S: test statico; TG: Test guideline

Note : ^a: mg/g esposizione mediante iniezione intraperitoneale ^b mg/g esposizione mediante iniezione intraperitoneale; il valore è un EC₅₀ e si riferisce al periodo di labilizzazione della membrana lisosomiale.

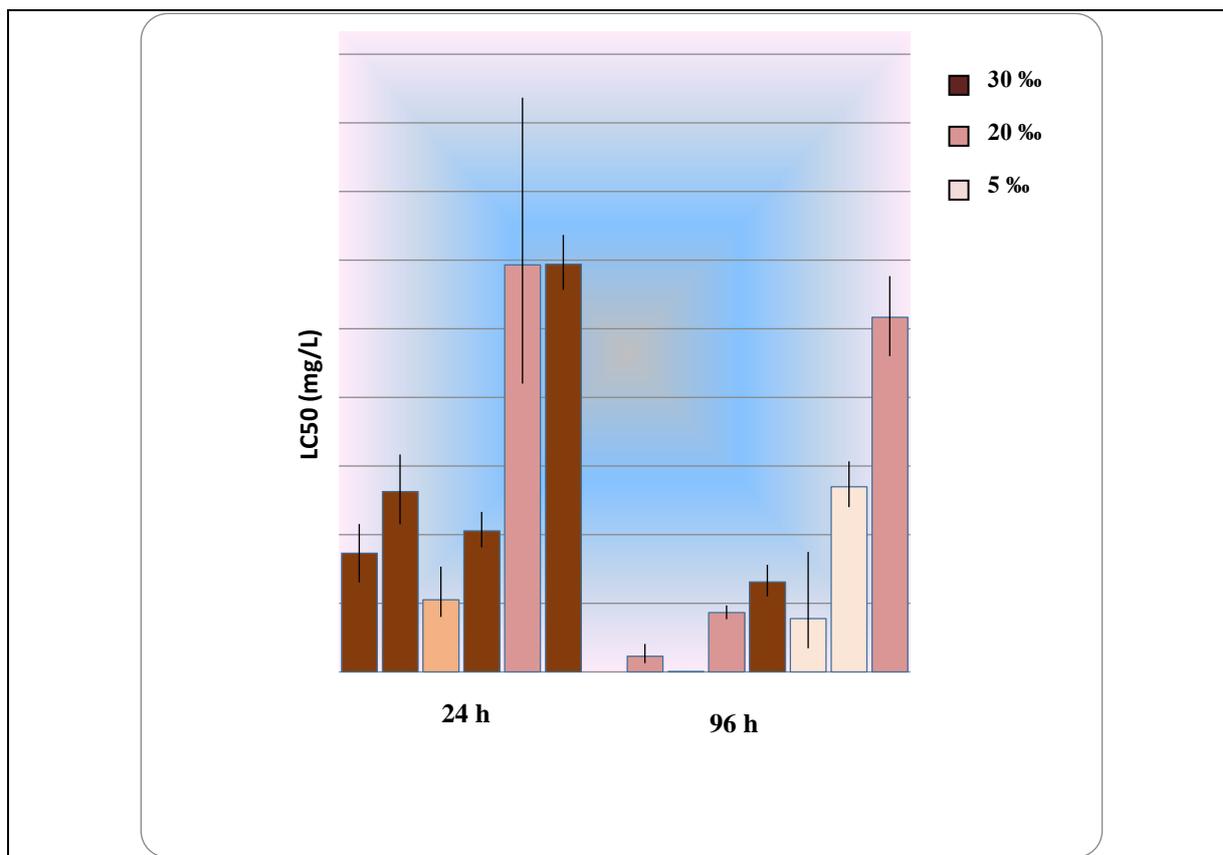


Figura 9 – Rappresentazione grafica dei dati di tossicità acuta per il cadmio a 24 e 96 h su larve e giovanili di *D. labrax* a differenti salinità. I dati di LC_{50} sono riportati in base allo stadio vitale degli organismi con indicazione dell'età o delle dimensioni all'interno di ogni singolo periodo di esposizione (24 e 96 h) e in base alla salinità utilizzata (5, 20 e 30‰).

3.1.2 Cromo

Il cromo (Cr) è un elemento di transizione comunemente presente nell'ambiente soprattutto nelle forme di cromo trivalente Cr(III) ed esavalente Cr(VI). Mentre la forma trivalente, insolubile, ha una tossicità relativamente bassa e costituisce un nutriente essenziale per i viventi, il cromo esavalente, derivante da numerosi processi industriali e attività antropogeniche, è altamente tossico e, poiché solubile, viene lisciviato dal suolo alle acque di falda o alle acque superficiali in concentrazioni a volte elevate.

Il Cr(VI), utilizzato sotto forma di composti diversi (cromato di sodio, dicromato di sodio, dicromato di potassio, cromato di calcio, dicromato di ammonio, cromato di zinco, cromato di piombo, dicromato di rame, cromato di magnesio, cromato di mercurio, ecc..) è presente in molti processi industriali quali ad esempio, la cromatura galvanica, le saldature con elettrodi ad alto tenore di cromo, le tinture con colori e inchiostri contenenti pigmenti a base di cromo, durante l'applicazione e la produzione di pesticidi, di cemento portland, ecc. (ISPESL, 2008).

Il cromo esavalente è considerato un inquinante tossico di origine industriale, classificato come cancerogeno (1B), mutageno e tossico per la riproduzione. Diversi studi *in vivo* e *in vitro* hanno chiarito i meccanismi d'azione dei composti del Cr(VI), i suoi effetti e le proprietà citotossiche. Mentre il Cr(III) non è in grado di superare, in quantità significative, le membrane cellulari, il Cr(VI), come ione cromato $\text{Cr}_2\text{O}_4^{2-}$, è trasportato attivamente all'interno delle cellule attraverso canali anionici aspecifici. All'interno della cellula il Cr(VI) viene ridotto e nei suoi diversi stati di ossidazione (Cr(III), Cr(IV) e Cr(V)) ed è in grado di legarsi a proteine e DNA causando mutazioni geniche, aberrazioni cromosomiche, di alterare il normale ciclo cellulare e di indurre i geni responsabili dell'apoptosi. La forma pentavalente del cromo è fortemente coinvolta nello sviluppo di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e capace quindi di stress ossidativo (figura 10).

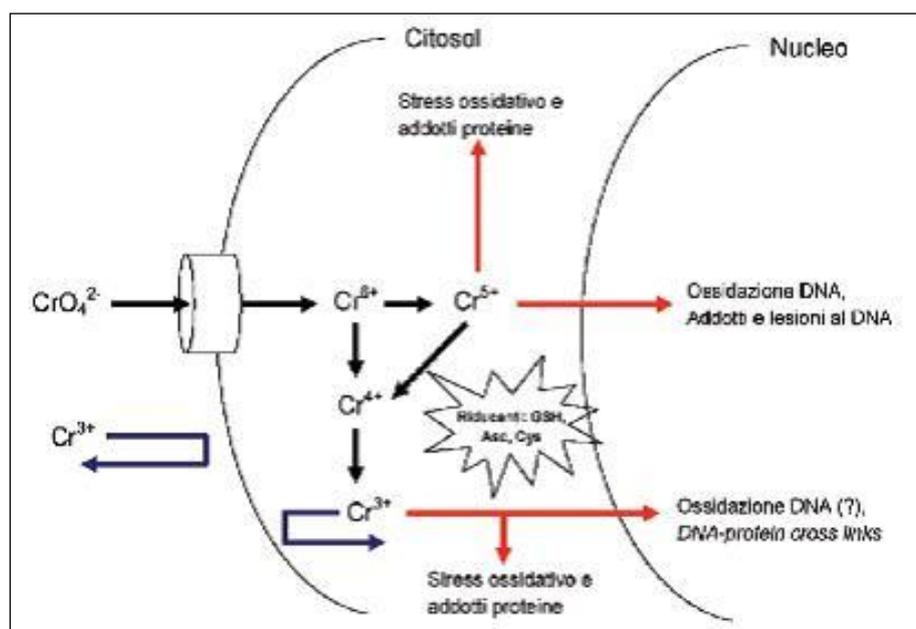


Figura 10 – Meccanismi di tossicità del cromo a livello cellulare. Tratta da <http://gasonline.it/cromo-acqua-potabile.html?store=en>

L'ambiente acquatico è considerato la matrice ultima dell'inquinamento da metalli. Tuttavia, per i composti del cromo, alcuni processi industriali come le tinture delle pelli, la cromatura e l'elettrosaldatura, hanno dimostrato di poter contaminare direttamente le falde acquifere, mentre le acque superficiali sono suscettibili di inquinamento per opera degli scarichi dei processi manifatturieri e delle torri di raffreddamento. Le centrali a carbone, a olio combustibile e i termovalorizzatori nonché i processi industriali di lavorazione dell'acciaio e del ferro, provocano il rilascio di cromo nell'atmosfera sotto forma di particolato. Il cromo esavalente (come anche quello trivalente), rimosso dall'atmosfera mediante le precipitazioni e il normal fall-out, finisce nei suoli o nelle acque. Nelle acque, il cromo può formare complessi anionici solubili, ed essendo un agente fortemente ossidante, reagisce con la materia organica per formare cromo trivalente che a sua volta

può precipitare come $\text{Cr}_2\text{O}_4^{2-}$. I composti contenenti cromo mostrano un'elevata persistenza nei sedimenti delle acque con un elevato potenziale di bioaccumulo del cromo negli organismi acquatici.

In soluzione gli ioni di Cr(VI) possono esistere come monomeri o dimeri. La reazione di polimerizzazione dei monomeri a dimeri è la seguente: $\text{HCrO}_4^- + \text{HCrO}_4^- \leftrightarrow \text{Cr}_2\text{O}_7^{2-} + \text{O}$. Il pH dell'acqua ha un'influenza determinante sulla riduzione del cromo nell'ambiente. I dimeri predominano a pH 6,5, mentre i monomeri sono più abbondanti a pH estremamente bassi. Il Cr(III) può essere idrolizzato per formare idrossidi a pH > 3,5, mentre nessun cambiamento si osserva se le soluzioni hanno pH minori di questo valore. I silicati, gli ossidi i solfuri e i minerali ricchi di ferro ferroso presenti nell'ambiente, riducono il Cr(IV), che, a sua volta, può essere ridotto anche dalla materia organica (acidi umici e fulvici) presente nel suolo. Il pH, tuttavia, ha un ruolo fondamentale nella velocità di riduzione di questi acidi.

Anche i processi riduttivi microbici che avvengono anaerobicamente come parte dei processi di detossificazione o mediante reazioni extra-cellulari, trasformano il Cr(IV) nella sua forma trivalente insolubile che, in certe condizioni, precipita come idrossido insolubile immobilizzandosi in suoli o sedimenti (Velma et al., 2009).

La tossicologia acquatica del cromo dipende sia da fattori biotici che abiotici. I fattori biotici comprendono il tipo di specie, l'età e lo stadio di sviluppo, mentre i fattori abiotici sono la temperatura, la concentrazione del cromo e il suo stato di ossidazione, il pH, la salinità e la durezza del mezzo acquoso.

Per quanto riguarda gli effetti acuti del cromo(VI) sui pesci, i diversi studi effettuati hanno evidenziato variazioni individuali tra le specie in termini di suscettibilità. Svecevicus (2006), indagando la sensibilità di cinque specie ittiche – *Oncorhynchus mykiss* (trota iridea), *Gasterosteus aculeatus* (spinarello), *Rutilus rutilus* (rutilo o gardon), *Perca flavescens* (perca gialla) e *Leuciscus leuciscus* (leucisco) – esposte a cromo(VI), ha mostrato che la trota è fino a 2,52 volte più sensibile al metallo rispetto alle altre specie. Tuttavia, la tossicità al cromo dipende anche in modo determinante dal pH del mezzo acquoso, che determina la biodisponibilità del metallo per gli organismi. Alcuni studi su trota iridea (Van der Putte, 1981; Hogendoorn-roozemond et al., 1977) hanno dimostrato una differente sensibilità al cromo per variazioni di pH da 7,8 a 6,5. A pH 7,8 le concentrazioni maggiori di cromo si ritrovano nelle branchie, nel fegato, nei reni e nel tratto digestivo. Riducendo il pH a 6,5, non solo l'azione letale del cromo aumenta, ma si osserva anche un differente accumulo del metallo che tende a concentrarsi quasi esclusivamente nelle branchie. La tossicità del cromo per la trota risulta da 50 fino a 200 volte maggiore a pH compreso tra 6,4 e 7,4 rispetto all'intervallo tra 7,8 e 8,0.

Sui pesci il cromo esercita anche effetti a lungo termine su diversi livelli funzionali (sopravvivenza, crescita, sviluppo, comportamento, attività enzimatiche, risposta immunitaria). Vari studi (Patton et al., 2007; Farag et al., 2006; Nguyen et al., 2002; Van Der Putte et al., 1982; Arunkumar et al., 2000; Sastry et al., 1983) hanno dimostrato che gli *endpoint* a lungo termine sono correlati alla concentrazione della sostanza, al tempo e al pH del mezzo di esposizione.

Il cromo esavalente è utilizzato frequentemente come tossico di riferimento a motivo della sua tossicità universale (Svecevicus, 2006)

Nelle tabelle 8 e 9 sono riassunti alcuni studi di tossicità acuta e prolungata con cromo (VI) realizzati con specie ittiche di acqua dolce e marino/salmastra, rispettivamente. Per la denominazione comune, italiana e inglese, delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda allegato 1 alla presente pubblicazione.

Per quanto riguarda la tossicità acuta a 96 ore nelle specie d'acqua dolce, i valori di LC_{50} risultano compresi tra 12,3 mg/L delle larve di trota (pH 8,0 durezza media dell'acqua 250 mg/L CaCO_3) e 114,6 mg/L dei giovanili di *Poecilia* (pH 7,2 e durezza dell'acqua: 40-48 mg/L CaCO_3), con un valore medio pari a $52,1 \pm 5,7$ mg/L ($n=23$). Nel caso delle specie d'acqua di mare, molto meno utilizzate, i valori di LC_{50-96} h risultano compresi tra 14 mg/L di *A. microstoma* e 31,6 mg/L di *C. variegatus* (salinità 34‰), con un valore medio pari $21,5 \pm 3,3$ mg/L ($n=5$). Per le consistenti differenze di condizioni sperimentali utilizzate, non sono possibili comparazioni tra le diverse specie, tuttavia, nel caso della trota, si rilevano sensibilità al Cr(VI) che coerenti con lo stadio vitale utilizzato. Gli adulti ($\text{LC}_{50-48\text{h}} = 51,5$ mg/L), infatti, risultano meno sensibili delle uova ($\text{LC}_{50-48\text{h}} = 36,6$ mg/L; $\text{LC}_{50-96\text{h}} = 27,7$ mg/L) e queste meno sensibili delle larve ($\text{LC}_{50-48\text{h}} = 16,2$ mg/L; $\text{LC}_{50-96\text{h}} = 12,3$ mg/L).

Dai dati presentati in tabella 8, risulta che all'aumentare della durezza dell'acqua da 40 mg/L a 284 mg/L CaCO_3 , la sensibilità degli organismi al Cr(VI) aumenta (40-48 mg/L CaCO_3 LC_{50-96} h = 89,1 mg/L vs 200-284 mg/L CaCO_3 LC_{50-96} h = 40,7 mg/L).

Nella tabella 10 sono mostrati i valori di LC_{50-96} h ottenuti con *Dicentrarchus labrax* alla salinità del 5‰. I quattro esperimenti sono stati effettuati da due diversi laboratori (ARPA Ferrara e ISPRA) con organismi giovanili di dimensioni differenti. La tossicità del Cr(VI) è risultata correlata alle dimensioni degli organismi. I valori di $\text{LC}_{50-96\text{h}}$ ottenuti su branzino sono comparabili con i valori di tossicità ottenuti sulle altre specie ittiche marine, nonostante le condizioni sperimentali utilizzate non siano confrontabili.

Tabella 8 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con cromo (VI) su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg CaCO ₃)	Alcalinità (mg HCO ₃ ⁻)	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	Mortalità (mg/L)	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Danio rerio</i>	-	-	-	-	-	-	-	48 h	114,5	-	-	Vikusova and Svobodova, 1990
<i>Danio rerio</i>	-	0,2-0,4	2-3	-	7,2	40-48	-	96 h	89,1	-	-	Oliveira-Filho and Paumgarten, 1997
<i>Danio rerio</i>	EL	-	-	26	6,8-7,1	-	-	8 d	240	100%: 480	-	Garric and Cemagref, 1990
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	E	-	-	9-10	8	250	-	48 h	36,6	-	-	Kazlauskien et al., 1994
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	-	-	9-10	8	250	-	48 h	16,2	-	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	A	-	-	9-10	8	250	-	48 h	51,5	-	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	E	-	-	9-10	8	250	-	96 h	27,7	-	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	-	-	9-10	8	250	-	96 h	12,3	-	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	-	5-10	15	-	-	-	96 h	-	0% : 1-2	-	Kuykendall, 2009
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	-	15-25	15	-	-	-	96 h	-	0% : 2	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	8,6±0,3	0,09±0,01	11	7,9-8,1	284	244	96 h	28,5 (24,2-33,5)	-	-	Svecevicus, 2006
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	-	-	-	-	-	48 h	246	-	-	Vikusova and Svobodova, 1990
<i>Cyprinus carpio</i>	-	3,5-5,5	3,5 – 5,5	-	7,5-8,2	100	-	24 h	549,6-591,9	-	-	Peres and Pihan, 1991
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	7,7	209	-	96 h	36,2-36,9	-	-	Pickering, 1980
<i>Pimephales promelas</i>	L	-	-	25	8,3-8,5	176-184	118-128	7 d	-	-	LOEC _m : 12 LOEC _s : 24 NOEC _m : 12	Pickering and Lazorchak, 1995
<i>Pimephales promelas</i>	L	-	-	-	-	-	-	7 d	-	-	-	De Graeve et al., 1991
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	25	7,5-7,9	-	200-230	96 h	48	-	-	Adelman and Smith, 1976
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	15	7,6-8,2	-	230-232	96 h	61	-	-	Reusik and Smith, 1975
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	7,5-8,4	75-600	-	96 h	39,8 (38,8-40,9) ^a	-	-	Jop et al., 1986
<i>Channa punctatus</i>	A	50-55	18-20	18-21	7,3	215,3	133,2	96 h	41,75	-	-	Mishra and Mohanty, 2009
<i>Channa punctatus</i>	-	-	-	29,8±1	7,5-8,5	-	-	96 h	50	-	-	Sornaraj et al., 1995
<i>Clarias gariepinus</i>	E, Em, L	-	-	27	7,7	200	-	1-5 d	-	100%: 11-14	-	Nguyen et al., 1999
<i>Lepomis macrochirus</i>	A	-	15-18	-	-	-	-	96 h	99,1	-	-	Gendusa and Beitingger, 1992
<i>Poecilia reticulata</i>	-	0,18	0,015	-	-	-	-	96 h	29,3	-	-	Khargarot and Ray, 1990
<i>Poecilia reticulata</i>	-	0,2-0,3	2-3	-	7,2	40-48	-	96 h	114,6	-	-	Oliveira-Filho and Paumgarten, 1997
<i>Poecilia reticulata</i>	-	0,18	0,015	-	-	-	-	7 d	19,1	-	-	Khargarot et al., 1990
<i>Poecilia vivipara</i>	L 7-15 d	-	-	-	-	-	-	96 h	21,8	-	-	Da Silva et al., 1998
<i>Salvelinus fontinalis</i>	5 m	-	-	12	7,0-8,0	44-46	-	96 h	59,0	-	-	Benoit, 1976
<i>Salmo gardenerii</i> ^b	14 m	-	-	12	7,0-8,0	44-46	-	96 h	69,0	-	-	Benoit, 1976
<i>Catla catla</i>	-	-	-	28±1	7,1	-	-	96 h	100	-	-	Vincent et al., 1996
<i>Labeo rohita</i>	J	2-3	5-6	27,5±1	8±05	-	501	96 h	39,40 (36,0-43,1)	-	-	Vutukuru, 2005; Velma et al., 2009

continua tabella 8

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg CaCO ₃)	Alcalinità (mg HCO ₃ ⁻)	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	Mortalità (mg/L)	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Gasterosteus aculeatus</i> ^c	-	-	-	-	8-8,1	500-600	-	96 h	35,0	-	-	Jop et al., 1987
<i>Gasterosteus aculeatus</i> ^c	-	1,1±0,03	0,05	11	7,9-8,1	284	244	96 h	38,3 (35,5-41,4)	-	-	Svecevicus, 2006
<i>Gasterosteus aculeatus</i> ^c	-	-	-	-	7,5-8,4	75-600	-	96 h	42,6 (38,2-47,1) ^a	-	-	Jop et al., 1986
<i>Rutilus rutilus</i>	-	5,6±0,1	0,09	11	7,9-8,1	284	244	96 h	49,3 (45,3-53,6)	-	-	Svecevicus, 2006
<i>Perca fluviatilis</i>	-	3,2±0,1	0,07	11	7,9-8,1	284	244	96 h	33,1 (29-37,8)	-	-	Svecevicus, 2006
<i>Leuciscus leuciscus</i>	-	2,5±0,06	0,07	11	7,9-8,1	284	244	96 h	71,7 (64,5-79,6)	-	-	Svecevicus, 2006
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	A	-	-	20±1	6,9-7,5	143	259	96 h	21,4 (18,9-24,3)	-	-	Vera-Candiotti, 2011
<i>Ictalurus punctatus</i>	J	-	15-20	15	-	-	96 h	-	100%: 2	-	-	Kuykendall, 2009
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	-	-	-	-	-	96 h	14,8	-	-	-	Gendusa et al., 1993
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	-	-	-	-	-	30 d	1,5	-	-	-	Gendusa et al., 1993

Abbreviations: A: adulti; d: days/giorni; E: uova; EL: embrio-larve; Em: embrione; h: hours (ore); IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%; J: giovanili; L: larve; LT: lunghezza totale; m: mesi; LOEC_m: LOEC riferita alla mortalità; LOECs: LOEC riferita alla sopravvivenza.; P: peso

Note: ^a media di due esperimenti effettuati con acqua di durezza differente (75-105 e 550-600 mg CaCO₃); ^b sinonimo di *Oncorhynchus mykiss*; ^c specie anadroma

Tabella 9 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con cromo (VI) su specie ittiche d'acqua marino/salmastra

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	tempo espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	Mortalità (mg/L)	MAC _m (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Cyprinodon variegatus</i>	L 24 h	-	-	24-26	6,2-8,2	34,3-35,1	96 h 7 d	31,6 -	- -	- 24,0	Hutchinson et al., 1994
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	-	7-7,5	18-22	96 h	23,2 (16,3-29,6) ^a	-	-	Jop et al., 1986
<i>Aldrichetta forsteri</i> ^b	J	-	-	-	-	-	96 h	24	-	-	Negilski, 1976
<i>Atherinosoma microstoma</i> Whitley	J	-	-	-	-	-	96 h	14	-	-	Negilski, 1976

Abbreviations: L: larve; J: giovanili; d: days/giorni; IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%; LT: lunghezza totale; MAC_m: Maximum Acceptable toxicant Concentration (riferita alla mortalità); P: peso

Note: ^a media di cinque esperimenti; ^bspecie marina, d'acqua dolce e salmastra

Tabella 10 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con cromo (VI) su *Dicentrarchus labrax*.

SV/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Procedura	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC (mg/L)	LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
J	0,068±0,03	2,23±0,22	20±1	7-7,2	5	R (48 h)	96h	14,5 (13,2-16,0)	-	-	Progetto ISPRA-ARPA Ferrara ^a
J	0,82±0,29	4,23±0,37	19,6-19,9	7-8,5	5	R (48 h)	96h	27,83 (24,26-31,04)	-	-	Progetto ISPRA-ARPA Ferrara
J	0,94±0,34	4,79±0,52	20±1	7-7,2	5	R (48 h)	96h	34,4 (31-38)	-	-	Progetto ISPRA-ARPA Ferrara
J	0,94±0,34	4,79±0,52	20±1	7-7,2	5	R (48 h)	96 h	44,3 (41,7-47,2)	-	-	Progetto ISPRA-ARPA Ferrara
J	1,76±0,27	5,85±0,37	20±1	7-7,2	5	R (48 h)	28 d	-	10,0	12,6	Progetto ISPRA-ARPA Ferrara

Abbreviazioni: d: days/giorni; h: hours (ore); IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%; J: giovanili; LT: lunghezza totale; P: peso; R: test semistatico con rinnovo del mezzo; SV: stadio vitale .

Note: ^a Dati non pubblicati

3.1.3 Rame e Nichel

Il rame (Cu) è un elemento naturalmente presente nella crosta terrestre e nelle acque di mari, laghi e oceani. E' un micronutriente essenziale per la crescita e lo sviluppo di piante e animali in cui ha un ruolo fondamentale nel metabolismo e agisce come cofattore di numerosi processi enzimatici vitali.

Le attività antropogeniche possono innalzare le concentrazioni di rame normalmente presenti negli ambienti acquatici. Alcuni studi (Santore et al., 2001; Grosell et al., 2007) hanno mostrato che la tossicità del rame per gli organismi acquatici è fortemente influenzata sia dai fattori abiotici, quali la durezza dell'acqua, il pH e l'alcalinità, che dai processi di complessazione e competizione del metallo con ligandi organici e inorganici.

La forte influenza dei parametri ambientali sulla tossicità del rame per gli organismi d'acqua dolce è stata riconosciuta da USEPA che ha inserito questo metallo nel Freshwater Biotic Ligand Model (FW BLM). Questo modello (USEPA, 2003; Wu, 2002) è basato sull'idea che la mortalità nei pesci sopravvenga quando i complessi "rame-ligandi biotici" raggiungono concentrazioni critiche nell'organo bersaglio, rappresentato dalle branchie sulla cui superficie ci sono le proteine dei canali del sodio che costituiscono i ligandi biotici del rame. La quantità di metallo che si accumula è regolata, sia dalla quantità di materia organica dissolta in acqua, che compete con i ligandi delle branchie per il legame con gli ioni rame, e sia dalla presenza di altri cationi metallici (come il calcio) che in soluzione competono per il legame con gli stessi ligandi biotici delle branchie (Di Toro et al., 2001; Santore et al., 2001).

E' stato dimostrato, più di sei decenni fa (Holm-Jensen, 1948), che, negli organismi d'acqua dolce, il rame interferisce con l'assunzione di ioni sodio (Na^+). Questo fenomeno, in combinazione con il gradiente di ioni Na^+ diretto all'esterno, provoca una perdita di sodio che conduce a morte gli organismi acquatici.

In modo simile, nei pesci marini, il rame sembra influire sui processi di osmoregolazione durante un'esposizione acuta. Questi organismi, infatti, devono bere per ripristinare la perdita di fluidi mediante diffusione nell'ambiente esterno e l'assorbimento di acqua da parte dell'intestino dipende dall'assorbimento attivo di ioni Na^+ e Cl^- . Il sale che entra nel pesce mediante questo processo e mediante diffusione dalla superficie corporea, è estromesso attraverso le branchie. L'esposizione al rame provoca danni sia al meccanismo di assorbimento di sale e di acqua che a quello di estrusione dalle branchie. La possibilità di danno è fortemente influenzata dalla salinità del mezzo acquoso. Lo studio di Grosell et al. (2007) ha mostrato come varia la sensibilità della specie ittica eurialina *Fundulus heteroclitus* al variare della salinità del mezzo da 2,5 a 10, 15, 22 e 35 ‰. La sensibilità è più elevata in acqua dolce ($\text{LC}_{50-96\text{ h}} = 18\ \mu\text{g/L}$) che in acqua salata al 35 ‰ ($\text{LC}_{50-96\text{ h}} = 294\ \mu\text{g/L}$), mentre la specie risulta più tollerante a salinità intermedie del 10‰ ($\text{LC}_{50-96\text{ h}} = >973\ \mu\text{g/L}$).

Il Nichel (Ni) è un elemento in traccia presente nei suoli, nelle acque, in aria e nella biosfera. Il contenuto medio nella crosta terrestre è circa 0,008%, mentre i livelli nelle acque naturali sono compresi da 2 a 10 $\mu\text{g/L}$ (acque dolci) e da 0,2 a 0,7 $\mu\text{g/L}$ (acque marine). Può essere presente in vari stati di ossidazione, (I, II e III), ma la forma ionica prevalente è il Ni(II). Questo elemento viene prevalentemente utilizzato per la produzione di acciaio inossidabile e di altre leghe metalliche caratterizzate da elevata resistenza alla corrosione e alla temperatura. La sorgente primaria di emissione di nichel nell'aria è costituita dalla combustione di carbone e di olio per riscaldamento o per produzione di energia, incenerimento di rifiuti e detriti fognari, attività minerarie, manifattura dell'acciaio, elettroplaccatura e altri processi industriali di varia natura.

L'ingresso nell'ambiente acquatico avviene attraverso l'atmosfera, mediante scorrimento superficiale, da scarichi di rifiuti industriali e municipali e anche in seguito ad erosione naturale dei suoli e delle rocce. Negli ecosistemi acquatici il nickel interagisce con numerosi composti organici e inorganici e viene rinvenuto come sale solubile adsorbito su particelle di argilla o di materiale organico (detriti, alghe, batteri) oppure associato con sostanze organiche, come acidi umici e fulvici e proteine. I processi di adsorbimento sono reversibili e conducono anche al rilascio del metallo dai sedimenti (WHO, 1991).

Sebbene, la tossicità del nichel per la vita acquatica sia stata ampiamente investigata nelle decenni precedenti, i dati riguardanti le specie ittiche Europee sono ancora scarsi (Svecevicus, 2010). E' stato evidenziato che alcuni fattori fisico-chimici dell'acqua possono modificare la tossicità del nichel per i pesci, infatti la letalità acuta aumenta al diminuire del pH e diminuisce all'aumentare della durezza e dell'alcalinità del mezzo acquoso (Pyle et al., 2002; Hoang et al., 2004; Svecevicus, 2010).

Il nichel (e i suoi composti) sono inseriti come inquinanti prioritari nella tabella dell'allegato I alla Direttiva 2013/39/UE che modifica le direttive 2000/60 e 2008/105 per quanto riguarda le sostanze prioritarie nel settore della politica delle acque. Per essi, quindi, sono stabiliti gli Standard di Qualità Ambientale (SQA)

mostrati nella tabella 11. Gli SQA per il nichel sono stati recentemente rivisti con effetto dal 22 dicembre 2015, *al fine di conseguire un buono stato chimico delle acque superficiali entro il 22 dicembre 2021* (articolo 3 paragrafo 1bis Direttiva 2013/39/UE).

Tabella 11 - Standard di Qualità Ambientale per nichel e composti

SQA-AA ¹ acque superficiali interne ²	SQA-AA ¹ altre acque di superficie	SQA-CMA ³ acque superficiali interne ¹	SQA-CMA ³ altre acque di superficie	SQA Biota ⁴
4 µg/L	8,6 µg/L ⁵	34 µg/L	34 µg/L	-

Note: ¹ Valore medio annuo; ² Si intendono i fiumi, laghi e i corpi idrici artificiali o fortemente modificati; ³ Concentrazione massima ammissibile; ⁴ Se non altrimenti indicato, si riferisce ai pesci. Un taxon del biota alternativo o un'altra matrice possono essere monitorati, purchè l'SQA applicato garantisca un livello equivalente di protezione; ⁵ questi SQA si riferiscono alle concentrazioni biodisponibili delle sostanze

Nelle tabelle 12, 13 e 14 sono mostrati i dati di tossicità acuta e prolungata con rame (II) e nichel (II) ottenuti su diverse specie ittiche di acqua dolce e marino/salmastra. Per la denominazione come, italiana e inglese, delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda l'allegato 1 alla presente pubblicazione.

Per quanto riguarda le specie d'acqua dolce, il valore di LC_{50-96 h} per il nichel varia da un minimo di 1,42 mg/L ottenuto su giovanili di *Cyprinus carpio* (Alam and Maughan, 1992) ad un massimo di 61,2 mg/L dei giovanili di *Leuciscus leuciscus* (Svecevicius, 2010). Quando analizziamo tutti i dati di LC_{50-96 h} in funzione della durezza del mezzo acquoso utilizzato, senza tener conto né della specie, né degli altri parametri fisico-chimici, risulta che il valore medio ($n= 18$) di LC_{50-96 h} quando la durezza è compresa tra 20 e 82 mg CaCO₃ è pari a 9,70±1,53 mg/L, ma aumenta a 34,77±4,36 mg/L ($n=15$) a durezza comprese tra 125 e 360 mg CaCO₃. Questo conferma quanto osservato dagli autori precedentemente menzionati, il fatto cioè che all'aumentare della durezza dell'acqua, la tossicità del nichel diminuisce.

Nella tabella 15 sono mostrati i valori di LC₅₀ per il rame (Cu²⁺) e per il nichel (Ni²⁺) per diversi tempi e procedure di esposizione (da 24 a 96 ore) ottenuti con *Dicentrarchus labrax* alle salinità di 20 e 28 ‰.

L'esiguità degli studi effettuati sulla spigola non consente alcuna considerazione o comparazione con quanto presente in letteratura.

Tabella 12 - Sommario degli studi di tossicità acuta con rame (II) e nichel (II) su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg CaCO ₃)	Tipo di espos.	t espos. (h)	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	LOEC/NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
Rame											
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	-	30	-	96	0,310	-	Howarth and Sprague, 1978
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	-	102	-	96	0,0307	-	Howarth and Sprague, 1978
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	-	361	-	96	0,298	-	Howarth and Sprague, 1978
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	-	120	-	96	0,1	-	Taylor et al., 2000
Nichel											
<i>Danio rerio</i>	-	-	-	22	7,9	206	S	96	>37,8	37,8	Janssen Pharmaceutica, 1993 (rapporto interno)
<i>Danio rerio</i>	-	-	-	22	7,9	250	S	96	>45	14,5	
<i>Danio rerio</i>	-	-	-	22	8,2	227	S	96	>78,6	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	6±0,18	0,082	11,0	8,0	284	F	96	19,3 (15,0-24,9)	-	Svecevicus, 2010
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	-	120	-	96	15,0	-	Pane et al., 2003
<i>Oncorhynchus kisuch</i>	a	-	-	12	7,6	41	S	96	16,7	-	Buhl and Hamilton, 1991
<i>Oncorhynchus kisuch</i>	J	-	-	12	7,6	41	S	96	18,0	-	
<i>Cyprinus carpio</i>	-	12	8	16	6,9	-	S	48	20,0-30,0	-	Muramoto, 1983
<i>Cyprinus carpio</i>	Em	-	-	25	7,4	128	S	72	6,10	-	Blaylock and Frank, 1979
<i>Cyprinus carpio</i>	L	-	-	25	7,4	128	R	72	8,46	-	
<i>Cyprinus carpio</i>	L	-	-	25	7,4	128	R	96	6,16	-	
<i>Cyprinus carpio</i>	L	-	-	25	7,4	128	R	257	0,75	-	
<i>Cyprinus carpio</i>	J	-	3,2	15	7,1	-	R	96	1,42	0,1	Alam and Maughan, 1992
<i>Cyprinus carpio</i>	J	-	6	15	7,1	-	R	96	1,97	0,5	
<i>Cyprinus carpio</i>	A	-	-	17	7,8	53	S	96	10,6	-	Rehwoldt et al., 1971
<i>Cyprinus carpio</i>	A	-	-	28	8,0	55	S	96	10,4	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	25	8,05	45	F	96	5,21	-	Lind et al., 1978
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	25	8,01	44	F	96	5,16	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	25	7,0	21	F	96	2,92	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	25	6,5	20	F	96	2,92	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	25	7,5	20	S	96	5,30	-	Pickering and Henderson, 1966
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	25	8,2	360	S	96	39,6	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	23	7,2	82	F	96	21,2	-	Cairns et al., 1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	25	8,1-8,5	44-45	F	96	5,16-5,21	-	Lind et al., 1978
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	25	7,5	20	S	96	4,9	-	Pickering and Henderson, 1966
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	25	8,2	360	S	96	43,5	-	
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	20	7,4	130	S	96	40,0	-	Ewell et al., 1986
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	25	7,8	210	S	96	32,2	-	Pickering 1974
							F	96	25,0	-	

continua tabella 12

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg CaCO ₃)	Tipo di espos.	t espos. (h)	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	LOEC/NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	25	7,4-8,5	290	S	96	3,1-3,4	-	Schubauer-Berigan 1993
<i>Poecilia reticulata</i>	6 m			25	7,5	20	S	96	4,45	-	Pickering and Henderson, 1966
<i>Poecilia reticulata</i>	-	0,18	0,015	28	7,6	178	R	96	31,1- 36,0	-	Khangarot and Ray, 1990
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	-	-	-	15	7,6	22,5	S	48	54,9	-	Bornatowicz, 1983
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	-	-	-	15	7,6	402	S	48	263	-	
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	-	-	-	12	7,9	125	-	96	28,0	-	Anderson et al., 1979
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	3 m	-	-	13	7,0	27-39	F	96	10,5	-	Nebeker et al., 1985
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	12 m	-	-	13	7,0	27-39	F	96	8,5	-	
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	a	-	-	12	7,6	41	S	96	25,1	-	Buhl and Hamilton, 1991
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	J	-	-	12	7,6	41	S	96	7,8	-	
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	-	-	-	-	7,3	82-132	F	96	35,5	-	Hale, 1977
<i>Carassius auratus</i>	-	-	-	25	7,5	20	S	96	9,82	-	Pickering and Henderson, 1966
<i>Ptycholocheilus lucius</i>	-	-	-	-	-	124	-	24	-	43	Beyers and Farmer 2001
<i>Ptycholocheilus lucius</i>	-	-	-	-	-	124	-	96	-	56	Beyers and Farmer 2001
<i>Rutilus rutilus</i>	-	-	-	11,0	8,0	-	F	96 h	48,1 (43,4-53,2)	-	Svecevicus, 2010
<i>Perca fluviatilis</i>	-	-	-	11,0	8,0	-	F	96 h	48,7 (43,3-54,9)	-	Svecevicus, 2010
<i>Leuciscus leuciscus</i>	-	-	-	11,0	8,0	-	F	96 h	61,2 (56,1-66,8)	-	Svecevicus, 2010
<i>Oreochromis mossambicus</i>	-	-	-	-	-	-	-	96 h	58,99	-	Dorey and Thatheyus, 2012

Abbreviazioni: a: avannotto; d: days (giorni); Em: embrioni; F: procedura a flusso continuo; h: hours (ore); IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%; J: Juveniles (Giovani); L: larve; LT: lunghezza totale; m: mesi; P: peso; R: procedura con rinnovo del mezzo; S: procedura statica (senza rinnovo del mezzo).

Note: ^a sinonimo di *Oncorhynchus mykiss*

Tabella 13 - Sommario degli studi di tossicità prolungata con nichel (II) su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	T (°C)	pH	Durezza (mg CaCO ₃)	Tipo di espos.	Endpoint	t espos. (d)	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	LOEC/NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Danio rerio</i>	ELS	26	7,6	100	R	t schiusa mortalità	8 14	- -	0,040 0,080	Dave and Xiu 1991
<i>Carassius auratus</i>	ELS	-	7,5	100	R	mortalità	4 ps	2,78	-	Birge and Black, 1980
<i>Ictalurus punctatus</i>	ELS	-	7,5	100	R	mortalità	4 ps	0,71	-	Birge and Black, 1980
<i>Micropterus salmoides</i>	ELS	-	7,5	100	R	mortalità	4 ps	2,06	-	Birge and Black, 1980
<i>Pimephales promelas</i>	ELS	25	7,8	210	F	riproduzione	30	-	0,38	Pickering, 1974
<i>Pimephales promelas</i>	ELS	25	7,4	102,6	F	sopravvivenza	32	-	0,057	Birge et al., 1984
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	ELS	13	7,5	100	R	mortalità	28	0,050	-	Birge and Black, 1980
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	ELS	13	7,6	125	R	mortalità	28	0,060	-	Birge and Black, 1980
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	ELS	13	7,8	174	R	mortalità	28	0,090	-	Birge and Black, 1980
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	FE	12,4	7,1	52	F	sopravvivenza	75	-	0,035	Nebeker et al., 1985
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	FE	12,1	7,1	53	F	Sopravvivenza	85	-	<0,035	Nebeker et al., 1985
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	EE	12,6	7,1	50	F	sopravvivenza	38	-	0,13	Nebeker et al., 1985
<i>Salmo gairdneri</i> ^a	L	12,6	7,1	50	F	sopravvivenza	38	-	0,70	Nebeker et al., 1985

Abbreviazioni: d: days, giorni; ELS: Early-life stage (uova, uova fecondate, embrioni, larve); F: procedura a flusso continuo; IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%; L: larve; t: tempo; ps: post schiusa; t: tempo; R: procedura con rinnovo del mezzo.

Note: ^a altro nome di *Oncorhynchus mykiss*

Tabella 14 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con rame(II) e nichel(II) su specie ittiche marine

Specie ittica	Stadio vitale/età	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	LOEC/NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
Rame									
<i>Chelon labrosus</i>	-	-	-	-	-	96 h	-	1,4	Taylor et al., 1985
<i>Fundulus heteroclitus</i>	Em-L	-	-	-	-	7 d	-	0,010	Weis and Weis, 1995
Nichel									
<i>Gasterosteus aculeatus</i> ^a	-	11,0	8,0	-	F	96 h	33,7 (31,3-36,3)	-	Svecevicus, 2010
<i>Chelon labrosus</i>	-	12	7,7	35	F	96 h	118,3	-	Taylor et al., 1985
<i>Fundulus heteroclitus</i>	-	20	7,8	20	F	96 h	350	-	Eiser and Hennekey, 1977
<i>Fundulus heteroclitus</i>	-	20	7,8	20	F	168 h	150	50	
<i>Atherinopsis affinis</i>	L 9-15d	20	-	34±1	R	96 h	0,027 (0,025-0,028)	-	Hunt et al., 2002
<i>Atherinopsis affinis</i>	-	20	-	34	F	40 d	-	3,24	IMS, 1998

Abbreviazioni: d: days (giorni); Em: embrioni; F: procedura a flusso continuo; h: hours (ore); IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%; L: larve; R: procedura con rinnovo del mezzo

Note: ^a specie anadroma;

Tabella 15 - Sommario degli studi di tossicità (acuta) con rame(II) e nichel(II) su *Dicentrarchus labrax*. I riferimenti bibliografici sono nelle schede.

Sostanza	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	t espos. (h)	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	Riferimento bibliografico
Cu ²⁺	A	130±5	ca. 20	18	-	28	48	1,27 · 10 ⁻⁴ ^a	Roméo et al., 2000
Cu ²⁺	A	130±5	ca. 20	18	-	28	48	2,5 · 10 ⁻³ ^b	Roméo et al., 2000
					-				
Cu ²⁺	J 60 d	-	-	20±1	-	20±1	24	0,98 (0,77-1,66)	Spaggiari et al., 2005
Cu ²⁺	J 60 d	-	-	20±1	-	20±1	48	0,15 (0,13-0,18)	Spaggiari et al., 2005
Cu ²⁺	J 60 d	-	-	20±1	-	20±1	96	0,092 (0,086-0,098)	Spaggiari et al., 2005
Ni ²⁺	J 60 d	-	-	20±1	-	20±1	24	8,92 (6,31-12,6)	Spaggiari et al., 2005
Ni ²⁺	J 60 d	-	-	20±1	-	20±1	48	8,32 (7,71-8,98)	Spaggiari et al., 2005

Abbreviazioni: A: adulti; ca: circa; d: days (giorni); h: hours (ore); J: Juveniles (Giovani); IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%

Note: ^a LC₅₀; ^b EC_{50-s}: Si riferisce al periodo di permeabilità della membrana dei lisosomi del pronefro. L'esposizione al rame è stata effettuata mediante iniezione intraperitoneale.

3.2 Idrocarburi aromatici

3.2.1 Benzene

Il benzene (C₆H₆) è un idrocarburo aromatico strutturato ad anello esagonale, costituito da 6 atomi di carbonio e 6 atomi di idrogeno. Anche conosciuto come benzolo, rappresenta la sostanza aromatica con la struttura molecolare più semplice e per questo viene considerato il composto-base della classe degli idrocarburi aromatici. A temperatura ambiente si presenta come un liquido incolore che evapora all'aria molto velocemente. E' caratterizzato da un odore pungente e dolciastro già percepibile alla concentrazione di 1,5-4,7 ppm.

Il benzene è una sostanza altamente infiammabile, ma la sua pericolosità è dovuta principalmente al fatto che è un cancerogeno riconosciuto per l'uomo.

Pur essendo la sua pericolosità ormai accertata, si tratta di una sostanza spesso insostituibile. Molte industrie lo impiegano per produrre altri composti chimici come lo stirene, il cumene ed il cicloesano (per creare il nylon e molte fibre sintetiche). Il benzene viene adoperato per produrre gomme, lubrificanti, coloranti, inchiostri, collanti, detergenti, solventi e pesticidi; è inoltre, un componente delle benzine dove costituisce fino all'1% in volume. La produzione mondiale annua di benzene supera ormai i 30 milioni di tonnellate e deriva per la maggior parte alla distillazione del petrolio, anche se una proporzione notevole viene ancora ottenuta dalla distillazione dell'olio di catrame di carbon fossile.

Il benzene presente nell'ambiente deriva sia da processi naturali che da attività umane. Le fonti naturali forniscono un contributo relativamente esiguo rispetto a quelle antropogeniche e sono dovute essenzialmente alle emissioni vulcaniche e agli incendi boschivi. La maggior parte del benzene presente nell'ambiente deriva in primo luogo (> 90%) dall'industria petrolchimica, è infatti un componente, insieme ad etilbenzene, toluene e xilene, del prodotto petrolifero liquido conosciuto come BTEX. Viene prodotto per distillazione e lavorazione del petrolio e del catrame di carbonfossile, per idrometilazione del toluene e debenzolaggio dei gas del carbone attivo dei forni a coke. Viene inoltre generato dalla combustione incompleta di combustibili fossili (petrolio, carbone e, in misura minore, dellegno). Inoltre è molto diffuso in commercio come reagente intermedio per la produzione di diversi prodottichimici (Nielsen et al., 1991). Benchè il D.L. 245 del 5/3/1963 ne vieti l'uso come solvente in Italia, il benzene continua ad essere impiegato in alcuni processi chimici, nei laboratori di analisi e nella raffinazione del petrolio. L'imposizione di valori limite di esposizione professionale progressivamente più bassi ed una legislazione sempre più severa hanno portato ad una progressiva riduzione del suo utilizzo e attualmente solo lo 0,74% del benzene prodotto viene adoperato come solvente nel Regno Unito, principalmente come reagente di laboratorio (De Palma, 2012).

Durante la produzione e l'uso, il benzene viene rilasciato in primo luogo nell'atmosfera sebbene sia abbastanza mobile tra i diversi comparti ambientali. Esso entra negli ecosistemi acquatici direttamente, per deposizione dall'atmosfera, o in seguito a processi di scorrimento/deflusso e lisciviazione. Scarichi di effluenti contenenti benzene possono originare da impianti di trattamento degli scarichi municipali che ricevono apporti industriali o direttamente dalle industrie.

Il benzene è stato ritrovato negli oceani, nelle acque di precipitazione, nei fiumi, nelle falde acquifere sotterranee, nelle sorgenti di acque potabili e nelle acque da bere, come anche nei sedimenti acquatici e nel biota (Jones et al. 1990; Nielsen et al., 1991). L'acqua dolce, le acque sotterranee e l'acqua estratta hanno generalmente una concentrazione media di benzene di 0,64 µg/L (range: <0,1 – 35 µg/L), anche se nella maggior parte dei campioni (72-100%) le concentrazioni sono al di sotto del limite di rilevazione (Hedgcock et al., 1997). Concentrazioni di benzene fino ad un massimo di 12,5 mg/L possono essere rilevate in siti contaminati (De Palma, 2012).

Il benzene può essere degradato da un'ampia varietà di microorganismi acqatici con velocità che dipendono da molti fattori, tra cui anche la temperatura dell'acqua e l'acclimatazione della comunità microbica. La biodegradazione aerobica presenta emivite brevi fino ad un massimo di 16 giorni. La biodegradazione anaerobica è soggetta ad un lungo periodo *lag* dell'ordine di almeno 20 settimane e risulta dipendente dalla presenza di azoto. In quest'ultimo caso sono state misurate emivite da 28 a 720 giorni (CCME, 1999).

