8ª Edizione delle Giornate di Studio
"Ricerca e Applicazione di Metodologie ecotossicologiche"

L'ECOTOSSICOLOGIA COME STRUMENTO DI GESTIONE DEGLI AMBIENTI ACQUATICI E TERRESTRI
La ricerca, il controllo da parte delle Agenzie, il mondo dei privati

8th Biannual ECOtoxicology MEeting (BECOME 2018)
Managing aquatic and terrestrial environments: an ecotoxicological perspective

RACCOLTA ABSTRACTS

26-28 Novembre 2018
Camera di Commercio
Piazza del Municipio, 48, 57123 Livorno

COMUNICAZIONI SESSIONE 1

NUOVE FRONTIERE NELL'INDAGINE ECOTOSSICOLOGICA

Iron oxide nanoparticles interface sea urchin secretome and elicit immune resilience

A. Alijagic, R. Russo, A. Pinsino

Istituto di Biomedicina e Immunologia Molecolare “Alberto Monroy”, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Palermo, Italia andi.alijagic@ibim.cnr.it

Abstract: Magnetic iron oxide (Fe3O4) nanoparticles (IONPs) are extensively applied in biomedicine, oil and gas industry and environmental separation due to its favorable traits, and its hallmark feature, superparamagnetism. Scarcity of data depicting impacts of IONPs on marine organisms drove our study, entangling Paracentrotus lividus immune cell interaction with IONPs in vitro-ex vivo. Results revealed moderate dose-dependent immune cell response after 24h exposure, without alteration of oxygen metabolism or Caspase 3/7 induction. Immune cell secretome was outlined, underlying IL-6 involvement in IONPs recognition and consequent activation of immune cells. IONPs can gain biological identity or native protein corona, formed primarily by adhesome protein Pl-toposome. Gene expression analysis of immune-related genes showed Pl-NFkB gene down regulation at 24h exposure to IONPs, suggesting an immune pathway involved. These results implicate composite sea urchin response to IONPs, initiated outside of the cell by the IONPs-adhesome complexing, finalized by the intracellular regulome, averting innate/inflammatory feedback. Mr. Mauro Biondo is acknowledged for his technical assistance in the aquarium maintaining.

Embryogenesis *of Ciona robusta* for assessing ecotoxicity of emerging contaminants

M. C. Eliso[1], L. Manfra[2], I. Corsi[3], A. Spagnuolo[4]

[1] SZN/DSFTA mc.eliso@outlook.it; mariaconcetta.eliso@szn.it
[2] ISPRA/SZN
[3] DSFTA
[4] SZN

Abstract: In last decades ascidians, as *Ciona robusta,* have been used as valuable biological models to run ecotoxicity assays thanks to their rapid embryonic and larval development, resemblance to vertebrates, ease of management, low cost, transparent body, and low risk of ethical issues. The aim of this project is to study the effects of emerging contaminants on the embryogenesis of *C. robusta.* In detail, the contaminants exploited in this study are dispersants, used for cleaning up the petroleum hydrocarbon contamination in case of accidental oil spills at sea, and polystyrene nanoparticles (PS NPs), commonly used as model particles for testing the effects of nanoplastics on marine organisms. Our study includes the use of PS NPs, owing negative and positive surface charges, respectively as carboxylated (PS-COOH) and amino-modified (PS-NH_2). Our preliminary data indicate that dispersants can induce developmental aberrations in *Ciona* larvae in a dose-dependent manner, with an Effect Concentration (EC_{50}) ≥ 45.55 mg/L. The exposure of embryos to PS-COOH does not alter the normal larval development up to 100 µg/mL, while very low concentrations of PS-NH_2 strongly interferes with Ciona embryogenesis (EC_{50}=6.29 µg/mL). These preliminary results thus suggest that *Ciona* embryogenesis, up to the larval stage, can represent a suitable endpoint for assessing dispersant and nanoplastics ecotoxicity.

Multigenerational effects and bioaccumulation of two rare earth elements on *Daphnia magna*

A. Siciliano[1], E. Galdiero[1], M. Race[2], M. Fabbricino[3], G. Libralato[1], M. Guida[1]

[1] Department of Biology, University of Naples Federico II, Naples, Italy antonietta.siciliano@unina.it
[2] Department of Civil and Mechanical Engineering, University of Cassino and Southern Lazio, Cassino, Italy
[3] Department of Civil, Architectural and Environmental Engineering, University of Naples Federico II, Naples, Italy

Abstract: Nowadays rare earth elements (REEs) increased their applications in medical use (e.g. MRI contrast agent) and innovative and different technology (e.g. in superconductors, catalysts, lasers, batteries) lead to their release into the environment . Although, REEs have not regulatory thresholds concentrations, evidence gathers that REEs have to be new emerging contaminants. To understand the ecotoxicological risk assessment associated with REEs and bioaccumulation in environmental exposure conditions, this study used a multigenerational experimental approach with the microcrustacean Daphnia magna over a three-generation exposure (F0, F1, and F2). Toxicity tests were performed using environmental concentrations (~10-7 M) and representative REEs: cerium (Ce) and erbium (Er). Preliminary results highlighted that the effects of Ce and Er solutions on surviving of D. magna decreased comparing to control groups and that it was necessary a F2 generation to reduce the long-terms effects of solutions. The investigated REEs are bioaccumulative to D. magna. Delayed reproductive maturity and reduced fecundity were exhibited regardless Er solutions.

Effects of fullerene C60 and B[a]P in *Mytilus galloprovincialis*: possible interactions in their accumulation and evaluation of the role of mTOR in cellular/tissue alterations

S. Sforzini[1], C. Oliveri[2], A. Barranger[3], J. W. Readmn[4], Y. Aminot[4], A. Jha[3], M. Banni[5], A. Viarengo[1]

[1]Laboratory of Environmental Chemistry and Toxicology, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Milan, Italy susanna.sforzini@guest.marionegri.it

[2]University of Piemonte Orientale A. Avogadro, DiSIT, Alessandria, Italy

[3]School of Biological and Marine Sciences, Plymouth University, Plymouth, UK

[4]Centre for Chemical Sciences, University of Plymouth, Plymouth, UK

[5]Laboratory of Biochemistry and Environmental Toxicology, ISA, Tunisia

Abstract: In this research the interactions in the accumulation in the mussel *Mytilus galloprovincialis* of fullerene C60 and benzo[a]pyrene (B[a]P) are described. Moreover, the effects of the two chemicals on mTOR (mechanistic Target of Rapamycin) activity in mussel digestive gland were studied. Mussels were exposed for 72 h to C60 (0.01, 0.1 and 1 mg/L) and B[a]P (5, 50, 100 μg/L), alone and in combination. Tissue C60 and B[a]P accumulation was evaluated by immunofluorescence using specific antibodies as well as by chemical analysis. The results demonstrated that no "Trojan horse" effect is evident in the animals exposed to both chemicals. Our data also highlighted that the changes of the phosphorylation of mTORC1 and mTORC2 may explain most of C60 and B[a]P effects studied at cellular and tissue level. Transcriptomic analysis identified a number of DEGs showing a bell-shape trend with a maximum in animals exposed to 0.1 mg/L C60. In terms of processes related to the DEGs depicted in all conditions, the most affected are associated to translation, cytoskeleton organization and mitochondrial activity. These represent the first data on C60 tissue subcellular distribution and on the possible involvement of mTOR in the physiological alterations due to the accumulation of these nanoparticles.

Are ephyrae jellyfish to be affected by polyethylene microplastics ?

E. Costa, C Gambardella, V. Piazza , S. Lavorano, M. Faimali, F. Garaventa

CNR-ISMAR elisa.costa@ge.ismar.cnr.it

Abstract: The aim of this study was to investigate the potential effects of polyethylene microplastics (MPs) of different size ranges 1-4 and 4-6 µm on *Aurelia* sp. and *Sanderia malayensis* ephyrae jellyfish, recently suggested as innovative good model organisms for ecotoxicological investigation. Immobility, Frequency of pulsation, ingestion and recovery time were investigate in ephyrae exposed by semi-dynamic condition to environmental and high MPs suspensions (from 0.01 to 10 mg/L) for 24 and 48 hours. The toxicity tests show that only the Frequency pulsation and not Immobility result to be affect already at lowest MPs suspensions (0.01 mg/L) after 48 hours, independently from MPs size and model organisms. These findings could be explained with a probably mechanical disturbance of MPs particles, being attached around the gelatinous body surface of ephyrae without observing ingestion also at high MPs suspensions (10mg/L) in both model organisms. In addition the time that *Aurelia* sp. and *S. malayensis* ephyrae need to recover from exposure to polyethylene MPs was calculated as 2 days. This work provide an initial study to evaluate the effect of polyethylene MPs on ephyrae jellyfish, in order to expand the knowledge about the effect of these emerging contaminants on marine invertebrate, with a very high ecological relevance considering a key role of jellyfish in marine ecosystem.

Ecotoxicological effects of microplastics in marine zooplankton

C. Gambardella, E. Costa, V. Piazza, S. Morgana, F. Garaventa, M. Faimali

CNR ISMAR chiara.gambardella@ge.ismar.cnr.it

Abstract: Microplastics (MPs) are an emerging threat for the marine environment. They affect a diverse array of organisms across trophic levels, including zooplankton. This study, carried out the frame of the European JPI-Oceans Project Ephemare, reports the ecotoxicological effects of MPs in several models representative of zooplankton taxa. Crustacean (Artemia franciscana) and sea urchin (Paracentrotus lividus) early life stages, rotifers (Brachionus plicatilis) and jellyfish ephyrae (Aurelia sp., Sanderia malajensis) were exposed to virgin polyethylene MPs and benzophenone-3 (a hydrophobic organic chemical used in cosmetics with direct input in coastal areas)-spiked MPs for 24 and 48 hours. MP build-up, lethal and sub-lethal (immobility, behavior) responses were investigated. MPs were accumulated in all zooplankton species, without affecting mortality. Conversely, sub-lethal effects were observed in all taxa: among them, immobility was only affected in jellyfish ephyrae exposed to both virgin and spiked-MPs, while changes in swimming behavior and frequency of pulsations were observed in all models. These findings show that short-term exposure to virgin and spiked MPs causes changes in sub-lethal responses. In conclusion, the sub-lethal responses and in particular the behavioural ones can be a good tool to assess sub-lethal effects of MPs alone and in mixture with contaminants in marine zooplankton.

Development of an immune response-based approach to assess physiological stress in Mediterranean loggerhead sea turtles

I. Caliani[1], L. Poggioni[1], A. D'Agostino[2], M. C. Fossi[1], S. Casini[1]

[1] Department of Environmental, Earth and Physical Sciences, University of Siena, Siena, Italy
caliani4@unisi.it
[2] Department of Management and Quantitative Sciences, Parthenope University of Naples, Naples, Italy

Abstract: The aim of this study was to identify sensitive tools based on immune responses to assess the stress condition of loggerhead sea turtles. In particular we monitored for the first time different immune responses in hospitalized Mediterranean sea turtles (Caretta caretta), comparing them with free-ranging animals. Blood samples were obtained from loggerhead sea turtles hospitalized for different periods (≤2 months; >2 months and ≤1 year; >1 year) in different Italian rescue centers. Free-ranging turtle blood come from the South of Spain. Samples were analyzed for different stress-associated parameters (white cells count, heterophils:lymphocytes (H:L) ratio, respiratory burst, total antioxidant status (TAS), lysozyme). Free-ranging specimens showed the lowest values in all the measured parameters, permitting to consider them as baseline data. The highest values of TAS, lysozyme, respiratory burst and leukocytes profile were detected during the first 2 months of hospitalization, that resulted as the most critical period for the rehabilitation of turtles. After more than 1 year, immune values were similar to the values of free-ranging, indicating an acclimatization to captivity and health conditions amelioration. The results highlight that lysozyme activity and eosinophyls count represent valid methods to diagnose physiological stress in sea turtles.

TITOLO. LE PIANTE NEL MONITORAGGIO AMBIENTALE: EFFETTI FITOTOSSICI E GENOTOSSICI DI DIVERSI CONTAMINANTI

L. Giorgetti[1], L. Bellani[1,2], S. Muccifora[2], E. Tassi[3], C. Spanò[4], S. Bottega[4], F. Barbieri[2], M. Ruffini Castiglione[4]

[1.]Istituto di Biologia e Biotecnologia Agraria, UOS Pisa, CNR, Pisa, Italia - email: l.giorgetti@ibba.cnr.it
[2.]Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Siena, Siena, Italia - email: lorenza.bellani@unisi.it; simonetta.muccifora@unisi.it; barbieri7@student.unisi.it
[3.]Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, (ISE-CNR), Pisa, Italia - email: eliana.tassi@ise.cnr.it
[4]Dipartimento di Biologia, Università di Pisa, Pisa, Italia - email: carmelina.spano@unipi.it; stefania.bottega@unipi.it; monica.ruffini.castiglione@unipi.it

Abstract: Le piante con il loro stile di vita sessile, la loro struttura e fisiologia, entrano direttamente in contatto con le matrici ambientali, suolo, acqua e aria. Proprio per queste prerogative, gli studi di monitoraggio ambientale basati sui sistemi vegetali possono essere molto indicativi del reale stato di salute dell'ambiente. I saggi biologici sulle piante permettono di analizzare gli effetti di contaminanti a dispersione naturale o antropica (metalli pesanti, sostanze organiche, aromatiche, nanoparticelle, etc) e sono molto vantaggiosi, economici, ad alta sensibilità e correlabili con risultati ottenuti su sistemi animali. Questi saggi, possono considerare diversi endpoints: parametri fisiologici, morfologici (effetti fitotossici); produzione di enzimi e molecole legate alla risposta a stress (ROS, specie reattive dell'ossigeno); effetti su attività mitotica e ciclo cellulare (citotossicità); danni al DNA da attività clastogenica e mutagena (genotossicità); danni ultrastrutturali. Inoltre permettono di valutare il danno acuto o cronico in seguito ad esposizioni più o meno lunghe ai contaminanti.

A conferma dell'efficienza di questo metodo di indagine si riportano studi effettuati nei nostri laboratori su piante modello di interesse agrario (*Vicia faba*, *V. sativa*, *Allium cepa*, *Hordeum vulgare* e *Zea mays*) esposte a diversi inquinanti e valutate attraverso un approccio multidisciplinare.

Le terre rare: nuovi inquinanti, nuovi oligoelementi

F. Tommasi[1], N. Dipierro[1], A. Paradiso[1], G. Pagano[2], M. A. Zicari[1], L. d'Aquino[3]

[1] Dipartimento di Biologia Università degli studi di bari Aldo Moro, Bari franca.tommasi@uniba.it.
[2] Dipartimento di Scienze Chimiche, Università di Napoli Federico II, Napoli.
[3] Centro Ricerche ENEA, Portici

Abstract: Le terre rare (TR) sono un gruppo di 17 elementi, dal lantanio al lutezio, più l'Ittrio e lo scandio, caratterizzati da simili proprietà. Il loro impiego nelle applicazioni tecnologiche è in continuo aumento. TR esistono in natura sotto forma di minerali complessi e l'estrazione degli elementi presenti in minori quantità produce notevoli quantità di scarti di estrazione, determinando alterazioni dei loro cicli biogeochimici, dalle conseguenze ancora poco note. TR, principalmente sotto forma di cloruri e nitrati, vengono usate anche in agricoltura come fertilizzanti e in zootecnia come additivi di mangimi per vari animali. II crescente uso delle TR ha pervaso la realtà tecnologica quotidiana, suscitando preoccupazioni per le conseguenze sulla salute umana e dell'ambiente. Una crescente letteratura ha evidenziato l'estesa tossicità delle TR. Fino a tempi recenti, le TR sono state considerate poco importanti per i loro effetti tossici, dunque non esistono ancora normative specifiche che ne regolamentino le soglie di pericolosità in ambienti acquatici e terrestri. Scopo del nostro lavoro è stato quello di studiare gli effetti di tali elementi in organismi modello (vegetali e animali) al fine di ottenere informazioni sulla loro tossicità I dati finora ottenuti suggeriscono la necessità di un attento monitoraggio dell'ambiente per questi metalli.

Inquinamento da microplastiche in acqua dolce: ingestione ed effetti su embrioni di *Danio rerio*

C. C. Parenti, A. Ghilardi, S. Magni, C. Della Torre, G. Calisesi, A. Bassi, L. Del Giacco, A. Binelli

Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano camilla.parenti@unimi.it

Abstract: Uno degli argomenti caldi della letteratura scientifica odierna è l'effetto dell'ingestione di microplastiche (MP) su organismi acquatici. Uno dei maggiori dubbi riguarda il destino delle particelle una volta ingerite. Questo studio preliminare documenta il percorso delle MP all'interno di embrioni di zebrafish (Danio rerio), esposti per 48 ore (da 72 a 120 hours post fertilization) a 50 mg/L di MP da 0,5 µm. Il primo passo è stato selezionare la migliore tecnica di microscopia avanzata per valutare l'ingestione e la possibile infiltrazione delle MP nei tessuti, tra la SPIM (Selective Plane Illumination Microscopy), la microscopia a due fotoni e la microscopia confocale. Quest'ultima è risultata la tecnica più adatta. Le immagini acquisite al confocale mostrano particelle all'interno del tratto digerente, ed alcune oltre l'epitelio intestinale. Per valutare gli effetti delle MP abbiamo applicato una batteria di biomarker. Lo stress e il danno ossidativo sono stati investigati misurando l'attività degli enzimi antiossidanti catalasi, superossido dismutasi e glutatione perossidasi, nonché mediante l'analisi della carbonilazione proteica. Infine, l'induzione del processo di detossificazione è stata monitorata attraverso l'attività della glicoproteina-P e dell'enzima glutatione-S-transferasi. Le analisi non hanno evidenziato effetti significativi, risultato riconducibile al limitato ingresso delle MP nei tessuti di zebrafish. Questo studio preliminare è incluso in un progetto più ampio, volto a valutare il potenziale effetto "cavallo di troia" delle MP nei confronti di altri inquinanti ambientali.

