

**Developmental
temperature modulates
microplastics impact on
amphibian
life history without
affecting ontogenetic
microplastic transfer**

<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.135325>

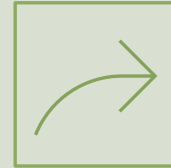
Luca Colotti



Introduzione



Microplastiche: particelle con dimensioni inferiori a 5mm, ubiquitarie in ogni ecosistema terrestre e acquatico



Migrazione attraverso differenti ecosistemi poco studiata, specialmente nel passaggio da acqua a terraferma



Anfibi come vettori ecologici per il trasporto di inquinanti



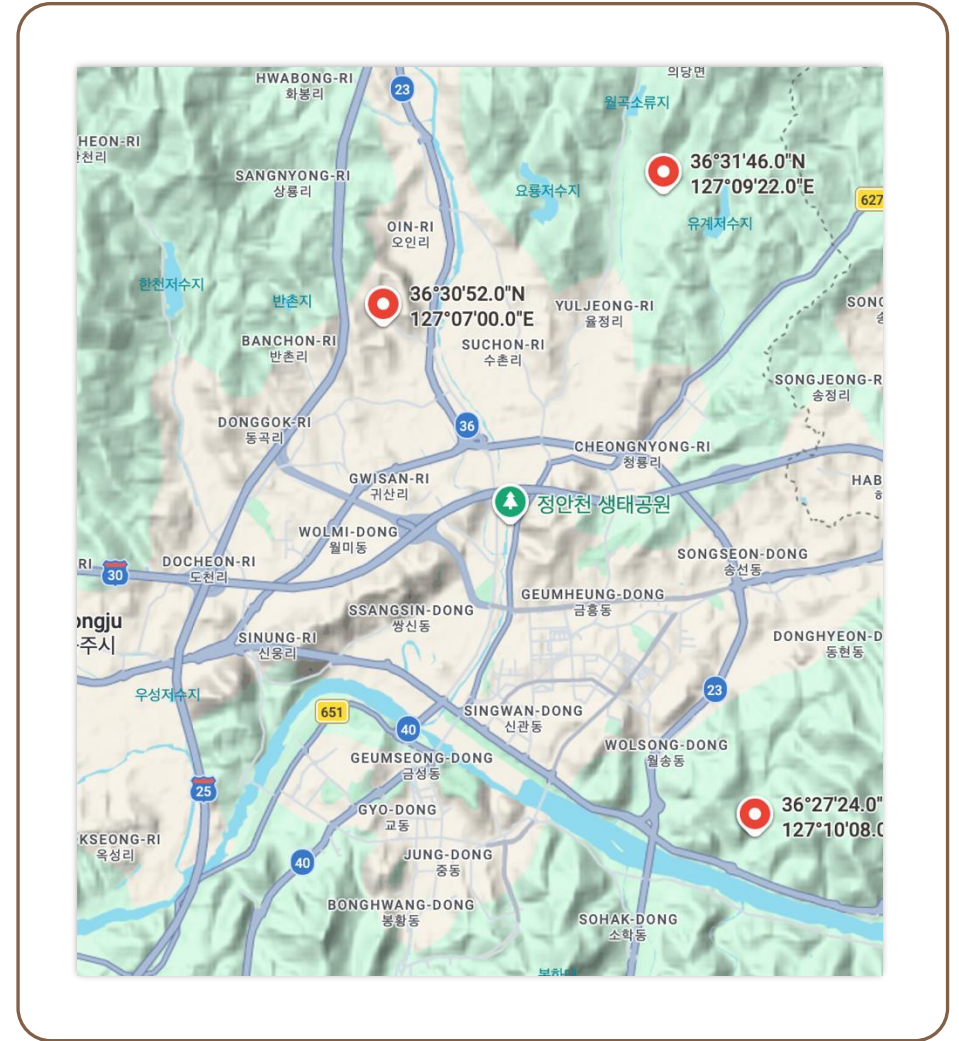
Bioindicatori in grado di fornire informazioni grazie al ciclo vitale a due fasi