Il benzene avendo un valore di Kow (coefficiente di partizione ottanolo/acqua) di 2,1 ha una bassa tendenza a concentrarsi negli organismi o ad adsorbirsi sul materiale organico e sul particolato dei sedimenti (Howard., 1990). Studi effettuati con i pesci, hanno rilevato valori di BCF_{pescce intero}, compresi tra 10 e 11 (SIAM 21, 2005 http://app.tisi.go.th/REACH/pdf/3_8_OECD_HPV_1.pdf). Inoltre, essendo il benzene un composto molto volatile, è probabile che la maggior rimozione dagli ambienti acquatici avvenga attraverso evaporazione (Hedgcock and Lewis, 1997). Sono stati misurati valori di emivita per l'evaporazione e la

volatilità del benzene pari a 5 e 2,7 ore, rispettivamente (CCME, 1999). Al contrario, nelle falde acquifere, dove non c'è volatilità, il benzene risulta relativamente persistente (Howard, 1990).

Le vie respiratorie rappresentano la principale via d'assorbimento del benzene nell'uomo. Per la stima della dose di benzene assorbita per via inalatoria da un uomo adulto, si assume un'inalazione di 20 m³ di aria al giorno ed un tasso di assorbimento del 50%. I bambini hanno volumi di inalazione molto più bassi; per i neonati (<1 anno di età) e i bambini fino a 10 anni sono stati stimati volumi di 4,5 e 8,6 m³/die, rispettivamente. L'assorbimento attraverso il tratto gastro-enterico è prossimo al 100% della dose ingerita, ma è limitato ad incidenti o a casi di ingestione a scopo suicida. Anche l'assorbimento cutaneo è significativo e la velocità è stata stimata in 0,4 mg/cm²/h.

Una volta assorbito, il benzene raggiunge il circolo ematico. Da qui si distribuisce in modo simile nei vari parenchimi per poi accumularsi nel tessuto adiposo. Nel fegato, il benzene viene ossidato, dando luogo a composti aromatici idrossilati, che successivamente sono coniugati con acido glucuronico, solforico e glutatione e infine eliminati con l'urina. L'ossidazione del benzene ad opera delle ossidasi del citocromo P450 dipendenti, determina la formazione di benzene epossido, un composto altamente reattivo per le molecole nucleofile come gli acidi nucleici (DNA, RNA) e le proteine. Il benzene epossido si trasforma spontaneamente in fenolo per dare origine, in seguito ad ulteriori processi di ossidazione, ad idrochinone e catecolo; da quest'ultimo, per rottura dell'anello benzenico, origina l'aldeide t,t-muconica, degradata poi, per ossidazione dei radicali aldeidici, ad acido t,t-muconico (t,t-AM). Il benzene epossido può inoltre essere coniugato con molecole di glutatione (per intervento di enzimi della famiglia delle glutatione-S-transferasi) generando, dopo la perdita del residuo glutammico e glicinic e dopo un processo di acetilazione, l'acido S-fenilmercapturico (S-PMA) che viene eliminato con le urine. Il p-idrochinone viene invece ossidato a 1,2,4-idrossibenzene (o benzenetriolo). Tutti i metaboliti con sostituenti alcolici, quali fenolo, catecolo, p-idrochinone, 1,2,4-tri-idrossibenzene possono inoltre andare incontro a processi di coniugazione con acido glucuronico e solforico. I metaboliti del benzene possono formare addotti con il DNA, l'RNA e le proteine come l'emoglobina e l'albumina. Il benzochinone, per esempio, è un composto elettrofilo che può reagire con i siti nucleofili delle macromolecole con un'azione tossica e cancerogena o può reagire con il GSH formando un idrochinone sostituito ed essere così detossificato. L'enzima NADPH chinone ossido-reduttasi (NQO1) svolge un'azione protettiva, perché antagonizza le reazioni catalizzate dalla MPO e riduce la produzione di benzochinoni (redox cycling). Diversi studi hanno dimostrato che il midollo osseo è capace di metabolizzare il benzene in prodotti che si legano alle macromolecole e quindi capaci di formare addotti con le basi del DNA, specialmente la guanina ed in misura minore l'adenosina (Figura 11) (De Palma, 2012).

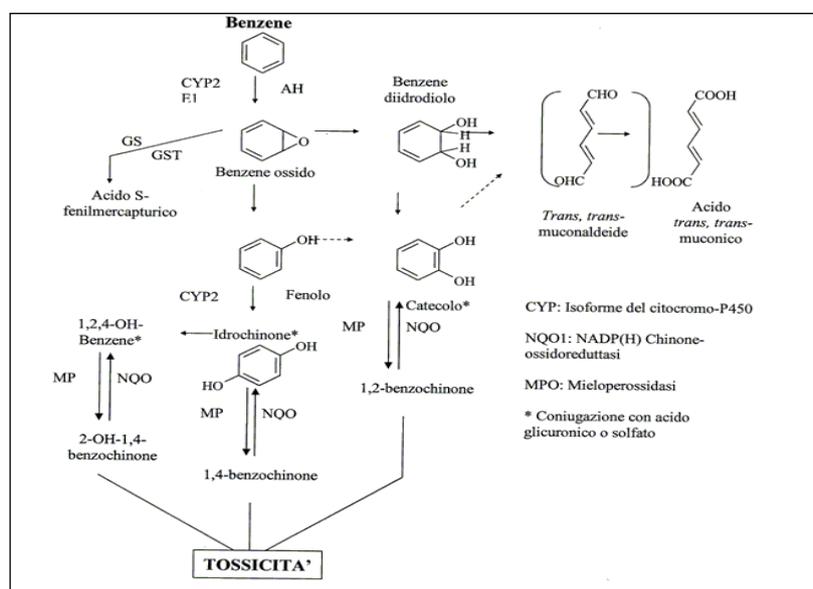


Figura 11 - Metabolismo del benzene nell'uomo. Tratto da De Palma, 2012.

Il benzene è un inquinante prioritario (allegato I Direttiva 2013/39/UE) per il quale sono stabiliti gli SQA, mostrati nella tabella 16.

Tabella 16 - Standard di Qualità Ambientale per il benzene

SQA-AA ¹ acque superficiali interne ²	SQA-AA ¹ altre acque di superficie	SQA-CMA ³ acque superficiali interne ¹	SQA-CMA ³ altre acque di superficie	SQA Biota ⁴
10 µg/L	8 µg/L	50 µg/L	50 µg/L	-

Note: ¹ Valore medio annuo; ² Si intendono i fiumi, laghi e i corpi idrici artificiali o fortemente modificati; ³ Concentrazione massima ammissibile

⁴ Se non altrimenti indicato, si riferisce ai pesci. Un taxon del biota alternativo o un'altra matrice possono essere monitorati, purchè l'SQA applicato garantisca un livello equivalente di protezione.

Nelle tabelle 17 e 18 sono dati riassunti gli studi di tossicità acuta e prolungata con il benzene su diverse specie ittiche di acqua dolce e marino-salmastrea, rispettivamente. I dati relativi branzino alla spigola *D. labrax* sono riportati nella tabella 18.

Per la denominazione comune, italiana e inglese, delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda l'allegato 1 alla presente pubblicazione.

La maggior parte degli studi registrati nei database disponibili (ECOTOX, NICNAS, Rapporti EPA, ecc.) sono stati effettuati nelle decadi '80 e '90. Mancano studi recenti e soprattutto sono pochissimi i dati attendibili riguardanti le specie marine. Anche la tossicità cronica è stata indagata raramente. I valori di LC_{50-96 h} per le specie d'acqua dolce variano da un minimo di 0,28 mg/L ottenuto con trote di 4,6-6,4 cm di lunghezza totale (Hodson et al., 1984) ad un massimo di 600 mg/L ottenuto con *Lepomis macrochirus* di 0,2 g (Mayer and Ellersieck, 1986).

Tuttavia, i dati devono essere analizzati anche tenendo conto della durezza e del pH del mezzo di esposizione. Nella maggior parte degli studi riportati sono stati utilizzati mezzi acquosi con bassi livelli di durezza (12-162 mg/L CaCO₃) e pH compresi tra 6,5 e 8,5. Sebbene nello studio di Mayer and Ellersieck siano state effettuate valutazioni di tossicità impiegando diversi valori di durezza (44, 162 e 300), di temperatura (17, 19 e 22 °C) e di pH (6,5, 7,4 e 8,0) con organismi di 0,2 e 0,5 g, i risultati ottenuti non permettono di fare valutazioni in merito all'influenza di questi parametri sulla sensibilità al benzene. L'enorme variabilità di condizioni di esposizione impiegate non consente di effettuare valutazioni comparative né all'interno di una stessa specie, né tra specie differenti.

Tabella 17 – Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con benzene su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg CaCO ₃)	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	5-8 w	-	-	15	7-8	-	48 h	56,0	-	Sloof et al., 1983
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	13,9	0,11	15	7,9-8	535	96 h	5,3	-	De Graeve et al., 1982
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	4,6-6,4	14,1-16,5	7,6	86 ^a	96 h	0,28	-	Hodson et al., 1984
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	7,6-9,6	13,3	8,04-8,21	86 ^a	96 h	32,3	-	Hodson et al., 1984
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	7,0-9,9	13,9-16,2	8,0-8,25	86 ^a	96 h	25,8	-	Hodson et al., 1984
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	12	-	-	96 h	5,9	-	Galassi et al., 1988
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	2,4	-	12	7,4	44	96 h	9,2 (7,2-11,7)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Carassius auratus</i>	-	1-2	1,5-2,5	-	-	-	96 h	34,4	-	Pickering and Henderson, 1966
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,2	-	17	7,4	44	96 h	230 (181-291)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,2	-	19	6,5	44	96 h	600 (481-748)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,2	-	19	7,4	44	96 h	450 (349-580)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,2	-	19	8,5	44	96 h	290 (178-473)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,2	-	22	7,4	44	96 h	100 (70-142)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	17	8,0	12	96 h	370 (285-481)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	17	8,0	44	96 h	260 (213-311)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	17	8,0	162	96 h	102 (86-120)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	17	8,0	300	96 h	165 (116-234)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Pimephales promelas</i>	-	1-2	1,5-2,5	-	-	-	96 h	32-33,5	-	Pickering and Henderson, 1966
<i>Pimephales promelas</i>	3-4 w	-	-	20	-	-	48 h	84,0	-	Sloof et al., 1983
<i>Pimephales promelas</i>	L <24 h	-	-	25	7,7	45,5	96 h	15,6 (14,0 -17,3)	-	Marchini et al., 1992
<i>Pimephales promelas</i>	J 30 d	-	-	25	7,7	45,5	96 h	24,6 (21,4-28,1)	-	Marchini et al., 1992
<i>Pimephales promelas</i>	30 d	-	-	22,3	7,0	50,7	96 h	12,5 (10,7-14,7)	-	Database ECOTOX
<i>Pimephales promelas</i>	30 d	-	-	22,3	7,0	50,7	96 h	12,6 (10,7-14,7)	-	Geiger et al., 1990
<i>Pimephales promelas</i>	L <24 h	-	-	25	7,7	45,5	7 d	14,0 (12,4-15,9)	LOEC: 17,2 NOEC: 10,2	Marchini et al., 1992
<i>Oryzias latipes</i> ^b	4-5 w	-	-	24	-	-	48 h	250,0	-	Sloof et al., 1983
<i>Oryzias latipes</i> ^b	-	-	-	10	-	-	48 h	74,0	-	Tsuji et al., 1986
<i>Oryzias latipes</i> ^b	-	-	-	20	-	-	48 h	70,0	-	Tsuji et al., 1986
<i>Oryzias latipes</i> ^b	-	-	-	30	-	-	48 h	54,0	-	Tsuji et al., 1986
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	-	21	-	-	96 h	28,6	-	Galassi et al., 1988
<i>Lebistes reticulatus</i> ^c	-	-	-	-	-	-	14 d	63,0	-	NICNAS Report, 2001
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	0,1	-	22	7,4	44	96 h	425 (357-505)	-	Mayer and Ellersieck, 1986

Abbreviazioni: a: avannotto; E: eggs (uova); d: days (giorni); h: hours (ore); IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%; J: Juveniles (giovani); L: larve; LT: lunghezza totale; P: peso; w: weeks (settimane)

Note: ^a: alcalinità espressa in mg CaCO₃; ^b Specie presente anche in acque salmastre; ^c sinonimo di *Poecilia reticulata*;

Tabella 18 - Sommario degli studi di tossicità acuta con benzene su specie ittiche d'acqua marina/salmastra.

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg CaCO ₃)	Salinità (‰)	tempo espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Mugil curema</i>	J	0,5-1	-	-	-	-	35	48 h	22,0	Correa et al., 1990
<i>Morone saxatilis</i>	-	1,5±0,5	0,05	17,4	7,7	115 ^a	29	96 h	10,9 ± 0,2 µl/L	Meyerhoff, 1975
<i>Oncorhynchus gorboscha</i> ^b	a	-	-	-	-	-	-	96 h	4,6	CCME, 1999
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^b	E	-	-	-	-	-	-	96 h	476,0	CCME, 1999
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,33	3,5	20±1	-	-	20±1	24 h 48 h 96 h	133,4 (100-178) 118,9 (96,8-146,1) 75,0 (56,3-100)	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)

Abbreviazioni: d: days (giorni); h: hours (ore); IC95%: Intervallo di Confidenza al 95%; J: Juveniles (giovanili)

Note: ^a alcalinità espressa in mg CaCO₃; ^b Specie anadroma

3.3 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)

3.3.1 Naftalene, pirene e benzo(a)pirene

Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) sono un'ampia classe di composti organici, costituiti dalla fusione di due o più anelli benzenici, che si formano durante la combustione incompleta e la pirolisi di materiali organici. L'interesse scientifico per questa classe di composti è legato soprattutto alla riconosciuta azione cancerogena che alcuni di essi hanno dimostrato e che ne ha determinato l'inserimento nella lista degli inquinanti prioritari (Direttiva 39/2013/CE) per i quali sono definiti SQA specifici

Le proprietà chimico-fisiche degli IPA sono di estrema importanza poiché da esse dipendono la distribuzione e la reattività di questi composti nell'ambiente. Gli IPA sono composti idrofobici solidi a temperatura ambiente e con punti di ebollizione e di fusione elevati. La loro persistenza negli ecosistemi è dovuta principalmente alla scarsa solubilità in acqua. In generale, la solubilità e la volatilità decrescono con l'aumentare del numero di anelli benzenici fusi, mentre la idrofobicità si comporta in modo opposto. La solubilità diminuisce ulteriormente se in soluzione sono presenti soluti ionici. Questo effetto si misura mediante la costante K_s . Tanto maggiore è il valore di K_s , tanto più idrofobo sarà il comportamento della sostanza in soluzione.

Gli IPA, sono una famiglia di inquinanti organici divenuti ormai ubiquitari. Le fonti da cui derivano possono essere sia naturali che antropiche. Per quanto riguarda le fonti naturali, gli IPA si possono formare in tre modi: pirolisi ad alta temperatura di materiali organici (incendi di foreste e pratiche di incenerimento agricolo), diagenesi a bassa temperatura di materiali organici sedimentari che portano alla formazione di combustibili fossili e biosintesi diretta da parte di microrganismi e piante.

La combustione incompleta, ad alta temperatura, di materiale organico è una delle principali sorgenti antropogeniche di IPA nell'ambiente. Le sorgenti ambientali di IPA da processi pirolitici sono diverse: raffinerie di petrolio, produzione di asfalto, produzione di carbon coke, cibi affumicati, fumo di sigarette, inceneritori di rifiuti, combustione di combustibili fossili, centrali termoelettriche che hanno come prodotti di scarto sostanze solide, liquide e gassose in cui possono essere presenti IPA.

Gli IPA sono rilasciati nell'aria sia direttamente che per evaporazione dai suoli o dalle acque. Adsorbiti alle particelle di polvere nell'atmosfera, subiscono la fotoossidazione in presenza della luce solare. Poiché gli IPA sono insolubili in acqua, spesso si ritrovano adsorbiti sul particolato e tendono in questa forma a precipitare nelle acque dei laghi e dei fiumi, oppure, solubilizzati in materiale oleoso, possono contaminare acque, sedimenti e suoli.

Gli idrocarburi policiclici aromatici possono essere degradati attraverso due vie: abiotica e biotica. La prima comporta l'accumulo, la fotoossidazione e la fissazione irreversibile alla matrice che compone suolo o sedimenti. La fotoinduzione si verifica quando una molecola assorbe radiazioni solari nella regione degli UV. Le molecole fotoattivate degli IPA possono interagire con i substrati organici generando radicali liberi altamente reattivi e tossici per gli organismi.

La via biotica comporta la rimozione attraverso la degradazione aerobica e anaerobica ad opera di batteri, funghi, cianobatteri e alghe eucariotiche. La degradazione in ambiente aerobico di molecole aromatiche è conosciuta molto bene per quanto riguarda il benzene, mentre gli studi riguardanti la degradazione degli IPA veri e propri sono tutt'ora in corso, anche se sono stati fatti notevoli progressi in questi ultimi anni. La degradazione anaerobica non è del tutto compresa, mentre in quella aerobica l'ossigeno è l'accettore terminale di elettroni, ed è incorporato nell'anello aromatico già al primo step di reazione. Non è chiaro, invece, come avviene la degradazione in sua assenza. Tuttavia nei sedimenti marini e lacustri, scarsamente ossigenati, tale degradazione è stata osservata. Il fattore critico sembra essere rappresentato dal potenziale redox; quest'ultimo influenza infatti l'attività metabolica dei microrganismi. I batteri denitrificanti operano la rimozione degli IPA in presenza di un eccesso di nitrati e in presenza di una fonte di carbonio. Nei sedimenti marini vi è abbondanza di solfati [e in caso di assenza di ossigeno, di nitrati e Fe(III)] e questo rende possibile la rimozione degli IPA, attraverso vie biochimiche ancora oggetto di indagine. Sembra che lo stesso solfato sia l'accettore terminale di elettroni in molte vie metaboliche, così come lo è il Fe(III) grazie ai batteri ferro-riduttori. La coppia Fe(III)/Fe(II) ha una elevata elettropositività (+ 0,2 Volt a pH 7) quindi la sua riduzione può essere accoppiata all'ossidazione di molte molecole organiche donatrici di elettroni, IPA compresi.

Ma sono soprattutto i funghi a rimuovere gli IPA, soprattutto il naftalene e il benzo[a]pirene. Le specie in grado di biodegradare gli IPA sono quasi tutte di origine tropicale e rimuovono questi xenobiotici in

condizioni di elevata temperatura. Questi funghi possono essere caratterizzati dalla presenza di perossidasi, o di enzimi del gruppo del citocromo P-450, che introducono un atomo di ossigeno molecolare all'interno dell'anello benzenico, formando un arene che spontaneamente isomerizza a fenolo e che infine è modificato in un diidrodiole. La capacità dei funghi di degradare gli xenobiotici, tra cui gli IPA è notevole, e sono molto interessanti gli aspetti applicativi, che riguardano quella che attualmente viene definita *bioremediation* (o *mycoremediation*). Le alghe degradano gli IPA in condizioni di fotoautotrofia. Tuttavia non sono noti gli enzimi coinvolti, che probabilmente, nel caso dei Cianobatteri, sono monossigenasi, mentre nelle alghe eucariotiche sono diossigenasi.

Gli IPA sono composti lipofilici e quindi tendono ad accumularsi nei tessuti degli organismi esposti. Il metabolismo degli IPA è un tipico esempio di attivazione metabolica che si verifica nell'uomo, ma anche in altri vertebrati, come ad esempio i pesci. Gli enzimi di fase I convertono gli idrocarburi policiclici, che di per sé sono relativamente inerti, in intermedi epossidici, per addizione dell'ossigeno ad uno o più dei doppi legami. La reazione di ossidazione è catalizzata prevalentemente dalle idrossilasi CYP1A1 (AHH) e dalla CYP1A2 (monoossigenasi citocromo P450-dipendenti). Gli IPA presentano un elevato numero di posizioni ossidabili e i metaboliti prodotti sono altamente elettrofili e molto instabili. Per la loro elevata reattività possono attaccare le macromolecole biologiche nucleofile come le proteine o il DNA, se non vengono prontamente idrolizzati o coniugati dagli enzimi di fase II. L'idrolisi dell'anello epossidico ad opera dell'eossido idrolasi (EH) porta alla formazione del corrispondente diidrodiole, meno reattivo e quindi anche meno genotossico. Tuttavia, alcuni intermedi possono andare incontro ad ulteriori ossidazioni: per esempio, il benzo(a)pirene-7,8-eossido viene convertito a benzo(a)pirene-7,8-diidrodiole, che poi viene ossidato a benzo(a)pirene-7,8-diidrodiole-9,10-eossido (BPDE). Quest'ultimo, che non è substrato dell'EH, può scaricare il suo potenziale elettrofilo sui bersagli cellulari, per esempio si può legare covalentemente alle purine, dando origine ad addotti. I molluschi sembrano meno propensi e sensibili a formare addotti, poiché metabolizzano il benzo[a]pirene in intermedi meno reattivi: 6,12-chinone, oppure 1,6 o anche 3,6-chinone.

Il benzo(a)pirene-7,8-diidrodiole può essere anche convertito in derivati catecolici e chinonici dalla diidrodiole-deidrogenasi (DDH). Questa reazione previene la formazione del BPDE, ma la produzione di chinoni può avere conseguenze tossiche non trascurabili.

La detossificazione dei prodotti dell'ossidazione degli IPA avviene per coniugazione mediata dalle UGT (UDP glucuronosiltransferasi) e GST (glutazione S-transferasi) che ne facilitano l'escrezione sotto forma di glucuronidi-coniugati e di acidi mercapturici, o dalle SULT (Cytosolic sulfotransferasi) che producono esteri solfato che tendono a decomporsi spontaneamente, generando composti altamente cancerogeni.

L'ossidazione da parte della AHH, espressa nel polmone, è fondamentale nella conversione degli IPA in potenti agenti genotossici, considerati tra i principali responsabili dell'insorgenza del cancro del polmone.

Il bilancio tra la fase I e la fase II del metabolismo degli IPA risulta quindi critico, perché può determinare la prevalenza degli effetti cancerogeni degli intermedi ossidati sull'escrezione dei loro derivati idrosolubili (Migliore, 2004).

Il più semplice degli IPA è il **naftalene** (comunemente chiamato naftalina) che, strutturalmente, deriva dalla fusione di due molecole di benzene (figura 12). A temperatura ambiente è un solido cristallino bianco dall'odore intenso e caratteristico. Moderatamente solubile in acqua, si scioglie abbastanza bene nell'etanolo

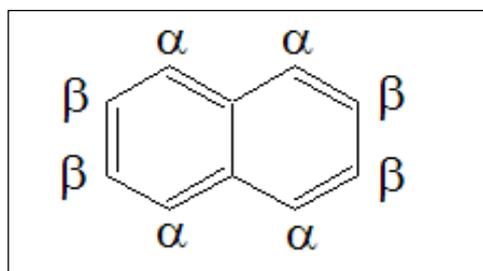


Figura 12 - Struttura del naftalene ($C_{10}H_8$).
N° CAS 91-20-3

(77 g/l a 20 °C) e, ancora meglio, nei solventi organici. Si ottiene per distillazione dal catrame, dal carbone e dal petrolio. Oltre all'impiego nell'industria chimica principalmente come materia prima per la sintesi dell'anidride ftalica e di coloranti (Acido H), trova uso domestico anche come insetticida, specialmente contro le tarme. In passato è stato utilizzato come combustibile nel campo automobilistico e ferroviario. Reagisce con sostanze ossidanti quali il permanganato di potassio per dare l'acido ftalico, oppure, in condizioni di ossidazione

più blande, per esempio con anidride cromica, un naftochinone. Può essere inoltre ridotto con sodio metallico in ammoniacca liquida e etanolo (condizioni della riduzione di Birch) per dare l'1,4 diidronaftalene.

Come il benzene, subisce facilmente reazioni di sostituzione elettrofila aromatica, orientate prevalentemente in α (posizione 1); in misura minore la sostituzione può avvenire in β (posizione 2), che è meno reattiva, ma anche meno ingombra a livello sterico.

Il naftalene è moderatamente solubile in acqua. Circa il 96% del naftalene si disperde nell'aria, il 3% nell'acqua e circa lo 0,5% nei suoli terrestri e nei sedimenti acquatici. Nell'atmosfera il naftalene si fotodegrada rapidamente. Nell'acqua si degrada per volatilizzazione, fotolisi, assorbimento e biodegradazione. Nel suolo viene assorbito moderatamente e subisce biodegradazione.

Il **Pirene** (figura 13) è un idrocarburico policiclico aromatico costituito da 4 anelli benzenici condensati. Si forma durante la combustione incompleta dei composti organici.

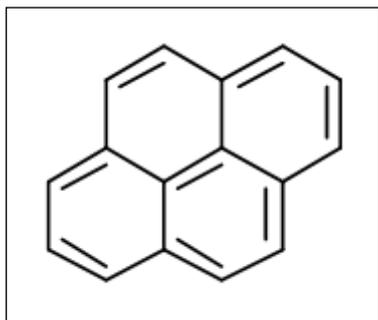


Figura 13 - Struttura del pirene ($C_{16}H_{10}$).
N° CAS 129-00-0

Viene utilizzato nella produzione di coloranti e di loro precursori (ad esempio la piranina). La solubilità in acqua è inferiore a 1 mg/mL a 22 °C. È solubile in toluene, bisolfuro di carbonio, etere di petrolio, etere e benzene. Il Pirene reagisce con ossidi di azoto a formare nitroderivati, nonché con acido nitrico al 70%. In normali condizioni di laboratorio è stabile, così come sono stabili le soluzioni in acqua, dimetilsolfossido, etanolo (95%) e acetone se mantenute per 24 ore..

Il rilascio di pirene nell'ambiente è molto diffuso,

poiché questo composto è un prodotto comune di combustione incompleta. È largamente associato a particolato, particelle di suolo e sedimenti. Sebbene le maggiori concentrazioni si abbiano nei pressi delle fonti di emissione, la sua presenza in luoghi anche molto distanti da esse indica che il pirene è piuttosto stabile nell'atmosfera e può essere trasportato a lunga distanza. Nell'atmosfera può subire fotolisi diretta, sebbene l'adsorbimento al particolato possa apparentemente ritardare questo processo. La sua emivita in fase di vapore dipende dalla reazione con gli altri inquinanti atmosferici: è di 0,67 giorni con l'ozono e di 14 giorni con biossido di azoto. Con i radicali ossidrilici prodotti fotochimicamente, la sua emivita stimata è di 1,12 giorni. Liberato nell'acqua viene adsorbito fortemente dai sedimenti e dal particolato, si bioconcentra negli organismi acquatici, ma non subisce idrolisi. Nei pressi della superficie delle acque può subire una significativa biodegradazione e una fotolisi diretta. Importante può essere anche l'evaporazione, in seguito alla quale l'emivita può variare da 4,8 a 39,2 giorni in un fiume o di 1176 giorni in uno stagno. L'adsorbimento ai sedimenti limita l'evaporazione. Se liberato nel suolo si ritiene venga fortemente adsorbito dalle particelle di terreno e per questo non dovrebbe lisciviare in misura apprezzabile nella falda, sebbene il suo rinvenimento in essa dimostra che può comunque raggiungerla. Si ritiene che non evapori né venga idrolizzato dal terreno ove può comunque biodegradarsi in buona parte.

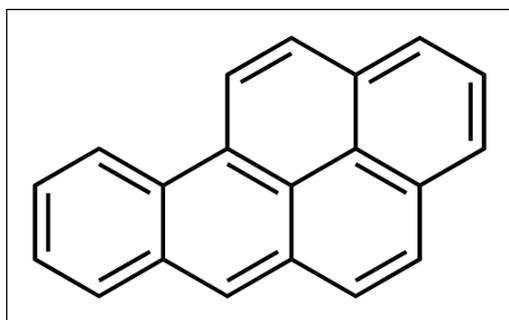


Figura 14 - Struttura del benzo(a)pirene ($C_{20}H_{12}$).
N° CAS 50-32-8

Uno degli IPA più studiati è il **Benzo(a)pirene (BaP)** che ha una struttura con cinque anelli benzenici condensati (figura 14). Nella tabella 19, sono riportate le indicazioni di pericolo per il BaP.

La solubilità in acqua è minore di 1 mg/mL a 17 °C. Ha un P_{ow} pari a 6,04.

Il BaP, come altri IPA, si forma durante la combustione incompleta o la pirolisi di materiale organico, quale carbone, legno, prodotti petroliferi e rifiuti. È ubiquitario e si ritrova in tutti i comparti ambientali, nei quali entra soprattutto attraverso l'atmosfera.

Il BaP può essere ossidato da ozono, acido cromico e dagli agenti cloruranti e può reagire con gli ossidanti organici ed inorganici, inclusi vari elettrofili, perossidi, ossidi di azoto e ossidi di zolfo. Non è infiammabile. Subisce fotoossidazione per irradiazione con luce solare o con fluorescenza in solventi organici. Nell'aria subisce fotolisi diretta, anche se l'adsorbimento sul particolato può ritardare questo processo. Può inoltre essere allontanato per reazione con ozono (emivita: 37 minuti) e biossido di azoto (emivita: 7 giorni), mentre l'emivita stimata della reazione che produce fotochimicamente radicali liberi nell'aria è di 21,49 ore.

Il BaP, se rilasciato in acqua, viene adsorbito molto velocemente nei sedimenti e nel particolato; tende a bioconcentrarsi negli organismi acquatici per i quali risulta molto tossico, anche con effetti a lungo termine. Nelle acque superficiali è soggetto a fotolisi con un'emivita media di 4,4 ore.

Tabella 19 - Indicazioni di pericolo per il benzo(a)pirene

Classe e categoria di pericolo	Avvertenza	Descrizione
Cancerogenicità Categoria di pericolo 1B	Pericolo	H350 - Può provocare il cancro (indicare la via di esposizione se è accertato che nessun'altra via di esposizione comporta il medesimo rischio).
Mutagenicità sulle cellule germinali Categoria di pericolo 1B	Pericolo	H340 - Può provocare alterazioni genetiche (indicare la via di esposizione se è accertato che nessun'altra via di esposizione comporta il medesimo pericolo).
Tossicità per la riproduzione Categoria di pericolo 1B	Pericolo	H360Fd - Può nuocere alla fertilità. Sospettato di nuocere al feto.
Sensibilizzazione cutanea Categoria di pericolo 1 (della pelle)	Attenzione	H317 - Può provocare una reazione allergica della pelle.
Pericoloso per l'ambiente acquatico - pericolo acuto, categoria 1	Attenzione	H400 - Altamente tossico per gli organismi acquatici.
Pericoloso per l'ambiente acquatico - pericolo cronico, categoria 1	Attenzione	H410 - Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Nel suolo viene adsorbito fortemente dai sedimenti e non liscivia in maniera significativa nelle acque sotterranee. Non si idrolizza o evapora in maniera apprezzabile, ma può essere soggetto a biodegradazione. Nella figura 15 è mostrata la formazione del *benzo(a)pirene-7,8-diidrodiolo-9,10-epossido* (BPDE), principale metabolita cancerogeno del BaP, e del suo addotto alla base del DNA guanosina.

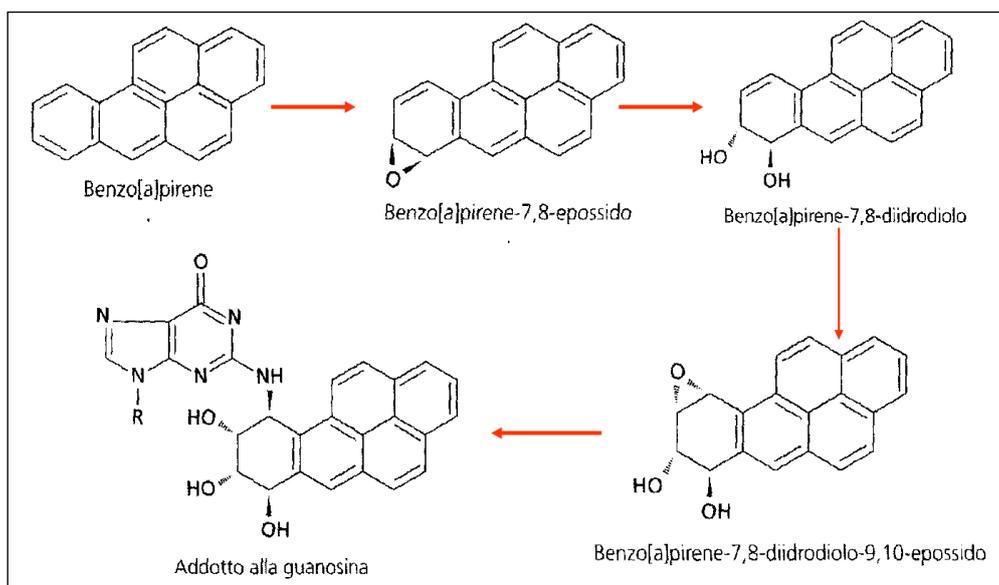


Figura 15 - Formazione del benzo(a)pirene-7,8-diidrodiolo-9,10-epossido (BPDE) e il suo addotto al DNA

Naftalene, e benzo(a)pirene sono inquinanti prioritari (allegato I Direttiva 2013/39/UE) per i quali sono stabiliti gli SQA, mostrati nella tabella 20.

Tabella 20 - Standard di Qualità Ambientale per naftalene e benzo(a)pirene

IPA	SQA-AA ¹ acque superficiali interne ²	SQA-AA ¹ altre acque di superficie	SQA-CMA ³ acque superficiali interne ¹	SQA-CMA ³ altre acque di superficie	SQA Biota ⁴
Naftalene	2 µg/L	2 µg/L	130 µg/L	130 µg/L	-
Benzo(a)pirene	1,7·10 ⁻⁴ µg/L	1,7·10 ⁻⁴ µg/L	0,27 µg/L	0,027 µg/L	5µg/Kg

Note: ¹ Valore medio annuo; ² Si intendono i fiumi, laghi e i corpi idrici artificiali o fortemente modificati; ³ Concentrazione massima ammissibile; ⁴ Se non altrimenti indicato, si riferisce ai pesci. Un taxon del biota alternativo o un'altra matrice possono essere monitorati, purchè l'SQA applicato garantisca un livello equivalente di protezione. Per le sostanze recanti il numero 28 (IPA) l'SQA per il biota si riferisce a crostacei e molluschi.

Nelle tabelle 21 e 22 sono riassunti gli studi di tossicità, acuta e prolungata (da 20 ore a 40 giorni), relativi al naftalene e al benzo(a)pirene su diverse specie ittiche d'acqua dolce e marino-salmatra, rispettivamente. Per la denominazione comune, italiana e inglese, delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda l'allegato 1 alla presente pubblicazione.

Nella tabella 22 sono riportati anche gli studi effettuati con la spigola *D. labrax*. Per questa specie, oggetto della presente rassegna, è riportato anche il dato relativo al pirene.

Per quanto riguarda la tossicità acuta del naftalene a 96 ore, i valori di LC₅₀ risultano compresi, per le specie d'acqua dolce, tra 1,6 mg/L (DeGraeve et al., 1982) ottenuto su giovanili di *O. mykiss* (durezza dell'acqua: 535-596 mg/L CaCO₃) e 11,8 mg/L (Korn and Rice, 1981) ottenuto su uova di *O. kisutch*, che, a causa delle membrane di rivestimento, risultano sempre meno sensibili degli altri stadi vitali. Il valore medio di LC_{50-96h} è pari a 4,75±0,67 (n= 19) per tutte le specie d'acqua dolce degli studi esaminati.

Nel caso delle specie marine i dati di LC_{50-96 h}, che si riferiscono ad una sola specie (salmone rosa) e a due soli studi (Korn et al., 1979 e Moles and Rice, 1983) sono compresi tra 1,2 e 1,84 mg/L.

Alcuni studi consentono di fare delle valutazioni all'interno di una stessa specie. Ad esempio, Edsall et al., 1991 ha utilizzato cinque diverse razze di larve di trota (*O. mykiss*): Arlee, Redband, Shasta, Wytheville e Erwin, per verificarne la sensibilità al naftalene. I valori di LC_{50-96h} mostrano che le diverse razze hanno sensibilità differenti: Arlee 1,8 (0,91-2,82) mg/L; Redband 2,6 (1,5-4,05) mg/L; Shasta (4,4 (3,3-5,4) mg/L; Wytheville (5,5 (4,07-6,07) e Erwin 6,1 (3,68-9,84) mg/L.

In media, il valore di LC_{50-96h} per il naftalene nella specie *P. promelas*, pari a 6,35±1,08 mg/L, risulta più elevato (quindi la specie è meno sensibile) del valore medio di LC_{50-96h} ottenuto per le due specie *O. mykiss* e *O. kisutch* considerate insieme, pari a 3,37 ±0,51 mg/L. Dalla valutazione è stato escluso il valore di LC_{50-96 h} ottenuto sulle uova di trota (Korn and Rice, 1981).

I dati di tossicità relativi al benzo(a)pirene sono troppo esigui per consentire una valutazione comparativa.

Parimenti, i dati di tossicità con la spigola sono tali da non consentire valutazioni comparative con le altre specie.

Tabella 21 – Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con naftalene e benzo(a)pirene su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg CaCO ₃)	Salinità (‰)	t espos.	Tipo di espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	Riferimento bibliografico
<u>Naftalene</u>											
<i>Danio rerio</i>	Em 4 hpf	-	-	28	6,8-7,0	-	-	20 h	-	0,4-4	Tilton et al., 2006
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	3,9	0,09	15	7,9-8,0	535-596	-	96 h	F	1,6	DeGraeve et al., 1982
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	6,0	0,08	-	-	-	-	96 h	F	2,25	Bergmann and Anderson, 1977
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,9	-	-	-	-	-	96 h	R	2,0 (1,8-2,3)	EPA, 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L 13-21 dph	-	-	12	-	160-190	-	96 h	S	da 1,8 (0,91-2,82) ^a 6,1(3,68-9,84) ^a	Edsall, 1991
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	E e L	-	-	13-14	7,4-8,1	87-116	-	27 d	F	0,12 (0,09-0,16)	Millemann et al., 1984
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Em	-	-	13-14	7,4-8,1	87-116	-	23 d	F	0,12 (0,10-0,14)	Black et al., 1983
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	Em	-	-	13-14	7,4-8,1	87-116	-	27 d	F	0,11 (0,10-0,14)	Black et al., 1983
<i>Pimephales promelas</i>	31-35 d	0,12	-	24,6	7-8	43 alc	-	24 h	F	7,76 (7,39-8,14)	Holcombe et al., 1984
<i>Pimephales promelas</i>	31-35 d	0,12	-	24,6	7-8	43 alc	-	48 h	F	6,35 (5,95-6,77)	Holcombe et al., 1984
<i>Pimephales promelas</i>	31-35 d	0,12	-	24,6	7-8	43 alc	-	72 e 96 h	F	6,08 (5,74-6,44)	Holcombe et al., 1984
<i>Pimephales promelas</i>	J 26-34 d	-	-	25	7,8	45	-	96 h	F	6,14	Broderius et al., 1995
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,9	0,016	15	7,9-8,0	535-596	-	96 h	F	7,9	DeGraeve et al., 1982
<i>Pimephales promelas</i>	16 w	0,2	2,2	21,5	6,9-8,2	150	-	96 h	F	9,93	BioDynamics 1987
<i>Pimephales promelas</i>	34 d	-	-	24,5	7,4	44	-	96 h	F	6,14 (5,79-6,50)	Geiger et al., 1985
<i>Pimephales promelas</i>	J	0,3	0,03	20	-	-	-	96 h	S	1,90 (1,30-4,01)	Millemann et al 1984
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,62	-	-	-	-	-	96 h	R	3,20 (2,30-4,50) NOEL: 1,4 mg/L	EPA, 2013
<u>Benzo(a)pirene</u>											
<i>Danio rerio</i>	Em 2,5 hpf	-	-	26	-	-	-	70 h	S	5,1	Weigt et al., 2011
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	5-7 m	-	-	12	7,9	200 alc	-	7 d	F	M 0%: 0,001	Hook et al., 2006
<i>Pimephales promelas</i>	L 7 dph	-	-	-	-	-	-	40 h	S	T ₅₀ :5,6	Oris, 1987

Abbreviazioni: a: avannotto; alc: alcalinità; d: days (giorni); dph: days post hatched (giorni dopo la schiusa); E: eggs (uova); Em: embrioni; F: test a flusso continuo; L: larve; J: Juveniles (giovanili); m: mesi; M 100%: mortalità del 100 per cento; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; hpf: hours post fertilization (ore dopo la fecondazione); h: hours (ore); R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico senza rinnovo del mezzo; T₅₀: Tempo necessario alla morte del 50% degli organismi; w: weeks (settimane)

Note: ^a intervallo di tossicità relativo a esperimenti effettuati con cinque razze diverse di larve di trota, anche se della stessa età; le larve hanno ancora il sacco vitellino.

Tabella 22 – Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con naftalene e benzo(a)pirene su specie ittiche d'acqua marino/salmastra

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<u>Naphtalene</u>											
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	-	-	-	S	24 h	2,4	-	Anderson et al., 1974
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	a	1-2	4,5-5,5	12	-	-	-	24 h	0,92 (0,78-1,08)	-	Thomas and Rice, 1979
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	a	0,4	0,04	12	-	26-28	S	24 h	1,38 (1,09-1,75)	-	Korn et al., 1977
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	a	0,4	0,04	4	-	26-28	S	24 h	1,56 (1,30-1,87)	-	Korn et al., 1977
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	a	0,4	0,04	8	-	26-28	S	24 h	1,84 (1,22-2,80)	-	Korn et al., 1977
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	a	-	-	10-12	-	-	F	48 h	da 0,89 a 1,01 ^b	-	Rice and Thomas, 1989
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	a	0,4	0,04	12	-	26-28	S	96 h	1,24 (0,95-1,62)	-	Korn et al., 1979
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	a	0,4	0,04	4	-	26-28	S	96 h	1,37 (1,11-1,68)	-	Korn et al., 1979
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	a	0,4	0,04	8	-	26-28	S	96 h	1,84 (1,22-2,80)	-	Korn et al., 1979
<i>Oncorhynchus gorbusha</i> ^a	J	0,33	0,03	8	-	28	F	96 h	1,2	-	Moles and Rice, 1983
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^a	E	-	-	3,5-6	-	-	R		11,8		Korn and Rice, 1981
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^a	a	1,0	-	7,6-10,4	-	-	F		2,1		Moles et al., 1981
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^a	a	0,3	-	-	-	-	F		3,2		Moles et al., 1980
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^a	a > 90 d	-	-	3,5-6	-	-	R		5,6		Korn and Rice, 1981
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^a	E e L	-	-	13-14	7,4-8,1	-	F		0,12 (0,09-0,16)		Millemann et al., 1984
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^a	Em	-	-	13-14	7,4-8,1	-	F		0,12 (0,10-0,14)		Black et al., 1983
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^a	Em	-	-	13-14	7,4-8,1	-	F		0,11 (0,10-0,14)		Black et al., 1983
<i>Menidia beryllina</i>	Em	-	-	25	6,3-7,1	5	S	7-8 d	0,5-5,0	-	Middaugh et al., 1988
<i>Menidia beryllina</i>	Em sb	-	-	25	6,3-7,1	5	S	7-8 d	0,6-6,5	-	Middaugh et al., 1988
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,33	3,5	20±1	-	20±1	-	24 e 48 h 96 h	14,1 10,7	-	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)
<u>Benzo(a)pirene</u>											
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	-	15	-	20	R	15 d	M 0%: 0,007 mg/L	-	Patel et al., 2006
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ^a	Em	-	-	12	-	-	F	106 d	M 100%: 25 mg/L	-	Ostrander et al., 1989
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	13,7±0,6	9,5±0,1	18±1	7,9±0,1	32-36	R	28 d	-	0,016^c 0,008^d	Gravato and Guilhermino, 2009
<u>Pirene</u>											
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	8,7±2	8,1±0,7	18±1	-	-	R	96 h	M 50%: 5 mg/L	0,07^d	Almeida et al., 2012 (vedi scheda)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	10,4±2,4	8,5±0,7	18±1	-	-	S	96 h	-	0,15^d	

Abbreviazioni: A: adulto; a: avannotto; alc: alcalinità; d: days (giorni); Em: embrioni; F: test a flusso continuo; L: larve; J: Juveniles (giovani); M 0%: assenza di mortalità o non effetto; h: hours (ore); R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico; sb: stadio di blastula.

Note: ^a rosa specie anadroma; ^b intervallo di valori di tossicità relativo a 5 esperimenti; ^c capacità di alimentarsi ^d velocità del nuoto

3.4 Solventi clorurati

I solventi clorurati sono composti organici artificiali che possono derivare da un idrocarburo (metano, etano ed etilene) per successive sostituzioni di uno o più atomi di idrogeno con atomi di cloro, oppure dalla dechlorurazione di composti clorurati. Alcune proprietà chimico-fisiche dei solventi clorurati, che ne determinano il destino e il trasporto nell'ambiente, possono essere schematicamente riassunte come segue:

- Il numero di atomi di cloro ne influenza sia il comportamento fisico che e il comportamento chimico: all'aumentare degli atomi di cloro, il peso molecolare e la densità del solvente genericamente aumentano, mentre la tensione di vapore e la solubilità in acqua diminuiscono.

- Sono tutti composti più densi dell'acqua (la densità a 4 °C varia fra 1,18 e 1,60 g/mL). Fanno eccezione il cloroetano e il cloruro di vinile che sono gassosi a temperatura e pressione ambiente. Questo aspetto ha importanti ripercussioni sui siti contaminati dai solventi clorurati, in quanto tali inquinanti, in presenza di fase liquida libera, tendono a penetrare l'acquifero fino al raggiungimento di strati impermeabili, rendendo quindi difficile la loro individuazione e, di conseguenza, il trattamento di bonifica.

- La tensione di vapore varia da un minimo di 30 mmHg a 25 °C (1,1,2-tricloroetano) ad un massimo di 600 mmHg a 25 °C (1,1-dicloroetilene).

- Il log del coefficiente di ripartizione n-ottanolo/acqua varia entro un intervallo 0,48 – 2,64

L'inquinamento da solventi clorurati dei suoli, ha una considerevole rilevanza, sia per gli alti livelli di inquinamento, che per l'elevata persistenza e tossicità di tali composti. Essi, infatti, avendo densità maggiore di quella dell'acqua e una viscosità minore, ed essendo poco miscibili in essa, possono migrare velocemente attraverso il suolo e raggiungere le falde acquifere. In queste sedi, essi continuano a migrare verso il fondo e tendono a stratificare sullo strato impermeabile più profondo, formando una "piscina" di fase separata. Durante la migrazione verso il basso, una porzione di questa fase separata viene intrappolata nelle porosità della fase solida a causa di forze capillari, creando quindi una contaminazione lungo tutta la verticale (Pagliara, 2009). Il legame carbonio-cloro presente in queste molecole rende i solventi clorurati piuttosto stabili e capaci di persistere nel mezzo acquifero poroso. La presenza del cloro riduce la reattività degli altri legami presenti nelle molecole organiche, diminuendo quindi la biodegradabilità dei solventi e il potenziale di attenuazione naturale.

I solventi clorurati sono utilizzati in numerose applicazioni come solventi e sgrassatori, e vengono impiegati nella lavorazione dei materiali grezzi in diversi settori industriali. I composti di più ampio utilizzo sono il triclorometano, il diclorometano, il tetracloruro di carbonio, il tricloroetilene ed il percloroetilene.

3.4.1 Triclorometano, diclorometano, 1,2 dicloroetano

Molti solventi clorurati sono inquinanti prioritari (allegato I Direttiva 2013/39/UE). I valori di SQA per triclorometano, diclorometano e 1,2-dicloroetano sono mostrati nella tabella 23.

