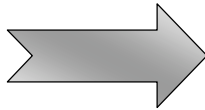


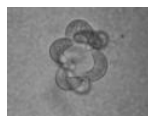
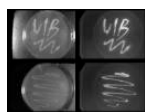
I Saggi Tossicologici di Laboratorio

In Ecotossicologia é necessario estrapolare dai risultati degli esperimenti di laboratorio agli ecosistemi



1

Diversi modelli biologici vengono impiegati per misurare l'attività delle sostanze potenzialmente tossiche



La scelta del modello dipende dallo scopo

SCOPI:

- 1) Ricerca di base
- 2) Scopi applicativi

2

Saggi monospecifici

- ✕ sono già accettati e standardizzati
- ✕ fanno uso di popolazioni naturali o ceppi di laboratorio



3

Organismi usati nei saggi monospecifici

- Sensibilità intermedia
- Semplicità di allevamento
- Rappresentativi dell'ecosistema in considerazione

Daphnia sp., Artemia salina,
Danio rerio, Pimephales promelas

4

I saggi monospecifici operano a 3 livelli:

- **1° livello: TOSSICITA' ACUTA**

alte dosi

brevi tempi di esposizione (24-96 h)

numero ridotto di organismi saggiati

5

I saggi monospecifici operano a 3 livelli:

- **2° livello: TOSSICITA' SUBCRONICA**

dosi ridotte

tempi di esposizione superiori (giorni)

numero elevato di organismi saggiati

6

I saggi monospecifici operano a 3 livelli:

▪ 3° livello: TOSSICITA' CRONICA

dosi molto ridotte

tempi di esposizione molto lunghi

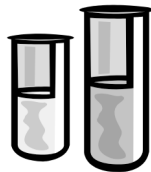
numero molto elevato di organismi saggiati

Tenta di definire i criteri di prevenzione dei rischi che derivano da un'esposizione continua a tracce di contaminanti di origine naturale o industriale

7

Saggi monospecifici sono impostati sulla base delle variabili:

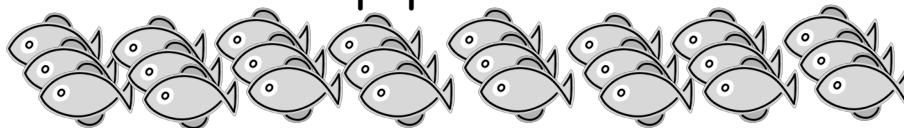
✕ dose



✕ tempo di esposizione



✕ entità delle popolazioni interessate



8

Costituiscono un approccio riduzionistico al problema, ma danno indicazioni su ...

relazioni dose/effetto, potenzialità tossiche, mutagene, cancerogene, ecc.

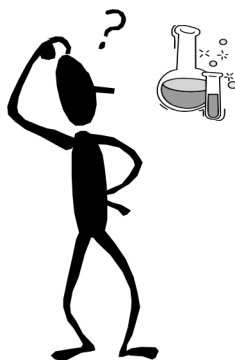


effetti subletali e alterazioni di tipo comportamentale quale attività locomotoria, fototassi, geotassi, ecc.



9

e possono essere utilizzati ...



per la valutazione della tossicità di campioni provenienti dalla natura, di composizione in sostanze tossiche non nota

10

Saggi di tossicità acquatica

L'organismo esposto assume il contaminante presente nel mezzo:

- 1) Per respirazione (branchie)
- 2) Per contatto (epidermide)



11

Saggi di tossicità acquatica

Il contaminante si può accumulare nell'organismo (bioaccumulo)

Il destino di ciascun contaminante é legato a processi di:

- Distribuzione



- Metabolismo



- Escrezione

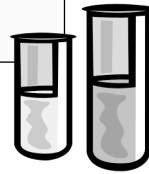
EXIT



E' difficile quantificare
la concentrazione interna del
contaminante....



IL CONTAMINANTE, PERCIÓ, VIENE
SPESSO ESPRESSO COME
CONCENTRAZIONE NEL MEZZO



13

Quindi, a seconda della persistenza
della sostanza nel mezzo ...

... esistono due tecniche di esposizione:

- 1) SAGGI STATICI
- 2) SAGGI A FLUSSO CONTINUO



14

1) SAGGI STATICI

La soluzione contenente il contaminante non viene rinnovata durante il test, oppure viene rinnovata a tempi determinati (x es. ogni 24 ore)

2) SAGGI A FLUSSO CONTINUO

Una soluzione a concentrazione costante viene continuamente pompata in un sistema di diluizione e da qui all'organismo esposto



15

Per un quadro completo degli effetti sugli ecosistemi acquatici...

