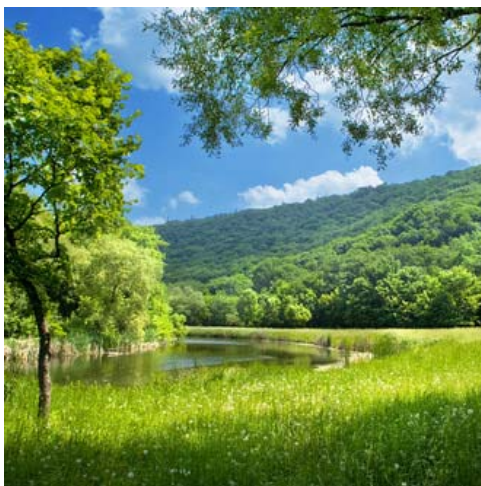


L'ECOTOSSICOLOGIA

Che cosa è l'ecotossicologia?

L'ecotossicologia valuta gli effetti tossici degli agenti chimici e fisici sugli organismi viventi, riuniti in comunità all'interno di definiti ecosistemi; essa comprende anche lo studio delle modalità di diffusione di questi agenti e le loro interazioni con l'ambiente.

In concreto è la scienza che coniuga la tossicologia con l'ecologia e la chimica ambientale per prevedere gli effetti potenzialmente tossici degli agenti chimici e fisici sugli ecosistemi naturali (ecotossicologia predittiva), ma è altresì la scienza che studia gli effetti degli inquinanti sull'ambiente (ecotossicologia consuntiva).



Con l'ecotossicologia l'obiettivo diviene non più la semplice protezione dello stato di salute dell'individuo secondo i criteri igienico-sanitari (tossicologia classica) ma piuttosto la conservazione dell'integrità funzionale degli ecosistemi.

Cosa ricerca l'ecotossicologia?

I compiti dell'ecotossicologia sono quelli di:

- A. misurare la ecotossicità di campioni ambientali, tramite batterie di test che utilizzano una serie di organismi bersaglio, con lo scopo di verificare eventuali superamenti dei limiti imposti dalle norme di legge;
- B. prevedere l'eventuale impatto del campione ambientale sull'ecosistema;
- C. ricercare e rimuovere le eventuali cause di tossicità.

Che cosa sono i test o saggi ecotossicologici?

Il saggio ecotossicologico è un esperimento biologico atto a verificare se un composto potenzialmente tossico, o un campione ambientale, causa una risposta biologica rilevante negli organismi utilizzati per il test.

Solitamente, gli organismi vengono esposti a differenti concentrazioni o dosi di una sostanza di prova o di un campione (acqua di scarico, fango di depurazione, suolo, sedimento fluviale o marino,...) diluiti in un mezzo opportuno.

Tipicamente, almeno un gruppo di organismi (gruppo di controllo) non è sottoposto alla sostanza di prova o al campione, ma è trattato esattamente nello stesso modo degli organismi esposti.

Paracelsus (1493-1541)



Il parametro osservato e misurato (endpoint) nei differenti gruppi di organismi, può essere la mobilità, la sopravvivenza, la dimensione o crescita, il numero di uova o figli, oppure qualsiasi variabile biochimica o fisiologica che può essere attendibilmente quantificata. Le osservazioni possono essere effettuate dopo uno o più periodi di esposizione prefissata.

Lo scopo è quello di stabilire quale tipo di relazione esista tra endpoint e concentrazione della sostanza di prova o del campione.

Infatti secondo Paracelso tutte le sostanze sono tossiche; solo la dose fa la differenza tra un veleno ed un medicamento.

I test di ecotossicità utilizzati nelle indagini ecotossicologiche si distinguono in acuti, subletali e cronici:

- ❖ il test di ecotossicità acuta stima gli effetti avversi che si manifestano in un breve tempo (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

- ❖ il test di ecotossicità subacuta (subletale) Stima gli effetti avversi che si manifestano dopo l'esposizione ad una sostanza per un periodo ≤ 10 % vita dell'organismo (e durante il quale gli organismi vengono alimentati)
- ❖ il test di ecotossicità cronica stima gli effetti avversi che si manifestano dopo l'esposizione ad una sostanza per un periodo > 50 % vita dell'organismo