Tabella 23 - Standard di Qualità Ambientale per tricloroetano, diclorometano e 1,2-dicloroetano (Dir 2013/39/UE)

Alogenuri alchilici	SQA-AA ¹ acque superficiali interne ²	SQA-AA ¹ altre acque di superficie	SQA-CMA ³ acque superficiali interne ¹	SQA-CMA ³ altre acque di superficie	SQA Biota ⁴
Triclorometano	2,5 µg/L	2,5 µg/L	na	na	-
Diclorometano	20 µg/L	20 µg/L	na	na	-
1,2- Dicloroetano	10 µg/L	10 µg/L	na	na	-

Note: ¹ Valore medio annuo; ² Si intendono i fiumi, laghi e i corpi idrici artificiali o fortemente modificati; ³ Concentrazione massima ammissibile; ⁴ Se non altrimenti indicato, si riferisce ai pesci. Un taxon del biota alternativo o un'altra matrice possono essere monitorati, purchè l'SQA applicato garantisca un livello equivalente di protezione.

Il **triclorometano** (nome IUPAC) o cloroformio (CHCl₃), N° CAS 67-66-3, noto anche come freon 20 o CFC 20, a temperatura ambiente, è un liquido trasparente, abbastanza volatile, dall'odore caratteristico. E' utilizzato per la produzione di liquidi di raffreddamento, plastiche, prodotti farmaceutici e propellenti per aerosol e nelle formulazioni dei pesticidi come solvente e come intermedio chimico.

La sorgente primaria di questa sostanza negli ambienti acquatici naturali, deriva dalla reazione del cloro con i composti organici presenti negli effluenti e nelle acque non purificate, infatti è stato osservato che

l'ammontare di triclorometano prodotto nelle acque è proporzionale al loro contenuto organico (USEPA 1980). Ma, il triclorometano può entrare nei vari comparti ambientali da numerose sorgenti, quali effluenti industriali, scarichi di impianti di trattamento dei rifiuti municipali, siti di rifiuti pericolosi, discariche e per sversamenti accidentali. Inoltre, ci sono numerosi processi di disinfezione, compresa la clorazione delle acque potabili e delle piscine, che contribuiscono alla formazione e al rilascio di cloroformio nell'ambiente. La volatilizzazione è il principale processo di rimozione del triclorometano dagli ecosistemi acquatici naturali. Stime della sua emivita sono comprese tra 1,2 e 31 giorni (Zoeteman et al., 1980). Processi di degradazione quali fotolisi, idrolisi e degradazione microbica non sono risultati significativi nel comparto acquatico (CCME, 1999). Sebbene questa sostanza abbia un basso coefficiente di partizione ottanolo/acqua ($K_{ow}= 1,97$), il suo fattore di bioconcentrazione (BCF) nell'alga *Pseudokirchneriella subcapitata* è risultato pari a 690 (Neely et al., 1974; Mailhot, 1987), mentre i valori di BCF sono bassi nei pesci (< 10) e la depurazione dai tessuti è piuttosto rapida (emivita < 1 giorno) (USEPA 1978; Anderson and Lusty, 1980).

Il cloruro di metilene o **diclorometano** (CH_2Cl_2) si presenta a temperatura ambiente come un liquido incolore e volatile dall'odore dolciastro. A causa del suo elevato potere solvente, il cloruro di metilene ha un campo d'applicazione estremamente vasto. E' prevalentemente utilizzato come componente di formulazioni svernicianti e sgrassanti, nonché come additivo per agenti distaccanti e nelle formule di agenti distaccanti per la produzione di espansi poliuretanic. E' un solvente ed estraente per grassi, olii minerali, cere, resine, caffeina, ecc. nell'industria metallurgica, tessile, del cuoio, delle materie plastiche, farmaceutica e alimentare. Infine, questo composto è un componente efficace di solventi e propellenti in prodotti spray, sebbene il suo utilizzo sia stato fortemente limitato.

Del totale di diclorometano rilasciato nell'ambiente da sorgenti antropiche, circa l'86% è rilasciato nell'atmosfera, il 12% nel suolo e il 2% nelle acque. Il diclorometano entra negli ambienti acquatici soprattutto attraverso gli effluenti industriali. Anche le acque sotterranee possono essere contaminate attraverso la lisciviazione dei rifiuti. La volatilizzazione seguita da biodegradazione sono i due principali processi mediante cui il diclorometano è rimosso dalle acque superficiali. Stime della sua emivita, valutate in laboratorio, sono risultate comprese tra 25 minuti e 5,6 ore (CCME, 1999).

L' **1,2-dicloroetano** o cloruro di etilene ($ClCH_2CH_2Cl$) si presenta a temperatura ambiente come un liquido incolore e oleoso dall'odore penetrante. È un composto cancerogeno, molto infiammabile, nocivo ed irritante per le vie respiratorie. Libera nell'atmosfera acido cloridrico e fosgene durante la combustione.

Viene per lo più preparato per sintesi diretta, miscelando nelle giuste proporzioni etilene e cloro gassosi; la reazione avviene a temperatura e pressione standard ed è catalizzata dalla luce o dal cloruro ferrico.

Il suo principale utilizzo è come intermedio nella sintesi del cloruro di vinile, a sua volta precursore del PVC. È un buon solvente apolare, trova quindi uso anche come agente sgrassante e diluente per vernici. È anche usato come intermedio nella sintesi di molecole più complesse. In passato ha trovato uso anche come anti-detonante per carburanti, in associazione con il piombo tetraetile.

Nelle tabelle 24 e 25 sono riassunti gli studi di tossicità termine acuta e prolungata relativi ai tre solventi clorurati presi in considerazione, effettuati con specie ittiche d'acqua dolce e marino/salmastra, rispettivamente, compresa la specie oggetto di questo rapporto, *Dicentrarchus labrax*.

Per la denominazione comune, italiana e inglese, delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda l'allegato 1 alla presente pubblicazione.

Tabella 24 - Sommario degli studi di tossicità, acuta e prolungata, con triclorometano, diclorometano e 1,2-dicloroetano su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
Triclorometano												
<i>Danio rerio</i>	-	-	-	20	8,0	10,1	-	F	48 h	>100	-	Sloof, 1978
<i>Danio rerio</i>	-	-	-	20	8,0	130	-	F	48 h	100	-	Sloof, 1979
<i>Danio rerio</i>	-	-	-	23	8,2	-	NM	F	96 h	121	-	Roderer, 1990
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J 1 y	0,5-3	-	15	7,8-8,1	-	NM	S	24 h	32,0 (31,0-33,0)	-	Qureshi et al., 1982
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	5,2	7,9	13	7,4	64	M	F	96 h	18,2	-	Anderson and Lusty, 1980
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	5,8	8,1	13	7,4	64	M	F	96 h	18,4	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	6,6	8,4	13	7,1	64	M	F	96 h	22,1	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	7,6	8,8	8	7,6	68	M	F	96 h	17,1	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	13	-	-	NM	F	96 h	15,1-22,1 ^a	-	Bean et al., 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,0	0,032	12	7,0	35	NM	S	96 h	66,8 (54,8-81,4)	NOEC: 42,0	Bentley et al., 1979
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,0	0,032	12	7,0	200	NM	S	96 h	43,8 (36,1-53,2)	NOEC: 24,0	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	1-2 y	5-10	-	11,8	-	-	M	R	96 h	20,0	-	Castren and Oikari, 1987
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	E 4 hph	-	-	12,5-14,5	7,3	48,8	M	F	23 e 27 d	2,0 (1,0-3,8)	-	Birge et al., 1979
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	E 4 hph	-	-	12,5-14,5	7,3	210	M	F	23 e 27 d	1,2 (0,6 -2,2)	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	E 4 hph	-	-	-	7,6	112,4	M	F	28 d	1,24	-	Black and Birge, 1980
<i>Micropterus salmoides</i>	-	26,3	12,7	19	-	76	M	F	96 h	52,5	-	Anderson and Lusty, 1980 e Bean et al. 1981
<i>Micropterus salmoides</i>	-	27,9	12,9	19	-	76	M	F	96 h	55,8	-	
<i>Micropterus salmoides</i>	-	30,9	13,1	19	-	76	M	F	96 h	45,4	-	
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,5	0,03	16,8-17,3	7,1-7,5	39,8	M	F	96 h	89,9 (84,7-94,9)	-	Birge et al. 1982
<i>Pimephales promelas</i>	-	1,0	0,04	17,3	7,0-7,5	44	M	S	96 h	73,1 (65,1-82,0)	-	
<i>Pimephales promelas</i>	30 d	0,10	0,02	25,3	7,6	44,6	M	F	96 h	70,7 (62,8-79,6)	-	Geiger et al., 1990
<i>Pimephales promelas</i>	10-15 d	0,01	0,10	21-23	7,2-8,5	96-125	NM	S	96 h	129,0 (91,0-197,0)	-	Mayes et al., 1983
<i>Pimephales promelas</i>	30-35 d	0,1	0,02	21-23	7,2-8,5	96-125	NM	S	96 h	171,0 (131,0-214,0)	-	
<i>Pimephales promelas</i>	65-94 d	0,4	0,03	21-23	7,2-8,5	96-125	NM	S	96 h	103,0 (94,0-113,0)	-	
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	-	23	-	-	NM	S	96 h	300,0	-	Hazdra et al., 1980
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	103,9	16,2	25	7,2	64	M	F	96 h	22,3	-	Anderson and Lusty, 1980
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	106,5	15,5	25	7,4	68	M	F	96 h	20,8	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	119,6	16,7	25	7,1	68	M	F	96 h	18,3	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	129,9	16,9	25	7,2	64	M	F	96 h	16,2	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	126,4	17,1	25	7,3	64	M	F	96 h	13,3	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	E 4 hph	-	-	-	7,6	112,4	M	F	96 h	2,03	-	Black and Birge, 1980
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	25	-	-	NM	F	96 h	13,3-22,3 ^a	-	Bean et al., 1981
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	1,1	0,04	21	7,0	35	NM	S	96 h	115,0 (96,0-138,0)	NOEC: 100,0	Bentley et al., 1979
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	1,1	0,04	21	7,5	200	NM	S	96 h	100,0 (72,0-140,0)	NOEC: 75,0	
<i>Oryzias latipes</i> ^d	-	-	-	10	-	-	NM	S	48 h	610,0	-	Tsuji et al., 1986
<i>Oryzias latipes</i> ^d	-	-	-	20	-	-	NM	S	48 h	500,0	-	
<i>Oryzias latipes</i> ^d	-	-	-	30	-	-	NM	S	48 h	660,0	-	

continua tabella 24

Specie ittica	Stadio vitale/ età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oryzias latipes</i> ^d	Em	-	-	-	-	-	NM	R	10 d	215,0 (132,0-384,0)	NOEC: 122,0	Schell, 1987
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	21,4	12,1	25	-	-	M	F	48 h	101,0	-	Anderson and Lusty, 1980
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	21,6	11,9	25	-	-	M	F	96 h	75,0	-	
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	-	-	19	-	-	NM	F	96 h	75,0	-	Bean et al., 1981
Diclorometano												
<i>Danio Rerio</i>	-	-	-	23	8,2	-	-	F	96 h	254,0	-	Roderer, 1990
<i>Carassius auratus</i>	-	-	-	-	-	-	NM	S	24 h	420,0	-	Jensen, 1978
<i>Lepomis macrochirus</i>	1 y	0,3-1,2	-	21-23	6,5-7,9	32-48	NM	S	96 h	220,0 (200,0-250,0)	-	Buccafusco et al., 1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	1,04	0,05	12	7,8-8,0	-	M	F	24 h 48 h 72 h 96 h	268,0 (213,0-346,6) 265,0 (202,5-369,7) 232,4 (172,4-337,6) 193,0 (140,8-277,8)	-	Alexander et al., 1978
<i>Pimephales promelas</i>	-	1,04	0,05	12	7,8-8,0	-	NM	S	96 h	310,0 (262,0-391,0)	-	Alexander et al., 1978
<i>Pimephales promelas</i>	30 d	0,07	0,018	25,4	7,8	45,1	M	F	96 h	330,0 (293,0-372,0)	-	Geiger et al., 1986
<i>Pimephales promelas</i>	J	-	-	25	7,6-8,1	73-82	M	F	96 h 8 d	502,0 (357,0-855,0) 471,0 (428,0-517,0)	-	Dill et al., 1987
<i>Oryzias latipes</i> ^d	-	-	-	10 20 30	-	-	NM	S	48 h	1100,0 1100,0 840,0	-	Tsuji et al., 1986
1,2 Dicloroetano												
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	1 y	0,5-3	-	15	7,8-8,1	-	NM	S	24 h	198,0 (153,0-255,0)	-	Qureshi et al., 1982
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,4	0,03	12	7,7	8-128	-	S	96 h	336,0 (324,0-350,0)	-	OECD SIDS 2002
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,8	-	13	7,1	44	-	S	96 h	225,0	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	EE	-	-	3	-	-	M	-	21 d	-	LOEC ^b : 56,0	OECD SIDS 2002
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	EE	-	-	13	7,0	93,9	M	F	27 d	34,0	NOEC ^b : 0,2	
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	25	6,7-7,6	45,0	M	F	72 e 96 h	116,0 (110,0-123,0)	-	Walbridge et al., 1983
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	25	7,5	45,5	M	F	96 h	118,0	-	OECD SIDS 2002
<i>Pimephales promelas</i>	31 d	0,19	-	25	7,4	44,8	M	F	96 h	136,0 (129,0-144,0)	-	Geiger et al., 1985
<i>Pimephales promelas</i>	E 24 h	-	-	25±1	7,4	45	M	F	32 d	-	NOEC ^c : 29,0 LOEC ^c : 59,0	OECD SIDS 2002
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	0,03-0,08	23	7,6-7,9	55	-	S	96 h	550,0	-	OECD SIDS 2002
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,3-1,2	-	21-23	6,5-7,9	32-48	NM	S	96 h	430,0 (230,0-710,0)	-	OECD SIDS 2002
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	18	7,0	-	M	S	96 h	94,0 (79,7-110,9)	-	

continua tabella 24

Specie ittica	Stadio vitale/ età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oryzias latipes</i> ^d	-	-	-	10 20 30	-	-	NM	S	48 h	115,0 110,0 120,0	- - -	Tsuji et al., 1986
<i>Poecilia reticulata</i>	2-3 m	-	-	22±1	-	25	NM		7 d	106,0	-	OECD SIDS 2002
<i>Micropterus salmoides</i>	-	-	-	13	7,0	-	M	S	96 h	66,0 (48,9-89,1)	-	OECD SIDS 2002

Abbreviazioni: A: adulto; a: avannotto; alc: alcalinità; d: days (giorni); E: eggs (uova); EE: eyed eggs (uova con occhi); Em: embrioni; F: test a flusso continuo; hph: hours post hatch (ore dalla schiusa); J: Juveniles (giovanili); L: larve; M: misura della concentrazione del tossico effettuata durante il test; NM: misura del tossico non effettuata durante il test; m: mesi; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; h: hours (ore); R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico senza rinnovo del mezzo; y: year (anni).

Note: ^a intervallo di valori di tossicità relativi a 5 esperimenti; ^b riferito alla capacità di schiusa; ^c riferito al tasso di sopravvivenza; ^d specie che vive anche in acque salmastre

Tabella 25 - Sommario degli studi di tossicità (acuta e prolungata) con triclorometano, diclorometano e 1,2-dicloroetano su specie ittiche d'acqua marino/salmastra

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
Triclorometano												
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	21,4	12,1	25	-	-	M	F	48 h	101,0	-	Anderson and Lusty, 1980
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	21,6	11,9	25	-	-	M	F	96 h	75,0	-	
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	-	-	19	-	-	NM	F	96 h	75,0	-	Bean et al., 1981
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,33	3,5	20±1	-	20±1	NM	S	24 h	750,3 (563,0-1000,0)	-	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,33	3,5	20±1	-	20±1	NM	S	48 e 96 h	473,3 (385,2-581,6)	-	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)
Diclorometano												
<i>Cyprinodon variegatus</i>	J 14-28 dph	-	0,008-0,015	25-31	-	10-31	NM	S	24 h 48 e 72 h 96 h	370,0 (330,0-410,0) 360,0 (310,0-410,0) 330,0 (280,0-380,0)	- - NOEC: 130,0	Heitmuller et al., 1981
<i>Fundulus heteroclitus</i>	J <23 d	-	-	20	7,5	10	M	S	48 h	97,0 (89,4-105,1)	-	Burton and Fisher, 1990
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,33	3,5	20±1	-	20±1	NM	S	24 e 48 h	1190,0 (1000,0-1400,0)	-	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,33	3,5	20±1	-	20±1	NM	S	96 h	1110,0 (980,0-1250,0)	-	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)
1,2 Dicloroetano												
<i>Limanda limanda</i>	-	-	-	-	-	-	NM	F	96 h	115,0	-	OECD SIDS 2002
<i>Cyprinodon variegatus</i>	14-28 dph	-	0,01-0,02	25-31	-	10-31	NM	S	96 h	>130-230	NOEC: 130,0	OECD SIDS 2002
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	S	96 h	>126-226	NOEC: 126,0	OECD SIDS 2002
<i>Menidia beryllina</i>	-	-	0,04-0,1	20	-	-	-	S	96 h	480,0	-	OECD SIDS 2002
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,33	3,5	20±1	-	20±1	NM	S	96 h	700,0 (500,0-1000,0)	-	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)

Abbreviazioni: d: days (giorni); dph: days post hatch (giorni dopo la schiusa); F: test a flusso continuo; hph: hours post hatch (ore dalla schiusa); J: Juveniles (giovani); M: misura della concentrazione del tossico effettuata durante il test; m: mesi; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; NM: misura del tossico non effettuata durante il test; NSW: Natural Sea Water (acqua di mare naturale); h: hours (ore); S: test statico; y: year (anni).

3.5 Surfattanti anionici

I surfattanti o tensioattivi (agenti attivi in superficie) sono composti anfipatici (presenza nella molecola di una componente idrofobica e di una idrofila) che hanno la caratteristica di diminuire la tensione superficiale dell'acqua mediante la formazione di monostati nell'interfaccia aria-acqua. A causa delle loro proprietà antipatiche, i surfattanti possono interagire con molecole polari e apolari e con macromolecole biologiche come il DNA (Marques et al., 2000.; Dias et al., 2004;) e proteine (Xiao et al., 2000; Nielsen et al., 2000; Deep and Ahluwalia, 2001). E' stato dimostrato inoltre che possono provocare permeabilizzazione e lisi delle membrane cellulari (Heerklotz, 2008; Nazari et al., 2012). Recentemente, diversi autori hanno evidenziato che alcuni surfattanti sono capaci di modificare il comportamento di altri contaminanti in funzione del tipo, della concentrazione e delle cariche di superficie del surfattante stesso e in funzione del contaminante. Per questo, sono possibili effetti dannosi per l'ambiente dovuti alla mobilizzazione di inquinanti organici da parte dei surfattanti (Hari et al., 2005; Forni et al., 2012).

A seconda della natura del gruppo idrofilico, i surfattanti vengono divisi in 3 classi principali: anionici, cationici e non ionici (Ying, 2006).

I surfattanti anionici sono i costituenti fondamentali dei formulati impiegati nella detergenza domestica e industriale. La loro presenza in acque superficiali e sotterranee è sempre indice di inquinamento antropico (APAT IRSA-CNR, 2003). La loro parte idrofila solubilizzante può essere costituita da uno di questi gruppi polari con carica negativa in soluzione acquosa: $-\text{COO}^-$ (carbossilati), $-\text{SO}_3^-$ (solfonati) o $-\text{OSO}_3^-$ (solfati).

Il gruppo idrofilo $-\text{OSO}_3^-$ è quello che presenta il maggior potere solubilizzante. Poiché nei solfati è presente un legame C-O-S che ha una certa tendenza all'idrolisi, questi prodotti non possono essere impiegati in condizioni di pH acido. Per quanto riguarda la parte idrofoba della molecola, questa può essere di diversa natura.

Tra i surfattanti anionici, gli alchil solfati (AS) sono tra i surfattanti maggiormente biodegradabili in condizioni anaerobiche e aerobiche. I processi che vengono effettuati negli impianti di trattamento degli scarichi sono sufficienti a rimuovere quasi completamente gli AS, tanto che difficilmente essi raggiungono, l'ambiente attraverso il rilascio di effluenti e lo smaltimento dei fanghi (Ying, 2006). La biodegradazione comporta la scissione enzimatica dei legami esterici del solfato per dare solfato inorganico e alcool; quest'ultimo è quindi ulteriormente ossidato ad aldeide e successivamente ad acido grasso. Questo meccanismo di biodegradazione è stato confermato dall'identificazione nell'ambiente di alchilsulfatasi prodotte da batteri del genere *Pseudomonas* che catalizzano il distacco iniziale del gruppo solfato e di deidrogenasi che agiscono sul gruppo alcolico.

Tuttavia, a causa dell'enorme utilizzo di queste sostanze, una quantità considerevole di surfattanti anionici è rilasciata nell'ambiente ed è causa di inquinamento per fiumi, mari, sedimenti e suoli. Per questa ragione la tossicità di questa classe di composti verso microorganismi, piante acquatiche, invertebrati e vertebrati è stata ampiamente studiata (Cserhádi et al., 2002).

3.5.1 Sodio dodecil solfato

Il sodio dodecil solfato, SDS, (chiamato anche sodio lauril solfato) - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2\text{OSO}_3^- \text{Na}^+$ - è un surfattante anionico appartenente al gruppo degli alchil solfati (figura 16). Si tratta di una sostanza che viene diffusamente utilizzata negli ambienti industriali e per la cosmesi casalinga (saponi detegenti, shampoo, bagni schiuma).

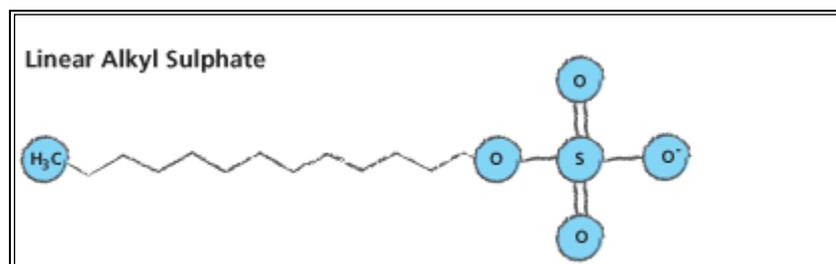


Figura 16 – Struttura chimica del Sodio dodecil solfato. (Tratto da <http://www.chimicamo.org/tutto-chimica/generalita-sui-tensioattivi-e-tensioattivi-anionici.html>).

La molecola è costituita da una coda idrofoba di 12 atomi di carbonio legata al gruppo idrofilo solfato e si ottiene dalla solfonazione dell'1-dodecanolo ($C_{12}H_{25}OH$), seguita dalla neutralizzazione con carbonato di sodio. George, 2002 ha riportato per l'SDS una biodegradazione, nelle acque delle coste Antartiche, con emivita da 160 a 460 h.

La tossicità dell'SDS per la vita acquatica è stata studiata ampiamente (Fogels and Sprague, 1977; Newsome CS, 1982; Roberts et al., 1982; Kikuchi and Wakabayashi, 1984; Morrison et al. 1989; Lewis et al., 1990; Whiting et al., 1996; Guilhermino et al., 2000; Cserhádi et al., 2002; Bellas et al., 2005; Mariani et al., 2006; (vedi scheda bibliografica), Forni et al., 2008; Lahnsteiner, 2008; Forni et al., 2012).

Nella tabella 26 sono riassunti gli studi di tossicità effettuati con SDS su specie ittiche d'acqua dolce e marino-salmastro (IUCLID database). Per la denominazione comune, italiana e inglese, delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda l'allegato 1 alla presente pubblicazione.

La maggior parte dei risultati presentati riguarda la tossicità acuta valutata a 24, 48 e 96 ore (15 studi). Solo tre studi riguardano la tossicità prolungata (7, 8, 10 e 60 giorni). In molti degli studi presentati, i dati di tossicità (LC_{50} , EC_{50} o IC_{50}) sono forniti dagli autori senza la valutazione statistica di incertezza del risultato, né come scarto tipo (ST) né come intervallo di confidenza al 95% ($IC_{95\%}$). Anche lo stadio vitale dell'organismo, soprattutto negli studi più datati (LaRoche et al., 1970; Fogels and Sprague, 1977; Anderson et al., 1974; McAuliffe et al., 1975; Bishop and Perry, 1979), non viene specificato. Questo rende più complessa la comparazione dei dati. Tuttavia per rendere più evidente il confronto, i valori di $L(E)C_{50}$ sono presentati anche graficamente nelle figure 17, 18 e 19..

Tra le specie d'acqua dolce, sulla base del solo dato di tossicità, la specie più sensibile è risultata essere *Lepomis macrochirus* dopo esposizione a 96 h (4,5 mg/L) anche se non viene definito lo stadio vitale dell'organismo. A seguire, nella scala di sensibilità, ci sono le post-larve e gli adulti di *Danio rerio* dopo esposizione a 48 (PL 8,8 mg/l) e 96 ore (A: 8,8 e 12,8 mg/L) che presentano valori di tossicità apparentemente comparabili con quelli di *Pimephales promelas* (PL 96 h: 10,2 mg/l) e di *Jordanella floridae* (10 mg/l a 48 h e 8,10 mg/l a 96 h).

Sulla specie, *Oncorhynchus mykiss/Salmo Gairdneri* ci sono risultati molto diversi tra loro, e una comparazione non è possibile perché, ad esempio, nello studio di Fogels and Sprague, 1977 non viene indicato lo stadio vitale del pesce. Diversamente, le specie *Carassius auratus*, *Gambusia affinis* e *Oryzias latipes* presentano, sulla base degli studi analizzati, una tolleranza molto elevata all'SDS (38,4 mg/l, 40,15 mg/l e 46,0 mg/l, rispettivamente).

Nel caso delle specie estuarine/marine (figura 19), si osserva un'ampio intervallo di sensibilità all'SDS con valori di LC_{50-96} h compresi tra 0,51 mg/l (*Gasterosteus aculeatus*) e 9 mg/l (*Cyprinodon variegatus*) per salinità tra 10‰ e 20‰.

Tabella 26- Sommario degli studi di tossicità, acuta e prolungata, con sodio dodecil solfato su specie ittiche d'acqua dolce e marino/salmastre

Specie ittiche	Stadio vitale	Durezza/Salinità	t espos.	LC ₅₀ -EC ₅₀ -IC ₅₀ (mg/L)	±ST	IC 95% (mg/L)	LOEC (mg/L)	NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
Acque dolci									
<i>Danio rerio</i>	A	-	48 h	8,81	-	-	-	-	Fogels and Sprague, 1977
			96 h	7,97	-	-	-	-	
<i>Danio rerio</i>	PL	-	96 h	9,90	-	-	-	-	Newsome, 1982 - IUCLID 2000
	A	-	96 h	12,80	-	-	-	-	
	J	-	96 h	20,10	-	-	-	-	
<i>Danio rerio</i> ZET	E p.f.	-	48 h	4,50	3,30	-	-	-	Lahnsteiner, 2008
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	-	96 h	24,90	-	-	-	-	Buhl and Hamilton, 2000
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	-	96 h	13,40	-	12,40-14,40	-	-	Progetto REACH 2010-2013
<i>Salmo gairdneri</i> ^c	-	-	48 h	5,95	-	-	-	-	Fogels and Sprague, 1977
			96 h	4,62	-	-	-	-	
			10 gg	2,85	-	-	-	-	
<i>Salmo gairdneri</i> ^c	A	-	48 h	33,61	-	-	-	-	Singh et al., 2002
<i>Jordanella floridae</i>	-	-	48 h	10,00	-	-	-	-	Fogels et al., 1977
			96 h	8,10	-	-	-	-	Fogels et al., 1977
<i>Carassius auratus</i>	A	-	48 h	38,04	-	-	-	-	Singh et al., 2002
<i>Gambusia affinis</i>	A	-	48 h	40,15	0,26	-	-	-	Singh et al., 2002
<i>Oryzias latipes</i> ^d	-	25 mg/l CaCO ₃	24- 48 h	46,00	-	-	-	-	Kikuchi and Wakabayashi 1984
<i>Poecilia reticulata</i>	PL	-	96 h	18,30	-	-	-	-	Newsome, 1982 - IUCLID 2000
	A	-	96 h	13,50	-	-	-	-	
	J	-	96 h	16,20	-	-	-	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	96 h	4,50	-	4,20-4,80	-	-	Bishop & Perry, 1979 - IUCLID 2000
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	96 h	6,60	-	5,80-7,50	-	-	Conway et al., 1983
<i>Pimephales promelas</i>	PL	-	96 h	10,20	-	-	-	-	Newsome, 1982 - IUCLID 2000
	A	-	96 h	22,5	-	-	-	-	Newsome, 1982 - IUCLID 2000
	J	-	96 h	17,0	-	-	-	-	Newsome, 1982 - IUCLID 2000
<i>Pimephales promelas</i>	L	-	8 d	6,00	23,0 %	-	-	2,20-4,60	Pickering, 1988
<i>Saccobranchus fossilis</i>	-	60±3 CaCO ₃ mg/l	60 d	-	-	-	1,12 ^a 2,24 ^b	0,75 ^a 1,12 ^b	Dalela et al., 1981
Acque marino/estuarine									
<i>Cyprinodon variegatus</i>	L 7 gg	32 ‰	7 d	2,90	-	1,80-3,40	-	-	Morrison et al. 1989

continua tabella 26

Specie ittiche	Stadio vitale	Durezza/Salinità	t espos.	LC ₅₀ -EC ₅₀ -IC ₅₀ (mg/L)	±ST	IC 95% (mg/L)	LOEC (mg/L)	NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Menidia berillina</i>	L 7 gg	32 ‰	d	1,80	-	-	-	-	Morrison et al. 1989
<i>Menidia berillina</i>	-	15-20‰	96 h	2,80	-	-	-	-	Anderson et al., 1974
<i>Menidia menidia</i>	-	10 ‰	96 h	2,80	-	2,55-2,98	-	-	Roberts et al., 1982
<i>Menidia berillina</i>	L 28 gg	20 ‰	96 h	1,48	-	1,35-1,63	-	-	Hemmer et al. 1992
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	15 ‰	96 h	9,00	-	-	-	-	Anderson et al. , 1974
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	10 ‰	96 h	4,10	-	3,83-4,47	-	-	Roberts et al., 1982
<i>Gasterosteus aculeatus</i> ^e	-	20 ‰	96 h	0,51 4,20	- -	- -	- -	- -	McAuliffe et al., 1975
<i>Atheronops affinis</i>	L 22 gg	20 ‰	96 h	1,88	-	1,67-2,11	-	-	Hemmer et al. 1992
<i>Fundulus heteroclitus</i>	-	20 ‰	96 h	5,60 4,50	-	-	-	-	LaRoche et al., 1970
<i>Fundulus similis</i>	-	-	96 h	4,50	-	-	-	-	Anderson et al. , 1974

Abbreviazioni: A: adulti; EC50: concentrazione di effetto per il 50% degli organismi; E.p.f: uova post-fecondazione; e-L: embrio-larve;d: days (giorni); h: ore; IC₅₀:concentrazione di immobilizzazione per il 50% degli organismi; IC95% intervallo di confidenza al 95%;L: larve; LC₅₀ concentrazione letale per il 50% degli organismi; J: giovanili; PL: post-larva; TA: tossicità acuta; ST scarto tipo; TP: tossicità prolungata; ZET: Zebrafish Embryo toxicity test

Note: ^a valutazione dell'endpoint subletale tempo di coagulazione del sangue; ^b valutazione dell'endpoint subletale aumento dell'ematocrito; ^c altro nome di *Oncorhynchus mykiss*; ^d specie anche di acque salmastre; ^e Specie anadroma

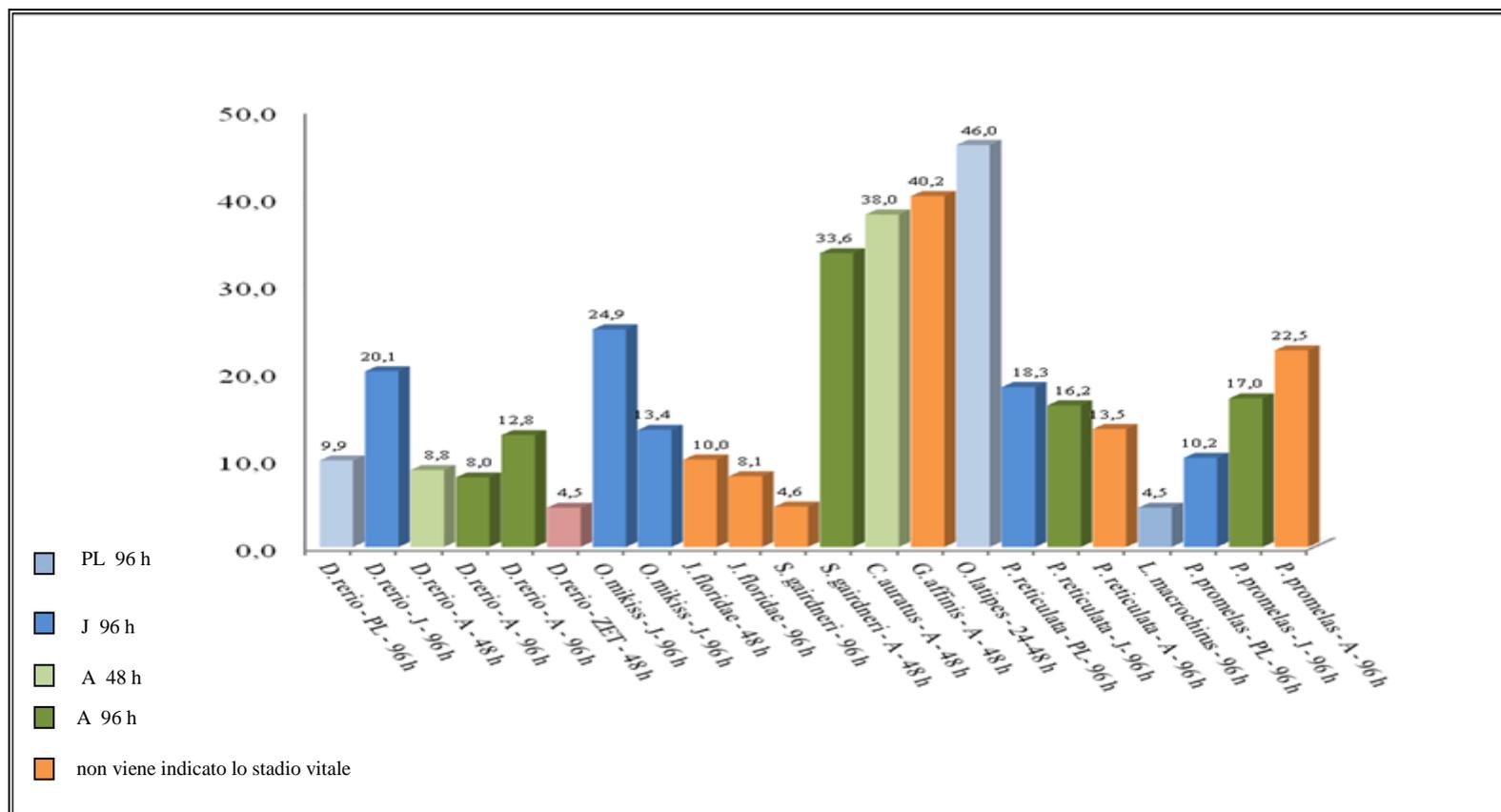


Figura 17 – Rappresentazione grafica dei dati di tossicità acuta dell’SDS su specie ittiche d’acqua dolce.

Abbreviazioni: PL: postlarve; J: giovanili; A: adulti; ZET: Zebrafish Embryo test.. Note: *Salmo gairdnerii* è un altro nome di *Oncorhynchus mykiss* (trota arcobaleno)

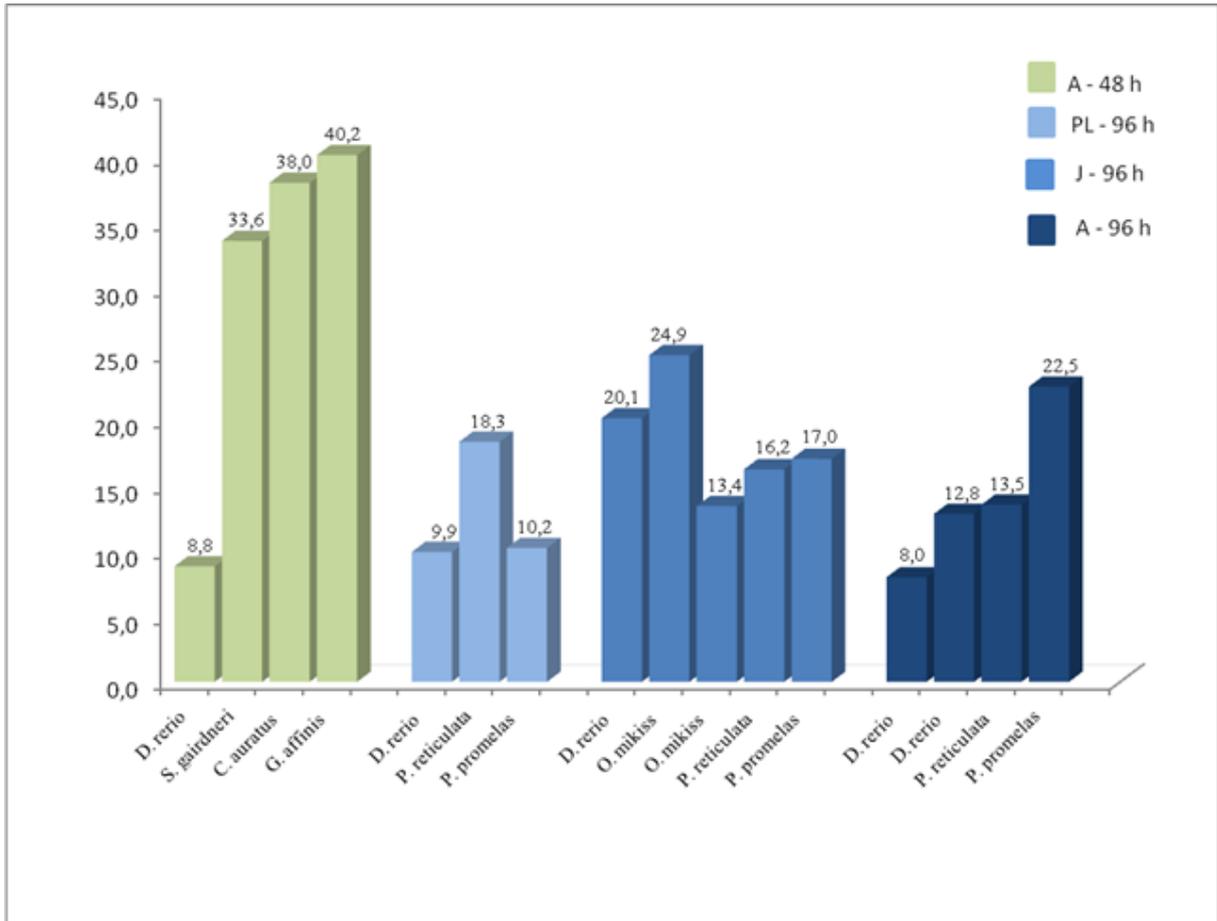


Fig. 18 – Rappresentazione grafica dei dati di tossicità acuta dell'SDS su specie ittiche d'acqua dolce. I dati sono raggruppati per stadio vitale e tempo di esposizione. Abbreviazioni: A: adulti; PL: post-larve; J: giovanili

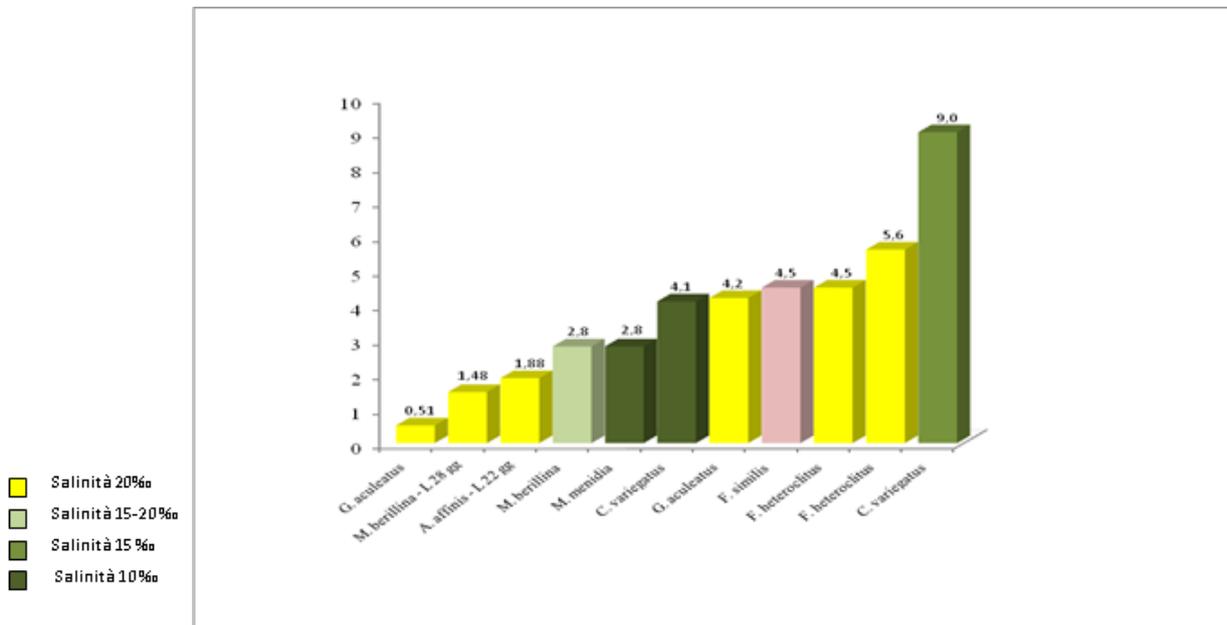


Figura 19 – Rappresentazione grafica dei dati di tossicità acuta a 96 ore dell'SDS su specie estuarine/marine. I dati (in ordine numerico crescente) sono suddivisi in base alla salinità utilizzata. Abbreviazioni: L: larve; NR: salinità non riportata.

Nella tabella 27 sono riassunti gli studi di tossicità effettuati con SDS su *Dicentrarchus labrax*. La totalità di questi studi è stata realizzata da laboratori italiani che hanno utilizzato il surfattante anionico come tossico di riferimento per valutare la sensibilità della spigola e monitorare le condizioni dei diversi lotti di questa specie prima dei test definitivi, o per studi di convalida.

Per quanto riguarda gli studi effettuati con i giovanili di spigola dopo 24, 48 e 96 ore di esposizione all'SDS, un confronto è mostrato nella figura 20. Nelle esposizioni a 24 e 48 ore non è possibile capire se è la salinità o siano le dimensioni degli organismi ad influenzare la sensibilità del branzino al surfattante, perché i giovanili più piccoli (0,017 cm; 1,21 cm e 1,73 cm) sono sempre esposti alle salinità più elevate (30‰) rispetto agli individui più grandi (da 2 a 6 cm). Tuttavia nell'esposizione a 96 ore, è possibile notare che, a parità di dimensioni (per gli individui di 3,90; 4,64; 4,79 e 5,40 cm), l'utilizzo di una salinità molto bassa (5‰) determina quasi un dimezzamento della tossicità dell'SDS (Conti et al., 2015). D'altra parte, mentre alla salinità del 20 ‰ osserviamo una tossicità decrescente all'aumentare della taglia degli organismi, al contrario, al 5 ‰, abbiamo tossicità comparabili tra le diverse taglie, come evidenziato in figura 21.

E' stato dimostrato che la tossicità di molti composti chimici varia al variare della salinità del mezzo di esposizione. Un rassegna critica di vent'anni fa (Hall e Anderson, 1995), che ha indagato gli effetti della salinità sulla tossicità di varie classi di composti organici e inorganici, ha mostrato che le correlazioni negative tra tossicità e salinità (al diminuire della salinità la tossicità del composto aumenta) sono più frequenti (55%) delle correlazioni positive (18%) o dell'assenza di correlazione tra i due fenomeni. L'aumento della tossicità al diminuire della salinità osservata con molti metalli pesanti (cadmio, cromo, rame, mercurio, nickel e zinco) è probabilmente dovuta alla maggiore biodisponibilità dello ione metallico (forma tossica) a basse salinità (O'Hara, 1973; Leung et al., 2001; Versylycke et al., 2003). Valori intermedi di salinità (15‰) sembrano determinare l'aumento della solubilità degli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) da parte dei disperdenti dei prodotti petroliferi, tanto che l'esposizione agli IPA può risultare fino a 60 volte maggiore se comparata con quella osservata alla salinità del 32‰ (Ramachandran et al., 2006). La tossicità di altri composti, come gli insetticidi organo fosfati e i carbammati, sembra invece diminuire al diminuire della salinità (Hall e Anderson, 1995) come nel caso descritto precedentemente per l'SDS (Conti et al., 2015).

Tutti i valori di LC₅₀ relativi all'esposizione di esemplari di *D. Labrax* al surfattante anionico SDS si riferiscono alle concentrazioni nominali della sostanza. In caso di esposizione a 96 h, due saggi sono stati effettuati con rinnovo delle soluzioni ogni 24 h. I risultati ottenuti con il rinnovo a 24 ore (8,12 mg/l al 20‰ e 13,81 al 5‰) sono comparabili con quelli ottenuti con rinnovo delle soluzioni ogni 48 ore (9,50 mg/l al 20‰ e 14,14 al 5‰).

I surfattanti alchil solfati come l'SDS, sono tra i composti più biodegradabili. Steber et al., 1988 ha riportato una degradazione primaria del 95-98% in un periodo di 5 giorni. Una degradazione completa dell'SDS, misurata mediante il metodo Methylene Blue Active Substance (MBAS), è stata misurata entro 48 ore di incubazione in test con pesci e crostacei (Roberts et al., 1982). Tuttavia, l'applicazione del metodo MBAS a mezzi acquosi salini presenta alcune problematiche dovute all'interferenza dei sali provocata dall'associazione degli ioni cloruro (Cl⁻) con il colorante cationico blu di metilene (George e White, 1999).

Tabella 27 - Sommario degli studi di tossicità con sodio dodecil solfato su *D. labrax* (spigola).

SV e età	P (g)	LT (cm)	T (C°)	S (‰)	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (mg/L) ^e	±ST	IC 95% (mg/l)	Riferimento bibliografico ^f
E 70-80 hpf	-	-	20±0,5	35	S	24 h	< 1,12	-	-	Roncarati et al., 2001
L 30 d	0,005	0,011	20±0,5	20±1	S	24 h	1,89	-	-	
L 30 d	-	-	20±1	30±1	S	24 h	2,04 2,90 2,66	- - -	1,38-2,52 2,64-3,18 1,99-3,55	Cicero et al., 2004
L 30 d	-	-	20±1	20±1	S S	24 h	1,89	-	1,65-2,15	Spaggiari et al., 2005
PL	0,06	-	20±0,5	15±1	S	24 h	5,78	-	-	Roncarati et al., 2001
J	0,84	-	20±0,5	15±1	S	24 h	9,85	-	-	
J	3,40	-	20±0,5	15±1	S S	24 h	10,72	-	-	
J 50 d	-	1,21±0,14	21±1	30±1	S	24 h	2,93	0,52	-	Mariani et al., 2007
J 70 d	-	1,73±0,15	21±1	30±1	S	24 h	3,98	0,99	-	Mariani et al., 2009
J	0,82±0,3	5±1	20±1	20±1	S	48 h	7,34 ^c	0,47	-	Mariani et al., 2006
J 50 d	-	1,21±0,14	21±1	30±1	S	48 h	0,90	0,50	-	Mariani et al., 2007
J 70 d	-	0,017±0,001	21±2	30±1	S	48 h	3,87	1,03	-	Mariani et al., 2009
J	-	5,75±0,2	20±1	20±1	R	96 h	7,28	0,47	-	Gelli et al., 2005
J	0,82±0,3	5,0±1,0	20±1	20±1	S	96 h	7,07 7,88	- -	5,0-10,0 7,10-8,19	Mariani et al., 2006
J	da 0,53±0,1 a 4,77±0,2	da 4,4±0,3 a 7,84±0,3	20±1	20±0,5	R	96 h	7,33 ^d	0,53	-	ICRAM-TAXA-2005
J	0,068±0,03	2,23±0,22	20±0,7	20	R ^a	96 h	5,76	-	5,20-6,40	Conti et al., 2015
J	0,66±0,22	4,64±0,29	19,5±1	20	R ^a	96 h	6,71	-	-	
J	0,94±0,34	4,79±0,52	20±1	20	R ^a	96 h	9,50	-	8,2-11,0	
J	1,42±0,05	5,40±0,07	20,5±1	20	R ^b	96 h	8,12	-	7,55-8,73	
J	0,50±0,07	3,90±0,30	20±0,3	5	R ^a	96 h	13,50	-	12,43-14,67	
J	0,94±0,34	4,79±0,52	20±1	5	R ^a	96 h	14,14	-	12,32-16,24	
J	1,42±0,05	5,40±0,07	20,5±1	5	R ^b	96 h	13,81	-	13,09-14,57	
J	0,66±0,22	4,64±0,29	19,5±1	5	R ^a	96 h	14,87	-	-	

Abbreviazioni: E: uova; d: days (giorni); h: ore; hpf: ore post-fecondazione; IC: intervallo di confidenza; J: giovanili; L: larve; LT: lunghezza totale; P: peso; PL: post-larve; SV: stadio vitale; S: salinità; ST: scarto tipo; S: test statico; R: test con rinnovo del mezzo

Note: ^a: rinnovo ogni 48 h; ^b: rinnovo ogni 24 h; ^c: media di 3 esperimenti indipendenti; ^d: 4 laboratori diversi e differenti lotti di pesci; ^e i valori di LC₅₀ si riferiscono alle concentrazioni nominali; ^f tutti i riferimenti sono presenti nelle schede bibliografiche del presente rapporto.

