

*RICERCA E APPLICAZIONE DI METODOLOGIE ECOTOSSICOLOGICHE  
IN AMBIENTI ACQUATICI*

Giornate di studio 20-22 ottobre 2010

*ORGANISMI TEST E BIOSAGGI INNOVATIVI*

Risultati di due interconfronti internazionali sui saggi di tossicità acuta con *Thamnocephalus platyurus* e di tossicità subcronica con *Heterocypris incongruens*

R. Baudo

CNR – Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Verbania

[r.baudo@ise.cnr.it](mailto:r.baudo@ise.cnr.it)



# Perché

- Costante ricerca di nuovi saggi “migliorativi”
  - informazioni più realistiche
  - ecologicamente più rilevanti
  - risparmio di tempo e denaro
- ISO (International Organization for Standardization): due nuove norme (“cassetta strumenti”)
  - ISO/CD 14380, Water quality - Determination of the acute toxicity to *Thamnocephalus platyurus* (Crustacea, Anostraca)
  - ISO/CD 14371, Water quality - Determination of fresh water sediment subchronic toxicity to *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda)
- Toxkit acqua dolce

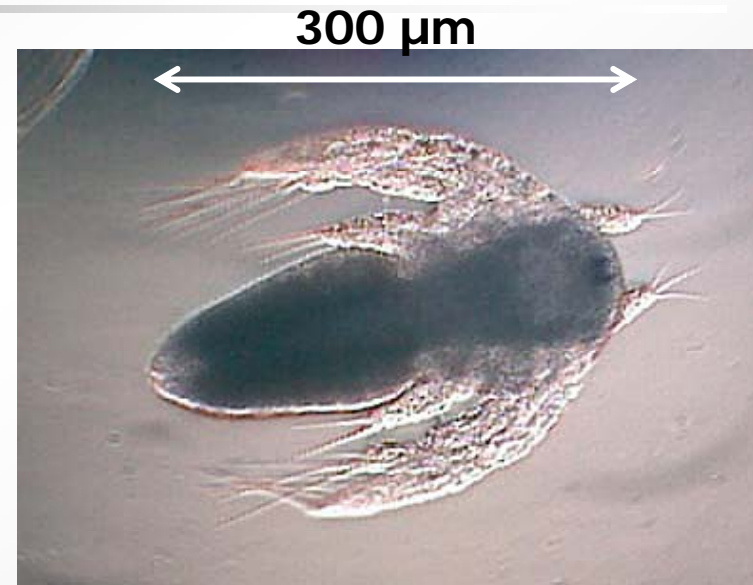


# *Thamnocephalus platyurus*

- Applicazioni:
  - soluzioni (o dispersioni stabili)
  - effluenti industriali od urbani
  - acque dolci
  - estratti acquosi

## Saggio:

- Neonati dalla schiusa di uova durature
- Esposti in piastre multipozzetto
  - 3 repliche, 10 organismi, per ciascuna concentrazione
  - controllo negativo, pure in triplo
- Piastra multipozzetto incubata per 24 ore a  $(25 \pm 1)$  °C al buio
- Endpoint: percentuale di mortalità e LC50 a 24 h



# *Heterocypris incongruens*

- Applicazioni:
  - Sedimenti, *per contatto diretto*
  - fanghi e suoli

## Saggio

- Neonati dalla schiusa di uova durature
- Esposti in piastre multipozzetto
  - 6 repliche sedimento +
  - 6 repliche sedimento di riferimento
  - 1.000  $\mu\text{l}$  sedimento (campione o controllo negativo) +
  - 2 ml mezzo acquoso + 2 ml sospensione algale
  - 10 neonati
- Piastre incubate a  $(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  al buio per 6 giorni
- Endpoint:
  - percentuale di mortalità
  - lunghezza (relativa a quella dei neonati prima dell'esposizione) = % di inibizione della crescita



150-200  $\mu\text{m}$



# Validazione

- ISO: standardizzazione con confronto internazionale interlaboratorio
  - ISO 5725-1: 2002. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 1 : General principles and definitions
  - ISO 5725-2: 2002. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2 : Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method