Posters Sessione 1

NUOVE FRONTIERE NELL'INDAGINE ECOTOSSICOLOGICA

Acute toxicity of zinc oxides nanoparticles on marine Peracarida juveniles and Echinoidea sperm and embryos

E. Prato[1], A. Fabbrocini[2], L. Migliore[3], I. Parlapiano[1], G. Denti[1], R. D'Adamo[2], A. Rotini[3], L. Manfra[4,5], F. Biandolino[1]

[1]CNR, IAMC- Institute for Coastal Marine Environment, Taranto, Italy linda.prato@iamc.cnr.it

[2]CNR, ISMAR- Institute of Marine Science, Lesina, Italy

[3]Tor Vergata University, Department of Biology, Rome, Italy

[4]Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA) Rome, Italy

[5]Stazione Zoologica Anton Dohrn, Department of Biology and Evolution of Marine Organisms, Naples, Italy

Abstract: The aquatic toxicity of zinc oxides nanoparticles (ZnO-NP) was assessed through acute tests with three crustaceans (*Corophium insidiosum*, *Gammarus aequicauda*, *Cymodoce truncata)* and an echinoderm *(Paracentrotus lividus)* and compared to zinc sulphate ($ZnSO_4$) toxicity.

The solubility and size distribution of nanoparticle were evaluated: the dissolution of ZnO NPs was significant, with a complete dissolution at lowest test concentrations (no NPs detected at both T0 and T48h exposure time).

The ZnO-NPs and $ZnSO_4$ ecotoxicity assessment showed dose-dependent response in all crustacean species. The 96h LC_{50} values of ZnO-NP and $ZnSO_4$ were similar for *G. aequicauda* (0.35± 0.087 and 0.25±0.042mg/l, respectively) and *C. truncata* (0.44±0.09 and 0.48±0,10 mg/l, respectively). *C. insidiosum* showed a significantly lower ($p<0.05$) sensitivity than the others species (96h LC_{50} of 1.75±0.39 for ZnONP and 1.63±0.14 mg/l for $ZnSO_4$).

ZnO-NPs and $ZnSO_4$ showed a similar dose-response toxic effect on *P. lividus* embryos (EC_{50} 0.04±0.01 and 0.06±0.01 mg/l, respectively), while only slight differences with the control were observed after computerized analysis of the sperm motility parameters.

The results highlight the acute toxic effects of ZnO-NPs and $ZnSO_4$ to Peracarida survival and sea urchin embryonic development and added new data useful to identify the environmental behaviour of these emerging pollutants.

Comparative assessment of the interactive effects of Carbon-based Nanomaterials and Benzo(α)pyrene on zebrafish embryos

C. Della Torre[1,4], A. Ghilardi[1], S. Magni[1,4], N. Santo[1], D. Maggioni[2], C. Landi[3], M. Parolini[1,4], L. Madaschi[1], M. Ascagni[1], L. Bini[3], L. del Giacco[1], A. Binelli[1,4]

[1]Department of Biosciences, Milano, Italy camilla.dellatorre@unimi.it
[2]Department of Chemistry, Milano, Italy
[3]Department of Life Science, Siena, Italy
[4]SETAC Italian Language Branch

Abstract: This study aimed to assess the ecotoxicological consequences related to the interaction of Benzo(α)pyrene (B(α)P) with two CNMs: carbon nanopowder (CNPW) and fullerene (C60), on zebrafish embryos. To this aim CNMs were contaminated with B(α)P. A thorough evaluation of chemico-physical interactions between the two CNMs and B(α)P has been performed. Embryos were exposed to CNPW, C60 and B(α)P alone and their combination. The uptake of CNMs and B(α)P and their localization in embryos were assessed by advanced mycroscopy. A set of biomarkers of genotoxicity and oxidative stress was applied. Proteomics analysis allowed also the identification of molecular events involved in the responses to pollutants alone and in co-exposure. Overall results showed that the different physico-chemical properties of the two CNMs influenced their interactions with B(α)P and generated distinct toxic effects. Indeed the adsorption on CNPW modified the accumulation of B(α)P, which followed the distribution of the physical pollutant instead of its natural bioaccumulation. On the contrary the co-exposure with C60 did not affect the uptake/distribution of B(α)P. The integrated results from biomarkers and proteomics showed that different stress response pathways were induced by the pollutants alone respect to their combination. The CNPW doped with B(α)P mainly mirrored the effects shown by the physical contaminant, while C60 doped with B(α)P seems to induce a cellular response similar to B(α)P alone.

Indagine su biomarker di fitotossicità in *Lepidium sativum*

N. Guerrieri[a], L. Fantozzi[a], A. Lami[a], L. Scaglioni[b]

[a]CNR-ISE Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Verbania n.guerrieri@ise.cnr.it
[b]DeFENS, Università degli Studi di Milano, Facoltà di Agraria, Milano

Abstract: La conoscenza sulla risposta metabolica delle piante allo stress da metalli pesanti richiede ulteriori approfondimenti. Il *Lepidium sativum*, crescione comune, viene utilizzato come organismo test vegetale nel saggio di fitotossicità insieme al cetriolo (*Cucumis sativus*) e al sorgo (*Sorghum saccharatum*) (UNI CHIM 1651:2003) inoltre i semi di crescione vengono utilizzati da molti autori in studi di fitotossicità anche con diversi standard e procedure di crescita. Il presente lavoro ha preso in esame la risposta dei semi di *Lepidium sativum* (UNI CHIM 1651:2003) esposti alle acque arsenico ferruginose del Rio Rosso, campionate in Valle Anzasca, e in sistemi modello contenenti arsenico, alluminio, solfato di ferro, solfato di sodio, solfato di rame. Sono stati misurati sia la germinazione che IG%, le analisi sono state effettuate sia misurando con centimetro che tramite acquisizione di immagine ed elaborazione con software. La risposta di *Lepidium sativum* nei campioni testati ha evidenziato una frequente biostimolazione. In alcuni campioni sono stati analizzati carotenoidi e altri biomarker per approfondire la risposta metabolica indotta dall'esposizione ai metalli pesanti.

Bioaccessible fraction of trace elements in muscle of large pelagic fish from Mediterranean Sea

G. Mariotti, N. Bianchi, C. Leonzio, R. Ponchia, L. Amoroso, S. Ancora

Department of Physics, Earth and Environmental Sciences, University of Siena, Siena, Italy
g.mariotti89@gmail.com

Abstract: In the past years the importance of toxic substances, particularly heavy metals, towards ecosystems have been directly related with total metal concentration. However, especially for human risk assessment, the total concentration of contaminants in food may not always reflect the available amount ingested.

Quantifying the bioaccessibility, the fraction of a compound released from its matrix in the gastrointestinal tract, becoming available for intestinal absorption, may be helpful to understand the fate of contaminants once in the body. In this study we determined the total concentrations of Hg, Se, Cu, Zn in the muscle of large pelagic fish from the Mediterranean Sea (swordfish *X. gladius*, bluefin tuna *T. thynnus thynnus* and Mediterranean spearfish *T. belone*) and the bioaccessible fraction of these elements by using an i*n vitro* technique, the Physiologically Based Extraction Test (PBET) for the simulation of gastric and intestinal digestion. Atomic absorption spectrometry was used for elements determination. Hg, Se and Cu showed the highest bioaccessible fraction, over 75%, and Zn the lowest, about 30%. Although Hg was highest in swordfish (0.93±0.45 mg/kg d.w.), the highest bioaccessibile fraction was found in tuna. The characterization of the bioaccessible fraction of contaminants in foodstuff may improve the human health risk assessment.

Evidence of behavioural changes induced by sub-lethal concentrations of metolachlor and chlorpyrifos on *Diamesa zernyi* larvae (Diptera Chironomidae)

V. Di Nica[a], V. Lencioni[c], T. Pescatore[b], F. Bellamoli[c], A. Finizio[a], S. Villa[a]

a Department of Earth and Environmental Sciences, University of Milano Bicocca, Milano, Italy
valeria.dinica@unimib.it
b Water Research Institute, National Research Council (IRSA-CNR), Monterotondo, Rome, Italy
c Section of Invertebrate Zoology and Hydrobiology, MUSE e Museo delle Scienze, Trento, Italy

Abstract: Behavioural changes are recognized as more sensitive endpoints than those conventionally employed in ecotoxicology (e.g. mortality or immobilization), as altered behavioural signals can be induced at concentrations of toxicants significantly lower than the acute median effective or lethal ones (i.e. L(E)C50). Alteration in behaviour of a keystone species can induce a cascade of indirect effects (e.g. prey-predator interaction) at higher levels of the ecological hierarchy, with potential repercussions on the community functioning. In this study, we aimed to investigate the behavioural effects of several decreasing sub-lethal concentrations of chlorpyrifos and metolachlor on Diamesa zernyi larvae from an alpine stream. Two behavioural endpoints (average speed and distance covered) were analysed after 24, 48 and 72 h of exposure by using the ImageJ wrMTrck software. Significant changes on the larvae behaviour were observed for both pesticides. Whereas the chlorpyrifos induced variable behavioral responses in dependence of the concentration and the duration of exposure, the larvae exposed to metolachlor experienced an overall reduction of the investigated parameters over the time. These results may contribute to the knowledge of the actual risk posed by the presence of low concentrations of contaminants on aquatic ecosystems.

Frenare verde è possibile? Valutazione comparativa di microparticelle generate da sistemi frenanti tradizionali e innovativi

S. Maiorana[1], F. Teoldi[1], S. Silvani[2], A. Mancini[3], A. Sanguineti[3], D. Dupin[4], T. Sanvito[5], A. Bonfanti[3], M. Lodi[1], D. Baderna[1], E. Benfenati[1]

[1]Laboratorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente, IRCCS Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri diego.baderna@marionegri.it
[2]Laboratorio di Ingegneria dei Tessuti per la Medicina Rigenerativa, IRCCS Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri
[3]Brembo S.p.a
[4]Cidetec Nanomedicine (Spain)
[5]EOS S.r.l

Abstract: L'inquinamento dell'aria è uno stressor che influisce negativamente sulla salute umana e sull'ambiente, causando o aggravando patologie cardiocircolatorie e respiratorie nell'uomo e alterando gli ecosistemi acquatici e terrestri a seguito della diffusione e deposizione del materiale particellare. L'usura dei freni può contribuire fino al 20% alle emissioni di PM10 legate al traffico e può essere quindi considerata una sorgente di inquinamento da microparticelle. Lo studio proposto ha come obiettivo la valutazione del potenziale ecotossicologico del particolato emesso durante la frenata. L'approccio sperimentale ha previsto l'esposizione di alcuni modelli acquatici e terrestri al materiale generato in laboratorio con banchi provi simulanti condizioni di guida e frenati in ambiente urbano. Sono state testate pastiglie tradizionali a base fenolica e pastiglie innovative a base cementizia sviluppate all'interno del progetto LIFE+ COBRA [LIFE13 ENV/IT/000492]. I risultati ottenuti sono stati inoltre confrontati con i livelli ambientali potenzialmente riscontrabili in ambiente per definire se esiste realmente un rischio ecologico a breve termine.

Linee cellulari umane (e non) nell'indagine di matrici ambientali e complesse.

D. Baderna, E. Benfenati

Laboratoriorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente, IRCCS Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri diego.baderna@marionegri.it

Abstract: Le linee cellulari umane e animali sono utilizzate da anni negli studi di tossicologia classica ed in farmacologia ma sono ancora scarsamente utilizzate in tossicologia ambientale e negli studi di monitoraggio nonostante questi modelli presentino alcune caratteristiche idonee al loro utilizzo anche in questo campo (es. disponibilità, accessibilità, versatilità). Durante l'intervento sarà presentato l'approccio del Laboratorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente e l'applicazione di questi modelli in vitro in alcuni casi studio all'interno dei quali i ricercatori hanno utilizzo alcune linee cellulari prevalentemente umane per la valutazione della qualità dei suoli e dell'aria e per la valutazione tossicologica di alcuni matrici ambientali non convenzionali come il percolato di discarica e il particolato aerodisperso.

Valutazione preliminare della tossicità acquatica di ingredienti cosmetici innovativi

D. Baderna[1], S. Maiorana[1], D. Morelló-Bolumar[2], E. Gallon[2], V. J. Nebot[2], D. Dupin[3], E. Benfenati[1], Consorzio Pepticaps

[1]Laboratoriorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente, IRCCS Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri diego.baderna@marionegri.it
[2]Polypeptide Therapeutic Solutions S.L. (Spagna)
[3] Cidetec Nanomedicine (Spain)

Abstract: L'industria cosmetica è un settore in forte espansione e il numero di ingredienti e formulazioni immessi sul mercato ogni anno è in continua crescita. L'utilizzo di questi prodotti nel quotidiano comporta però il loro continuo rilascio nell'ambiente assieme agli altri personal care products, tanto che alcuni di questi prodotti sono stati identificati dalla EU Water Framework Directive come contaminanti emergenti, in particolare per l'ecosistema acquatico. ll progetto Horizon2020 Pepticaps ha come obiettivo la produzione di nuove nanocapsule che siano contemporaneamente sia efficienti nell'incapsulamento e nella protezione di principi attivi da utilizzare nella cosmesi della pelle sia environmental-friendly. Lo studio qui proposto vuole valutare la tossicità dei copolimeri che costituiscono le nanocapsule mediante saggi ecotossicologici con organismi modello di acqua dolce e la definizione di potenziali scenari espositivi ambientali per la stima dei livelli riscontrabili nelle acque superficiali.

Alternative methods to study biomarkers in the italian wall lizard *Podarcis siculus*

G. Moltedo[1], B.Catalano[1], G. Martuccio[1], C. Sebbio[1], G. Simbula[2], L. Vignoli[2], F. Onorati[1], A.M. Cicero[1]

[1]ISPRA ginevra.moltedo@isprambiente.it
[2]UNIROMA3

Abstract: The Italian wall lizard Podarcis siculus (Rafinesque, 1810), although quite abundant along the Italian peninsula, is listed on Annex II of the Bern Convention and Appendix IV of the EU Habitats Directive 92/43/CEE. Considering its protected status, as well the stringent European laws on the protection of animals used for scientific purposes, there is an increasing need to establish minimal-invasive sampling methods to evaluate health conditions of P. siculus populations. Common methods investigating neurotoxicity, genotoxicity and oxidative stress induced by contaminants require invasive procedures implying in most cases animal sacrifice in order to collect target organs or tissues. In order to verify the effectiveness of non destructive methods, parallel biomarker analyses have been carried out in different tissues: tail, saliva, liver, brain and blood samples.

Evaluation of acetylcholinesterase activity in different tissues of *Mytilus galloprovincialis*

C. Sebbio, B. Catalano, G. Martuccio, G. Moltedo, F. Onorati, A.M. Cicero

Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA), Rome, Italy claudia.sebbio@isprambiente.it

Abstract: Measurement of acetylcholinesterase (AChE) activity is widely used in marine environment monitoring as a biomarker of exposure to neurotoxic compounds (i.e. organophosphate and carbamate compounds). It is a crucial enzyme in the nervous system of vertebrates and invertebrates. Its role in cholinergic transmission is to regulate the nervous transmission by reducing the acetylcholine (Ach) concentration in the junction through AChE-catalysed hydrolysis of ACh. The presence of AChE has been demonstrated in a variety of tissues of marine organisms, including hemolymph and gills of marine bivalves, such as the mussels Mytilus galloprovincialis. Although the target tissue for AChE activity is usually gills, hemolymph could be considered a good alternative tissue.In order to assess in which tissue the AChE activity is more expressed, we compared the enzyme activity in gills and in hemolymph of M. galloprovincialis. Results show a higher expression of AChE activity in hemolymph compared to gills.

Toxicity evaluation of carboxylated carbon nanotubes to the reef-forming tubeworm Ficopomatus enigmaticus (Fauvel, 1923)

L. De Marchi[a,d], M. Oliva[b,c], R. Freitas[a], V. Neto[d], E. Figueira[a], F. Chiellini[e], A. Morelli[e], Amadeu M.V.M. Soares[a], C. Pretti[b,c*]

[a] Department of Biology & Centre for Environmental and Marine Studies (CESAM), University of Aveiro 3810-193, Aveiro, Portugal lucia.marchi@ua.pt
[b] Interuniversitary Consortium of Marine Biology of Leghorn "G. Bacci", 57128 Livorno, Italy.
[c] Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, San Piero a Grado, Pisa, Italy
[d] Department of Mechanical Engineering & Centre for Mechanical Technology and Automation (TEMA), University of Aveiro, Aveiro, Portugal
[e] Department of Chemistry and Industrial Chemistry, University of Pisa, Udr INSTM Pisa, Pisa 56126, Italy
[*]Corresponding Author: Carlo Pretti, Interuniversitary Consortium of Marine Biology of Leghorn "G. Bacci", 57128 Livorno, Italy and Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, San Piero a Grado, Pisa 56122, Italy; email: carlo.pretti@unipi.it

Abstract: In recent years, oxidative stress has been recognized as one of the most common effects of nanotoxicity in different organisms. Ficopomatus enigmaticus (Fauvel, 1923), a member of a large family of serpulidae polychates, is an important encrusting organism in a diverse set of marine habitats, from harbours to coral reefs. This species has been previously studied for ecotoxicological purposes, despite the lack of reported studies on this species biochemical response after exposure to different pollutants. For these reasons, and for the first time, a set of biomarkers related to oxidative status were assessed in polychaetes after 28 days of exposure. Furthermore, polychaetes metabolic performance and potential neurotoxicity were investigated. Results clearly demonstrated induced toxicity in the filter-feeder polychaetes after exposure to nanoparticles. Indeed, CNTs altered the biochemical and physiological status of F. enigmaticus, both in terms of energy reserves (reduction of protein and glycogen contents), oxidative status (expressed as damage in cell function like protein carbonyl content and lipid peroxidation) and activation of antioxidant enzymes defences (Glutathione reductase, Catalase,

Glutathione peroxidase and Glutathione S-transferases activities). The present study showed for the first time that this species can be used as a model organism for nanoparticle toxicology.

