

Università degli Studi di Trieste

Corsi di Studio
SAMAC (fondamentale)
ESCG (a scelta dello studente)

Effetti dovuti all'esposizione:

- Tossicità acuta e cronica
- Relazioni concentrazione/risposta
- I saggi ecotossicologici e la normativa ambientale
- Curve di tossicità e parametri ecotossicologici
- Saggi di tossicità di laboratorio
- Le scale di tossicità
- Le batterie di saggi e gli indici di tossicità
- La valutazione del rischio ecotossicologico
- LCx, ECx, LOEC, NOEC significato, determinazione, limiti applicativi.
- Fattori che influenzano le risposte
- Lo studio delle miscele di inquinanti.
- Test in situ
- Test su comunità ed ecosistemi controllati

ECOTOSSICOLOGIA

Prof. Monia Renzi (BIO/07)
mrenzi@units.it

III anno – I Semestre

(*) Il materiale didattico fornito dal docente può contenere parti o immagini soggette a copyright, la diffusione e/o riproduzione non è autorizzata.

-Come si misura la tossicità?

Gli effetti di un tossico si misurano mediante esperimenti (saggi o test) di laboratorio (oppure di campo) che prevedono l'esposizione degli organismi a contaminanti presenti in concentrazioni note (test su sostanze pure) o ignote (campioni ambientali) in matrici ambientali.

-Cosa si misura?
-L'effetto, ovvero il tipo di danno biologico o la funzione compromessa dalla presenza del tossico.
La quantificazione dell'effetto, espressa come % di incidenza o % di effetto, è detta "risposta".

Si possono condurre test in fase solida, fase liquida, su campione tal quale o su estratti di campione (acqua interstiziale, eluati, elutriati).

-Saggio ecotossicologico – esperimento di esposizione ad una sostanza/miscela standardizzato che permette di valutare la concentrazione alla quale si osserva la risposta biologica.

Il principio alla base del test ecotossicologico è l'esistenza di una relazione quantitativa tra la dose (o concentrazione) di esposizione e la percentuale di individui della popolazione esposta che mostra l'effetto considerato.

Obiettivo

Stimare il range di concentrazione di un contaminante o di una miscela di in grado di determinare una risposta (endpoint) precisa, facilmente osservabile e misurabile in condizioni di esposizione controllata (T, S, pH) in un campione di organismi (adulti) rappresentativo di una popolazione in un determinato intervallo di tempo di esposizione. Si considerano i soli effetti che si manifestano durante la durata del saggio e non quelli che si manifestano a termine dell'esposizione controllata.

Gli organismi utilizzati

- Devono provenire da popolazioni allevate o naturali, stabulate in laboratorio per un determinato periodo di tempo.
- Devono essere manipolati seguendo un protocollo sperimentale standardizzato.
- Devono essere omogenei da un punto di vista genetico e fisiologico per minimizzare le differenze di risposta al tossico e rendere affidabili la stime dell'effetto (unica fonte di organismi).
- Devono essere sani e non sottoposti a stress di alcun genere.

Come avviene l'esposizione in fase acquosa?

Test statici: gli organismi sono messi a contatto con il contaminante in fase acquosa e la soluzione non viene mai rinnovata (la concentrazione del tossico potrebbe cambiare nel corso del test).

Test statici con rinnovo: la soluzione acquosa in cui sono esposti gli organismi viene rinnovata parzialmente o completamente durante il test.

Test a flusso: la soluzione viene mantenuta attiva con un flusso continuo o intermittente di soluzione (mantiene concentrazione costante ma genera grandi quantità di reflui).

L'esposizione

Dipende dalla concentrazione o quantità di sostanza, tipo di somministrazione, tempo di interazione con l'organismo.
-Per la stessa sostanza e concentrazione l'effetto è specie specifico.

Nella misura della tossicità le modalità di esposizione sono distinte sulla base di due parametri fondamentali:

La concentrazione della sostanza presente nel medium (acqua, sedimento, cibo);

La durata dell'esposizione cui è soggetto un organismo.

Le concentrazioni cui è esposto l'organismo possono essere costanti e continue oppure ripetute nel tempo (episodio ciclico) e generare effetti reversibili oppure irreversibili, cumulativi e non.

Si riconoscono quindi:

- esposizione acuta
- esposizione sub-cronica
- esposizione cronica

•Stimano gli effetti avversi che si manifestano entro breve tempo (non superiore ad un terzo del tempo medio tra nascita e maturità sessuale)
•Si effettuano su individui non alimentati
•Si somministra una singola dose di sostanza

L'esposizione

Nella misura della tossicità le modalità di esposizione sono distinte sulla base di due parametri fondamentali:

La concentrazione della sostanza presente nel medium (acqua, sedimento, cibo);

La durata dell'esposizione cui è soggetto un organismo.

Si riconoscono quindi:

- esposizione acuta
- esposizione sub-cronica
- esposizione cronica

Durata intermedia tra acuta e cronica.
Non abbraccia l'intero ciclo vitale dell'indicatore biologico (tempo di esposizione <10% della durata di vita dell'organismo).
Prevede l'esposizione a contaminanti delle fasi critiche dello stadio vitale, incluse le fasi larvali (*early-life stages*), quindi la durata dell'esposizione è spesso legata al tempo necessario affinché la larva raggiunga una determinata "fase".
L'esposizione in test sub-cronici varia dalle 48 ore di alcuni test su fasi larvali di invertebrati fino ai 7 giorni dei test su crostacei copepodi.
Solitamente si effettuano su individui alimentati.

Gli organismi sono a contatto con concentrazioni basse di contaminante per un prolungato periodo (tempo di esposizione >50% della durata di vita dell'organismo).
Idealmente, il periodo coinvolto in una esposizione cronica dovrebbe abbracciare l'intero ciclo vitale dell'organismo (*life-cycle test*).
Si effettuano su individui alimentati.

Necessitano di disegni sperimentali diversi

Endpoints caratteristici

-Effetto avverso o Endpoint – risposta biologica misurata (es. immobilizzazione, mortalità, crescita, alterazione biochimica o fisiologica misurabile).

È un cambiamento significativo dallo stato normale che è in grado di alterare lo stato di salute dell'organismo, l'effetto avverso più grave è la morte ma possono manifestarsi effetti avversi a tutti i livelli di complessità sia a livello di individuo che di ecosistema.

Il paradigma "tossicità acuta = misura della mortalità" è superato, la mortalità non è l'unico endpoint misurabile in test di tossicità acuta.
In caso di esposizione acuta, gli effetti misurati comprendono, ad esempio:

- Mortalità
- Alterazione del tasso di respirazione
- Capacità di fecondazione (motilità spermatica)
- Attività metaboliche (bioluminescenza)

In caso di esposizione sub-cronica, gli effetti misurati possono comprendere:

- ✓ Crescita
- ✓ Sviluppo embrio-larvale
- ✓ Capacità riproduttiva (alghe)
- ✓ Adattamenti comportamentali
- ✓ Può prevedere delle misure di mortalità.

Test Cronici

La tossicità cronica, prevede la misurazione dei parametri di:

- Crescita
- Sviluppo embrio-larvale fino allo stadio di adulto riproduttivo
- Capacità riproduttiva (produzione di prole per femmina)
- Raggiungimento della maturità sessuale

In via teorica, sono misurabili anche a parametri relativi a dinamica di popolazione (andamento demografico), di comunità (interazione tra specie) ed ecosistemici (interazioni globali).

Perché sono importanti i test cronici?

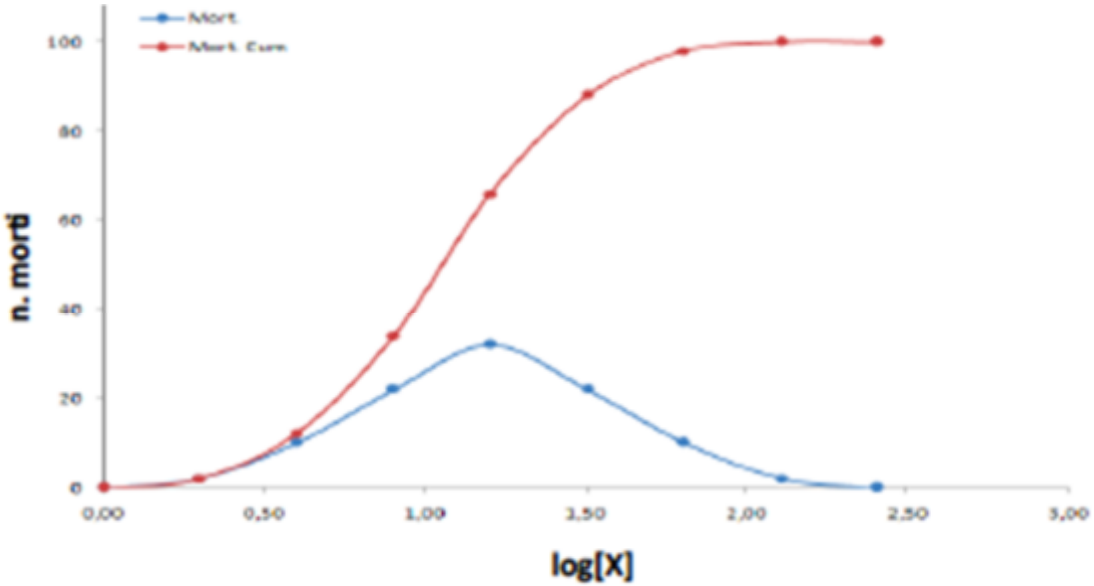
- L'esposizione cronica a contaminanti è una condizione più frequente negli ambienti naturali rispetto all'esposizione acuta.
- Ambienti moderatamente contaminati sono più comuni rispetto ad ambienti altamente contaminati.
- Gli effetti subletali possono avere maggiore rilevanza ecologica rispetto agli effetti letali nell'identificare possibili scompensi legati all'esposizione a contaminanti.

Come determino la relazione concentrazione-effetto?

Un numero noto di organismi è esposto a una serie di concentrazioni crescenti di contaminante allo stesso tempo, un numero analogo di organismi è mantenuto alle stesse condizioni sperimentali della popolazione esposta senza però somministrazione del contaminante (controllo negativo, trattamento senza contaminante). Alla fine del periodo di esposizione si valuta il numero di organismi che ha fornito una risposta e si determina la % di effetto per ogni concentrazione e per il controllo negativo.

La curva cumulativa tipica che si ottiene mettendo in relazione concentrazione [x] ed effetto è una curva sigmoidale (al netto di eventuali trasformazioni logaritmiche per aggiustare la scala), mentre la distribuzione delle frequenze di effetto rispetto a [x] (% morti in +) si approssima a una normale.

[X]	log[X]	Mort.	Mort. Cum
1	0,00	0	0
2	0,30	2	2
4	0,60	10	12
8	0,90	22	34
16	1,20	32	66
32	1,51	22	88
64	1,81	10	98
128	2,11	2	100
256	2,41	0	100



La curva concentrazione-effetto ha delle caratteristiche tipiche che sono in funzione della sostanza:

Pendenza - variazione della risposta per unità di concentrazione;
Potenza - posizione della curva rispetto all'asse della concentrazione;
Efficacia - effetto massimo ottenibile.

LC50 è utilizzato come riferimento perché tende ad essere valore più consistente e con minore incertezza associata rispetto ad altri (LC10) che dal punto di vista ambientale hanno una maggiore significatività biologica.

La distribuzione delle risposte è una curva sigmoidale, ma per il calcolo dei parametri di tossicità è necessario trasformare la curva.
Le trasformazioni più utilizzate (tramite software) sono il probit (unità di probabilità), logit e la trasformata di Weibull, tutte portano alla linearizzazione della curva, che agevola il calcolo della "concentrazioni effettive" ovvero le concentrazioni che determinano effetto su una percentuale X di organismi esposti (generalmente il 50% o in alcuni casi il 20%).



Tratta e adattata da: Dott. M. Picone

Definizioni e terminologia

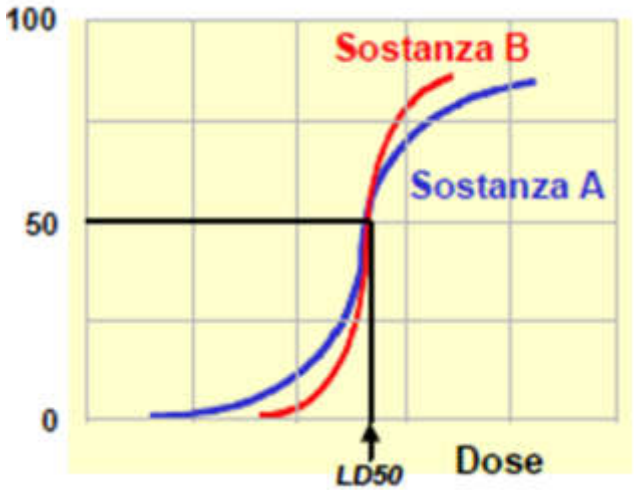
-Dose – esprime la quantità di sostanza alla quale l'organismo testato è esposto.
La dose è la concentrazione della sostanza normalizzata rispetto al peso corporeo dell'organismo.
In ecotossicologia si utilizza più spesso la concentrazione in quanto il peso corporeo degli organismi esposti è trascurabile e può essere considerato uniforme.

EDx = Effective Dose su x% di popolazione
ECx = Effective concentration su x% di popolazione

LD_{50} = Median Lethal Dose, dose efficace sul 50% della popolazione testata
LC_{50} = Median Lethal Concentration, concentrazione efficace sul 50% della popolazione testata
ED_{50} = Median Effect Dose, dose che produce un effetto definito sul 50% della popolazione
EC_{50} = Median Effect Concentration, concentrazione che produce effetto sul 50% della popolazione

Controllo positivo (+)
Controllo negativo (-)

LT50 (Lethal Time 50) - rappresenta il tempo necessario a determinare la morte del 50% degli individui di una popolazione esposta ad una data concentrazione di una sostanza (disegno sperimentale leggermente diverso).



Sostanze con stessa EC_{50} possono avere diversa tossicità

Obiettivo

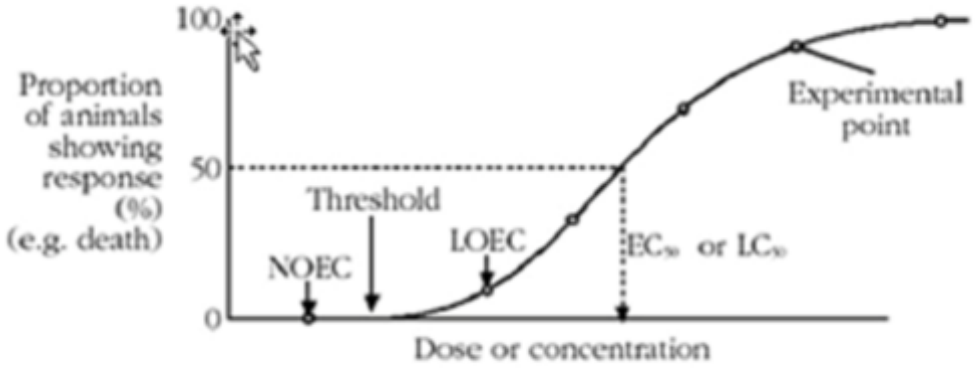
Determinare la più bassa concentrazione di contaminante in grado di provocare l'insorgere di effetti dannosi. Questa concentrazione rappresenta la base da utilizzare per la definizione di criteri di qualità e protezione ambientale.
La relazione concentrazione-effetto si ricava esattamente nello stesso modo visto per i saggi acuti, tuttavia cambiano i parametri soglia utilizzati.