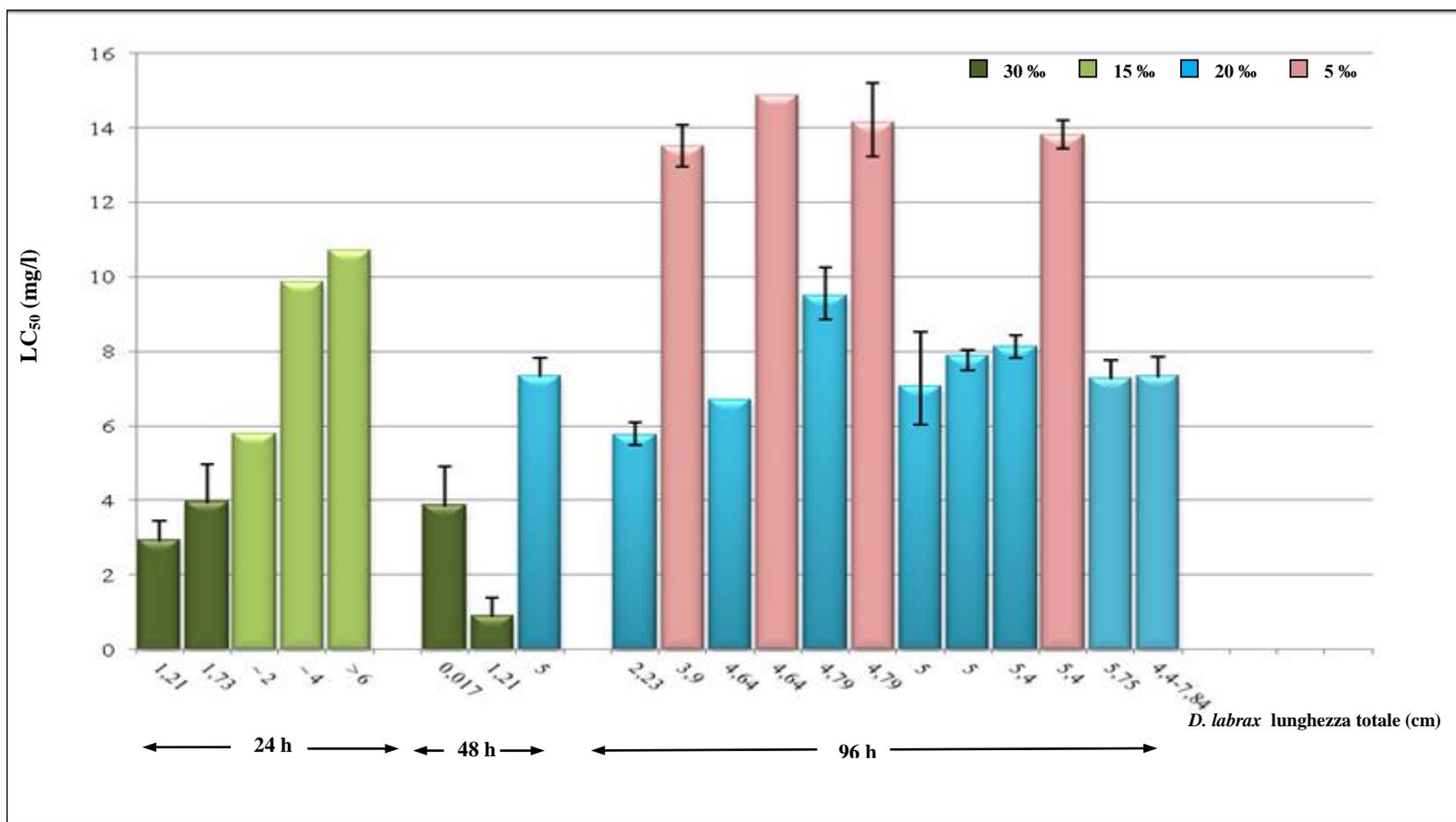


Figura 20 – Rappresentazione grafica dei dati di tossicità acuta a 24, 48 e 96 h dell'SDS su giovanili di *D. labrax*. I valori di LC₅₀ sono riportati, per ogni periodo di esposizione, in base alle dimensioni crescenti degli organismi (lunghezza totale in cm) ed alla salinità utilizzata

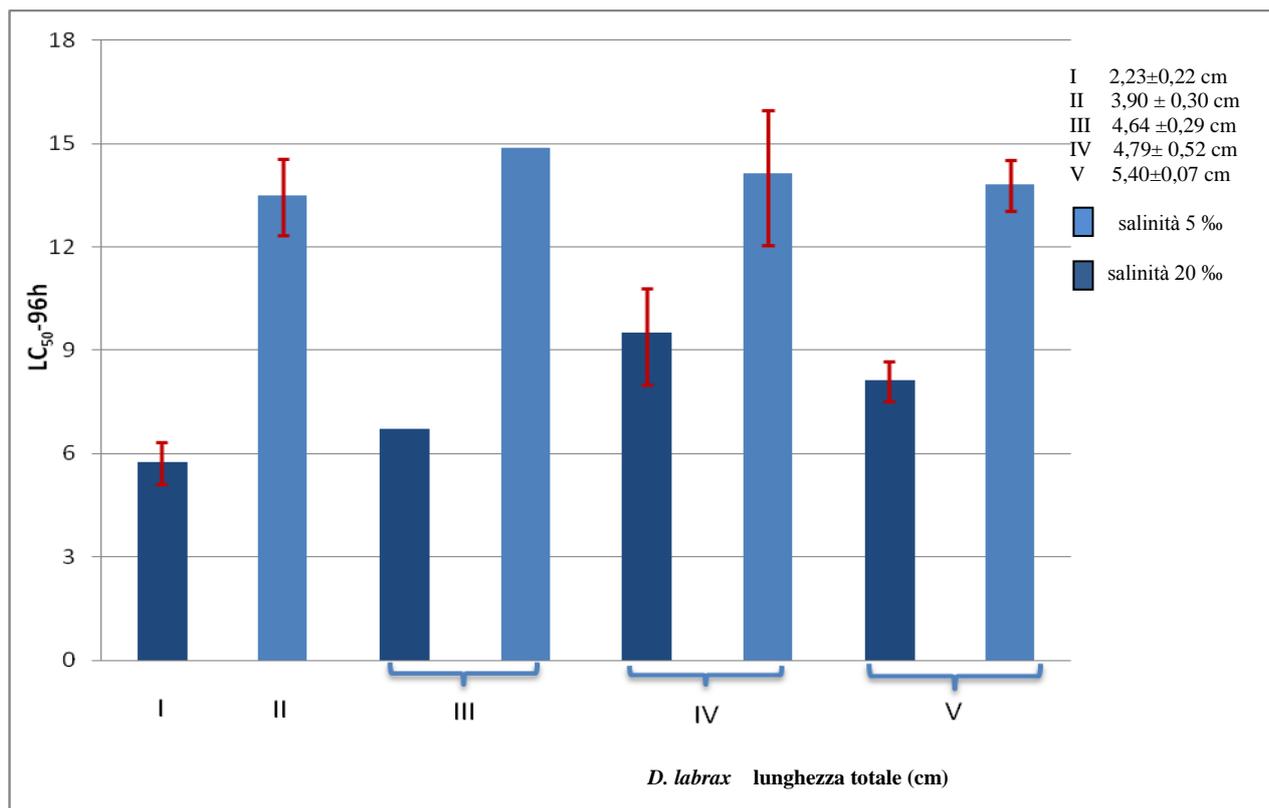


Figura 21 – Valori nominali di LC₅₀-96 h ottenuti con SDS a due differenti salinità (5 e 20 ‰) su gruppi di branzini di taglia diversa.

3.6 Pesticidi

I pesticidi, da un punto di vista normativo, si distinguono in prodotti fitosanitari [Reg. CE 1107/2009], utilizzati per la protezione delle piante e per la conservazione dei prodotti vegetali, e in biocidi [Reg. UE 528/2012] impiegati in vari campi di attività (disinfettanti, preservanti, pesticidi per uso non agricolo, ecc.). Poiché i due tipi di prodotti possono avere gli stessi principi attivi, con il termine “pesticidi” si indica l’insieme delle sostanze suddette (Paris et al., 2014).

Con il termine pesticidi si definisce una categoria di sostanze a composizione chimica molto varia. Tali composti, inorganici, organici naturali e di sintesi, sono formulati commercialmente per combattere, prevenire e/o curare, attraverso diversi meccanismi di azione (che dipendono dalle caratteristiche delle molecole chimiche impiegate e dal bersaglio che si vuole raggiungere), le infezioni causate ai vegetali, da organismi nocivi quali funghi o crittogame, batteri, insetti, acari, nematodi, virus, micoplasmi, molluschi, roditori, licheni, microalghe patogene, ecc. nonché a contrastare o eliminare specie vegetali indesiderate.

Un pesticida si compone di tre elementi: il principio attivo, il coadiuvante e il coformulante. Il principio attivo o sostanza attiva è la frazione più importante di un prodotto fitosanitario, che agisce nei confronti dell’agente che si intende controllare. I coadiuvanti sono sostanze che aumentano l’efficacia delle sostanze attive e ne migliorano la distribuzione. Possono essere solventi, sospensivanti, emulsionanti, bagnanti, adesivanti, antideriva, antievaporanti e antischiama. I coformulanti, infine, servono a ridurre la concentrazione della sostanza attiva (sostanze inerti e diluenti).

I pesticidi possono essere classificati sulla base del loro meccanismo d’azione. Questo tipo di classificazione è cambiata nel corso del tempo anche a causa dell’introduzione di nuove molecole. In tabella 27 sono elencati gli effetti tossici generali e i siti d’azione specifici per alcune classi di pesticidi. L’elenco non intende essere esaustivo. A tale scopo si rimanda a Fernandes et al., 2013.

Tabella 27 - Effetti tossici generali e siti d’azione specifici per le principali classi di pesticidi. Tabella tratta da De Lorenzo et al., 2001 e modificata

Classe di pesticida	Composti inclusi	Effetto tossico generale	Sito d’azione specifico
Composti organofosfati	Carbamati	Inibizione del sistema nervoso	Enzima acetilcolinesterasi
Composti organoclorurati	Antiparassitari del ciclodiene (Aldrin, dieldrin, ecc.) Endosulfan	Inibizione del sistema nervoso	Recettore per GABA ¹ (sistema nervoso)
Erbicidi	Triazine, Fenilcarbamati, composti dell’urea, Propanil ²	Inibizione della fotosintesi	Reazione di Hill e trasporto degli elettroni
	Paraquat ³	Inibizione della fotosintesi	Reazioni di riduzione foto sistema I
	Piridazinoni	Inibizione della biosintesi di carotenoidi	Carotene
	Cloroacetammide, Alacloro	Inibizione di reazioni di biosintesi	Sintesi degli acidi grassi
	Dinitroaniline (Trifluralin), Colchicina	Inibizione di reazioni di biosintesi	Formazione dei microtubuli
Biocidi ad ampio spettro	Clorofenoli	Azioni inibitorie multiple	Fosforilazione, sintesi delle proteine, biosintesi dei lipidi
	Tributil stagno e composti	Inibizione della respirazione cellulare	ATPasi mitocondriale

Note: ¹ GABA: Acido gamma aminobutirrico; ² N-(3,4-Dichlorophenyl)propanamide; ³ N,N'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride

I pesticidi comportano spesso effetti negativi sull’uomo e sull’ambiente. In funzione delle loro caratteristiche molecolari, delle condizioni di utilizzo e di quelle del territorio dove sono impiegati, possono migrare lasciando residui nell’ambiente e nei prodotti agricoli, con un rischio immediato e/o nel lungo termine sia per l’uomo che per gli ecosistemi. Secondo Dursma and Marchand (1974) i pesticidi e i loro residui sono tra i composti più devastanti per gli ecosistemi acquatici, influenzando tutti i livelli della catena trofica, dal fitoplancton all’uomo. I maggiori effetti sugli organismi acquatici includono: tumori e lesioni, l’inibizione della riproduzione, la soppressione del sistema immunitario, la distruzione del sistema endocrino, danni

cellulari e molecolari, effetti teratogenici e fisiologici vari e la morte dell'organismo (Islam and Tanaka, 2004).

Il Settore Sostanze Pericolose, del Servizio Rischio Tecnologico, del Dipartimento Nucleare Rischio Tecnologico e Industriale dell'ISPRA realizza dal 2003 il rapporto nazionale riguardante il monitoraggio dei pesticidi nelle acque nel contesto della regolamentazione nazionale dei pesticidi, tenendo conto della normativa per la tutela delle acque, che con la direttiva quadro acque (DQA) [Dir. 2000/60/CE] e le direttive figlie, stabilisce i criteri per lo sviluppo delle reti e per l'esecuzione del monitoraggio e fissa gli SQA per le sostanze "prioritarie". Il Piano di Azione Nazionale (PAN), previsto dalla direttiva 2009/128/CE [Dir. 2009/128/CE] sull'utilizzo sostenibile dei pesticidi e adottato con il decreto 22 gennaio 2014 [D.M. 35/2014], ha definito, inoltre, un nuovo contesto normativo per il monitoraggio dei pesticidi nelle acque, indicando i compiti e le scadenze per la realizzazione del rapporto. In tale ambito, l'ISPRA svolge un compito di indirizzo tecnico-scientifico per la scelta delle sostanze da ricercare prioritariamente, i metodi di campionamento, le analisi e il controllo di qualità. Le Regioni trasmettono i risultati del monitoraggio all'ISPRA, che li elabora e valuta. L'ISPRA fornisce anche le linee guida per la realizzazione del monitoraggio, giovandosi del contributo del gruppo di lavoro "Fitofarmaci" del sistema delle agenzie ambientali. I dati di monitoraggio sono trasmessi all'Istituto attraverso il sistema informativo nazionale per la tutela delle acque italiane (SINTAI). E' in corso la realizzazione di un sistema informativo per agevolare la gestione e l'elaborazione dei dati, consentendo un più efficace controllo della qualità, e un migliore accesso alle informazioni, sia per gli addetti ai lavori che per il pubblico (Paris et al., 2014).

Secondo l'ultimo rapporto ISPRA n°208/2014 (dati statistici del biennio 2011-2012), in Italia, il monitoraggio dei pesticidi nelle acque è reso complesso dal numero di sostanze interessate, dalla conoscenza non adeguata degli scenari di utilizzo e della distribuzione geografica delle sorgenti di rilascio. Sono circa 400 le sostanze attualmente utilizzate in agricoltura e, secondo l'ISTAT [ISTAT, 2013], nel 2012 sono state vendute 134.242 tonnellate di prodotti fitosanitari. Per i biocidi, per i quali non si dispone di informazioni analoghe, è difficile quantificarne l'incidenza sulla contaminazione ambientale.

In base alla Direttiva FW 2000/60, la qualità delle acque è valutata sulla base del confronto con gli SQA per le acque superficiali e sotterranee fissati per le diverse sostanze prioritarie. Nella tabella 28 sono riportati tutti i pesticidi elencati nell'Allegato I alla Direttiva 2013/39/UE.

Nella figura 21, tratta dal rapporto ISPRA 208/2014, sono riportati i pesticidi più ricercati nelle acque superficiali e sotterranee del territorio italiano nell'anno 2012. Nella figura 22 (Paris et al., 2014) sono riportati i livelli di contaminazione rilevati nel 2012 con ripartizione percentuale dei punti di monitoraggio.

Tabella 28 - Pesticidi presenti nell'elenco delle sostanze prioritarie (Allegato I Direttiva 2013/39/UE)

Alacloro	Trifluralin
Atrazina	Dicofol
Clorfenvinfos	Chinossifen
Clorpirifos	Aclonifen
Aldrin, Dieldrin, Endrin	Bifenox
Isodrin	Tributil stagno e composti
Diuron	Cibutrina
Endosulfan	Cipermetrina
Esaclorocicloesano*	Diclorvos
Isoproturon	Eptacloro e eptacloro epossido
Simazina	Terbutrina

*Il composto più noto appartenente a questo gruppo è il Lindano (γ-esaclorocicloesano)

Nella maggioranza dei casi, non è stato possibile quantificare la concentrazione delle sostanze ricercate, perché inferiore al limite di quantificazione (LOQ). Il LOQ è il limite inferiore di un intervallo di misura (Belli et al. 2013). Può variare da sostanza a sostanza e dipende dalle prestazioni del laboratorio analitico. Per approfondimenti sulla tipologia di sostanze più frequentemente rilevate nelle acque italiane si rimanda al rapporto ISPRA 208/2014, scaricabile dal sito www.isprambiente.gov.it/files/pubblicazioni.

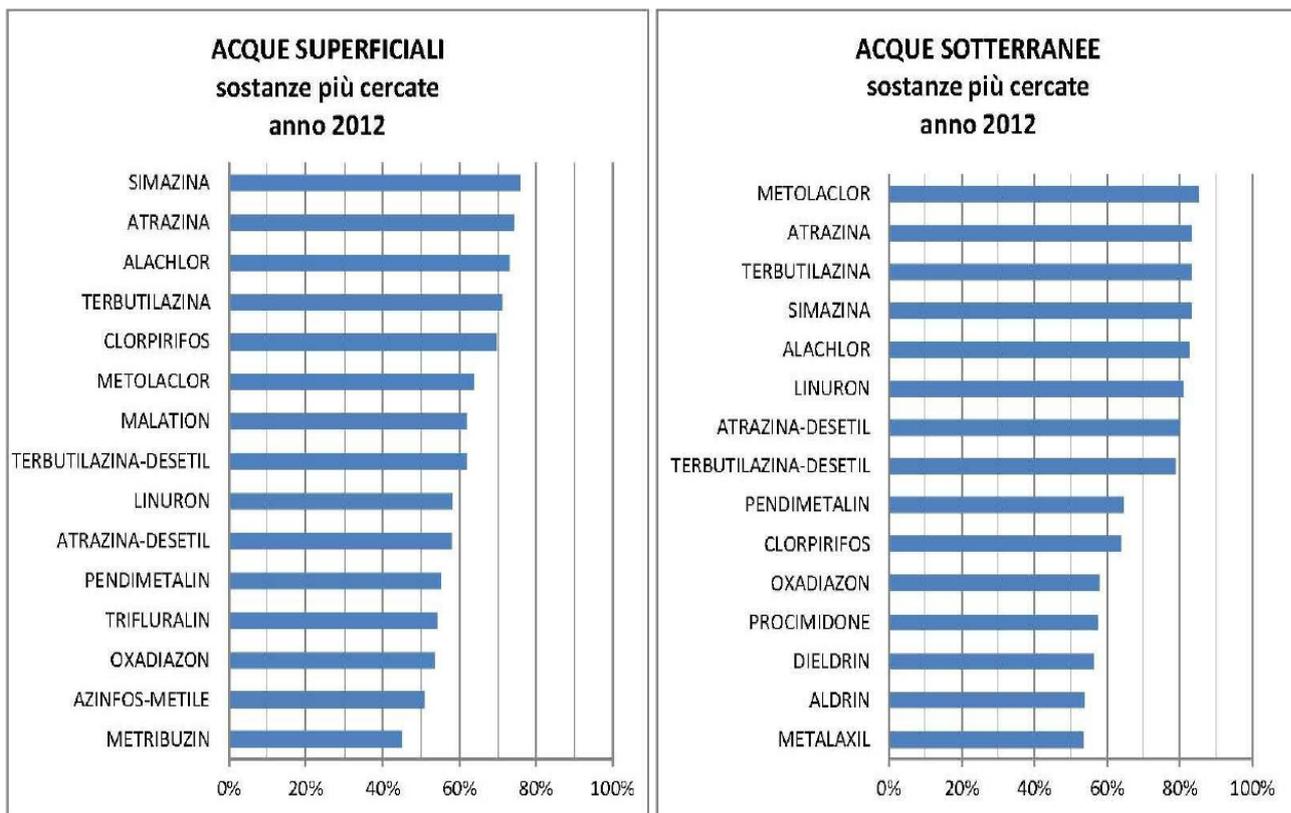


Figura 21 - Pesticidi maggiormente cercati nelle acque superficiali e sotterranee del territorio Italiano nell'anno 2012. Figura tratta dal rapporto ISPRA 208/2014.

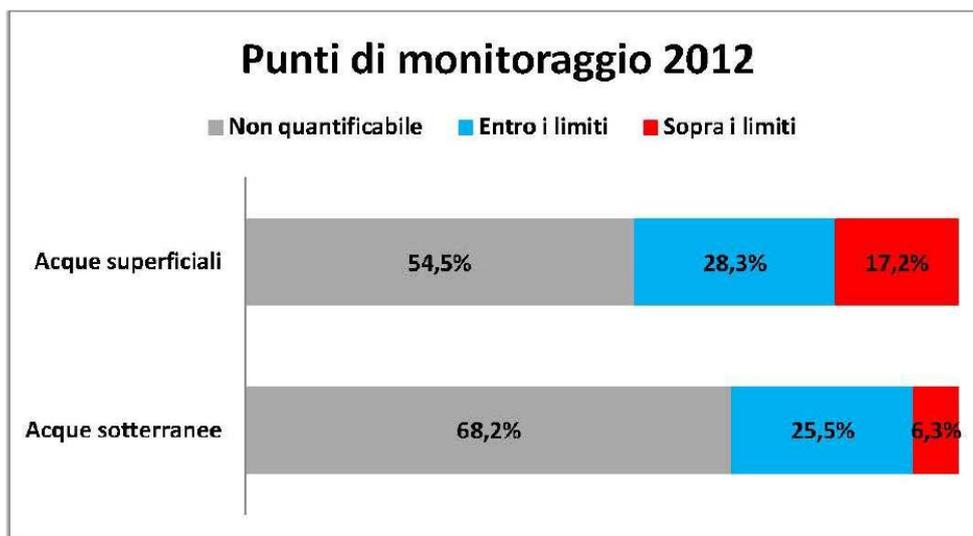


Figura 22 - Livelli di contaminazione rilevati nel 2012 per le acque superficiali e sotterranee del territorio Italiano. Tratta dal rapporto ISPRA 208/2014.

3.6.1 Simazina, Trifluralin, Endosulfan, Clorpirifos

La **simazina** (6-Chloro-*N,N'*-diethyl-1,3,5-triazina-2,4-diammino) è un erbicida della famiglia delle clorotriazine, impiegato per il controllo delle erbe infestanti a foglia larga e le graminacee annuali (soprattutto granturco). Viene assorbito soprattutto per via radicale. Quindi, agisce inibendo, nelle foglie, il trasporto degli elettroni del processo fotosintetico. Alcune varietà di mais hanno sviluppato una resistenza alla simazina attraverso un enzima che detossifica il composto per idrolisi.

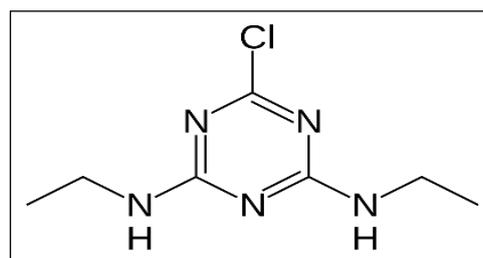


Figura 23 - Struttura chimica della Simazina (CAS 122-34-9).

La simazina viene dechlorurata nell'ambiente e successivamente idrolizzata in condizioni di pH elevato. Il composto che si forma, 2-idrossi-4,6-bis(etilammino)-triazina, non ha proprietà erbicide. Tuttavia, i processi idrolitici non sembrano giocare un ruolo importante nella degradazione di questo erbicida. Più facilmente, infatti, la simazina può essere degradata mediante fotolisi con perdita di un gruppo alchilico e successiva trasformazione in deisopropil atrazina e diammino clorotriazina (Gunasekara, 2004). Il tempo di dimezzamento della degradazione fotolitica è compreso tra 4,5 e 21 giorni (Vencill et al., 2002; Montgomery, 1993). Evgenidou and Fytianos (2002) hanno studiato la degradazione della simazina nelle acque naturali in presenza di radiazione ultravioletta ($\lambda > 290$ nm). I due autori hanno mostrato che al buio non si verifica alcuna degradazione del composto nelle acque, nemmeno mediante idrolisi. Al contrario, in presenza della radiazione UV, la simazina in acqua si degrada prontamente con tempi di dimezzamento compresi tra 2,7 e 5,4 ore in funzione di fattori come il contenuto di ossigeno e il materiale organico presente.

La simazina ha una solubilità in acqua che tende ad aumentare con la temperatura, da moderatamente solubile (5 mg/L) a 20° fino a 84 mg/L a 85°C. Ha una densità di 0,436 g/L a 20°C e un K_{ow} elevato pari a 122. Nonostante sia persistente nell'ambiente, un certo grado di degradazione biotica si verifica e con un'efficienza considerevole. Numerosi tipi di batteri e di funghi sono stati identificati per la loro capacità di degradare questo erbicida (Strong et al., 2002; Martin-Montalvo et al., 1997; Cook and Hutter, 1984; Kodama et al., 2001).

La simazina può provocare a lungo termine effetti negativi per l'ambiente acquatico ed è altamente tossica per gli organismi. Sebbene, da lungo tempo, il suo uso nella Comunità Europea non sia più autorizzato, continua ad essere una tra le sostanze più rinvenute nelle acque superficiali e sotterranee italiane e una di quelle per le quali è stato frequentemente rilevato il superamento degli SQA (tabella 29). Lo stato di contaminazione è risultato particolarmente rilevante nell'area padano-veneta dove la sostanza è stata largamente utilizzata nelle colture di mais. Il monitoraggio 2011-2012 ha evidenziato un residuo di contaminazione storica dovuto all'ampio utilizzo in passato e alla persistenza ambientale di questo tipo di composto (Paris et al., 2014).

La simazina è anche negli USA e in Australia uno dei pesticidi più comunemente rilevati in superficie e nei corpi idrici ed è causa di crescente preoccupazione per via del suo potenziale carcinogenico.

Il **Trifluralin** (2,6-Dinitro-*N,N'*-dipropil-4-trifluorometil-anilina) è un erbicida della famiglia delle dinitroaniline, che comprende più di 10 differenti erbicidi che hanno la struttura dell'anilina come base, con gruppi NO_2 alle posizioni 2 e 6 o 3 e 5 dell'anello benzenico. Non è molto solubile in acqua (0,3 to 0,6 mg/L a 25°C), è mediamente volatile ($1,1 \cdot 10^{-4}$ mmHg pressione di vapore a 25°C), la sua densità è di 1,36 g/cm³ a 22°C, viene considerata una sostanza persistente nell'ambiente (120-240 giorni).

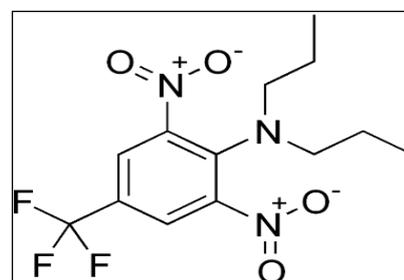


Figura 24 - Struttura chimica del Trifluralin (CAS 1582-09-8).

Il Trifluralin è fortemente adsorbito dalla materia organica (MO) colloidale, tanto che, nei suoli ricchi di MO, l'adsorbimento previene l'assorbimento radicale da parte delle piante e in tali condizioni ne viene sconsigliato l'uso. La sua principale caratteristica è una bassa mobilità nei suoli che lo rende persistente. Agisce più efficacemente quando l'umidità del suolo è elevata. In tal caso, l'erbicida viene parzialmente solubilizzato e distribuito nel primo strato della superficie, dove è protetto dalle perdite. La degradazione chimica del trifluralin comporta la dealchilazione del gruppo amminico, la riduzione del gruppo NO₂ in NH₂ e la parziale ossidazione da trifluorometil con un gruppo carbossilico, con riduzione finale in piccoli frammenti (Fernandes et al., 2013). La degradazione biotica microbica avviene principalmente in condizioni di anaerobiosi e in seguito a piogge. In questo caso il 98% del trifluralin si degrada per azione di numerosi funghi e del batterio *Pseudomonas*. Il trifluralin è sensibile anche alla degradazione per fotolisi (Fernandes et al., 2013).

La contaminazione delle acque con trifluralin può avvenire per lisciviazione dai sedimenti o per sversamenti accidentali. Tuttavia, solo lo 0,5% delle quantità di erbicida applicate ai suoli è lisciviato e può finire negli ecosistemi acquatici.

Gli erbicidi come il Trifluralin agiscono inibendo la polimerizzazione dei microtubuli, che provoca il malfunzionamento del fuso mitotico che costituisce l'apparato fondamentale per una corretta divisione delle cellule somatiche.

Molti studi hanno investigato gli effetti tossici del Trifluralin su diverse specie compreso l'uomo, tuttavia i risultati in merito sono spesso contraddittori (Fernandes et al., 2013). In accordo a WHO (1992) il Trifluralin causa l'ossidazione dell'emoglobina, la distruzione dei globuli rossi, è tossico per i reni, il fegato e il sistema nervoso centrale. In funzione della via di esposizione, può causare vomito, diarrea, dermatiti, debolezza e perdita di memoria. Alcuni studi hanno evidenziato le potenzialità genotossiche e citotossiche del trifluralin, senza tuttavia arrivare a risultati conclusivi.

Gli SQA stabiliti dalla CE (Direttiva 2013/39/UE) per il Trifluralin sono mostrati in tabella 29. Il monitoraggio 2011-2012 effettuato sul territorio Italiano (Rapporto ISPRA 208/2014) non ha evidenziato particolari problematiche per il Trifluralin.

L'**Endosulfan** (6, 7, 8, 9, 10, 10 - esacloro - 1, 5, 5a, 6, 9, 9a - idro - 6, 9 - metano - 2, 4, 3 - benzodiossietepina - 3 - ossido) è un ciclodiene clorurato e viene utilizzato come insetticida (figura 25). Il prodotto contiene due isomeri α - e β - presenti in un rapporto di 7:3 (FAO, 2011). Il composto ha una densità di 1,745 mg/L a 20°C, una solubilità in acqua di 0,53 mg/L a 25°C e un log K_{ow} di 3,83 (isomero α) e 3,62 (isomero β) (HSBD, 2012). L'Endosulfan si trasforma facilmente in Endosulfan solfato mediante ossidazione. Quindi, sia i due isomeri, che la forma solfato, si ritrovano nell'ambiente a causa dell'ampio utilizzo di questo insetticida, delle sue proprietà fisiche e della sua relativa persistenza

L'Endosulfan viene applicato direttamente ai suoli e alle colture mediante distribuzione aerea o spray manuali. Nei suoli il composto ha una limitata mobilità (valori di coefficiente di assorbimento al suolo K_{oc} misurati su 4 suoli: (α) 10,600 e (β) 13,500 mL/g), quindi la lisciviazione alle acque sotterranee non è significativa. Nei suoli il composto viene metabolizzato a Endosulfan solfato che è ugualmente poco mobile (K_{oc}: 9,800) (EPA 2010). Anche quando non viene applicato nelle vicinanze dei corpi idrici, esso ricade nelle acque per via aerea o mediante deposizione atmosferica, o vi giunge per erosione dai suoli. Tuttavia, essendo un composto semi-volatile (log del coefficiente di ripartizione aria/acqua compreso tra -3,56 e -4,78) può verificarsi un rilascio significativo dai corpi idrici, che diviene dominante in aree geografiche caratterizzate da elevate temperature e basse precipitazioni (ASTDR, 2013). Sempre a causa della natura semivolatile e della relativa stabilità, l'Endosulfan viene trasportato per lunghi tratti nell'ambiente (Weber et al., 2010). Residui di questo insetticida possono essere ritrovati nelle nevi, nelle piogge, nei licheni, nelle acque superficiali e nei sedimenti di aree anche molto distanti dalle zone agricole dove viene impiegato. In generale, i pesticidi organo clorurati come l'Endosulfan, sono soggetti al fenomeno dell'intrappolamento nelle zone di montagna dove le basse temperature (che provocano condensazione) e gli elevati tassi di

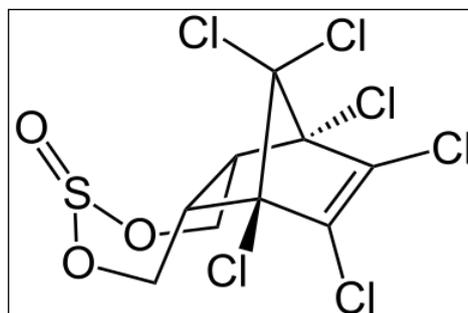


Figura 25 - Struttura chimica dell'Endosulfan (CAS 115-29-7).

precipitazioni (regioni temperate) possono causare elevate deposizioni soprattutto nelle nevi. (Daly and Wania, 2005).

Gli isomeri dell'Endosulfan non subiscono fotolisi diretta nell'atmosfera perché essi non sono in grado di assorbire la luce a lunghezze d'onda > 300 nm (EPA, 2010), ma entrambi sono ossidati a Endosulfan solfato attraverso differenti processi.

Nelle acque, in funzione del pH, l'Endosulfan viene idrolizzato a diolo (emivita a pH 7: (α) 35,4 giorni e (β) 37,5 giorni; emivita a pH 5,5: (α) 151 giorni e (β) 187 giorni), e, in condizioni aerobiche, l'idrolisi è seguita da ossidazione (ASTDR, 2013).

Nei suoli la biodegradazione degli isomeri di Endosulfan in Endosulfan diolo o solfato da parte di numerosi tipi di funghi e batteri è il principale meccanismo che si verifica.

Il potenziale di bioaccumulo e biomagnificazione di questo composto varia nei diversi organismi ed è stato particolarmente studiato negli ecosistemi acquatici. I valori di BCF variano da 17,1 a 11,58 in diverse specie di pesci (ASTDR, 2013) e da 12 a 600 negli invertebrati acquatici (EPA 2010)

Il principale organo bersaglio dell'Endosulfan nell'uomo e negli altri animali è il sistema nervoso centrale (SNC). Infatti, questo insetticida è risultato essere un antagonista, per il trasporto dello ione Cl^{2-} , a livello dei recettori dell'acido gamma amminobutirrico (GABA). L'esposizione ad elevate quantità provoca l'iperstimolazione del SNC con iperattività, tremori, respirazione difficoltosa, dispnea, salivazione, convulsioni e morte. Altri effetti tossici rilevati a carico dei sistemi respiratorio, gastrointestinale, cardiovascolare e renale, sono secondari ad prolungati stati di epilessia. Effetti analoghi sono stati osservati negli animali dopo l'esposizione acuta orale a dosi ≥ 1.8 mg/kg (ASTDR, 2013). Per approfondimenti si rimanda al Profilo Tossicologico dell'Endosulfan pubblicato da Agency for Toxic and Disease Registry e da EPA scaricabile dal sito <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp41.pdf>.

Gli SQA stabiliti dalla CE (Direttiva 2013/39/UE) per l'Endosulfan sono mostrati in tabella 29. Il monitoraggio 2011-2012 effettuato sul territorio Italiano (Rapporto ISPRA 208/2014) non ha evidenziato particolari problematiche per l'Endosulfan.

Il **Clorpirifos** (*O,O*-Diethyl *O*-3,5,6-tricloropiridina-2-yl fosfotioato) è un insetticida organo fosfato clorurato (figura 26) ad ampio spettro. Il composto ha una solubilità in acqua di 1,4 mg/L a 25°C, una pressione di vapore pari a $1,87 \times 10^{-5}$ mmHg a 25 °C, un $\log K_{ow}$ di 4,70 e un K_{oc} compreso tra 360 e 31,000 in funzione del tipo di suolo e delle condizioni ambientali (Tomlin, 2006; Smegal, 2000). Si lega fortemente ai suoli dove è relativamente immobile e ha una bassa solubilità in acqua. E' quindi stabile nei suoli con emivite comprese tra 7 e 120 giorni rilevate nei diversi studi (Kamrin et al., 1997; Roberts and Hutson, 1999).

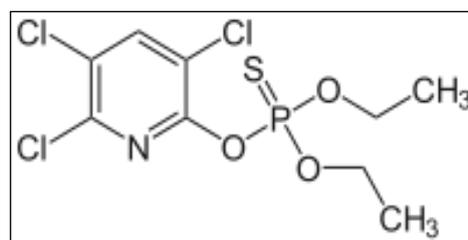


Figura 26 - Struttura chimica del Clorpirifos (CAS 2921-88-2).

La sua persistenza può dipendere dalla formulazione dell'insetticida, dalla frequenza di applicazione, dal tipo di suolo e dalle condizioni climatiche. Il composto è risultato, ad esempio, meno persistente nei suoli alcalini (Kamrin, 1997). La degradazione abiotica nei suoli può avvenire mediante fotolisi, idrolisi chimica e dechlorurazione. I principali prodotti di degradazione, che sono il dietil fosfato e il 3,5,6-tricloro-2-piridinolo (TCP), sono simili ai metaboliti che si formano nelle piante e negli animali.

Il Clorpirifos ritrovato nelle acque è probabilmente il risultato di processi di erosione dai suoli circostanti. L'evaporazione dalle acque è il principale mezzo di perdita del composto con un'emivita compresa tra 3,5 e 20 giorni. Durante l'estate il processo di fotolisi degrada il Clorpirifos dalle acque in 3-4 settimane (Kamrin, 1997). Il tasso di idrolisi aumenta all'aumentare della temperatura e dell'alcalinità del mezzo acquoso. A pH 7 e temperatura di 25°C è stata osservata un'emivita di 35-78 giorni.

Nell'atmosfera, questo insetticida reagisce con i radicali idrossilici prodotti fotochimicamente, e si degrada a Clorpirifos-oxon con un'emivita stimata pari a 4,2 ore (HSDB, 2005).

Agisce attraverso l'inibizione dell'acetilcolina (ACh) un importante neurotrasmettitore del SN, legandosi ai siti attivi dell'enzima Acetilcolinesterasi. L'accumulo di ACh nelle sinapsi causa sovra stimolazione delle cellule nervose e quindi neurotossicità ed eventualmente morte. Questa azione si verifica sia negli organismi bersaglio (gli insetti) che in tutti gli altri organismi.

Il Clorpirifos è risultato altamente tossico per gli invertebrati acquatici, i pesci e altri organismi marino/estuarini (npic.orst.edu/factsheets/chlorptech.pdf).

Gli SQA stabiliti dalla CE (Direttiva 2013/39/UE) per il Clorpirifos sono mostrati in tabella 29. Il monitoraggio 2011-2012 effettuato sul territorio Italiano (Rapporto ISPRA 208/2014) non ha evidenziato particolari problematiche per il Clorpirifos.

Tabella 29 - Standard di Qualità Ambientale per Simazina, Trifluralin, Endosulfan e Clorpirifos.

Le concentrazioni sono espresse in µg/L.

Pesticida	SQA-AA ¹ acque superficiali interne ²	SQA-AA ¹ altre acque di superficie	SQA-CMA ³ acque superficiali interne ¹	SQA-CMA ³ altre acque di superficie	SQA Biota ⁴
Simazina	1	1	4	4	-
Trifluralin	0,3	0,03	na	na	-
Endosulfan	0,005	0,0005	0,01	0,004	-
Clorpirifos	0,03	0,03	0,1	0,1	-

Note: ¹ Valore medio annuo; ² Si intendono i fiumi, laghi e i corpi idrici artificiali o fortemente modificati; ³Concentrazione massima ammissibile; ⁴ Se non altrimenti indicato, si riferisce ai pesci. Un taxon del biota alternativo o un'altra matrice possono essere monitorati, purchè l'SQA applicato garantisca un livello equivalente di protezione.

Nelle tabelle 30, 31 32 e 33 sono riassunti gli studi di tossicità acuta e prolungata con Simazina, Trifluralin, Endosulfan e Clorpirifos, rispettivamente, effettuati su specie ittiche d'acqua dolce.

Nella tabella 34 sono riassunti gli studi di tossicità acuta e prolungata con Simazina, Trifluralin, Endosulfan e Clorpirifos effettuati su specie di acqua marino/salmastra, compresa la spigola, *D. labrax*.

Per la denominazione comune, italiana e inglese, delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda l'allegato 1 alla presente pubblicazione.

Tabella 30 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con Simazina su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Danio rerio</i>	J 20 d	-	-	23	8-8,3	-	NM	R	28 d	0,060	-	Pihalova et al., 2011
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	1 m	-	5,1	15	7,7	3,5	NM	-	48 h 72 e 96 h	350,0 330,0	-	Wan et al., 2006
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,6	-	-	-	-	-	S	96 h	40,5 (34,0-48,4)	NOEL: <6,0	EPA, 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,87	-	-	-	-	-	R	96 h	>82,0	NOEL: 22,0	EPA, 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,9	-	-	-	-	-	S	96 h	60,0 (49,8-72,3)	NOEL: 34,3	EPA, 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,0	-	-	-	-	-	S	96 h	> 10,0	NOEL: 10,0	EPA, 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	25-40	-	-	-	-	-	S	28 d	>2,5	-	-
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,2	-	12	7,4	44	-	S	96 h	>100	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	4-12 m	0,5-14	2-10	14	6,8-7,6	5-6	NM	S	96 h	>100	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^a
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	4-12 m	0,5-14	2-10	14	7,0	6-7	NM	S	96 h	>100	-	Bathe et al., 1975
<i>Carassius auratus</i>	4-12 m	0,5-14	2-10	14	6,8-7,6	5-6	NM	S	96 h	>100	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^a
<i>Carassius auratus</i>	4-12 m	0,5-14	2-10	14	7,0	6-7	NM	S	96 h	>100	-	Bathe et al., 1975
<i>Carassius auratus</i>	-	-	-	25	-	-	NM	S	48 h	>40,0	-	Hashimoto and Nischiuchi, 1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	1,5	-	-	-	-	-	S	96 h	6,4 (4,8-8,7)	NOEL: 2,5	EPA, 2013
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,7	-	25	7,4	44	-	S	96 h	5,0 (3,5-7,2)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	-	18- 22,5	-	-	NM	-	48 h 72 h	3,9 3,0	-	Tscheu-Schluter, 1976
<i>Poecilia reticulata</i>	4-12 m	0,5-14	2-10	21	6,8-7,6	5-6	NM	S	96 h	49,0	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^c
<i>Poecilia reticulata</i>	4-12 m	0,5-14	2-10	20	7,0	6-7	NM	S	96 h	49,0	-	Bathe et al., 1975
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	-	-	-	NM	-	48 h	118,0	-	Mayer, 1974
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	1,0	-	-	-	-	-	S	96 h	100,0 (90,0-110,0)	-	EPA, 2013
<i>Lepomis macrochirus</i>	J	-	-	-	-	-	-	S	96h	16,0 (9,9-26,0)	NOEL: 5,6	EPA, 2013
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	1,0	-	24	7,4	44	-	S	96 h	100,0 (90,9-110,0)	-	Meyer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	4-12 m	0,5-14	2-10	14	6,8-7,6	5-6	NM	S	96 h	90,0	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^a
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	1,2-2,8	0,04-0,06	20	-	-	NM	S	96 h	8100 (6723,0-9759,0)	-	Watkins et al., 1985
<i>Lepomis macrochirus</i>	1 y	-	-	-	-	-	NM	-	7 m	-	NOEL: 1,0	Watkins et al., 1985
<i>Perca sp</i>	4-12 m	0,5-14	2-10	14	7,0	6-7	NM	S	96 h	0,09	-	Bathe et al., 1975
<i>Amerius melas</i>	4-12 m	5-14	2-10	20	7,0	6-7	NM	S	48 h	65,0 80,0	-	Bathe et al., 1975

Abbreviazioni: d: days (giorni); h: hours (ore); J: Juveniles (giovani); NM: misura del tossico non effettuata durante il test; m: mesi; NOEL: Not Observable Effect Level; LOEL: Lowest Observable Effect Level R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico; y: year (anni). **Note:** ^a Poiché la pubblicazione è in tedesco, si fornisce l'indirizzo web dove i dati sono stati reperiti

Tabella 31 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con Trifluralin su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/ LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	-	-	NM	S	48 h	0,25·10 ⁻³ (0,12·10 ⁻³ - 0,59·10 ⁻³)	-	Svobodova and Vikusova, 1988
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	-	-	12	7,4	44	-	S	96 h	1,6 (1,2-2,1)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	-	-	12	7,4	44	-	S	96 h	0,140 (0,080-0,240)	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L	-	-	12	7,4	44	-	S	96 h	0,160 (0,096-0,270)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,8	-	7	7,4	44	-	S	96 h	0,1 (0,058-0,172)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,8	-	12	7,4	44	-	S	96 h	0,041 (0,026-0,062)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,8	-	17	7,4	44	-	S	96 h	0,060 (0,037-0,098)	-	
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,8	-	12	7,4	44	-	S	96 h	0,022 (0,016-0,030)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,8	-	12	7,4	320	-	S	96 h	0,043 (0,028-0,066)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,9	-	12	7,4	44	-	S	96 h	0,028 (0,018-0,042)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,2	-	12	6,5	44	-	S	96 h	0,033 (0,024-0,046)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,2	-	12	7,5	44	-	S	96 h	0,042 (0,027-0,065)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,2	-	12	8,5	44	-	S	96 h	0,025 (0,015-0,041)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	3,5	-	12	7,6	42	-	S	96 h	0,051 (0,036-0,073)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	4,3	-	12	7,4	44	-	S	96 h	0,076 (0,052-0,111)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Carassius auratus</i>	-	3,5-12	-	26-29	7,8-8,2	-	NM	S	24 h	76,0	-	Santiago and Recometa, 1981
									48 h	53,5	-	
									96 h	49,5	-	
<i>Carassius auratus</i>	-	1	-	18	7,4	44	NM	S	96 h	0,145 (0,108-0,195)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Cyprinus carpio</i>	L	-	0,057	-	-	-	NM	-	48 h	0,017 mL/L	-	Svobodova and Vikusova, 1988
<i>Cyprinus carpio</i>	6 m	0,4	3,3	20	7,8-8,2	150-230	NM	S	24 h	0,185 (0,173-0,189)	-	Poleksic and Karan, 1999
									48 h	0,066 (0,054-0,075)	-	
									96 h	0,045 (0,036-0,051)	-	
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	-	25	-	-	NM	S	48 h	0,85-1,0	-	Hashimoto and Nishiuchi, 1981
<i>Cyprinus carpio</i>	-	2,5	-	21-26	8,3	-	NM	S	96 h	0,660	-	Mansour and Mohsen, 1985
<i>Cyprinus carpio</i>	1,5 y	-	15,3	20	7,8-8,2	150-230	NM	R	14 d	M0%: 0,020	-	Poleksic and Karan, 1999
<i>Oryzias latipes</i>	-	-	-	25	-	-	NM	S	48 h	0,430	-	Hashimoto and Nishiuchi, 1981
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	22	6,5	40	-	S	96 h	0,100 (0,064-0,144)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	22	7,5	40	-	S	96 h	0,260 (0,169-0,399)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	22	8,5	40	-	S	96 h	0,120 (0,087-0,163)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,8	-	22	7,4	44	-	S	96 h	0,058 (0,047-0,070)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,9	-	7	7,4	44	-	S	96 h	0,280 (0,240-0,330)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,9	-	12	7,4	44	-	S	96 h	0,210 (0,170-0,250)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,9	-	18	7,4	44	-	S	96 h	0,135 (0,120-0,160)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,9	-	24	7,4	44	-	S	96 h	0,047 (0,040-0,055)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,9	-	29	7,4	44	-	S	96 h	0,008 (0,007-0,011)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	1,1	-	24	7,4	44	-	S	96 h	0,019 (0,017-0,020)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,6	-	18	7,4	44	-	S	96 h	0,160 (0,116-0,220)	-	Mayer and Ellersieck, 1986

continua **Tabella 31**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,8	-	18	7,4	44	-	S	96 h	0,105 (0,083-0,134)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,8	-	18	7,4	44	-	S	96 h	0,124 (0,095-0,162)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Pimephales promelas</i>	-	4,8	5-7	14	7,2-7,9	342-355	NM	S	7 d	0,381-0,560	-	Chappel, 2001
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	0,03	-	6,6-7,2	33	M	F	30 e 60 d	M100%: 0,017	-	Macek et al., 1976

Abbreviazioni: d: days (giorni); F: test a flusso continuo; h: hours (ore); J: Juveniles (giovani); L: larve; M: misura della concentrazione del tossico effettuata durante il test; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; M100%: mortalità della totalità degli organismi esposti; NM: misura del tossico non effettuata durante il test; m: mesi; NOEL: Not Observable Effect Level; LOEL: Lowest Observable Effect Level; R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico; y: year (anni).