...i saggi vengono condotti su organismi rappresentativi dei principali nodi delle reti trofiche

Produttori primari (microalghe, macrofite)
Consumatori primari (zooplancton)
Consumatori secondari (pesci)
Decompositori (batteri)

16

Saggi su produttori primari: alghe unicellulari



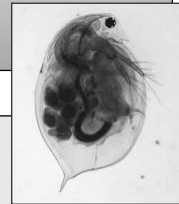
Es. *Pseudokirchneriella subcapitata*

(prima denominata *Selenastrum capricornutum*)

- Il metodo si basa sul confronto della crescita tra alghe in mezzo di coltura (controllo) e alghe in mezzo di coltura con aggiunta di contaminante
- Nessuna limitazione di nutrienti
- Condizioni controllate di temperatura e luce
- **Durata:** 96 ore
- **Endpoint:** % di inibizione della crescita degli organismi esposti rispetto al controllo

17

Saggi su consumatori primari (acque dolci)



Es. *Daphnia magna*

- Organismi < 24 h
- Il metodo si basa sull'esposizione degli organismi a diverse concentrazioni del campione
- Condizioni controllate di cibo (per il saggio cronico), luce e temperatura
- **DURATA:** 24-48 h per il saggio acuto
21 giorni per il saggio subcronico
- **ENDPOINT:** % immobilizzazione degli organismi esposti rispetto al controllo e % inibizione crescita e riproduzione (saggio subcronico)

18

Saggi su consumatori primari (acque marine)



Es. *Artemia salina*/*Artemia franciscana*

Phylum: Artropoda

Subphylum: Crustacea

Classe: Branchiopoda

Superordine: Sarsostraca

Ordine: Anostraca

Famiglia: Artemiidae

19

Saggi su consumatori secondari (pesci)



- Numerose sono le specie ufficialmente approvate nei saggi di tossicità (*Danio rerio*, *Pimephales promelas*, *Salmo gairdneri*...)
- Si utilizzano stadi giovanili
- Il metodo consiste nell'esporre gli organismi a diverse concentrazioni del contaminante
- DURATA: poche ore (test acuto)
giorni, mesi (test subcronici, cronici)
- **ENDPOINT**: mortalità, inibizione di riproduzione e crescita, malformazioni

20

Saggi su batteri

Uno dei test piú diffusi é il test Microtox che utilizza il batterio marino bioluminescente *Vibrio fischeri*

- L'intensitá della luminescenza dipende dal metabolismo energetico batterico che puó essere alterato dalla presenza di un contaminante
- La diminuzione della luminescenza é ritenuta proporzionale alla tossicitá
- DURATA: 15-30 minuti



Saggi di tossicitá terrestre

3 vie principali di ingresso del contaminante e quindi di esposizione:

- 1) INGESTIONE
- 2) CONTATTO
- 3) INALAZIONE



Saggi di tossicità terrestre

Metodologie standard su organismi rappresentativi di diversi livelli trofici o di organizzazione

- Piante vascolari
- Artropodi ipogei (anellidi), epigei (api)
- Uccelli (anatre)
- Mammiferi



23

Nei saggi di tossicità terrestre...

Il contaminante è veicolato da strutture complesse che possono alterarne l'assorbimento

...biodisponibilità

X es. il suolo è costituito da diversi comparti (solido, liquido, gassoso) e molteplici possono essere le interazioni contaminante-suolo (pH, scambio anionico/cationico) tali da alterare la...

24

I possibili sistemi di esposizione:

1) SUOLO CONTAMINATO

- batteri, funghi, artropodi, piante vascolari
- esposizione per contatto, ingestione, inalazione
- dose di contaminante per quantità di suolo secco (mg/Kg)



25

I possibili sistemi di esposizione:

2) CIBO CONTAMINATO

- mammiferi, uccelli, invertebrati fitofagi
- esposizione per ingestione
- dose di contaminante per massa corporea nel tempo (mg/Kg.giorno)

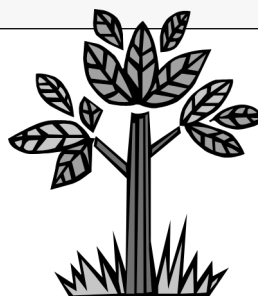


26

I possibili sistemi di esposizione:

3) CONTAMINANTI IN FASE VAPORE

- Animali polmonati, piante vascolari
- esposizione per ingestione
- dose di contaminante per volume d'aria ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)



27

I saggi monospecifici costituiscono un approccio riduzionistico al problema, perciò...

...esistono approcci più complessi, a livello di comunità o ecosistemi controllati:

MICROCOSMI (in laboratorio)

MESOCOSMI (in ambiente naturale)

28