NOED/NOEC = No observed Effect Dose (o Concentration)
NOEL = No Observed Effect Level. Terminologia comunemente usata per indicare genericamente NOED e NOEC. È il livello maggiore (di dose o concentrazione) della sostanza testata che non produce un effetto statisticamente significativo rispetto al controllo negativo.
LOED/LOEC = Lowest Observed Effect Dose (o Concentration)
Livello di dose (concentrazione) più basso al quale si riscontra un effetto statisticamente significativo rispetto al controllo negativo.
Anche in questo caso esiste il termine generico LOEL

MATC (Maximum Acceptable Toxicant Concentration) -
importante soprattutto nell'ambito della definizione dei criteri di qualità, in quanto soglia di tossicità a lungo termine, compresa tra NOEC e LOEC, di cui spesso rappresenta la media geometrica.

NOEC, LOEC e tutti gli altri parametri calcolati per test cronici sono ricavati a seguito di analisi statistica (ANOVA e test posthoc) sono delle osservazioni dipendenti dal disegno sperimentale del saggio eseguito e non parametri statistici indipendenti come LC/EC_{50}.

Se il disegno sperimentale non è ben strutturato, NOEC e LOEC potrebbero rivelarsi parametri non ottimali



Disegno sperimentale ideale, con NOEC e LOEC centrate sul punto di soglia
In test su sostanze di tossicità ignota può capitare che la scansione dei punti sperimentali non consenta di identificare con accuratezza il punto di soglia e che questo sia più o meno vicino a uno dei 2 parametri

Ormesi

Effetto stimolatorio, generato dall'esposizione a concentrazioni molto basse (sub-inibitorie) di alcuni contaminanti.

Calabrese (2008) ha definito l'ormesi come "un fenomeno dose-risposta bifase, caratterizzato da una stimolazione a basso dosaggio e una inibizione ad alto dosaggio".

La curva concentrazione risposta assume una caratteristica forma ad "U" o "J-shaped".

È una relazione generale, indipendente dal modello biologico, dall'endpoint misurato e dalla tipologia di tossico.

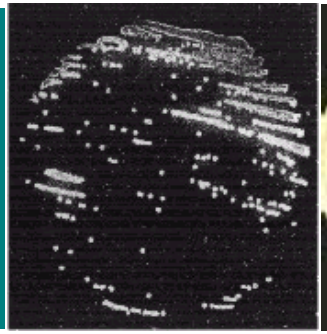
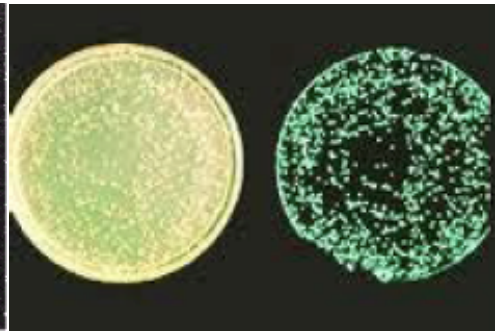
Questioni aperte relativamente all'ormesi

Non tutti gli esperimenti ecotossicologici hanno la capacità di rilevare ormesi in quanto si lavora con concentrazioni troppo elevate per rilevarla.

È legata soprattutto a test cronici ma se ne riportano casi anche in test sub-cronici.

L'ormesi potrebbe rivoluzionare l'approccio classico basato sulle relazioni dose-effetto in tossicolocogia ed ecotossicologia oltre che portare a una revisione dei criteri della ERA.

Saggi ecotossicologici monospecifici (STT - Standard Toxicity Tests): pro & contro

Vantaggi

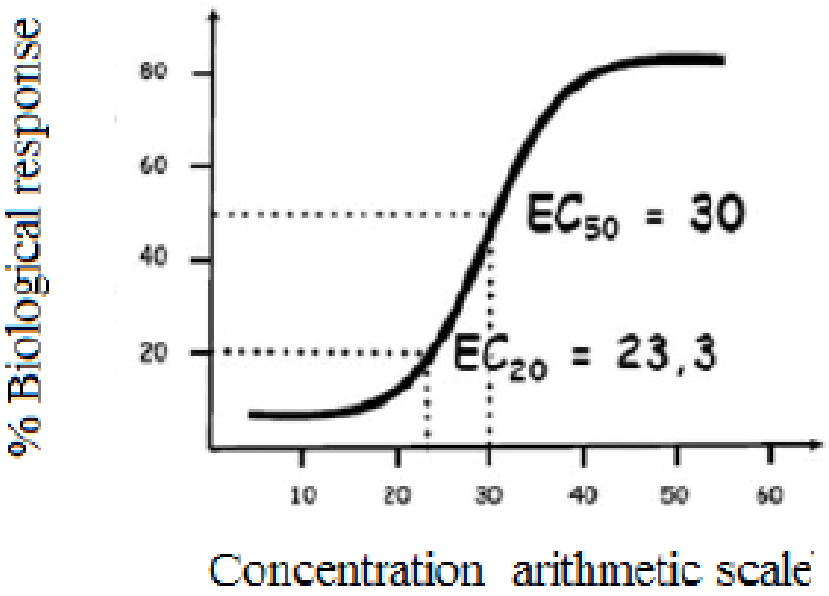
- Relazioni dose-effetto precise e quantificabili; endpoints chiari
- Valutazioni globali dell'impatto sull'ambiente naturale
- Sensibilità delle risposte
- Indicazioni sulle potenzialità tossiche precise
- Indicazioni dirette su effetti sinergici ed antagonistici dei contaminanti che compongono la matrice
- Metodi standardizzati, veloci, economici
- Possibilità di standardizzare la variabilità genetica intraspecifica e lo stadio evolutivo della specie esposta
- Cicli vitali brevi, facilità di esecuzione




Limiti

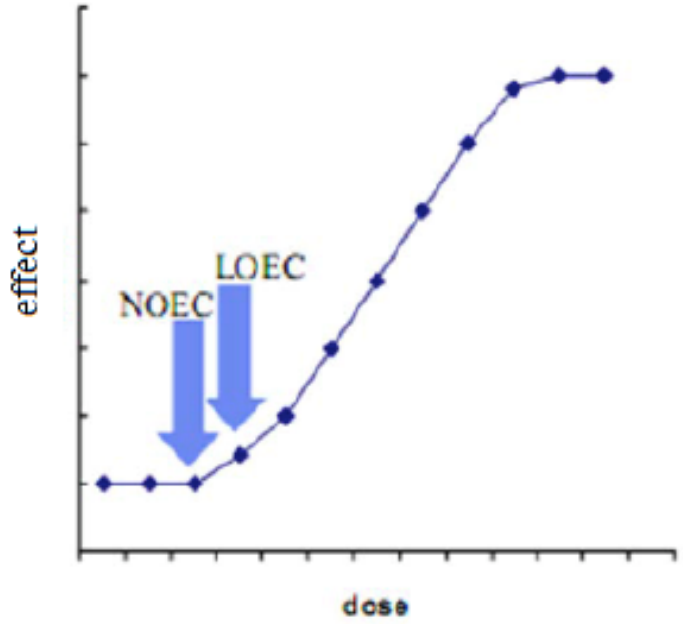
- Valutano gli effetti dell'inquinante e della sua miscela ma non identificano la causa;
- Difficoltà a relazionare i risultati ottenuti dalle esposizioni in vitro con le condizioni ambientali reali;
- Scarsa capacità predittiva degli effetti su popolazioni reali;
- Non permettono di testare tutte le specie ambientali esposte.

Come si esprimono i risultati



Espressi come:

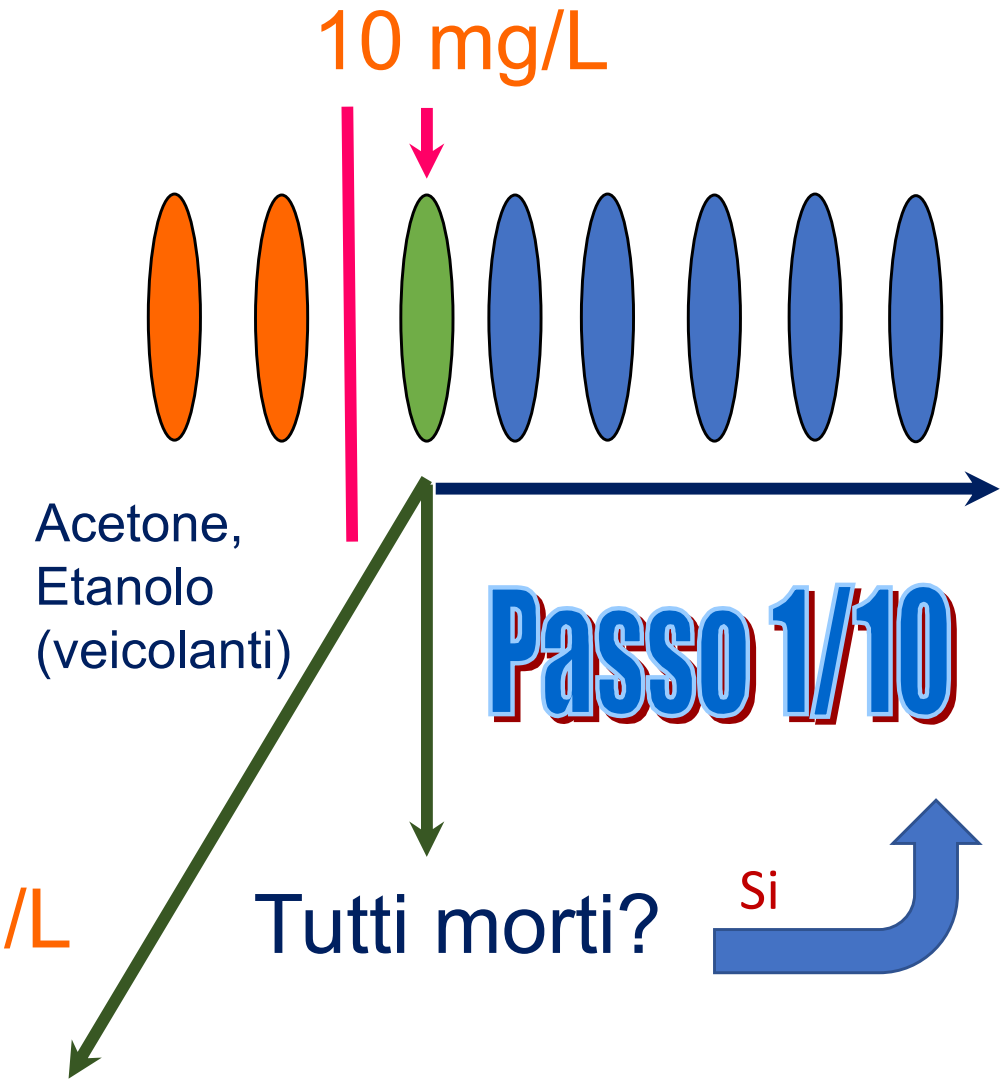
- Inibizione percentuale (I%)
- EC_{50} (LC_{50})
- NOEC
- LOEC



I%	EC_{50}	Giudizio
<20	NC	Assente
20-50	NC	Poco tossico
>50	100-10	Tossico
>50	10-1	Molto tossico
>50	1	Estremamente tossico