Note: ^a la misura è in mg/L, se non diversamente indicato

Tabella 32 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con Endosulfan su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Danio rerio</i>	-	-	2,5	22	7,8-8	150	NM	S	24 h	1,0	-	Devillers et al., 1985
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,25-1,0	-	-	6,7-8,8	75	M	F	96 h	0,24·10 ⁻³ (0,19·10 ⁻³ -0,34·10 ⁻³)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	7,8	255	M	F	96 h	0,26·10 ⁻³ (0,23·10 ⁻³ -0,29·10 ⁻³)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,0-1,5	-	-	7,6	46,1	M	F	96 h	0,17·10 ⁻³ (0,12·10 ⁻³ -0,24·10 ⁻³)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	6,8-7,1	54	M	F	96 h	0,26·10 ⁻³ (0,23·10 ⁻³ -1,0·10 ⁻³)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	7,8	255	M	F	96 h	0,27·10 ⁻³ (0,17·10 ⁻³ -0,44·10 ⁻³)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	7,8	255	M	F	96 h	0,29·10 ⁻³ (0,24·10 ⁻³ -0,35·10 ⁻³)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,6	0,04	12	-	27	M	F	96 h	0,3·10 ⁻³ (0,3·10 ⁻³ -0,4·10 ⁻³)	-	Nebeker et al., 1983
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,8	0,05	13	-	40	M	F	96 h	0,4·10 ⁻³ (0,3·10 ⁻³ -0,5·10 ⁻³)	-	Nebeker et al., 1983
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,3	0,05	12	-	30-34	M	S	96 h	0,002 (0,001-0,002)	-	Nebeker et al., 1983
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	3-10	-	12	7,7	48	M	F	96 h	0,69·10 ⁻³ (0,25·10 ⁻³ -1,0·10 ⁻³)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	10,6	10	12,1	8,2	33,3	NM	R	96 h	0,002 (0,0016-0,002)	-	Capkin et al., 2006
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	0,055	12	7,5	45	M	S	96 h	0,7·10 ⁻³ (0,5·10 ⁻³ -0,9·10 ⁻³)	-	Sunderam et al., 1992
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	0,055	4	7,5	45	M	S	96 h	0,002 (0,001-0,002)	-	Sunderam et al., 1992
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1-3	-	12	7,74	48	M	S	96 h	0,89·10 ⁻³ (0,69·10 ⁻³ -1,13·10 ⁻³)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	2,5-3,5	-	-	7,6	46,1	M	S	96 h	0,001 (0,001-0,002)	-	Lemke, 1981
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,3	-	2	7,1	44	-	S	96 h	0,0030 (0,0026-0,0033)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,3	-	7	7,1	44	-	S	96 h	0,0017 (0,0015-0,0019)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,3	-	13	7,1	44	-	S	96 h	0,0014 (0,0012-0,0016)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,3	-	18	7,1	44	-	S	96 h	0,0011 (0,00097-0,0013)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J 3m	1,3	4,2	15	-	-	NM	S	96 h	0,7·10 ⁻³ (0,6·10 ⁻³ -0,8·10 ⁻³)	-	

continua **Tabella 32**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J 3m	1,3	4,2	15	-	-	NM	S	96 h	0,0035 (0,0031-0,0039) 0,0046 (0,0040-0,0052)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,0-1,8	4,1-5,6	10	7,4	-	NM	S	96 h	0,3 · 10 ⁻³	-	Schoettger, 1970 Schoettger, 1970
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,0-1,8	4,1-5,6	15	7,4	-	NM	S	96 h	0,8 · 10 ⁻³	-	-
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	0,55	-	-	-	-	-	S	96 h	0,37 · 10 ⁻³ (0,30 · 10 ⁻³ -0,46 · 10 ⁻³)	-	EPA, 2013
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	0,69	-	-	-	-	-	-	S	96 h	0,47 · 10 ⁻³ (0,38 · 10 ⁻³ -0,59 · 10 ⁻³) 0,0023 (0,0018-0,0032)	-	EPA, 2013
<i>Leuciscus idus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	0,009	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^c
<i>Cyprinus carpio</i>	EE e Em	-	-	25	6,9-7,2	-	NM	S	24 h	2,5	-	Hashimoto et al., 1982
<i>Cyprinus carpio</i>	L ^b	-	0,5-0,7	25	6,9-7,2	-	NM	S	24 h	0,560	-	Hashimoto et al., 1982
<i>Cyprinus carpio</i>	L ^b	-	0,5-0,8	25	6,9-7,2	-	NM	S	24 h	0,410	-	Hashimoto et al., 1982
<i>Cyprinus carpio</i>	50-60 d	0,6-1,4	3,4-4,5	25	6,9-7,2	-	NM	S	24 h	0,002	-	Hashimoto et al., 1982
<i>Cyprinus carpio</i>	70-80 d	1,5-3,6	4,6-5,8	25	6,9-7,2	-	NM	S	24 h	0,005	-	Hashimoto et al., 1982
<i>Cyprinus carpio</i>	-	20	-	26	7,0	140	NM	S	24 h	0,00198	-	Naidu et al., 1987
<i>Cyprinus carpio</i>	-	20	-	28	7,6	100	NM	S	48 h	2,2	-	Rao et al., 2006
<i>Cyprinus carpio</i>	J	7,8	8	30-35	7,7-8,3	-	NM	S	48 h	0,033 (0,012-0,093)	-	Jagan et al., 1989
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	-	25	-	-	NM	S	48 h	0,0072	-	Hashimoto and Nishiuchi, 1981
<i>Cyprinus carpio</i>	-	12-27	7,5-10,5	25	-	-	NM	S	72 h	0,005	-	Toor et al., 1973
<i>Cyprinus carpio</i>	L	-	0,008	20-23	7,2	60-88	NM	R	96 h	0,3 · 10 ⁻³	-	Verma et al., 1981
<i>Cyprinus carpio</i>	J	8-9	12-14	50-54	7,4-7,6	-	NM	R	96 h	0,0052	-	Chandrasekar and Jayabalan, 1993
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	0,050	25	8,0	100	M	R	96 h	0,1 · 10 ⁻³ (0,07 · 10 ⁻³ - 0,21 · 10 ⁻³)	-	Sunderam et al., 1992
<i>Cyprinus carpio</i>	-	7,0	-	28	7,0	43,4	NM	R	96 h	0,0095	-	Shivakumar and David, 2004
<i>Cyprinus carpio</i>	-	20	-	26	7,0	140	NM	S	96 h	0,00198	-	Naidu et al., 1987
<i>Cyprinus carpio</i>	-	0,47	-	-	-	-	-	S	96 h	0,0022	-	EPA, 2013
<i>Cyprinus carpio</i>	-	0,7-4	3,8-6,0	20-35	7,0	-	NM	S	7d	0,92 · 10 ⁻³	-	Basak et al., 1976
<i>Carassius auratus</i>	-	-	-	21	7,2-7,6	16-18	NM	-	48 h	0,001	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^c
<i>Pimephales promelas</i>	J 30-40 d	-	-	23,8	7,3-7,8	47	M	F	24 h	0,00184 (0,00165-0,00205)	-	Kleiner et al., 1984
<i>Pimephales promelas</i>	J 30-40 d	-	-	23,8	7,3-7,8	47	M	F	48 h	0,00170	-	Kleiner et al., 1984
<i>Pimephales promelas</i>	J 30-40 d	-	-	23,8	7,3-7,8	47	M	F	72 h	0,00132 (0,0013-0,00154)	-	Kleiner et al., 1984
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,1	0,017	20	-	41	M	S	96 h	0,8 · 10 ⁻³ (0,8 · 10 ⁻³ - 0,9 · 10 ⁻³)	-	Nebeker et al., 1983
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,1	0,016	22	-	39	M	F	96 h	0,001 (0,8 · 10 ⁻³ - 1,3 · 10 ⁻³)	-	Nebeker et al., 1983
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,2	0,028	21	-	33	M	F	96 h	0,0017 (0,0015-0,0023)	-	Nebeker et al., 1983
<i>Pimephales promelas</i>	J 30-40 d	-	-	23,8	7,3-7,8	47	M	F	96 h	0,00132 (0,0013-0,00154)	-	Kleiner et al., 1984
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,2-0,5	-	-	7,6	46,1	M	S	96 h	0,0019 (0,00182-0,00203)	-	Lemke, 1981

continua **Tabella 32**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/ LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,5-0,7	-	-	6,8-7,1	54	M	F	96 h	0,73·10 ⁻³ (0,6·10 ⁻³ - 0,89·10 ⁻³)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,5-0,7	-	-	6,8-7,1	54	M	S	96 h	0,76·10 ⁻³ (0,9·10 ⁻³ - 1,6·10 ⁻³)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,5-1,0	-	-	6,7-8,8	75	M	F	96 h	0,00148 (0,00133-0,00164)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,5-1,0	-	-	6,7-8,8	75	M	S	96 h	0,00171 (0,00142-0,00204)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,5-0,7	-	22	7,74	48	M	S	96 h	0,75·10 ⁻³ (0,54·10 ⁻³ - 0,84·10 ⁻³)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,5-1,5	-	22	7,74	48	M	F	96 h	0,001 (0,0008-0,0011)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,7	-	18	7,1	44	-	S	96 h	0,0025 (0,0022-0,003)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	53 d	-	-	-	-	-	M	F	7 d	0,0032 (0,0029-0,0037)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	A	4,8	5-7	14	7,2-7,6	-	NM	S	7d	0,0021 (0,0017-0,00586)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	0,00345 (0,0020-0,00714)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	0,0012 (0,00099-0,0017)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	0,00191 (n.d.)	-	Lemke,1981
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	0,0015 (0,0011-0,0020)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	7 d	0,86·10 ⁻³ (0,52·10 ⁻³ - 1,4·10 ⁻³)	-	Macek et al., 1976
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	260 d	0,00269	-	Chappel, 2001
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	260 d	0,00280	-	Chappel, 2001
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	260 d	-	LOEC: 0,46·10 ⁻³	EPA, 2013
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	1,0	-	18	7,1	44	-	S	24 h	0,0033 (0,0023-0,0048)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	-	-	-	-	S	96 h	0,0012 (0,0009-0,0017)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	-	-	-	-	S	96 h	0,0017 (0,0010-0,0021)	NOEL: 0,0010	EPA, 2013
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	0,00208 (0,00178-0,00243)	0,0018	EPA, 2013
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	0,0039 (0,0030-0,0051)	-	EPA, 2013
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	0,0056 (0,0045-0,0074)	-	EPA, 2013
<i>Poecilia reticulata</i>	-	2,68	-	25,5	7,9	228	NM	R	24 h	0,00122 (0,00109-0,00135)	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^c
<i>Poecilia reticulata</i>	-	2,68	-	25,5	7,9	228	NM	R	48 h	0,0066 (0,0061-0,0070)	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^c
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	-	21	-	-	NM	-	48 h	0,0024 (0,00207-0,00278)	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox ^c
<i>Poecilia reticulata</i>	2 w	-	-	-	-	-	NM	S	48 h	0,0037 (0,0033-0,0041)	-	Tejada et al., 1994
<i>Poecilia reticulata</i>	-	2,68	-	25,5	7,9	228	NM	R	72 h	0,007	-	Gupta et al., 1984
<i>Poecilia reticulata</i>	-	2,68	-	25,5	7,9	228	NM	R	96 h	0,0040	-	Gupta et al., 1984
<i>Oryzias latipes</i>	E	-	-	25	-	-	NM	R	7 dph	-	NOEL: 0,06·10 ⁻³	Teather et al., 2005
<i>Oryzias latipes</i>	L 4-6 hph	-	-	25	-	-	NM	S	28 dph	-	NOEL: 0,001	Gormley and Teather, 2003
<i>Oryzias latipes</i>	J 21-32 d	0,002-0,003	0,013	24	7,8	40-46	M	S	48 h	0,0005	-	Carlson et al., 1998

continua **Tabella 32**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oryzias latipes</i>	J 24 d	-	-	24	7,8	40-46	M	S	48 h	0,0015	-	Carlson et al., 1998
<i>Channa orientalis</i>	-	-	0,14	24	7,5	60-108	NM	S	24 h 48 h 72 h 96 h	0,0112 0,00108 0,00107 0,00106	- - - -	Dalela et al., 1978
<i>Channa punctata</i>	A	59,8	19	18	-	-	NM	R	24 h 48 h 72 h 96 h	11,26 (10,45-12,12) 5,8 (4,9-6,95) 4,39 (3,45-5,58) 3,07 (2,43-3,87)	- - - -	Haider and Inbaraj, 1986
<i>Channa punctata</i>	-	40-55	-	18,2	6,9-7,4	-	NM	S	48 h 72 h 96 h	0,36 0,27 0,22	- - -	Verma et al., 1981
<i>Channa punctata</i>	-	-	-	13-27	-	-	NM	S	96 h	0,00168 (0,00123-0,00216) 0,00208 (0,00205-0,00217)	- -	Devi et al., 1981
<i>Channa punctata</i>	-	-	6-9	30	8,4	152	M	F	96 h	0,016 (0,015-0,0017) 0,0025 (0,0019-0,0032) 0,0048 (0,0044-0,0052)0	- - -	Devi et al., 1981
<i>Channa punctata</i>	-	20,4	13,5	24,8	7,6	218	NM	F	96 h	0,0075 (0,0059-0,00107)	-	Pandey et al., 2006
<i>Channa punctata</i>	-	-	6-9	-	-	-	NM	F	96 h	0,0065 (0,0035-0,0065)	-	Murty and Devi, 1982
<i>Channa punctata</i>	-	-	-	-	-	-	NM	S	60 d	0,2 · 10 ⁻³	-	Sastry and Siddiqui, 1983
<i>Channa punctata</i>	-	-	-	-	-	-	NM	-	90 d	-	LOEC: 0,0081 ppm	Sarma et al., 2009
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	1,7	-	18	7,1	-	-	S	24 h 96 h	0,0018 (0,0015-0,002) 0,0015 (0,0013-0,0017)	- -	Mayer and Ellersieck, 1986

Abbreviazioni: A: adulto; a: avannotto; alc: alcalinità; d: days (giorni); dph: days post-hatch (giorni post schiusa); E: eggs (uova); EE: eyed eggs (uova con occhi); Em: embrioni; F: test a flusso continuo; h: hours (ore); hph: hours post hatch (ore post schiusa); J: Juveniles (giovani); L: larve; M: misura della concentrazione del tossico effettuata durante il test; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; M100%: mortalità della totalità degli organismi esposti; NM: misura del tossico non effettuata durante il test; m: mesi; NOEL: Not Observable Effect Level; LOEL: Lowest Observable Effect Level R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico; sb: stadio di blastula; y: year (anni); w: weeks (settimane).

Note: ^a la misura è in mg/L, se non diversamente indicato; ^b larve con sacco vitellino; ^c Poiché la pubblicazione è in tedesco, si fornisce l'indirizzo web dove i dati sono stati reperiti

Tabella 33 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con Clorpirifos su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Danio rerio</i>	E ^d	-	-	27	7,5-7,8	-	NM	R	96 h	1,6	-	
<i>Danio rerio</i>	Em <1hpf	-	-	25,3	7,99	-	NM	R	10 d	0,430	-	Kienle et al., 2009
<i>Danio rerio</i>	Em 1-2hpf	-	-	28	-	-	NM	-	5d	5,61	NOEC: 3,51 LOEC: 35,1	Watson et al., 2014
<i>Danio rerio</i>	Em 4 hpf	-	-	25	6,8-8,0	217-235	NM	S	5,8 d	7,01	-	Selderslaghs et al., 2012
<i>Danio rerio</i>	Em 6hpf	-	-	28,5	-	-	NM	R	5dpf	-	NOEC: 0,105 LOEC: 1,051	Yen et al., 2011
<i>Danio rerio</i>	Em 7 hpf	-	-	28	-	-	NM	-	24 h	LC ₁₀ : 1,4	-	Lee et al., 2014
<i>Danio rerio</i>	Em 24 hpf	-	28	7,0	-	NM	R	-	48 h	-	NOEC: 0,351	Yang et al., 2011
<i>Danio rerio</i>	Em 72 hpf	-	-	28	-	-	NM	-	24 h	1,75 LC ₉₀ : 2,21	-	Lee et al., 2014
<i>Danio rerio</i>	Em	-	-	28,5	-	-	NM	R	26 w	-	LOEL: 0,100	Levin et al., 2003
<i>Oncorhynchus clarkii</i>	-	0,9	-	10	7,4	162	-	S	24 h 96 h	0,120 (0,00895-0,160) 0,026 (0,0168-0,0403)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus clarkii</i>	-	1,4	-	10	7,5	44	-	S	24 h 96 h	0,032 0,0184 (0,0156-0,0217)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus clarkii</i>	-	2,3	-	10	7,4	162	-	S	24 h 96 h	0,0959 (0,071-0,130) 0,0134 (0,0099-0,018)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L 5d	0,11	-	10	6,9-7,4	-	-	-	96 h	2,0	-	Kikuchi et al., 1996
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L 43d	0,2-0,3	-	10-13	6,8-7,6	-	-	-	96 h	0,041	-	Kikuchi et al., 1996
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	L 83 d	0,7	-	13	-	-	-	-	96 h	0,045	-	Kikuchi et al., 1996
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,4	-	2	7,1	44	-	S	24 h 96 h	0,550 (0,480-0,630) 0,051 (0,043-0,060)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,4	-	7	7,1	44	-	S	24 h 96 h	0,110 (0,090-0,130) 0,015 (0,013-0,017)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,4	-	13	7,1	44	-	S	24 h 96 h	0,053 (0,045-0,062) 0,0071 (0,006-0,0084)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	1,4	-	18	7,1	44	-	S	24 h 96 h	0,015 (0,012-0,019) 0,001	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	J	1,0	-	15,6	7-7,4	45,3	M	F	48 h 72 e 96 h	0,0114 (0,0108-0,0122) 0,008 (0,068-0,094)	-	Holcombe et al., 1982

Continua tabella 33

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC50 (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	-	-	NM	-	48 h	0,240	-	Scirocchi e D'Erme, 1980
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	3,0	-	17,3	7,1-7,8	44,4	M	F	96 h	0,009 (0,007-0,011)	-	Phipps and Holcombe, 1985
<i>Cyprinus carpio</i>	-	1,75	0,049	22-25	7,8	116	NM	S	12 h	0,430 (0,350-0,527)	-	El-Refai et al., 1976
<i>Cyprinus carpio</i>	-	31,5	-	22-25	7,8	116	NM	S	12 h	0,123 (0,083-0,181)	-	El-Refai et al., 1976
<i>Cyprinus carpio</i>	L	-	-	31-32	8	-	NM	S	48 h	0,0167	-	Anwar et al., 2005
<i>Cyprinus carpio</i>	-	1,75	0,049	22-25	7,8	116	NM	S	48 h	0,280 (0,236-0,332)	-	El-Refai et al., 1976
<i>Cyprinus carpio</i>	-	31,5	-	22-25	7,8	116	NM	S	48 h	0,059 (0,038-0,092)	-	El-Refai et al., 1976
<i>Cyprinus carpio</i>	L	0,34	-	27,9	7,3	-	NM	S	96 h	0,008	-	De Mel and Pathiratne, 2005
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	-	20	7,6	340	NM	S	96 h	0,149 (0,126-0,158)	-	Li et al., 2013
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	4	24	7,1	23,4	NM	R	96 h	0,750 (0,675-0,833)	-	Ramesh and David, 2006
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	4	24	7,1	23,4	NM	R	96 h	0,160 (0,151-0,168)	-	Halappa and David, 2009
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	4	24	7,1	23,4	NM	R	14 d	-	NOEC: 0,022	Halappa and David, 2009
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	-	22,5	7,4	-	M	-	14 d	M0%: 0,00139	-	Pal et al., 2012
<i>Cyprinus carpio</i>	-	-	12,5	20	7,4	230	NM	R	40 d	Mo%: 0,116	-	Wang et al., 2014
<i>Carassius auratus</i>	-	10,7	-	17,3	7,1-7,8	44,4	M	F	96 h	0,806	-	Phipps and Holcombe, 1985
<i>Carassius auratus</i>	-	-	-	-	-	-	NM	R	96 h	3,270	-	Wang et al., 2009
<i>Carassius auratus</i>	J	-	-	20-22	7,0	-	NM	R	15 d	M0%: 0,408	-	Wang et al., 2012
<i>Pimephales promelas</i>	31-32 d	0,1	-	25,1	7-7,4	45,3	M	F	48 h	0,248 (0,225-0,273)	-	Holcombe et al., 1982
									72 h	0,220 (0,204-0,236)		
									96 h	0,203 (0,191-0,217)		
<i>Pimephales promelas</i>	<24 h	-	-	20	-	60-80	M	S	48 h	0,1627	LOEC:0,150	Moore et al., 1998
<i>Pimephales promelas</i>	J 2-3 m	0,68	4,2	15,6-26,7	7,9-8,9	-	M	-	48 h	0,00629	NOEL: 0,51·10 ⁻³	Brazner et al., 1988
<i>Pimephales promelas</i>	L < 24h	-	-	24,6-25,4	7,1-8,3	46	M	S	96 h	0,1222 (0,077-0,1674)	-	Jarvinen et al., 1988
<i>Pimephales promelas</i>	32 d	-	-	25,1	7,2	46	M	F	96 h	0,200 (0,190-0,220)	-	Geiger et al., 1988
<i>Pimephales promelas</i>	L	-	-	23,5-26	7,4-7,8	-	M	F	96 h	0,120 (0,110-0,130)	-	Jarvinen and Tanner, 1982
										0,140 (0,120-0,160)		
<i>Pimephales promelas</i>	44 d	-	-	16,3	7,5	44,4	M	F	96 h	0,506 (0,231-0,110)	-	Geiger et al., 1988
<i>Pimephales promelas</i>	-	0,5	-	17,3	7,1-7,8	44,4	M	F	96 h	0,542 (0,225-1,310)	-	Phipps and Holcombe, 1985
<i>Pimephales promelas</i>	L	-	-	25	7,4-7,9	44-49	M	R	7 d	-	NOEC: 0,00615 LOEC: 0,0123	Norberg-King, 1987
<i>Pimephales promelas</i>	-	4,8	5-7	14	8,1-8,3	385-394	NM	S	7 d	0,550	LOEL: 0,250	Chappel, 2001
										0,568	NOEL: 0,200	
<i>Pimephales promelas</i>	< 24h	-	-	25	7,8	80	NM	R	10 d	0,150	NOEC: 0,050	Sherrard et al., 2002
											LOEC: 0,075	
<i>Pimephales promelas</i>	< 24h	-	-	25	7,8	80	NM	R	10 d	LC ₁₀₀ : 0,274; LC ₀ : 0,026	-	Sherrard et al., 2002

continua **Tabella 33**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Lepomis macrochirus</i>	J	-	-	21	7,7-8,2	-	M	R	48 h	0,00531 (0,00402-0,00843)	-	Meheler et al., 2008
<i>Lepomis macrochirus</i>	J 3 m	4,3	6,3	15,6-26,7	7,9-8,9	-	M	-	48 h	0,00724	LOEL: 0,0063 NOEL: 0,51·10 ⁻³	Brazner et al., 1988
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,8	-	17,3	7,1-7,8	44,4	M	F	96 h	0,0010 (0,006-0,0014)	-	Phipps and Holcombe, 1985
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	-	-	-	-	-	NM	-	96 h	0,0026	-	Mayer, 1974
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	14,1	-	-	-	-	NM	-	28 d	0,0036 (0,0016-0,0041)	-	Neely and Blau, 1977
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	13	7,4	272	-	S	96 h	0,042	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	18	7,4	272	-	S	96 h	0,0018	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	24	7,4	272	-	S	96 h	0,0025	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	29	7,4	272	-	S	96 h	0,0017	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,6	-	18	7,1	44	-	S	96 h	0,0010	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,6	-	18	7,1	44	-	S	96 h	0,0024 (0,0011-0,0051)	-	
<i>Lepomis macrochirus</i>	-	0,5	-	23	7,0	2-5	NM	S	96 h	0,0030	-	Carter and Graves, 1972
<i>Lepomis macrochirus</i>	J	-	-	17-28	8-10	-	NM	-	12 w	-	LOEL: 0,003 NOEL: 0,001	Biever et al., 1994
<i>Poecilia reticulata</i>	2 w	-	-	-	-	-	NM	S	48 h	0,067	-	Tejada et al., 1994
<i>Poecilia reticulata</i>	A	-	3	24	8,2	-	NM	-	96 h	0,176	-	Sharbidre et al., 2011
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	-	26	-	-	NM	-	96 h	0,447	-	
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	-	26	-	-	NM	-	14 d	0,00717	-	De Silva and Samayawardhena, 2002
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	-	26	-	-	NM	R	96 h	-	LOEL: 0,001	De Silva and Samayawardhena, 2005
<i>Oryzias latipes</i>	J 26-34 d	-	0,012	25	7,3	136	M	R	24 h	0,030 (0,028-0,033)	-	Rice et al., 1997
<i>Oryzias latipes</i>	J 24 d	-	-	24	7,8	40-46	M	S	48 h	0,025 (0,023-0,027)	-	
<i>Oryzias latipes</i>	J 21-32 d	0,015	0,011	24	7,8	40-46	M	S	48 h	0,300	-	Carlson et al., 1998
<i>Oryzias latipes</i>	3 m	-	3	25	-	-	NM	R	96 h	0,200	-	Carlson et al., 1998
<i>Channa punctata</i>	-	-	16	-	-	-	NM	R	24 h	0,120	-	Khalil et al., 2013
<i>Channa punctata</i>	-	30	18	-	-	-	NM	R	96 h	0,500	-	
<i>Channa punctata</i>	-	-	14	-	-	-	NM	R	96 h	5,38	-	Devi and Mshra, 2013
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	7,9	-	17,3	7,1-7,8	-	M	F	72 h	0,365	-	Jaroli and Sharma, 2005
									96 h	0,812	-	Ali et al., 2009
									96 h	0,806	-	Phipps and Holcombe, 1985
									96 h	0,806 (0,434-1,088)	-	

continua **Tabella 33**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Ictalurus punctatus</i>	J	20-25	-	-	-	-	NM	-	96 h	2,077	-	Dalvi and Davis, 1998
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	0,8	-	18	7,1	44	-	S	24 h 96 h	0,410 (0,286-0,588) 0,280 (0,206-0,381)	-	Mayer and Ellersieck, 1986
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	10	-	26	7,0	2-5	NM	S	24 h	0,160	-	Carter and Graves, 1972

Abbreviazioni: A: adulto; a: avannotto; alc: alcalinità; d: days (giorni);dph: days post-hatch (giorni post schiusa); E: eggs (uova); EE: eyed eggs (uova con occhi); Em: embrioni; F: test a flusso continuo; h: hours (ore); hph: hours post hatch (ore post schiusa); J: Juveniles (giovani); L: larve; M: misura della concentrazione del tossico effettuata durante il test; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; M100%: mortalità della totalità degli organismi esposti; NM: misura del tossico non effettuata durante il test; m: mesi; NOEL: Not Observable Effect Level; LOEL: Lowest Observable Effect Level R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico; sb: stadio di blastula; y: year (anni); w: weeks (settimane).

Note: ^a la misura è in mg/L, se non diversamente indicato.

Tabella 34 - Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con Simazina, Trifluralin, Endosulfan e Clorpyrifos su specie ittiche d'acqua marino/salmastra

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
Simazina												
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	1 m	-	5,1	15	7,7	-	NM	-	96 h	330,0	-	Wan et al., 2006
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	0,36	-	-	-	-	-	F	96 h	4,3	-	EPA, 2013
<i>Dicentrarchus labrax</i>	L 40 d	-	-	20±1	-	20±1	NM	S	24 h 48 h 96 h	164,1 (142,5-414,1) 118,8 (102,5-145,8) 84,62 (73,77-95,32)	-	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)
Trifluralin												
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	-	-	0,13	11,4	8,1	28,4	M	F	96 h	0,002-0,003	-	Dinnel et al., 1989
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	-	-	0,13	11,4	8,1	28,4	NM	F	96 h	0,002-0,003	-	Dinnel et al., 1983
<i>Cyprinodon variegatus</i>	J	-	1-1,5	30	-	-	M	F	96 h	0,190 (0,128-0,282)	-	Parrish et al., 1978
<i>Cyprinodon variegatus</i>	J	-	1-1,5	30	-	-	M	F	10 d	LET: 0,084 (0,048-0,145)	-	Parrish et al., 1978
<i>Dicentrarchus labrax</i>	L 40 d	-	-	20±1	-	20±1	NM	S	24 h 48 h 96 h	0,100 (0,070-0,130) 0,090 (0,070-0,120) 0,051 (0,030-0,076)	-	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)
Endosulfan												
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	4-5 m	-	4,9	15	7,6	3,3-3,8	NM	-	96 h	910,0	-	Wan et al., 2006
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	-	-	0,13	11,4	8,1	28,4	NM	F	96 h	0,0169-0,003	-	Dinnel et al., 1983

continua **Tabella 34**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	-	-	0,13	11,4	8,1	28,4	M	F	96 h	0,0017-0,0025	-	Dinnel et al., 1989
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	Fino a 0,1	21,6-34,8	7-7,8	6-35,5	M	-	96 h	0,998·10 ⁻³	-	Scott et al., 1994
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	2,5-3,5	-	-	20	M	R	96 h	0,91·10 ⁻³ (0,72·10 ⁻³ -0,0013)	-	Pennington et al., 2004
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	2,5-3,5	-	-	-	M	R	96 h	0,0023 (0,00192-0,00260) 0,0043 (0,00034-0,0051) 0,00253 (0,0016-0,0031)	LOEC:2,9·10 ⁻³ NOEL:5,2·10 ⁻⁴	Pennington, 2002
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	-	20-25	-	20	NM	R	96 h	0,00115 (0,00113-0,00118)	-	Scott et al., 1987
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	>0,035	20	-	20	NM	R	96 h	0,00145 (0,00132-0,00159)	-	Fulton et al., 1999
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	-	20	-	20	NM	R	96 h	0,00115 (0,00113-0,00118)	-	Trim, 1987
<i>Menidia beryllina</i>	L	0,027	0,014	25	7,1-8,2	20	NM	S	96 h	0,0015 (0,0014-0,0015)	-	Hemmer et al., 1992
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	-	-	-	18-19	8,3-8,5	-	M	S	24 h	0,00775 (0,0016-0,016)	-	Ernst et al., 1991
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	-	-	-	18-19	8,2-8,5	-	M	S	48 h	0,006 (0,0016-0,016)	-	Ernst et al., 1991
<i>Cyprinodon variegatus</i>	28 d	-	-	22	-	28	M	F	96 h	0,34·10 ⁻³ (0,3·10 ⁻³ - 0,4·10 ⁻³) 0,6·10 ⁻³ (0,58·10 ⁻³ - 0,62·10 ⁻³) 0,83·10 ⁻³ (0,7·10 ⁻³ - 0,00103) 0,88·10 ⁻³ (0,8·10 ⁻³ - 0,93·10 ⁻³) 0,0011 (0,00109-0,00112)	- - - - -	Schimmel, 1981
<i>Cyprinodon variegatus</i>	28 d	-	-	22	-	28	M	S	96 h	0,0012 (0,8·10 ⁻³ - 0,0020) 0,00281 (0,00261-0,00302) 0,00345 (0,00322-0,00369)	- - -	Schimmel, 1981
<i>Cyprinodon variegatus</i>	7 m	-	-	25	7-7,6	20	NM	F	7 d	MO%: 0,6·10 ⁻³	-	Hemmer et al., 2011
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Em 48 h	-	-	-	-	-	M	F	28 d	-	LOEC: 0,0010 ^a	Hansen and Cripe, 1991
<i>Cyprinodon variegatus</i>	A ♂	-	-	25	-	20	M	F	42 d	0,016·10 ⁻³ – 0,16·10 ⁻³ 0,28·10 ⁻³ – 0,79·10 ⁻³	- -	Hemmer et al., 2001
<i>Sparus aurata</i>	J	0,7-1,5	-	20	-	33-34	NM	R	96 h	-	NOEL: 0,001	Neuparth et al., 2006
<i>Dicentrarchus labrax</i>	L 35 d	-	-	20±1	-	20±1	NM	S	24 h 48 h 96 h	0,003 (0,002-0,005) 0,00136 <0,001	- - -	Spaggiari et al., 2005 (vedi scheda)

continua **Tabella 34**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	J 4-7 m	-	4-9	11-13	7-7,5	-	NM	R	96 h	M0%: 0,6·10 ⁻³ -0,0025	-	Laetz et al., 2009
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	J	-	-	12,2	8,55	-	M	R	96 h 60 d	M0%: 0,0037 -	- NOEL: 0,0037	Eder et al., 2008
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	J 4-5m	-	-	14,8	8,4	-	M	R	96 h	M100%: 0,081	-	Eder et al., 2004
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	J 4-5m	-	-	14,8	8,4	-	M	R	96 h	M100%: 0,081 M0%: 0,0012	-	Eder et al., 2009
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	J 4-5m	-	-	14,8	8,4	-	NM	R	96 h	M100%: 0,100 M0%: 0,001	-	Wheelock et al., 2005
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>	J	-	-	12,2	8,55	-	M	S	11 d	M0%: 0,037	-	Eder et al., 2007
<i>Fundulus similis</i>	-	-	-	13	-	24	-	-	24 h 48 h	0,0068 0,0032	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox
<i>Fundulus similis</i>	J	-	-	-	-	-	NM	-	48 h	0,0032	-	Lowe et al., 1970
<i>Fundulus similis</i>	-	-	-	30	-	25,9	M	S	96 h	0,0041 (0,0028-0,0069)	-	Schimmel et al., 1983
<i>Fundulus grandis</i>	J	-	-	30	-	28	M	F	96 h	0,0018 (0,0015-0,0021)	-	Mayer, 1987
<i>Fundulus heteroclitus</i>	L 5dph	-	-	27	-	20	NM	S	24 h	0,010	NOEC: 0,005	Clark et al., 2012
<i>Fundulus heteroclitus</i>	A	-	-	25	-	5-20	M	-	96 h	M100%: 0,00219 (0,00194-0,00493)	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox
<i>Fundulus heteroclitus</i>	-	1,7	5,5	25	7,5-8,0	20-25	NM	S	49,5 h 96 h	0,0056 0,00465 (0,00345-0,00628)	-	Thirugnanam and Forsagh, 1977
<i>Menidia beryllina</i>	L 33 d	0,06	0,02	25	7,1-8,2	20	NM	S	96 h	0,00102 (0,009-0,00112)	-	Hemmer et al., 1992
<i>Menidia beryllina</i>	72d	-	-	24,5	-	5	M	F	96 h	0,0042 (0,0034-0,0054)	-	Clark et al., 1985
<i>Menidia menidia</i>	Em	-	-	27,5	-	24,3	M	F	96 h	0,0017 (0,0014-0,0020)	-	Schimmel et al., 1983
<i>Menidia menidia</i>	L 0 d	-	-	25	-	20	-	F	96 h	0,5·10 ⁻³ (0,4·10 ⁻³ -0,6·10 ⁻³) 0,6·10 ⁻³ (0,2·10 ⁻³ 0,0011)	-	Borthwick et al., 1985
<i>Menidia menidia</i>	L 7d	-	-	25	-	20	-	F	96 h	0,0010 (0,7·10 ⁻³ -0,0014) 0,0010 (0,0009-0,0012)	-	Borthwick et al., 1985
<i>Menidia menidia</i>	L 14 d	-	-	25	-	20	-	F	96 h	0,0011 (0,0010-0,0013)	-	Borthwick et al., 1985
<i>Menidia menidia</i>	L 28 d	-	-	25	-	20	-	F	96 h	0,0030 (0,0026-0,0040) 0,0031 (0,0027-0,0037)	-	Borthwick et al., 1985
<i>Menidia menidia</i>	L 0 d	-	-	25	-	20	-	S	96 h	0,0044 (0,0037-0,0054) 0,0056 (0,0017-0,010)	-	Borthwick et al., 1985
<i>Menidia menidia</i>	L 7d	-	-	25	-	20	-	S	96 h	0,0028 (0,0020-0,0055)	-	Borthwick et al., 1985
<i>Menidia menidia</i>	L 14 d	-	-	25	-	20	-	S	96 h	0,0023 (0,0018-0,0029)	-	Borthwick et al., 1985

continua **Tabella 34**

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L)	NOEC/LOEC/NOEL (mg/L)	Riferimento bibliografico
<i>Menidia menidia</i>	L 28 d	-	-	25	-	20	-	S	96 h	0,0040 (0,0032-0,0051)	-	Mayer, 1987
<i>Menidia menidia</i>	J 53 d	-	-	28	-	24	M	F	96 h	0,0017 (0,0014-0,0020)	-	
<i>Menidia peninsulae</i>	L < 1 d	-	-	25	-	27	M	F	96 h	0,96·10 ⁻³ (0,71·10 ⁻³ -0,0013)	-	Mayer, 1987
	60 d	-	-	24,6	-	19,3	M	F	96 h	0,0013 (0,0010-0,0017)	-	Clark et al., 1985
<i>Aphanius iberus</i>	A	-	-	23	-	4	-	R	48 h	0,0038	-	Varo et al., 2000
<i>Aphanius iberus</i>	A	0,9	0,04	22-28	-	4	NM	R	72 h	0,00181	-	Varo et al., 2000
									47 d	M0%: 0,0005	-	
<i>Cyprinodon variegatus</i>	Em	-	-	30	7,9-8,1	25	M	F	28 d	0,0017	-	Cripe et al., 1986
<i>Cyprinodon variegatus</i>	L 28 d	-	-	25	-	20	NM	S	96 h	0,270 (0,235-0,309)	-	Borthwick and Walsh, 1981
<i>Cyprinodon variegatus</i>	J	-	-	11	-	24	NM	F	48 h	1,0	-	Mayer, 1987
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	13	-	24	-	-	48 h	1,0	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	31,4	-	10,3	M	F	96 h	0,136 (0,113-0,153)	-	Schimmel et al., 1983
<i>Cyprinodon variegatus</i>	7 m	-	-	25	7-7,6	20	NM	F	7 d	M0%: 0,040	-	Hemmer et al., 2011
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	1-2 y	-	-	21	6,6-8,2	-	M	F	48 h	0,00134 (0,0090-0,0199)	-	Vanwijngaarden et al., 1993
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	-	-	-	-	-	-	NM	F	96 h	0,0085	-	http://cfpub.epa.gov/ecotox
									7d	0,0085 (0,0073-0,010)	-	
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,33	3,5	20±1	-	20±1	NM	S	24 e 48 h	0,014 (0,00922-0,0214)	-	Spaggiari et al., 2005
									96 h	0,00708 (0,00469-0,0107)	-	(vedi scheda)

Abbreviazioni: A: adulto; d: days (giorni); dph: days post hatch (giorni dopo la schiusa); Em: embrioni; F: test a flusso continuo; hph: hours post hatch (ore dalla schiusa); J: Juveniles (giovani); L: larve; LETC: Lethal Threshold Concentration; m: mesi; M: misura della concentrazione del tossico effettuata durante il test; m: mesi; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; NM: misura del tossico non effettuata durante il test; NSW: Natural sea water (acqua di mare naturale); h: hours (ore); R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico; sb: stadio di blastula; y: year (anni).

Note: ^a valore medio di 7 laboratori

3.7 Altri composti

3.7.1 Micotossine

Le micotossine sono composti tossici prodotti da diversi tipi di funghi, appartenenti principalmente ai generi *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. In particolari condizioni ambientali, quando la temperatura e l'umidità sono favorevoli, questi funghi proliferano e possono produrre micotossine. Generalmente entrano nella filiera alimentare attraverso colture contaminate destinate alla produzione di alimenti e mangimi, principalmente di cereali.

La presenza di micotossine negli alimenti e nei mangimi può essere nociva per la salute umana e degli animali poiché può causare effetti avversi di vario tipo, come il cancro e la mutagenicità, nonché portare disturbi a livello estrogenico, gastrointestinale e renale. Alcune micotossine sono inoltre immunosoppressive e riducono la resistenza alle malattie infettive.

Le ocratossine sono un gruppo di metaboliti secondari prodotti da funghi appartenenti ai generi *Penicillium* e *Aspergillus*. Le ocratossine comprendono l'ocratossina A (OTA), e il suo estere di metile, l'estere di etile conosciuto come ocratossina C (OTC), la 4-idrossiocratossina A (4-OH OTA), l'ocratossina B e i suoi esteri di metile e di etile e l'ocratossina α (OT α).

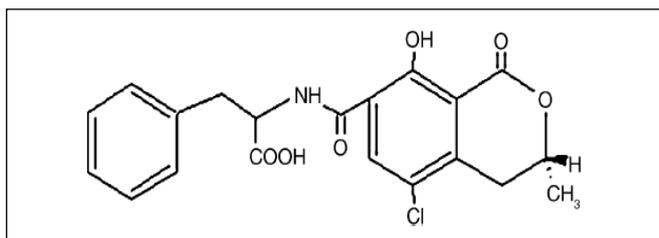


Figura 27 - Struttura dell'ocratossina A (CAS 303-47-9).

L'OTA (figura 27) è il composto più tossico del gruppo, altamente solubile nei solventi organici polari, solubile in soluzioni acquose di bicarbonato di sodio e leggermente solubile in acqua. Venne isolato per la prima volta da *Aspergillus ochraceus* Wilh.

E' stato dimostrato che l'OTA è nefrotossica, epatotossica, teratogena e tossica per il sistema immunitario di molte specie animali. Per approfondimenti si rimanda alla rassegna di Ringot et al., 2006.

Gli studi sulla tossicità dell'OTA negli organismi acquatici sono piuttosto scarsi. L'esposizione di uova della specie *Danio rerio* produce effetti severi come deformità della testa, della coda e degli occhi (Debeaupuis et al., 1984). Degenerazione e necrosi dei reni, del fegato e morte sono stati osservati in *Oncorhynchus mykiss* intossicati con OTA (Doster et al., 1972). Esemplari di *Ictalurus punctatus* nutriti con mangimi contaminati da OTA, hanno mostrato riduzione di peso, minore sopravvivenza, lesioni istopatologiche del fegato e dei reni posteriori (Lovell, 1992; Manning et al., 2003).

Per quanto riguarda la spigola, El-Sayed et al., 2009a hanno mostrato che organismi adulti con peso medio di 40 g, esposti a concentrazioni di OTA comprese tra 0,050 e 0,400 mg/Kg, presentano sia cambiamenti comportamentali come perdita di equilibrio e difficoltà nel nuoto, che sintomi clinici di tossicità, come difficoltà respiratorie, chiazze emorragiche sul dorso, gradi variabili di erosione delle pinne e chiazze rugginose sulla muscolatura dorsale. L'esame post-mortem dei pesci ha evidenziato anche congestione dei reni, delle branchie e della periferia del fegato. La spigola risulta, rispetto ad altre specie di vertebrati (LD₅₀ comprese tra 0,2 e 52 mg/Kg) e rispetto alla trota (LD₅₀-96 h= 4,7 mg/Kg), piuttosto sensibile con un valore di LC₅₀-96 h pari a 0,277 mg/Kg in caso di esposizione per via orale.

Le aflatossine sono micotossine prodotte da due specie di *Aspergillus*, un fungo che si trova in particolare nelle aree caratterizzate da un clima caldo e umido. Le aflatossine possono essere presenti in prodotti alimentari, quali arachidi, frutta a guscio, granturco, riso, fichi e altra frutta secca, spezie, oli vegetali grezzi e semi di cacao, a seguito di contaminazioni fungine avvenute prima e dopo la raccolta. Il termine "aflatossina" viene da *Aspergillus flavus*, responsabile della prima epidemia da micotossine documentata nel 1961, diffusasi a partire da una partita di farina di arachidi contaminata e che causò la morte di più di 10.000 tacchini (ignorandone le cause, venne in un primo momento chiamata *Malattia X del tacchino*).

In natura sono presenti diversi tipi di aflatossine. Molte di queste hanno proprietà genotossiche e cancerogene.

Le principali aflatossine sono: B1, B2, G1, G2, M1 e M2. Le lettere B e G derivano dalle iniziali delle parole inglesi "blue" (blu) e "green" (verde) che indicano il tipo di fluorescenza emessa da tali sostanze quando sono sottoposte alla luce ultravioletta di 360 nm. La lettera M, invece, è l'iniziale della parola inglese "milk", cioè latte, dove fu ritrovata originariamente la sostanza. L'aflatossina B1 (AFB₁) è la più diffusa nei prodotti alimentari ed è una delle più potenti dal punto di vista genotossico e cancerogeno (figura 28). È prodotta sia da *Aspergillus flavus* che da *Aspergillus parasiticus*.

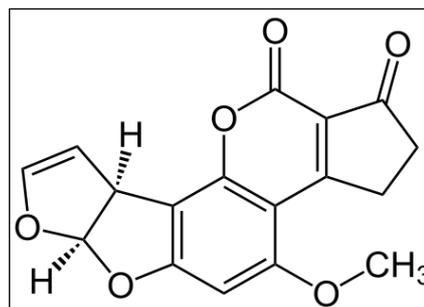


Figura 28 – Struttura dell'aflatossina B1 (n° CAS: 1162-65-8).

L'aflatossina M1 è, nell'uomo e negli animali, uno dei principali metaboliti dell'aflatossina B1 e può essere presente nel latte proveniente da animali nutriti con mangimi contaminati da aflatossina B1.

La tossicità e la carcinogenicità dell'AFB₁ è stata associata alla sua attivazione metabolica, ad opera di enzimi del complesso P450, che provoca la formazione del composto altamente reattivo 8,9 epossido AFB₁ (AFBO), capace di legarsi alle macromolecole cellulari come DNA, RNA e proteine. Il danno e la necrosi degli epatociti e di altre cellule metabolicamente attive è il risultato di questo processo (Eaton and Groopman, 1994).

L'Unione europea ha introdotto misure volte a ridurre al minimo la presenza di aflatossine in diversi prodotti alimentari. I livelli massimi di aflatossine sono stabiliti dal regolamento (CE) n. 1881/2006 della Commissione. I prodotti che superano i livelli massimi consentiti non devono essere immessi sul mercato dell'UE. La direttiva 2002/32/CE stabilisce i livelli massimi di aflatossine B1 nelle materie prime per mangimi. I metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale delle micotossine, incluse le aflatossine, sono stabiliti dal regolamento (CE) n. 401/2006 della Commissione. Ciò assicura che gli stessi criteri di campionamento destinati al controllo dei tenori di micotossine nei prodotti alimentari siano applicati agli stessi prodotti dalle autorità competenti nell'UE e che alcuni criteri di rendimento, ad esempio il recupero e la precisione, siano rispettati.

