
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIANNI A. AMIRANTEE, MARIO COTTA RAMUSINO

**Effetto di acque inquinate sul quadro ematico di
Triturus cristatus Laur. e *Rana esculenta* L.**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 59 (1975), n.5, p. 546–558.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_59_5_546_0>

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Zoologia. — *Effetto di acque inquinate sul quadro ematico di Triturus cristatus Laur. e Rana esculenta L.* (*). Nota di GIANNI A. AMIRANTE e MARIO COTTA RAMUSINO, presentata (**) dal Socio S. RANZI.

SUMMARY. — In order to study the possible correlation between malignant neoplasm incidence caused by polluted water and the fall of the immunological barrier, the variations in the haematic, serological and immunological pattern were studied in *Triturus cristatus* Laur. and *Rana esculenta* L. sperimentally maintained in water of the Torrente Seveso at a different rate of pollution. Remarkable variations have been observed both in newt and frog in the number of erythrocytes, leukocytes and thrombocytes and, although at a lower rate, at the level of serum proteins.

Of interest is the fact that in the two species considered the effect of water pollution was often different. In fact, while a increase of the number of red blood cells was observed in the newt, a decrease was observed in the frog. In the mean time the leukocyte size of the frog does not change while that of the newt decreases.

Già da anni presso l'Istituto di Zoologia di Milano sono in corso varie ricerche (Ranzi S. *et coll.*, 1946; Leone V., 1953; Marchetti R., 1963 a e b, 1964, 1966; Marchetti R. *et coll.*, 1967, 1968; Parisi V. *et coll.*, 1971; Tibaldi E., 1971; Calamari D. e Marchetti R., 1973; Cotta Ramusino M. e Rossaro B., 1974 e 1975) sull'inquinamento d'acqua dolce e sulle conseguenze che questo può arrecare agli animali direttamente legati all'ambiente dulcacquicolo.

Da recenti dati di Zavanella e di Vailati si è potuto riscontrare che acque fortemente inquinate hanno un influsso dannoso su animali strettamente legati all'ambiente acquatico come pesci e anfibi sia allo stadio adulto che larvale.

Imberti *et coll.* (1974) e Vailati (1975) hanno riscontrato che acque con alto tasso di inquinamento soprattutto da metalli pesanti, in cui sono stati allevati sperimentalmente avannotti di trote o girini di *Xenopus*, hanno dato numerosissimi casi di malformazioni in entrambe le specie, a livello di svariati organi.

Zavanella *et coll.* (1974) hanno potuto dimostrare d'altra parte che in Anfibi Urodela adulti provenienti da zone in cui scorrono acque ad alto indice di inquinamento, l'incidenza di un tumore maligno (melanoma) è notevolmente più alta rispetto a quella riscontrata in animali provenienti da zone in cui sin'ora l'inquinamento idrico è notevolmente più contenuto.

Scopo di questo lavoro è stato quello di indagare se le acque inquinate influiscono su variazioni nelle barriere immunologiche, nel quadro ematico e sierologico in Anfibi sia Urodela (*Triturus cristatus* Laur.) che Anuri (*Rana*

(*) Ricerche eseguite nell'Istituto di Zoologia dell'Università statale di Milano.

(**) Nella seduta del 15 novembre 1975.

esculenta L.) e quindi se in qualche modo si possa correlare l'incidenza di tumori con una caduta delle difese immunitarie dovuta all'effetto di alcuni agenti inquinanti.

A tale scopo abbiamo allevato sperimentalmente lotti di tritoni e di rane in acque prelevate in varie stazioni del torrente Seveso a grado di inquinamento crescente.

Questo torrente, senz'altro uno fra i più inquinati d'Italia, nasce in Comune S. Fermo della Battaglia (provincia di Como), e, dopo un percorso di circa 45 Km, si getta nel Naviglio Martesana in Milano (Piazza Carbonari).

Questo corso d'acqua prende origine a 425 m s.l.m. e il suo bacino imbrifero, che ha una superficie di 239 Km², è popolato da circa 400.000 abitanti residenti (1972). Durante il suo corso, il Seveso attraversa le isoiete da oltre 1.650 a 1.000 mm di precipitazioni annue, la temperatura media annua dell'aria è di 12 °C circa (1-2 °C di media in gennaio e 22 °C in luglio); a valle di S. Fermo la portata media è di 0,02 m³/sec mentre a Milano arriva a 2 m³/sec (Raffa, 1965).

S. Fermo della Battaglia: il punto di prelievo è situato a circa 1 Km dalle sorgenti, le acque sono ancora pulite e permettono l'insediamento di una ricca fauna macrobentonica.

Lucino: a 3-4 Km dalle sorgenti; l'acqua è ancora relativamente pulita sebbene riceva lo scarico delle fognature di S. Fermo (3.000 ab.) e di qualche industria tessile (21) e meccanica (21). Si osserva però una diminuzione, della vita acquatica, soprattutto qualitativamente.