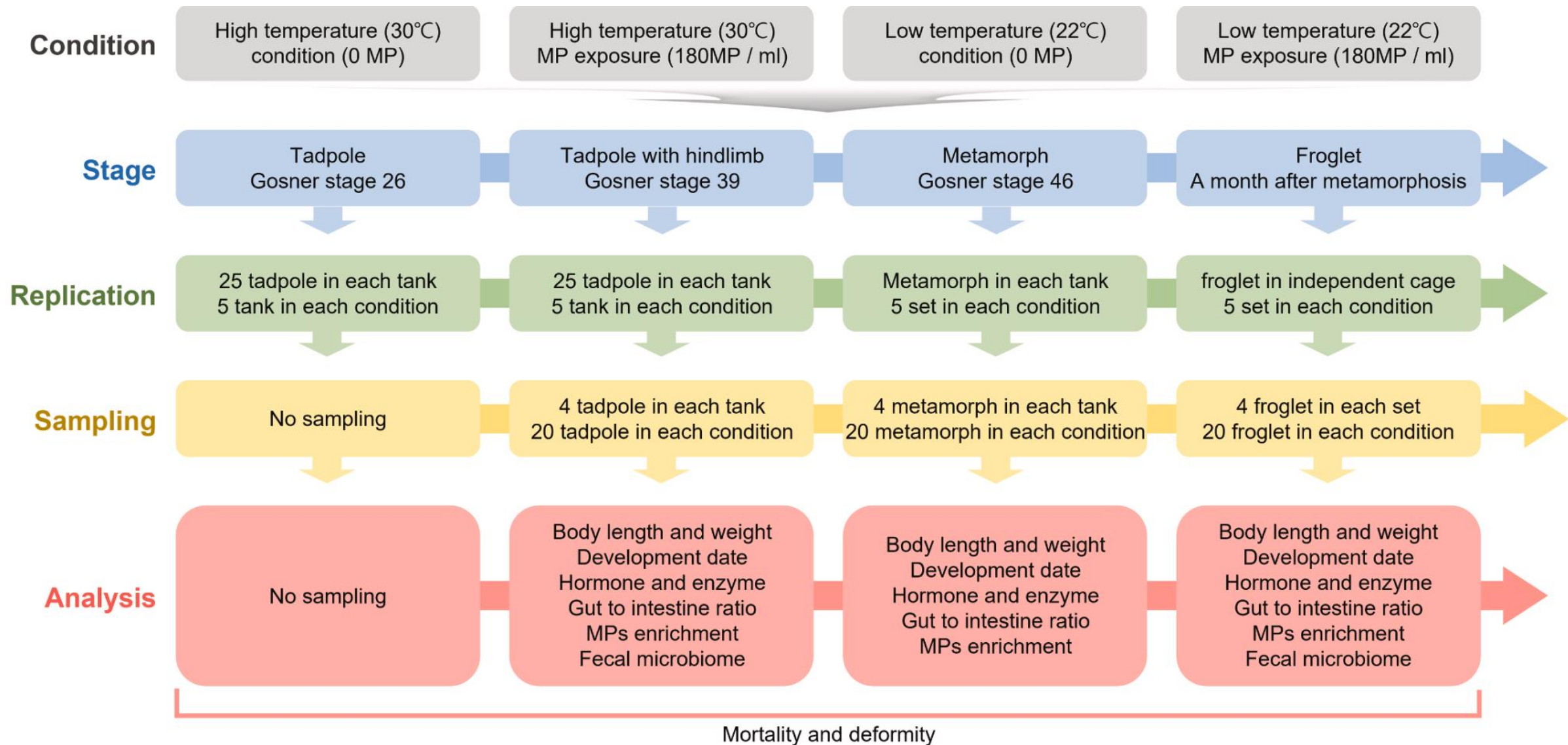
Background- Stress & Temperatura

- Le microplastiche provocano variazioni nello sviluppo, cambiamenti comportamentali, stress fisiologico e distress gastrointestinale
- Possibile persistenza anche dopo la transizione ad ecosistemi terrestri (lasting effects)
- La temperatura, cruciale per lo sviluppo degli anfibi, potrebbe modificare l'esposizione alle mp
- Interazione con riscaldamento globale e modulazione tra inquinanti e sviluppo

Materiali e metodi - raccolta

- 30 coppie di raganelle giapponesi (*Dryophytes japonicus*) raccolte a Gongju, Repubblica di Corea
- Raccolte nella seconda metà di giugno 2023
- Uova allevate a 25°C con ciclo luce/buio di 12h
- Inizio procedura a stadio di Gosner 26, solo individui simili