Gli effetti biologici della AFB₁ nei pesci (soprattutto la cancerogenicità) dipendono dalla quantità presente nel cibo e anche dall'età dell'animale e dalla specie (Eaton and Groopman, 1994). Infatti, le larve risultano più sensibili degli adulti e alcune specie, in particolare la trota, sono più sensibili di altre, sviluppando carcinoma epatocellulare. (Hendrick, 1994). La tilapia e il pesce gatto sono più resistenti e vengono influenzati solo ad alti dosaggi di AFB₁ che provocano riduzione del peso corporeo, anomalie ematologiche e necrosi degli epatociti. È stato ipotizzato (Ngethe et al., 1983) che la diversa sensibilità possa dipendere dalla diversa capacità di metabolizzare l'AFB₁ nel fegato delle diverse specie e da differenze nel grado di affinità dei metaboliti secondari dell'AFB₁ per le macromolecole cellulari.

Per quanto riguarda la spigola, Khalil and El-Sayed, 2008 hanno evidenziato che la somministrazione orale di AFB₁ ha un impatto negativo su tutti i parametri rilevanti dell'organismo e causa cambiamenti istopatologici. Inoltre, questa specie risulta (El-Sayed, 2009b) notevolmente sensibile all'esposizione acuta (96 h) per via orale (LC₅₀ = 0,18 mg/Kg di peso corporeo) rispetto ad altre specie di vertebrati (compresi i pesci) che presentano valori di LD₅₀ di tossicità acuta compresi tra 0,3 e 9 mg/Kg (McKean et al., 2004).

La trasmissione di AFB₁ attraverso i residui tossici presenti nei pesci pone un problema per la cancerogenicità di questa sostanza nell'uomo.

Nella tabella 35 sono riassunti gli studi di tossicità relativi all'ocratossina A e all'aflatossina B1 effettuati su specie ittiche d'acqua dolce.

Nella tabella 36 sono riportati i dati di tossicità relativi all'ocratossina A e all'aflatossina B1 con *D. labrax*. Per la denominazione italiana e inglese delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda allegato 1 alla presente pubblicazione.

3.7.2 Glicol dietilenico (DEG)

Il DEG (nome IUPAC: 2,2'-ossodietanolo), descritto dalla formula di struttura -HO-CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂-OH, è un composto alifatico con due gruppi ossidrilici (-OH) nella molecola.

Questa sostanza viene largamente impiegata per la rimozione dell'acqua dal gas naturale. Gli impianti di disidratazione con colonne di disidratazione a DEG sono i più diffusi. Il gas estratto, dopo essere transitato attraverso i separatori gas-liquido di pozzo e di centrale dove si libera della maggior parte dell'acqua trascinata, giunge alle colonne di disidratazione dove entra in contatto con il glicol che fluisce in contro-corrente. Il glicol dietilenico (o trietilenico) che ha un elevato potere igroscopico, cattura per assorbimento

l'acqua presente nel gas. Il glicol umido già utilizzato nelle colonne di disidratazione, viene inviato ai rigeneratori dove, per riscaldamento, si libera dell'acqua. Il vapor d'acqua separato nel processo di rigenerazione, che trascina particelle di glicol, viene inviato ad un termo-distuttore. Il glicol rigenerato viene di nuovo riutilizzato nel processo di disidratazione. Poiché l'efficienza di questo processo di disidratazione è minore del 100%, il DEG può essere rilasciato nell'ambiente marino attraverso l'acqua di produzione che costituisce il principale scarico che origina dalle piattaforme per la produzione e il trattamento del gas naturale.

La maggior parte degli studi di tossicità a breve e lungo termine effettuati con alghe, crostacei, anfibi e pesci (Buzzell et al., 1968; Wallen et al., 1957; Juhnke et al., 1978; Bridie et al., 1979; Geiger et al., 1990; Verbruggen et al., 2005; Tornambè et al., 2012; Manfra et al., 2015), hanno evidenziato che il DEG non è tossico. Infatti, per quanto concerne gli organismi d'acqua dolce, i valori di L(E)C₅₀ per la tossicità a breve termine a 96 h, sono compresi tra 100 mg/L nella specie ittica *Lepomis macrochirus* (IUCLID 2009; Manfra et al., 2015) e 84100 mg/L in *Pimephales promelas* (Alberta Guidelines, 2010). Per quanto concerne gli organismi di mare, i valori di L(E)C₅₀ a 96 h sono compresi tra 5900±40 mg/L nel crostaceo *Tigriopus fulvus* e 62100 mg/L in *Cyprinodon variegatus* (Alberta Guidelines, 2010).

Nelle tabelle 35 e 36 sono riassunti gli studi di tossicità acuta e prolungata, con DEG su specie ittiche d'acqua dolce e marino/salmastra, rispettivamente. Sono inclusi nella tabella 36 i risultati riguardanti *D. labrax*. Per la denominazione italiana e inglese delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda allegato 1 alla presente pubblicazione.

3.7.3 2- Fenossietanolo

Il fenossietanolo (2-PE) è un etere aromatico appartenente alla famiglia degli eteri glicolici, frequentemente utilizzato come conservante in prodotti cosmetici, in vaccini e altri prodotti farmaceutici.

Il 2-PE può essere assorbito mediante inalazione di aerosol o attraverso la cute o per ingestione. Gli studi tossicologici disponibili hanno dimostrato che, assorbito per via orale e cutanea, è metabolizzato principalmente dal fegato ed è escreto nelle urine.

Esso non è un irritante o un agente sensibilizzante per la pelle, ma provoca irritazione dell'occhio, da moderata a severa. Non sembra avere un potenziale genotossico, ma a dosi elevate negli animali si sospetta sia tossico per la riproduzione e lo sviluppo. Non ci sono, tuttavia, pubblicazioni che descrivono nell'uomo effetti sistemici dovuti all'uso di cosmetici contenenti fenossietanolo.

Per dettagliate informazioni sul 2-PE si consulti il sito: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-phenoxyethanol>.

Nelle tabelle 35 e 36 sono riassunti gli studi di tossicità acuta con 2-PE su specie ittiche di acqua dolce e marino/salmastra, rispettivamente. Sono inclusi nella tabella 36 i risultati riguardanti *D. labrax*. Per la denominazione italiana e inglese delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda allegato 1 alla presente pubblicazione.

3.7.4 Colchicina

La colchicina (figura 30) è un alcaloide originariamente estratto dalle piante del genere *Colchicum* (in particolare il *Colchicum autumnale*) e presente anche in *Gloriosa superba*. Si presenta sotto forma di polvere giallastra e inodore, cristallina o amorfa ed è assai solubile in cloroformio, etanolo e acqua.

La colchicina ha la capacità di bloccare la mitosi cellulare allo stadio di metafase, impedendo la formazione del fuso e quindi la divisione della cellula. A questo effetto citotossico sono sensibili soprattutto le cellule vegetali e quelle animali aventi un elevato ritmo riproduttivo, come

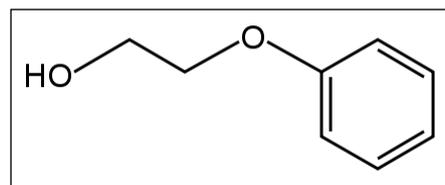


Figura 29 – Struttura del 2-fenossietanolo (n° CAS 122-99-6).

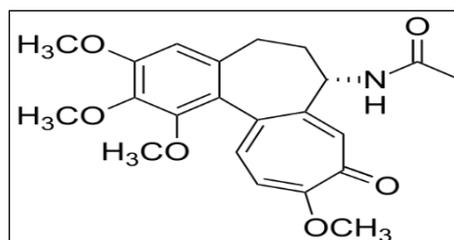


Figura 30 – Struttura della colchicina (n° CAS 64-86-8).

per esempio le cellule epiteliali del tratto digerente e i leucociti. Nelle colture di cellule *in vitro* l'alcaloide provoca la formazione di elementi diploidi e poliploidi, poiché, pur bloccando la divisione cellulare, non ostacola la duplicazione del corredo cromosomico. Per tale proprietà, viene spesso impiegata in genetica nelle ricerche di laboratorio.

Viene utilizzata in farmacologia per combattere l'artrite da microcristalli, perchè favorisce l'escrezione dell'acido urico e ha proprietà analgesiche e antinfiammatorie. Le applicazioni terapeutiche della sostanza sono tuttavia limitate dalla sua notevole tossicità a carico dell'apparato digerente, che si manifesta già alle dosi terapeutiche. In passato la colchicina e un suo derivato di sintesi, la desacetil-metilcolchicina, sono stati impiegati nella terapia antineoplastica, specie nel trattamento delle leucemie linfoidi.

Nella tabella 35 sono mostrati i dati di tossicità acuta con colchicina sulla specie ittica d'acqua dolce *Danio rerio*. Nella tabella 36 sono riportati i dati di tossicità acuta riguardanti la spigola *D. labrax*.

Per la denominazione italiana e inglese delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda allegato 1 alla presente pubblicazione.

Tabella 35 - Sommario degli studi di tossicità (acuta e prolungata) con diversi composti su specie ittiche d'acqua dolce

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Durezza (mg/L CaCO ₃)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
OTA												
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	6 m	-	-	-	-	-	-	-	10 d	4,7 mg/Kg peso corporeo	-	Doster et al., 1972
AFB₁												
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	10 w	150-200	-	12	-	-	NM	F	12 m	0,006	-	Hendrick et al., 1977
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,81 mg/Kg bw	-	Cullen and Newberne, 1994
<i>Danio rerio</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,51 mg/Kg bw	-	Cullen and Newberne, 1994
<i>Danio rerio</i>	Em 2,5 hpf	-	-	26	-	-	NM	S	2,9 d	0,718	-	Weigt et al., 2011
<i>Danio rerio</i>	Em ^b	-	-	-	-	-	NM	S	72 h	EC ₅₀ : 0,625 M100%: 1,0	-	Abedi, 1968
<i>Ictalurus punctatus</i>	-	19	-	28	-	-	-	-	10 d	11,5 (9,5-13,3) mg/Kg bw	-	Jantrarotai et al., 1990
<i>Gambusia affinis</i>	6 m	-	-	-	-	-	-	-	72 h	0,681 (0,464-0,800)	-	Mc Kean et al., 2004
DEG												
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	22	7,4	-	M	S	96 h	52800	-	Alberta Guidelines, 2010
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	-	-	-	15	7,7	-	M	S	96 h	66000	-	Alberta Guidelines, 2010
<i>Pimephales promelas</i>	34 d	0,10	0,02	24,9	7,7	43,1	M	F	96 h	75200	-	Geiger et al., 1990
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	22	8,1	-	M	S	96 h	84100	-	Alberta Guidelines, 2010
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Alberta Guidelines, 2010
<i>Carassius auratus</i>	-	3,3	-	20	7,0	-	M	S	24 h	5000	-	Bridie et al., 1979
<i>Gambusia affinis</i>	A ♀	-	-	23	8,2	-	NM	S	96 h	32000	NOEC: 32000	Wallen et al., 1957
<i>Lepomis macrochirus</i>	J	-	0,04-0,08	20	-	-	NM	S	96 h	LC ₀ : >1000	-	Buzzell et al., 1968
<i>Leuciscus idus melanotus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	48 h	>10000	-	Juhnke and Luedemann, 1978
<i>Lebistes reticulatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	48 h	500	-	Vizon, 2006
<i>Poecilia reticulata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	7 d	61000	-	Alberta Guidelines, 2010
2-PE												
<i>Oncorhynchus kisutch</i>	-	-	5-10	11	7,2	17	NM	-	24 h	M100%:100,0	-	MacPhee and Ruelle, 1969
<i>Pimephales promelas</i>	-	-	-	26,6	7,6	45	M	-	96 h	344 (337-352)	-	Brooke et al., 1984
COLCHICINA												
<i>Danio rerio</i>	A	-	3±1	23	7,8	-	-	-	24 h	838-1382	-	Roche et al., 1994
<i>Danio rerio</i>	A	-	3±1	23	7,8	-	-	-	48 h	965 (450-2070)	-	Roche et al., 1994
<i>Danio rerio</i>	A	-	3±1	23	7,8	-	-	-	18 d	8,0	-	Roche et al., 1994

Abbreviazioni: A: adulto; d: days (giorni); bw: peso corporeo (body weight); Em: embrioni; F: test a flusso continuo; h: hours (ore); Hpf: hours post fertilization (ore dalla fecondazione); J: Juveniles (giovani); LT: lunghezza totale; M: misura della concentrazione del tossico effettuata durante il test; m: mesi; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; M100%: mortalità del 100%; NM: misura del tossico non effettuata durante il test; P: peso; S: test statico; w: weeks (settimane);

Note: ^a la misura è in mg/L se non diversamente indicato; ^b allo stadio di blastodisco

Tabella 36 - Sommario degli studi di tossicità (acuta e prolungata) con diversi composti su specie ittiche d'acqua marino/salmastra

Specie ittica	Stadio vitale/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	Salinità (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	LC ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ^a	NOEC/LOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
<u>OTA</u>												
<i>Dicentrarchus labrax</i>	A	40±2	-	22,3±1,8	8,2	38	-	F	96 h	0,277 (0,244-0,311) mg/kg bw	-	El Sayed et al., 2009a (vedi scheda)
<u>AFB1</u>												
<i>Dicentrarchus labrax</i>	A	40±2	-	22,3±1,8	8,2	38	-	F	96 h	0,18 (0,143-0,208) mg/kg bw	-	El-Sayed et al., 2009b (vedi scheda)
<u>DEG</u>												
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	22	8,1	11-16	M	S	24 h	90700	-	Ward et al., 1992
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	22	8,1	11-16	M	S	48 h	87900	-	Ward et al., 1992
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	22	8,1	11-16	M	S	96 h	62100	-	Alberta Guidelines, 2010
<i>Dicentrarchus labrax</i>	PL	-	-	20±1	7,5±0,5	30±1	NM	S	24 h 96 h	da 22120 a 30090 da 41100 a 84900	-	Mariani et al., 2005 (vedi scheda)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J 80 d	-	4,0±1,0	20±1	7,5±0,5	20±1	NM	S	24 e 96 h	>40000	-	Mariani et al., 2005 (vedi scheda)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J 80 d	0,5±0,1	3,7±0,3	20±1	7,5±0,1	30	NM	S	96 h	40300±3000	NOEC 25000	Tornambè et al., 2012 (vedi scheda)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J 80 d	0,65±0,15	4,0±0,24	20±1	-	20±1	NM	R	28 d		NOEC: 5660	Manfra et al., 2015(vedi scheda)
<u>2-PE</u>												
<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	2,7±0,03	0,67±0,003	19±0,5	7,4-7,8	38	NM	F	1 h	0,312 (0,295-0,325)mL/L	-	Basaran et al., 2007 (vedi scheda)
<i>Dicentrarchus labrax</i>	L	0,86±0,1	-	18,5±0,9	8,1±0,03	36,6±0,9	-	-	96 h	M0%: 0,032 e 0,056 M100%: <0,32	-	Marsic-Lucic et al., 2005 (vedi scheda)
<u>COLCHICINA</u>												
<i>Dicentrarchus labrax</i>	<1 y	97	19,5	14±1	-	-	NM	-	48 h	1020 (371-2829)	-	Roche et al., 1993 (vedi scheda)

Abbreviazioni: A: adulto; bw: peso corporeo (body weight); d: days (giorni); AFB1: Aflatossina B1; DEG: Glicol dietilenico; F: test a flusso continuo; h: hours (ore); J: Juveniles (giovani); L: larve; LT: lunghezza totale; M: misura della concentrazione del tossico effettuata durante il test; m: mesi; M 0%: assenza di mortalità o non effetto; M100%: mortalità del 100% (assenza di sopravvivenza); NM: misura del tossico non effettuata durante il test; OTA: Ocratossina A; 2-PE: -fenossietanolo; P: peso; R: test con rinnovo del mezzo; S: test statico; y: year (anni).

Note: ^a La misura è in mg/L, se non diversamente indicato

3.7.5 Prodotti disperdenti

La contaminazione da idrocarburi è provocata dallo sversamento in mare di prodotti petroliferi in seguito ad incidenti che interessano le navi che trasportano il petrolio o le piattaforme che lo estraggono dal suolo, ma anche, in misura ridotta, provenienti dalle acque utilizzate per pulire i serbatoi delle navi cisterna. Più raramente, questo tipo di inquinamento è causato da eventi naturali, quali ad esempio fratture del fondo marino. Gli idrocarburi petroliferi sversati in mare formano a contatto con l'acqua, uno strato d'olio che galleggia sulla superficie e che impedisce i normali scambi chimici e fisici tra il mare e l'atmosfera (ossigeno, luce, ecc.), con conseguenze gravi, spesso letali, per gli organismi marini, degli habitat costieri e dei fondali, e per l'avifauna.

Quando viene segnalato uno sversamento di idrocarburi, prima di intraprendere qualsiasi azione di bonifica, si effettua una caratterizzazione dell'area direttamente interessata dall'inquinamento e di quelle adiacenti che possono essere raggiunte dalla contaminazione, verificando le variabili ambientali, la presenza di aree protette e/o sensibili (come ad es. le aree di stazionamento di avifauna marina o di riproduzione di tartarughe) e di aree marine a destinazione specifica (impianti d'acquacoltura). Per contenere l'espansione dell'inquinamento e favorire la bonifica del mare, vengono impiegati, in primo luogo, metodi di contenimento (barriere galleggianti) e di raccolta meccanica (pompe o metodi di separazione olio/acqua). Quando l'utilizzo dei metodi meccanici non è sufficiente, questi vengono combinati o sostituiti dall'utilizzo di prodotti che, secondo la normativa italiana, comprendono: i prodotti assorbenti inerti e non inerti e i prodotti disperdenti.

I disperdenti chimici sono miscele liquide di surfattanti e solventi che, svolgendo una funzione tensioattiva, favoriscono la disgregazione e la dispersione nella colonna d'acqua dello strato di idrocarburi. I prodotti disperdenti non hanno dunque la funzione di rimuovere fisicamente gli idrocarburi dall'ambiente marino, ma sono stati formulati per trasferire il contaminante dalla superficie alla colonna d'acqua sotto forma di goccioline dal diametro piccolissimo, per evitare che questo raggiunga le coste, per favorire e accelerare la naturale degradazione del petrolio e per limitare la quantità d'olio in arrivo all'impianto Waste Water in caso di recupero. Per contrastare lo sversamento del petrolio, il disperdente viene vaporizzato in piccolissime gocce sulla superficie del petrolio stesso. Le gocce penetrano all'interno dello strato di petrolio e si mescolano ad esso aiutate dall'azione del solvente e dal getto vaporizzato. Mentre il disperdente raggiunge la parte più bassa dello strato di petrolio, le molecole di surfattante si diffondono lungo l'interfaccia acqua-petrolio, abbassandone la tensione interfacciale. Piccole gocce di petrolio si staccano immediatamente e si disperdono nella zona sottostante della colonna d'acqua. In questo modo lo strato di petrolio tende ad assottigliarsi per il graduale distacco di gocce dalla massa iniziale, inoltre quantità maggiori di surfattante raggiungono l'interfaccia acqua-petrolio. Il surfattante previene l'aggregazione delle gocce di petrolio ponendosi intorno ad esse e di conseguenza le stabilizza.

Attualmente, sono in commercio prodotti disperdenti di seconda e terza generazione che presentano una minore tossicità rispetto a quelli di prima generazione.

In base al principio precauzionale e considerate le caratteristiche ambientali peculiari del Mar Mediterraneo, in Italia i prodotti disperdenti vengono usati solo come *extrema ratio* e soltanto quando altri sistemi di bonifica risultano inapplicabili o si sono dimostrati inefficaci. Infatti, prioritariamente vengono impiegati i prodotti assorbenti, racchiusi in appropriati involucri che possono essere recuperati e adeguatamente smaltiti dopo aver assorbito gli idrocarburi dalla superficie del mare. Diversamente, i prodotti disperdenti agiscono chimicamente e non possono essere recuperati al termine delle operazioni.

Inoltre, sempre per il principio precauzionale, la normativa Italiana prevede che alcune tipologie di prodotti da utilizzare per la bonifica dalla contaminazione da idrocarburi petroliferi debbano essere preventivamente valutati dal MATTM prima di essere immessi sul mercato. A tale proposito, il Decreto Direttoriale (DD) del MATTM del 25 febbraio 2011 (e successive modifiche: GU 19/02/2014, n. 41) definisce le procedure per il riconoscimento di idoneità dei prodotti assorbenti non inerti e dei prodotti disperdenti da impiegare in mare per la bonifica della contaminazione da idrocarburi petroliferi.

Il riconoscimento di idoneità di un prodotto disperdente prevede la presentazione di una documentazione che attesti le sue caratteristiche fisico-chimiche (peso specifico, densità, viscosità, infiammabilità, ecc.) e l'esecuzione di prove di laboratorio riguardanti la valutazione di efficacia e stabilità, di biodegradabilità, del potenziale di bioaccumulo (come B_{cf} come K_{ow} delle singole sostanze contenute nel prodotto) e la valutazione della tossicità con organismi marini appartenenti a 3 livelli trofici: alghe, crostacei e pesci. In particolare, i saggi di tossicità acuta (96 h) con pesci marini devono essere effettuati con le specie

mediterranee *Dicentrarchus labrax* o *Sparus aurata*, secondo il metodo OECD n° 203 opportunamente modificato.

Ai fini del riconoscimento di idoneità, un prodotto disperdente (di origine sintetica o naturale) deve presentare, alla fine dei test previsti dalla suddetta normativa, i seguenti requisiti:

- Punto di infiammabilità > 55°C;
- Viscosità cinematica ≤ 400 cSt;
- Punto di intorbidimento ≤ -10°C;
- Efficacia: dispersione almeno del 60% del petrolio;
- Tossicità negli organismi marini: EC₅₀ > 10 mg/L;
- Biodegradabilità di tutti i componenti del con un consumo di ossigeno > 60% del ThOD.;
- Bioaccumulo: un Bcf misurato minore di 500 oppure un log K_{ow} di tutti i componenti organici del prodotto ≤ 3

Tuttavia, l'attestazione di idoneità dei prodotti non rappresenta un *via libera* al loro effettivo impiego, che deve, infatti, essere autorizzato successivamente dal Centro Operativo antinquinamento del MATTM sulla base di definite "Linee Guida per l'utilizzo in mare di prodotti per la bonifica in caso di sversamento di idrocarburi di intervento".

L'uso dei prodotti disperdenti in caso di sversamento accidentale di petrolio in mare è basato sul presupposto che il petrolio venga in tal modo diluito a livelli non tossici e che i processi di dispersione aumentino la sua velocità di degradazione mediante meccanismi di tipo fisico e chimico. L'efficacia di un disperdente dipende da un certo numero di fattori che includono l'energia del moto ondoso, la temperatura, la salinità e, non meno importante, la viscosità del petrolio. Tuttavia, prima che si verifichino i processi di diluizione, l'applicazione dei disperdenti chimici potrebbe aumentare il rischio di tossicità per gli organismi pelagici, compresi gli stadi embrionali delle specie ittiche, poiché è stato osservato che queste sostanze provocano l'aumento della concentrazione di idrocarburi policiclici aromatici (PAH in lingua inglese) nella colonna d'acqua (Wolfe et al. 2001). E' stato dimostrato, infatti, che le concentrazioni di idrocarburi a basso peso molecolare (LMWH) e di idrocarburi policiclici aromatici ad alto peso molecolare (HMWPHA) sono più elevate nella colonna d'acqua dopo l'applicazione dei disperdenti e diverse indagini hanno evidenziato che l'aggiunta di disperdenti influenza l'immissione di PAH nella colonna d'acqua, aumentando le concentrazioni relative di HMWPAH (Yamada et al., 2003).

La maggior parte degli studi su organismi marini è stata effettuata valutando la tossicità non solo del prodotto disperdente come tale, ma anche delle frazioni DWAF (Dispersed oil Water-Accommodated Fraction,) composte da petrolio e disperdente miscelati in acqua di mare e delle frazioni WAF (Water-Accommodated Fraction) composte unicamente da petrolio in acqua di mare. In molti casi le frazioni DWAF sono risultate più tossiche sia del disperdente in quanto tale e sia delle WAF, perché aumentano l'esposizione degli organismi agli idrocarburi presenti nel petrolio (Ramachandran et al., 2004; Couillard et al., 2005).

Nella tabella 37 sono riassunti gli studi di tossicità acuta e prolungata effettuati con alcuni prodotti disperdenti su specie ittiche marine, compresa la spigola *D. labrax* (fa eccezione il caso dell'uso della trota nello studio di Ramachandran et al., 2004). Per la denominazione italiana e inglese delle specie ittiche elencate nelle tabelle si veda allegato 1 alla presente pubblicazione.

I dati di tossicità riportati in letteratura riguardano in modo particolare il disperdente Corexit 9500 (Nalco Holding) che è stato utilizzato nel disastro ambientale del Golfo del Messico nel 2010. Corexit EC9500 è composto principalmente da distillati dal petrolio, glicole propilenico e sodio diottilsolfosuccinato. Negli studi sintetizzati in tabella 37, sono mostrati i dati di tossicità dei disperdenti tal quale, delle frazioni WAF e DWAF, con due diversi sistemi di esposizione: il sistema a flusso continuo in contenitori di esposizione aperti (DER, declining exposure regime o spiked-exposure regime) (Singer et al., 1990) e il sistema statico con rinnovo del mezzo (ogni 24 h) in contenitori di esposizione chiusi (CER, continuous exposure regime), in assenza di areazione, per minimizzare il declino della concentrazione di disperdente o di miscela durante il test.

Nella maggior parte delle indagini con Corexit 9500, le frazioni DWAF si sono dimostrate più tossiche rispetto al disperdente tal quale o al solo petrolio (EPA,1995; Wetzel and Van Fleet, 2001; Fuller et al., 2004; Ramachandran et al. 2004; Couillard et al., 2005).

I due sistemi CER e DER, in caso di esposizione al solo disperdente, mostrano differenze in termini di tossicità, anche se non sempre coerenti tra loro: LC₅₀-96h-CER=53,3 mg/L vs LC₅₀-96h-DER=205 mg/L e LC₅₀-96h-CER=85,1 mg/L vs LC₅₀-96h-DER=21,6 mg/L su *Menidia beryllina* (Rothon et al., 1999; Wetzel

and Van Fleet, 2001); $LC_{50-96h-CER}=180$ mg/L vs $LC_{50-96h-DER}=670$ mg/L su *Cyprinodon variegatus* (Fuller et al., 2004). Fanno eccezione Fuller et al., 2004 su *Menidia beryllina* che, al contrario, non evidenziano differenze tra i due sistemi: $LC_{50-96h-CER}=79$ mg/L vs $LC_{50-96h-DER}=76$ mg/L.

Per maggiori informazioni sulla tossicità dei disperdenti si rimanda alla rassegna di Wise and Wise, 2011.

Il disperdente maggiormente impiegato negli studi con *la spigola* è il Safety Sea Cleaner 2 (SSC2), un prodotto di terza generazione costituito da una miscela di tensioattivi in solventi paraffinici (Conti et al., 2007). I risultati presentati in tabella 37 sono stati ottenuti nell'ambito del programma di ricerca "TAXA Sperimentazione di test tossicologici su organismi marini ai fini dell'applicabilità del DD 23.12.2002" organizzato da ICRAM nel 2005 e che ha coinvolto altri 4 laboratori italiani che hanno eseguito i test di tossicità acuta e prolungata (ICRAM Taxa, 2005).

Tabella 37 – Sommario degli studi di tossicità acuta e prolungata con prodotti disperdenti su specie ittiche marine

Disperdente o miscela	Specie ittica	SV/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	S (%)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	L(E)C ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ¹	NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
COR9500	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	M	CER ^c	96 h	53,3	-	Rothon et al., 1999
ANS ^a	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	M	DER ^c	96 h	205	-	Rothon et al., 1999
COR9500	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	NM	CER ^c	96 h	85,1 (64,5-112,0)	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
VCO ^a	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	NM	CER ^c	96 h	<11,0	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
COR9500+VCO ^b	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	NM	CER ^c	96 h	0,68 (0,48-0,97)	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
COR9500 +VCO ^b	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	NM	DER ^d	96 h	2,84 (1,96-4,11)	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
COR9500	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	NM	DER ^d	96 h	21,6 (19,1-24,3)	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
PBCO ^a	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	NM	DER ^d	96 h	>6,86	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
COR9500+PBCO ^b	<i>Menidia beryllina</i>	12 d	-	-	25 ±1	-	20	NM	DER ^d	96 h	18,1 (7,83-41,8)	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
COR9500	<i>Sciaenops ocellatus</i>	16 d	-	-	25 ±1	-	25	NM	DER ^d	96 h	744,0	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
VCO ^a	<i>Sciaenops ocellatus</i>	16 d	-	-	25 ±1	-	25	NM	DER ^d	96 h	0,85	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
COR9500+VCO ^b	<i>Sciaenops ocellatus</i>	16 d	-	-	25 ±1	-	25	NM	DER ^d	96 h	4,23 (1,68-10,65)	-	Wetzel and Van Fleet, 2001
COR9500	<i>Menidia beryllina</i>	10 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	CER ^c	96 h	79,0	50,0	Fuller et al., 2004
AMCO ^a	<i>Menidia beryllina</i>	10 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	CER ^c	96 h	5,2	1,2	Fuller et al., 2004
COR9500+AMCO ^b	<i>Menidia beryllina</i>	10 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	CER ^c	96 h	2,0	<1,2	Fuller et al., 2004
COR9500	<i>Menidia beryllina</i>	10 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	DER ^d	96 h	76,0	42,0	Fuller et al., 2004
AMCO ^a	<i>Menidia beryllina</i>	10 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	DER ^d	96 h	>32,0	23,0	Fuller et al., 2004
COR9500+AMCO ^b	<i>Menidia beryllina</i>	10 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	DER ^d	96 h	31,0	26	Fuller et al., 2004
COR9500	<i>Menidia beryllina</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	25,20	-	Dati EPA 1995
FO2 ^a	<i>Menidia beryllina</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	10,72	-	http://www2.epa.gov/emergenc
COR9500+FO2 ^b	<i>Menidia beryllina</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	2,61	-	y-response/corexit-ec9500a
COR9500	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	0,130 (0,122-0,138)	-	Hemmer et al., 2011a
LSCa	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	3,5 (3,4-3,7) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
COR9500+LSC ^b	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	7,6 (6,2-8,5) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
COR9500	<i>Cyprinodon variegatus</i>	4 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	CER ^c	96 h	180,0	107	Fuller et al., 2004
AMCO ^a	<i>Cyprinodon variegatus</i>	4 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	CER ^c	96 h	4,1	2,5	Fuller et al., 2004
COR9500+AMCO ^b	<i>Cyprinodon variegatus</i>	4 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	CER ^c	96 h	>11,0	10,0	Fuller et al., 2004
COR9500+AMCO ^b	<i>Cyprinodon variegatus</i>	4 d	-	-	25 ±2	7-7,9	20	M	DER ^d	96 h	36,0	36,0	Fuller et al., 2004

continua **Tabella 37**

Disperdente o miscela	Specie ittica	SV/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	S (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	L(E)C ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ¹	NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
COR 9500	<i>Fundulus heteroclitus</i>	L	-	-	20	-	30	-	-	96 h	M: 0%	-	Couillard et al., 2005
MLCO ^a	<i>Fundulus heteroclitus</i>	L	-	-	20	-	30	-	-	96 h	M: 0%	-	Couillard et al., 2005
COR9500+MLCO ^{b,f}	<i>Fundulus heteroclitus</i>	L	-	-	20	-	30	-	-	96 h	M: 89%	-	Couillard et al., 2005
COR9527	<i>Melanotaenia fluviatilis</i> ^l	ELS	-	-	-	-	-	-	-	96 h	20,1	-	Pollino and Holdway, 2002
COR9527	<i>Atherinopsis affinis</i>	-	-	-	-	-	-	-	CER ^c	96 h	30,7	13,5	Singer et al., 1991
COR9527	<i>Atherinopsis affinis</i>	-	-	-	-	-	-	-	DER ^d	96 h	83,0	-	Singer et al., 1991
COR9527	<i>Fundulus heteroclitus</i>	L	-	-	-	-	-	-	-	96 h	99-124	-	Briceno et al., 1992
COR9527	<i>Sciaenops ocellatus</i>	EL	-	-	-	-	-	-	-	48 h	52,6	-	Fucik et al., 1995
COR9527	<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	74-152	-	Briceno et al., 1992
COR 7664	<i>Atherinopsis affinis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	3,51	6,96	Singer et al., 1994a
BP1100X	<i>Mugil sp</i>	-	-	-	-	-	32±2	-	S	96 h	151,0µL/L	-	Oyewo, 1986
BP1100X	<i>Mugil sp</i>	-	-	-	-	-	16±1	-	S	96 h	152,2 µL/L	-	Oyewo, 1986
Conco K	<i>Mugil sp</i>	-	-	-	-	-	32±2	-	S	96 h	4,6 µL/L	-	Oyewo, 1986
Conco K	<i>Mugil sp</i>	-	-	-	-	-	16±1	-	S	96 h	5,6 µL/L	-	Oyewo, 1986
Nokomis 3	<i>Atherinopsis affinis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	96 h	48,2	52,3	Singer et al., 1994b
Disp. SPC+MC252 ^b	<i>Menidia beryllina</i>	J 9-14d	-	-	-	-	-	-	S	48 h	0,173	-	BP Dispersant studies, 2010
JD2000+MC252 ^b	<i>Menidia beryllina</i>	J 9-14d	-	-	-	-	-	-	S	48 h	2,6·10 ⁻³	-	BP Dispersant studies, 2010
Disp. SPC	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	2,9·10 ⁻³ (2,5·10 ⁻³ -3,2·10 ⁻³)	-	Hemmer et al., 2011a
LSC ^a	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	3,5 (3,4-3,7) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
Disp. SPC + LSC ^b	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	0,64 (0,56-0,72) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
JD-2000	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	>5600 µL/L	-	Hemmer et al., 2011a
JD-2000 + LSC ^b	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	4,6 (4,3-4,9) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
Nokomis 3AA	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	18,0 (16,0-21,0)	-	Hemmer et al., 2011a
Nokomis 3AA + LSC ^b	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	0,96 (0,96-1,0) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a

continua **tabella 37**

Disperdente o miscela	Specie ittica	SV/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	S (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	L(E)C ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ¹	NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
Nokomis 3F4	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	19,0 (16,0-21,0)	-	Hemmer et al., 2011a
Nokomis 3F4 + LSC ^b	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	9,6 (8,2-11,2) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
Saf-Ron Gold	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	44,0 (41,0-47,0)	-	Hemmer et al., 2011a
Saf-Ron Gold+ LSC ^b	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	1,6 (1,5-1,8) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
Sea Brat	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	55,0 (49,0-62,0)	-	Hemmer et al., 2011a
Sea Brat+ LSC ^b	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	3,4 (3,0-3,7) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
ZI400	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	21,0 (18,0-23,0)	-	Hemmer et al., 2011a
ZI400 + LSC ^b	<i>Menidia beryllina</i>	11-14 d	-	-	25	-	20	M	S	96 h	13,1 (11,2-15,3) ⁿ	-	Hemmer et al., 2011a
SSC2	<i>Sparus aurata</i>	J	1,0±0,2	4,4±0,2	20±2	7,5-8,5	20±1	NM	R	96 h	30,9±0,80 ^h 18,6 (17,1-20,3) ^m	10,0 ^m	ICRAM Taxa, 2005
SSC2	<i>Sparus aurata</i>	J	1,2±0,1	4,6±0,2	20±2	7,5-8,5	20±1	NM	R	14 e 28 d	-	17,80	ICRAM Taxa, 2005
OSR2	<i>Sparus aurata</i>	J	1,0±0,2	4,4±0,2	20±2	7,5-8,5	20±1	NM	R	96 h	1652,2±4,96 ^h >2000 ^m	-	ICRAM Taxa, 2005
OSR 2	<i>Sparus aurata</i>	J	1,2±0,1	4,6±0,2	20±2	7,5-8,5	20±1	NM	R	14 e 28 d	-	1000	ICRAM Taxa, 2005
SSC2	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,6±0,1	4,2±0,3	20±1	7,5-8,5	20±0,5	NM	R	96 h	30,8 ± 0,45 ^e	-	ICRAM Taxa, 2005
SSC2	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,7±0,1	4,4±0,3	20±1	7,5-8,5	20±0,5	NM	R	9 d	-	20,0	ICRAM Taxa, 2005
SSC2	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,7±0,1	4,4±0,3	20±1	7,5-8,5	20±0,5	NM	R	14 d	-	15,80 ^h	ICRAM Taxa, 2005
SSC2	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,6±0,1	4,2±0,3	20±1	7,5-8,5	20±0,5	NM	R	14 d	-	6,25 ⁱ	ICRAM Taxa, 2005
OSR2	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	2,7±0,3	6,3±0,4	20±1	7,5-8,5	20±0,5	NM	R	96 h	1954,7±6,49	-	ICRAM Taxa, 2005
OSR2	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	2,1±0,3	6,4±0,3	20±1	7,5-8,5	20±0,5	NM	R	14 d	-	1260,0	ICRAM Taxa, 2005
BIO	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	-	-	20±1	7,5-8,5	20±0,5	NM	R	9 d	-	100,0	ICRAM Taxa, 2005
SSC2	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	0,5±0,1	3,8±0,2	20±1	7,5-8,0	20±1	NM	R	14 d	13,53 (12,50-15,04)	-	Conti et al., 2007
SSC2	<i>Dicentrarchus labrax</i>	J	1,3±0,5	5,3±0,6	20±1	7,5-8,0	20±1	NM	R	14 d	14,11 (11,67-17,10)	-	Conti et al., 2007
COR9500	<i>Oncorhynchus mykiss</i> ¹	J 8-10 w	2,6±1,3	-	13,7±1,2	8,0±0,3	-	NM	R	96 h	100-1000	-	Ramachandran et al., 2004
TNCO ^a	<i>Oncorhynchus mykiss</i> ¹	J 8-10 w	2,6±1,3	-	13,7±1,2	8,0±0,3	-	NM	R	48 h	3,350 ^e	-	Ramachandran et al., 2004
MSCO ^a	<i>Oncorhynchus mykiss</i> ¹	J 8-10 w	2,6±1,3	-	13,7±1,2	8,0±0,3	-	NM	R	48 h	0,106 ^e	-	Ramachandran et al., 2004

continua **tabella 37**

Disperdente o miscela	Specie ittica	SV/età	P (g)	LT (cm)	T (°C)	pH	S (‰)	Misure analitiche	Tipo di espos.	t espos.	L(E)C ₅₀ (IC 95%) (mg/L) ¹	NOEC (mg/L)	Riferimento bibliografico
SLCO ^a	<i>Oncorhynchus mykiss</i> ¹	J 8-10 w	2,6±1,3	-	13,7±1,2	8,0±0,3	-	NM	R	48 h	0,390 ^e	-	Ramachandran et al., 2004
COR9500+TNCO ^b	<i>Oncorhynchus mykiss</i> ¹	J 8-10 w	2,6±1,3	-	13,7±1,2	8,0±0,3	-	NM	R	48 h	0,003 ^e	-	Ramachandran et al., 2004
COR9500+MSCO ^b	<i>Oncorhynchus mykiss</i> ¹	J 8-10 w	2,6±1,3	-	13,7±1,2	8,0±0,3	-	NM	R	48 h	0,001 ^e	-	Ramachandran et al., 2004
COR9500+SLCO ^b	<i>Oncorhynchus mykiss</i> ¹	J 8-10 w	2,6±1,3	-	13,7±1,2	8,0±0,3	-	NM	R	48 h	0,066 ^e	-	Ramachandran et al., 2004

Abbreviazioni: AMCO: Arabian Medium Crude Oil; ANS: Alaska North Sloper Crude Oil; BIO: Disperdente Bioversal; BP 1100X: Disperdente BP1100X (BP); Conco K: Disperdente Conco K; COR9500: Disperdente Corexit 9500 (Nalco); COR9527: Disperdente Corexit 9527 (Nalco); d: days (giorni); Disp SPC 1000: Disperdente Dispersit SPC 1000 (US Polychemical); ELS: Early Life Stages; F: test a flusso continuo; FO2: Fuel Oil 2; h: hours (ore); JD-2000: Disperdente JD -2000 (Globe Mark Resources); J: juveniles (giovanili); L: larve; LSC: petrolio LSC lot. N° WP681 (RT Corporation); LT: lunghezza totale; M: misura analitica del tossico utilizzato; MLCO: Mesa Light Crude Oil; MSCO: Mesa Sour Crude Oil (viscosità 42,3 cP); NM: il tossico utilizzato non è stato misurato analiticamente; Nokomis 3AA e Nokomis 3-F4: Disperdenti Nokomis 3-AA e 3-F4 (Mar-Len Supply); OSR2: Disperdente Finasol OSR2; P: peso; PBCO Prudhoe Bay Crude Oil; Saf-Ron Gold: Disperdente Saf-Ron Gold (Sustainable Environmental Technologies); Sea Brat: Disperdente Sea Brat # 4 (Alabaster); SSC2: Disperdente Safety Sea Cleaner 2; R: test con rinnovo del mezzo; TNCO: Terra Nova Crude Oil (viscosità 50,1 cP); SLCO: Scotian Light Crude Oil (viscosità 3,76 cP); VCO: Venezuelan Crude Oil; w: weeks (settimane); ZI-400: Disperdente ZI-400 (Z.I. Chemicals).

Note: ¹ Se non diversamente indicato; ^a Frazione composta da solo petrolio disperso in acqua di mare (WAF); ^b Frazione composta da petrolio e disperdente dispersi in acqua di mare (DWAF); ^c CER: test statico con rinnovo del mezzo in camere chiuse (Continuous Exposure Regime) *EPA Guidelines 600/4-90/027/F 1993 modificato*; ^d DER: test a flusso continuo in camere aperte (Declining Exposure Regime) *Singer et al. Water Research 1990 vol. 24: 899-903*; ^e Sono valori di EC₅₀ calcolati utilizzando la percentuale di attività enzimatica EROD; ^f Contenuto di PAH= 479 ng/ml in DWAF con una concentrazione di petrolio pari a 0,5 g/L; ^g Media di tre esperimenti; ^h Risultato ottenuto da un solo laboratorio (ARPAER, Ferrara); ⁱ Media dei risultati di 4 laboratori; ¹ Specie d'acqua dolce; ^m Dati di un solo laboratorio (UNIGE). Dati riportati anche in Masini et al., 2014; ⁿ LC₅₀ Espressa come mg TPH/L (TPH: Total Petroleum Hydrocarbons).

BIBLIOGRAFIA

- Abdelghani AA, Pramar YV, Mandal TK, Tchounwou PB, and Heyer L. (1995) Levels and toxicities of selected inorganic and organic contaminants in a Swamp environment. *J. Environ. Sci. Health Part B: Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* 30: 717-731.
- Abedi ZH, and McKinley WP. (1968) Zebrafish eggs and larvae as Aflatoxin bioassay test organisms. *J. AOAC Int.* 51: 902-905.
- Adams WJ, and Rowland CD. (2003) Aquatic toxicology test methods. In: "Handbook of ecotoxicology" 2nd Edition Hoffman DJ, Rattner BA, Burton GA Jr, Cairns J Jr (Eds). Lewis Publishers.
- Adelman OR, Smith LL. (1976) Acute toxicity of sodium chloride, pentachlorophenol, guthion and hexavalent chromium to *Pimephales promelas* and *Carassius auratus*. *J. Fish Res. Board Can.* 33, 203.
- Alam MK, Maughan OE. (1992) The effect of malathion, diazinon and various concentrations of zinc, copper, nickel, lead, iron and mercury on fish. *Biological Trace Element Research* 34: 225-236.
- Alberta Guidelines (2010) Alberta Environment and Sustainable Resource Development, Soil and groundwater remediation guidelines for diethylene glycol and triethylene glycol. Government of Alberta, Department of Environment and Sustainable Resource Development, Edmonton, Alberta, 128, 2010. <http://environment.gov.ab.ca/info/>.
- Alexander HC, McCarty WM, and Bartlett EA. (1978) Toxicity of Perchloroethylene, Trichloroethylene, 1,1,1-Trichloroethane, and Methylene Chloride to Fathead Minnow. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 20: 344-352.
- Ali D, Nagpure NS, Kumar S, Kumar R, Kushwaha B, and Lakra WS. (2009) Assessment of genotoxic and mutagenic effects of Chlorpyrifos in freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. *Food Chem. Toxicol.* 47: 650-656.
- Alkalem HF. (1993) Ethological responses and changes in haemoglobin and glycogen content of the common carp, *Cyprinus carpio*, exposed to cadmium. *Asian Fish. Sci.* 6; 81-90.
- Al-Yousuf MH, El-Shahawi MS, Al-Ghais SM. (2000) Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Science of Total Environment* 256: 87-94.
- Anderson JW, Neff JM, Cox BA, Tatem HE, Hightower GM. (1974) Characteristics of dispersions and water-soluble extracts of crude and refined oils and their toxicity to estuarine crustaceans and fish. *Marine Biology* 27: 75-88.
- Anderson DR, and Lusty EW. (1980) Acute toxicity and bioaccumulation of chloroform to 4 species of freshwater fish. NUREG/CR-0893. Battelle Pacific North West Laboratory, Richland, WA.
- Anwar T, Tahir S, Ahmad I, Khan MF, Naqvi SMHM, and Akhtar S. (2005) Acute toxicity and sub-lethal effect of selected pesticides on freshwater fish. *J. Exp. Zool. India* 8: 417-424.
- Arunkumar RI, Rajashkaran P, Michael RD. (2000) Differential effect of chromium compounds on the immune response of the African mouth breeder *Oreochromis mossambicus* (Peter). *Fish Shellfish Immunol* 10: 667-676.
- ASTDR, 2013 Toxicological Profile for Endosulfan. Agency for Toxics and Disease Registry 2013. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp41.pdf>

Baldisserotto B, Chowdhury MJ, and Wood CM. (2005) Effects of dietary calcium and cadmium on cadmium accumulation, calcium and cadmium uptake from the water, and their interactions in juvenile rainbow trout. *Aquat Toxicol.* 72: 99-117.

Barron MG, and Albeke S. (2000) Calcium control of zinc uptake in rainbow trout. *Aquatic toxicology* 50: 257-264.

Basak PK and Konar SK. (1976) Toxicity of six insecticides to fish. *Geobios* 3: 209-210.

Bathe R, Sachsse K, Ullmann L, Hormann WD, Zak F, and Hess R. (1975) The evaluation of fish toxicity in the laboratory. *Proc. Eur. Soc. Toxicol.* 16: 113-124.

Baudo R, Faimali M, Onorati F, Pellegrini D. (2011) Batterie di saggi ecotossicologici per sedimenti di acque salate e salmastre. *ISPRA Manuali e Linee Guida – serie I Manuali di Ecotossicologia* 67/2011.

Baudo R, and Perin G. (2012) *Ecotossicologia quantitativa applicata*. Ed. Aracne.

Bean RM, Gibson CI, and Anderson DR. (1981) Biocide by-products in aquatic environments. Final Report September 10, 1976- September 30, 1979. In: Final Report n° PNL-3271, U.S. Nucl. Reg. Comm., Washington DC: 47-1300.

Bellas J, Beiras R, Mariño-Balsa JC, Fernández N. (2005) Toxicity of organic compounds to marine invertebrate embryos and larvae: a comparison between the sea urchin embryogenesis bioassay and alternative test species. *Ecotoxicology* 14: 337-353.

Belli M, Patriarca M, Segà M. (2013) Guida Eurachem. Terminologia per le misurazioni analitiche – Introduzione al VIM 3. Rapporti ISTISAN 13/41.

Benoit DA. (1976) Toxic effects of hexavalent chromium on brook trout, *Salvelinus fontinalis* and rainbow trout, *Salmo gairdnerii*. *Wat Res* 10: 497-500.

Bentley RE, Heitmuller T, Sleight BH III, and Parrish PR. (1979) Acute toxicity of chloroform to Bluegill (*Lepomis macrochirus*), Rainbow Trout (*Salmo gairdnerii*), and Pink Shrimp (*Penaeus duorarum*). US EPA, Criteria Branch, WA-6-99-1414-B, Washington DC: 13.