Fino Mornasco: (25.000 ab.) acque inquinate, di colore marrone, scarse le specie bentoniche. Scarichi della fognatura e di numerose industrie tessili (68), meccaniche (111) e chimiche (12), poligrafiche (25).

Niguarda: (400.000 ab.) acque estremamente inquinate. In questa stazione sono convogliati scarichi di industrie chimiche (23), meccaniche (506), poligrafiche (43), metallurgiche (13), tessili (166), alimentari (62) e altre per un totale superiore ad alcune centinaia (1).

Per quanto riguarda i tritoni, sono stati usati 80 animali divisi in gruppi di 10 per ogni stazione e di 10 per controllo, questi ultimi mantenuti in acqua di rete.

I tritoni sono stati trattati in due periodi diversi rispettivamente dal 6 giugno 1974 al 19 luglio 1974 e dal 24 settembre 1974 al 27 febbraio 1975; in ambedue i casi i campioni di acqua sono stati prelevati a S. Fermo, Fino Mornasco e Niguarda.

Per quanto riguarda le rane invece è stato trattato un solo lotto di 50 animali divisi in 5 gruppi di 10 animali ciascuno dal 24 settembre al 21 novembre 1974, prelevando anche l'acqua dalla stazione di Lucino.

Per ogni stazione era allestita una vasca in politene di cm 40×30×15 ricoperta di rete metallica, in cui venivano tenuti 10 animali della stessa specie in un'adatta quantità d'acqua del Seveso (5-6 cm circa di altezza). La temperatura delle vasche era mantenuta a 15 °C (± 1 °C).

Durante tutta la durata delle prove i tritoni vennero regolarmente nutriti con fegato tritato e le rane con drosofile. Ogni 24 ore si provvedeva a ricambiare l'acqua ai trattamenti e ai controlli.

(1) Le cifre degli abitanti e delle industrie indicano il numero di persone o di complessi che gravitano a monte della stazione in oggetto.

La raccolta dei campioni del Seveso è stata effettuata rispettando quando possibile una cadenza settimanale in quanto si è potuto controllare che questi, mantenuti in camera fredda ed al buio, non presentavano variazioni significative a carico dei parametri presi in considerazione per un tempo anche superiore ai 7 giorni.

Per le analisi dell'acqua si è proceduto secondo i seguenti metodi:

— temperatura dell'acqua: per mezzo di termometro a mercurio (scala — 10, + 50 °C) con precisione di 1/10 di °C.

— pH: con pH-metro portatile Polymetron TYP 55 B.

— conducibilità: mediante salinometro conduttimetrico «Halosis» tipo SAu della S.I.S.

— Ossigeno disciolto: con il metodo di Winkler, modificato secondo Alsterberg (Marchetti, 1966).

— C.O.D.: seguendo le metodiche proposte in Standard Methods (1971).

Prelievo del sangue: Gli animali sia di controllo che trattati venivano anestetizzati in soluzione di etil-uretano al 5%. Ai tritoni prima dell'anestesia, veniva praticata una iniezione sottocutanea di 0,2 ml di eparina all'1% per evitare la rapida coagulazione del sangue. Il sangue veniva prelevato direttamente dal cuore mediante micropipetta pasteur.

Formula leucocitaria: Gli strisci di sangue venivano allestiti su vetrino portaoggetto e colorati secondo May Grünwald-Giemsa.

Su tali strisci veniva calcolata la formula leucocitaria, la percentuale di trombociti e i diametri degli elementi bianchi.

Conta globuli: Per la conta dei globuli rossi il sangue veniva prelevato con una normale pipetta contaglobuli e diluito 1 : 100 con soluzione di alsever. I globuli rossi venivano quindi contati da tale sospensione in camera di Bürcker.

Anche per la conta dei globuli bianchi il sangue veniva prelevato con pipetta contaglobuli e diluito 1 : 100 in soluzione di alsever più cristal violetto all'1%.

Le cellule della serie bianca, riconoscibili in tal modo assai facilmente venivano contate in camera di Bürcker. Il numero di leucociti per mm³ si otteneva estrapolando dal valore ottenuto la percentuale di trombociti calcolata sullo striscio.

Elettroforesi: Una parte del sangue veniva fatta coagulare e il siero ottenuto veniva fatto migrare per elettroforesi su acetato di cellulosa in tampone Veronal-Veronal pH 8,6 f.i. 0,03 per 45' a 250 Volts. Le concentrazioni delle bande proteiche così ottenute e colorate con Blu coomassie venivano calcolate su fotodensimetro. Per poter ottenere dei valori perfettamente sovrapponibili, ogni ferogramma veniva diviso in 3 aree eguali e quindi venivano calcolate le percentuali delle concentrazioni proteiche corrispondenti alle 3 aree denominate x , y , z corrispondenti rispettivamente alle aree delle proteine a mobilità maggiore, intermedia e minore (grossomodo le proteine dell'area x corrispondono alle albumine e alle α_1 -globuline, quelle dell'area y alle α_2 - e β -globuline, quelle della z alle γ -globuline).