Design dello studio

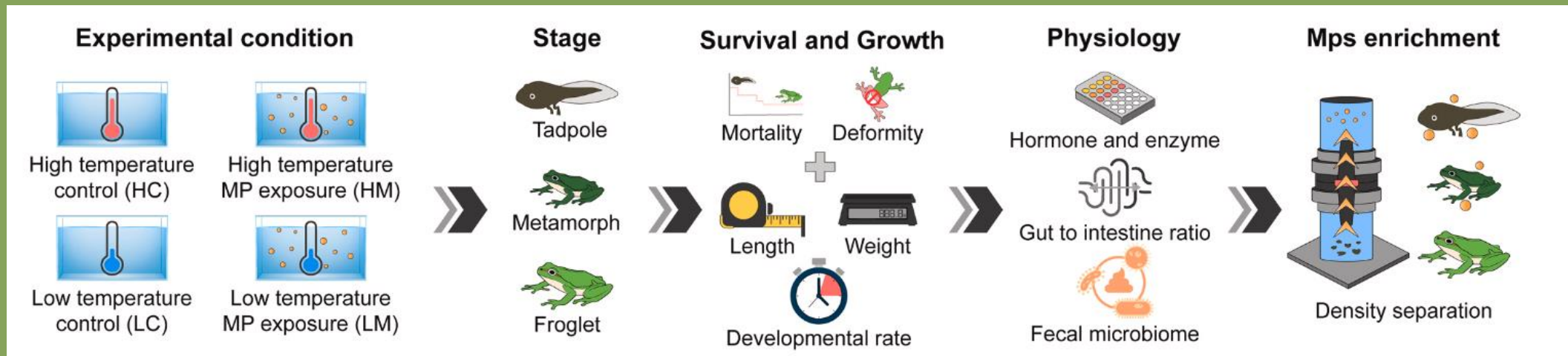
Manutenzione & monitoraggio

- Ciclo luce/buio di **12h**
- Mangime per pesci erbivori somministrato 2 volte al giorno (8-10% della massa corporea) → eccesso rimosso per mantenere pulizia
- Girini raccolti a stadio di **Gosner 39** (fino ad avere 20 esemplari per gruppo)
- Raggiunto lo stadio adeguato, i girini sono stati puliti e isolati per raccogliere i campioni fecali

Collezione dei campioni

- Girini: Gosner **39** (comparsa zampe posteriori)
- Individui durante la metamorfosi avanzata: Gosner **46** (assorbimento coda)
- Giovani adulti: 30 giorni dopo la fine della metamorfosi

Campionati 20 individui per condizione sperimentale per fase di crescita, quindi 240 esemplari in totale