Bergman HL, and Anderson AD. (1977) Effects of aqueous effluents from in situ fossil fuel processing technologies on aquatic systems. Contract n° EY-77-C-04-3913, University of Wyoming, Laramie, WY: 73p.

Besser JM, Mebane CA, Mount DR, Ivey CD, Kunz JL, Greer IE, May TW, Ingersoll CG. (2007) Sensitivity of mottled sculpins (*Cottus bairdi*) and rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) to acute and chronic toxicity of cadmium, copper, and zinc. *Environ. Toxicol. Chem.* 26(8), 1657-1665.

Beyers DW, Farmer MS. (2001) Effects of copper on olfaction of Colorado Pikeminnow. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 907-912.

Bierkens J, Klein G, Corbisier P, Van Den Heuvel R, Verschaeve L, Weltens R, Schoeters G. (1998) Comparative sensitivity of 20 bioassays for soil quality. *Chemosphere*. Vol.37: 2935-2947.

Biever RC, Giddings JM, Kiamos M, Annunziato MF, Meyerhoff R, and Racke K. (1994) Effects of Chlorpyrifos on aquatic microcosms over a range of off-target spray drift exposure levels. *Br. Crop Prot. Conf. Pests Dis.*: 1367-1372.

BioDynamics Inc. (1987) A flow-through acute fish toxicity test of naphthalene. EPA/OTS doc.86-870000910: 26.

Birge WJ, Black JA, and Bruser DM. (1979) Toxicity of organic chemicals to embryo-larval stages of fish. EPA-560/11-79-007, US EPA, Washington DC: 60.

Birge WJ, Black JA. (1980) Aquatic toxicology of nickel. In: Nriagu JO (Ed): Nickel in the environment. J. Wiley and Sons. NY, Chichester, Brisbane, Toronto. Pp. 349-366.

Birge WJ, Black JA, Ballard ST, and McDonnell WE. (1982) Acute toxicity testing with freshwater fish. In: JD. Horne, MA. Sirsky, TA. Hollister, BR. Oblad, and JH. Kennedy Eds, Aquatic Toxicity Studies of Five Priority Pollutants, Report N° 4398, NUS Corp Houston, TX: 47.

Birge WJ, Black JA, Hobson JF, Westerman AG, Short TM. (1984) Toxicological studies on aquatic contaminants originating from coal production and utilization: the induction of tolerance to silver in laboratory populations of fish and the chronic toxicity of nickel to fish early life stages. Research Report n° 151 US. Geological Survey, Reston, VA.

Bishop ER, and Perry RL. (1979) Proc. ASTM 4th Aquat. Toxicol. Symp., 421-435. IUCLID data set 2000Esis.jrc.ec.europa.eu/doc/IUCLID/data_sheets/151213.pdf

Black JA, Birge WJ, Wsterman AG, and Francis PC. (1983) Comparative aquatic toxicology of aromatic hydrocarbons. Fundam. Appl. Toxicol. 3: 353-358.

Black JA and Birge WJ. (1980) An avoidance response bioassay for aquatic pollutants. Res. Report N° 123, Water Resour. Res. Inst., Univ. of Kentucky, Lexington, KY.

Blaylock BG, Frank ML. (1979) A comparison of the toxicity of nickel to the developing eggs and larvae of carp (*Cyprinus carpio*). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 21: 604-611.

Blaise C, and Féraud J. (2005) Small-scale freshwater toxicity investigations, Springer (Eds.)

Boglione C, e Cataldi C. (2001) Acquacoltura responsabile verso le produzioni del terzo millennio. Cataudella e Bronzi Eds.

Bornatowicz N. (1983) Assessment of the acute toxicity of nickel sulfate to rainbow trout. U.S. NTIS PB84-232-073 National Technical Information Service, Springfield VA. Pubblicazione in lingua tedesca.

Borthwick PW, and Walsh GE. (1981) Initial toxicological assessment of Ambush, Bolero, Bux, Dursban, Fentripanil, Larvin and Pydrin: static acute toxicity tests with selected estuarine algae, invertebrates and fish. EPA 600/4-81-076, US EPA, Gulf Breeze, FL: 9p.

Borthwick PW, Patrick JM Jr, and Middaugh DP. (1985) Comparative acute sensitivities of early life stages of Atherinid fishes to Chlorpyrifos and Thiobencarb. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 14: 465-473.

BP Dispersant Studies of the Deepwater Horizon Oil Spill Response volume 3, 2010; p.32.

Brazner JC, Lozano SJ, Knuth ML, Bertelsen SL, Heinis LJ, Jensen DA, Kline ER, O'Halloran SL, Sarge KW. (1988) The effects of Chlorpyrifos on a natural aquatic system: a research design for littoral enclosure studies and final research report. Final research Report, Environmental Research Laboratory-Duluth, US EPA, Duluth, MN: 194p.

Briceno J, McKee WJ, Clark JR, Whiting DD. (1992) Relative sensitivity of Gulf of Mexico species and national test species in acute toxicity tests with dispersants. Poster presentation. In: Thirteenth Annual Meeting Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Cincinnati, OH.

-
- Bridie AL, Wolff CJM, and Winter M. (1979) The acute toxicity of some petrochemicals to goldfish. *Water Research* 13: 623-626.
- Broderius SJ, Kahl MD, and Hoglund MD. (1995) Use of joint toxic response to define the primary mode of toxic action for diverse industrial organic chemicals. *Environ. Toxicol. Chem* 14: 1591-1605.
- Brooke, L.T., D.J. Call, D.T. Geiger and C.E. Northcott (eds.) (1984) *Acute Toxicities of Organic Chemicals to Fathead Minnows (Pimephales Promelas)*. Superior, WI: Center for Lake Superior Environmental Studies Univ. of Wisconsin Superior, 1984, p. 295.
- Buccafusco RJ, Ells SJ, and LeBlanc GA. (1981) Acute toxicity of priority pollutants to Bluegill (*Lepomis macrochirus*) *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 26: 446-452.
- Buhl KJ, Hamilton SJ. (1991) Relative sensitivity of early life stages of Arctic grayling, Coho salmon, and Rainbow trout to nine inorganics. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 22: 184-197.
- Buhl KJ, and Hamilton SJ. (2000) Acute toxicity of fire-control chemicals, nitrogenous chemicals and surfactants to rainbow trout. *Transactions of the American Fisheries Society* 129: 408-418.
- Burton DT, and Fisher DJ. (1990) Acute toxicity of cadmium, copper, zinc, ammonia, 3,3'-dichlorobenzidine, 2,6-dichloro-4-nitroaniline, methylene chloride, and 2,4,6-trichlorophenol to juvenile grass shrimp and killifish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 44: 776-783.
- Buzzell JC Jr, Young RHF, and Ryckman DW. (1968) Behavior of organic chemicals in the aquatic environment. Part II. – Behavior in dilute systems. *Environ. Sanitary Engineering Labs., Washington University, St.Louis, MO.*
- Cairns J Jr, Thompson KW, Hendricks AC. (1981) Effects of fluctuating, sublethal applications of heavy metal solutions upon the gill ventilation response of bluegill (*Lepomis macrochirus*). EPA-600/3-81-003. National Technical Information Service, Springfield, VA. (US NTIS PB 81-150997).
- Calamari D, Marchetti R, Vailati G. (1980) Influence of water hardness on cadmium toxicity to *Salmo gairdneri* rich. *Water Research* 14 1421-1426.
- Canli M, and Atli G. (2003) The relationship between heavy metal (Cd, Cr, Cu, Pb, Zn) levels and the size of six Mediterranean fish species. *Environmental Pollution* 121: 129-136.
- Canton JH, and Sloof W. (1982) Toxicity and accumulation studies of cadmium (Cd²⁺) with freshwater organisms of different trophic levels. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 6: 113-128.
- Capkin E, Altinok I, and Karahan S. (2006) Water quality and fish size affect toxicity of Endosulfan, an organochlorine pesticide, to rainbow trout. *Chemosphere* 64: 1793-1800.
- Carlson RW, Bradbury SP, Drummond RA and Hammermeister DE. (1998) Neurological effects on startle response and escape from predation by Medaka exposed to organic chemicals. *Aquat. Toxicol.* 43: 51-68.
- Carter FL, and Graves JB. (1972) Measuring effects of insecticides on aquatic animals. *La. Agric.* 16: 14-15.
- Castren M, and Oikari A. (1987) Changes of the liver UDP-glucuronosyltransferase activity in trout (*Salmo gairdneri* Rich.) acutely exposed to selected aquatic toxicants. *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol.* 86: 357-360.
- CCME (1999) Canadian Water Quality Guidelines for the protection of Aquatic Life: Benzene. In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.

CCME, (1999) Canadian Water Quality Guidelines for the protection of Aquatic Life: Halogenated methanes trichloromethane (Chloroform). In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.

CCME, (1999) Canadian Water Quality Guidelines for the protection of Aquatic Life: Halogenated methanes dichloromethane (Methylene Chloride). In: Canadian environmental quality guidelines, 1999, Canadian Council of Ministers of the Environment, Winnipeg.

Chandrasekar S, and Jayabalan N. (1993) Hematological Responses of the common carp, *Cyprinus carpio* L. exposed to the pesticide Endosulfan. Asian Fish. Sci. 6: 331-340.

Chappel MJ. (2001) Evaluation of the toxicity of pesticide mixtures to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) using probabilistic ecological risk assessment and toxic equivalent techniques. Thesis, Univ. Of Guelph, Ontario, Canada, p. 223.

Clark JR, Patrick JM Jr, Middaugh DP, and Moore JC. (1985) Relative sensitivity of six estuarine fishes to Carbofenothion, Chlorpyrifos and Fenvalerate. Ecotoxicol. Environ. Saf. 10: 382-390.

Clark BW, and Di Giulio RT. (2012) *Fundulus heteroclitus* adept to PAHs are cross-resistant to multiple insecticides. Ecotoxicology 21: 465-474.

COHIBA, 2010. Whole effluent assessment (WEA) proposed recommendations for the use of toxicity limits. Disponibile su: <http://www.cohiba-project.net>.

Conti D., Paina A., Balzamo S., et al. (2012) Batterie di test per la caratterizzazione ecotossicologica dei rifiuti: stato dell'arte. Rapporti ISPRA 156/2012.

Conti D, Balzamo S, Paina A, Martone C, Raso E, Cadoni F, Savorelli F, Croppo M, Bellaria V, Pati A. (2015) European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L 1758) as a sentinelle specie in Europe to study the effects of contaminants. Annual Research & Review in Biology 8(4) 1-13, 2015, Minireview article n° ARRB.20527 ISSN: 2347-565x, NLM ID: 101632869.

Conway RA, Waggy GT, Spiegel MH, Berglund RL. (1983) Environmental fate and effects of ethylene oxide. Environ. Sci. Technol. 17: 107-112.

Cook A, and Hutter R. (1984) Deethylsimazine bacterial dechlorination, deamination and complete degradation. J. Agric. Food Chem. 32: 581-585.

Correa M, and Garcia HI.(1990) Physiological responses of juvenile White Mullet, *Mugil curema*, exposed to benzene. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 44: 428-434

Couillard CM, Lee K, Légare B, and King TL. (2005) Effect of dispersant on the composition of the Water-Accommodated Fraction of crude oil and its toxicity to larval marine fish. Environ Toxicol. Chem. 24: 1496-1504.

Cripe GM, Hansen DJ, Macauley SF, and Forester J. (1986) Effects of diet quantity on Sheepshead Minnows (*Cyprinodon variegatus*) during Early Life-Stage exposure to Chlorpyrifos. ASTM Spec. Tech. Publ 9: 450-460.

Cserhádi T, Forgács E, Oros G. (2002) Biological activity and environmental impact of anionic surfactants. Environ. Int. 28 : 337-348.

Cullen JM, Newberne PM (1994) Acute hepatotoxicity of aflatoxins. In: Eaton DL, Groopman JD. (1994) The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary and agricultural significance. Academic Press, San Diego, California, pp. 3-26.

Dalela RC, Verma SR, and Bhatnagar MC. (1978) Biocides in relation to water pollution. Part I: Bioassay studies on the effects of a few biocides on fresh water fish, *Channa gachua*. Acta Hydrochim Hydrobiol. 6: 15-25.

Dalela RC, Tyagi AK, Pal N, Verma SR. (1981) Subacute stress induced by sodium lauryl sulphate (SLS) on certain haematological parameters in *Saccobranthus fossilis*. Water, Air, and Soil Pollution 15: 3-9.

Daly GL, Wania F. (2005) Organic contaminants in mountains. Environ. Sci. Technol. 39: 385-398.

Dalvy RR, and Davis SW. (1998) Role of beta-Naphthoflavone in the acute toxicity of Chlorpyrifos in Channel catfish. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 60: 335-339.

Dave G, and Xiu R. (1991) Toxicity of mercury, copper, nickel, lead, and cobalt to embryos and larvae of Zebrafish, *Brachidanio rerio*. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 21: 126-134.

Davey RB, Meisch MV, and Carter FL. (1976) Toxicity of five ricefield pesticides to the mosquitofish, *Gambusia affinis* and Green sunfish, *Lepomis cyanellus*, under laboratory and field. Environ. Entomol. 5: 1053-1056.

Da Silva Kraus LA, Bonecker ACT, De Almeida N, and Vital A. (1998) Acute toxicity of potassium dichromate, sodium dodecyl sulphate, copper and zinc to *Poecilia vivipara* (Osteichthyes, Cyprinodontiformes). Fresenius Environ Bull 7: 654-658.

Debeaupuis JP, Marche C, Lafont P. (1984) Embryotoxicity and teratogenicity of ochratoxin A in the zebra-fish (*Brachydanio rerio*). Microbiol Aliments Nutr. 2: 257-269.

Deep S, and Ahluwalia JC. (2001) Interaction of bovine serum albumin with anionic surfactants. Phys. Chem. Chem. Phys. 3: 4583-4591.

DeGraeve GM, Elder RG, Woods DC, and Bergman HL. (1982) Effects of naphthalene and benzene on fathead minnows and rainbow trout. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 11: 487-490.

DeGraeve GM, Cooney JD, McIntyre DO, Pollock TL, Reichenbach NG, Dean JH, and Marcus MD. (1991) Variability in the performance of the seven-day Fathead Minnow (*Pimephales promelas*) larval survival and growth test: an intra- and interlaboratory study. Environ. Toxicol. Chem. 10: 1189-1203.

Dell'Orto N, Ciccotelli M, Cantelli D, Camantini M, 1997. Sviluppo di un sistema di biomonitoraggio a tre componenti per la valutazione della qualità delle acque. *Acqua & Aria* 5: 103-107.

Devi AP, Rao DMR, Tilak KS, and Murty AS. (1981) Relative toxicity of the technical grade material isomers and formulations of Endosulfan to the fish *Channa punctata*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 27: 239-243.

Devi Y, and Mishra A. (2013) Histopathological alterations in gill and liver anatomy of freshwater, air breathing fish *Channa punctatus* after pesticide Hilban (Chlorpyrifos) treatment. Adv. Biores. 4: 57-62.

Devillers JT, Meunier T, and Chambon P. (1985) Usefulness of the dosage-effect-time relation in ecotoxicology for the determination of different chemical classes of toxicants. Tech. Sci. Munic. 80: 329-334.

De Lorenzo ME, Scott GI, and Ross PE. (2001) Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 84-98.

De Mel GWJL, and Pathiratne A. (2005) Toxicity assessment of insecticides commonly used in rice pest management to the fry of Common carp, *Cyprinus carpio*, a food fish culturable in rice fields. *J. Apl. Ichthyol.* 21: 146-150.

De Palma G. (2012) Dossier Benzene.
disponibile su http://fad.saepe.it/approfondimenti/1_Dossier_benzene_def.0.pdf.

De Silva PMCS, and Samyawardhena LA. (2002) Low concentrations of Lorsban in water result in far reaching behavioral and histological effects in early life stages in Guppy. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 53: 248-254.

De Silva PMCS, and Samyawardhena LA. (2005) Effects of Chlorpyrifos on reproductive performances of Guppy (*Poecilia reticulata*). *Chemosphere* 58: 1293-1299.

Diamond JM, Koplisch DE, McMahon II J, and Rost R. (1997) Evaluation of the water-effect ratio procedure for metals in a riverine system. *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 509-520.

Dias RS, Pais AACC, Miguel MG, Lindman B. (2004) DNA and surfactants in bulk and at interfaces. *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 250: 115-131.

Dill DC, Murphy PG, and Mayes MA. (1987) Toxicity of methylene chloride to life stages of the Fathead Minnow, *Pimephales promelas* Rafinesque. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 39: 869-876.

Dinnel PA, Link JM, Stober QJ, Letourneau MW, Roberts WE, Felton SP, and Nakatani RE. (1983) Methodology and validation of a sperm cell toxicity test for testing toxic substances in marine waters. Final Report FRI-UW-8306, Fish. Res. Inst., Schl. Of Fish, University of Washington, Seattle, WA, p. 208.

Dinnel PA, Link JM, Stober QJ, Letourneau MW, and Roberts WE. (1989) Comparative sensitivity of sea urchin sperm bioassays to metals and pesticides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18: 748-755.

Di Toro DM, Allen HE, Bergman HL, Meyer JS, Paquin PR, Santore RC. (2001) Biotic ligand model of the acute toxicity of metals - 1. Technical basis. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 2383-2396.

Dorey B, Thatheyus AJ. (2012) Acute toxicity of nickel and cadmium to the Cichlid fish, *Oreochromis mossambicus* (Peters). *Research in Zoology* 2: 19-22.

Doster RC, Sinnhuber RO, Wales JH. (1972) Acute intraperitoneal toxicity of ochratoxins A and B in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Food Cosmet. Toxicol.* 10: 85-92.

Duursma EK, Marchand M. (1974) Aspects of organic marine pollution. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 12: 315-431.

Dyer SD, Versteeg DJ, Belanger SE, Chaney JG, Mayer FL. (2006) Interspecies correlation estimates (ICE) predict protective environmental concentrations. *Environ. Sci. Technol.* 40: 3102-3111.

Eaton DL, Groopman JD. (1994) The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary and agricultural significance. Academic Press, San Diego, California.

EC Directive 2001 n° 83 of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use. *Official J.* L311, 0067-0128, 28/11/2001.

EC 2004 Directive n° 28 of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/82/EC on the Community code relating to veterinary medicinal products. OJ. European Union L136, 58–84.

EC Regulation 2003 n° 1831 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. OJ. European Union L268, 29–43.

EC Regulation 2004 n° 726/2004 of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 laying down Community procedures for the authorisation and supervision of medicinal products for human and veterinary use and establishing a European Medicines Agency. OJ European Union L136, 1-33.

EC Regulation 2008 No 429/2008 of 25 April 2008 on detailed rules for the implementation of Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council as regards the preparation and the presentation of applications and the assessment and the authorisation of feed additives. OJ. European Union L133, 1–65.

ECETOC (1993) Aquatic toxicity data evaluation. ECETOC: 64 pp.

Eder KJ, Leutenegger CM, Wilson BW, and Wermer I. (2004) Molecular and cellular biomarker responses to pesticide exposure in juvenile Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Mar. Environ. Res. 58: 809-813.

Eder KJ, Kohler HR, and Werner I. (2007) Pesticide and pathogen: heat shock protein expression and acetylcholinesterase inhibition in juvenile Chinook Salmon in response to multiple stressors. Environ. Toxicol. Chem. 26: 1233-1242.

Eder KJ, Clifford MA, Hedrick RP, Kohler HR, and Werner I. (2008) Expression of immune-regulatory genes in juvenile Chinook Salmon following exposure to pesticides and infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV). Fish Shellfish Immunol. 25: 508-516.

Eder KJ, Leutenegger CM, Kohler HR, and Werner I. (2009) Effects of neurotoxic insecticides on heat-shock proteins and cytokine transcription in Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Ecotoxicol. Environ. Saf. 72: 182-190.

Edsal CC. (1991) Acute toxicities to larval rainbow trout of representative compounds detected in great lakes fish. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 46: 173-178.

Eisler R, Hennekey RJ (1977) Acute toxicities of Cd²⁺, Cr⁶⁺, Hg²⁺, Ni²⁺ and Zn²⁺ to estuarine macrofauna. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 6: 315–323.

El-Refai A, Fahmy FA, Abdel-Lateef MFA, and Imam AKE. (1976) Toxicity of three insecticides to two species of fish. Int. Pest. Control 18: 4-8.

EMA/CHMP, 2006. Guideline on the Environmental Risk Assessment of Medicinal Products for Human Use. EMEA/CHMP/SWP/4447/00. European Medicines Agency. Disponibile su: www.ema.europa.eu.

EMA/CVMP, 2008. Revised Guideline on Environmental Impact Assessment for Veterinary Medicinal Products in Support of the VICH Guidelines GL6 AND GL38. EMEA/CVMP/ERA/418282/2005-Rev.1. European Medicines Agency. Disponibile su: <http://www.ema.europa.eu>.

EPA 2001. 2001 update of ambient water quality criteria for cadmium. EPA-822-R-01-001. Office of Water. Washington DC.

EPA 2010. Endosulfan: 2010. Environmental fate and ecological risk assessment. Washington, DC: U.S. Environmental Protection Agency.

EPA 2013. Pesticide Ecotoxicity Database. Environmental fate and effects division, USEPA Washington DC: EPA office of Pesticides Program Database.

Ernst WR, Jonak P, Doe K, Julien G, and Hennigar P. (1991) Toxicity to aquatic organisms of off-target deposition of Endosulfan applied by aircraft. *Environ. Toxicol. Chem.* 10: 103-114.

Erten-Unal M, et al. (1998) Evaluation of toxicity, bioavailability and speciation of lead, zinc and cadmium in mine mill wastewaters. *Chem Spec Bioavail* 10: 37-46.

EU 1998. Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council of 16 February 1998 concerning the placing of biocidal products on the market. *OJ. European Union* L123, 1–63.

EU, 2000. Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for the Community action in the field of water policy (EU Water Framework Directive). *OJ. European Union* L327, 1–72.

EU, 2003. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on additives for use in animal nutrition. *OJ. European Union* L268, 29–43.

EU, 2004. Directive 2004/28/EC of the European Parliament and of the Council of 31 March 2004 amending Directive 2001/82/EC on the Community code relating to veterinary medicinal products. *OJ. European Union* L136, 58–84.

EU, 2006. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH). *OJ European Union* L396, 1–849.

EU, 2008. Commission Regulation (EC) No 429/2008 of 25 April 2008 on detailed rules for the implementation of Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council as regards the preparation and the presentation of applications and the assessment and the authorisation of feed additives. *OJ. European Union* L133, 1–65.

EU, 2009. Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council of 21 October 2009 concerning the placing of plant protection products on the market and repealing council directives 79/117/EEC and 91/414/EEC. *OJ. European Union* L309, 1–50.

EU, 2012. Regulation (EU) No 528/2012 of the European Parliament and of the Council of 22 May 2012 concerning the making available on the market and use of biocidal products. *OJ. European Union* L761, 1–123.

EU, 2013. Regulation (EU) No 283/2013 of 1 March 2013 setting out the data requirements for active substances, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market. *OJ. European Union* L93, 1–84.

Evgenidou E, and Fytianos K. (2002) Photodegradation of trazine herbicides in aqueous solutions and natural waters. *J. Agric. Food Chem.* 50: 6423-6427.

Ewell WS, Gorsuch JW, Kringle RO, Robillard KA, Spiegel RC. (1986) Simultaneous evaluation of the acute effects of chemicals on seven aquatic species. *Environ. Toxicol. Chem.* 5: 831-840.

FAO 2011. FAO specifications and evaluations for agricultural pesticides. Endosulfan (1,4,5,6,7,7-hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-en-2,3-ylenebismethylene)sulfite. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1-17.

FAO 2013. Cultured aquatic species information programme. In: FAO Fisheries and Aquaculture Department. Rome. http://fao.org/fishery/culturedspecies/Dicentrarchuslabrax_labrax/en Accessed on December 2013.

Frag AM, May T, Marty GD, Easton M, Harper DD, Little EE, Cleveland L. (2006) The effect of chronic chromium exposure on the health of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Aquat. Toxicol.* 76: 246-257.

Fernandes TCC, Pizano MA, and Marin-Morales MA. (2013) Characterization, modes of action and effects of trifluralin: a review. In: "Agricultural and Biological Sciences. Herbicides current research and case studies in use. Ed. AJ Price and JA Kelton. Published 2013 CCBY 3.0 license.

Ferrante I, Cataldi E. (2006) I pesci come indicatori di stress ambientali. Lezione del IV Corso di Formazione Nazionale "I pesci come indicatori Biologici di Stress Ambientali" presso Università Tor Vergata 24-28 settembre 2006.

Ferraresso S. (2010) Applicazione della genomica funzionale allo studio di specie di interesse in acquacoltura. Tesi di dottorato dell'Università degli Studi di Padova. <http://paduaresearch.cab.unipd.it/2731/>

Fidelia Osuala I, Bawa-Allah, Kafilat A. (2013) Effects of salinity variations on acute toxicity of copper sulphate against *Oreochromis niloticus* fingerlings in laboratory bioassays. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology* 6: 22-27.

Filipic M. (1995) Mutagenicity and toxicity of water extracts from Sora river area. *Mutat. Res.* 342: 1-8.

Fogels A, and Sprague GB. (1977) Comparative short-term tolerance of zebrafish, flagfish, and rainbow trout to five poisons including potential reference toxicants. *Water Research* 11; 811-817.

Forni C, Giordani F, Pintore M, Campanella L. (2008) Effects of sodium dodecyl sulphate on the aquatic macrophytes *Azolla* and *Lemna*. *Plant Biosystems* 142/3: 665-668.

Forni C, Braglia R, Harren FJM, Cristescu SM. (2012) Stress responses of duckweed (*Lemna Minor* L.) and water velvet (*Azolla filiculoides* Lam.) to anionic surfactant sodium-dodecyl-sulphate (SDS). *Aquat Toxicol.* 110-111: 107-113.

Fucik KW, Carr KA, Balcom BJ. (1995) Toxicity of oil and dispersed oil to the eggs and larvae of seven marine fish and invertebrates from the Gulf of Mexico. In: Lane P, (Eds), The use of chemicals in oil spill response, American Society for Testing and Materials. PA, pp. 135-171.

Fulton MH, Moore DW, Wirth EF, Chandler GT, Key PB, Daugomah JW, Strozier ED, Devane J, Clarck JR. (1999) Assessment of risk reduction strategies for the management of agricultural nonpoint source pesticide runoff in estuarine ecosystem. *Toxicol. Ind. Health* 15: 201-214.

Galassi S, Mingazzini M, Vigano L, Cesareo D, and Tosato ML. (1988) Approaches to modeling toxic responses of aquatic organisms to aromatic hydrocarbons. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 16: 158-169.

Garric J, and Cemagref A. (1990) Development of an assay for median lethal and sublethal toxicity with *Brachydanio rerio*. <http://cfpub.epa.gov/ecotox/help.cfm?>

Geiger DL, Northcott CE, Call DJ, and Brooke LT. (1985) Acute toxicities of organic chemicals to Fathead minnows (*Pimephales promelas*) vol II. EPA Fathead Minnow Acute Toxicity Database (MED-Duluth). <http://cfpub.epa.gov/ecotox/help.cfm?>

Geiger DL, Poirier Sh, Brooke LT and Call DJ. (1986) Acute toxicities of organic chemicals to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) Vol. III. EPA Fathead Minnow Acute Toxicity Database (MED-Duluth). <http://cfpub.epa.gov/ecotox/help.cfm?>

Geiger DL, Call DJ, and Brooke LT. (1988) Acute toxicities of organic chemicals to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) Volume IV. EPA Fathead Minnows acute toxicity Database (MED-Duluth)

Geiger DL, Brooke LT, and Call DJ. (1990) Acute toxicities of organic chemicals to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*). Volume V. EPA Fathead Minnow Acute Toxicity Database (MED-Duluth). <http://cfpub.epa.gov/ecotox/help.cfm?>

Gendusa TC, and Beitinger TL. (1992) External biomarkers to assess chromium toxicity in adult *Lepomis macrochirus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 48: 237-242.

Gendusa TC, and Beitinger TL, and Rodgers JH. (1993) Toxicity of hexavalent chromium from aqueous and sediment sources to *Pimephales promelas* and *Ictalurus punctatus*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 50: 144-151.

Gelosi E. e Colombari PT. (2004) Manuale della pesca. Ambiente, fauna, pesca, attrezzi e leggi delle acque del Lazio. Regione Lazio e ARSIAL Eds.

George AL. (2002) Seasonal factors affecting surfactant biodegradation in Antarctic coastal waters: comparison of a polluted and pristine site. Marine Environmental Research 53: 403-415.

Giguère A, Campbell PGC, Hare L, McDonald DG, Rasmussen JB. (2004) Influence of lake chemistry and fish age on cadmium, copper and zinc concentrations in various organs of indigenous yellow perch (*Perca flavescens*). Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 61: 1702-1716.

Gormley KL, and Teather KL. (2003) Developmental, behavioral and reproductive effects experienced by Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) in response to short-term exposure to Endosulfan. Ecotoxicol. Environ. Saf. 54: 330-338.

Gravato C. and Guilhermino L. (2009) Effects of benzo(a)pyrene on sea bass (*Dicentrarchus labrax*): biomarkers, growth and behavior. Human and Ecological Risk Assessment 15: 121-137.

Grosell M, Blanchard J, Brix KV, Gerdes R. (2007) Physiology is pivotal for interactions between salinity and acute copper toxicity to fish and invertebrates. Aquat. Toxicol. 84: 162-172.

Guilhermino L, Lacerda MN, Nogueira AJA, Soares AMV.M. (2000). *In vitro* and *in vivo* inhibition of *Daphnia magna* acetylcholinesterase by surfactant agents: possible implications for contamination biomonitoring. Sci. Total Environ. 247: 137-141.

Gunasekara AS. (2004) Environmental fate of simazine. www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/simazine.pdf

Gupta PK, Mujumdar VS, and Rao PS. (1984) Studies on the toxicity of some insecticides to a freshwater teleost *Lebistes reticulatus*. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 12: 629-636.

Hale JG. (1977) Toxicity of metal mining wastes. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 17: 66-73.

Hall LW, and Anderson RD. (1995) The influence of salinity on the toxicity of various classes of chemicals to aquatic biota. *Crit. Rev. Toxicol.* 25: 281-346.

Haffray P, Tsigenopoulos CS, Bonhomme F, Chatain B, Magoulas A, Rye M, Triantafyllidis A, and Triantaphyllidis C. (2006) European sea bass – *Dicentrarchus labrax*. In: “ Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish and their impacts on wild populations” D. Crosetti, S. Lapègue, I. Olesen, T. Svaasand (eds). GENIMPACT project: Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A European network. WP1 workshop “Genetics of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish”. Viterbo, Italy, 12-17 June, 2006. <http://genimpact.imr.no/>

Haider S, and Inbaraj RM. (1989) Relative toxicity of technical material and commercial formulation of Malathion and Endosulfan to a freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 11: 347-351.

Halappa R, and David M. (2009) In vivo inhibition of acetylcholinesterase activity in functionally different tissues of the freshwater fish, *Cyprinus carpio*, under Chlorpyrifos exposure. *Drug Metab. Drug Interact.* 24: 123-136.

Hale JG. (1977) Toxicity of metal mining wastes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 17: 66-73.

Hall LW, and Anderson RD. (1995) The influence of salinity on the toxicity of various classes of chemicals to aquatic biota. *Crit. Rev. Toxicol.* 25: 281-346.

Hansen DJ, and Cripe GM. (1991) Interlaboratory comparison of the early life-stage toxicity test using Sheepshead Minnows (*Cyprinodon variegatus*) ASTM Spec. Tech. Publ 14: 354-375.

Hari AC, Paruchuri RA, Sabatini DA, Kibbey TCG. (2005) Effects of pH and cationic and non-ionic surfactants on the adsorption of pharmaceuticals to a natural aquifer material. *Environ Sci Technol* 39: 2592-2598.

Hashimoto Y, Okubo E, Ito T, Yamaguchi M, and Tanaka S. (1982) Changes in susceptibility of carp to several pesticides with growth. *J. Pest. Sci.* 7: 457-461.

Hashimoto Y, and Nishiuchi Y. (1981) Establishment of bioassay methods for the evaluation of acute toxicity of pesticides to aquatic organisms. *J. Pestic. Sci.* 6: 257-264.

Hazdra JJ, Brown ER, Grossberg RD, Kamin L, and Becker DP. (1980) Chloroform and its relationship to leukemia in poikilotherms. In: Yohn Lapin and Bakeslee Eds, *Advances in comparative Leukemia*, Elsevier, North Holland, Inc: 215-217 (1979)/ *Abstr. Pap. Am. Chem. Soc.* 180: 134.

Hedgecote S, and Lewis S. (1997) An update on proposed environmental quality standards for benzene in water. DOE 4287(P), WRC, 1997.

Heerklotz H. (2008) Interactions of surfactants with lipid membranes. *Q. Rev. Biophys* 41 : 205-264.

Heitmuller PT, Hollister TA, and Parrish PR. (1981) Acute toxicity of 54 industrial chemicals to Sheepshead Minnows (*Cyprinodon variegatus*) *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 596-604.

Hemmer MJ, Middaugh DP, and Comporetta V. (1992) Comparative acute sensitivity of larval Topsmelt, *Atherinops affinis*, and Inland Silverside, *Menidia beryllina*, to 11 chemicals. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: 401-408.

Hemmer MJ, Hemmer BL, Bowman CJ, Kroll KJ, Folmar LC, Marcovich D, Hoglund MD, and Denslow ND. (2001) Effects of p-Nonylphenol, Methoxychlor and Endosulfan on vitellogenin induction and expression in Sheepshead Minnows (*Cyprinodon variegatus*). Environ. Toxicol. Chem. 20: 336-343

Hemmer MJ, Salinas KA, and Harris PS. (2011) Application of protein expression profiling to screen chemicals for androgenic activity. Aquat. Toxicol. 103: 71-78.

Hemmer MJ, Barron MG, and Greene RM. (2011a) Comparative toxicity of eight oil dispersants, Louisiana sweet crude oil (LSC), and chemically dispersed LSC to two aquatic test species. Environmental Toxicology and Chemistry 30: 2244–2252.

Hendricks JD, Putnam TP, Bills DD, and Sinnhuber RO. (1977) Inhibitory Effect of a Polychlorinated Biphenyl (Aroclor 1254) on Aflatoxin B1 Carcinogenesis in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). J. Natl. Cancer Inst. 59: 1545-1551.

Hendricks JD. (1994) Carcinogenicity of aflatoxins in non-mammalian organisms. In: Eaton DL, Groopman JD. (1994) The toxicology of aflatoxins: human health, veterinary and agricultural significance. Academic Press, San Diego, California, pp 103-136.

Hoang TC, Tomasso JR, Klaine SJ (2004) Influence of water quality and age on nickel toxicity to fathead minnow (*Pimephales promelas*). Environ. Toxicol. Chem. 23: 86.

Hodson PV, Dixon DG, Kaiser KLE. (1984) Measurement of median lethal dose as a rapid indication of contaminant toxicity to fish. Environ. Toxicol. Chem. 3: 243-254.

Horwitz RJ, Ruppel B, Wisniewski S, Kiry P, Hermanson M, and Gilmour C. (1995) Mercury concentrations in freshwater fishes in New Jersey. Water Air Soil Pollut. 80: 885-888.

Hogendoorn-roozemond AS, Tenholder JJHM, Stirk JJTWA. (1977) The influence of pH on the toxicity of hexavalent chromium to rainbow trout. Aquatic pollutants-Transformation and Biological effects; Proceedings of the 2nd International symposium on Aquatic pollutants; Oxford: Pergamon Press 1977 p. 477-478.

Holcombe GW, Phipps GL, and Tanner DK. (1982) The acute toxicity of Kelthane, Dursban, Disulfoton, Pydrin and Permethrin to Fathead minnow *Pimephales promelas* and Rainbow trout *Salmo gairdnerii*. Environ. Pollut. A 29: 167-178.

Holcombe GW, Phipps GL, Knuth ML, and Felhaber T. (1984) The acute toxicity of selected substituted phenols, benzenes and benzoic acid esters to fathead minnow *Pimephales promelas*. Environ Pollut. A 35: 367-381.

Hollis L, McGeer JC, McDonald DG, Wood CM. (1999) Cadmium accumulation, gill Cd binding, acclimation and physiological effects during long term sublethal Cd exposure in rainbow trout. Aquat. Toxicol. 46: 101-119.

Hollis L, McGeer JC, McDonald DG, Wood CM. (2000) Protective effects of calcium against chronic waterborne cadmium exposure to juvenile rainbow trout. Environ. Toxicol. Chem. 19: 2725-2734.

Hook SE, Skillman AD, Small JA, and Schultz IR. (2006) Gene expression patterns in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, exposed to a suite of model toxicants. Aquat. Toxicol. 77: 372-385.

Howard PH. (1990) Handbook of environmental fate and exposure data for organic chemicals. Vol II. Solvents. Lewis Publishers. Chelsea, MI.

Howarth RS, Sprague JB. (1978) Copper lethality to rainbow trout in waters of various hardness and pH. *Water Res.* 12: 455-462.

HSDB, 2005 Hazardous Substances Databank, Chlorpyrifos; U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Library of Medicine. <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?HSDB> (accessed Apr. 2009)

HSDB. 2012. Endosulfan and endosulfan sulfate. Hazardous Substances Data Bank. National Library of Medicine. <http://toxnet.nlm.nih.gov>. March 8, 2012.

Hunt JW, Anderson BS, Phillips BM, Tjeerdema RS, Puckett HM, Stephenson M, Tucker DW, Watson D. (2002) Acute and chronic toxicity of nickel to marine organisms: implications for water quality criteria. *Environ. Toxicol. Chem.* 21:2423-30.

Hutchinson TH, Williams TD, and Eales GJ. (1994) Toxicity of cadmium, hexavalent chromium and copper to marine fish larvae (*Cyprinodon variegatus*) and copepods (*Tisbe battagliai*). *Mar Environ Res* 38: 275-290.

IMS (1998) Acute and chronic nickel toxicity: development and acute to chronic ratio for west coast marine species. Results of toxicity testing with Topsmelt, Abalone and Mysids. The Institute of Marine Sciences, University of California, Santa Cruz. USA.

Islam MdS, Tanaka M. (2004) Impacts of pollution on coastal and marine ecosystems including coastal and marine fisheries and approach for management: a review and synthesis. *Marine Pollution Bulletin* 48: 624-649.

ISPESL, 2008 Cromo esavalente. www.ispesl.it

Jagan P, Reddy MS, and Rao AP. (1989) Effect of certain insecticides on the freshwater fish *Cyprinus carpio* L. *J. Environ Biol.* 10: 135-138.

Jantrarotai, W. 1990 Acute and Subacute Toxicity of Aflatoxin B1 and Cyclopiazonic Acid to Channel Catfish. PhD. Thesis, Auburn University, Auburn, AL: 121 p.

Janssen (1993) The acute toxicity of nickel oxide in the Zebra fish (*Brachydanio rerio*). Janssen studies n° AFBBr/0022, AFBBr/0023, AFBBr/0015, AFBBr/0016. Janssen Pharmaceutica, Belgium. (NiPERA document. Internal report).

Jaroli DP, and Sharma BL. (2005) Effect of organophosphate insecticide on the organic constituents in liver of *Channa punctatus*. *Asian J. Exp. Sci* 19: 121-129.

Jarvinen AW, and Tanner DK. (1982) Toxicity of selected controlled release and corresponding unformulated technical grade pesticides to the Fathead Minnows *Pimephales promelas*. *Environ. Pollut. A* 27: 179-195.

Jarvinen AW, Tanner DK, and Kline ER. (1988) Toxicity of Chlorpyrifos, Endrin or Fenvalerate to Fathead Minnows following episodic or continuous exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 15: 78-95.

Jensen RA. (1978) A simplified bioassay using Finfish for estimating potential spill damage. In: *Proc. Control of Hazardous Material Spills*, Rockville, MD: 104-108.

Jeziarska B., and Witeska M. (2006) The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters. In: Twardowska et al. (eds) *Soil and Water Pollution Monitoring, Protection and Remediation*, 3-23, 2006, Springer.

Jones A, Steward H, Hedgecote S, and Wilkinson M. (1990) Proposed environmental quality standards for benzene in water. DoE 2628-M, WRc, 1990.

Jop KM, Rodgers JH, Dorn Jr PB, and Dickson KL. (1986) Use of hexavalent chromium as a reference toxicant in aquatic toxicity tests. In: Aquatic toxicology and Environmental fate. 9th Volume, ASTM STP 921 TM Pston and R. Purdy Eds, American Society for testing and materials, Philadelphia 1986 pp 390-403.

Jop KM, Parkerton TF, Rodgers JH, Dickson KL, Dorn PB. (1987) Comparative toxicity and speciation of two hexavalent chromium salts in acute toxicity tests. Environ. Toxicol. Chem. 6: 697-703.

Juhnke, I., and D. Luedemann (1978) Results of the Investigation of 200 Chemical Compounds for Acute Fish Toxicity with the Golden Orfe Test (Ergebnisse der Untersuchung von 200 Chemischen Verbindungen auf Akute Fischtoxizität mit dem Goldorfe Test). Z. Wasser-Abwasser-Forsch.11(5): 161-164.

Kamrin MA. (1997) Pesticide Profiles Toxicity, Environmental Impact, and Fate; Lewis Publishers: Boca Raton, FL, 1997; pp 147-152.

Kazlauskienė N, Burba A, and Svecevičius G. (1994) Acute toxicity of five galvanic heavy metal to hydrobionts. Ekologia 1: 33-36.

Khangarot BS. (1981) Lethal effects of zinc and nickel on freshwater teleosts. Acta Hydrochim. Hydrobiol. 9: 297-302.

Khangarot BS, and Ray PK. (1990) Acute toxicity and toxic interaction of chromium and nickel to common guppy *Poecilia reticulata* (Peters). Bull. Environ. Contam. Toxicol. 44: 832-839.

Kienle C, Kohler HR, and Gerhardt A. (2009) Behavioural and developmental toxicity of Chlorpyrifos and nickel chloride to Zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae. Ecotoxicol. Environ. Saf. 72: 1740-1747.

Kikuchi M, and Wakabayashi M. (1984) Lethal response of some surfactants to medaka *Oryzias latipes* with relation to chemical structure. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish 50: 1235-1240.

Kikuchi M, Miyagaki T, and Wakabayashi M. (1996) Evaluation of pesticides used in Golf links by acute toxicity test on Rainbow trout. Nippon Suisan Gakkaishi 62: 414-419.

Khalil F, Kang IJ, Undap S, Tasmin R, Qiu X, Shimasaki Y, and Oshima Y. (2013) Alterations in social behavior of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) in response to sublethal Chlorpyrifos exposure. Chemosphere 92: 125-130.

Kleiner CF, Anderson RL, and Tanner DK. (1984) Toxicity of Fenitrothion to Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) and alternative exposure duration studies with Fenitrothion and Endosulfan. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 13: 573-578.

Kodama T, Ding L, Yoshida M, and Yajima M. (2001) Biodegradation of an s-triazine herbicide, simazine. J. Mol. Cat. B. 11: 1073-1078.

Korn S, Moles DA, and Rice SD. (1977) Effects of low temperature on the survival of Pink Salmon and shrimp exposed to Toluene, Naphthalene, and the Water-Soluble Fraction of cook inlet crude oil. In: Environmental Assessment of the Alaskan Continental Shelf, Principal Investigators Rep. for the Year ending Mar. 1977: 66-84.

Korn S, Moles DA, and Rice SD. (1979) Effects of temperature on the median tolerance limit of Pink salmon and Shrimp exposed to toluene, naphthalene and cook inlet crude oil. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 21: 521-525.

Korn S, and Rice S. (1981) Sensitivity to, and accumulation and depuration of, aromatic petroleum components by early life stages of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Rapp. PV: reun. Comm. Int. Explor. Sci. Mer Mediterr. 178: 87-92.

Kumar P, Prasad Y, Swarup D, Patra RC, and Nandi D. (2005) Bioaccumulation of cadmium in fresh water Indian catfish *Clarias batrachus*. Proceedings of an international conference held in Lucknow (India) 14-17th November 2005: pp45.

Kumar P, and Singh A. (2010) Cadmium toxicity in fish: an overview. GEF Bulletin of Biosciences vol 1: 41-47.

Kuroshima R. (1992) Cadmium accumulation in the mummichog, *Fundulus heteroclitus*, adapted to various salinities. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 49: 680-685.

Kuykendall JR, Miller KL, Mellinger KM, Cain AJ, Perry MW, Bradley M, Jarvi EJ, and Paustenbach DJ. (2009) DNA- protein cross-links in erythrocytes of freshwater fish exposed to hexavalent chromium or divalent nickel. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 56: 260-267.

Laetz CA, Daldwin DH, Collier TK, Hebert V, Stark JD, and Scholz NL. (2009) The synergistic toxicity of pesticide mixtures: implications for risk assessment and the conservation of endangered Pacific Salmon. Environ Health Perspect. 117: 348-353.

Lahnsteiner F. (2008) The sensitivity and reproducibility of the zebrafish (*Danio rerio*) embryo test for the screening of waste water quality and for testing the toxicity of chemicals. ATLA 36: 299-311.

Lammer, E., Carr, G.J., Wendler, K., Rawlings, J.M., Belanger, S.E., Braunbeck, T. (2009) Is the fish embryo toxicity test (FET) with the zebrafish (*Danio rerio*) a potential alternative for the fish acute toxicity test. Comp. Biochem. Physiol. 149C: 196-209.

LaRoche G, Eisler R, and Tarzwell CM. (1970) Bioassay procedures for oil and oil dispersant toxicity evaluation. Journal Water Pollution Control Federation 42: 1982-1989.

Lawson EO. (2011) Physico-Chemical Parameters and Heavy Metal Contents of Water from the Mangrove Swamps of Lagos Lagoon, Lagos, Nigeria Advances in Biological Research 5: 08-21.

Lee HC, Lu PN, Huang HL, Chu C, Li HP, and Tsai HJ. (2014) Zebrafish transgenic line huORFZ is an effective living bioindicator for detecting environmental toxicants. PloS One 9(3): p.12.

Lemke AE. (1981) Interlaboratory comparison acute testing set. EPA-600/3-81-005, US EPA Duluth, MN, p. 29.

Leung KMY, Morrill D, Wheeler JR, Whitehouse P, Sorokin N, Toy R, Holt M, and Crane M. (2001) Can saltwater toxicity be predicted from freshwater data? Mar. Pollut. Bull. 42: 1007-1013.

Levin ED, Chrysanthis E, Yacisin K, and Linney E. (2003) Chlorpyrifos exposure of developing Zebrafish: effects on survival and long-term effects on response latency and spatial discrimination. Neurotoxicol. Teratol. 25: 51-57.

Lewis MA. (1990) Chronic toxicities of surfactants and detergent builders to algae: a review and risk assessment. Ecotoxicol. Environ. Safety 20: 123-140.

Li X, Liu L, Zhang Q, Li Y, and Li Y. (2013) Toxic effects of Chlorpyrifos on lysozyme activities, the contents of complement C3 and IgM, and IgM and complement C3 expressions in Common carp (*Cyprinus carpio*). Chemosphere 93: 428-433.

Lind, D., K. Alto, and S. Chatterton (1978) Regional copper-nickel study: aquatic toxicology study. Minnesota Environmental Quality Board. 56 pp.

Lovell RT. (1992) Mycotoxins: hazardous to farmed fish. Feed International. March, pp 24-28.

Lowe JI, Wilson PD, and Davison RB. (1970) Laboratory bioassays. In: US Fish Wildl. Serv. Circ. 335, Washington DC: 20-23.

Macek KJ, Lindberg MA, Sauter S, Buxton KS, and Costa PA. (1976) Toxicity of four pesticides to water fleas and Fathead Minnow: acute and chronic toxicity of Acrolein, Heptachlor, Endosulfan, and Trifluralin to the Water Flea (*Daphnia magna*) and the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). EPA-600/3-76-099, USEPA, Duluth, MN, p. 68.