La temperatura è espressa in Tabella I come valori minimi e massimi; O₂ disciolto e C.O.D. (per un controllo della polluzione organica), conducibilità (per verificare l'andamento dei sali inorganici disciolti) e pH sono indicati come media e errore standard (2).

(2) Questo in quanto l'insieme delle variabili chimico-fisiche giocano un ruolo, nei riguardi della biologia del Seveso, assai più importante di quanto possa essere quello legato alle oscillazioni stagionali.

Dai dati riportati in Tabella I e dalle figg. 1, 2, 3, 4 in cui sono rappresentati gli andamenti della temperatura, dell'ossigeno (% di saturazione) e del C.O.D. appare chiaramente un progressivo e massiccio peggioramento del Seveso man mano che si procede verso Niguarda, dove ormai le acque sono ridotte ad un liquido grigiastro e maleodorante che non permette nemmeno l'insediamento alla vegetazione di riva.

TABELLA I.

Temperature massime e minime dell'acqua; valori medi ed errore standard degli altri parametri registrati.

Misuraz. \ Staz.	S. Fermo	Lucino	Fino M.	Niguarda
Temp. H ₂ O	4,20—17,20	7,50—14,80	3,70—18,80	10,00—21,40
pH	8,03±0,09	8,32± 0,19	7,97±0,14	7,49±0,095
conduc. (μS a 20 °C) .	336±13,85	319,12±14,44	639,75±47,63	937,08±50,35
O ₂ mg/l	8,72± 0,46	8,62± 0,25	5,00± 0,65	2,60± 0,49
O ₂ % sat.	76,24± 2,96	75,97± 2,09	43,87± 5,83	25,42± 3,85
C.O.D. (mg/l O ₂) . . .	16,43± 2,02	19,75± 3,51	194,09±24,06	210,00±11,21

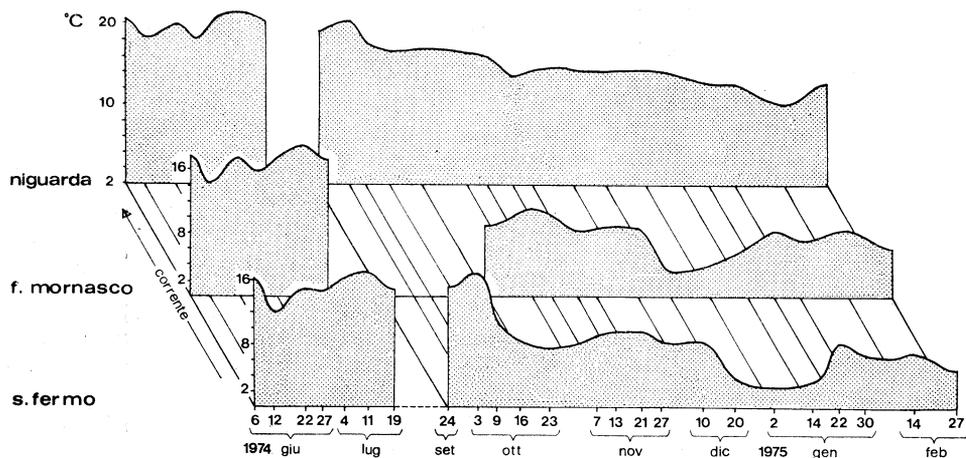


Fig. 1. - Andamento della temperatura dell'acqua durante il periodo del lavoro. Si può rilevare come a Niguarda sia meno marcata, nei mesi invernali, l'influenza delle variazioni della temperatura dell'aria. I dati della stazione di Lucino sono espressi in fig. 4.

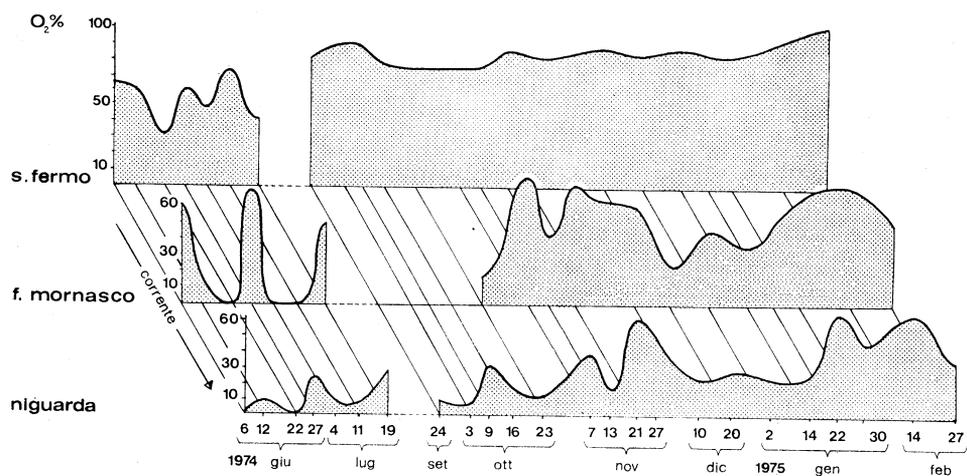


Fig. 2. - Andamento della saturazione dell'ossigeno disciolto nel torrente Seveso durante il periodo della ricerca. Si noti, a parte una certa variabilità delle misure, una netta riduzione della saturazione man mano che si procede verso Milano. Per la stazione di Lucino, si veda fig. 4.