Ficopomatus enigmaticus larval development assay: an application for toxicity evaluation of marine sediments

M.Oliva [1], C.Manzini [1], G. Bontà Pittaluga[1], L.Kozinkova [1], L.De Marchi [2], R.Freitas [2], G.Fabi[3], C.Pretti [1,4]

[1]Consorzio per il Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata di Livorno "G. Bacci", Livorno, Italy oliva@cibm.it

[2]Departamento de Biologia & CESAM, University of Aveiro 3810-193, Portugal
[3]National Research Council – ISMAR, Ancona, Italy

[4]Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, Pisa, Italy

Abstract: Ficopomatus enigmaticus is a ubiquitous fouling reef-forming species serpulid polychaete that also is a dioecious gamete spawner throughout different seasons and in different salinity conditions. Due to these characteristics, its candidacy as a model organism to monitor both marine and brackish matrices was assessed. Sediments collected in a polluted area near the port of Ancona (Italy) were used as case study. Besides the chemical characterization of sediments, the larval development of F. enigmaticus was adopted as an assay for ecotoxicological assessment of sediments in addition to a regulatory bioassay battery with different organisms and endpoints. The quality of sediments was classified according to the Italian Ministerial Decree for sediment management (MD 173/2016) by using the SEDI-QUAL-SOFT® (ver. 109.0) software developed by the Italian Environmental Protection Agency (ISPRA). The F. enigmaticus larval development assay showed a quite similar sensitivity to C. gigas larval development assays, indicating its potential use in a regulatory battery of bioassays.

Effects of copper to larval stages of the intertidal crab *Pachygrapsus marmoratus* (Decapoda; Grapsidae)

M. Oliva [1], V. Casu[2], L. De Marchi[3], R. Freitas[3], I. Caliani[4], M.C. Fossi[4], S. Fratini[5], M. Baratti[6], C. Pretti[1,2]

[1]Consorzio per il Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata di Livorno "G. Bacci", Livorno, Italy oliva@cibm.it

[2]Department of Veterinary Sciences, University of Pisa, San Piero a Grado (PI), Italy

[3]Departamento de Biologia & CESAM, University of Aveiro 3810-193, Portugal

[4]Department of Environment, Earth and Physical Sciences, University of Siena

[5]Department of Biology, University of Florence

[6]National Research Council – IBBR, Florence, Italy

Abstract The concentration of copper characterising both sediments and waters of harbour areas are higher with respect to other coastal areas, due to the presence of various sources, such as antifouling paints. The aim of this work was to investigate the effect of this metal on larval stages (zoea I) of the intertidal crab Pachygrapsus marmoratus (Decapoda: Grapsidae). We hypothesed that the high concentrations of copper could affect the survival, the metabolic activity and, consequently, the larval dispersal of the abundant populations of P. marmoratus present in Mediterranean harbours. The larvae, hatched from ovigerous females kept in the laboratory, were exposed in vivo to different concentrations of copper in a mortality assay. In addition, whole larval S9 cellular fraction were exposed to copper in time-course (24 minutes and 1 hour) and dose-dependent (0.5, 0.25 and 0.125 mg/L) experiments to evaluate biomarkers of cell damage and oxidative stress. Mortality test showed half maximal effective concentration (EC50) of 0.52 mg/L as copper ion (Cu2+) and a no effect concentration (expressed as

EC10) of 0.01 mg/L as copper ion (Cu2+). The oxidative stress enzyme battery resulted activated when larvae were exposed to half concentration of EC50 (0.25 mg/L) after 24 minutes.

Application of different integrable tools to assess the dredged material impact on *Paracentrotus lividus* embryo in a case-study

R. Bonaventura[1], F. Zito[1], L. Morroni[2], A. Pinsino[1]

[1]Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) Istituto di Biomedicina e Immunologia Molecolare "A. Monroy"
annalisa.pinsino@ibim.cnr.it
[2]Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, Livorno, Italy

Abstract: With the aim to enhance the use of the sea urchin embryo-toxicity test to discriminate the ecotoxicity of sediments coming from critical harbor areas, different integrable tools has been used and compared in this study. Tests were performed on elutriates obtained from representative sediment samples of areas at high risk of environmental crisis in Italy which, in the frame of the project "Attività di interesse comune propedeutiche alla realizzazione degli interventi per la bonifica, ambientalizzazione e riqualificazione di Taranto" were chosen as a model case-study for the application of our comparative approach. The toxicity of elutriate samples from Taranto harbor was determined by calculating the percentage of normal and abnormal embryos at pluteus (48 h) stage, according to both standard criteria using Abbott's formulation without considering different typologies of malformations, and the new integrative index of toxicity (ITI) considering different typologies of malformations. In computing the effectiveness of the sea urchin embryo-toxicity test, mortality was also considered by applying the Schneider-Orelli's formulation. In conclusion, the purpose of this work was to provide a contribution both to improve the criteria for the characterization of sediment quality and to give indications in the resulting decision-making choices.

Effetti letali e subletali di una miscela di PFAS su *Danio rerio*: un possibile indicatore di salute dell'ecosistema.

I. Lacchetti, M. Carere, W. Cristiano, S. Caciolli, L. Mancini

Istituto superiore di Sanità – Dipartimento Ambiente e Salute – Reparto Ecosistemi e salute, Roma
ines.lacchetti@iss.it

Abstract: Tra le sostanze chimiche emergenti gli acidi perfluoroalchilici, comunemente indicati come PFAS, sono una delle emergenze ambientali che l'Italia sta affrontando. I PFAS sono una classe molto ampia di sostanze chimiche diffusamente utilizzata dalle industrie per rendere, tra l'altro, resistenti ai grassi e all'acqua vari materiali come tessuti e contenitori alimentari. Gran parte di queste sostanze sono note per l'elevata capacità di diffusione, solubilità e persistenza negli ecosistemi acquatici, e per la loro capacità di bioaccumulo negli organismi lungo la filiera trofica. Per alcuni PFAS sono stati definiti standard di qualità ambientali nella normativa di settore. Tuttavia si hanno ancora poche informazioni riguardo i possibili effetti ecotossicologici di questi contaminanti emergenti che si riscontrano sempre più spesso negli ecosistemi acquatici anche in miscela.
Obiettivo dello studio è stato quello di investigare l'effetto su Danio rerio (zebrafish) di una miscela di PFAS composta da due acidi perfluoroalchilici: PFOA a catena lunga, e PFBA a catena corta. A tal fine embrioni di zebrafish sono stati esposti per 96 ore a diverse concentrazioni di PFOA e di PFBA, prima separatamente e poi miscelati insieme. Sono state calcolate le rispettive EC50 con l'applicazione del test FET - OECD 236 e parallelamente sono stati registrati i principali effetti subletali (deformità, frequenza cardiaca, flusso cardiaco, attività embrionale).
Questi primi risultati possono contribuire alla definizione di indicatori ecotossicologici per la salute degli ecosistemi acquatici inoltre potranno fornire indirettamente elementi di conoscenza utili anche per la protezione della salute umana.

Applicazione di un progetto di Eco-genotossicologia per la valutazione della qualità del tratto urbano del Fiume Tevere

M. Carere[1], I. Lacchetti[1], W. Cristiano[1], S. Caciolli[1], F. Marcon[1], R. Crebelli[1], C. Andreoli[1], L. Conti[1], A. Antoccia[2], G. Frenzilli[3], P. Guidi[3], A. Buschini[4], G. Gorbi[4], A. Suppa[4], O. Serra[4], P. Venier[5], L. Mancini[1]

[1]Istituto Superiore di Sanità – Dipartimento Ambiente e Salute, Roma ines.lacchetti@iss.it
[2]Università degli Studi Roma Tre – Dipartimento di Scienze - Roma
[3]Università di Pisa - Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale Pisa
[4]Università di Parma - Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità Ambientale - Parma
[5]Università di Padova - Dipartimento di Biologia, Padova

Abstract: L'applicazione di saggi ecotossicologici per la valutazione della qualità degli ecosistemi acquatici risulta sempre più necessaria tenendo conto della complessità dell'inquinamento chimico ambientale causato dalla presenza di migliaia di sostanze chimiche rilasciate, scaricate ed emesse da fonti di diversa natura (agricole, urbane, industriali). Tale necessità è considerata anche attualmente nell'ambito della strategia di implementazione della Direttiva Quadro Acque in cui l'utilizzo di saggi ecotossicologici (biomarkers, bioassays in vitro e in vivo) viene raccomandato a supporto dell'analisi chimica per il monitoraggio di corpi idrici superficiali. Ai saggi ecotossicologici si affiancano utilmente i saggi eco-genotossicologici, basati sulla valutazione di biomarcatori di genotossicità, capaci di rilevare effetti rilevare la presenza nell'ambiente di agenti con attività genotossica che possono indirettamente rappresentare un rischio per la salute umana.

In tale contesto è stato sviluppato, attraverso la collaborazione tra Istituto Superiore di Sanità e diverse Università Italiane, un progetto per l'applicazione di saggi eco-genossicologici al fine di valutare la qualità del tratto urbano romano del Fiume Tevere caratterizzato principalmente dalla presenza di fonti di inquinamento tipiche di una grande città (es. scarichi di piccole imprese, reflui urbani, uso di pesticidi applicati in ambito urbano, discariche illegali di rifiuti), inoltre, a causa dei cambiamenti climatici, la presenza di alluvioni e di periodi di scarsità idrica sono sempre più frequenti in tale area aumentando quindi la necessità di usare strumenti di monitoraggio innovativi. I siti di campionamento hanno incluso un tratto a monte (Farfa) potenzialmente poco impattato, un sito all'entrata della città (Castel Giubileo) ed una stazione a valle del depuratore urbano (Mezzo Cammino). I saggi che sono utilizzati comprendono test di genotossicità (es. Comet assays e Test del Micronucleo), ma anche test di rilevazione di altri effetti come ad esempio il FET (Fish Embryo Toxicity test) con l'utilizzo di Zebrafish (embriotossicità, cardiotossicità, neurotossicità) ed anche saggi di identificazione di effetti teratogeni come l'utilizzo di Hydra; sono applicati anche saggi di valutazione di effetti acuti attraverso l'uso di *Daphnia magna* ed alghe.

I risultati di questo studio contribuiranno alla conoscenza dello stato di qualità del tratto urbano del fiume Tevere che rappresenta una risorsa preziosa tenendo conto anche dei diversi utilizzi (es. irriguo) che potrebbero potenzialmente rappresentare un rischio anche per la salute umana, inoltre l'obiettivo finale è anche quello di mettere a punto una batteria di test eco-genotossicologici ad ampio spettro che possano essere utilizzati in contesti analoghi e raccomandati per l'implementazione della normativa nazionale ed europea.

Response of alpine macroinvertebrates to emerging contaminants: integration of a basic ecological study and acute toxicity and genotoxicity experimental results

V. Lencioni, P. Bernabò, F. Bellamoli, F. Paoli

Section of Invertebrate Zoology and Hydrobiology, MUSE e Museo delle Scienze, Trento, Italy
valeria.lencioni@muse.it

Abstract: Pesticides and CECs (pharmaceuticals and personal care products) emitted by Wastewater Treatment Plants (WTPs) represent an emerging environmental problem in Alpine rivers strongly affected by tourism, where pollution level peaks during holidays. The ecotoxicological and genotoxic effects of four pollutants (ibuprofen-IBU, furosemide-FUR, trimethoprim-TMP and triclocarban-TCC) were tested seasonally in seven insect species (Diamesa cinerella, Pseudodiamesa branickii, Baetis alpinus, Perlodes intricatus, Dictyogenus alpinus, Rhyachophila occidentalis, Rhyachophila tristis) collected in an alpine stream (Vermigliana stream, Trentino, Italy). A negative effect of the sewage was highlighted on alpha-diversity. Furthermore, populations living downstream of the sewage resulted generally more resistant to the pollutant most concentrated in the environment (IBU). Genotoxicity tests (Comet assay) highlighted a negative WTP effect under natural conditions and a genotoxic effect for most of the tested compounds. The general stress conditions highlighted by taxonomical composition and ecotoxicological and genotixicty tests were not detected by the standard methods used to assess the ecological status of rivers in Italy, STAR-ICMi and EBI indices. Even if measured concentrations of CECs are far lower than those required to cause acute effects, prolonged exposure to a mixture of CECs might have damage macroinvertebrate communities, with still unknown cascade effects on the river food web.

Nanoparticles: a potential alternative in heavy metal pollution remediation? An in vitro study on *Mytilus galloprovincialis*

M. Palumbo[1,2], M. Bernardeschi[1], M. Genovese[1,2], M. Pagnoni[1], P. Guidi[1], V. Scarcelli[1], M. Alfè[3], P. Lucchesi[1], G. Frenzilli[1]

[1]Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata "G. Bacci", Livorno
palumbo.mara@yahoo.it
[2]Department of Clinical and Experimental Medicine, Unit of Applied Biology and Genetics, University of Pisa, Pisa, Italy
[3]Combustion Research Institute, IRC-CNR, Naples, Italy

Abstract: Nanoparticles, due to peculiar chemo-physical properties, are widely used in the composition of different consumer products and for many industrial and medical processes, and have been recently investigated for their potential role in environmental remediation.The aim of this work was to evaluate the capability of different types of nanoparticles to interact with heavy metals, classical marine pollutants, lowering their genotoxic effects. Particularly, Mytilus galloprovincialis gill biopsies were in vitro treated with 1µg/ml Cadmium Chloride to evaluate the potential application in nanoremediation of 10µg/ml Carbon Black (CB, 50nm) and 50µg/ml Titanium Dioxide (TiO2 Sigma 25nm; TiO2 Degussa, 70% anatase, 21nm; mesoporous TiO2, 14nm) nanoparticles. For each experiment, gill biopsies from 3 animals were exposed to nanoparticles and CdCl2, then genotoxicity tests were performed on isolated gill cells. The alkaline version of Comet assay and Diffusion assay were used to evaluate primary DNA damage and the presence of apoptotic cells. Cytome assay was performed to assess micronucleated cells and nuclear abnormalities frequency. TEM analysis was carried out to investigate nanoparticles cellular up-take.Results showed that TiO2 Sigma and Degussa were able to reduce the DNA damages induced by CdCl2. Data on chromosomal damages showed CB capacity to reduce micronucleated cells frequency.

Integrated Testing Strategy (ITS) per la valutazione ecotossicologica di nuovi materiali per la pulizia e la conservazione di opere d'arte moderna e contemporanea

M. Picone, G. Libralato, A. Costa Devoti, I. Bendazzoli, S. Secco, E. Semenzin, A. Marcomini, A. Volpi Ghirardini

Dipartimento di Scienze Ambientali, Informatica e Statistica Università Ca' Foscari di Venezia, Venezia-Mestre ITALY

Abstract: Una strategia integrata di valutazione (ITS) consiste in uno schema di tipo gerarchico che permette di guidare il processo decisionale relativo alla valutazione dell'impatto sulla salute umana e sull'ambiente di prodotti chimici e nanomateriali. Nell'ambito del Progetto NanoRestArt (NANOmaterials for the RESToration of works of ART), finanziato nell'ambito del Programma NMP-2014 di Horizon 2020, è stata adottata una ITS basata su 3 livelli di approfondimento per la valutazione avanzata del pericolo per l'ambiente legato alla formulazione di nuovi prodotti per la pulizia, la protezione e la conservazione di opere d'arte moderna e contemporanea. Il primo livello della procedura riguarda la valutazione della tossicità acuta, utilizzando come indicatori *Daphnia magna* (metodo OECD 202), *Pseudokirchneriella subcapitata* (metodo OECD 201) ed il test Microtox® (metodo ISO 11348). I prodotti che non determinano effetti acuti (EC_{50} > 1 mg l^{-1}) sono inviati al secondo step di approfondimento, legato alla determinazione degli effetti cronici con *D. magna* (Metodo OECD 211), mentre i formulati che generano tossicità acuta (EC_{50} < 1 mg l^{-1}) sono restituiti al produttore affinché provveda a modificarne la composizione chimica, per diminuire la tossicità. Prodotti che non determinano effetti cronici (NOEC > 1 mg l^{-1}) vengono inviati al terzo e ultimo livello di valutazione ITS, finalizzato a rilevare eventuali danni genetici e mutagenicità con i UMU- e SOS-Chromotest (metodo ISO 13829); prodotti che generano tossicità cronica necessitano invece di minori modificazioni alla composizione del formulato. L'applicazione della procedura ITS sui formulati più promettenti per la pulizia, la protezione e la conservazione di opere d'arte ha messo in evidenza come la valutazione degli effetti acuti non è sufficiente a garantire la "sicurezza" dei prodotti. Infatti, anche i formulati più promettenti, che generano EC_{50} > 1000 m l^{-1} in tutti i test acuti del primo step della ITS possono generare effetti a lungo termine, con NOEC < 0.1 mg l^{-1}. Questi risultati inoltre sottolineano come la classificazione ai sensi del Regolamento CLP (Reg. 1272/2008/EU "*Classification, Labeling and Packaging*"), basata su rischi e pericoli desunti dalle schede di sicurezza dei singoli ingredienti in assenza di prove sperimentali, non è sufficiente a definire la sicurezza del prodotto per l'ambiente.

Negative effects of diatom-derived oxylipin mixtures on sea urchin *Paracentrotus lividus* development

L. Albarano[1,2], N. Ruocco[1,2,3], C. Annunziata[1], A. Ianora[4], G. Libralato[2], L. Manfra[1,5], M. Costantini[1]

[1]Department of Biology and Evolution of Marine Organisms, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Naples, Italy luisa.albarano@alice.it
[2]Department of Biology, University of Naples Federico II, Complesso Universitario di Monte Sant'Angelo, Naples, Italy
[3]Bio-Organic Chemistry Unit, Institute of Biomolecular Chemistry-CNR, Pozzuoli, Naples 80078, Italy
[4]Department of Integrative Marine Ecology, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Naples, Italy
[5]Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA), Rome, Italy

Abstract: Diatom-derived oxylipins, including polyunsaturated aldehydes (decadienal, heptadienal and octadienal) and hydroxyacids, derived from the oxidation of fatty acids with cytotoxic effects. Aldehydes, tested separately, are able to induce malformations in sea urchin *Paracentrotus lividus* embryos, whereas hydroxyacids do induce developmental malformations but at concentrations higher when compared with aldehydes. Interestingly, hydroxyacids also induced a marked developmental delay in sea urchin embryos, which has not hitherto been reported for oxylipins. To our knowledge, no studies have been performed so far to investigate the effects of oxylipin mixtures on marine invertebrates. Here we test mixtures on embryonic early stages of P. lividus development. Results show that mixtures of oxylipins have synergistic effects that are much more severe compared to individual oxylipins. *Real Time qPCR* on fifty genes, previously tested on embryos treated with individual oxylipins, revealed additive molecular effects, with almost all genes targeted by their mixtures. This study is relevant from an ecological point of view because marine organisms are exposed to oxylipin mixtures during grazing, being diatoms a major food source for both pelagic and benthic organisms. Our findings open new perspectives for understanding how marine organisms afford protection from environmental natural toxin mixtures such as diatom-derived secondary metabolites.