Analisi Fisiologiche, Microplastiche & Deformità

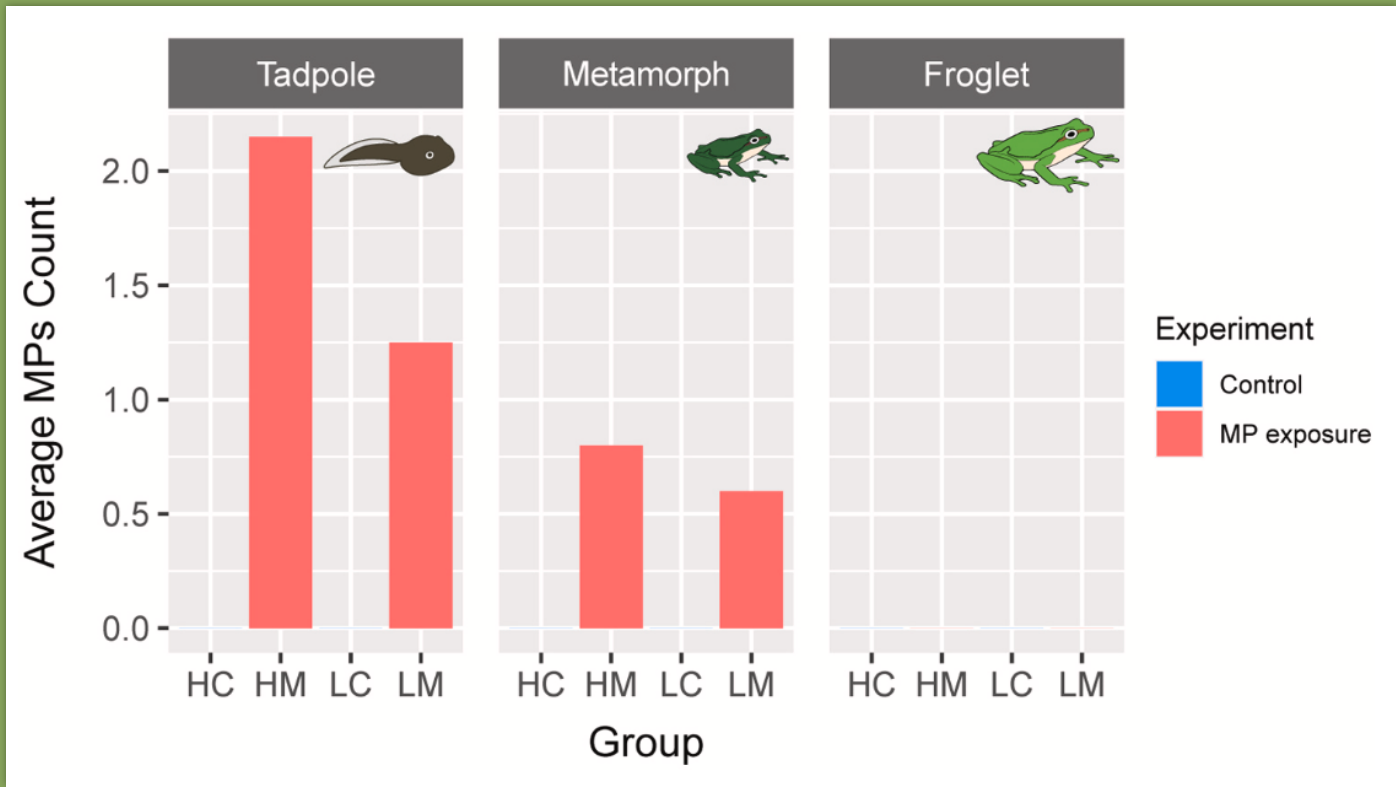
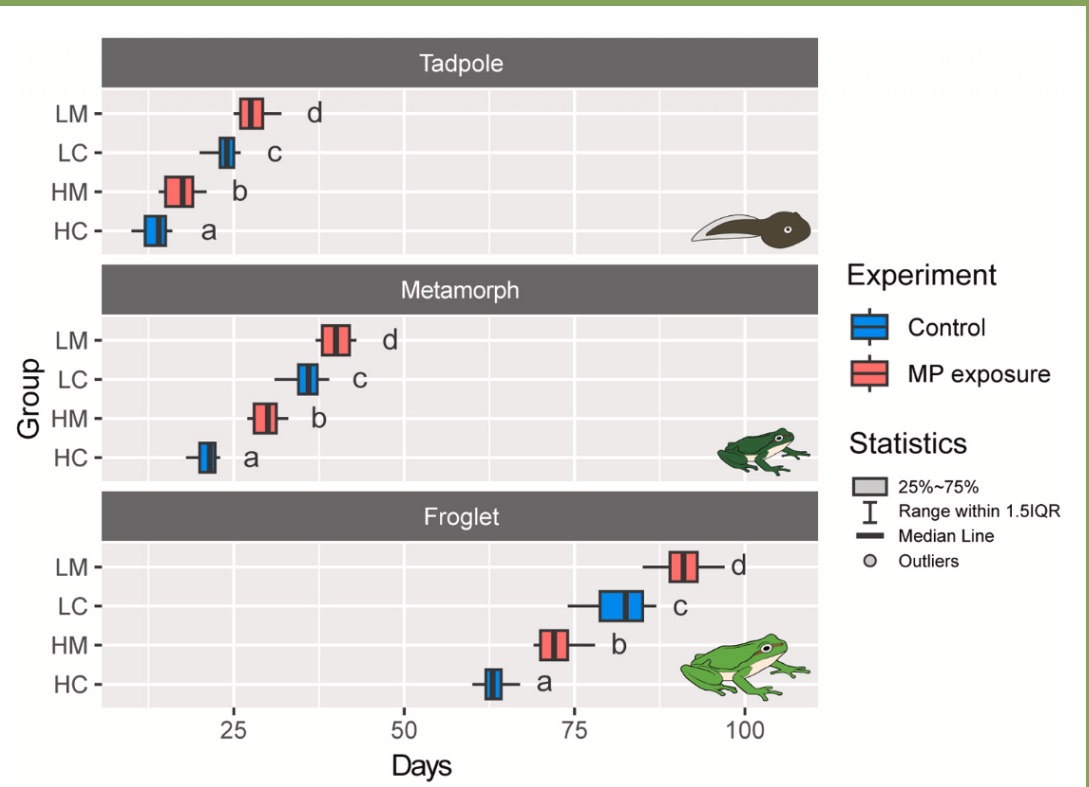
Misurati **Corticosterone** e Superossido dismutasi (**SOD**) → omogeneizzati, quindi le molecole sono state isolate attraverso i relativi kit e sottoposti a spettrofotometro, rispettivamente a 412nm e 450 nm.

DNA analizzato dopo l'estrazione dal campione fecale. Amplificata la regione del **16S rRNA** e misurata α -diversità & β -diversità.