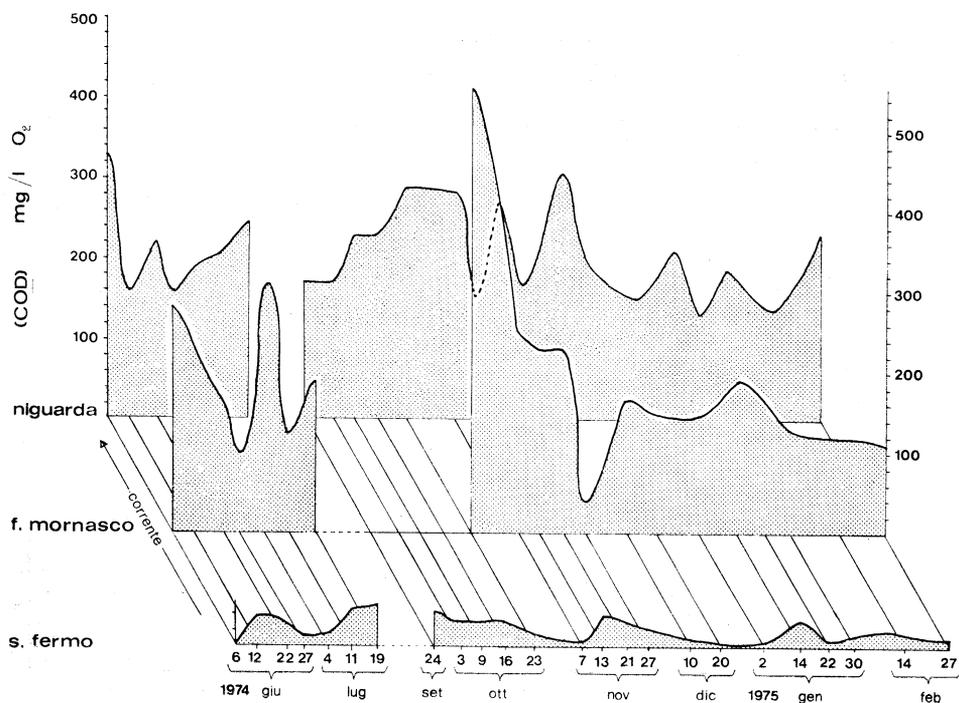


Fig. 3. - Andamento del C.O.D. del torrente per tutto il tempo dell'indagine. È chiaro l'aumento rilevante che si osserva andando verso Milano. Per la stazione di Lucino si veda la fig. 4.

È inoltre da notare come l'aumento medio di circa 5 °C della temperatura dell'acqua sia legato non tanto al riscaldamento dell'aria, quanto ad un notevole inquinamento termico (questo è apparso da misure condotte contemporaneamente alla prima e all'ultima stazione durante la giornata a intervalli regolari di 2 ore).

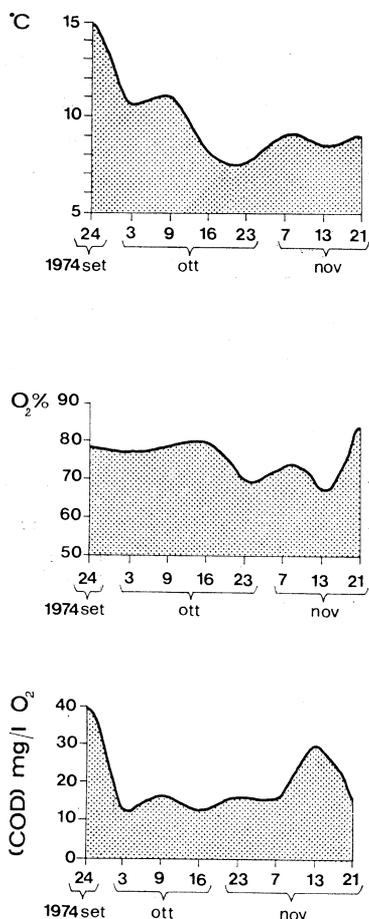


Fig. 4. - Andamento della temperatura dell'acqua, della saturazione dell'ossigeno disciolto e del C.O.D., durante l'epoca dei prelievi, alla stazione di Lucino.

I risultati riguardanti gli effetti dell'acqua a vario grado di inquinamento sui globuli e sul siero dei tritoni sono riportati nelle Tabelle II, III, IV, V e nelle figg. 5, 6, 7. Si può notare che nei tritoni trattati si ha, rispetto ai controlli, un notevolissimo aumento dei globuli rossi (che nelle stazioni di S. Fermo e di Niguarda raggiunge l'alta significatività) e dei trombociti.