I test ecotossicologici hanno diversi vantaggi:

- ❖ permettono valutazioni globali dell'impatto di tutti gli agenti inquinanti sull'ambiente naturale;
- ❖ accertano e quantificano gli effetti tossici sugli organismi viventi, utilizzando specie indicatrici sensibili;
- ❖ sono semplici, poco costosi e danno risposte facilmente comprensibili;
- ❖ sono condotti in laboratorio in condizioni controllate e standardizzate

Essi presentano tuttavia anche alcuni svantaggi:

- ❖ valutano l'effetto inquinante, ma non identificano la causa;
- ❖ non permettono di testare tutte le specie ambientali esposte, né

- tutte le possibili vie di esposizione;
- ❖ le condizioni di campo possono essere differenti da quelle di laboratorio.

Su quali matrici ambientali sono applicati i saggi ecotossicologici?

I saggi ecotossicologici sono generalmente applicati sulle seguenti matrici:

- ❖ acque superficiali
- ❖ acque sotterranee
- ❖ scarichi civili
- ❖ scarichi industriali
- ❖ suoli di siti contaminati
- ❖ sedimenti fluviali

Quali sono i saggi ecotossicologici utilizzati in Arpa Piemonte?

Per studiare l'effetto dell'immissione di sostanze tossiche nell'ambiente si scelgono alcune specie come indicatrici dello stato dell'ambiente, in grado di riassumere le caratteristiche generali del fenomeno ambientale.

Nei saggi ecotossicologici, organismi viventi in condizioni ottimali vengono posti a contatto con la matrice da testare per un determinato tempo e si valuta la risposta mostrata dall'organismo.

Poiché non esiste una singola specie adatta ad esprimere gli effetti di tutti i possibili tossici, è necessario utilizzare una *serie di organismi test*, con sensibilità differente alle sostanze tossiche.

La batteria di test ecotossicologici deve essere selezionata in base alla rappresentatività ecologica ed in relazione alla catena trofica; deve almeno comprendere individui appartenenti a 3 livelli diversi della catena alimentare:

- ❖ un'alga: organismo unicellulare produttore;
- ❖ un batterio: organismo unicellulare decompositore;
- ❖ un invertebrato: organismo pluricellulare consumatore.

La batteria di saggi utilizzati comprende:

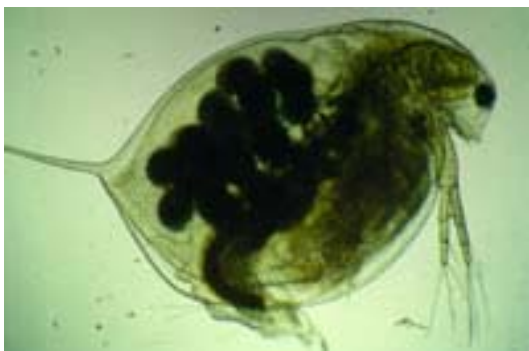
- ❖ L'alga *Pseudokirchneriella subcapitata*, organismo unicellulare e produttore, con cui si valuta l'inibizione della crescita e rappresenta un test cronico (72h). La risposta finale ad una eventuale sostanza tossica presente nel campione testato si manifesta mediante una inibizione della proliferazione delle cellule algali. Anche in questo caso i risultati possono essere espressi come percentuale di inibizione della crescita algale oppure come EC50. Nel caso il campione testato non risulti tossico, ma anzi presenti un elevato contenuto organico, si può addirittura assistere ad una proliferazione maggiore rispetto al controllo utilizzato come riferimento. In questo caso si presenta una biostimolazione, nota anche come fenomeno dell'ormesi, che non sempre è da interpretare in senso positivo. L'organismo cerca in pratica di diluire l'eccesso di nutrienti attraverso processi metabolici che portano ad un aumento della biomassa.

Vibrio fischeri



- ❖ Il batterio *Vibrio fischeri*, organismo unicellulare de compositore, con cui si valuta l'inibizione della bioluminescenza e rappresenta un test acuto (15 minuti). Il saggio con batteri bioluminescenti sfrutta la naturale capacità di questi batteri marini di emettere luce se si trovano nelle condizioni ottimali. Attraverso uno specifico strumento, il luminometro, vengono effettuate delle misure di luminescenza ad un tempo definito. La presenza di sostanze inibenti si manifesta mediante una riduzione della bioluminescenza proporzionale alla tossicità del campione in esame. La tossicità del campione viene misurata in termini di EC50, che rappresenta la concentrazione per la quale si ha la diminuzione del 50% della luce emessa dai batteri.