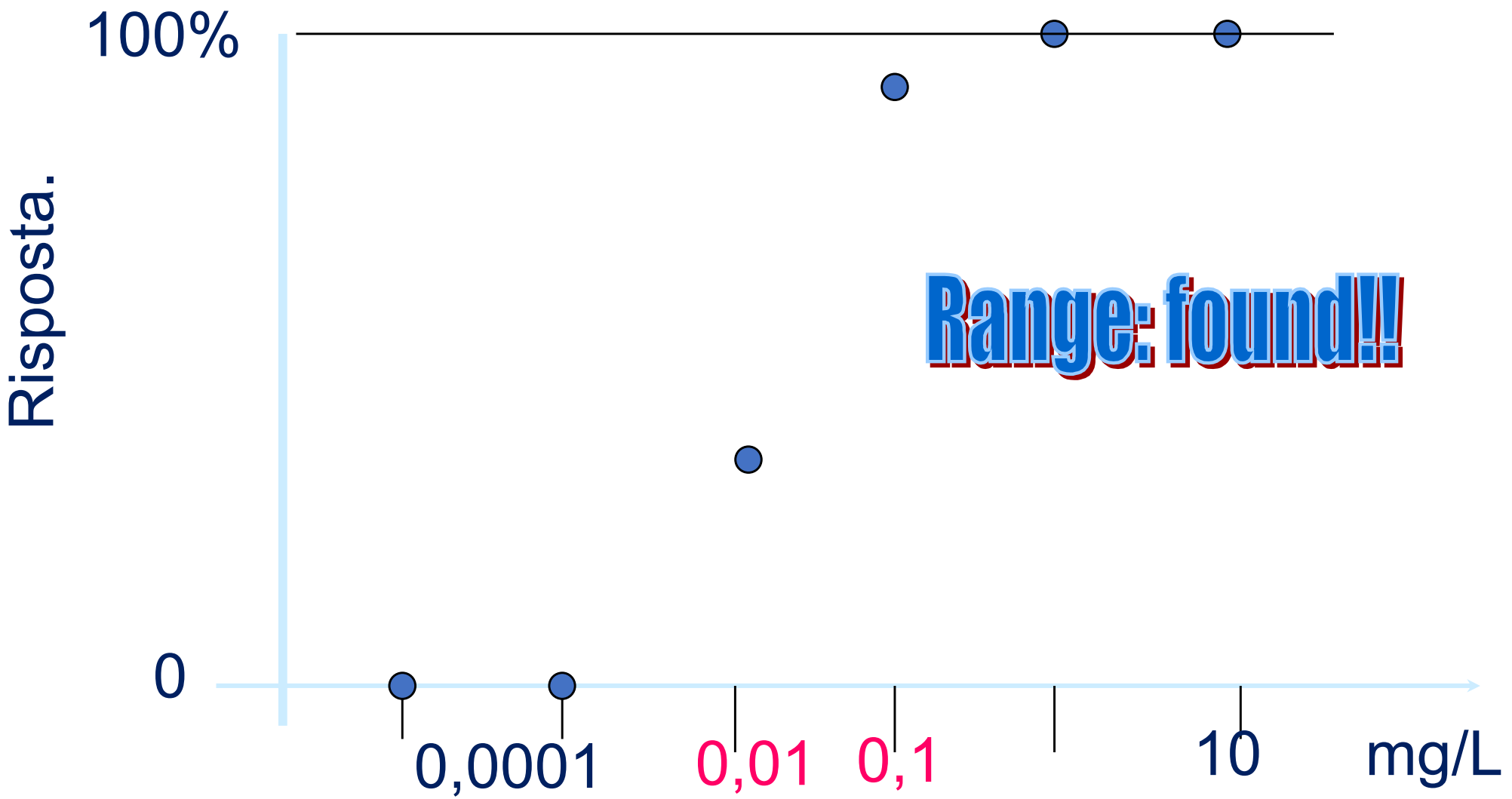
Range Finding test



Sostanza A: S_W 10 mg/L

Se con la saturazione nessun muore: EC50>10 mg/L

Si effettua il test con le dosi scalari (1:10):
1; 0,1; 0,01; 0,001; 0,0001 mg/L

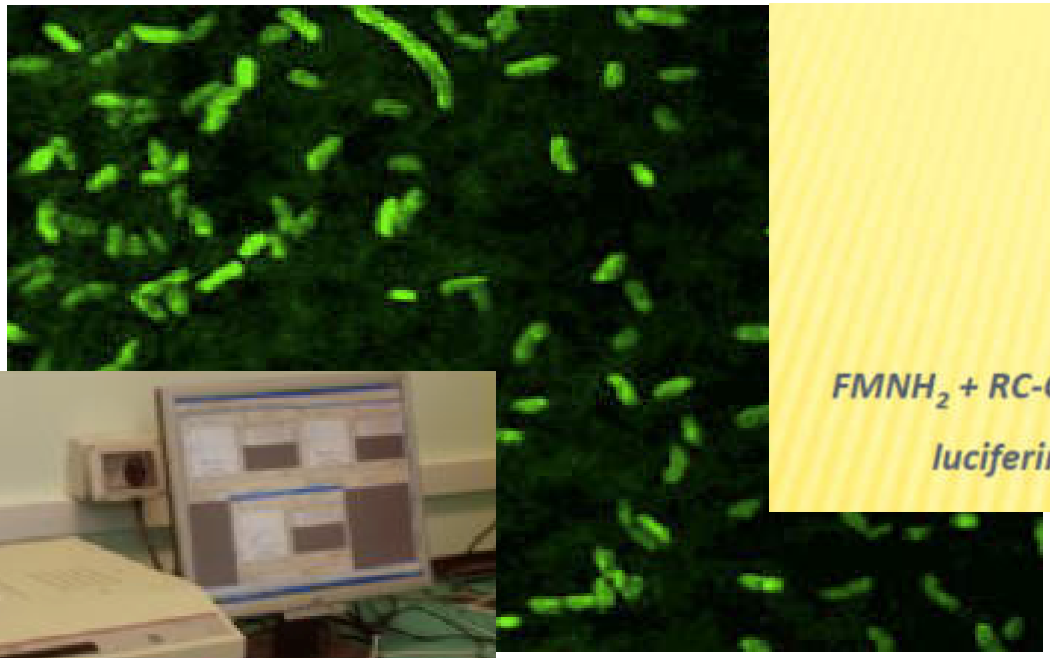


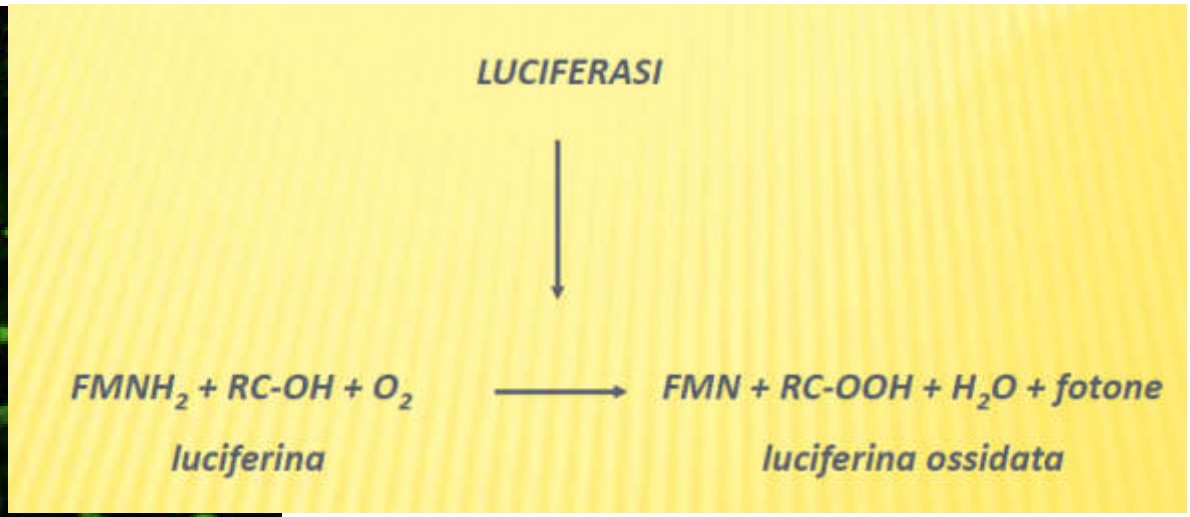
Test acuti con batteri bioluminescenti

- *Vibrio fisheri* (MICROTOX®).

Inibizione della bioluminescenza naturalmente emessa dai batteri marini a 5, 10, 15 minuti di esposizione.

Interferenza o errore sono dovuti a sostanze volatili, torbidità del campione, presenza di cloro attivo, pH, sostanze che possono chelare i metalli e ridurne la biodisponibilità (EN ISO 11348, 1996).

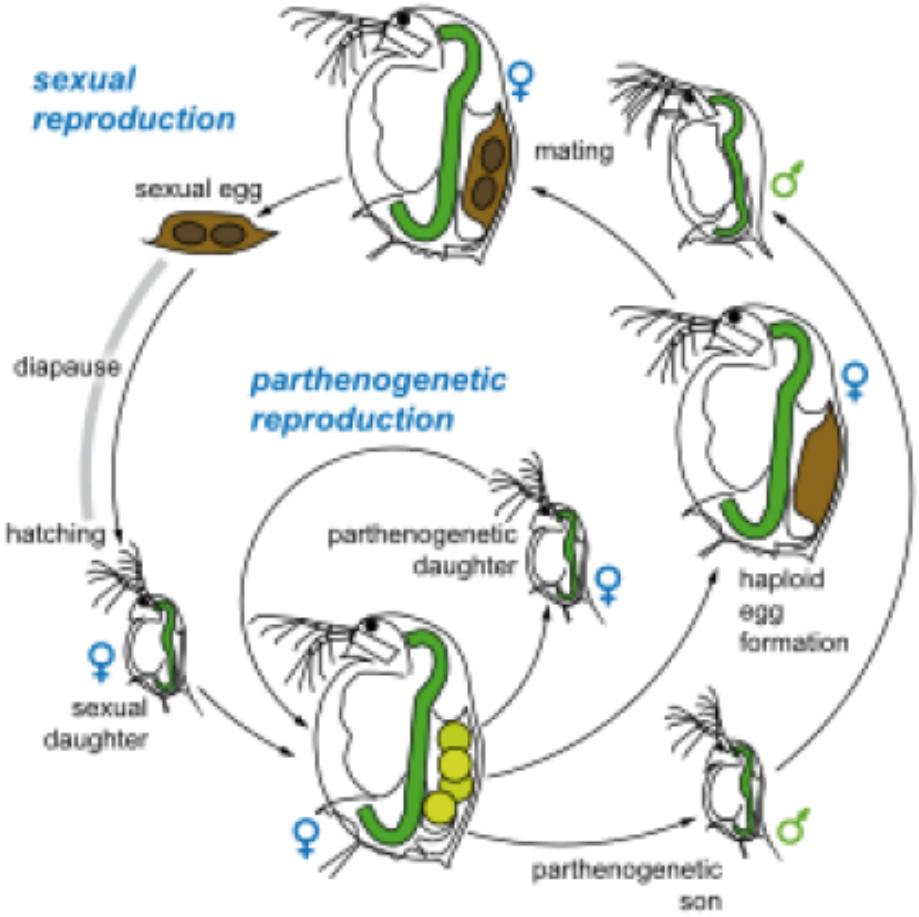




Test acuti con crostacei cladofori



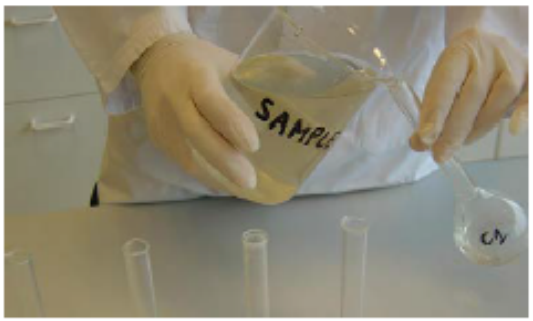


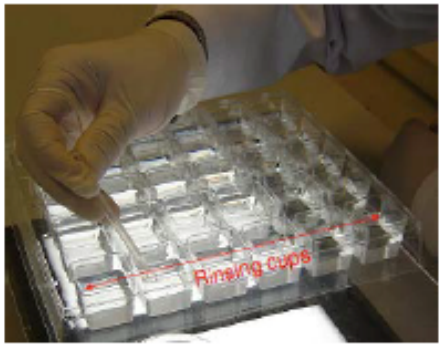


- *Daphnia magna* o *Ceriodaphnia dubia*. Molto sensibili all'inquinamento da metalli pesanti. Si osserva la percentuale di individui sopravvissuti (ISO,1996).



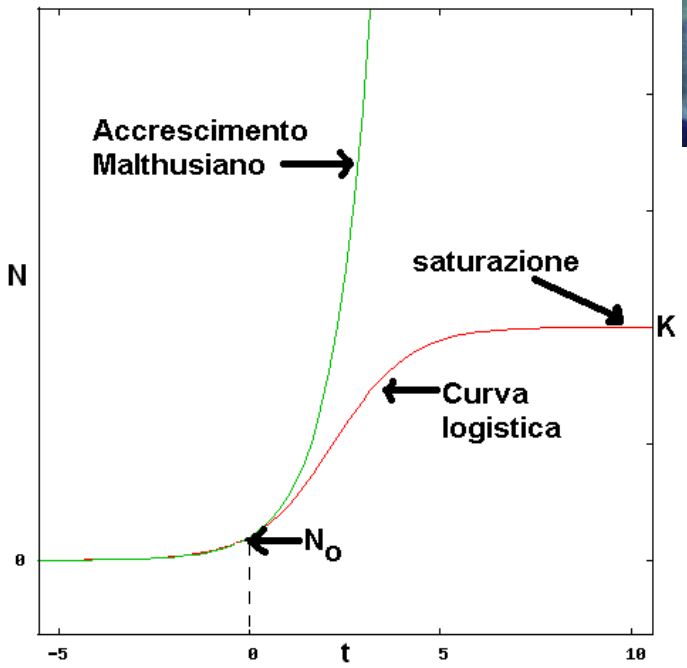


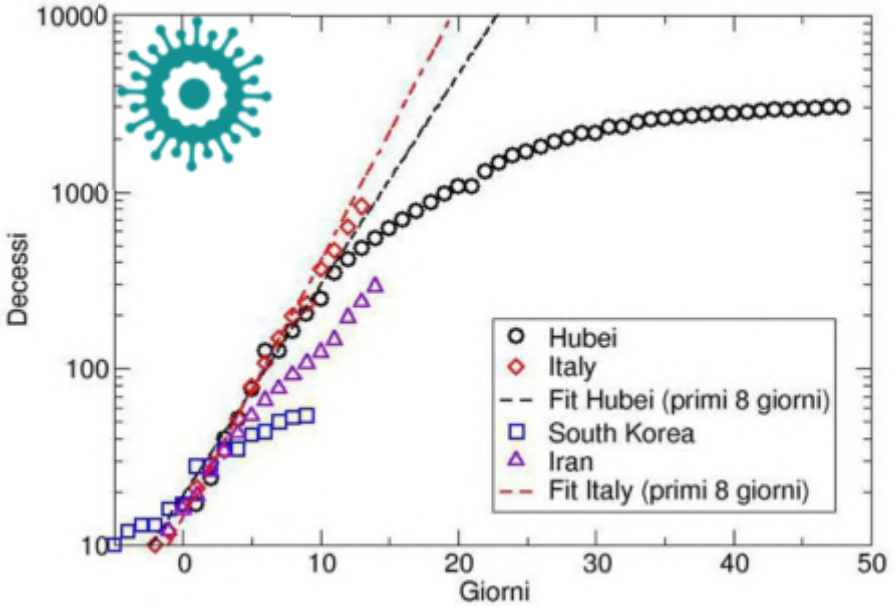




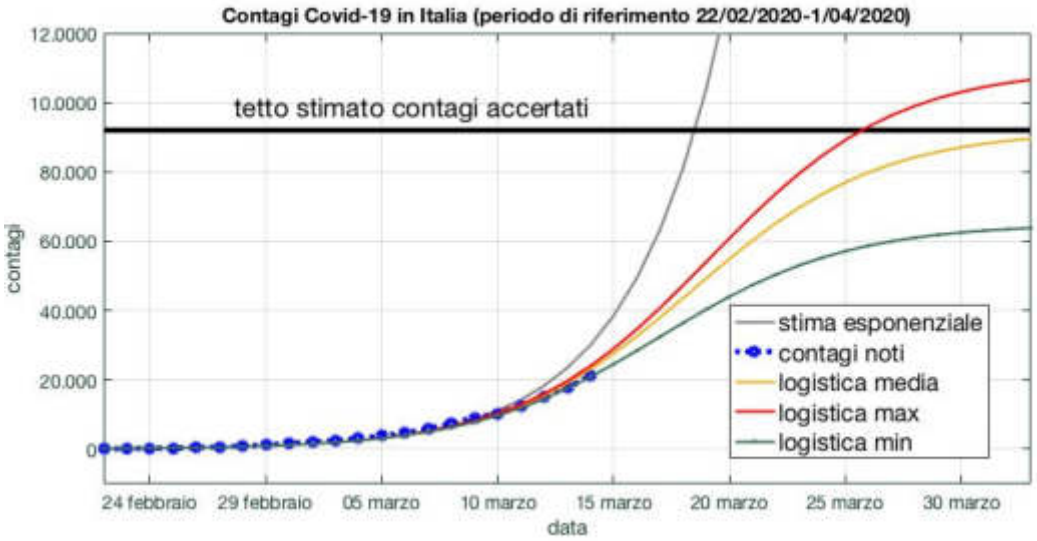
Saggi ecotossicologici cronici – le curve di crescita

1838. Verhulst. Descrive la curva di crescita di una popolazione in presenza di poche risorse trofiche.
La curva **prende il nome di curva logistica** e costituisce il principale riferimento per la crescita di popolazioni.