Toxigenic effects of benthic diatoms upon grazing activity of the sea urchin: morphological, metabolomic and *de novo* transcriptomic analysis

Nadia Ruocco[1,2,3], Valerio Zupo[4], Davide Caramiello[5], Adrianna Ianora[6], Angelo Fontana[3], Maria Costantini[1]

[1]Department of Biology and Evolution of Marine Organisms, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Naples, Italy nadia.ruocco@gmail.com
[2]Department of Biology, University of Naples Federico II, Complesso Universitario di Monte Sant'Angelo, Napoli, Italy
[3]Bio-Organic Chemistry Unit, Institute of Biomolecular Chemistry-CNR, Pozzuoli, Naples, Italy
[4]Center of Villa Dohrn Ischia-Benthic Ecology, Department of Integrative Marine Ecology, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Naples, Italy.
[5]Unit Marine Resources for Research, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Naples, Italy
[6]Department of Integrative Marine Ecology, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Villa Comunale, 80121 Napoli, Italy

Abstract: Diatoms are unicellular algae playing a key role as photosynthetic organisms in the world's ocean food webs. The chemical ecology of planktonic diatoms is well documented, but few studies have reported on the effects of benthic diatoms on their consumers, also due to difficulties in the collection, quantification and massive culturing of benthic species. Here for the first time we investigate the effects of feeding on four benthic diatoms isolated from the leaves of the seagrass Posidonia oceanica on the sea urchin *Paracentrotus lividus*: two abundantly occurring diatoms, *Nanofrustulum shiloi* and *Cylindrotheca closterium*, and two slow-growing diatoms, *Cocconeis scutellum* and *Diploneis* sp. Adult *P. lividus* were fed for one month on diets of either one of the four diatoms and on the green alga Ulva rigida, used as a feeding control. By combining morphological, metabolomic and *de novo* transcriptomic approaches, we demonstrate toxigenic effect on embryos generated by females fed with these benthic diatoms, with the exception of *C. scutellum*. Furthermore, chemical analysis reveal the presence of polyunsaturated aldehydes and a high production of other oxylipins (cytotoxic compounds on their grazers and on cancer cell lines, isolated in planktonic diatoms) for these benthic diatoms. These findings open new perspectives in the study of diatom secondary metabolites influencing their grazers.

Indagine su biomarker di fitotossicità in *Lepidium sativum*

N. Guerrieri[a], L. Fantozzi[a], A. Lami[a], L. Scaglioni[b]

[a]CNR-ISE Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Verbania n.guerrieri@ise.cnr.it
[b]DeFENS, Università degli Studi di Milano, Facoltà di Agraria, Milano

Abstract: La conoscenza sulla risposta metabolica delle piante allo stress da metalli pesanti richiede ulteriori approfondimenti. Il *Lepidium sativum*, crescione comune, viene utilizzato come organismo test vegetale nel saggio di fitotossicità insieme al cetriolo (*Cucumis sativus*) e al sorgo (*Sorghum saccharatum*) (UNI CHIM 1651:2003) inoltre i semi di crescione vengono utilizzati da molti autori in studi di fitotossicità anche con diversi standard e procedure di crescita. Il presente lavoro ha preso in esame la risposta dei semi di *Lepidium sativum* (UNI CHIM 1651:2003) esposti alle acque arsenico ferruginose del Rio Rosso, campionate in Valle Anzasca, e in sistemi modello contenenti arsenico, alluminio, solfato di ferro, solfato di sodio, solfato di rame. Sono stati misurati sia la germinazione che IG%, le analisi sono state effettuate sia misurando con centimetro che tramite acquisizione di immagine ed elaborazione con software. La risposta di *Lepidium sativum* nei campioni testati ha evidenziato una frequente biostimolazione. In alcuni campioni sono stati analizzati carotenoidi e altri biomarker per approfondire la risposta metabolica indotta dall'esposizione ai metalli pesanti.

First evidences on molecular effects of copper on *Paracentrotus lividus* development

L. Morroni[1,2], D. Sartori[1], M. Costantini[2], L. Genovesi[3], T. Magliocco[3], N. Ruocco[2,4,5], D. Pellegrini[1], I. Buttino[1,2]

1: Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale ISPRA, Livorno, Italy
lorenzo.morroni@isprambiente.it
2: Department of Aquatics, Acquario di Livorno, Costa Edutainment S.p.A, Livorno, Italy
3: Stazione Zoologica Anton Dohrn, Napoli, Italy
4: Department of Biology, University of Naples Federico II, Complesso Universitario di Monte Sant'Angelo, Napoli, Italy
5: Bio-Organic Chemistry Unit, Institute of Biomolecular Chemistry-CNR, Pozzuoli, Naples 80078, Italy

Abstract: Anthropogenic activities release Copper (Cu) in the marine environment with harmful effects on aquatic organisms. Toxic effects of Cu on marine biota include extensive bibliography, however, mechanism of toxicity in marine invertebrates is poorly understood. The aim of the present study was to investigate toxigenic effects of Cu on the sea urchin *Paracentrotus lividus*, a species widely used in bioassays. Embryos of *P. lividus* were exposed to increasing concentrations of copper and the activation of specific genes (involved in different biological processes) was investigated at different developmental stages. Gene expression analysis was integrated with morphological data, quantifying and weighting the severity of developmental anomalies, using the Integrative Toxicity Index (ITI). The present study represents the first molecular insight on the potential toxicogenic effect of Cu on *P. lividus* population in polluted areas. Gene expression analysis should be used as an early indicator of stressful conditions and toxigenic approach should represent a useful tool to assess the impact of chemicals on marine organisms.

Risposte ecotossicologiche in *D. magna* dovute all'esposizione a microplastiche e surfattanti

M. Renzi, P. Fastelli, E. Grazioli, A. Blaskovic

Bioscience Research Center, Orbetello (GR) monia.renzi@bsrc.it

Abstract: Questo studio utilizza come specie modello il cladocero *D. magna* (Ecotox®) per valutare effetti ecotossicologici derivanti dall'esposizione a microplastiche irregolari (0,05 g/L; PP, PE, PVC), surfattanti (0,001%; Triton X-100) e loro miscele (microplastiche + surfattante) registrati a cadenza giornaliera nel periodo 24-96 h. Le dosi sperimentali di esposizione sono state definite dai risultati di uno screening preliminare. I test sono stati condotti sia in condizioni di digiuno (esposizione standard secondo il metodo OECD), sia alimentando gli animali con spirulina ogni 24 ore per tutta la durata dell'esposizione. I risultati ottenuti hanno evidenziato che gli animali ingeriscono attivamente le microplastiche in entrambe le condizioni sperimentali (digiuno, alimentazione); e restano facilmente intrappolati negli aggregati di microplastiche formando ammassi. Inoltre mostrano che: i) tutte le sostanze e miscele di sostanze testate hanno un effetto tossicologico crescente nel tempo; ii) l'immobilizzazione è un endpoint più sensibile della mortalità; iii) la maggiore tossicità è osservata per la miscela PVC+Triton X-100; iv) i test effettuati alimentando gli animali esposti hanno mostrato tassi di sopravvivenza dei controlli a 96 h superiori al 90% permettendo una maggiore discriminazione dell'effetto tossico di sostanze e miscele sia dopo 24 che dopo 96 ore di esposizione

Ecotoxicological effects of particulate materials produced by different types of brake-systems

S. Sforzini [1], A. Volta [2], C. Camurati [2], S. Maiorana [1], F. Teoldi [1], M. Lodi [1], M. Figliuzzi [1], E. Benfenati [1], G. Perricone[3], A. Viarengo [1]

[1]Mario Negri Institute, Milano, Italy anna.volta@uniupo.it
[2]Department of Sciences and Technological Innovation (DiSIT), University of Piemonte Orientale "A. Avogadro", Alessandria, Italy
[3]BREMBO SpA- Advanced R&D- Stezzano, Italy

Abstract: The particles generated by brake system wear represent significant anthropogenic sources of environmental particulate matter (PM). The possible toxicity of this PM is under evaluation, but little information about the eco-toxicological impact is available so far. The brake PM may contain different organic and inorganic compounds, including heavy metals, which could affect both the environmental status and human health. This study analyses the eco-toxicological effects of debris originating from two brake systems. The first type, FM1+BD1, is a standard commercial brake-pad set, while FM4+BD2 is a new one, especially developed to reduce the environmental impacts of the PM (at least 50% of PM reduction as compared to a benchmark system). Eco-toxicity of increasing powder concentrations and their water accommodated fraction were investigated using numerous model organisms, characteristic of aquatic and soil ecosystems. The results obtained indicated that the toxicity of the debris produced by both brake systems is similar. However, FM4+BD2 is slightly more toxic for algae and crustaceans only at about 200mg/L, while at higher concentrations the effects are comparable. Earthworms and seeds showed no toxic effects, while the analyses on the amoebae highlighted effects on vitality and reproduction only at high concentrations. These results demonstrate a minimal risk for biodiversity of the freshwater and edaphic ecosystems. Sub-lethal effects (such as lysosomal membranes stability changes) have also been found.

COMUNICAZIONI SESSIONE 2

CRITICITÀ E SVILUPPI APPLICATIVI DELL'ECOTOSSICOLOGIA RISPETTO ALLA NORMATIVA VIGENTE

Aggiornamento sulle Norme ISO CEN e sulle Linee Guida OECD in Ecotossicologia

R. Baudo

ex CNR – ISE r.baudo@ise.cnr.it

Abstract: Università e istituti di ricerca pubblicano continuamente nuovi protocolli metodologici per saggi ecotossicologici, basati su modelli biologici diversi ed end point di vario tipo. Al di là dell'interesse scientifico, queste pubblicazioni sono di limitato interesse per i laboratori, pubblici o privati, chiamati ad effettuare saggi previsti dalla normativa nazionale od internazionale. Solitamente, tali normative richiamano "metodi ufficiali" o, in qualche caso, specifici protocolli elaborati da organizzazioni quali UNI, ISO, CEN, OECD, molto attive anche nel campo della Ecotossicologia. Infatti, ogni anno vengono pubblicate revisioni di metodi già in vigore, o nuove proposte. Poiché non è sempre facile, anche per gli addetti ai lavori, rimanere aggiornati su queste evoluzioni, viene proposta una sintesi delle più recenti iniziative di ISO, CEN ed OECD.

First standardization of *Holoturia polii* (Holothuroidea: Echinodermata) embryo-larval bioassay for ecotoxicological studies

L. Morroni[ǂ1], A. Rakaj[ǂ2], L. Grosso[2], A. Fianchini[2], F. Regoli [3]

ǂ:contributed equally.
[1]Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), Livorno, Italy.
lorenzo.morroni@isprambiente.it
[2]Laboratorio di Ecologia Sperimentale ed Acquacoltura, Dipartimento di Biologia, Università di Roma "Tor Vergata", Roma, Italy.
[3]Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente (DiSVA), Università Politecnica delle Marche, Ancona, Italy.

Abstract: The aim of this study is to standardize the sea cucumber Holothuria polii embryo-larval bioassay for marine pollution assessment. The minimum percentage of embryogenesis success was established to evaluate the quality of the biological material. Moreover embryos were incubated at different temperatures, salinities and densities investigating the optimal conditions to profitably perform the bioassay. Copper and cadmium were used as reference toxicants in exposure experiments and different integrable endpoints has been used and compared. Results showed dose-response effect for all reference toxicants with a sensitivity of this specie similar to the commonly used bivalve and sea-urchin tests. This sea cucumber embryo-larval bioassay is an accurate, reliable and simple method that can be used in ecotoxicological studies.

REDEFINITION OF THE REGULATORY FRAMEWORK FOR OFF-SHORE PLATFORMS PROCESS WATER DISCHARGE: THE ROLE OF CHEMISTRY AND ECOTOXICOLOGY

V. Piazza[1], F. Garaventa[1], M. Faimali[1], C. Gambardella[1], E. Costa[1], M. Mezzelani[2], M.E. Giuliani[2], L. Pittura[2], S. Gorbi[2], F. Regoli[2], P. Behenisch[3], E. Oliveri[4], M. Sprovieri[4].

[1]CNR IAS Genova veronica.piazza@ge.ismar.cnr.it
[2]UNIVPM Ancona
[3]BDS Amsterdam
[4]CNR IAS Torretta Granitola

Abstract: An experimental activity has been carried out to support the Working Group for the redefinition of the regulatory framework regarding the discharge of Produced Water from off-shore platforms (ex art. 104, comma 5 del Dlgs. 152/06). A first sampling campaign was organised in May 2018 to collect Produced Waters, both before and after their treatment, on a few model platforms and at the discharge sites: seawater and sediments were also sampled at different distances from the platforms. Extensive chemical analyses on priority contaminants and on different environental matrices (seawater, sediemnts and biota) were integrated with several typologies of ecotoxicological analyses, ranging from traditional bioassays to more sensitive and innovative approaches including gene reporter assays of specific pathways, molecular responses in fish liver slice tissues, biomarkers in wild mussels from the platforms. Preliminary results pointed out some critical aspects regarding real representativeness of collected samples, but also suggested the most suitable model organisms and end-points able to highlight effects even at low toxicity levels. A second sampling campaign is being carried out, to obtain additional information and validate the earlier results. This work aims to verify with a modern approach the potential role played by Produced Water on the marine environment through a combined chemical and ecotoxicological approach primarily addressing and supporting decisional processes for assessment of a new regulatory framework in this field.

Principi tecnico-scientifici alla base della proposta di nuove Linee Guida per la gestione dei sedimenti in ambienti lagunari

F. Onorati, C. Maggi, D. Pellegrini, A. Ausili

ISPRA

Abstract: L'applicazione di metodologie integrate chimico-ecotossicologiche nelle lagune richiedono particolari attenzioni in relazione ai caratteri di fragilità di tali ambienti metastabili sempre in delicato equilibrio.Nuovi criteri sono oggi allo studio per la classificazione e gestione dei sedimenti in tali ambienti adottando come punto di riferimento gli obiettivi della Direttiva 2000/60/CE, che persegue il progressivo raggiungimento del "Buono Stato" ecologico e chimico. In analogia al DM 173/2016, utilizzando un processo di integrazione ponderata delle "linee di evidenza" chimica, ecotossicologica, si introduce come terza linea di evidenza il bioaccumulo per definire i limiti di classificazione che consentono una ricollocazione dei sedimenti a contatto con le acque lagunari. In questa prospettiva vengono proposte 5 classi di qualità dei sedimenti, progressivamente peggiorative, in base alle quali aumentano i vincoli associati alla loro gestione.La classificazione del sedimento superficiale implica analisi chimiche, ecotossicologiche e di bioaccumulo, mentre il sedimento profondo è classificato sulla base di una combinazione degli approcci chimico ed ecotossicologico. Nel rispetto del principio del non peggioramento della qualità del corpo idrico, viene proposta, nel sito ricevente, una caratterizzazione dei sedimenti superficiali chimica ed ecotossicologica ed una valutazione del bioaccumulo. È inoltre previsto un monitoraggio da eseguire *ex post*. È evidente che nella pratica tutto ciò richiede una fase di verifica e controllo, finalizzata alla validazione dell'approccio metodologico e alla eventuale conferma o adeguamento dei criteri quantitativi formulati.

Biosaggi *in vitro* ed *in vivo*: Nuovi orizzonti?

M. Russo, M. Ultre

ECOTOX LDS S.R.L. tecnico@ecotox.it

Abstract: Metodi e strumenti attualmente utilizzati non necessariamente sono adeguati a fronteggiare la potenziale minaccia di inquinanti emergenti e le nuove criticità in campo ambientale. Di conseguenza, gli operatori del settore sono alla continua ricerca di prodotti al passo coi tempi ed in grado di rispondere a queste specifiche esigenze, a volte sviluppandoli in proprio, ma più spesso interpellando direttamente i fornitori per verificare se le novità commerciali non possano rispondere allo scopo. Proprio a fronte delle crescenti richieste in questo senso, la ECOTOX LDS presenta due saggi in vitro ed un saggio in vivo, attualmente in fase di valutazione per un possibile inserimento nel mercato italiano. Il primo saggio in vitro è di tipo colorimetrico ed utilizza cellule di lievito ingegnerizzate, in grado di esprimere opportuni recettori umani per legare composti di sintesi aventi proprietà estrogeniche e androgeniche. Il secondo biosaggio in vitro si basa su linee cellulari umane di differenti tessuti. Gli output derivanti da questa tipologia di saggio sono molteplici, basati sulle diverse tecniche analitiche utilizzate (colorimetria per vitalità, Gene Array per espressioni geniche, microscopia per citotossicità, ecc.). Infine, il saggio in vivo, di tipo cronico, permette di valutare i potenziali effetti a lungo termine (21 giorni) di sostanze inquinanti sulla riproduzione di Daphnia magna. Oltre che nei rispettivi campi specifici, tutti questi saggi sono applicabili in ambito REACH, per la caratterizzazione di nuove sostanze di sintesi da immettere sul mercato e per l'attribuzione della qualifica HP14 ai rifiuti. Sulla base del feedback da parte dei potenziali utilizzatori la ECOTOX LDS sarà così in grado di decidere se e come programmare una commercializzazione di questi prodotti.