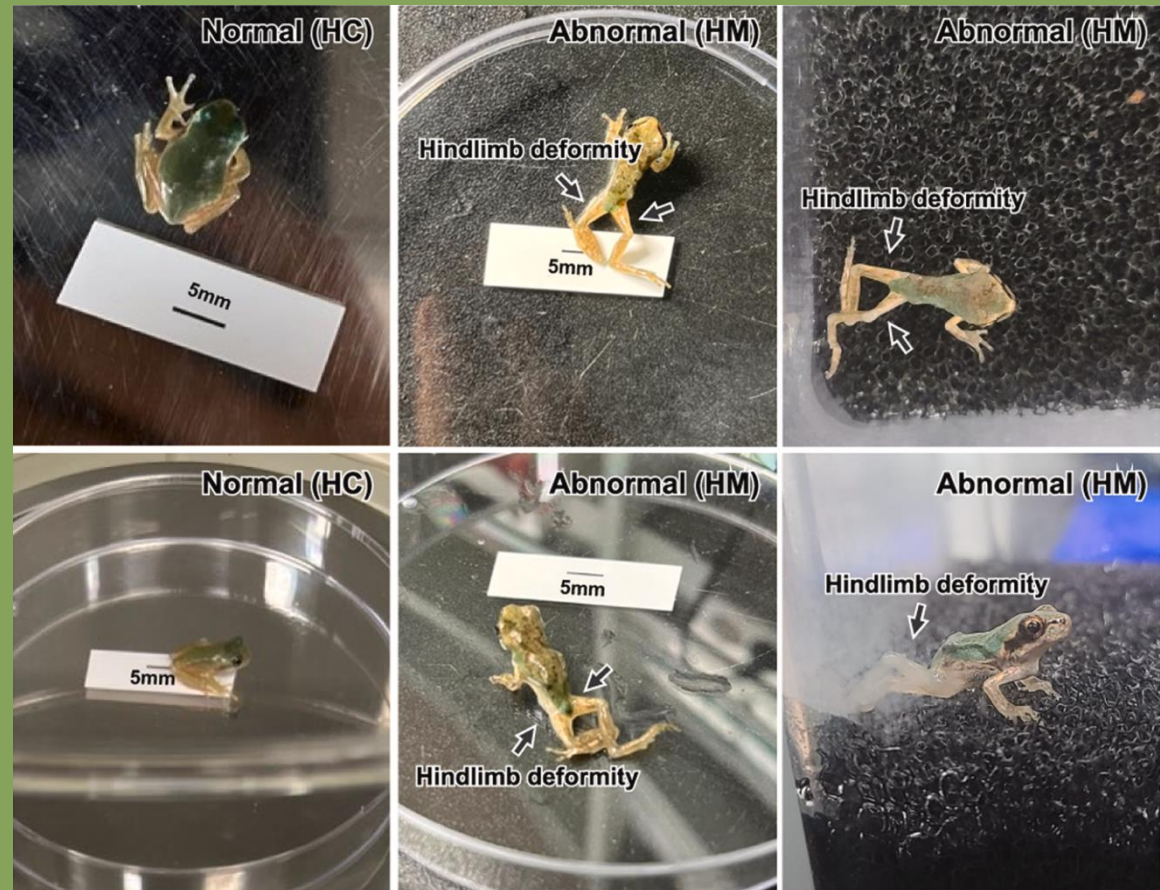
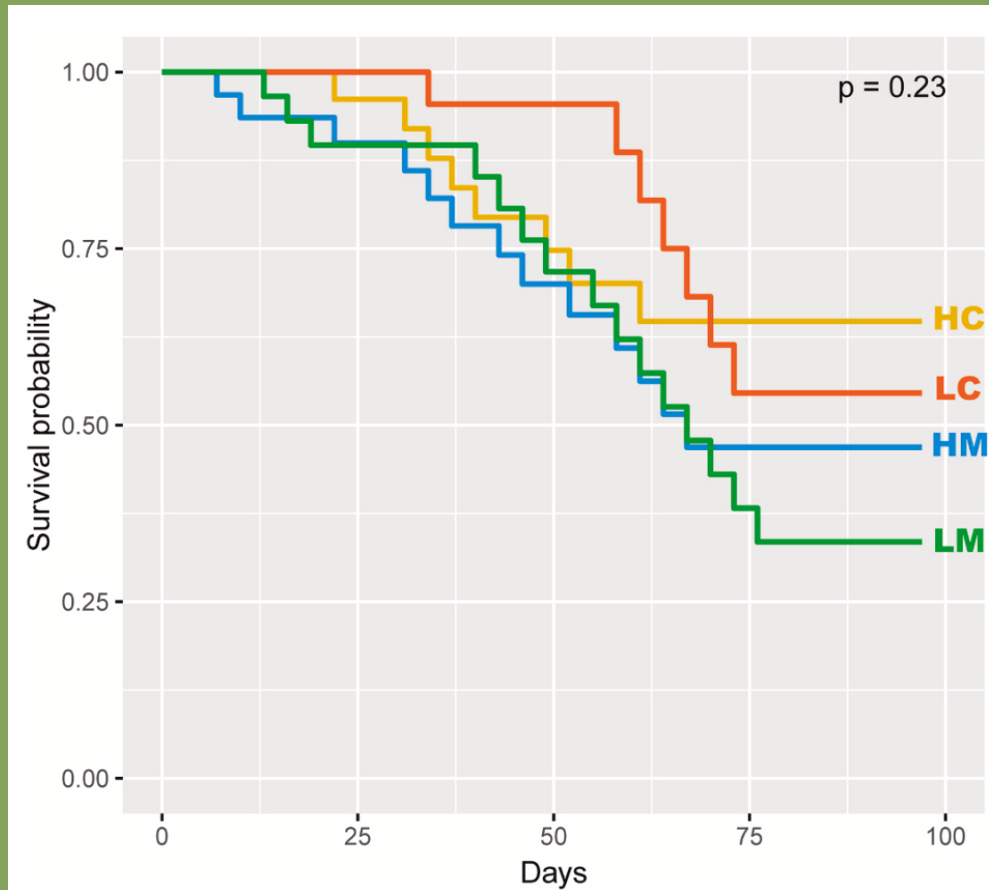
Misura delle MP avvenuta dopo decomposizione in H_2O_2 e **SMI** (Sediment-MP isolation) attraverso microscopio a fluorescenza.