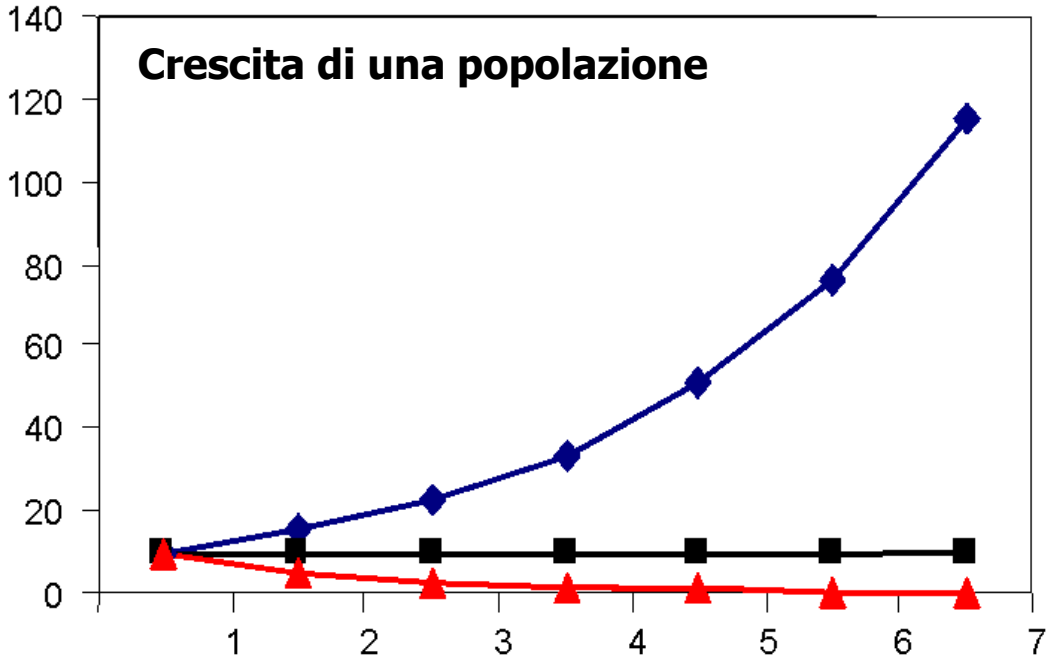


https://scienze.fanpage.it/come-si-diffonde-il-coronavirus-nel-mondo-esperto-curva-in-italia-identica-a-cina/



Fonte: Prof. A. Galletti, Università di Napoli «Parthenope»,

• Solo alcune popolazioni reali raramente presentano tassi di accrescimento di tipo esponenziale



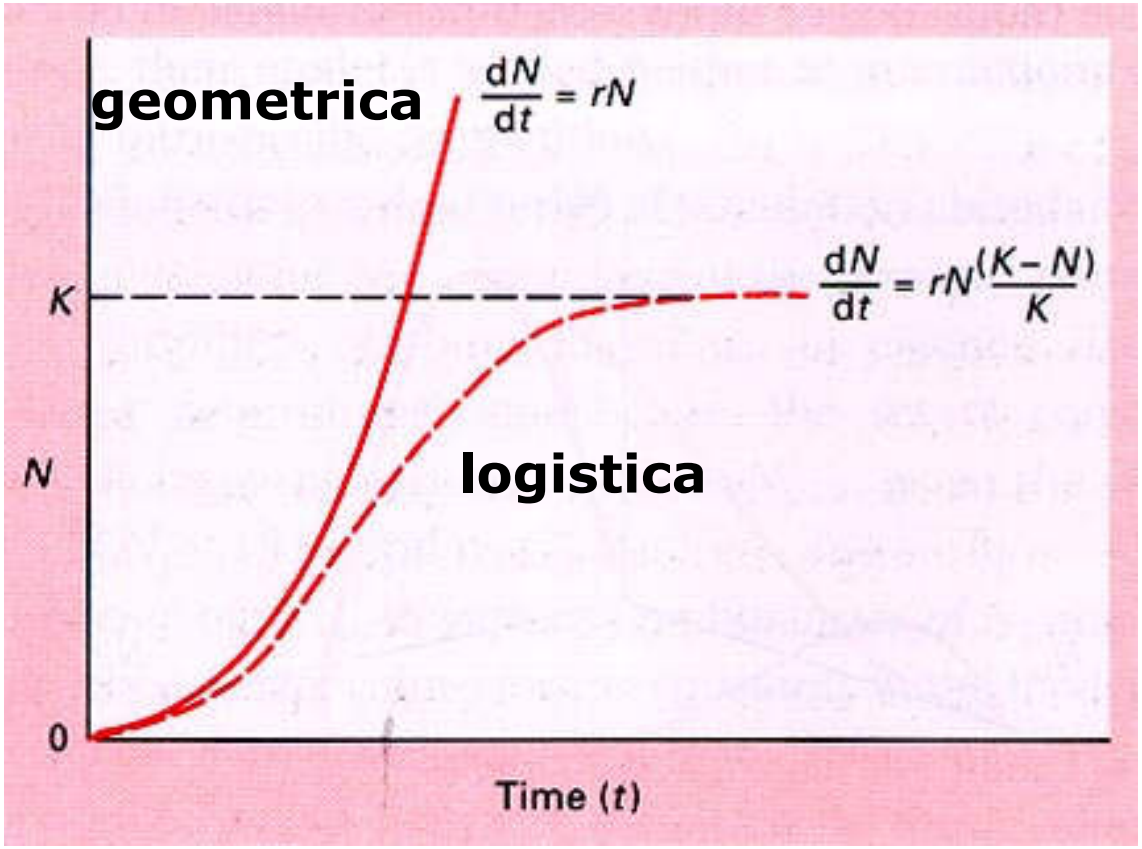
• Una specie introdotta in un area nuova e favorevole può presentare accrescimento esponenziale per qualche generazione (*alien species*).

• Quando tuttavia i vincoli dell'ambiente intervengono sul tasso di aumento, l'accrescimento tende a diminuire e la popolazione tende e stabilizzarsi [es: *E. coli* in una piastra ricca di nutrienti oppure pesci introdotti in un lago ricco di nutrienti ma senza predatori].

Modelli matematici accrescimento popolazione

Curva geometrica
Le popolazioni hanno la potenzialità di riprodursi in modo geometrico (esponenziale; Malthus 1798)





Curva logistica

dN/dt = rN[(K-N)/K]
dove:
N = numero di individui nella popolazione
t = tempo,
r = tasso intrinseco di crescita,
K = limite superiore di crescita di una popolazione o capacità portante (the "carrying capacity").

Saggi ecotossicologici standardizzati per ambiente acquatico

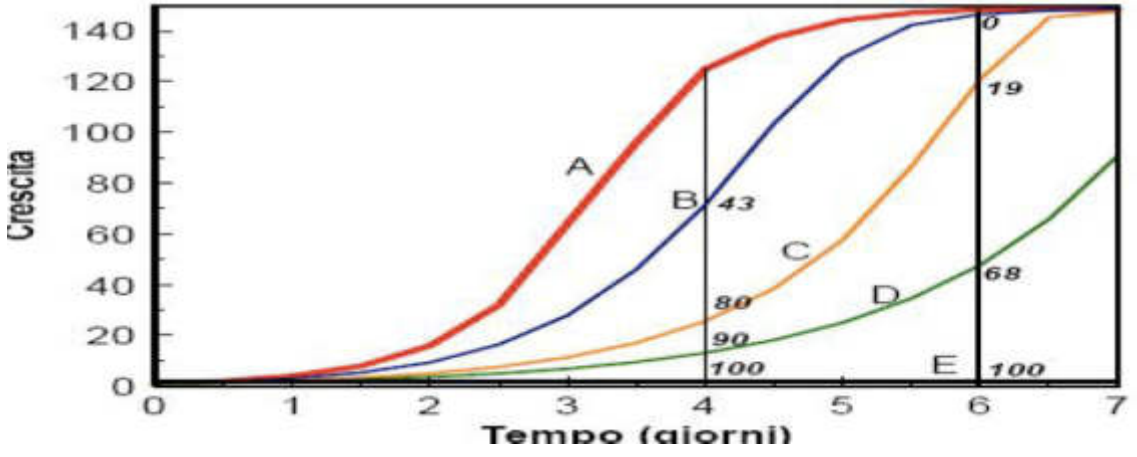
- Saggi con microalghe.

Le specie utilizzate sono *Dunaliella tertiolecta*, *Skeletonema costatum* e *Phaeodactylum tricornutum* (ISO, 1995), *Scenedesmus subspicatus* e *Pseudokirchneriella subcapitata* (ex Selenastrum capricornutum) (ISO, 1989).

La valutazione della tossicità si basa sull'inibizione della crescita nelle 24-48 h (tossicità acuta) e dopo 5 giorni (tossicità cronica).

Anche i risultati che evidenziano biostimolazione (aumento della crescita e delle attività metaboliche) possono essere interpretati in senso negativo, in quanto l'organismo aumenterebbe la biomassa per operare una diluizione dell'eccesso di nutrienti.

Le alghe sono ubiquitarie negli ecosistemi acquatici e rappresentano l'anello alla base della rete trofica essendo produttori primari



Test con specie algali unicellulari

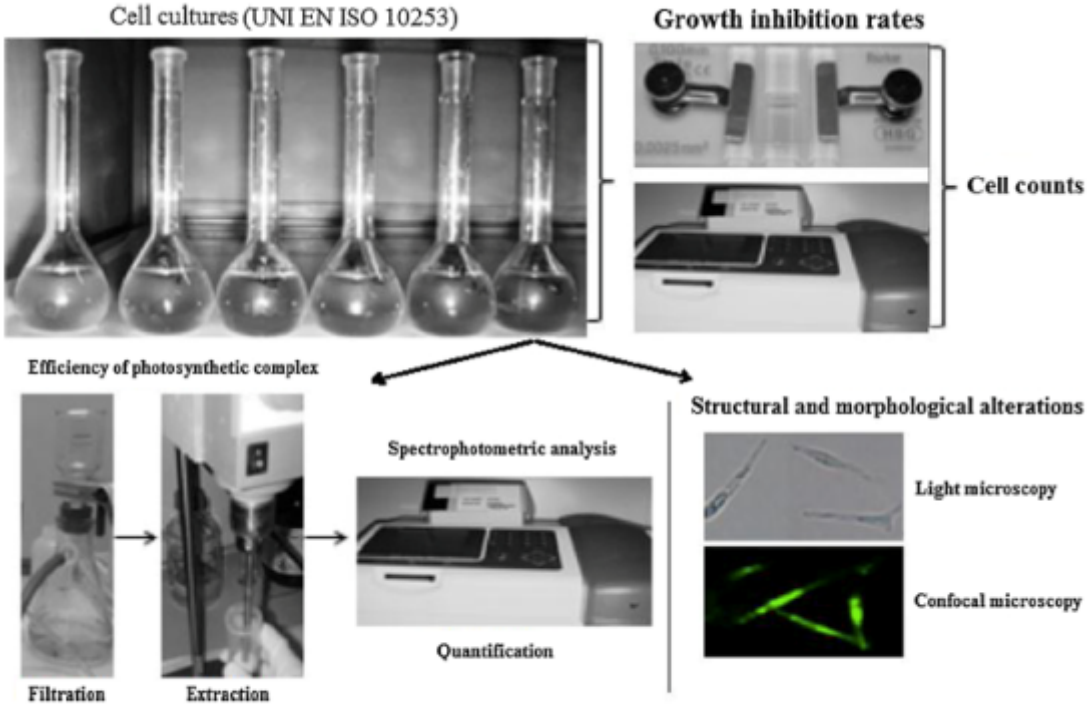
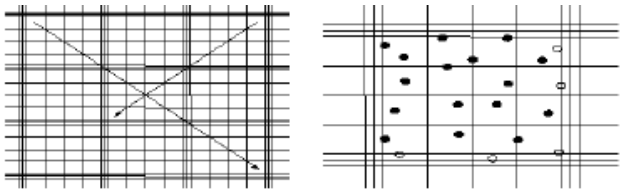
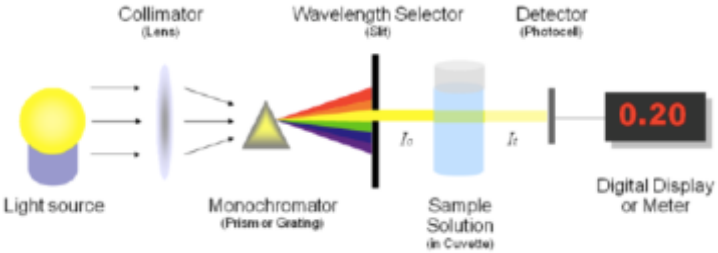


Fig. 1 Logical model adopted for experimental design. The figure summarises the logical model adopted for the ecotoxicological tests performed. Experimental procedures were conducted in triplicate ($n = 3$). Cell cultures were treated as described in the text

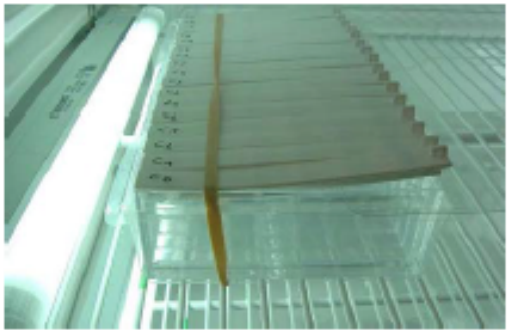


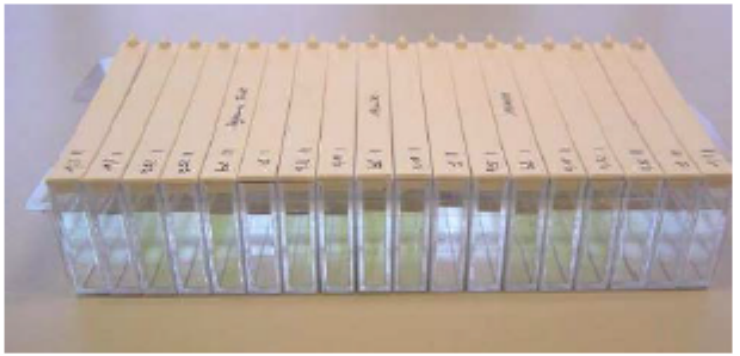
Every little square= 1/250 microliters











Ecotoxicology (2014) 23:1055–1072
DOI 10.1007/s10646-014-1249-z

Early warning tools for ecotoxicity assessment based on *Phaeodactylum tricornutum*

Monia Renzi · Leonilde Roselli · Andrea Giovani · Silvano E. Focardi · Alberto Basset