POSTERS SESSIONE 2

CRITICITÀ E SVILUPPI APPLICATIVI DELL'ECOTOSSICOLOGIA RISPETTO ALLA NORMATIVA VIGENTE

Harmonization of protocols and criteria for evaluation and classification of dispersant ecotoxicity

A. Tornambè[1], J. Guyomarch[4], O. Faraponova[1], P. Le Guerroue[4], C. Sebbio[1], K. Duboscq[4], F. Savorelli[3], F. Onorati[1], E. Magaletti[1], L. Manfra[1,2]

[1]Institute for Environmental Protection and Research (ISPRA), Rome, Italy
andrea.tornambè@isprambiente.it

[2]Department of Biology and Evolution of Marine Organisms, Stazione Zoologica Anton Dohrn, Naples, Italy

[3]Regional Agency for Environmental Protection in Emilia-Romagna (ARPA ER), Ferrara, Italy

[4]Centre Of Documentation, Research And Experimentation On Accidental Water Pollution (CEDRE), France

Abstract: Dispersants are chemical agents or biological products used to mitigate the petroleum hydrocarbon contamination in case of accidental oil spills at sea. A previous project between CEDRE (Centre of Documentation, Research and Experimentation on Accidental Water Pollution) and ISPRA (Italian Institute for Environmental Protection and Research) showed that, because of the differences in ecotoxicological testing procedures and in the toxicity evaluation criteria, the findings on the same dispersants may be different in Italy and in France. This study proposes a possible common approach for conducting dispersant toxicity tests and classifying their ecotoxicity, by harmonizing the procedures currently adopted in Italy and France.
Outcomes of bioassays with algae, crustaceans and fish will be discussed for a reference toxicant (Sodium dodecyl sulphate) and two unknown dispersants.

Terreni provenienti da scavi meccanizzati: valutazione della loro ecotossicità

I. Lacchetti[1], P.M.B. Gucci[1], P. Grenni[2], L. Patrolecco[2], E. Galli[3], V.G. Muzzini[3], E. Donati[4], A. Finizio[5], A. Barra Caracciolo[2]

[1]Istituto Superiore di Sanità, Rome (Italy) ines.lacchetti@iss.it
[2]CNR Water Research Institute of CNR (CNR-IRSA) –Roma 1 Research Area - Monterotondo Rome, Italy,
[3]CNR Institute of Agro-Environmental and Forest Biology (CNR-IBAF) – Rome 1 Research Area - Monterotondo Rome, Italy
[4]CNR Chemical Methodologies Institute (CNR-IMC) – Rome 1 Research Area - Monterotondo Rome, Italy,
[5]University of Study Milan-Bicocca – Milan, Italy.

Abstract: Negli scavi di gallerie di grandi opere effettuati con fresa TBM (Tunnel Boring Machine) vengono utilizzati, per facilitare il processo di scavo, degli schiumogeni, il cui componente principale sono spesso i tensioattivi anionici, ad esempio gli alchil etere solfati (AES). Sebbene essi siano considerati biodegradabili, esistono poche informazioni in letteratura sul destino ambientale e sui possibili effetti ecotossicologici. Per poter utilizzare come sottoprodotto il materiale scavato, è stato proposto di valutare il rischio ambientale potenziale del terreno stesso che dipende sia dalla concentrazione residua di AES nel terreno che dalla sua ecotossicità. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la compatibilità ambientale e l'ecotossicità di due terreni aventi differenti caratteristiche geopedologiche e condizionati con due diversi schiumogeni contenenti AES. A tal fine sono stati allestiti in cantiere dei mesocosmi contenenti il terreno condizionato alle reali dosi utilizzate nello scavo. Sui campioni di terreno a diversi tempi (0, 7, 14, 28 giorni) e sui rispettivi estratti acquosi è stata applicata una batteria di saggi ecotossicologici, rappresentativi di diversi livelli trofici del comparto acquatico e terrestre (Vibrio fischeri, embrioni di pesce Danio rerio, Lepidium sativum ed Eisenia foetida). Parallelamente è stata determinata la concentrazione di AES nel suolo e negli elutriati.I risultati hanno mostrato una diversa ecotossicità ascrivibile sia al tipo di terreno che all'organismo saggiato. Questo studio mette in evidenza l'importanza di una valutazione ecotossicologica sito-specifica nei progetti di scavo per poter ottenere informazioni sulla sua reale compatibilità ambientale.

Studio preliminare sull'ottimizzazione del protocollo analitico nei test ecotossicologici di inibizione alla crescita sulla microalga *Dunaliella tertiolecta*.

E. Di Poi[1], M.Francese[2], P. Del Negro[1]

[1]Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale OGS, Trieste edipoi@inogs.it

[2] Shoreline Soc. Coop., AREA Science Park, Trieste

Abstract: In questo lavoro vengono presentati i risultati ottenuti da test di inibizione alla crescita sulla microalga D. tertiolecta, il cui protocollo metodologico non è stato ancora normato secondo procedure ISO. Al fine di ottimizzare i metodi impiegati, sono stati confrontati due protocolli analitici: microscopia ottica e spettrofotometria. La specie è stata esposta a diverse concentrazioni di un tossico di riferimento (Cr2K2O7) e di elutriati ottenuti da sedimenti marini selezionati poiché rappresentavano possibili livelli diversi di contaminazione. Al microscopio ottico sono state confrontate le abbondanze cellulari (cellule/mL) ottenute dal conteggio in cameretta Burker e Sedgewick Rafter mentre allo spettrofotometro è stata determinata la fluorescenza della clorofilla in cellule metabolicamente attive previa creazione di una retta di calibrazione sulla specie saggiata. Dai dati ottenuti in questo studio, si è potuto confermare che il conteggio svolto in Burker è accurato solo per densità cellulari estremamente elevate; inoltre, i due protocolli saggiati sugli elutriati e sul tossico di riferimento appaiono complementari e replicabili.

Approccio proattivo sull'utilizzo delle specie test e degli strumenti per la valutazione dell'effetto nell'ambito dell'applicazione del D.L. 173/16.

M.Francese [1], M.De Colle [1], E. Di Poi [2], P. Del Negro [2]

1 Shoreline Soc. Coop., AREA Science Park, Trieste marfrancese@gmail.com
2 Istituto Nazionale di Oceanografia e di Geofisica Sperimentale OGS, Trieste

Abstract: In questo lavoro vengono presentate alcune considerazioni riguardo le batterie di saggi previsti dal dl 173/16 e la rielaborazione dei loro risultati allo scopo di individuare i possibili ambiti di miglioramento. Raccogliendo i dati di alcune campagne di caratterizzazione di sedimenti di marini sono stati enucleati gli elementi di incertezza nell'uso di alcuni organismi o degli strumenti utilizzati per quantificare gli effetti del campione sulla specie test. In particolare l'attenzione si è concentrata su Vibrio fischeri (sulla fase solida), Phaeodactilum tricornutum, Crassostrea gigas e Paracentrotus lividus. Inoltre si è andati a ricercare le possibili criticità presenti e i possibili sviluppi nel gestire e processare i campioni o nei metodi di elaborazione dei dati, incluso il software di caratterizzazione integrata Sediqualsoft.

DREDGING SEDIMENT QUALITY EVALUATION: FIRST CASE-STUDIES AND CRITICAL ASPECTS OF THE NEW REGULATION D.M. 173/2016

V. Piazza[1], D. Pellegrini[2], F. Regoli[3], D. Sartori[2], E. Costa[1], M. Faimali[1]

[1]CNR IAS Genova veronica.piazza@ge.ismar.cnr.it
[2]ISPRA Livorno
[3]UNIVPM Ancona

Abstract: The newly introduced regulation for the management of dredging sediment (Decree of Italian Ministry of Environment n. 173/2016) defines criteria and methodological procedures to be applied for the classification of dredging sediment, in order to define their appropriate management. Compared to old regulation, with D.M. 173/2016 a priority role is attributed to ecotoxicological assays. A battery of bioassays that considers the use of three species belonging to different trophic levels has to be applied both to solid and liquid phase of sediment. The results of ecotoxicological analyses are then assessed as a whole at the level of "battery", weighting the biological relevance of measured effects, the sensitivity of organism, the statistical significance of measured results and the assay conditions in terms of tested matrix and duration of exposure. Chemical and ecotoxicological data are then finally integrated following the weight of evidence (WOE) criteria, this representing an innovative approach respect to previous regulation, where chemical classification was determined by at least one parameter exceeding the threshold level and ecotoxicological classification was determined by the worst bioassay result of the whole battery. Aim of this work is to give a synthetic overview of some first case-studies where D.M. 173/2016 was applied, highlighting the positive aspect of using an integrated and weighted approach (WOE) respect to the old “pass to fail” criteria but also putting in evidence some critical aspects, in view of a possible future implementation of this regulation.

COMUNICAZIONI SESSIONE 3

L'ECOTOSSICOLOGIA NELLA GESTIONE AMBIENTALE E NELL'ANALISI DEL RISCHIO ECOLOGICO

Valutazione della tossicità dei sedimenti degli invasi ai fini della fluitazione: il protocollo PrATo

L. Marziali[1], L. Guzzella[1], L. Valsecchi[1], S. Tasselli[1], G. Tartari[1], P. Genoni[2], C. Borlandelli[2], E. Lorenzi[2], S. Castelli[3], A. Bellomi[3], C. Bravi[3]

[1]CNR IRSA, Istituto di Ricerca Sulle Acque, S.S. Brugherio, Brugherio, MB marziali@irsa.cnr.it
[2]ARPA Lombardia, Milano
[3]Regione Lombardia - D.G. Enti locali, Montagna e Piccoli Comuni, Milano

Abstract: I sedimenti accumulati negli invasi vengono spesso rimossi tramite fluitazione nel corpo idrico di valle. Sostanze microinquinanti accumulate nei sedimenti, quali elementi in traccia o composti organici, possono indurre effetti tossici sugli organismi acquatici del corpo idrico recettore. Il "Protocollo Analitico per la caratterizzazione ecoTossicologica e chimica dei sedimenti di un invaso" (PrATo) nasce dall'esigenza di definire le modalità di caratterizzazione dei sedimenti per predisporre i Progetti di Gestione degli invasi in Regione Lombardia e di programmare le operazioni che implicano il rilascio di sedimenti a valle in modo da prevenire effetti tossici sulle comunità acquatiche. Il PrATo è stato sviluppato considerando le informazioni relative a 30 invasi lombardi e comprende criteri e protocolli per il campionamento e l'analisi chimica ed ecotossicologica dei sedimenti dell'invaso e del corpo idrico recettore. Inoltre, comprende i criteri per la valutazione del rischio mediante: 1) confronto delle concentrazioni dei microinquinanti presenti nei sedimenti dell'invaso con soglie chimiche opportunamente selezionate; 2) valutazione della tossicità dei sedimenti dell'invaso mediante batterie di test ecotossicologici; 3) caratterizzazione chimica, ecotossicologica ed ecologica del corpo idrico di valle prima e dopo la fluitazione come criteri per programmare le operazioni di fluitazione e per valutare gli esiti delle operazioni. Ai fini pratici, la caratterizzazione permette di definire il rapporto di diluizione dei sedimenti in acqua da rispettare durante la fluitazione per garantire il non superamento delle soglie di tossicità.

Ecotossicità dell'acido perfluoroottanoico: esperienze di studio *in vivo* sulla carpa

L. Giari, E. A. Fano, G. Castaldelli

Dipartimento di Scienze della Vita e Biotecnologie, Università degli Studi di Ferrara, Via L. Borsari 46, 44121 Ferrara

Abstract: L'acido perfluoroottanoico (PFOA) è tra i principali composti perfluorurati, una classe di contaminanti emergenti. Per le eccezionali proprietà chimico-fisiche, il PFOA rappresenta un composto sfruttato nel settore produttivo con un ampio spettro di applicazioni e un insidioso inquinante persistente nell'ambiente, bioaccumulabile e ubiquitariamente diffuso. Nell'ottica di aumentare le conoscenze su effetti e meccanismo di tossicità del PFOA nei pesci, organismi rappresentativi dei sistemi acquatici, è stata realizzata un'esposizione subcronica di carpe adulte con i seguenti gruppi sperimentali: controlli (non esposti), 200 ng/L (una concentrazione di rilevanza ambientale), 2 mg/L. I principali indici di salute e metabolici non differiscono tra i gruppi. I livelli di PFOA nei tessuti risultano superiori al limite di rilevabilità solo nelle carpe esposte a 2 mg/L, con la massima concentrazione nel sangue. L'esame istologico evidenzia modificazioni esclusivamente nelle gonadi dei pesci esposti alla concentrazione maggiore. Tecniche di analisi di immagine e di immunoistochimica applicate alle sezioni epatiche documentano la capacità del PFOA di alterare la morfologia e la proliferazione degli epatociti. Nelle carpe esposte, anche a 200 ng/L, i livelli di mRNA dei geni GST ed ARO vengono significativamente influenzati. Oltre ai dati raccolti, questo studio fornisce utili indicazioni sulla validità delle tecniche ed end-points considerati.

Fate and effects of two isothiazolinones on activated sludges: bioindicative and toxicity studies

M. Race[1], A. Siciliano[2], L. Pontoni[3], M. Guida[2], M. Fabbricino[3]

[1]Department of Civil and Mechanical Engineering, University of Cassino and Southern Lazio, Cassino, Italy
[2]Department of Biology, University of Naples Federico II, Naples, Italy antonietta.siciliano@unina.it
[3]Department of Civil, Architectural and Environmental Engineering, University of Naples Federico II, Naples, Italy

Abstract: Methylisothiazolinone (MIT) and benzisothiazolinone (BIT) are widely used as preservatives for the control of fungi and bacteria in aqueous-based industrial products such as cleaning agents, paint formulations, personal care products and resin emulsions.These products are been recognized as emerging allergens and their discharge to wastewater treatment plants during industrial production and domestic usage is an environmental concern. Despite their inherent properties as biocides, few studies have evaluated the fate of BIT and MIT in biological treatments and the risk when discharged into the environment.This study was aimed to assess the mechanisms of BIT and MIT removal and their toxicity towards aerobic biomass (counts of protozoa and bacteria) of sludge and recognized biological models such as Daphnia magna (lethality), Raphidocelis subcapitata (growth inhibition), Aliivibrio fischeri (bioluminescence inhibition). Preliminary results gave adsorption as main removal mechanism. Upon addition of isothiazolinone, the population of protozoa and bacteria was observed to decrease, then the sludge seem to acclimatize to MIT and BIT. This is in general agreement with the respirometric tests. D. magna, R. subcapitata and A. fischeri toxicity order was BIT > MIT.

Valutazione dell'impatto ecotossicologico delle acque reflue municipali sull'ecosistema acquatico

F. Spina[1], L. Palli[2], M. Aragno[3], M. Vincenzi[3], R. Gori [2], G. C. Varese[1].

[1]Mycotheca Universitatis Taurinensis, Università degli Studi di Torino federica.spina@unito.it
[2] Dipartimento di Ingegneria Civile e Ambientale, Università degli studi di Firenze, Firenze
[3] Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale del Piemonte, Dipartimento Territoriale Sud-Ovest, Cuneo

Abstract: Come effetto delle attività umane, gli inquinanti organici persistenti tendono ad accumularsi nelle acque superficiali e municipali. Sfortunatamente, gli impianti di trattamento sono raramente progettati per affrontare questo problema. Lo scopo di questo studio è stato di valutare la qualità delle acque reflue di diversi impianti del nord Italia. L'efficienza del processo di trattamento in atto in impianto è stata monitorata, valutando anche l'effetto della variabilità stagionale. La caratterizzazione chimica ha rivelato la presenza di diversi famaci, pesticidi, plasticizzzanti, ecc. Come previsto, la loro concentrazione è stata fortemente condizionata dalla stagione, con alta concentrazione di antibiotici rilevata durante i periodi freddi e pesticidi durante la stagione calda. Per quanto riguarda l'ecotossicità, sono stati condotti diversi test biologici basati su piante, alghe, batteri crostacei e luminescenti. I dati hanno confermato l'importanza di una batteria di test con organismi modello rappresentativi di diversi livelli trofici dell'ecosistema acquatico. Gli impianti non hanno sempre ridotto la tossicità indicando che le acque scaricate nel bacino ricevente possono ancora avere un effetto rilevante sull'ecosistema. L'ampliamento della batteria di test includendo anche test cronici e la definizione di un indice sintetico sono oggetto d studio per meglio definire il reale rischio ambientale.

Toxicological effects of commercial fungicides on the earthworm *Eisenia fetida* (Savigny, 1826): laboratory and field investigations

T. Campani, I. Caliani, C. Pozzuoli, L. Poggioni, S. Casini

Department of Physical, Earth and Environmental Sciences, University of Siena, Italy caliani4@unisi.it

Abstract: The use of plant protection products in agriculture can affect ecosystems health. In particular, information on toxicological effects of fungicides on non-target soil organism are very poor or absent. The aim of this study was to evaluate the potential toxic effects of 4 commercial fungicides (Prosaro®, Amistar®, Mirador® and Icarus®) on the earthworm Eisenia fetida. Laboratory experiments were conducted using the filter paper test: E. fetida was exposed to increasing concentration of Prosaro® or Amistar®. Field investigations were conducted transplanting E. fetida in cages in the soil of wheat and durum wheat fields before and during treatment with different combinations of the 4 fungicides. E. fetida specimens from laboratory and field work were analysed to evaluate vitality, inhibition of acetylcholinesterase activity, glutathione S-transferase, lipid peroxidation and catalase activity, Comet assay and lysozyme activity. Significant alteration of GST activity and significant DNA fragmentation with respect to controls were detected at environmentally relevant doses of Prosaro®. Data from the field study underlined a statistically significant induction of GST in earthworms transplanted in the fields treated with Amistar® alone and Amistar®+ Prosaro®. This study represents a first step towards a better understanding of toxicological potential of commercial fungicides to non-target organisms.

Toxic effects of micronized Plastic toys in marine environment

M. Oliviero[ab], T. Tato[c], S. Lopez Ibáñez[c], S. Schiavo[ab], R. Beiras[c], S. Manzo[b]

[a]Università degli Studi di Napoli Parthenope - maria.oliviero@uniparthenope.it

[b]ENEA-CR Portici

[c]ECIMAT- Università di Vigo, Spagna.