Dafnia



- ❖ Il crostaceo *Daphnia magna*, organismo pluricellulare consumatore, con cui si valuta l'immobilizzazione dell'individuo e rappresenta un test acuto. E' un saggio molto sensibile soprattutto all'inquinamento da metalli pesanti (piombo, cadmio, zinco, rame ecc.). I neonati di meno di 24h vengono immessi nel campione da analizzare e dopo un periodo di tempo prestabilito (24h) si osserva la percentuale di individui sopravvissuti. I risultati possono essere espressi o come percentuale di individui morti/immobilizzati o come valore di EC50, cioè come concentrazione della sostanza tossica che determina la morte/immobilizzazione del 50% degli individui impiegati nel test.

Test di fitotossicità



- ❖ Test di fitossicità, organismi pluricellulari produttori, rappresenta un test sub cronico (72 h). I semi di piante mono- e dicotiledoni, come il sorgo (*Sorghum saccharatum*), il crescione (*Lepidium sativum*) ed

il cetriolo (*Cucumis sativus*), vengono utilizzati per effettuare dei test di fitotossicità della durata di 72 ore, sia su matrici acquose che solide (sedimenti, fanghi di depuratori e compost). Vengono verificati due end-point, ovvero la germinazione dei semi e l'allungamento radicale.

Come si misura l'ecotossicità?

I risultati dei saggi ecotossicologici possono essere espressi come:

- ❖ Inibizione percentuale (I %)
- ❖ Concentrazione Efficace (EC 50 = concentrazione che produce un effetto nel 50% degli organismi esposti)

I %	EC 50	GIUDIZIO
< 20 %		Assenza di tossicità
> 20 % < 50%		Debolmente tossico
> 50%	100-10	Tossico
> 50%	<10-1	Molto tossico
> 50%	<1	Estremamente tossico

In quale norma legislativa è prevista l'indagine ecotossicologica?

Il Decreto Legislativo n° 152 del 3 aprile 2006 introduce l'utilizzo dei saggi ecotossicologici nel controllo delle acque di scarico industriali e civili.

Quale ente di controllo utilizza i saggi ecotossicologici?

Le indagini ecotossicologiche sono realizzate presso i laboratori dei dipartimenti provinciali di Arpa Piemonte e gli operatori che eseguono i saggi

appartengono ai profili professionali di tecnici di laboratorio e biologi.

BIBLIOGRAFIA

ISPRA ex APAT, IRSA-CNR (2003), Sezione 8000 – Metodi Ecotossicologici. Manuali e Linee Guida 29/2003 (<http://www.irsacnr.it/ShPage.php?lang=it&pag=metod#>)

In Particolare:

Metodo di valutazione della tossicità acuta con *Daphnia magna* (Met. 8020, pag 993 – 1002);

Metodo di valutazione della tossicità acuta con batteri bioluminescenti (Met.8030, pag 1003 – 1012);


UN ISO, (2012), Water Quality – Fresh water algal growth inhibition test with unicellular green algae UN ISO 8692;

APAT, ISPRA-CNR, Saggio della *Daphnia magna*

Manuali e linee Guida 29/2003 - Sezione 8000, metodo 8020 – ISBN 88-448-0083-7

Passarelli P., Sbalchiero A, (2005), Test di inibizione algale con *Selenastrum capricornutum* o *Pseudokirchneriella sub capitata* IRSA-CNR Notiziario dei Metodi Analitici – ISSN : 1125-2464

Passarelli P. & alt. (2003), Metodo spettrofotometrico per il test di inibizione algale "Acqua & Aria n°5 maggio 2002



Monografia a cura dei tecnici dell'Agenzia con la supervisione della Struttura Educazione e Promozione Ambientale

Per informazioni:

Arpa Piemonte
Struttura Educazione e Promozione Ambientale
Via Pio VII, 9 – 10135 Torino
educazione.ambientale@arpa.piemonte.it
Tel. 011.19680197 – Fax. 01119681521