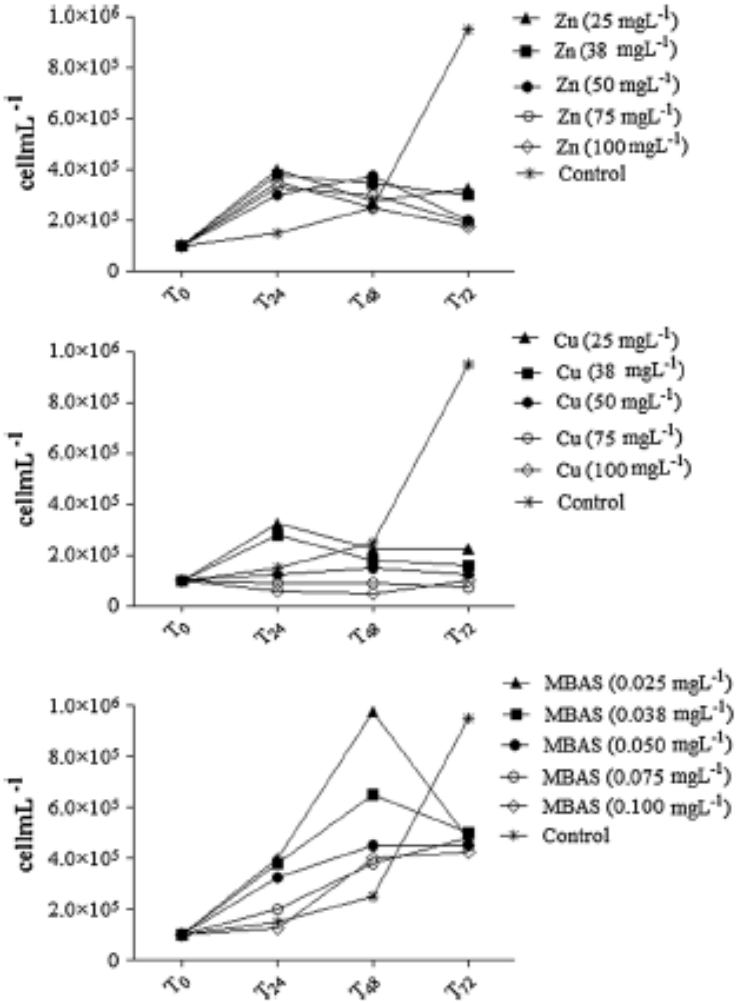
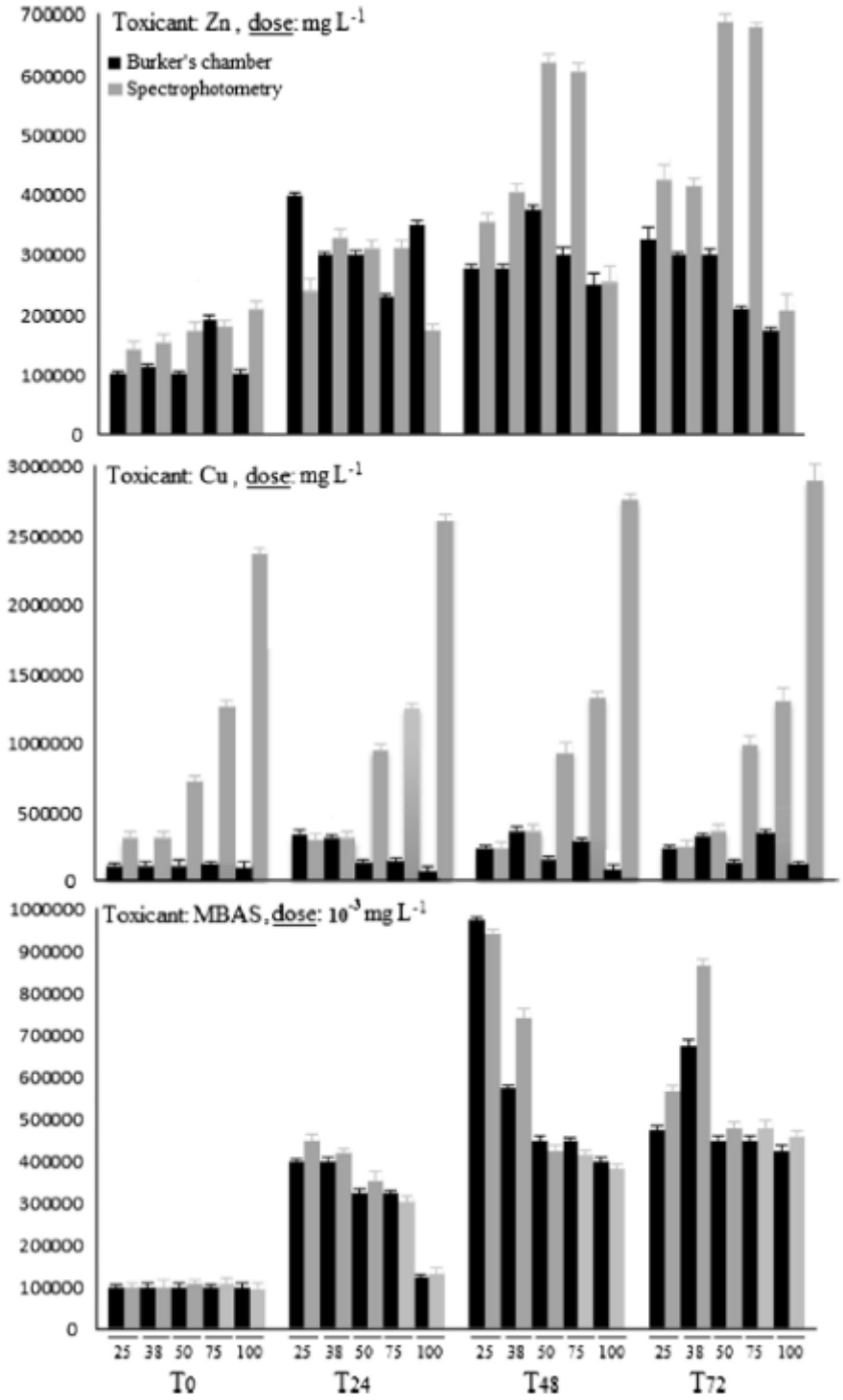


Fig. 3 Growth inhibition test results. Average number of cells ($n = 3$) is reported for each dose and time (reported data are from Burker's Chamber counts)

Fig. 2 Comparison of cell density values obtained by different methods. Differences between results obtained by Burker's chamber counts (average values + SD, $n = 20$) and spectrophotometric readings (average values + SD, $n = 3$) for different doses at each exposure time. T_0 readings were performed immediately after toxicant addition. Results are expressed as number of cells per millilitre of culture solution. Average differences (%) among control counts (±SD) were: 1.3(±0.05), 6.5(±0.03), 15.5(±0.1), 0.3(±0.03) at T_0, T_{24}, T_{48} and T_{72} respectively. Average counts (as number of cells per millilitre) for the Burker's chamber were: 100,121 (T_0), 150,035 (T_{24}), 249,099 (T_{48}), 951,060 (T_{72}); for the spectrophotometric readings they were: 98,693 (T_0), 140,277 (T_{24}), 211,083 (T_{48}), and 953,045 (T_{72})

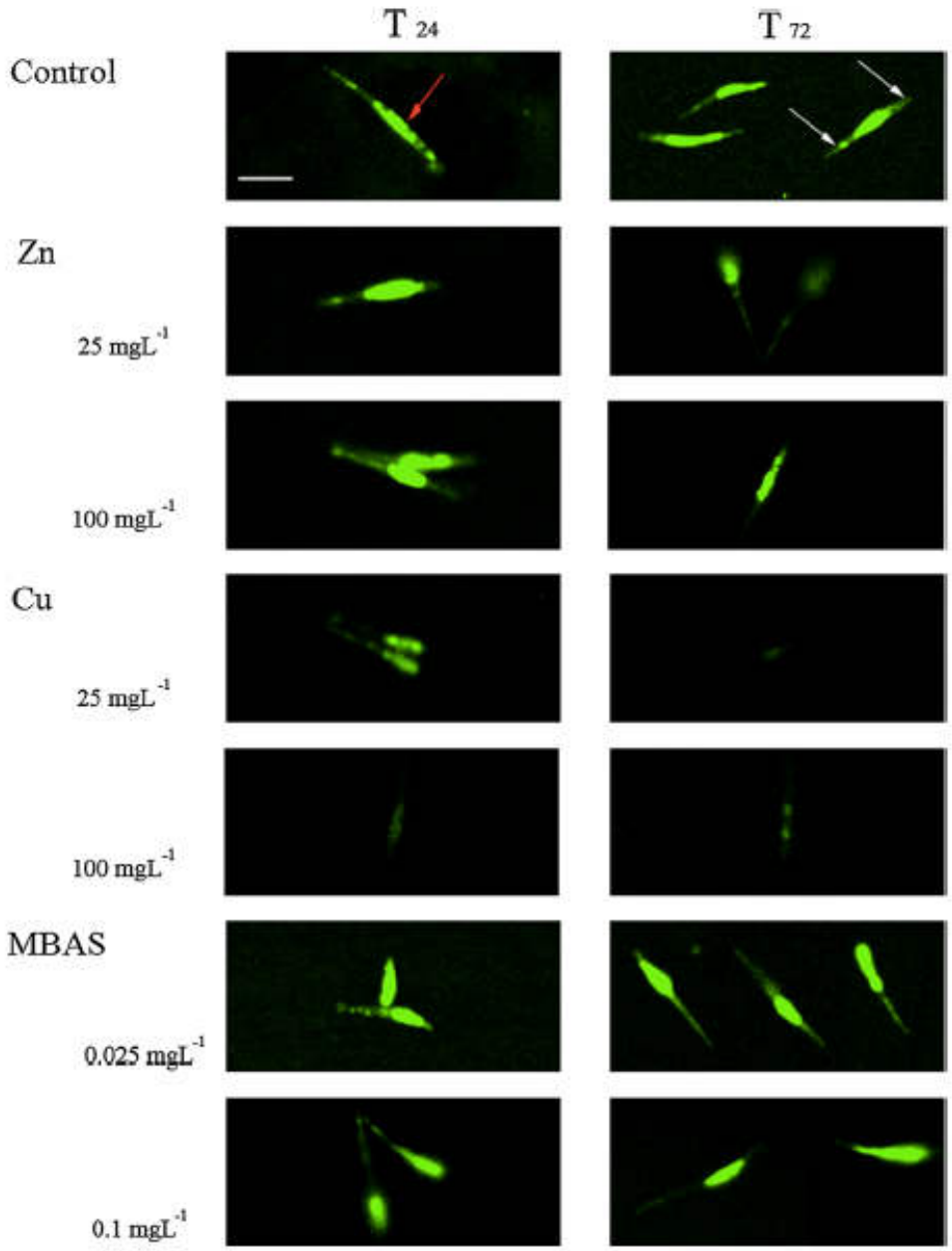


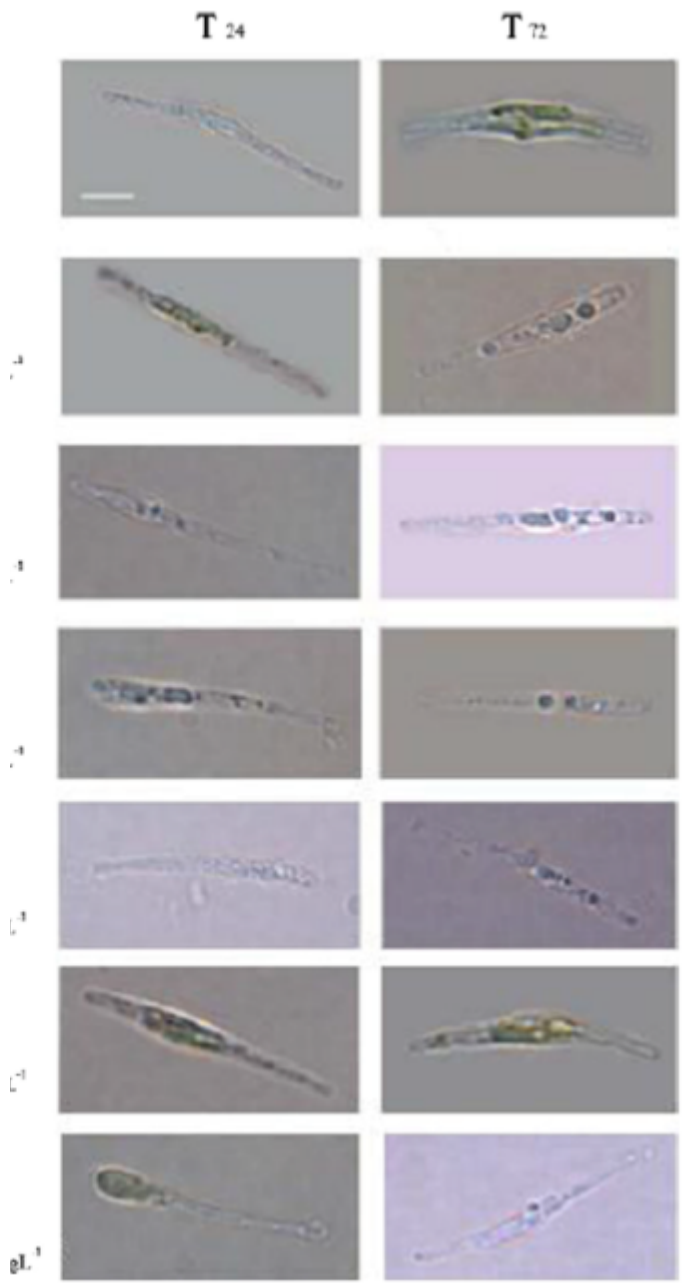
Endpoints precoci: alterazioni del volume cellulare e dell'attività del cloroplasto

Ecotoxicology (2014) 23:1055–1072
DOI 10.1007/s10646-014-1249-z

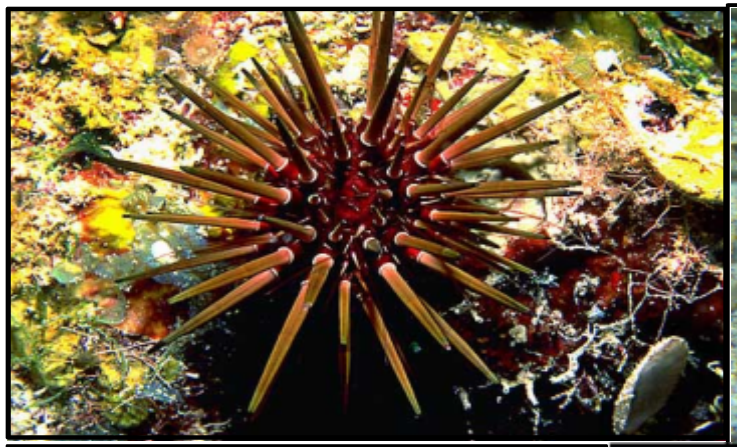
Early warning tools for ecotoxicity assessment based on *Phaeodactylum tricornutum*

Monia Renzi · Leonilde Roselli · Andrea Giovani · Silvano E. Focardi · Alberto Basset





ECHINOIDEI



OLOTUROIDEI



CRINOIDEI



OFIUROIDEI





ASTROIDEI

Phylum Echinodermata
Invertebrati marini



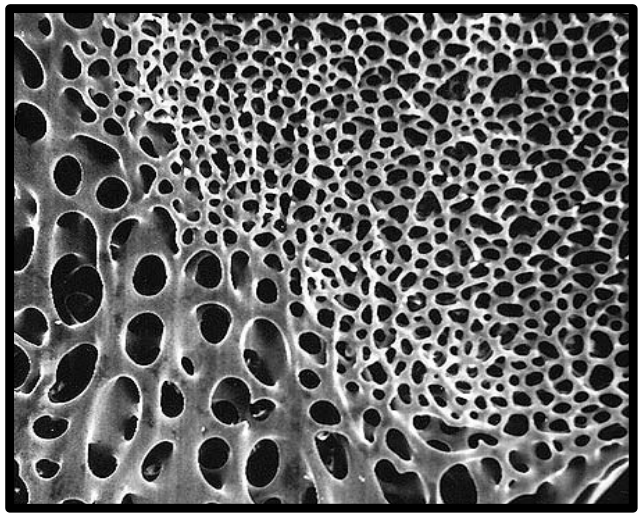
Caratteristiche Generali

Corpo

- **Con braccia** che si irradiano da disco centrale (asteroidei, ofiuroidei, crinoidei)
- **Senza braccia**
  - sferico (echinoidei regolari)
  - ovoidale (echinoidei irregolari)
  - sacciforme (oloturoidei)

Parete Corporea

- **Epidermide** (monostratificata, ciliata, con elementi sensori)
- **Derma** (con scheletro)



Endoscheletro **Cristalli di calcite** depositati in cellule del derma. Accrescimento e ramificazione dei cristalli con divisione del nucleo e formazione di sincizio.