Anche i globuli bianchi aumentano, ma molto meno marcatamente, soprattutto nelle ultime due stazioni. È interessante notare, al contrario, che vengono notevolmente alterati i rapporti percentuali tra i vari elementi: infatti mentre i neutrofili diminuiscono, raggiungendo un minimo del 18% a S. Fermo, i

linfociti aumentano rispetto ai controlli sino a un massimo del 59% a Fino Mornasco. Anche i monociti aumentano, mentre gli eosinofili e i basofili sono molto variabili.

TABELLA II.

Media dei valori dei globuli rossi, bianchi e trombociti per mm³ nei tritoni di controllo e trattati.

Cellule/mm ³	Controllo	S. Fermo B.	Fino M.	Niguarda
Globuli rossi	140.000	216.000 (*)	180.000	230.000 (*)
Globuli bianchi	5.700	7.200	6.400	5.100
Trombociti	1.600	5.100 (*)	3.400	3.600

(*) $P < 0.01$.

TABELLA III.

Media delle percentuali dei leucociti nei tritoni di controllo e trattati ($\pm \sigma$).

	Controllo	S. Fermo B.	Fino M.	Niguarda
Linfociti	48 \pm 12	52 \pm 12	59 \pm 6	56 \pm 13
Neutrofilii	38 \pm 11	18 \pm 10	29 \pm 8	23 \pm 7
Monociti	3 \pm 2	9 \pm 5	6 \pm 3	12 \pm 9
Eosinofili	9 \pm 15	17 \pm 7	6 \pm 4	7 \pm 6
Basofili	1 \pm 0,2	2 \pm 1	1 \pm 0,5	1 \pm 0,1

TABELLA IV.

Media dei diametri espressi in micron dei leucociti dei tritoni di controllo e trattati ($\pm \sigma$).

	Controllo	S. Fermo B.	Fino M.	Niguarda
Linfociti	15,4 \pm 2,1	12,3 \pm 1,1	12,7 \pm 1,1	12,2 \pm 1,2
Neutrofilii	23,0 \pm 2,5	18,7 \pm 2,0	18,8 \pm 3,5	20,5 \pm 1,7
Monociti	24,1 \pm 3,6	17,2 \pm 2,1	19,3 \pm 3,3	17,5 \pm 2,1
Eosinofili	24,1 \pm 3,2	17,2 \pm 2,5	19,4 \pm 3,7	19,5 \pm 2,7
Basofili	25,4 \pm 3,2	16,8 \pm 1,9	14,8 \pm 2,7	17,1 \pm 2,3

TABELLA V.

Media delle concentrazioni parziali delle proteine del siero di tritoni di controllo e trattati ($\pm\sigma$).

	Controllo	S. Fermo B.	Fino M.	Niguarda
Frazione x	24,9 \pm 3,1	24,5 \pm 2,4	21,2 \pm 2,0	22,8 \pm 1,7
Frazione y	51,9 \pm 2,2	44,3 \pm 3,2	51,4 \pm 5,1	47,9 \pm 3,9
Frazione z	24,1 \pm 4,3	31,2 \pm 4,2	26,8 \pm 6,9	27,1 \pm 2,3

Fig. 5. - Andamento dei globuli rossi, bianchi e dei trombociti per mm³ nei tritoni di controllo e trattati.

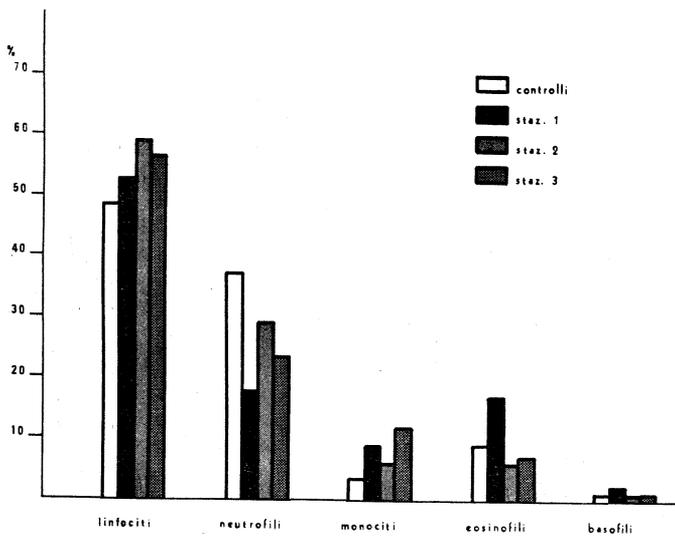
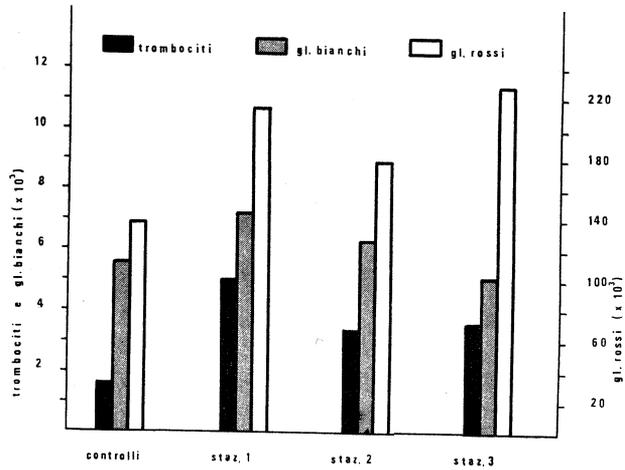


Fig. 6. - Percentuali relative dei diversi elementi della serie bianca nei tritoni trattati e di controllo.