# Interconfronti



23 laboratori, 14 Nazioni (Belgio, Olanda, Estonia, Ungheria, Polonia, Lituania, Portogallo, Repubblica Ceca, Repubblica Slovacca, Italia, Grecia, Canada, Guatemala e Corea del Sud)

- 1 Endpoint:

- LC50 24 h tossico di riferimento ( $K_2Cr_2O_7$ )



- 26 laboratori, 14 Nazioni (Belgio, Ungheria, Polonia, Portogallo, Repubblica Ceca, Italia, Svezia, Francia, Germania, Canada, Guatemala, Corea del Sud, Giappone)

- 2 Endpoint:

- LC50 24 h tossico di riferimento ( $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ )
- % inibizione della crescita



# Risultati:

## *Thamnocephalus platyurus*

- Tutti i laboratori:



- (kit fornito dall'organizzatore con fiala cisti)
- Rispettato il criterio di validità: nel controllo negativo, mortalità  $\leq 10$  % organismi esposti
  - 5 morti su 690 organismi esposti
  - mortalità complessiva 0,72 %



# Risultati: mortalità

## *Thamnocephalus platyurus*



	Tutti i dati	Senza outlier h e k	Senza straggler h e k
N. laboratori	23	<b>22</b>	15
Media	0,103	<b>0,100</b>	0,099
$s_r$	0,010	<b>0,010</b>	0,009
$C_{V,r}$ , in %	9,59	<b>9,74</b>	9,22
$s_R$	0,03	<b>0,024</b>	0,015
$C_{V,R}$ , in %	26,63	<b>23,74</b>	14,71
N. h straggler	0	<b>2</b>	0
N. h outlier	1	<b>0</b>	0
N. k straggler	1	<b>1</b>	0
N. k outlier	0	<b>0</b>	0
95 % UCL	0,118	<b>0,113</b>	0,109
95 % LCL	0,088	<b>0,086</b>	0,089



# Risultati:

## *Heterocypris incongruens*

- 22 su 26 laboratori:



- (kit fornito dall'organizzatore con fiala cisti)
- Rispettati criteri di validità:
  - mortalità controllo negativo  $\leq 20\%$
  - crescita controllo negativo 1,5 volte lunghezza media inizio saggio



# Risultati: mortalità

## *Heterocypris incongruens*

Tutti i dati    Senza outlier h e k    Senza straggler h e k



	Tutti i dati	Senza outlier h e k	Senza straggler h e k
N. laboratori	22	<b>21</b>	18
Media	5,910	<b>5,794</b>	5,487
$s_r$	0,761	<b>0,690</b>	0,540
CV%	12,87	<b>11,91</b>	9,85
$s_R$	1,85	<b>1,789</b>	1,685
CV%	31,32	<b>30,88</b>	30,71
h straggler	1	<b>0</b>	0
h outlier	0	<b>0</b>	0
k straggler	1	<b>2</b>	0
k outlier	1	<b>0</b>	0
95 % UCL	6,948	<b>6,823</b>	6,538
95 % LCL	4,872	<b>4,766</b>	4,436



# Risultati: % inibizione crescita *Heterocypris incongruens*

Tutti i dati    Senza outlier h e k    Senza straggler h e k



	Tutti i dati	Senza outlier h e k	Senza straggler h e k
N. laboratori	15	<b>13</b>	11
Media	6,913	<b>6,580</b>	6,423
$s_r$	0,376	<b>0,205</b>	0,170
CV%	5,43	<b>3,11</b>	2,64
$s_R$	1,51	<b>1,209</b>	1,251
CV%	21,81	<b>18,38</b>	19,48
h straggler	1	<b>0</b>	0
h outlier	0	<b>0</b>	0
k straggler	0	<b>1</b>	0
k outlier	1	<b>0</b>	0
95 % UCL	7,949	<b>7,477</b>	7,440
95 % LCL	5,878	<b>5,682</b>	5,406



# Conclusioni

- 2 nuovi "strumenti"



*Thamnocephalus platyurus* (Crustacea, Anostraca):

- Veloce (anche saggio rapido a 1 h)
- Più sensibile di *Daphnia magna*
  - Cianotossine



- *Heterocypris incongruens* (Crustacea, Ostracoda):

- Tossicità acuta + tossicità subcronica
- per contatto diretto con sedimenti di acqua dolce (anche suoli e fanghi)