Echinodermi
5 classi

Asteroidei - Corpo con disco centrale e braccia (di solito 5). Simmetria Pentaraggiata.
Ofiuroidei - Corpo con disco centrale e braccia lunghe e sottili (di solito 5). Simmetria Pentaraggiata
Echinoidei - Regolari e Irregolari corpo globoso privo di braccia. Simmetria Pentaraggiata o Bilaterale.
Oloturoidei - Asse polare esteso parallelamente al substrato. Simmetria bilaterale. Pedicelli modificati a tentacoli attorno alla bocca
Crinoidei - Corpo a forma di cono detto "corona" può continuare in un "peduncolo" all'apice aborale (inferiore). Faccia orale divisa in 5 interambulacri braccia, biforcate alla base fino a 80-200.

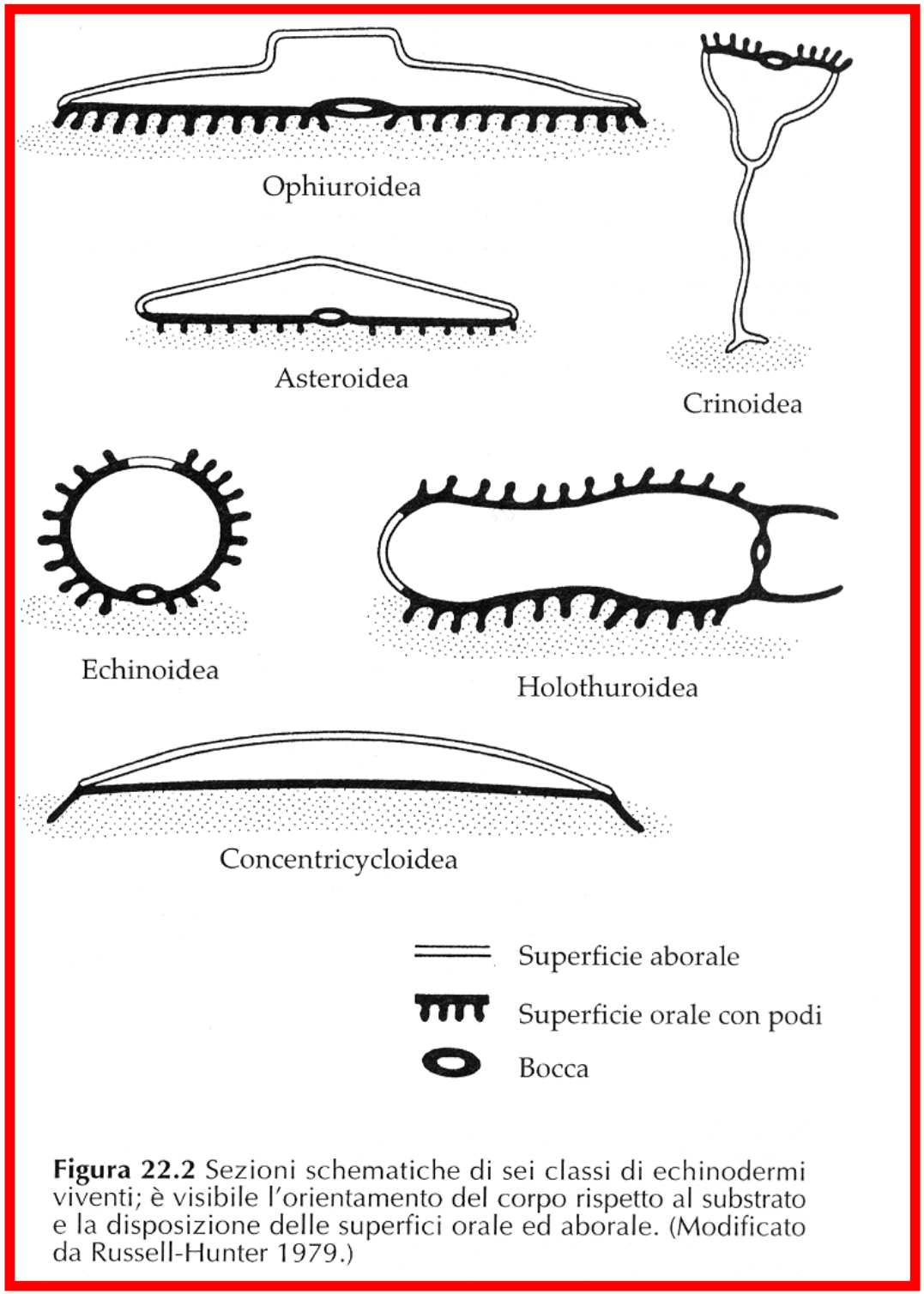


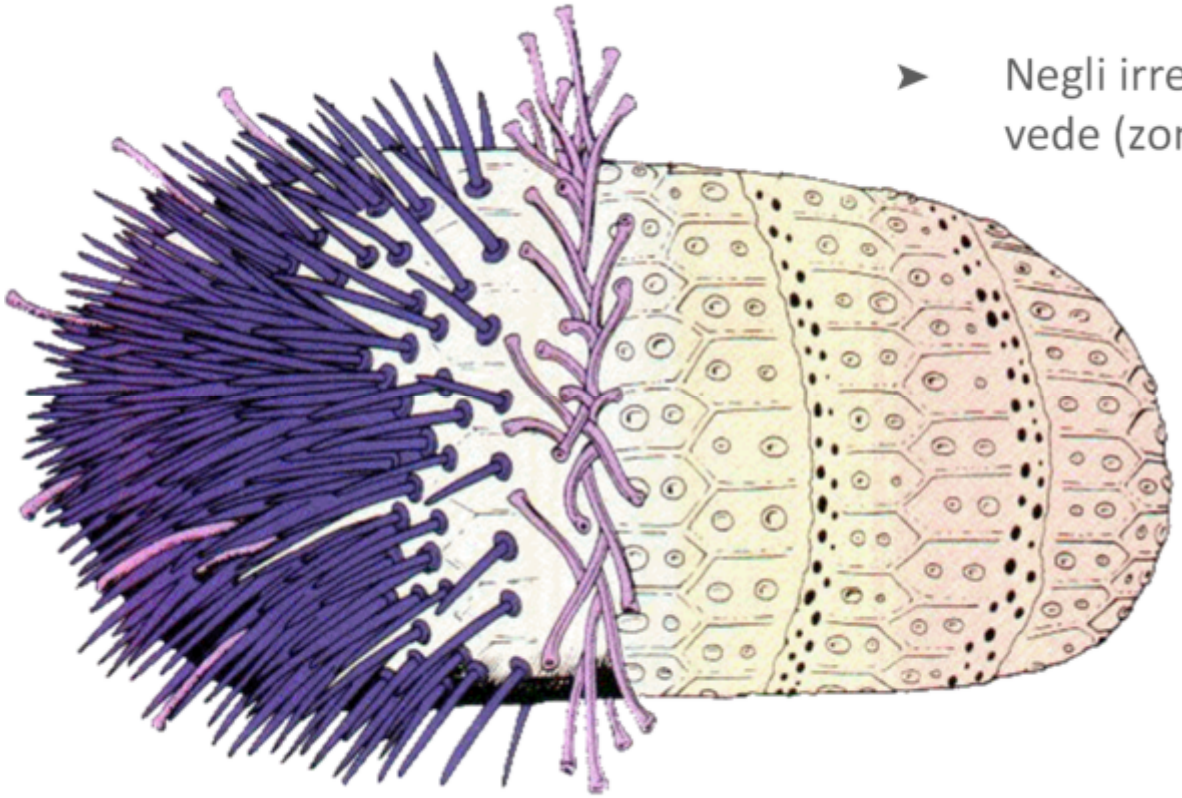
Figura 22.2 Sezioni schematiche di sei classi di echinodermi viventi; è visibile l'orientamento del corpo rispetto al substrato e la disposizione delle superfici orale ed aborale. (Modificato da Russell-Hunter 1979.)

I ricci di mare: caratteristiche principali

- I ricci di mare appartengono al *Phylum* degli Echinodermi (Echinodermata).
- Ben noti dall'inizio del Cambriano con 6000 specie viventi ma oltre 20000 estinte.

➤ La caratteristica principale degli echinoidei è la presenza di un dermascheletro esterno ricoperto da aculei (mobili grazie a specifica muscolatura).

➤ 5 Settori ambulacrali con podia e 5 settori interambulacrali senza podia. Questa struttura è ben visibile nei ricci regolari.



➤ Negli irregolari (spatangoidi) la distinzione non si vede (zone ambulacrali denominate petaloidi).

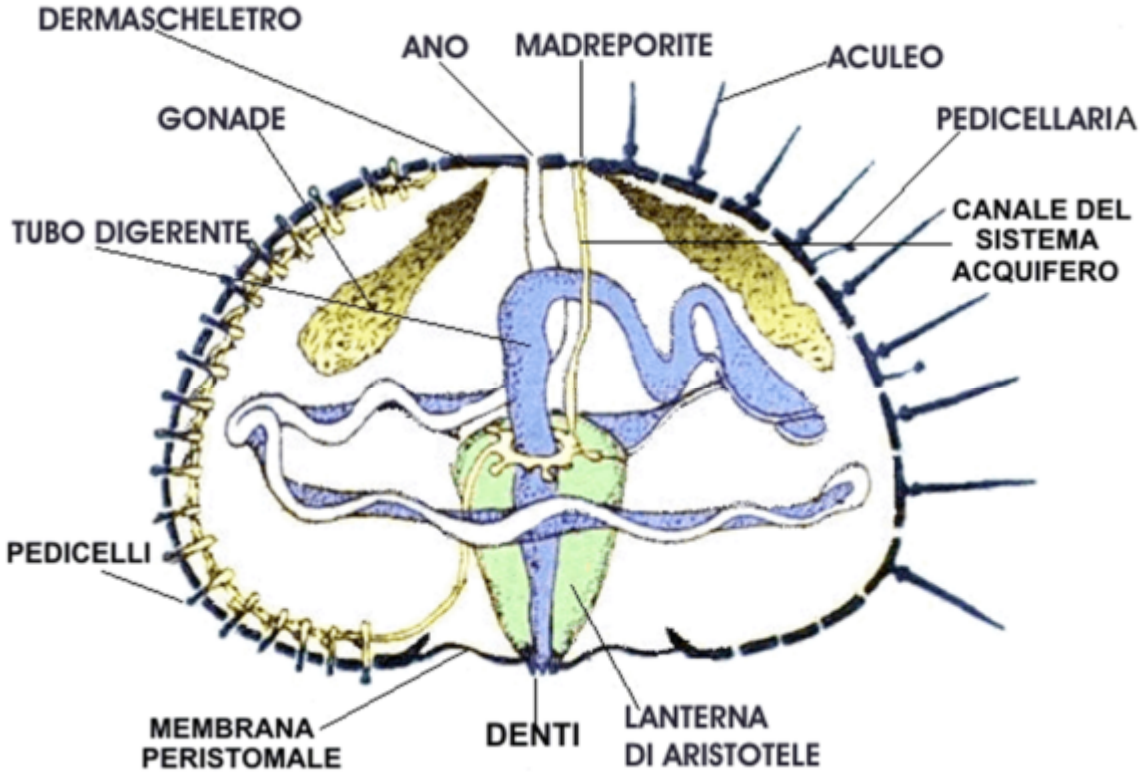
Dermascheletro





➤ I podia si extroflettono grazie al sistema acquifero in comunicazione con l'esterno attraverso il madreporite.

- Ricoprono il corpo le pedicellarie, peduncolate e provviste di tre mascelle, per la pulizie e spostare piccoli oggetti.
- In alcune specie le pedicellarie sono provviste di ghiandole velenose (globifere).

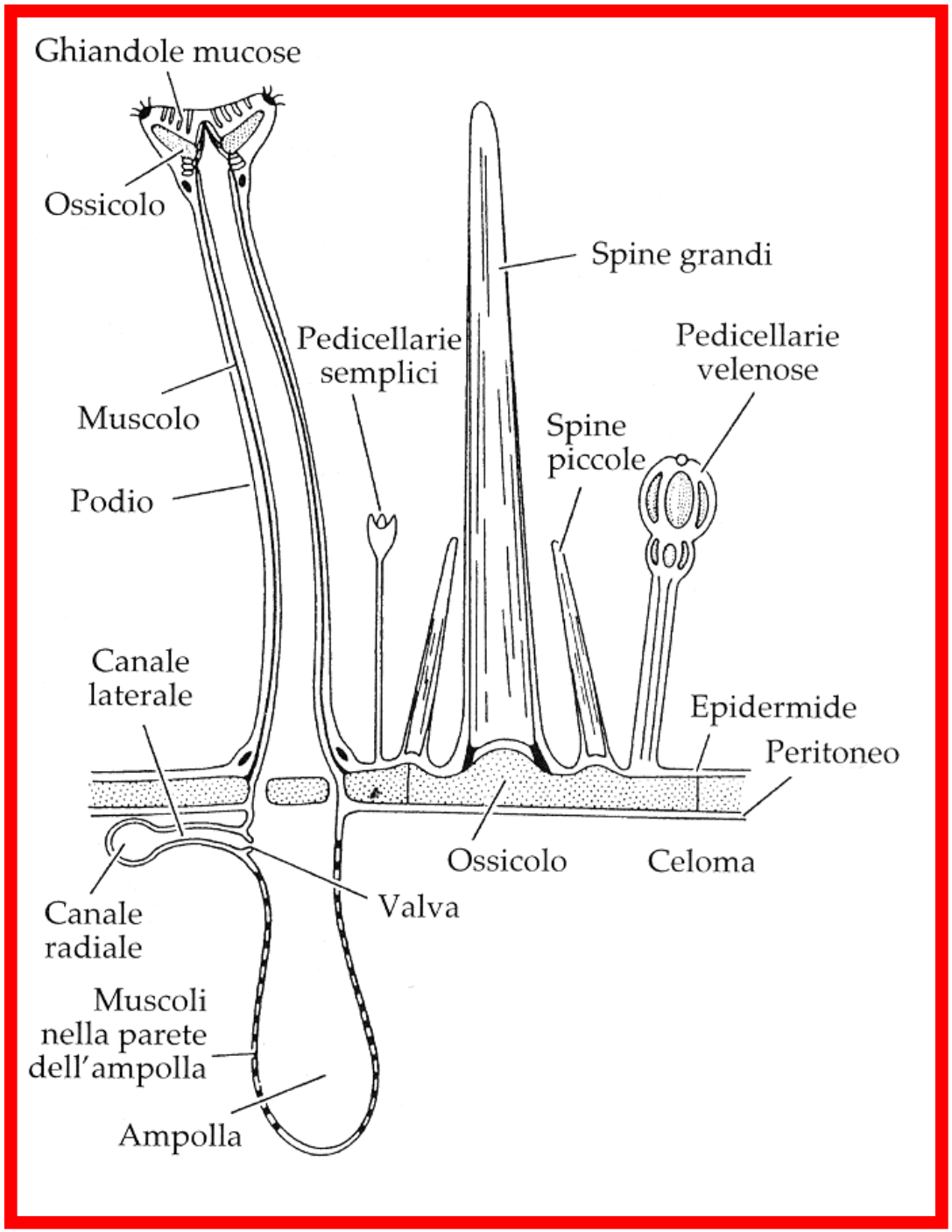


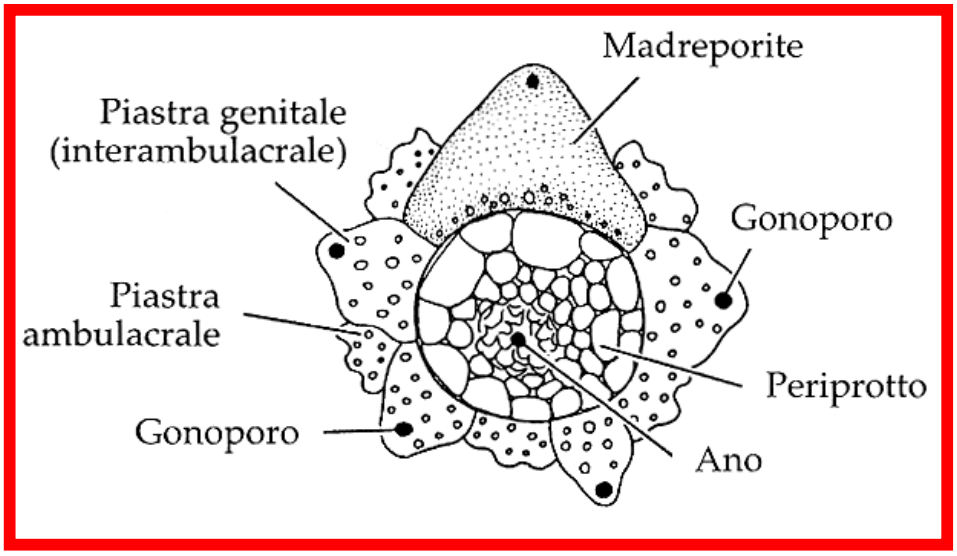


➤ La bocca è rivolta verso il substrato. Sporgono i cinque denti della lanterna di Aristotele, complessa struttura calcarea per la triturazione del cibo.