Abstract - Microplastics are considered emerging contaminants and their impact in marine environment is mainly due to their small size that facilitates internalization by biota, with a consequent accumulation in the food chain. However, the release of potential hazardous substances from microplastics could also impact on marine life. We focused on potential toxicity of plastic commercial products in order to investigate their toxicity once released in seawater. In particular, the toxicity of a Chinese toy, in three different colors, was investigated by assessing the effects upon sea urchin embryos exposed to the micronized plastic toys and to their leachates. The results showed that the exposure to microplastics induced a decrease of sea urchin larval length at lower concentrations, while blocked embryos in early development stages were observed at higher concentrations. Probably, toxic effects were due to chemical substances released during the test, as also confirmed by leachates test. In fact, the exposure to Chinese toys leachates, at dilution test most concentrated, induced a block of sea urchin development immediately after fertilization. Moreover, a different toxicity was registered for toys with different colors, suggesting that heavy metals used as colorants could be leached in seawater inducing adverse effects upon sea urchin embryos.

Toxic effect of sunscreen-derived TiO_2 and ZnO nanoparticles on microalgae *Dunaliella tertiolecta*

Simona Schiavo[1,2], Maria Oliviero[1,2], Allan Philippe[3], Sonia Manzo[1]

[1]Enea Portici, Naples, Italy simonaschiavo@gmail.com
[2]University Parthenope, Naples, Italy
[3]Institut for Environmental Sciences, University of Koblenz-Landau, Fortstrasse 7, D-76829 Landau in der Pfalz, Germany

Abstract: Sunscreens represent one of the main source of engineered TiO2 and ZnO nanoparticles (NPs) source in coastal ecosystems. This study assesses the effect of TiO2 and ZnO NPs extracted from three commercial sunscreens (S2; S10; S11) upon Dunaliella tertiolecta by evaluating growth, oxidative stress and DNA damage. To understand the role of the organic sunscreen components, algae were exposed both to the whole sunscreens containing NPs and to sunscreen without NPs. Results showed that growth inhibition was affected by the extracted NPs (EC20 S2: 9.2 mgTi/L; EC20 S10: 0.49 mgTi/L; EC20 S11: 14 mgTi/L) and biostimulated by whole sunscreens, due to the presence of other components. Among the sunscreens containing NPs relevant toxicity, mainly evidenced as ROS production and DNA damages, was evidenced when both TiO2 and Zn were present (S10; S11). Moreover, lower effects were observed for the whole sunscreens and the relative extracts respect to industrial NPs. These findings suggest that the product formulation may mitigate the toxic effects of NPs either by direct modification of properties or by providing organic and inorganic nutrients promoting microalgae growth. In conclusion, the adverse effects of sunscreens upon microalgae could not be solely ascribable to the NPs, but also to the combined action of multiple components.

Comparison between Acartia tonsa and A. clausi bioassays: the case study of SIN Bagnoli-Coroglio

Y. Carotenuto[1], V. Vitiello[2], D. Pellegrini[2], I. Buttino[2]

[1]Stazione Zoologica Anton Dohrn Napoli
[2]ISPRA isabella.buttino@isprambiente.it

Abstract: The calanoic copepod Acartia tonsa is widely used in ecotoxicology to evaluate the quality of sea water and sediments. In the Mediterranean Sea this alien species, coming from the Atlantic Ocean, replaced the co-generic species in the Northern Adriatic Sea in the early 80's. Acartia tonsa has never been found in the Tyrrhenian Sea and the use of these species poses a threat in case of accidental release in this area. Therefore, it is urgent to find an autochthonous and co-generic species with similar physiological characteristics. We have focused our attention on A. clausi, which is abundant in the Tyrrhenian sea throughout the year. We tested its sensitivity to pollutants in classical ecotoxicological tests, comparing toxicological effects with those observed in A. tonsa. The aim is to suggest the use of this species in alternative to A. tonsa, in areas where this species has never been found, also to better evaluate toxicological effects on authoctonous population at sea.

Impatto dell' *ocean acidification* sulla fisiologia e qualità dei gameti maschili di *Mytilus galloprovincialis*

M.C. Esposito[1], R. Boni[2], M.C. Buia[1], A. Cuccaro, E. Tosti[1], A. Gallo[1]

[1] Stazione Zoologica Anton Dohrn, 80121, Napoli mariaconsiglia.espostito@szn.it
[2] Dipartimento di Scienze, Università della Basilicata, 85100, Potenza

Abstract: Il continuo aumento della pCO2 in atmosfera dovuto alle emissioni di origine antropica sta influenzando negativamente il sistema dei carbonati con conseguente diminuzione del pH dell'acqua di mare fenomeno noto come "acidificazione degli oceani" che ha conseguenze negative sul biota degli ecosistemi marini. La comunità scientifica quindi ha incominciato a porre una maggiore attenzione a tale fenomeno soprattutto per quanto riguarda le previsioni future della diminuzione di pH dei mari, che entro fine secolo passerà dal livello attuale di 8,1 a 7,8, e il relativo impatto sugli organismi. Gli effetti dell'acidificazione dei mari (OA) sui processi di calcificazione degli organismi marini sono stati ampiamente valutati ma poco è attualmente noto dell'effetto dell'OA sui processi riproduttivi degli organismi marini. In quest'ottica, utilizzando tre diversi approcci sperimentali, esperimenti in situ, in mesocosmo e esposizione diretta dei gameti, abbiamo valutato l'impatto dell'OA sulla fisiologia e qualità dei gameti maschili del mollusco Mytilus galloprovincialis. I risultati ottenuti mostrano un'iniziale variazione dei parametri di qualità spermatica che sono alla base della capacità fecondante, quali motilità, attività metabolica e pH intracellulare, e la successiva attivazione di meccanismi di compensazione che ripristinano lo stato fisiologico. In conclusione, gli spermatozoi di M. galloprovincialis risultano resilienti all'OA mostrando un potenziale adattamento ad essa.

Toxical effects of salt on plant growth.

C. Forni[1], M. Santangeli[1], M. Rossi[1], C. Capo[1], S. Beninati[1], F. Pietrini[2], M. Del Gallo[3]

[1]Dipartimento di Biologia, Università di Roma Tor Vergata, Roma (Italy) forni@uniroma2.it
[2] IBAF, CNR, Montelibretti (Roma), Italy
[3] Dipartimento MeSVA, Università dell'Aquila, L'Aquila (Italy).

Abstract: The increasing of salinity in the arable lands, due to inappropriate soil management and agricultural practices, represents one of the major threat for the future of the agriculture. In plants, the increased uptake of Na+ and Cl- ions can interfere with the structure and stability of membrane lipids and essential enzymes can be inactivated, causing alteration of cell metabolism. Changes of osmotic potential limits water uptake, inducing water deficit and nutrient imbalance. In these conditions plant growth is highly reduced and the production of reactive oxygen species (ROS) causes an osmotic stress at cellular level. High concentrations of sodium and chloride ions may also affect photosynthetic activity too. Efficient physiological and morphological adjustments, elicited by stress signaling mechanisms, lead to salt tolerance. The latter and the possible role of bacteria in helping the plant to cope with salt toxicity will be considered and discussed.

Microplastics in freshwaters: source and effects

S. Magni[1,2], F. Gagné[3], F. Regoli[4,5,] S. Gorbi[4,5], C. Della Torre[1,2], L. Pittura[4], C. G. Avio[4], C. André[3], J. Auclair[3], H. Hanana[3], C. C. Parenti[1], F. Bonasoro[6], A. Binelli[1,2]

[1]Department of Biosciences, University of Milan, Milan, Italy stefano.magni@unimi.it
[2]Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) Europe Italian Branch
[3]Environment and Climate Change Canada, Aquatic Contaminants Research Division, 105 McGill H2Y 2E7, Montréal, Québec, Canada
[4]Department of Life and Environmental Sciences, Polytechnic University of Marche, Ancona, Italy
[5]National Inter-University Consortium for Marine Sciences, CoNISMa, U.L.R. Ancona, Italy
[6]Department of Environmental Science and Policy, University of Milan, Milan, Italy

Abstract: Considering the few information about microplastic (MP) pollution in freshwaters, we applied the key principle of ecotoxicology, named Environmental Risk Assessment (ERA), to evaluate both the occurrence and their adverse effects on aquatic organisms. For this reason, we quantified and characterized both floating and settleable MPs released from the biggest Wastewater Treatment Plant (WWTP) of Northern Italy. We detected 0.4 ± 0.1 MPs/L in the final effluent, which corresponds at about 160,000,000 MPs released daily by selected plant in surface waters. On the basis of the great release of MPs by WWTPs, we evaluated both the uptake and chronic toxicity of these pollutants, after 6 days of exposure, on a filter-feeder organism, the freshwater mussel *Dreissena polymorpha*. The MP uptake in soft tissues and hemolymph of mussels was evaluated using confocal microscopy, while the adverse effects were assessed through a battery of 12 biomarkers of cellular stress, oxidative damage and neuro-genotoxicity and gel free proteomics. We observed an accumulation of MPs in the gut lumen, soft tissues and hemolymph of exposed mussels; MPs induced an alteration of both dopamine levels and oxidative status of mussels, as well as a modulation of 60 proteins involved in different metabolic pathways.

APPLICAZIONE DI UN APPROCCIO "WEIGHT OF EVIDENCE" NEL MONITORAGGIO DELLE ATTIVITA' OFF-SHORE IN ADRIATICO

G. d'Errico[1], A. Nardi[1], D. Fattorini[1], M. Benedetti[1], M. Di Carlo[1], M. Mezzelani[1], L. Pittura[1], C. G. Avio[1], I. Vanzetto[1], L. Morroni[1], A. Vannucci[2], S. Gorbi[1], D. Pellegrini[3], F. Regoli[1]

[1]Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Ancona
f.regoli@univpm.it
[2]Aplysia, Livorno
[3]ISPRA, Livorno

Abstract: Gli approcci multidisciplinari basati sull'integrazione di dati chimici e biologici rappresentano un valore aggiunto nella valutazione della qualità ambientale, e sono raccomandati in alcune Direttive Europee. In questo studio, viene presentato un approccio quantitativo Weight Of Evidence (WOE) basato sull'integrazione ponderata di diverse tipologie di dati (linee di evidenza, LOEs), per valutare l'impatto di piattaforme off-shore in Adriatico: la caratterizzazione chimica dei sedimenti è stata integrata con analisi di comunità bentoniche, saggi di tossicità, bioaccumulo e biomarker in mitili naturali e trapiantati. Le diverse tipologie di dati sono state inizialmente elaborate con adeguati algoritmi matematici per ottenere indici di pericolo specifici per ciascuna LOE, e successivamente un indice di rischio complessivo. L'elaborazione integrata ha permesso di ottenere conclusioni più robuste rispetto a quelle ottenute dalle singole LOE, evidenziando l'importanza di approcci multidisciplinari per monitoraggi e analisi di rischio efficaci. Da un punto di vista pratico inoltre, i risultati ottenuti suggeriscono la necessità di una revisione delle attuali procedure di monitoraggio. Il modello WOE proposto si è confermato uno strumento utile per sintetizzare grandi e complessi dataset in indici integrati, e per semplificare l'interpretazione da parte dei soggetti interessati e dai decisori, supportando i processi decisionali nella gestione orientata dei siti.

Ruolo dell'ecotossicologia e del bioaccumulo nella valutazione ERA (Environmental Risk Assessment) di Siti di Interesse Nazionale (SIN) in ecosistemi acquatici

L. Guzzella, L. Marziali

CNR-IRSA, Brugherio (MB) guzzella@irsa.cnr.it

Abstract: Il lavoro presenta lo sviluppo di metodologie e criteri, quindi di possibili Linee Guida, per la definizione dell'Ecological Risk Assessment (ERA) di Siti di Interesse Nazionale (SIN) in acque superficiali interessate dalla contaminazione dei sedimenti. In questo ambito, il CNR-IRSA ha attivamente preso parte ad un Tavolo Tecnico istituito dal MATTM per la valutazione ERA del SIN di Pieve Vergonte (VB, Piemonte). Tale sito è caratterizzato da un'importante contaminazione residua da DDx e mercurio che interessa anche l'ecosistema acquatico del Fiume Toce e Lago Maggiore. Il gruppo di lavoro ha coinvolto Enti preposti al controllo (ARPA Piemonte, ISS, ISPRA), Enti di ricerca pubblici e privati (CNR-IRSA, Ramboll Environ) e l'azienda che ha in carico la bonifica (Syndial). L'attività ha evidenziato la necessità di definire benchmark di confronto tra le diverse matrici ambientali (sedimenti, macroinvertebrati, pesci, uccelli, ecc…) rispetto ai valori sito-specifici, introducendo studi di bioaccumulo e di ecotossicità da condurre a differenti livelli trofici. L'approccio ha avuto come riferimento la Water Framework Directive 2000/60/EC, ma le metodologie e i criteri impiegati sono stati selezionati a partire dalle più recenti linee guida internazionali, in assenza di linee guida per l'Italia. I dati prodotti sono stati rivisitati, seguendo un approccio gestionale che definisce soglie di attenzione e di rischio differenti per le diverse matrici e che potrebbero essere adottate in altri SIN e per altre sostanze.

Procedura di TIE sequenziale ibrida Phase I – Phase II per ambienti marino-costieri ed estuarini

M. Picone, S. Vendramin, F. Corami, A. Volpi Ghirardini

Dipartimento di Scienze Ambientali, Informatica e Statistica Università Ca' Foscari di Venezia, Venezia-Mestre ITALY

Abstract: Le procedure di Toxicity Identification Evaluation (TIE), sviluppate a partire dagli anni '80 negli Stati Uniti come metodi per identificazione degli agenti tossici negli scarichi e successivamente estese a campioni ambientali, consistono nella manipolazione dei campioni (con metodi chimici e/o fisici) al fine di isolare o modificare la biodisponibilità delle classi di contaminanti presenti. In questo contesto, i saggi biologici sono impiegati come “detector” dell’efficacia della manipolazione. Sebbene la procedura di TIE sia suddivisa in 3 distinte fasi (caratterizzazione, identificazione, conferma), nella pratica le procedure di TIE sono generalmente limitate alla predisposizione di manipolazioni di Phase I (caratterizzazione) e solo in sporadici casi si conducono gli approfondimenti di Phase II. La presente ricerca si propone di mettere a punto una procedura "ibrida" di TIE che contempli l'applicazione simultanea di manipolazioni di Phase I per la caratterizzazione della tossicità e manipolazioni ed analisi di Phase II per l'identificazione delle sostanze, o delle classi di sostanze, implicate nella generazione di effetti negativi sugli indicatori ambientali scelti. Il design sperimentale ha quindi previsto la predisposizione di una procedura di TIE sequenziale e dicotomica su acque interstiziali, utilizzando 2 distinti trattamenti per caratterizzare e identificare le principali classi di contaminanti (ammoniaca, metalli, particellato, microcontaminanti organici), analisi degli elementi in traccia e dell'ammoniaca per valutare l'efficacia dei trattamenti, test di embriotossicità con il bivalve *Crassostrea gigas* per definire le variazioni dell'effetto tossico dopo i singoli trattamenti. Le manipolazioni di Phase I e Phase II utilizzate comprendono tanto metodi standard previsti dalle linee guida USEPA e NFESC, quanto metodi proposti dalla più recente bibliografia in materia di TIE. Le performance della TIE "ibrida" per l'esecuzione simultanea della Phase I e della Phase II sono state valutate applicando il metodo ad un campione di acqua interstiziale prelevato da un area ad elevata contaminazione della laguna di Venezia, in cui il contributo di diverse classi di contaminanti si sovrappone, limitando la capacità diagnostica dei metodi ecotossicologici e delle TIE tradizionali. I risultati hanno evidenziato come la procedura sia in grado di caratterizzare ed identificare efficacemente le principali classi di contaminanti e come l'approccio "sequenziale" e "dicotomico" possa rivelarsi fondamentale per identificare inquinanti il cui effetto tossico è di secondaria intensità nelle acque interstiziali (contaminanti organici polari), il cui contributo viene mascherato dagli effetti tossici generati dal contaminante predominante.

Integrative assessment of an estuarine system: hydrodynamical, chemical and ecotoxicological approach. An example in Pasaia Harbour (North eastern Spain)

N. Montero, I. Menchaca, M.J. Belzunce, A. Del Campo, M. Espino, L. Ferrer, J. Franco, J.M. Garmendia, M. González, J. Larreta, J. Mader, M.A. Maidana

AZTI imenchaca@azti.es

Abstract: The Water Framework Directive (WFD; 2000/60/EC) aims to achieve for all European water bodies 'good ecological and chemical status' by 2015. At present, sediment evaluation is not directly demanded, however, sediments represent a potential ecological risk as, depending on redox conditions, they can act as a source of contaminants to the water column. Hence, in order to achieve a more precise characterization of the status of a water mass, both, water and sediment matrixes should be included in monitoring programmes (1). Moreover, as the directive focuses on the biological and ecological elements of the system, it is essential to develop efficient methodologies to fill the gap between chemical analysis and toxicity upon organisms.In this contribution a multidisciplinary approach is applied to obtain an integrated evaluation of the quality of Pasaia harbour (Oiartzun estuary). This has been attained by a combination of a hydrodynamical descriptor, with chemical and ecotoxicological results. Oiartzun estuary has been highly contaminated by the surrounding industries and shipyard activities. Previous monitoring works in this area have highlighted the mismatch between dissolved/total contaminants concentrations, required by legislative guidelines, and their toxic effects upon the biota. Consequently, in this study, water was evaluated by the use of Diffusive Gradient in Thin-Films (DGTs), since the labile metal species accumulated in these devices represent the fraction most potentially bioavailable to biota (2). Additionally, Toxicity Identification and Evaluation (TIE) procedures (3) were carried out in sediments to identify the chemicals responsible of toxicity. Samples were physically/chemically manipulated to reduce the bioavailability of specific contaminants (metals, organic compounds and ammonia) and toxicity reduction was proven by acute amphipod (whole-sediment; Corophium sp.) and sea-urchin bioassays (elutriate; Paracentrotus lividus). Contamination assessment was complemented with the simulation of the hydrodynamic dispersion process in different parts of the estuary, by using an average residence time approach (4). On basis of our results, the application of techniques based on contaminants labile fraction and bioassays results provide a reliable indication of potential effects on the biota. Furthermore, the computed residence time proved to be a coherent descriptor to understand the fate of contaminants in dynamic systems. (1) Tueros et al., 2009. Mar Pollut Bull 58(9): 1389-1400.(2) Zhang & Davison, 1995. Anal Chem 67(19): 3391-3400(3) USEPA, 2007. Guidance Document EPA/600/R-07/080. 134 pp(4) Takeoka, 1984. Continental Shelf Research 3, 311-326.