Comunque questi ultimi elementi, non sono presi in considerazione dato l'esiguo numero di elementi riscontrabili.

Se si considerano le dimensioni degli elementi della serie bianca, si può riscontrare che negli animali trattati i diametri di tutti gli elementi diminuiscono sensibilmente. Ad esempio si può notare che i linfociti da un valore medio di 15μ nei controlli vanno a 12μ , mentre per i neutrofili da 23μ nei controlli si arriva a un minimo di $18,7\mu$ a S. Fermo ⁽³⁾.

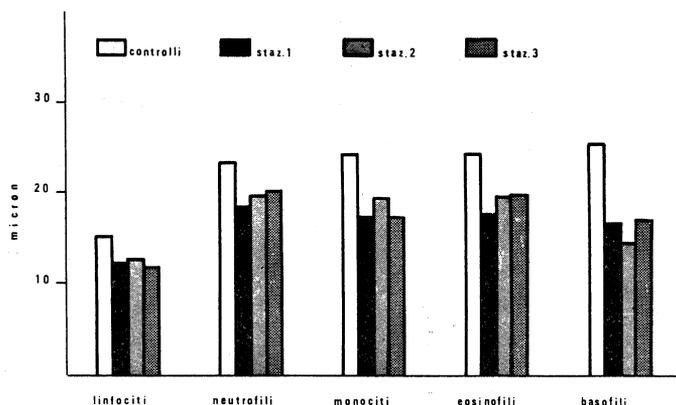


Fig. 7. - Diametri espressi in micron dei vari elementi della serie bianca nei tritoni di controllo e trattati.

Non molto significative infine sono le variazioni delle concentrazioni relative delle frazioni proteiche del siero.

Va rilevato che la porzione contenente le albumine è risultata più costante, mentre si possono notare lievi variazioni fra la frazione γ e z e cioè tra α - β - globuline e le γ -globuline, variazioni che comunque non sono mai significative.

I dati che si riferiscono alla *Rana esculenta* vengono riportati nelle Tabelle VI, VII, VIII, IX e nelle figg. 8, 9. Dai risultati ottenuti si può riscontrare che tali animali mantenuti in acque inquinate presentano un quadro ematico e sierologico notevolmente mutato. In questi animali a differenza che nei tritoni si riscontra un calo, anche se non elevato, nel tasso dei globuli rossi. Nella serie bianca si riscontra altresì un notevole incremento che raggiunge valori eguali al doppio dei controlli nelle ultime tre stazioni. A differenza dei tritoni i rapporti percentuali dei linfociti e dei neutrofili rimangono invariati sia nei controlli che nei trattati, e pure invariate rimangono le dimensioni di tutti gli elementi.

(3) Va ricordato che i diametri dei globuli rossi non variano, rimanendo costantemente su valori di 29μ per il diametro maggiore e di 20μ per il diametro minore.

TABELLA VI.

Media dei valori dei globuli rossi, bianchi e dei trombociti per mm³ nelle rane trattate e di controllo.

Cellule/mm ³	Controllo	S. Fermo B.	Lucino	Fino M.	Niguarda
Globuli rossi	488.000 (*)	335.000	270.000	365.000	305.000
Globuli bianchi	10.200	9.400	4.500 (**)	5.300 (**)	4.900 (**)
Trombociti	4.800	5.700	7.000 (**)	5.700	7.100 (**)

(*) La differenza tra il valore di controllo e la media di tutte le stazioni è significativa ($P < 0,05$).

(**) $P < 0,01$.

TABELLA VII.

Formula leucocitaria e percentuale dei trombociti su tutti gli elementi bianchi nelle rane trattate e di controllo ($\pm \sigma$).

	Linfociti	Neutrofilii	Monociti	Eosinofili	Basofili	Trombociti
Controllo	71 \pm 9	12,0 \pm 7	12,0 \pm 5	17,9 \pm 14	3,8 \pm 2,0	32,6 \pm 5
S. Fermo B.	84 \pm 9	6,0 \pm 3	7,0 \pm 4	3,0 \pm 8	4,0 \pm 1,0	38,5 \pm 5
Lucino	77 \pm 5	10,1 \pm 4	10,0 \pm 5	3,1 \pm 3	1,0 \pm 0,1	61,0 \pm 11
Fino M.	76 \pm 14	10,2 \pm 3	12,1 \pm 11	3,0 \pm 2	1,0 \pm 0,2	52,0 \pm 8
Niguarda	75 \pm 10	8,0 \pm 6	13,0 \pm 6	4,1 \pm 3	3,0 \pm 3	62,3 \pm 8

TABELLA VIII.