➤ Intorno alla bocca ci sono i podia boccali e intorno a questi cinque paia di strutture cespugliose a funzione respiratoria, le branchie.

➤ L'apertura anale si apre nella parte rivolta verso l'alto. E circontata da cinque più cinque piastre dove di aprono i canali genitali e il madreporite.


Ghiandole mucose
Ossicolo
Spine grandi
Pedicellarie semplici
Pedicellarie velenose
Muscolo
Spine piccole
Podio
Canale laterale
Epidermide
Peritoneo
Ossicolo
Celoma
Canale radiale
Valva
Muscoli nella parete dell'ampolla
Ampolla


Madreporite
Piastra genitale (interambulacrale)
Gonoporo
Piastra ambulacrale
Periprotto
Gonoporo
Ano

- I Clipeastroidi (dollaro della sabbia) hanno aspetto discoidale.





Riccio matita tropicale



I ricci di mare: tra leggenda e realtà

Animali a sessi separati senza dimorfismo sessuale

Questa è la specie di interesse ecotossicologico



«Riccio Maschio»
Arbacia Lixula



«Riccio Femmina»
Paracentrotus lividus



Arbacia lixula

Echinoideo regolare, caratterizzato da un dermascheletro robusto e depresso ai poli, con aculei lunghi con scanalature longitudinali poco marcate e tubercoli primari presenti su tutto il corpo. Sul polo aborale, i pedicelli sono privi di ventosa e terminanti a punta.

La colorazione è nera, ma il dermascheletro denudato risulta essere rosa-grigio, le gonadi sono di colore bianco-grigiastro. Può raggiungere 6 cm di diametro. È una specie erbivora che si nutre di alghe incrostanti (in particolare le Corallinaceae), che raschia sulla roccia.

Vive su substrati rocciosi ricchi di alghe coralline, dalla superficie fino a circa 40 m di profondità.

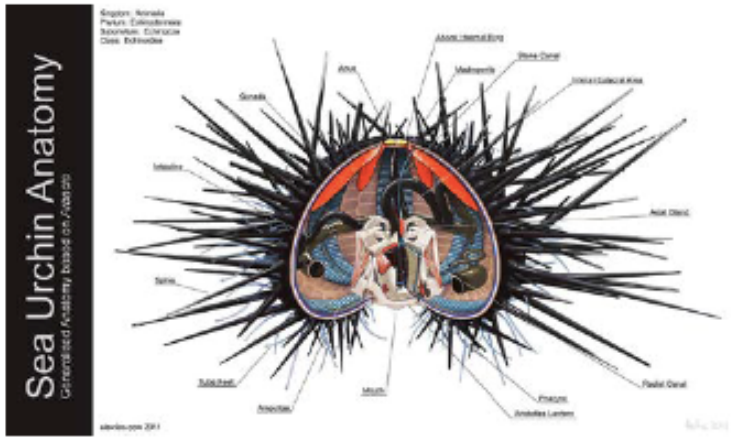
Paracentrotus lividus

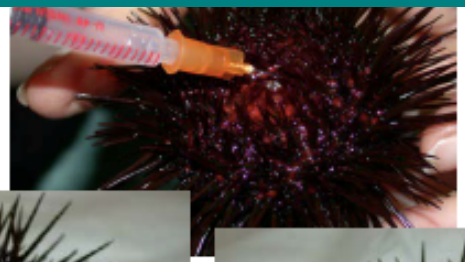
La colorazione è variabile dal marrone scuro, al violaceo, al verde, in funzione della concentrazione degli spinocromi (pigmenti); il dermascheletro denudato risulta essere verde e le gonadi sono di colore arancione-rossastro.

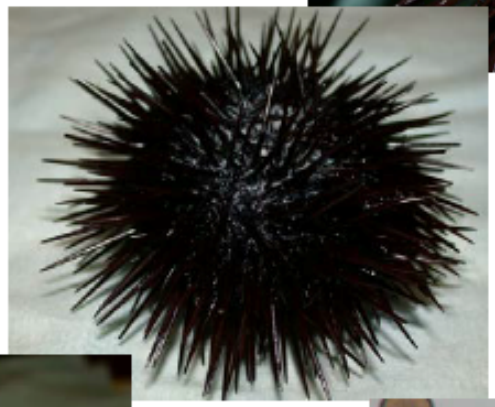
È una specie erbivora, si ciba di alghe molli e arborescenti. È una specie edule di interesse commerciale e, proprio per evitare una raccolta indiscriminata, è stato istituito un Decreto Ministeriale (D.M. 12 gennaio1995) che ne regolamenta la raccolta.

Vive su substrati rocciosi, sassosi ricchi di alghe, sul coralligeno e nelle praterie di Posidonia oceanica, dalla superficie fino a 80 m di profondità

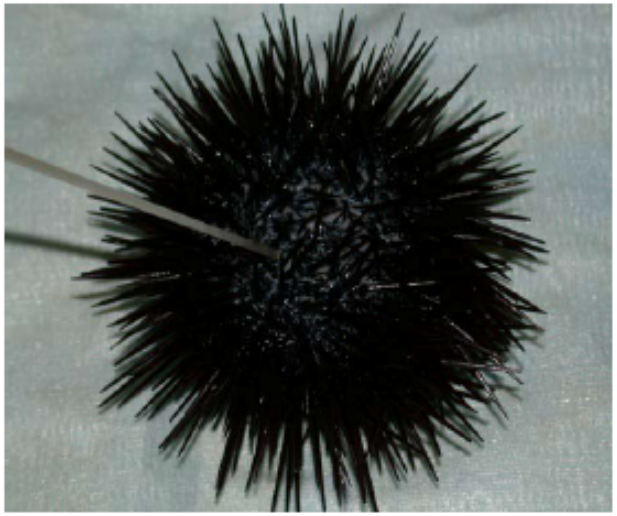
Test cronici su stadi larvali con echinodermi