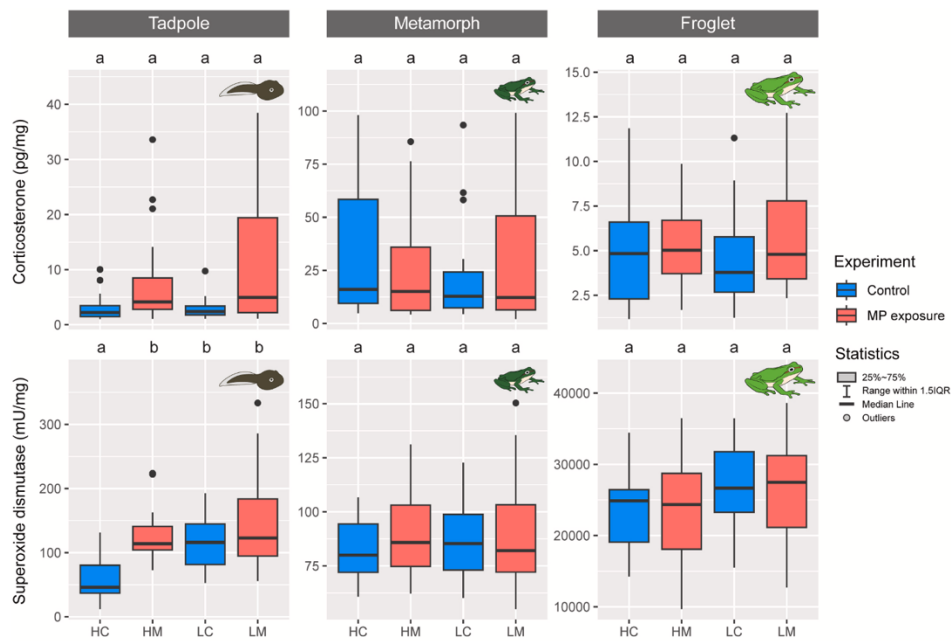
Anormalità (movimenti o deformità) rispetto al comportamento previsto misurate (individui ulteriormente analizzati).