Application of a 'weight-of-evidence' model for assessing sediment quality and associated hazard with offshore gas platforms discharging produced water

A. Tornambè*, L. Manfra, R. Di Mento, G. Moltedo, B. Catalano, G. Martuccio, C. Sebbio, G. Chiaretti, O. Faraponova, M. Amici, M.T. Berducci, C. Maggi, G. Romanelli, G. Sesta, G. Granato, F. Venti, P. Lanera, S. Maltese, A.M. Cicero and F. Onorati

ISPRA – Italian Institute for Environmental Protection and Research, Rome Italy

*Corresponding author

Environmental quality assessments and monitoring plans are key tools to all activities related to potential contamination of ecosystems, including marine systems.
Potential effects of oil/gas production activities in Adriatic Sea (Italy) are successfully monitorated since 2000 by water and sediment chemical analyses, sediment grain size analysis and bioaccumulation on native mussels.
In this study, a multidisciplinary approach on sediments around two gas platforms (Central Adriatic region) is applied in order to assess the potential impact due to produced formation water (PFW) discharge (a complex matrix that contains mixture of contaminants) .
Marine sediments (twenty-four stations) collected at increasing distance from the platform/discharge, were physic-chemically characterized ; in addition four stations, located at 0, 25, 50 and 100 m along the main local current, were characterized also for ecotoxicity. Different inorganic (metals) and organic contaminants (PAH, chlorinated compounds) were analyzed in sediment. To assess the effects of pollutants at different levels of trophic web, results of a bioassays battery composed by three different species (*Vibrio fischeri, Dunaliella tertiolecta, Tigriopus fulvus*) were considered. Moreover a battery of biomarkers at different biological levels together with bioaccumulation of some organic and inorganic contaminants were analyzed in polychaetes (*Hediste diversicolor)* exposed to sediment under laboratory conditions.
A multidisciplinary weight of evidence (WOE) study was carried out, integrating different lines of evidence (LOE) as sediment chemistry, bioaccumulation, bioassays and biomarkers of four stations for each platform. These LOEs were elaborated within a quantitative WOE model which provides a synthetic hazard index for a comprehensive assessment of hazard associated to potential contaminated sediments. The WOE elaboration allowed to better summarize complex dataset of results, providing a more realistic evaluation of hazard and risk for produced formation water discharges.

APPLICAZIONE DELL'APPROCCIO WEIGHT OF EVIDENCE (WOE) NELLA VALUTAZIONE DEL RISCHIO ASSOCIATO ALLA MOVIMENTAZIONE DEI SEDIMENTI DEL PORTO DI LIVORNO

F. Regoli[1], S. Gorbi[1], A. Nardi[1], C.G. Avio[1], M. Di Carlo[1], D. Fattorini[1], G. D'Errico[1], M.E. Giuliani[1], M. Benedetti[1] M. Mezzelani[1], L. Pittura[1], A. Scuderi[1], F. Pilato[2], V. Vitiello[2], S. Macchia[2], D. Pellegrini[2]

[1] Dipartimento di Sceinze della Vita e dell'Ambiente, Uiversità Politecnica delle Marche, Italy

[2] Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA), Livorno, Italy

Abstract: Dal 1997 ad oggi il porto di Livorno è stato interessato da numerose attività di dragaggio, con la rimozione complessiva di più di 4.000.000 m^3 di sedimento e relativa gestione che ha previsto prima la loro deposizione in mare, a 14 miglia dalla costa e poi il loro conferimento in una prima vasca di colmata.

A partire dal 2012 sono cominciate le attività di realizzazione della seconda vasca e in parallelo è stato realizzato un ampio piano di monitoraggio dei siti di rimovimentazione e conferimento dei sedimenti dragati; le attività hanno previsto l'integrazione di diverse tipologie di analisi (Linee di Evidenza, LOE), che hanno incluso test di tossicità, analisi delle comunità bentoniche, indagini chimiche e analisi di tipo ecotossicologico, con l'utilizzo di mitili, *Mytilus galloprovincialis*, come organismi bioindicatori.

La rielaborazione dei dati è stata effettuata secondo un approccio Weight Of Evidence (WOE), applicando il modello SEDIQUALSOFT®. I

risultati complessivi hanno confermato un impatto ambientale generalmente limitato durante le diverse fasi di realizzazione della seconda vasca di colmata, principalmente riferito alla campagna di indagine del 2013 e localizzato nei siti più interni del porto e nelle immediate vicinanze del cantiere, ed un ritorno alle condizioni iniziali (pre-cantiere) al termine delle attività.

POSTERS SESSIONE 3

L'ECOTOSSICOLOGIA NELLA GESTIONE AMBIENTALE E NELL'ANALISI DEL RISCHIO ECOLOGICO

Tradescantia per il monitoraggio della genotossicità in ambiente alpino

M. Casera, F. Lazzeri

APPA Bolzano maddalena.casera@provincia.bz.it

Abstract: La pianta appartenente al genere Tradescantia, di origine tropicale e quindi adattata a un clima con elevata umidità e temperatura, viene comunemente impiegata nel monitoraggio della genotossicità. In questo studio è stata verificata l'efficacia del test dei Micronuclei (MCN) con Tradescantia in condizioni climatiche estreme, come quelle continentali alpine in Alto Adige, caratterizzate da oscillazioni elevate dei valori di temperatura e umidità, ma anche da un elevato apporto di inquinanti derivanti dal traffico e dal riscaldamento domestico. Il monitoraggio è stato svolto dal 2011 al 2014. I risultati indicano che la validità del test con la pianta tropicale Tradescantia per il biomonitoraggio degli inquinanti genotossici in un clima alpino è notevolmente alterata, comportando una forte variabilità della frequenza di micronuclei e di conseguenza un'elevata deviazione standard. Una soluzione per l'impiego futuro di questo test potrebbe essere la quantificazione degli effetti dei fattori ambientali, come la temperatura e l'irraggiamento solare, sulla frequenza di MCN, per calibrare e standardizzare i risultati.

Applicazione di analisi ecotossicologiche su acque potabili

F. Lazzeri, M. Casera

APPA Bolzano francesca.lazzeri@provincia.bz.it

Abstract: Nell'ambito di un'indagine esplorativa finalizzata ad ottimizzare la tipologia di analisi da effettuarsi in casi di emergenza idropotabile, le analisi ecotossicologiche sono state affiancate alle analisi microbiologiche e chimiche di routine, sebbene non siano previste dalla legislazione vigente. In particolare dal dicembre 2017 al gennaio 2018 sono stati eseguiti il test acuto con Daphnia magna e Vibrio fischeri su 90 campioni di acqua potabile non clorata, provenienti da serbatoi e acquedotti di diversi comuni della Provincia autonoma di Bolzano. I risultati dei test ecotossicologici sono stati confrontati con i risultati delle analisi chimiche, in particolare con i valori di conducibilità elettrica, pH, metalli pesanti, fluoruri e solfati, antiparassitari e idrocarburi. La tossicità registrata per alcuni campioni sembra essere correlata ad una bassa conducibilità elettrica e ad una maggiore concentrazione di metalli quali Zn, Fe, Mn, attribuibile con grande probabilità a fenomeni di corrosione di tubature obsolete. Questo studio ha dimostrato come le analisi ecotossicologiche siano in grado di evidenziare criticità non segnalate dai parametri microbiologici e chimici, in quanto quest' ultimi ampiamente entro i limiti previsti dal Decreto legislativo n. 31 del 2001.

Ecotoxicological effects of pesticides in reptiles – a field study

Catalano B. [1], Moltedo G. [1], Martuccio G. [1], Sebbio C. [1], Simbula G. [2], Vignoli L . [2], Onorati F. [1], Cicero A.M[1].

[1] Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale (ISPRA), Roma
barbara.catalano@isprambiente.it

[2] Dipartimento di Biologia Ambientale, Università degli studi "Roma Tre", Roma.

Abstract: Although reptiles are non-target organisms of pesticide applications the use of these compounds in agriculture could have toxicological effects also on them. In this study the effects of pesticides are investigated in the Italian wall lizard Podarcis siculus (Rafinesque, 1810) captured in some hazel orchards. P. siculus, reptile of Lacertidae family, shows a predominantly Mediterranean distribution and it has an important role in the food chain. Being strongly associated with agricultural areas it is expected to come regularly in contact with pesticides. The main uptake routes of pesticides for reptiles are through dermal and oral exposure, but also through prey items (direct and indirect exposure). The aim of this study is to analyze biological responses (biomarkers) concerning neurotoxicity, genotoxicity and oxidative stress in organisms collected in conventional and biological agricultural fields. Results of this study could be useful to suggest this species as bioindicator of pesticides ecotoxicity.

L’utilità dell’approccio ecotossicologico a tutela della salute del bagnante.

R. De Angelis[1], M. Scopelliti[2]

[1]ISPRA roberta.deangelis@isprambiente.it

[2]Sogesid c/o MATTM

Abstract: I cambiamenti nelle condizioni degli ecosistemi e delle dinamiche socio-demografiche hanno contribuito a determinare una nuova situazione che ha favorito la comparsa di patologie idrodiffuse causate da patogeni emergenti e tossine naturali. Gli enti preposti al controllo ambientale e sanitario sono sempre più impegnati nella gestione di emergenze ambientali, che richiedono la valutazione di pericoli per la salute pubblica. Pertanto, è opportuno definire una strategia condivisa sui temi “Ambiente & Salute”, un settore in cui è necessario elaborare una visione sempre più integrata e strategica. Nel presente lavoro viene valutata, sulla base della bibliografia disponibile, la possibilità di inserire le indagini ecotossicologiche nella valutazione della balneabilità di un’acqua. Infatti, la direttiva europea 2006/7/CE prescrive che, per la tutela del bagnante, vengano presi in considerazione tutti i rischi anche potenziali. Perciò è necessario procedere sia all’identificazione del rischio sia alla sua caratterizzazione. In particolare, i saggi ecotossicologici risultano uno strumento efficace, perché fornendo informazioni sul significato biologico della contaminazione (biotica o abiotica), consentirebbero di stabilire dei valori limite a cui associare un effetto, evitando così numerosi divieti di balneazione emessi a scopo precauzionale, che nel tempo possono avere risvolti socio-economici rilevanti.

Use of sensitive ecotoxicological tests for assessing residual concentrations of foaming agents in spoil material

L. Mariani[1], E. Donati[2], L. Patrolecco[1], T. Pescatore[1,3], F. Spataro[1], A. Barra Caracciolo[1], D. Balducci[1], P. Grenni[1]

[1]Water Research Institute, National Research Council (IRSA-CNR), Monterotondo Scalo, Roma
l.mariani@irsa.cnr.it
[2]Institute of Chemical Methodologies, National Research Council (IMC-CNR), Monterotondo Scalo, Roma
[3]Department of Environmental Biology, Rome Sapienza University, Italy

Abstract: The test organisms Heterocypris incongruens (Crustacea: Ostracoda) and Vibrio fischeri (Bacteria: Proteobacteria gamma) were used for assessing the ecotoxicity of spoil materials containing foaming agents from a tunnel excavation site. The sub-chronic static bioassay with H. incongruens was carried out exposing the organisms to soil over a period of 6 days (ISO 14371:2012). The acute bioassay with V. fischeri was performed according to the ISO 11348-3:2007 on soil extract. The overall data of the tests were compared with the concentrations the main compound of the foaming agent used (Sodium Lauryl Ether Sulphate, SLES), analysed in both soil and elutriate. The results confirm the sensitivity of the bioluminescence bacterium test vs SLES concentration and show that the usefulness of considering the Crustacea H. incongruens in addition to traditional ecotoxicological test for estimating the harmful of conditioned soil.

Relationship between the *Vibrio fischeri* test and the occurrence of residual concentrations of the anionic surfactant sodium lauryl ether sulphate in elutriates from spoil material

L. Mariani[1], E. Donati[2], L. Patrolecco[1], J. Rauseo[1,3], L. Rolando[1,4], P. Grenni[1] , A. Barra Caracciolo[1]

[1]Water Research Institute - National Research Council (IRSA-CNR), Monterotondo, Rome, Italy
l.mariani@irsa.cnr.it
[2]Institute of Chemical Methodologies, National Research Council (IMC-CNR), Monterotondo- Rome, Italy
[3]Department of Environmental Biology, Rome Sapienza University, Italy
[4]Department of Ecological and Biological Science, Tuscia University, Italy

Abstract: Sodium lauryl ether sulphate (SLES) is the main component in several commercial products used for soil conditioning in the excavation industry when using tunnelling boring machines (TBMs). The inhibition of the bioluminescence of the bacterium Vibrio fischeri (ISO 11348-3:2007) was used to assess the potential environmental impact of excavated soils from tunnel construction sites. The ecotoxicological effects (expressed in the percentage of inhibition) were compared with the residual concentrations of the surfactant SLES in elutriates obtained from soil samples. The results of the chemical and ecotoxicological analyses showed that the inhibition of bioluminescence was directly related to the SLES concentration. This test is therefore a suitable tool for assessing, in a short time, the potential effects on the aquatic ecosystem of residual concentrations of SLES in excavated soil.

Applicazione del Protocollo Analitico per la caratterizzazione ecoTossicologica e chimica dei sedimenti (PrATo) dell'invaso della Valgrosina

C. Borlandelli[1], E. Lorenzi[1], P. Genoni[1], L. Guzzella[2], L. Marziali[2], C. Bravi[3]

[1] ARPA Lombardia, Settore Monitoraggi Ambientali, MILANO
[2] CNR IRSA, Istituto di Ricerca Sulle Acque, S.S. Brugherio, Brugherio, MB. marziali@irsa.cnr.it
[3]Regione Lombardia - DG Enti locali, Montagna e Piccoli comuni, Milano

Abstract: Nel corso degli ultimi anni ARPA Lombardia ha collaborato con Regione Lombardia e IRSA CNR alla stesura delle Direttive tecniche regionali per la gestione dei sedimenti degli invasi allo scopo di omogenizzare i processi di assoggettamento, valutazione e autorizzazione dei Progetti di Gestione e dei Piani Operativi.
Una sezione è stata dedicata alla definizione delle modalità di caratterizzazione dei sedimenti invasati, che negli ultimi anni è oggetto di approfondimento attraverso l'applicazione del Protocollo Analitico per la caratterizzazione ecoTossicologica e chimica dei sedimenti di un invaso (PrATo) su diversi invasi della Lombardia. Sono stati forniti ai gestori i protocolli per la caratterizzazione fisica, chimica ed ecotossicologica dei sedimenti dell'invaso e/o dei corpi idrici ad esso collegati e le indicazioni per l'interpretazione dei risultati.
Nel presente lavoro viene illustrato un esempio di applicazione di tale protocollo sui sedimenti dell'invaso di Valgrosina (Sondrio): i risultati delle analisi chimiche ed ecotossicologiche dei sedimenti e dell'eluato sono stati confrontati con i valori di riferimento del PrATo. Ciò ha permesso una valutazione esaustiva della qualità dei sedimenti e del grado di diluizione da applicare durante le fluitazioni per minimizzare gli impatti sulle comunità biotiche del corpo idrico di valle.

Determinazione dei valori di fondo naturale dei sedimenti marini abruzzesi : la rivincita dell'ecotossicologia

G.Surricchio[1], N. D'Alessandro[2], L. Tonucci[2], E. Scamosci[1], A. Arizzi Novelli[1]

[1]ARTA ABRUZZO Distretto Provinciale di Pescara g.surricchio@artaabruzzo.it
[2]Università degli Studi "G. D'Annunzio" Chieti-Pescara, Dipartimento di Ingegneria e Geologia

Abstract: La gestione dei sedimenti marini associata ad opere che prevedono la loro movimentazione è un argomento di rilevante interesse socio-economico che ha un impatto non trascurabile sul territorio e sull'ecosistema marino. Le operazioni di escavazione dei fondali marini consentono l'accumulo di sedimenti, una risorsa che può essere riutilizzata in seguito ad un processo di caratterizzazione fisica, chimica e soprattutto ecotossicologica, necessario per poter attribuire la destinazione più idonea. Il D.M. 173/2016 regolamenta la materia stabilendo in particolare i livelli chimici di riferimento nazionali per i metalli, L1, utilizzati per la classificazione; questi livelli possono essere ricalcolati in scala locale su un set di sedimenti risultati negativi alle analisi ecotossicologiche. La finalità del lavoro è stata la valutazione del contenuto di metalli derivanti da fonti naturali nei sedimenti marini abruzzesi per determinare i valori di fondo naturale locale L1loc.

Before-During-After biomonitoring for a pipeline construction in Vallona Lagoon (RO, Italy)

F. Cacciatore[1], G. Sesta[1], G. Franceschini [1], B. Catalano[1], G. Moltedo[1], F. Regoli[2], M. Benedetti[2], D. Berto[1], M.T. Berducci[1], C. Maggi [1], M. Gabellini[1], C. Virno Lamberti[1]

[1]ISPRA federica.cacciatore@isprambiente.it
[2]Università Politecnica delle Marche

Abstract: Nell'ambito del piano di monitoraggio ambientale per lo studio delle eventuali alterazioni prodotte dalla posa di una condotta interrata presso la laguna Vallona in Nord Adriatico, sono state monitorate le concentrazioni di contaminanti, quali metalli, composti Butilstannici (BT), Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) e le risposte biologiche in vongole della specie Ruditapes philippinarum, durante le diverse fasi di bianco, cantiere ed esercizio, nel periodo compreso tra novembre 2005 e giugno 2015. La strategia di monitoraggio Before-During-After è stata verificata mediante l'analisi delle componenti principali, evidenziando una parziale sovrapposizione tra le fasi ante operam e in opera e una separazione dei dati nella fase post operam, sia per i contaminanti che per i biomarker. In particolare, nella fase ante operam risultano presenti, in alcuni campioni, Manganese, Ferro, Cromo, Nichel e Bario mentre sia nelle fase ante operam che in opera si rileva la presenza di IPA pirolitici e organostannici. Per quanto riguarda i biomarker, alcune campagne sono state caratterizzate da aumenti di taluni marcatori, in particolare nella fase post operam, probabilmente riconducibili alla variabilità delle condizioni ambientali, tipiche degli ambienti di transizione, oppure ad attività antropiche non strettamente legate a quelle delle opere di interramento della condotta.