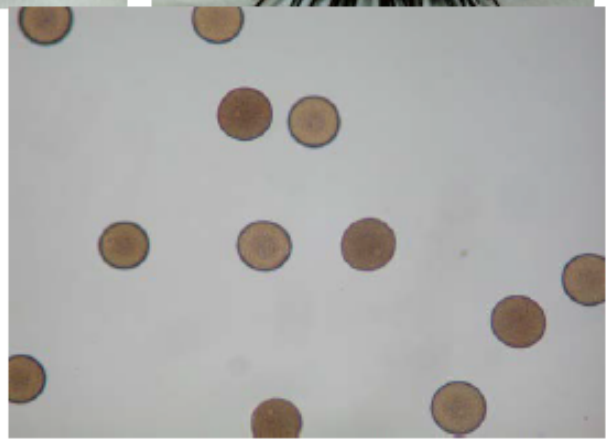


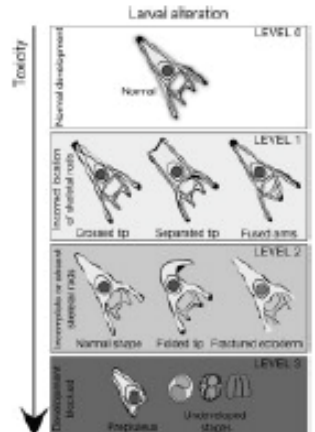


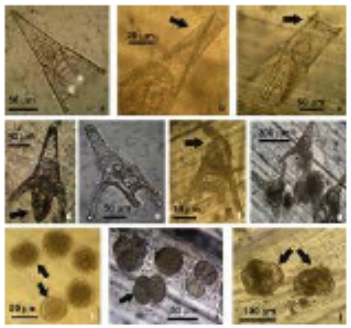


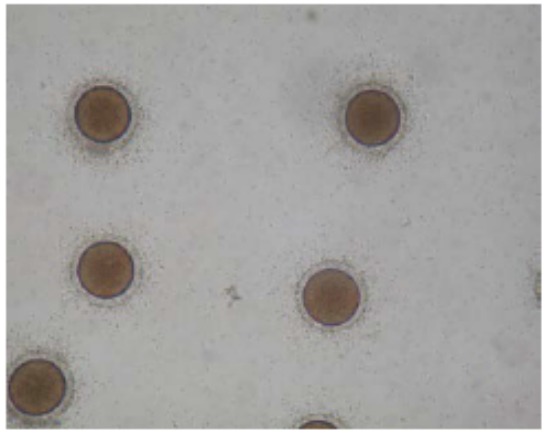




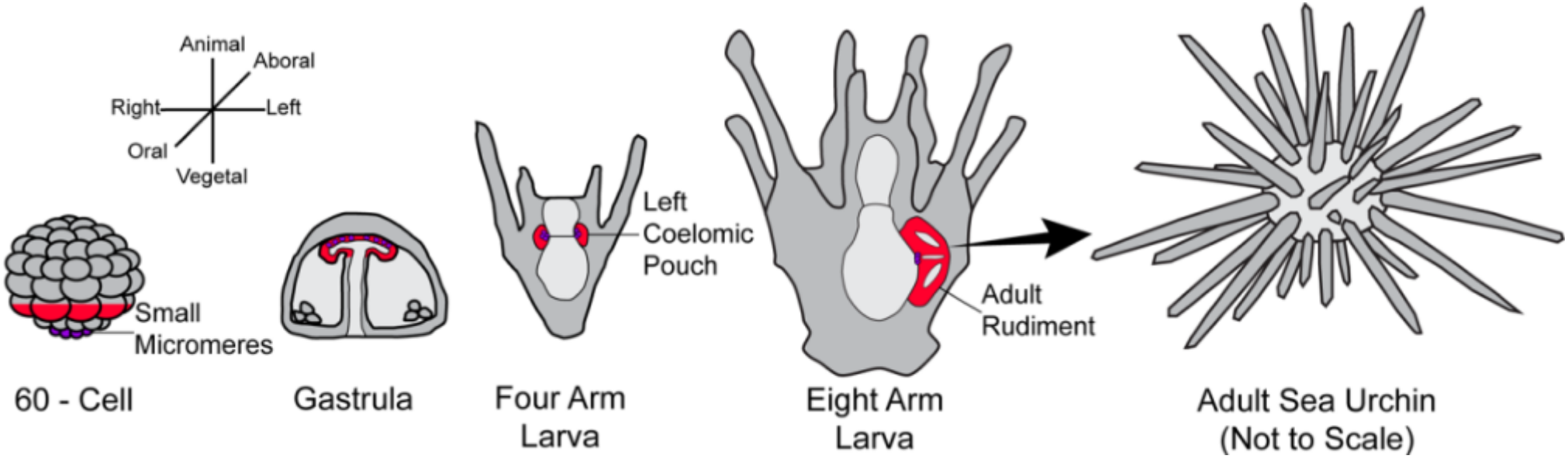




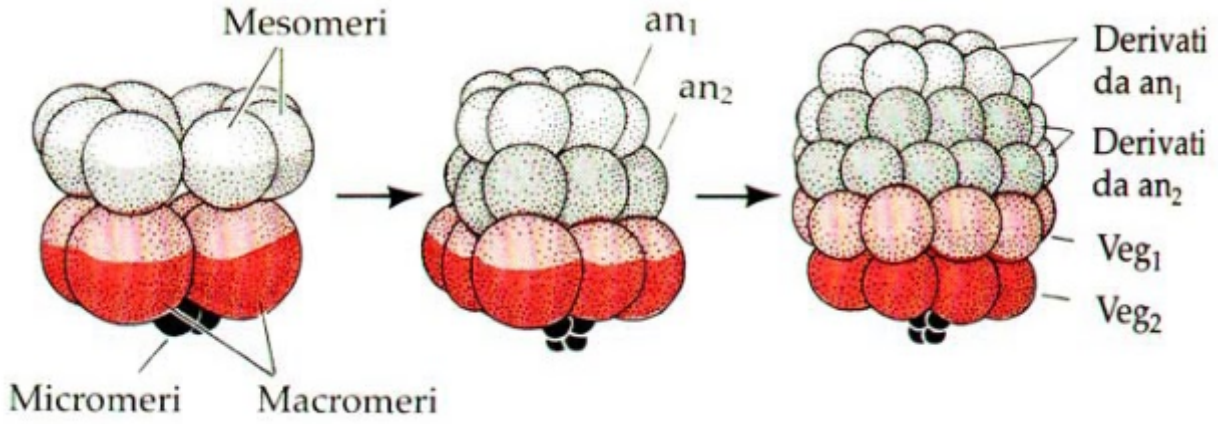


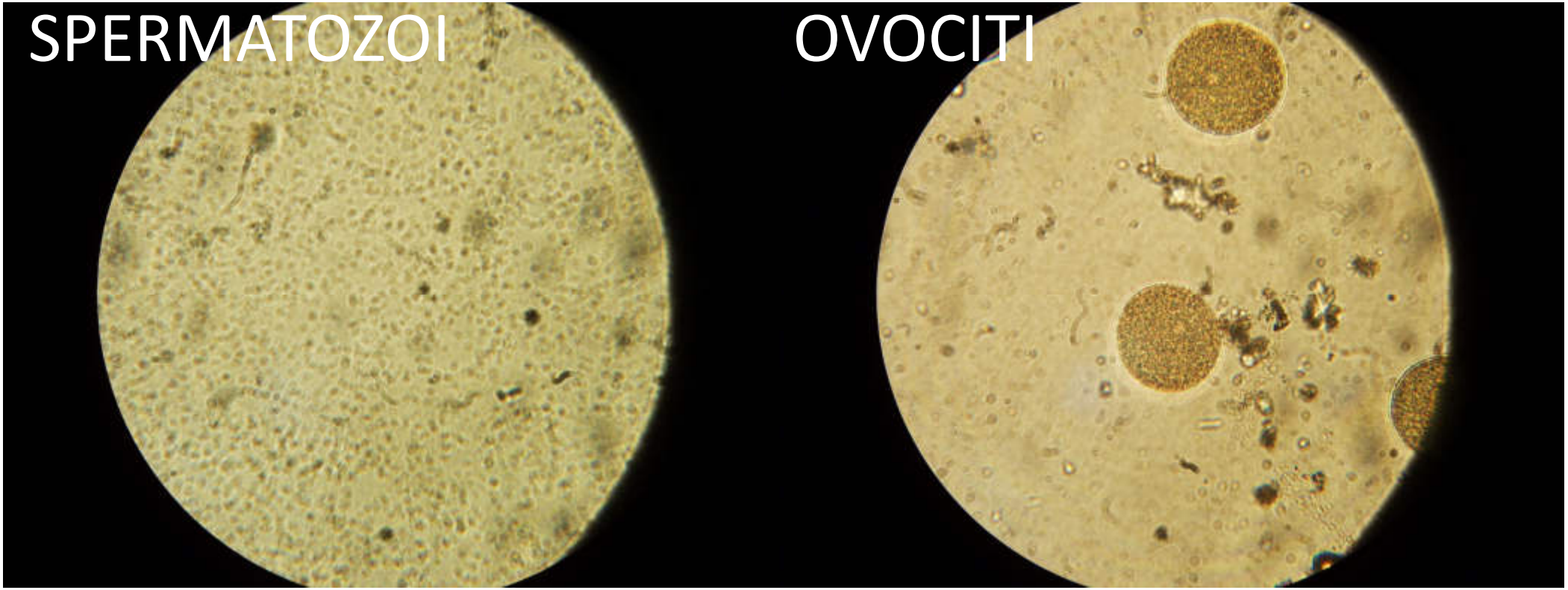


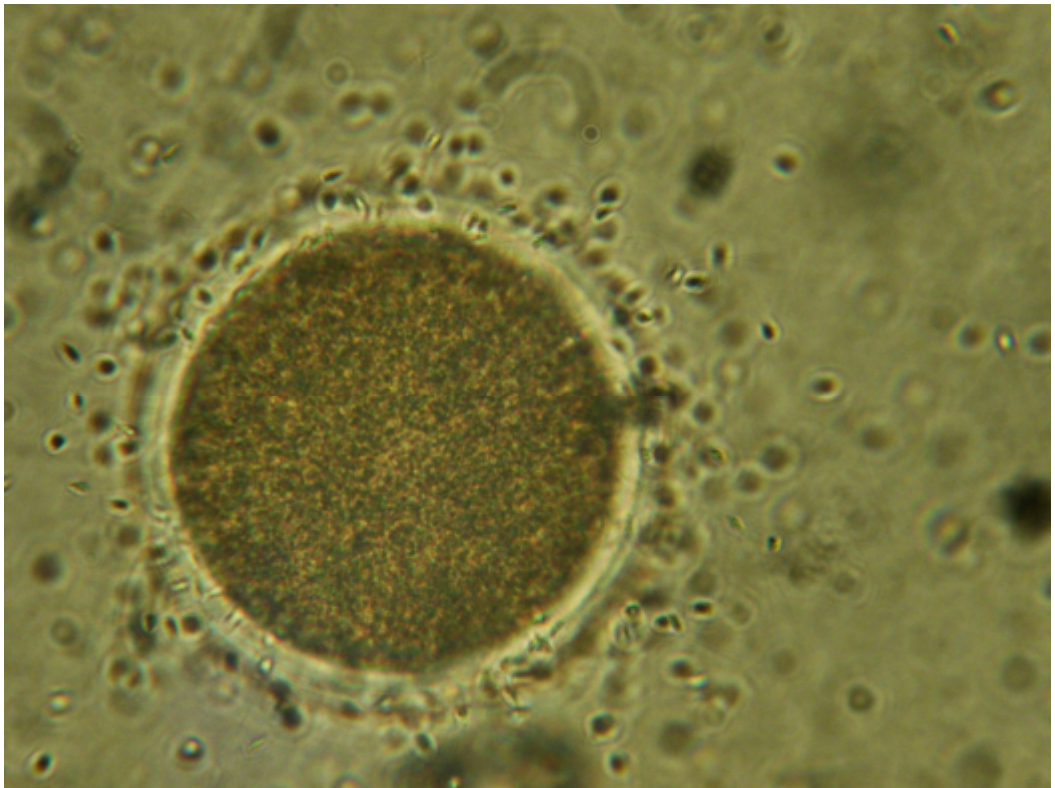
Sviluppo embrionale del riccio di mare

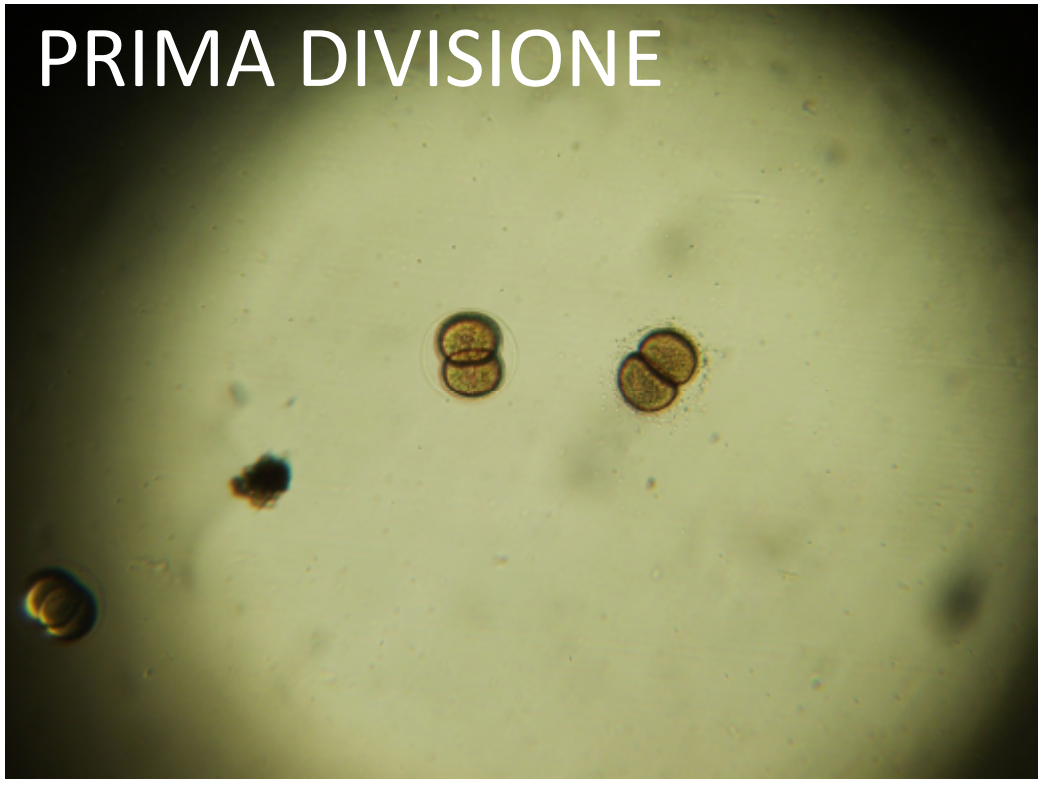


Segmentazione




SPERMATOZOI
OVOCITI




PRIMA DIVISIONE



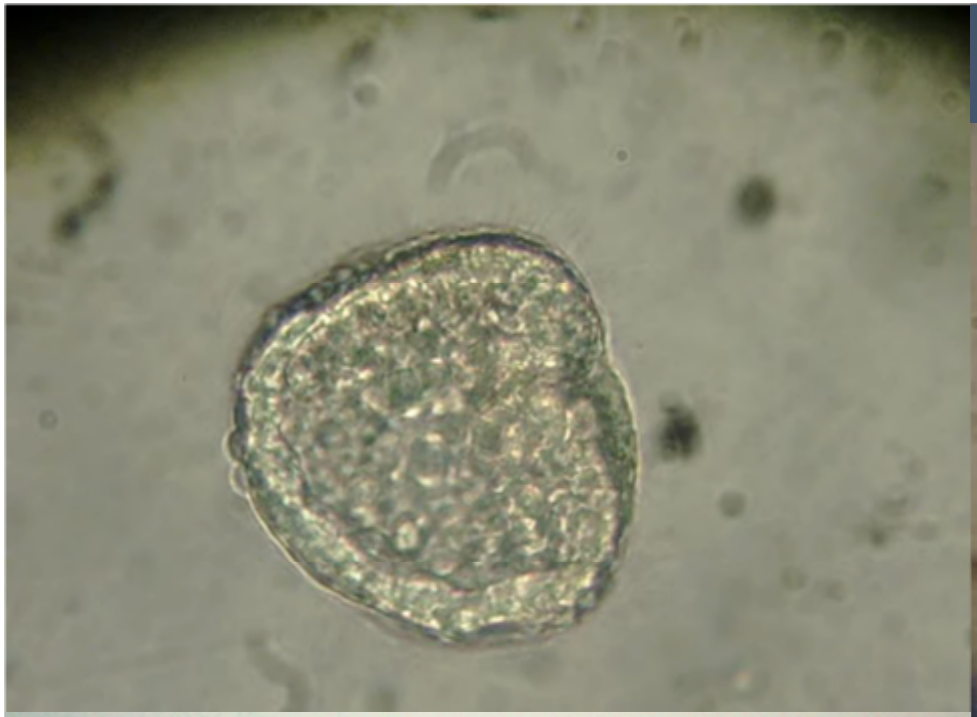


Blastula



Formazione blastocele

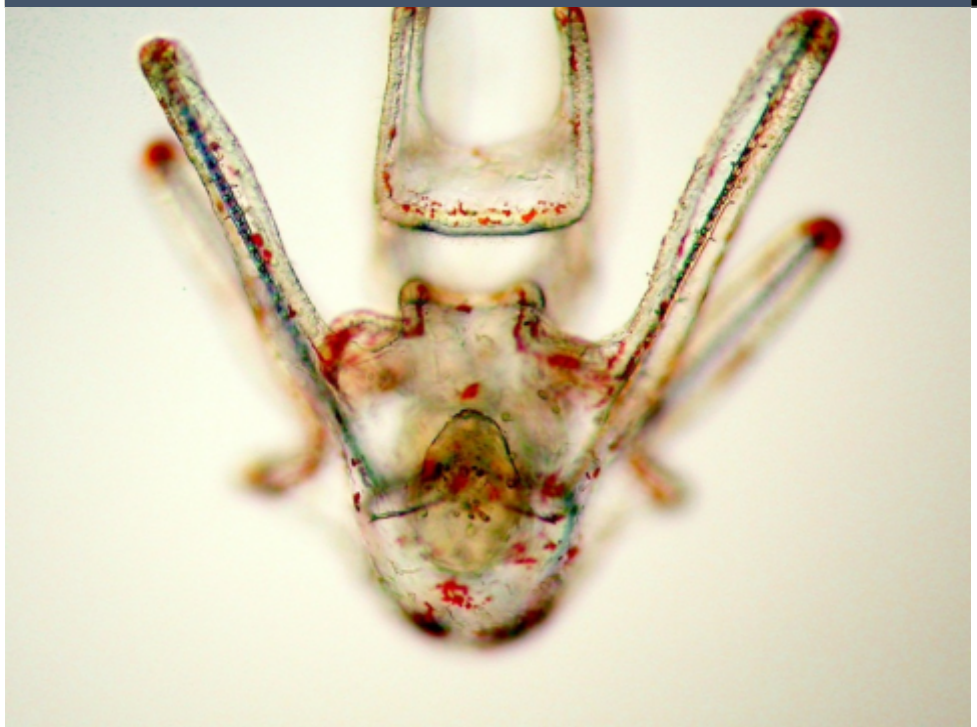




Gastrula matura



Echinopluteus



Fattori che interferiscono con l'esito dei saggi



- Variabilità intraspecifica nelle risposte
- Variabilità interspecifica
- Salinità - Il livello che discrimina le acque dolci dalle salate (EPA, 1991) è 1000 mg/L pari al 10 per mille. Si dovrebbero usare specie di acqua dolce quando la salinità è inferiore a tale valore
- Ciclo vitale - La sensibilità alla stessa sostanza varia in funzione dello sviluppo. Ad esempio nel caso della trota, LC_{50} per il rame dopo 6 ore di esposizione è circa 50 mg/L ad 1 giorno di vita, 2 mg/L a 20 giorni e 5 mg/L da 50 in poi
- pH – Aumenta la solubilità dei metalli e modifica il comportamento di sostanze ionizzabili variandone la biodisponibilità
- Durezza – I sali di Ca e Mg riducono la tossicità di metalli e sostanze organiche polari. Possono aumentare l'escrezione di sostanze tossiche nei pesci
- Sostanza organica – complessa sostanze tossiche e ne riduce la disponibilità
- Ammoniaca/ammonio – L'ammoniaca ha una tossicità elevata per gli organismi acquatici (20 mg/L soglia di sicurezza), l'ammonio è non tossico. La dissociazione dell'ammoniaca aumenta all'aumentare della temperatura ed all'aumentare del pH.

Saggi ecotossicologici: recepimento legislativo

- Decreto Ministeriale n. 173 del Luglio 2016
- Decreto Ministeriale n. 172 del Luglio 2016 (SIN)
- Regolamento CE 440 del 2008 (REACH)
- Decreto Legislativo n. 152 / 2006 (Norme in materia ambientale) e smi
- Normativa in materia di classificazione dei rifiuti e smi
- Normativa a tutela delle acque superficiali e di transizione

Vincoli alla sperimentazione animale

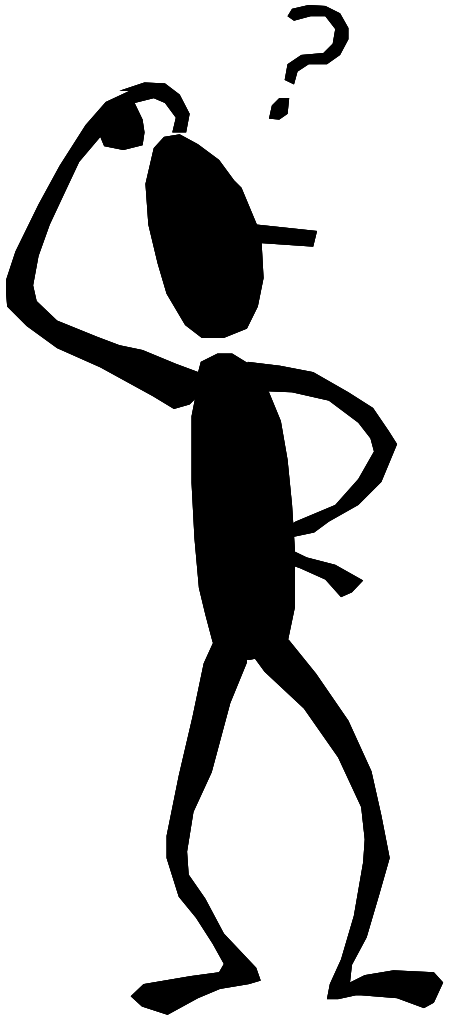
DECRETO LEGISLATIVO 4 marzo 2014, n. 26

Attuazione della direttiva 2010/63/UE sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici. (14G00036)

(GU n.61 del 14-3-2014)

Vigente al: 29-3-2014

3. Il presente decreto si applica ai seguenti animali:
a) animali vertebrati vivi non umani, comprese:
1) forme larvali capaci di alimentarsi autonomamente;
2) forme fetali di mammiferi a partire dall'ultimo terzo del loro normale sviluppo;
b) cefalopodi vivi.



DOMANDE?