Risultati – Crescita & contenuto MP



Risultati – Mortalità & deformazioni



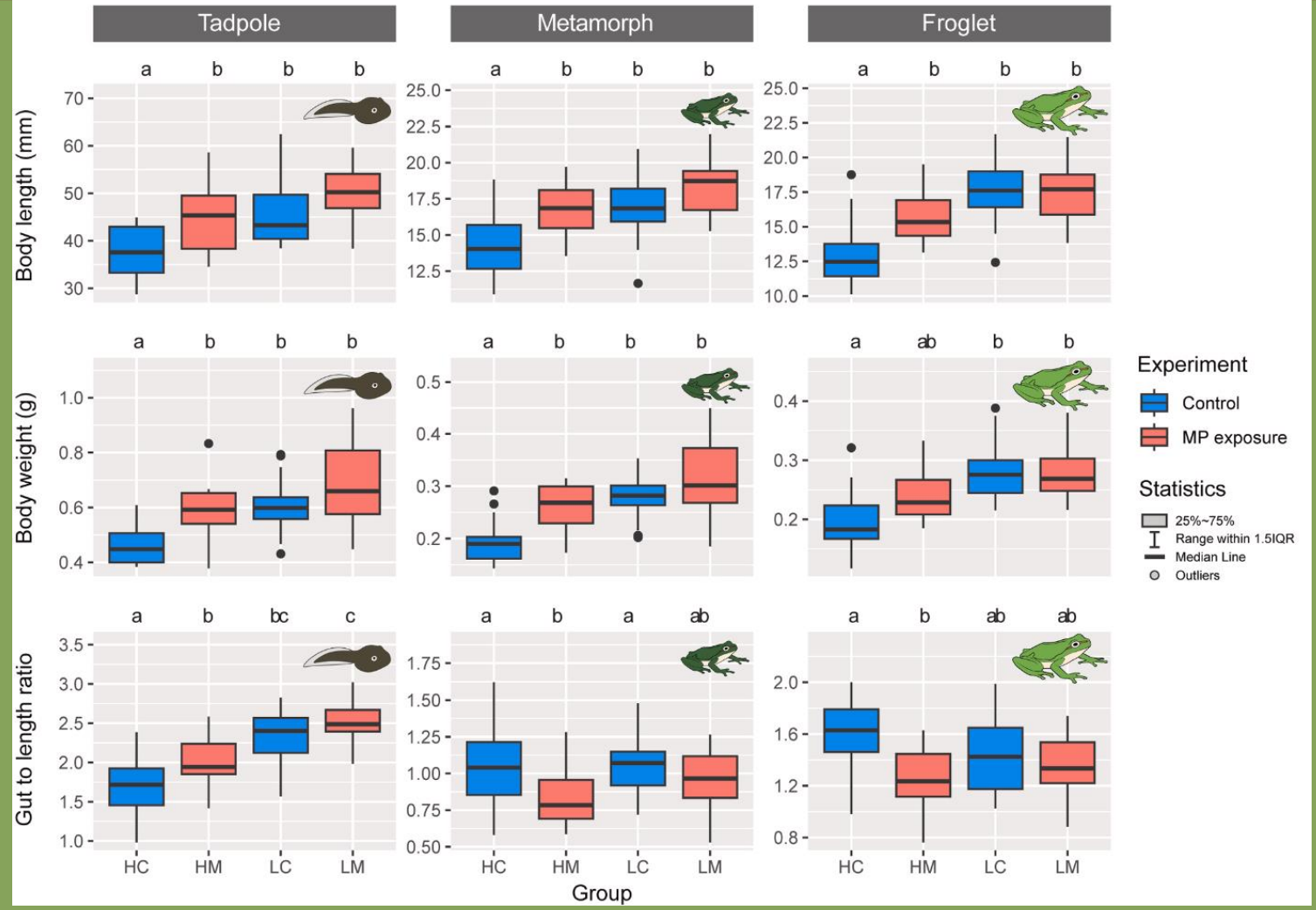
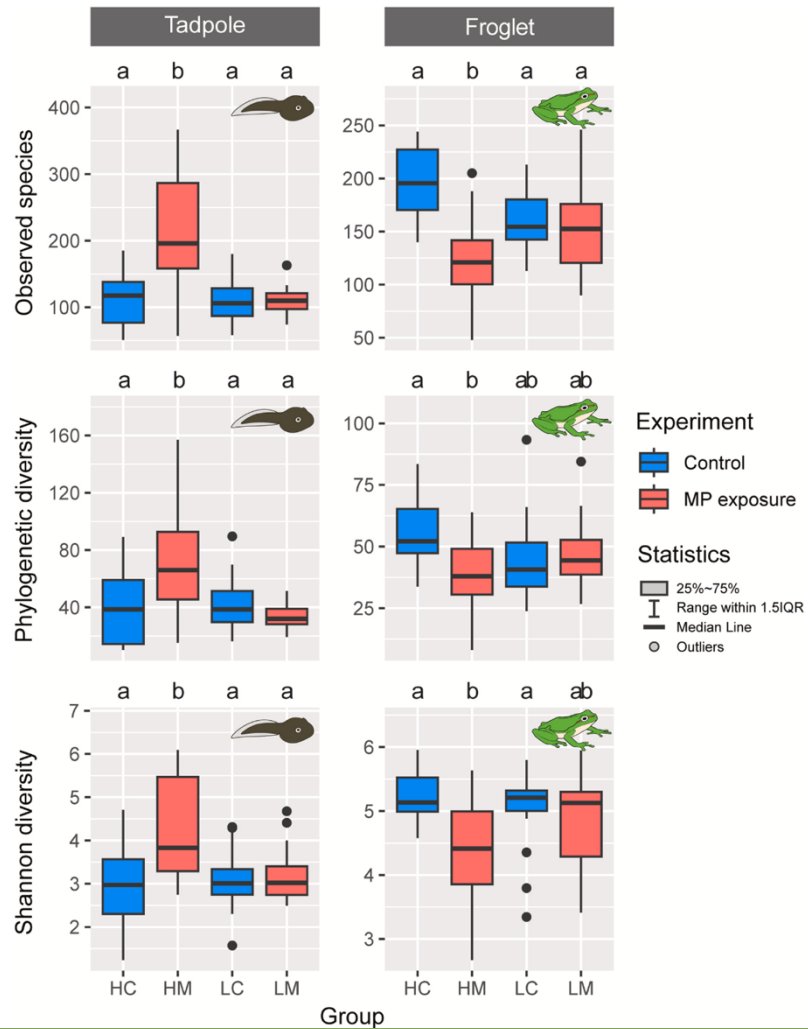