Mailhot H. (1987) Prediction of algal bioaccumulation and uptake of nine organic compounds by ten physicochemical properties. Environ. Sci. Technol. 21: 1009-1013.

Manfra L, Tornambè A, Savorelli F, Rotini A, Canepa S, Mannozi M, Cicero AM. (2015) Ecotoxicity of diethylene glycol and risk assessment for marine environment. Journal of Hazardous Materials 284: 130-135

Manning BB, Ulloa RM, Li MH, Robinson EH, Rottinghaus GE. (2003) Ochratoxin A fed to channel catfish (*Ictalurus punctatus*) causes reduced growth and lesions of hepatopancreatic tissue. Aquaculture 219: 739-750.

Marchini S, Tosato ML, Norberg-King TJ, Hammermeister DE, and Hoglund MD. (1992) Lethal and sublethal toxicity of benzene derivatives to the Fathead Minnow, using a short-term test. Environ. Toxicol. Chem. 11: 187-195.

Marques E, Miguel M, Dias R, Melnikov S, Khan A, Lindman B. (2000) Gel formation and association in systems of cationic surfactant vesicles and oppositely charged polymers. Polymer Preprints 41, 737-738.

Marsic'-Lucic' J, Mlandineo I, and Tudor M. (2005) Comparative effectiveness of 2-phenoxyethanol and Propiscin as anesthetics for juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax* L. Aquaculture International 13:543-553.

Martin-Montalvo D, Mengs G, Ferrer E, Allende JL, Alonso R, and Marin M. (1997) Simazine degradation by immobilized and suspended soil bacterium. Intern. Biodeter. Biodegr. 40: 93-99.

Masini MA, Prato P, Giacco E, Mariottini GL, Pane L. (2014) Impact of synthetic surfactants and oil dispersants on the gills of juvenile gilthead (*Sparus aurata* L.). Journal of Biological Research 87: 2296.

Mayer FL Jr. (1974) Pesticides as pollutants. In: BG. Liptak (Ed), Environmental Engineer's Handbook, Chilton Book Co., Radnor, pp 405-418.

Mayer FL Jr and Eilersieck MR. (1986) Manual of acute toxicity: interpretation and data base for 410 chemicals and 66 species of freshwater animals. USDI Fish and Wildlife Service, Publication n° 160, Washington DC: p 505. <http://cfpub.epa.gov/ecotox/help.cfm?>

Mayer FL Jr. (1987) Acute toxicity Handbook of chemicals to estuarine organisms. EPA 600/8-87-017, US EPA, Gulf Breeze, FL: 274 p.

Mayes MA, Alexander HC, and Dill DE. (1983) A study to assess the influence of age on the response of fathead minnows in static acute toxicity tests. Bull. Environ: Contam. Toxicol. 31: 139-147.

McKean C, Tang L, Billam M, Wang Z, Theodorakis CW, Kendall RJ, Wang JS. (2004) Comparative acute and combinative toxicity of aflatoxin B1 and fumonisin B1 in animals and human cells. Food Chem. Toxicol. 44: 868-876.

MacPhee C, and Ruelle R. (1969) Lethal effects of 1888 chemicals upon four species of fish from Western North America. Bull.-. For. Wildl. Range Exp. Sta. 3: 112 p.

McAuliffe CD, et al. (1975) IUCLID data set 2000
Esis.jrc.ec.europa.eu/doc/IUCLID/data_sheets/151213.pdf

Mebane CA, Hennessy DP, and Dillon FS. (2008) Developing acute-to-chronic toxicity ratios for lead, cadmium, and zinc using rainbow trout, a mayfly, and a midge. Water, Air, and Soil Pollution 188: 41-66. (DOI - 10.1007/s11270-007-9524-8)

Mebane CA, Hennessy DP, and Dillon FS. (2009) Incubating rainbow trout in soft water increased their later sensitivity to cadmium and zinc. Water, Air and Soil Pollution 205: 245-250.

Mebane CA, Dillon FS, and Hennessy DP. (2012) Acute toxicity of cadmium, lead, zinc and their mixtures to stream resident fish and invertebrates. Environ. Toxicol. Chem. 31: 1334-1348.

Meheler WT, Schuler LJ, and Lydy MJ. (2008) Examining the joint toxicity of Chlorpyrifos and Atrazine in the aquatic species: *Lepomis macrochirus*, *Pimephales promelas* and *Chironomus tentans*. Environ. Pollut. 152: 217-224.

Meinelt, T., Playle RC., Pietrock M, Burnison BK, Wienke A, and Steinberg CEW. (2001) Interaction of cadmium toxicity in embryos and larvae of zebrafish (*Danio rerio*) with calcium and humic substances. Aquat. Toxicol., 54: 205–215.

Meyerhoff RD. (1975) Acute toxicity of benzene, a component of crude oil, to juvenile striped bass (*Morone saxatilis*). J. Fish Res. Board Can. 32: 1864-1866.

Middaugh DP, Hemmer MJ, and Lores EM. (1988) Teratological effects of 2,4 dinitrophenol, “Produced Water” and Naphthalene on embryos of the Inland Silverside *Menidia beryllina*. Dis. Aquat. Org. 4: 53-65.

Millemann RE, Birge WJ, Black JA, Cushman RM, Daniels KL, Franco PJ, Giddings JM, McCarthy JF (1984) Comparative acute toxicity to aquatic organisms of components of coal-derived synthetic fuels. Trans. Am. Fish. Soc. 113: 74-85.

Mishra AK, and Mohanty B. (2009) Effect of hexavalent chromium exposure on the pituitary-interrenal axis of a teleost, *Channa punctatus* (Bloch). Chemosphere 76: 982-988.

Moles A, and Rice SD. (1983) Effects of crude oil and naphthalene on growth, caloric content and fat content of pink salmon juveniles in seawater. Trans. Am. Fish. Soc. 112: 205-211.

Moles A, Bates S, Rice SD, and Korn S. (1981) Reduced growth of Coho salmon fry exposed to two petroleum components, toluene and naphthalene, in freshwater. Trans. Am. Fish. Soc. 110: 430-436.

Montgomery JH. (1993) Agrochemicals desk reference. Environmental data. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.

Moore MT, Huggett DB, Gillespie WB jr, Rodgers JH Jr, and Cooper CM. (1998) Comparative toxicity of Chlordane, Chlorpyrifos and Aldicarb to four aquatic testing organisms. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 34: 152-157.

Morrison G, Torello E, Comeleo R, Walsh R, Kuhn A, Burgess R, Tagliabue M, and Greene W. (1989) Intralaboratory precision of saltwater short-term chronic toxicity tests. Research Journal of the Water Pollution Control Federation Vol. 61, No. 11/12 pp. 1707-1710.

-
- Muramoto S. (1983) Influence of complexans (NTA, EDTA) on the toxicity of nickel chloride and sulfate to fish at high concentrations. *J. Environ. Sci. Health A18*: 787-795.
- Murty AS, and Devi AP. (1982) The effect of Endosulfan and its isomers on tissue protein, glycogen and lipids in the fish *Channa punctata*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 17: 280-286.
- Naidu KRP, Kumari JP, and Naidu BP. (1987) Impact of Endosulfan on the hematology of the fish *Cyprinus carpio*. *Environ. Ecol.* 5: 713-716.
- Nazari M, Kurdi M, and Heerklotz H. (2012) Classifying surfactants with respect to their effect on lipid membrane order. *Biophys J* 102: 498-506.
- Nebeker AV, McCrady JK, Mshar R, and McAuliffe CK. (1983) Relative sensitivity of *Daphnia magna*, Rainbow trout and Fathead minnows to Endosulfan. *Environ. Toxicol. Chem.* 2: 69-72.
- Nebeker AV, Savonen C, Stevens DG. (1985) Sensitivity of rainbow trout early life stages to nickel chloride. *Environ. Toxicol. Chem.* 4: 233-239.
- Neely WB, and Blau GE. (1977) The use of laboratory data to predict the distribution of Chlorpyrifos in a fish pond. In: MAQ, Khan (Ed), *Pesticides in aquatic environments*, Plenum Press, NY: 145-163.
- Neely WB, Branson DR, Blau GE. (1974) Partition coefficient to measure bioconcentration potential of organic chemicals in fish. *Environ. Sci. Technol.* 8: 1113-1115.
- Negilski DS. (1976) Acute toxicity of zinc, cadmium and chromium to the marine fishes, yellow-eye mullet (*Aldrichetta forsteri* C. & V.) and small-mouthed hardyhead (*Atherinasoma microstoma* Whitley). *Australian Journal of Marine and Freshwater Research* 27: 137 – 149.
- Neuparth T, Bickham JW, Theodorakis CW, Costa FO, Costa MH. (2006) Endosulfan-induced genotoxicity detected in the Gilthead seabream, *Sparus aurata* L. by means of flow cytometry and micronucleus assay. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76: 242-248.
- Newsome CS (1982): IUCLID data set 2000 – esis.jrc.ec.europa.eu/doc/IUCLID/data_sheets/151213.pdf
- Ngethe S, Horsberg TE, Mitema E, Ingebrigtsen K (1993) Species differences in hepatic concentration of orally administered 3H AFB1 between rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture* 114: 355-358.
- Nguyen LTH, Janssen CR, and Volckaert FAM. (1999) Susceptibility of embryonic and larval African catfish (*Clarias gariepinus*) to toxicants. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 62: 230-237.
- Nguyen LTH, Janssen CR. (2002) Embryo-larval toxicity tests with the African catfish (*Clarias gariepinus*): Comparative sensitivity of endpoints. *Arch Environ Conm Toxicol* 42: 256-262.
- Nielsen MH and Ranck J, 1994 Screening of toxicity and genotoxicity in wastewater by the use of Allium test. *Hereditas* 121: 249-254.
- Nielsen AD, Borch K, Westh P. (2000) Thermochemistry of the specific binding of C12 surfactants to bovine serum albumin. *Biochim. Biophys. Acta* 1479: 321-331.
- Nielson IR, REA JD, and Howe PD. (1991) Environmental hazard assessment: Benzene. TSD/4, Building Research Establishment, 1991.
- NICNAS, 2001. Benzene – Priority Existing Chemical Assessment Report n° 21.

Niyogi S, Kent R, and Wood CM. (2008) Effects of water chemistry variables on gill binding and acute toxicity of cadmium in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a biotic ligand model. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 148: 305-314.

Norberg-King TJ. (1987) An evaluation of the Fathead Minnows seven-day subchronic test for estimating chronic toxicity. MS Thesis, University of Wyoming, Laramie, WY: 80p.

O'Hara, J. (1973) The influence of temperature and salinity on the toxicity of cadmium to the fiddler crab, *Uca Pugilator*. *Fish. Bull.* 71: 149-153.

OECD, 2012. Fish toxicity testing framework – Series on Testing and Assessment n° 171. ENV/JM/MONO (2012) 16

OECD SIDS 2002 – 1,2 Dichloroethane. Ecotoxicity pag. 84-202

Olesen, T. Svaasand (eds). GENIMPACT project: “Evaluation of genetic impact of aquaculture activities on native populations. A European network. WP1 workshop “Genetic of domestication, breeding and enhancement of performance of fish and shellfish” Viterbo, Italy, 12-17 June, 2006, 6 pp. <http://genimpact.imr.no/>

Oliveira-Filho EC, and Paumgartten FJR. (1997) Comparative study on the acute toxicities of alpha, beta, gamma and delta isomers of hexachlorocyclohexane to freshwater fishes. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 59: 984-988.

Olsson PE. (1998) Disorders associated with heavy metal pollution. In: *Fish disease and disorders*. Vol 2. Eds Leatherland JE, and Woo PTK. CABI International, UK pp 105-131.

Oris JT. Jr. (1987) The photo-induced toxicity of polycyclic Aromatic Hydrocarbons to larvae of the Fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Chemosphere* 16: 1395-1404.

OSPAR, 2000. (Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic) Background document concerning the elaboration of programmes and measures relating to whole effluent assessment (Report 117; London: OSPAR).

Ostrander GK, Landolt ML, and Kocan RM. (1988) The ontogeny of Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*) behavior following embryonic exposure to Benzo(a)pyrene. *Aquat. Toxicol.* 13: 325-346.

Oyewo EO. (1986) The acute toxicity of three oil dispersants. *Environ. Pollut. Series A, Ecological and Biological* 41: 23-31.

Pagliara P. (2009) Biodegradazione aerobica cometabolica dei solventi clorurati. http://amslaurea.unibo.it/2149/1/Pasquale_Pagliara_Biodegradazione.pdf

Pal S, Kokushi E, Koyama J, Uno S, and Ghosh AR. (2012) Histopathological alterations in gill, liver and kidney of Common carp exposed to Chlorpyrifos. *J. Environ. Sci. Health Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes* 47: 180-195.

Pandard P., Devillers J. Charissou AM., Pouksen V., Jourdain MJ, Ferard JS, Grand C., Bispo A, (2006) Selecting a battery of bioassays for ecotoxicological characterization of waste. *Science of the Total Environment* 363: 114-125.

Pandey S, Nagpure NS, Kumar R, Sharma S, Srivastava SK, and Verma MS. (2006) Genotoxicity evaluation of acute doses of Endosulfan to freshwater teleost *Channa punctatus* (Bloch) by alkaline single-cell gel electrophoresis. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 65: 56-61.

-
- Pane EF, Richards JG, Wood CM. (2003) Acute waterborne nickel toxicity in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) occurs by a respiratory rather than ionoregulatory mechanism. *Aquat. Toxicol.* 63: 65-82.
- Papagiannis I, Kagalou I, Leonardos J, Petridis D, Kalfakakou V. (2004) Copper and zinc in four freshwater fish species from Lake Pamvotia (Greece). *Environment International* 30: 357-362.
- Paris P, Bisceglie S, Maschio G, Pace E, Parisi Presicce D, Ursino S. (2014) Monitoraggio nazionale dei pesticidi nelle acque. Dati 2011-2012. Rapporti ISPRA 208/2014.
- Parisi G, Terova G, Gasco L, Piccolo G, Roncarati A, Moretti VM, Centoducati G, Gatta PP, Pais A, (2013) Current status and future perspectives of Italian finfish aquaculture. *Rev Fish Biol Fisheries*. Published online 26 July 2013.
- Parrish PR, Dyar EE, Enos JM, and Wilson WG. (1978) Chronic toxicity of Chlordane, Trifluralin and Pentachlorophenol to Sheepshead Minnows (*Cyprinodon variegatus*). EPA-600/3-78-010 US EPA Gulf Breeze, FL: 53 p.
- Pascoe D, Evans SA, and Woodworth J. (1986) Heavy metal toxicity to fish and the influence of water hardness. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 15: 481-487.
- Patel MR, Scheffler BE, Wang L, and Willet KL. (2006) Effects of benzo(a)pyrene exposure on killifish (*Fundulus heteroclitus*) aromatase activities and mRNA. *Aquat. Toxicol* 77: 267-278.
- Patton G, Duable D, McKinstry C. (2007) Evaluation of early life stage fall Chinook salmon exposed to hexavalent chromium from a contaminated groundwater source. *Environ. Monit. Assess.* 133: 285-294.
- Pennington PL. (2002) The replicated modular estuarine mesocosm: assessing direct and indirect effects of pesticide exposure. PhD Thesis, University of South Carolina, Columbia, SC: 249 p.
- Pennington PL, DeLorenzo ME, Lawton JC, Strozier ED, Fulton MH, and Scott GI. (2004) Modular estuarine mesocosm validation: ecotoxicological assessment of direct effects with the model compound Endosulfan. *J. Exp. Mar. Biol Ecol.* 298: 369-387.
- Peres I, and Pihan JC. (1991) Copper LC₅₀ *Cyprinus carpio*. Influence of hardness, seasonal variation, proposition of Maximum Acceptable Toxicant Concentration. *Environ. Technol.* 12: 161-167.
- Phipps GL, and Holcombe GW. (1985) A method for aquatic multiple species toxicant testing: acute toxicity of 10 chemicals to 5 vertebrates and 2 invertebrates. *Environ. Pollut. A* 38: 141-157.
- Pickering QH, Henderson C. (1966) The acute toxicity of some heavy metals to different species of warm water fishes. *Air Water Pollut. Int. J* 10: 453-463.
- Pickering QH. (1974) Chronic toxicity of nickel to the fathead minnow. *J. Water Pollut. Control Fed.* 46: 760-765.
- Pickering QH (1980) Chronic toxicity of hexavalent chromium to fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 9: 405-413.
- Pickering QH (1988) Evaluation and comparison of two short-term fathead minnow tests for estimating chronic toxicity. *Water Res.* 22: 883-893.
- Pickering QH, and Lazorchak JM. (1995) Evaluation of the robustness of the Fathead Minnow, *Pimephales promelas*, larval survival and growth test, US EPA Method 1000.0. *Environ. Toxicol. Chem.* 14: 653-659.

Pihalova L, Haluzova I, Macova S, Dolezelova P, Praskova E, Marsalek P, Skoric M, Svobodova Z, Pistekova V. (2011) Effects of subchronic exposure to simazine on zebrafish (*Danio rerio*). *Neuroendocrinol. Lett.* 32 (suppl. 1): 89-94.

Phipps GL and Holcombe GW. (1985) A method for aquatic multiple species toxicant testing: acute toxicity of 10 chemicals to 5 vertebrates and 2 invertebrates. *Environ. Pollut. A* 38: 141-157.

Playle RC, Gensemer RW, and Dixon DG. (1992) Copper accumulation on gills of fathead minnows: influence of water hardness, complexation and pH of the gill microenvironment. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: 381-391.

Pollino CA, Holdway DA. (2002) Toxicity testing of crude oil and related compounds using early life stages of the crimson-spotted rainbowfish (*Melanotaenia fluviatilis*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 52: 180-189.

Pyle GG, Swanson SM, Lehmkuhl DM. (2002) Influence of water hardness, pH, and suspended solids on nickel toxicity to larval fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Water, Air and Soil Pollution* 133: 215.

Qureshi AA, Flood KW, Thompson SR, Janhurst SM, Inniss CS, and Rokosh DA. (1982) Comparison of a luminescent bacterial test with other bioassays for determining toxicity of pure compounds and complex effluents. *ASTM Spec. Tech. Publ.* 179-195

Ramesh H, and David M. (2006) Behavioural and respiratory responses of freshwater exotic carp, *Cyprinus carpio* (Linn.) exposed to Chlorpyrifos. *Indian J. Environ. Toxicol.* 16: 55-59.

Ramesha AM, Guptha TRC, Katti RJ, Gowda G, and Lingdhal C. (1996) Toxicity of cadmium to common carp *Cyprinus carpio* (Linn.). *Environ. Ecol.* 14(2): 329-333.

Ramachandran SD, Hodson PV, Khan CW, Lee K. (2004) Oil dispersant increases PAH uptake by fish exposed to crude oil. *Ecotoxicol. and Environ. Saf.* 59: 300-308.

Rehwoldt R, Bida G, Nerrie B. (1971) Acute toxicity of copper, nickel and zink ions to some Hudson river fish species. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 6: 445-448.

Reusink RG, Smith LL. (1975) Relationship of 96 h LC₅₀ to lethal threshold concentration of hexavalent chromium, piono and sodium pentachlorophenate for fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Trans. Amer. Fish Soc.* 104, 567.

Rhoton SL., Perkins RA, Richter ZD, Behr-Andres C, Lindstrom JE, and Braddock JF. (1999) Toxicity of Dispersants and Dispersed Oil To An Alaskan Marine Organism. *International Oil Spill Conference Proceedings: March 1999, Vol. 1999, No. 1, pp. 1035-1038.*

Rice PJ, Drewes CD, Klubertanz TM, Bradbury SP, and Coats JR. (1997) Acute toxicity and behavioral effects of Chlorpyrifos, Permethrin, Phenol, Strychnine, and 2,4-Dinitrophenol to 30-day-old Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). *Environ. Toxicol. Chem.* 16: 696-704.

Rice SD and Thomas RE. (1989) Effect of pre-treatment exposures of Toluene or Naphthalene on the tolerance of Pink Salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) and Kelp Shrimp (*Eualis suckleyi*). *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol.* 94: 289-293.

Ringot D, Chango A, Schneider Y-J, Larondelle Y. (2006) Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chemico-Biological Interactions* 159: 18-46.

Roberts MH, Warinner JE, Chu-Fa Tsai, Wright D, Cronin EL. et al. (1982) Comparison of estuarine species sensitivities to three toxicants. *Archives of Environmental Contamination Toxicology* 11: 681-692.

Roberts TR, Hutson DH. (1999) *Metabolic Pathways of Agrochemicals – Part 2: Insecticides and Fungicides*; The Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 1999; pp 235-242.

Roche H, Bogé G, and Pérès G. (1994) Acute toxicity of colchicine in *Brachydanio rerio*. Use of a chronic test. *Bullet. Environ. Contam. Toxic.* 52: 69-73.

Roderer G. (1990) . Pubblicazione in lingua tedesca. Si veda: <http://cfpub.epa.gov/ecotox/help.cfm?>

Romeo M, Bennani N, Gnassia-Barelli M, Lafaurie M, Girard J.P. (2000) Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Toxicology* 48 (2000) 185–194

Santore RC, Di Toro DM, Paquin PR, Allen HE, and Meyer JS. (2001) Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. Application to acute copper toxicity in freshwater fish and *Daphnia*. *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 2397-2402.

Sarma K, Pal AK, Sahu NP, Ayyappan S, and Baruah K. (2009) Dietary high protein and vitamin C mitigates Endosulfan toxicity in the Spotted Murrel, *Channa punctatus* (Bloch, 1973). *Sci. Total Environ.* 407: 3668-3673.

Sastry KV, Sunita KM.(1983) Enzymological and biochemical changes produced by chronic chromium exposure in a Teleost fish, *Channa punctatus*. *Toxicol Letters* 16: 9-15.

Sastry KV and Siddiqui AA. (1983) Metabolic changes in the snake head fish *Channa punctatus* chronically exposed to Endosulfan. *Water Air and Soil Pollut.* 19: 133-141.

Sharbidre AA, Metkari V, and Patode P. (2011) Effect of methyl Parathion and Chlorpyrifos on certain biomarkers in various tissues of Guppy, fish, *Poecilia reticulata*. *Pestic. Biochem. Physiol.* 101: 132-141.

Schell JDJ. (1987) Interactions of halogenated hydrocarbon mixtures in the embryo of the Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). Ph D Thesis, Rutgers, The State University of New Jersey, New Brunswick, NJ: p. 179.

Schimmel SC. (1981) Results: Interlaboratory comparison – acute toxicity tests using Estuarine animals. Final draft EPA 600/4-81-003, US EPA, Gulf Breeze, FL: 13p.

Schimmel SC, Gamas RL, Patrick JM Jr, and Moore JC. (1983) Acute toxicity bioconcentration and persistence of AC 222,705, Benthocarb, Chlorpyrifos and Fenvalerate, Methyl Parathion and Permethrin in the estuarine environment. *J. Agric. Food Chem.* 31: 104-113.

Scirocchi A, and D'Erme A. (1980) Toxicity of seven insecticides on some species of freshwater fishes. *Riv. Parassitol* 41: 113-121.

Schimmel SC, Gamas RL, Patrick JM Jr, and Moore JC. (1983) Acute toxicity, bioconcentration and persistence of AC 222.705 Benthocarb, Chlorpyrifos and Fenvalerate, Methyl Parathion and Permethrin in the estuarine environment. *J. Agric. Food Chem* 31: 104-113.

Schoettger RA. (1970) Toxicology of Thiodan in several fish and aquatic invertebrates. *Invest. Fish Control* n° 35, Fish Wildl. Serv., Bur. Sport Fish. Wildl., USDI, Washington DC, p. 31.

Scholz S, Sela E, Blaha L, Braunceck T, Galay-Burgos M, García-Franco M, Guinea J, Klüver N, Schirmer K, Tanneberger K, Tobor-Kaplon M, Witters H, Belanger S, Bnfenati E, Creton S, Cronin MTD, Eggen RIL, Embry M, Ekman D, Gourmelon A, Halder M, Hardy B, Hartung T, Hubesh B, Jungmann D, et al. (2013) A European perspective on alternatives to animal testing for environmental hazard identification and risk assessment. *Regulatory toxicology and pharmacology* 67: 506-530.

Schubauer-Berigan MK, Dierkes JR, Monson PD, Ankley GT. (1993) pH-dependent toxicity of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn to *Ceriodaphnia dubia*, *Pimephales promelas*, *Hyalella azteca* and *Lumbriculus variegatus*. *Environ. Toxicol. Chem.* 12:1261-1266.

Scott GI, Baughman DS, Trim AH, and Dee JC. (1987) Lethal and sublethal effects of insecticides commonly found in nonpoint source agricultural runoff to estuarine fish and shellfish. In: "WB Vernberg, A. Calabrese, FP Thurberg and FJ Vernberg (Eds), *Pollution Physiology of estuarine organisms*, Univ. of SC Press, Columbia, SC: 251-273.

Scott GI, Fulton MH, Crosby MC, Key PB, Daugomah JW, Waldren JT, Strozier ED, Loudon CJ, Chandler GT. (1994) Agricultural insecticide runoff effects on estuarine organisms: correlating laboratory and field toxicity tests, ecophysiology bioassays and ecotoxicological biomonitoring. EPA60/R-94-004 US EPA, Gulf Breeze, FL: 288 p.

Scott GR, Sloman KA, Rouleau C, Wood CM. (2003) Cadmium disrupts behavioural and physiological responses to alarm substance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.* 206: 1779-1790.

Selderslaghs IWT, Hooyberghs J, De Coen W, and Witters HE. (2010) Locomotor activity in Zebrafish embryos: a new method to assess developmental neurotoxicity. *Neurotoxicol. Teratol.* 32: 460-471.

Singer MM, Smalheer DL, Tjeerdema RS. (1990) - A simple continuous-flow toxicity test system for microscopic life stages of aquatic organisms. *Water Research*– 24:899-903.

Singer MM, Smalbeer DL, Tjeerdema RS. (1991) Effects of spiked exposure to an oil dispersant on the early life stages of four marine species. *Environ Toxicol. Chem.* 10: 1367-1374.

Singer MM, Jacobson GS, Lee S, Tjeerdema RS. (1994a) Comparative toxicity of Corexit 7664 to the early life stages of four marine species. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 27: 130-136.

Singer MM, Jacobson GS, Lee S, Tjeerdema RS. (1994b) Comparative effects of oil dispersants to the early life stages of topsmelt (*Atherinops affinis*) and kelp (*Macrocystis pyrifera*). *Environ Toxicol Chem* 13:649-655.

Singh RP, Gupta N, Singh S, Singh A, Suman R, Annie K (2002) Toxicity of ionic and non-ionic surfactants to six microbes found in Agra, India. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 69:265-270.

Sherrard RM, Murray-Gulde CL, Rodgers JH Jr, and Shah YT. (2002) Comparative toxicity of Chlorothalonil and Chlorpyrifos: *Ceriodaphnia dubia* and *Pimephales promelas*. *Environ. Toxicol.* 17: 503-512.

Sloof W. (1978) Biological monitoring based on fish respiration for continuous water quality control. In: Hutzinger O., Van Lelyveld IH, and Zoeteman BCJ. Eds, *Aquatic Pollutants: Transformation and Biological Effects*, Pergamon Press, NY: 501-506.

Sloof W. (1979) Detection limits of a biological monitoring system based on fish respiration. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 23: 517-523.

Slooff W, Canton JH, and Hermens JLM. (1983) Comparison of the susceptibility of 22 freshwater species to 15 chemical compounds. I. (sub)acute toxicity test. *Aquat Toxicol* 4: 113-128.

Smegal, D. C. (2000) Human Health Risk Assessment Chlorpyrifos; U.S. Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs, Health Effects Division, U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 2000: pp 1-131.

Strong LC, Rosendahl C, Johnson G, Sadwosky MJ, and Wackett LP. (2002) *Arthrobacter aureescens* TC1 metabolizes diverse s-triazine ring compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 5973-5980.

Sornaraj R, Baskaran P, Thanalakshmi S. (1995) Effects of heavy metals on some physiological responses of air breathing fish, *Channa punctatus*. *Environ. Ecol.* 13: 202-207.

Stratus Consulting Inc (1999) Sensitivity of Bull Trout (*Salvelinus confluentus*) to cadmium and zinc in water characteristic of the Coeur D'Alene river Basin: acute toxicity report. Prepared for US EPA, Seattle, WA: 55 p.

Suedel BC, Rodgers Jr., JH., Deaver E. (1997) Experimental factors that may affect toxicity of cadmium to freshwater organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33:188-193.

Sullivan JF, Atchison GJ, Kolar DJ, McIntosh AW. (1978) Changes in the Predator-Prey Behavior of Fathead Minnows (*Pimephales promelas*) and Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*) caused by Cadmium. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35: 446-451.

Sumet HD, and Blust R. (2001) Stress responses and changes in protein metabolism in carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 48: 255-262.

Sunderam RIM, Cheng DMH, and Thompson GB. (1992) Toxicity of Endosulfan to native and introduced fish in Australia. *Environ. Toxicol. Chem.* 11: 1469-1476.

Suresh A, Sivaramakrishna B, Radhakrishnaiah K. (1993) Effect of lethal and sublethal concentrations of Cadmium on energetics in the gills of fry and fingerlings of *Cyprinus carpio*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 920-926

Svecevicus G. (2006) Acute toxicity of hexavalent chromium to European freshwater fish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 77: 741-747.

Svecevicus G. (2010) Acute toxicity of nickel to five species of freshwater fish. *Polish J. Environ Stud* 19: 453-456.

Szebedinsky C, McGeer J.C, McDonald DG, and Wood, CM. (2001). Effects of chronic Cd exposure via the diet or water on internal organ-specific distribution and subsequent gill Cd uptake kinetics in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ. Toxicol. Chem.* 20: 597-607.

Tancioni L. e M. Scardi (2005) I pesci come indicatori di qualità ambientale: indici biotici e altri approcci". Lezione del Corso teorico-pratico di formazione: "La fauna ittica dei corsi d'acqua". Parco del Ticino, Magenta, MI, 5-9 settembre 2005)

Taylor D, Maddock BG, Mance G. (1985) The acute toxicity of nine "grey list" metals (arsenic, boron, chromium, copper, lead, nickel, tin, vanadium, and zinc) to two marine fish species: dab (*Limanda limanda*) and grey mullet (*Chelon labrosus*). *Aquat. Toxicol.* 7: 135-144.

Taylor LN, McGeer JC, Wood CM, McDonald DG. (2000) Physiological effects of chronic copper exposure to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in hard and soft water: evaluation of chronic indicators. *Environ. Toxicol. Chem.* 19: 2298-2308.

Teather K, Jardine C, and Gormley K. (2005) Behavioral and sex ratio modification of Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) in response to environmentally relevant mixtures of three pesticides. *Environ Toxicol.* 20: 110-117.

Tejada AW, Bajet Cm, Magbauna MG, Gambalan NB, Araez LC and Magallona ED. (1994) Toxicity of pesticides to target and non-target fauna of the Lowland Rice ecosystem. In: B. Widianarko et al. (Eds), Environmental Toxicology in South East Asia, VU Univ. Press, Amsterdam, Netherlands, pp. 89-103.

Fernandes TCC, Pizano MA, and Marin-Morales MA. (2013) Characterization, modes of action and effects of trifluralin: a review. In: AJ. Price and JA Kelton Eds., Agricultural and Biological Sciences “Herbicides-Current Research and Case Studies in Use”. Published 2013 CC by 3.0 license.

Thomas DG, Solbe JF, Kay J and Cryer A. (1983) Environmental cadmium is not sequestered by metallothionein in rainbow trout. *Biochem. Biophys. Res. Communi.* 110: 584-592.

Thomas RE, and Rice SD. (1979) The effects of exposure temperatures on oxygen consumption and opercular breathing rates of Pink Salmon Fry exposed to toluene, naphthalene, and water soluble fractions of cook inlet crude oil and n° 2 fuel Oil. In: Vernberg W., Calabrese A. and Thurberg FP. Eds, *Mar. Pollut.: Functional responses, Proc. Symp. On Pollution and Physiology of marine organisms*, Academic Press, NY: 39-52.

Tilton F, La Du JK, Vue M, ALzarban N, and Tanguay RL. (2006) Dithiocarbamates have a common toxic effect on Zebrafish body axis formation. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 216: 55-68.

Toor HS, Mehta K, and Chhina S. (1973) Toxicity of insecticides (commercial formulations) to the exotic fish, Common carp *Cyprinus carpio communis* Linnaeus. *J. Res. Punjab Agric. Univ.* 10: 341-345.

Trim AH. (1987) Acute toxicity of emulsifiable concentrations of three insecticides commonly found in nonpoint source runoff into estuarine waters to the Mummichog, *Fundulus heteroclitus*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 38: 681-686.

Tscheu-Schluter M. (1976) On the acute toxicity of herbicides to selected aquatic organisms. Part 2. Triazine herbicides and Amitrole. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* 4: 153-170.

Tomlin CDS. (2006) *The Pesticide Manual, A World Compendium*, 14th ed.; British Crop Protection Council: Alton, Hampshire,UK, 2006; p 186-187.

Tsuji S, Tonogai Y, Ito Y, and Kanoh S. (1986) The influence of rearing temperatures on the toxicity of various environmental pollutants for killifish (*Oryzias latipes*). *Jpn. J. Toxicol Environ. Health* 32: 46-53.

USEPA,1978 In-depth study of health and environmental impacts of selected water pollutants. Contract n° 68-01-4646. USEPA Cincinnati, OH.

USEPA, 1980. Ambient water quality criteria for chloroform. EPA-440/5-80-033. USEPA, Washington, DC.

USEPA, 1985. Ambient Water Quality Criteria Doc: Cadmium. EPA 440/5-84-032p. 68.

USEPA, 2003. 2003 Draft update of ambient water quality criteria for Copper. US Environmental Protection Agency, Washington DC, 86 pp+appendices.

Usero J, Izquierdo C, Morillo J, Gracia I. (2003) Heavy metals in fish (*Solea vulgaris*, *Anguilla Anguilla* and *Liza aurata*) from salt marshes on the southern Atlantic coast of Spain. *Environ.International* 29: 949-956.

Van der Oost R, Beyer J, Vermeulen Nico PE. (2003) Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ.Toxicol. Pharm.* 13: 57-149.

Van Der Putte I, Lubbers J, Kolar Z. (1981) Effect of pH on uptake, tissue distribution and retention of hexavalent chromium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquatic Toxicology* 1: 3–18.

-
- Van der Putte I, Van Der Galien W, Strik JJTWA. (1982) Effects of hexavalent chromium in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) after prolonged exposure at two different pH levels. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 6: 246-257.
- Van Wijngaarden R, and Leeuwangh P, Lucassen WGH, Romijin K, Ronday R, and Van der Velde R. (1993) Acute toxicity of Chlorpyrifos to fish, a newt and aquatic invertebrates. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 51: 716-723.
- Varo I, Serrano R, Pitarch E, Amat F, Lopez FJ, and Navarro JC. (2000) Toxicity and bioconcentration of Chlorpyrifos in aquatic organisms: *Artemia parthenogenetica* (Crustacea), *Gambusia affinis* and *Aphanius iberus* (Pisces). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 65: 623-630.
- Velma V, Vutukuru SS, and Tchounwou PB. (2009) Ecotoxicology of hexavalent chromium in freshwater fish: a critical review. *Rev. Environ Health* 24: 129-145.
- Vencil WK. (2002) *Herbicide Handbook* 8th Ed. Weed Science Society of America, Lawrence KS. 2002.
- Vera-Candioti J, Soloneski S, and Larramendy ML. (2011) Acute toxicity of chromium on *Cnesterodon decemmaculatus* (Pisces: Poeciliidae). *Theoria* 20: 81-88.
- Verbruggen E.M.J, Traas T.P., Fleuren R.H.L.J., Ciarelli S., Posthumus R., Vos J.H., Scheepmaker J.W.A., van Vlaardingen P.L.A. (2005) Environmental risk limits for alcohols, glycols and some other relatively soluble and/or volatile compounds. Ecotoxicological evaluation. RIVM report 601501016/2005.
- Verma SR, Tonk IP, and Dalela RC. (1981) Determination of the Maximum Acceptable Toxicant Concentration (MATC) and the safe concentration for certain aquatic pollutants. *Acta Hydrochi. Hydrobiol.* 9: 247-254.
- Verslycke T, Vangheluwe M, Heijerick D, De Schamphelaere K, Van Sprang P, Janssen CR. (2003) The toxicity of metal mixtures to the estuarine mysid *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) under changing salinity. *Aquat Toxicol* 64: 307-315.
- Vikusova B, and Svobodova Z. (1990) Acute toxicity of standards to fish (Akuni toxicita standard pro Ryby). *Bull VURH Vodnany* 26: 15-20.
- Vincent S, Ambrose T, Cyril Arun Kumar L, Salvanayagan M. (1996) Heavy metal cadmium influenced anaemia in *Catla catla*. *J. Environ. Biol.* 17: 81-84.
- Vinodhini R, Narayanan M. (2008) Bioaccumulation of heavy metals in organs of fresh water fish *Cyprinus carpio* (Common carp). *Int. J. Environ. Sci. Tech.* 5: 179-182.
- Vutukuru SS. (2005) Acute effects of hexavalent chromium on survival, oxygen consumption, hematological parameters and some biochemical profiles of the Indian major carp, *Labeo rohita*. *Int J Environ Res Public Health* 2: 456-462.
- Xiao JX, Sivars U, Tjerneld F. (2000) Phase behavior and protein partitioning in aqueous two-phase systems of cationic-anionic surfactant mixtures. *J. Chromatogr. B* 743: 327-338.
- Yamada M, Takada H, Toyoda K, Yoshida A, Shibata A, Nomura H, Wada M, Nishimura M, Okamoto K, Ohmada K. 2003. Study on the fate of petroleum-derived polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and the effect of chemical dispersant using an enclosed ecosystem, mesocosm. *Mar Pollut Bull* 47:105–113.
- Yang D, Lauridsen H, Buels K, Chi LH, La Du J, Bruun DA, Olson JR, Tanguay RL, and Lein PJ. (2011) Chlorpyrifos-Oxon disrupts Zebrafish axonal growth and motor behavior. *Toxicol. Sci.* 121: 146-159.

-
- Yen J, Donerly S, Levin ED, and Linney EA. (2011) Differential acetylcholinesterase inhibition of Chlorpyrifos, Diazinon and Parathion in larval Zebrafish. *Neurotoxicol. Teratol.* 33: 735-741.
- Ying GG. (2006) Fate, behavior and effects of surfactants and their degradation products in the environment. *Environmental International* 32: 417-431.
- Walbridge CT, Fiandt JT, Phipps GL, and Holcombe GW. (1983) Acute toxicity of ten chlorinated aliphatic hydrocarbons to the Fathead Minnow (*Pimephales promelas*). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 12: 661-666.
- Wallen IE, Greer WC, and Lasater R. (1957) Toxicity to *Gambusia affinis* of certain pure chemicals in turbid waters. *Sewage Ind. Wastes* 29: 695-711.
- Wan MT, Buday C, Schroeder G, Kuo J, and Pasternak J. (2006) Toxicity to *Daphnia magna*, *Hyalella azteca*, *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus mykiss*, *Oncorhynchus tshawytscha* and *Rana catesbeiana* of Atrazine, Metolachlor, Simazine and their formulated products. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 76: 52-58.
- Wang C, Lu G, Cui J, and Wang P. (2009) Sublethal effects of pesticide mixtures on selected biomarkers of *Carassius auratus*. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 28: 414-419.
- Wang C, Lu G, and Cui J. (2012) Responses of AchE and GST activities to insecticide coexposure in *Carassius auratus*. *Environ. Toxicol.* 27: 50-57.
- Wang C, Zhang Z, Yao H, Zhao F, Wang L, Wang X, Xing H, and Xu S. (2014) Effects of Atrazine and Chlorpyrifos on DNA methylation in the liver, kidney and gill of the Common carp (*Cyprinus carpio*) *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 108: 142-151.
- Ward TJ, Boeri RL, Wellman RL and Andrews LS. (1992) Comparative acute toxicity of diethylene glycol, ethylene glycol and propylene glycol to freshwater and marine fish, invertebrates and algae. *Archimica company, Newton square, PA. Dati non pubblicati.*
- Watkins CE, Thayer DD, and Haller WT. (1985) Toxicity of adjuvants to Bluegill. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 34: 138-142.
- Watson FL, Schmidt H, Turman ZK, Hole N, Garcia H, Gregg J, Tilghman J, and Fradinger EA. (2014) Organophosphate pesticides induce morphological abnormalities and decrease locomotor activity and heart rate in *Danio rerio* and *Xenopus laevis*. *Environ. Toxicol. Chem.* 33: 1337-1345.
- Weber J, Halsall CJ, Muir D, et al. 2010. Endosulfan, a global pesticide: A review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic. *Sci Total Environ* 408:2966-2984.
- Weigt,S., N. Huebler, R. Strecker, T. Braunbeck, and T.H. Broschard (2011) Zebrafish (*Danio rerio*) embryos as a model for testing proteratogens. *Toxicology* 281: 25-36.
- Weis JS, Weis P. (1995) Swimming performance and predator avoidance by mummichog (*Fundulus heteroclitus*) larvae after embryonic or larval exposure to methylmercury. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 52: 2168-2173.
- Wetzel DL, and Van Fleet ES. (2001) Cooperative studies on the toxicity of dispersants and dispersed oil to marine organisms: a 3-year Florida study. *International Oil Spill Conference Proceedings: March 2001, Vol. 2001, No. 2, pp. 1237-1241. Doi: <http://dx.doi.org/10.7901/2169-3358-2001-2-1237>.*
- Wheelock CE, Eder KJ, Werner I, Huang H, Jones PD, Brammel BF, Elskus AA, and Hammock BD. (2005) Individual variability in esterase activity and CYP1A levels in Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) exposed to Esfenvalerate and Chlorpyrifos. *Aquat Toxicol* 74: 172-192.

Whiting VK, Cripe GM, Lepo JE.(1996) Effects of the anionic surfactant, sodium dodecyl sulfate, on newly-hatched blue crabs, *Callinectes sapidus*, and other routinely tested estuarine crustaceans. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 31: 293-295.

WHO, 1991. Environmental Health Criteria No 108, Chromium. IPCS, World Health Organisation, Geneva.

WHO, 1992. World Health Organization: Public health impact of pesticides in agriculture. Geneva.

Wise J, Wise JP Sr (2011) A review of the toxicity of chemical dispersants. Rev Environ. Health. 26: 281-300.

Wolfe MF, Schwartz GJ, Singaram S, Mielbrecht EE, Tjeerdema RS, Sowby ML. (2001) Influence of dispersants on the bioavailability and trophic transfer of petroleum hydrocarbons to larval topsmelt (*Atherinops affinis*). Aquat. Toxicol 52: 49-60.

Wu KB. (2002) The biotic ligand model: a historical overview. Comp Biochem Physiol C 133: 3-35.

DENOMINAZIONE COMUNE, ITALIANA E INGLESE, DELLE SPECIE ITTICHE

Specie ittica	Denominazione comune italiana	Denominazione comune inglese
Acque dolci		
<i>Aphanius iberus</i> ¹	Nono moresco	Spanish toothcarp
<i>Alburnus alburnus</i>	Alburno o Alborella	Bleak
<i>Ameiurus melas</i>	Pesce gatto nero o nostrano	Black bullhead
<i>Atherinosoma microstoma</i> Withley	-	Small-mouth hardyhead
<i>Brachydanio rerio</i>	Danio zebrato o pesce zebra	Zebra fish
<i>Carassius auratus</i>	Carassio rosso o ciprino dorato	Gold fish
<i>Catla catla</i> o <i>Gibelion catla</i>	Carpa asiatica	Major (Indian) carp
<i>Channa punctatus</i>	Testa di serpente	Spotted snakehead
<i>Clarias gariepinus</i>	Pesce gatto africano	African sharp-tooth catfish
<i>Clarias batrachus</i>	-	Walking catfish
<i>Cnesterodon decemmaculatus</i>	-	-
<i>Cyprinus carpio</i>	Carpa o carpa comune	Common carp
<i>Gambusia affinis</i>	Gambusia	Western mosquitofish
<i>Ictalurus punctatus</i>	Pesce gatto maculato	Channel catfish
<i>Jordanella floridae</i> ¹	Pesce bandiera americana	Flagfish
<i>Labeo rohita</i> o <i>Cyprinus r.</i>	-	Rohu o Roho labeo
<i>Lepomis macrochirus</i>	Pesce persico o persico sole	Blue gill sunfish
<i>Lepomis cyanellus</i>	Persico smeraldo	Green sunfish
<i>Leuciscus leuciscus</i>	Leucisco	Common dace
<i>Leuciscus idus melanotus</i>	Ido	Ide
<i>Micropterus salmoides</i>	Persico trota o boccalone	Largemouth bass
<i>Melanotaenia fluviatilis</i>	-	Crimson-spotted rainbowfish
<i>Oncorhynchus mykiss</i> o <i>Salmo gairdnerii</i>	Trota iridea o trota arcobaleno	Rainbow trout
<i>Oncorhynchus clarkii</i>	Trota fario di Yellowstone	Cutthroat trout
<i>Oreochromis mossambicus</i>	Tilapia del Mozambico	Mozambique tilapia
<i>Oryzias latipes</i> ¹	Pesce del riso o medaka	Japanese medaka (rice fish)
<i>Perca flavescens</i>	Perca gialla (americana)	Yellow perch
<i>Perca fluviatilis</i>	Persico reale	European perch
<i>Pimephales promelas</i>	-	Fathead minnow
<i>Poecilia reticulata</i> o <i>Lebistes reticulatus</i>	Guppy	Guppy
<i>Poecilia vivipara</i> ¹	-	-
<i>Ptycholocheilus lucius</i>	-	Colorado pikeminnow
<i>Rivulus marmoratus</i> o <i>Kriptolebias m.</i> ¹	Killifish delle mangrovie	Mangrove Killifish
<i>Rutilus rutilus</i>	Rutilo o gardon	Roach
<i>Saccobranchus fossilis</i> o <i>Heteropneustes f.</i>	Siluro asiatico	Stinging catfish o Fossil cat
<i>Salvelinus fontinalis</i>	Salmerino di fontana	Brook trout
Acque marino-salmastre		
<i>Aldrichetta forsteri</i>	-	Yellow-eye mullet
<i>Atherinopsis affinis</i>	-	Topsmelt silverside
<i>Chelon labrosus</i>	Cefalo bosega	Tricklip grey mullet
<i>Clupea harengus</i>	Aringa	Herring
<i>Cymatogaster aggregata</i>	-	Shiner perch
<i>Cyprinodon variegatus</i>	-	Sheepshead monnow o pupfish
<i>Dicentrarchus labrax</i>	Spigola o branzino	Sea bass
<i>Fundulus grandis</i>	-	Gulf killifish

continua **tabella allegato 1**

Specie ittica	Denominazione comune italiana	Denominazione comune inglese
<i>Fundulus heteroclitus</i>	Mummichog	Mummichog
<i>Fundulus similis</i>	-	Longnose Killifish
<i>Gadus morhua</i>	Merluzzo nordico o merluzzo bianco	Cod
<i>Gasterosteus aculeatus</i> ²	Spinarello	Three-spined stickleback
<i>Leiostomus xanthurus</i>	Corvina striata	Spot croacker
<i>Leptocottus armatus</i>	-	Staghorn sculpin
<i>Limanda limanda</i>	Limanda	Common dab o Flat fish
<i>Menidia beryllina</i>	-	Inland silverside
<i>Menidia menidia</i>	-	Atlantic silverside
<i>Menidia peninsulae</i>	Latterino menidia	Tidewater silverside
<i>Morone saxatilis</i> ²	Persico spigola striata	Striped bass
<i>Mugil cephalus</i>	Cefalo o muggine	Flathead grey mullet
<i>Mugil curema</i>	Cefalo bianco	White mullet
<i>Oncorhynchus kisutch</i> ²	Salmone argentato	Coho salmon
<i>Oncorhynchus tshawytscha</i> ²	Salmone reale	Chinook salmon
<i>Parophrys vetulus</i>	Sogliola limanda del Pacifico	English sole
<i>Sciaenops ocellatus</i>	Ombrina ocellata	Red drum
<i>Sparus aurata</i>	Orata	Gilthead seabream

Note

¹ Anche acque salmastre

² Specie anadroma