Media dei diametri espressi in micron dei leucociti di rane di controllo e trattate ($\pm \sigma$).

	Controllo	S. Fermo B.	Lucino	Fino M.	Niguarda
Linfociti	10,4 \pm 0,8	9,1 \pm 0,3	8,9 \pm 0,6	9,4 \pm 1,1	8,9 \pm 1
Neutrofilii	14,0 \pm 1,4	12,3 \pm 0,8	14,3 \pm 0,6	2,7 \pm 0,8	13,4 \pm 1,7
Monociti	13,2 \pm 2,4	13,9 \pm 0,8	12,5 \pm 0,4	13,2 \pm 1,8	14,3 \pm 2,0
Eosinofili	13,0 \pm 0,2	12,8 \pm 2,4	14,5 \pm 1,6	13,2 \pm 2,4	12,3 \pm 3,5
Basofili	13,6 \pm 1,7	10,4 \pm 1,0	12,6 \pm 1,2	12,6 \pm 1,3	12,9 \pm 2,3

TABELLA IX.

Media delle concentrazioni parziali delle proteine nel siero di rane di controllo e trattate ($\pm \sigma$).

	Controllo	S. Fermo B.	Lucino	Fino M.	Niguarda
Frazione x	28,1 \pm 3,0	30,0 \pm 2,2	21,8 \pm 2,4	31,8 \pm 8,7	27,6 \pm 8,9
Frazione y	54,2 \pm 2,3	53,5 \pm 0,1	51,3 \pm 2,6	26,0 \pm 10,0	53,1 \pm 7,8
Frazione z	15,2 \pm 2,3	16,0 \pm 2,2	36,7 \pm 1,0	42,0 \pm 10,5	19,2 \pm 6,9

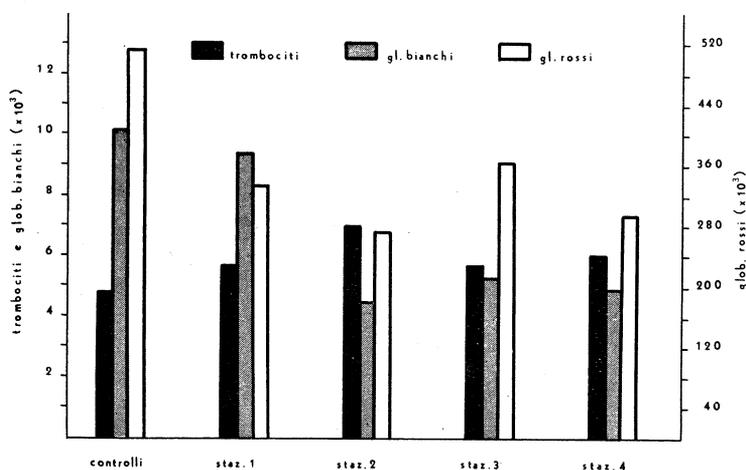


Fig. 8. - Andamento dei globuli rossi, bianchi e dei trombociti per mm³ nelle rane di controllo e trattate.

Sempre per quanto riguarda la formula leucocitaria il dato più interessante rimane quello degli eosinofili che diminuiscono notevolmente nei trattati (dal 18 % circa dei controlli al 3 % dei trattati); in questo caso, come per i tritoni, si deve considerare il dato emerso con le opportune cautele, poiché gli elementi contati rappresentano un esiguo numero. I trombociti al contrario aumentano enormemente in seguito all'effetto degli agenti inquinanti; essi considerati in percentuale su tutti gli elementi bianchi, raddoppiano nelle ultime tre stazioni, convalidando il dato rilevato nel tritone. Per quel che concerne la concentrazione delle varie proteine del siero si può notare che esse variano in misura maggiore di quanto avvenga nel tritone; ma queste variazioni che in alcuni casi sono anche riguardevoli, non dipendono dall'aumento progressivo dell'inquinamento riscontrato nelle diverse stazioni.

Si ringrazia il sig. Giorgio Traldi per il contributo che ha dato durante lo svolgimento del presente lavoro.