Deformities	Condition	Count	Measure	Mean	Std	Minimum	Maximum
Frog with deformities	HM	2	Corticosterone	91.77	6.46	87.21	96.34
	LM	5	SOD	186.00	31.58	163.67	208.33
Frog without deformities	HC	20	Corticosterone	9.31	2.83	6.56	13.05
			SOD	231.60	63.95	177.32	338.94
	HM	20	Corticosterone	34.62	33.02	4.85	98.10
			SOD	82.35	14.57	60.74	106.63
	LC	20	Corticosterone	25.59	24.61	4.26	85.60
			SOD	88.59	19.93	62.23	131.13
LM	20	Corticosterone	21.75	23.46	4.38	93.97	
		SOD	86.90	17.31	60.16	122.69	
LM	20	Corticosterone	28.50	29.36	2.09	99.13	
		SOD	90.41	25.47	55.00	150.33	

Note: HM (High Temperature with Microplastic Treatment), LM (Low Temperature with Microplastic Treatment), LC (Low Temperature Control), Std (Standard Deviation)

Risultati – Stress fisiologico

Risultati – Risposta intestinale



Discussione e considerazioni

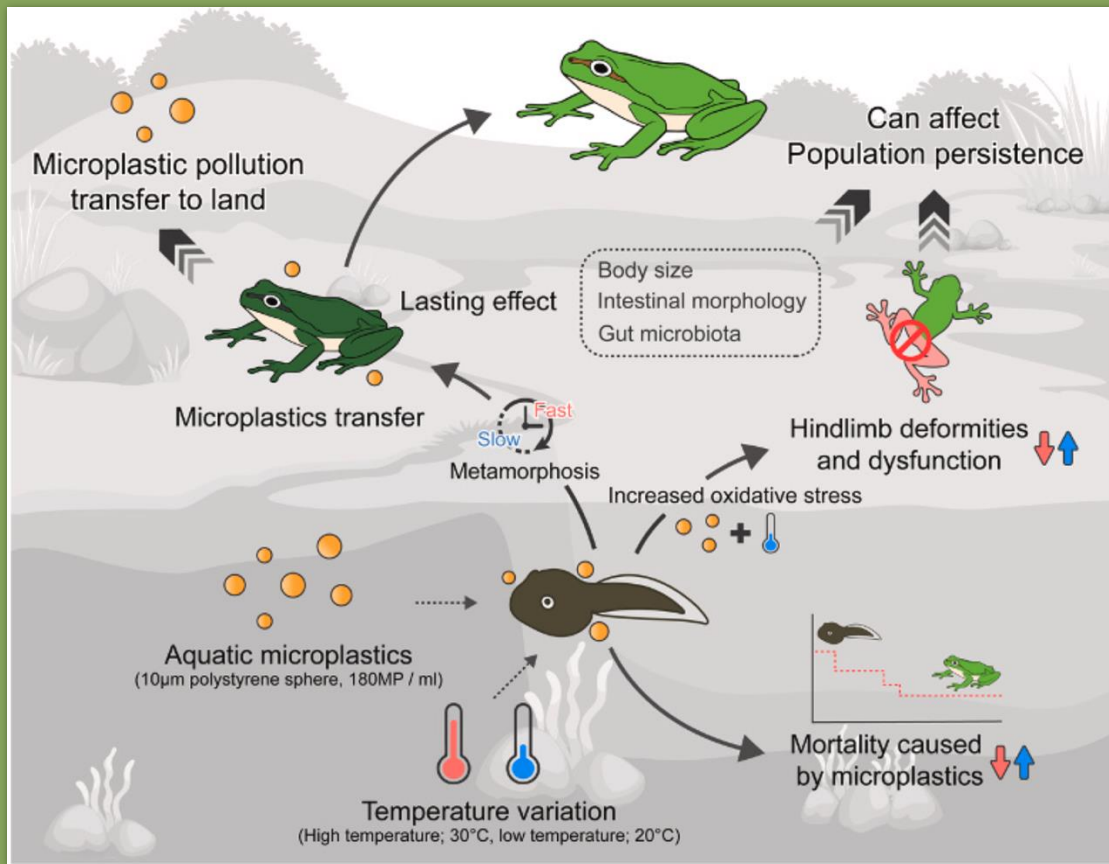
Anfibi come
vettori per lo
spostamento di
microplastiche

Stress ossidativo
e deformazioni

Relazione con
temperatura

Implicazioni
ecosistemiche

Conclusioni & criticità



- Condizioni sperimentali poco coerenti con l'ambiente naturale
- Scelta delle microplastiche
- Utilizzo di altri indicatori di stress ossidativo (es. catalasi)



Grazie per l'attenzione