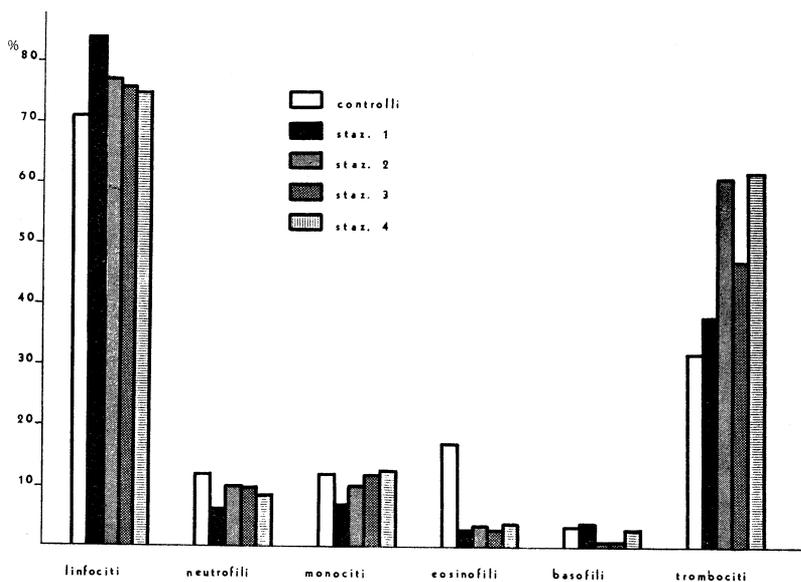


Fig. 9. - Percentuali relative dei diversi elementi della serie bianca e dei trombociti nelle rane trattate e di controllo.

LAVORI CITATI

- A.P.H.A. (American Public Health Association) (1971) - *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, Am. Publ. Health Ass. Inc. New York.
- CALAMARI D. e MARCHETTI R. (1973) - *The toxicity of mixtures of metals and surfactants to rainbow trout* (*Salmo gairdnerii* Rich.), «Water research», Pergamon Press, 1453-1464.
- COTTA RAMUSINO M. e ROSSARO B. (1974) - *Il Po a Isola Serafini*, «Ist. Lomb. (Rend. Sc.)», B, 108, 89-128.
- COTTA RAMUSINO M. e ROSSARO B. (1975) - *Detersivi di sintesi e detersivi a base di sapone: la loro tossicità confrontata mediante test ittico con *Carassius auratus* L.*, «Riv. Ital. Sost. Grasse», 7-10.
- IMBERTI R. e VAILATI G. (1974) - *Effetto di alcune sostanze inquinanti sullo sviluppo embrionale di *Xenopus**, «Acc. Naz. Lincei (Rend. Sc. fis.)» (8), 56, 635.
- LEONE V. (1953) - *Sull'azione dell'urea nello sviluppo embrionale di Anfibi*, «Ist. Lomb. (Rend. Sc.)», B, 86, 847.
- MARCHETTI R. (1963 a) - *Ricerche sul fiume Olona*, Parte I e II, «Acqua Industriale», 24, 21, Etas Kompass, Milano.
- MARCHETTI R. (1963 b) - *Ricerche sul fiume Olona*, Parte III e IV, «Acqua Industriale», 24, 69, Etas Kompass, Milano.
- MARCHETTI R. (1964) - *The toxicity of nonyl phenol ethoxylate to the developmental stages of the rainbow trout*, *Salmo gairdnerii* Richardson, «Ann. Appl. Biol.», 55, 425.
- MARCHETTI R. (1966 a) - *Indagine sul torrente Seveso. Nota 11: Ossigeno disciolto*, «Acqua Industriale», 41, 19, Etas Kompass, Milano.
- MARCHETTI R. (1966 b) - *Relations entre l'activité de surface la composition chimique et la toxicité vis-à-vis de la vie aquatique des détergents de synthèse*, in «La pollution des eaux», Editions Eyrolles, Paris, pp. 185.
- MARCHETTI R., MELONE G. C. e COTTA RAMUSINO M. (1967) - *Indagine sul torrente Seveso. Nota 14: Inventario del carico biologico (Efterotteri e Plecotteri)*, «Acqua Industriale», 47, 11, Etas Kompass, Milano.

- MARCHETTI R., COTTA RAMUSINO M. e MELONE G. C. (1968) - *Indagine sul torrente Seveso*.
Nota 16: *Inventario del carico biologico* (Parte II), «Acqua Industriale», 57, 3, Etas
Kompass, Milano.
- PARISI V. *et coll.* (1971) - *Studio delle biocenosi lotiche del Po a Trino Vercellese negli anni
1967-1968*, «Ist. Lomb. (Rend. Sc.)», B, 105, 3.
- RAFFA V. (1965) - *Indagine sul torrente Seveso*. Nota 4: *Meteorologia, idrologia del bacino,
regime del corso d'acqua*, «Acqua Industriale», 35, 5, Etas Kompass, Milano.
- RANZI S., TAMINI E. e STORARI OFFER E. (1946) - *Alterazioni dello sviluppo embrionale di
anfibi prodotte da Solfocianato e altre sostanze*, «Ist. Lomb. (Rend. Sc.)», B, 79, 161.
- TIBALDI E. (1971) - *Sulle interazioni trofiche in due fiumi italiani: il Po e il Garigliano*, «Acc.
Naz. Lincei (Rend. Sc. Fis.)» (8), 50, 108.
- VAILATI G. (1975) - Dati non pubblicati.
- ZAVANELLA T. (1974) - *Il melanoma del tritone crestato: stato attuale delle ricerche*, «Acc. Naz.
Lincei (Rend. Sc. Fis.)» (8), 56, 1031.