Bioaccumulo di PCB e PCDD/F in *Ruditapes philippinarum* (Adams & Reeve, 1850) nell'area della Laguna Vallona (Nord Adriatico)

F. Cacciatore, M. Amici, G. Romanelli, C. Maggi, V. Bernarello, G. Franceschini, M. Gabellini, C. Virno Lamberti

ISPRA federica.cacciatore@isprambiente.it

Abstract: Nell'ambito del piano di monitoraggio ambientale per lo studio delle eventuali alterazioni prodotte dalla posa di una condotta interrata presso la laguna Vallona in Nord Adriatico, sono state monitorate le concentrazioni di policlorobifenili (PCB), policlorodibenzodiossine e furani (PCDD/F) in vongole della specie Ruditapes philippinarum, durante le fasi di ante operam, in opera e post operam, da novembre 2005 a giugno 2015. L'analisi delle componenti principali (PCA) ha permesso di evidenziare, in fase di cantiere, il bioaccumulo prevalente di Esa-CB; le concentrazioni di tale parametro ritornano confrontabili con la fase di bianco nei successivi campionamenti della fase di esercizio. Inoltre, sempre nella fase post operam, alcuni campioni sono stati caratterizzati dalla presenza di Tetra e Penta-CB. Al contrario la PCA applicata a PCDD/F ha evidenziato una situazione omogenea tra le fasi di monitoraggio, fatta eccezione per la fase ante operam in cui si sono evidenziati valori relativamente alti di bioaccumulo per alcuni congeneri in due diversi campioni. In generale, per questi composti si è riscontrato un pattern di distribuzione dei congeneri caratteristico di scarichi civili, compatibili con l'inquadramento dell'area e per lo più estranei alle attività di interramento della condotta.

L’ecotossicologia nel controllo delle acque di un impianto di acquaponica.

M. De Colle [1], M. Francese [1]

1 Shoreline soc. Coop micheledecolle@gmail.com

Abstract: In questo lavoro viene presentato un piano di monitoraggio delle acque di processo in un impianto di acquaponica (idroponica+itticoltura). Al controllo in continuo dei parametri chimico fisici dell'acqua più influenti vengono abbinati i saggi biologici. L’ipotesi di una toolbox automatizzata con specifici sensori (in particolare la concentrazione di composti azotati) da installare periodicamente in impianto sarà complementare all’esecuzione di test ecotossicologici gestiti autonomamente dall’allevatore (rotiferi e alghe per valutare rispettivamente possibili contaminazioni e eutrofizzazione). La sperimentazione viene condotta presso 2 impianti pilota che il progetto BLUEGRASS prevede di realizzare (Interreg V-A Italia-Slovenia 2014-2020).

CRITICITÀ LOCALI IN SISTEMI FLUVIALI E DEFINIZIONE DELLE CAUSE MEDIANTE ANALISI MULTIVARIATA DI OUTLIER SPAZIALI

A. Bellino[1], A. Alfani[1], L. De Riso[2], D. Baldantoni[1]

[1]Dipartimento di Chimica e Biologia "Adolfo Zambelli", Università, degli Studi di Salerno, Fisciano (SA) abellino@unisa.it, analfani@unisa.it, dbaldantoni@unisa.it
[2]Ente Parco Nazionale del Cilento, Vallo di Diano e Alburni, Vallo della Lucania (SA) l.deriso@cilentoediano.it

Abstract: L'identificazione di siti con criticità ambientali e la comprensione dei processi implicati è un prerequisito per la definizione di opportune strategie di mitigazione. Questo approccio prevede la derivazione di valori di background per l'individuazione dei siti con caratteristiche anomale (outlier spaziali). In questo contesto, gli algoritmi basati sulla stima robusta della struttura di covarianza operano direttamente nello spazio multidimensionale dei dati e possono essere utilizzati per inferire sulle cause delle anomalie, anche nel caso di dati composizionali, comunemente derivanti da analisi geo- e idrogeochimiche. Spesso impiegati per prospezioni geochimiche, le loro applicazioni in studi di monitoraggio ambientale sono ancora scarse.
L'identificazione degli outlier spaziali è stata applicata al monitoraggio dei due principali sistemi fluviali del Parco Nazionale del Cilento, Vallo di Diano e Alburni, il Bussento e il Calore Salernitano, per evidenziare l'eventuale presenza di criticità ambientali in aree sensibili. A tale scopo, è stato utilizzato un dataset derivante da misure in acqua, ripetute per due anni (2016-2017), di 21 elementi chimici, 4 anioni, pigmenti fotosintetici, pH e conducibilità. Le analisi hanno evidenziato la presenza di criticità locali associate a immissione di reflui urbani mal depurati, lisciviazione di solfati da sistemi agrari e presenza di strutture metalliche in alveo.

Ecotossicologia come parte integrante degli studi ambientali. Nuove opportunità per le aziende private in ambito agroalimentare.

M. Lorenzetto

AGROLAB Italia dividing.food@agrolab.it

Abstract: Negli ultimi anni i laboratori privati offrono analisi ecotossicologiche ai loro clienti obbligati dalla normativa a controllare le proprie acque di scarico. L'effetto sinergico di diversi composti o la presenza di alte cariche microbiche vengono evidenziati direttamente dal saggio di tossicità. La verifica della bontà dell'analita è data prevalentemente da test di risposta acuta mentre per evidenziare gli effetti a lungo termine sull'ambiente sarebbe auspicabile introdurre per legge valutazioni croniche. Proprio perché al laboratorio non è nota la composizione del campione da analizzare occorre approfondire l'accertamento aumentando i tempi di esposizione. Inoltre l'ecotossicologia ha cominciato ad occuparsi del fenomeno delle microplastiche. La pericolosità in ambiente acquatico del cosiddetto marine litter è ormai comprovata ma i suoi effetti sul lungo/medio termine non sono ancora descritti sufficientemente. I detriti della plastica, oltre ad adsorbire sulla loro superficie molecole di composti inquinanti idrofobici, nei processi di degradazione rilasciano delle sostanze (quali ftalati, bisfenolo A, PBDE, alchilfenoli) che si trovano al loro interno sia essendo componenti stessi della plastica, sia in quanto additivi aggiunti durante i processi di lavorazione. Questo non preoccupa solo il settore ambientale ma anche quello agroalimentare poichè lo stato del prodotto ittico influenza direttamente la sicurezza del consumatore.

Sviluppo di “mappe (eco)tossicologiche” e loro applicazione nel risk assessment del fiume Ledra.

G. Raitano[a], D. Goi[b], V. Pieri[c], A. Passoni[a], M. Mattiussi[d], A. Lutman[d], I. Romeo[a], A. Manganaro[a], M. Marzo[a], N. Porta[a], D. Baderna[a], A. Colombo[a], E. Aneggi[e], F. Natolino[a], M. Lodi[a], R. Bagnati[a], E. Benfenati[a]

[a]Dipartimento Ambiente e Salute, IRCCS – Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Milano
giuseppa.raitano@marionegri.it
[b]Dipartimento Politecnico di Ingegneria e Architettura, Università di Udine, Udine
[c]Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità ambientale, Univertsità di Parma, Parma
[d]ARPA FVG, Udine
[e]Dipartimento di Chimica, Fisica e Ambiente, Università di Udine, Udine

Abstract: Diversi inquinanti chimici, quali farmaci, pesticidi ed interferenti endocrini, sono spesso rilevati nelle acque reflue e sono successivamente riscontrabili nei corpi idrici a seguito dell’immissione delle acque depurate. Tuttavia, la conoscenza dei loro effetti (eco)tossicologici e del conseguente impatto sulla salute umana è ancora limitata. Nello studio qui presentato, l’uso di metodi in silico integrati con l’analisi del rischio tossicologico tradizionale è proposto come valido approccio per superare questa carenza di informazione. A sostegno dell’affidabilità del metodo, sono stati usati più di 10 modelli QSAR disponibili sia per endpoint eco-tossicologici che tossicologici. Inoltre sono stati sviluppati 2 nuovi modelli per la predizione della tossicità umana, cancerogena e non. L’integrazione così concepita ha permesso l’elaborazione di un nuovo metodo di valutazione del rischio globale che combina la valutazione dei rischi per la salute umana ed ecologica nell’area oggetto di studio. Il rischio (eco)tossicologico è espresso da un singolo valore numerico, permettendo il confronto tra diversi siti di campionamento fotografato in “mappe” e la valutazione di futuri interventi ambientali e tecnici. Il metodo proposto è stato applicato ad un caso studio riguardante la gestione degli impianti di trattamento delle acque reflue nel bacino del fiume Ledra.

DEGRADAZIONE DI IPA IN SUOLI FORESTALI: CONTRIBUTO DELLA COMUNITÀ MICROBICA

E. Picariello[1], D. Baldantoni[2], F. De Nicola[1]

[1] Dipartimento di Scienze e tecnologie, Università degli Studi del Sannio, Benevento picariello@unisannio.it
[2] Dipartimento di Chimica e Biologia "Adolfo Zambelli", Università, degli Studi di Salerno, Fisciano (SA)

Abstract: Gli idrocarburi policiclici aromatici (IPA) sono contaminanti organici con azione mutagena e cancerogena, pertanto rappresentano un rischio per l'uomo e per gli ecosistemi. Sebbene gli IPA nel suolo possano causare tossicità verso i microrganismi edafici, la comunità microbica è in grado di degradare questi composti attraverso enzimi ad attività ossidoreduttasica. Principalmente coinvolti in questo processo sono i funghi. Scopo della ricerca è stato quello di studiare la degradazione di IPA in diversi suoli forestali: faggeta, pineta e lecceta. I suoli sono stati contaminati con fenantrene, pirene e benzo[a]pirene e incubati in mesocosmi in condizioni controllate per 108 giorni. Sono state monitorate le concentrazioni degli IPA, le attività enzimatiche coinvolte nel processo di degradazione (laccasica e perossidasica totale) e la biomassa fungina (contenuto di ergosterolo). Al termine dell'incubazione, fenantrene e pirene hanno mostrato una forte diminuzione in tutti i suoli forestali, diversamente dal benzo[a]pirene. In seguito all'aggiunta di IPA si è osservato un decremento delle attività enzimatiche, ad eccezione dell'attività perossidasica nella faggeta, che è stata invece stimolata. Le concentrazioni di ergosterolo sono risultate più alte dopo l'aggiunta di IPA nella faggeta e nella lecceta, mentre sono diminuite nella pineta, sebbene questo sistema mostri sempre i valori più alti.

Risk based prioritization of pharmaceutical and personal care products in Alpine rivers affected by tourism

V. Di Nica, A. Finizio, S. Villa

Dipartimento di Scienze dell'Ambiente e della Terra, Università degli studi di Milano Bicocca
sara.villa@unimib.it

Abstract: Pollution by pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) is an emerging environmental problem. Despite the awareness of the widespread of PPCPs presence in many aquatic systems, few studies have investigated the potential impact of PPCPs on freshwater communities of high altitude. The occurrence of a great number of PPCPs largely associated to tourism has been documented in some Alpine water bodies downstream STPs.Tourism plays crucial role for the EU economy and finding the right balance between the protection of the environment and the development of a competitive economy is mandatory even if challenging. In this context, an ecotoxicologial risk index has been parametrized for the Passo del Tonale area and applied to identify the substances posing a concern for the aquatic ecosystem. The outcome obtained for the two touristic seasons (winter and summer) showed that 12 PPCPs (amoxicillin, levofloxacin, triclosan, clarithromicyn, BAC-12, ciprofloxacin, diclofenac, tetracycline, azithromycin, CADG, DDAC-10, sulfamethoxazole and triclocarban) pose a potentially unacceptable risk, while for 6 PPCPs (ibuprofen, naproxen, acetaminophen, ketoprofen and HHCB) a medium potential risk has been calculated. Qualitative differences between the two seasons have been highlighted. The parametrized index can be used as a management tool by local authorities.

Environmental quality assessment by integrating chemistry on sediment, passive sampler device and bioassays: a case study in Port of Livorno

S. Macchia[1], S. Giuliani[1], V. Vitiello[1], D. Pellegrini[1], A. Scuderi[1], A. La Camera[1], A. Marrucci[2], M. Schintu[2], B. Marras[2], M. Atzori[2], A. Bettoschi[2], D. Sartori[1]

[1]ISPRA – Sezione sperimentale per la valutazione del rischio ecologico in aree marino costiere – Livorno
simona.macchia@isprambiente.it
[2]UNICA - Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica

Abstract: A partire dalla fine degli anni novanta ISPRA è stata coinvolta nel monitoraggio ambientale delle attività di movimentazione dei fondali nel porto di Livorno. Con la costruzione della prima vasca di contenimento nei primi anni 2000, seguita dalla costruzione della seconda vasca nel 2012, le indagini ambientali sono state estese all'esterno del porto per monitorare le fasi di costruzione e la successiva gestione dei bacini in seguito al conferimento di sedimenti derivanti da attività di dragaggio in diverse aree portuali. Nell'ambito del programma di monitoraggio della seconda vasca di colmata del Porto di Livorno, su tre stazioni (VN1, VN2 e VE4), ubicate nell'area marina prospiciente le vasche, è stata effettuata una caratterizzazione chimico-fisica ed ecotossicologica dei sedimenti e della colonna d'acqua. Il comparto sedimentario è stato indagato tramite una batteria di saggi biologici composta da *Phaeodactylum tricornutum, Vibrio fischeri e Paracentrotus lividus* - mentre la colonna d'acqua è stato indagata tramite il biomonitoraggio con Mussel Watch.. integrato da tecniche innovative quali i campionatori passivi artificiali (POCIS e Silicon Rubber). L'utilizzo di campionatori passsivi, oltre a permettere l'individuazione di contaminanti emergenti disciolti in tracce nella colonna d'acqua, ha permesso il confronto e l'integrazione della frazione di contaminanti filtrata attivamente dai mitili con la frazione dei contaminanti disciolta nella colonna d'acqua, confermando la rilevanza ambientale dei risultati ottenuti.

A possible approach for drudging sediments in the *Pelagos Sanctuary*

S. Giuliani[1], S. Macchia[1], D. Sartori[1], M.E. Piccione[1], E. Barbieri[1], F. Pilato[1], C. Mugnai[1], D. Pellegrini[1], R. Giangreco[2]

[1] ISPRA - Sezione sperimentale per la valutazione del rischio ecologico in aree marino costiere – Livorno
silvia.giuliani@isprambiente.it
[2] Ministero dell'ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare – Direzione Generale per la Protezione della Natura e del Mare - Roma

Abstract: The Mediterranean Sea is mostly highly anthropized, and marine biota, included marine mammals, are threatened by acoustic and chemical pollution. In 2002 the *Pelagos Sanctuary* for the protection of marine mammals has been established in the north-western Mediterranean Sea, extending between south-eastern France, Monaco, north-western Italy and northern Sardinia, and surrounding Corsica and the Tuscan Archipelago for a total of 87,500 km². Nevertheless within the Italian borders of the Sanctuary, there are located many touristic and commercials ports that need to be dredged periodically. In Italy the authorization for dumping at sea must follow the legislative decree n. 173 2016. The law provide methods for the characterization of drudging sediments, establishing different sediment management according to the pollutants level and their ecotoxicological effects. However, while problems related to the acute and chronic noise as maritime traffic, sonar tests etc. are known, there is a gap concerning the evidences of the impacts on marine mammals caused by dumping operations. With the aim to provide a better protection of the sea environment, limiting the repercussions on the economical activities of the harbours, some measures, already adopted in similar contests at international level, are examined.

Nanoremediation associata a dewatering per la bonifica di matrici ambientali (progetto Nanobond): batteria di saggi ecotossicologici per la valutazione della sicurezza ambientale di materiali nanostrutturati in ambito marino

V. Vitiello, D. Sartori, G. Chiaretti, S. Macchia, S. Giuliani, L. Morroni, F. Pilato, A. La Camera, M. Secci, E. Barbieri, A. Bianco, E. Orfelini, D. Pellegrini, I. Buttino

ISPRA valentina.vitiello@isprambiente.it

Abstract: Con il progetto Nanobond (Nanomateriali per la Bonifica associata a Dewatering di matrici ambientali-POR FESR 2014-2020) sono state sperimentate due tipologie di nanomateriali strutturati innovativi proposti per la bonifica di sedimenti marini e salmastri. Il progetto prevede l'utilizzo di tali nanomateriali in un sistema integrato di trattamento accoppiato al processo di disidratazione (dewatering) con geotessili drenanti, già in uso presso l'area industriale di Pisa (Acque Industriali SpA) per la gestione di fanghi e sedimenti di dragaggio contaminati. Tra gli obiettivi operativi primari del progetto, la valutazione della sicurezza ambientale dei materiali sintetizzati ha costituito una fase sperimentale fondamentale, propedeutica alle successive prove di trattamento in situ delle matrici ambientali contaminate. Nel presente lavoro vengono illustrati i protocolli sperimentali utilizzati per la prima volta per la valutazione ecotossicologia dei nanomateriali in matrice marina. Per la selezione dei materiali più idonei in termini di eco-compatibilità è stata utilizzata la batteria di saggi comprendente il batterio luminescente Vibrio fischeri, l'alga unicellulare Phaeodactylum tricornutum e l'echinoderma Paracentrotus lividus. I risultati ottenuti costituiranno un punto di partenza verso la definizione di protocolli metodologici e linee guida di riferimento normativo per la valutazione delle sostanze nanostrutturate da impiegare nel trattamento delle matrici naturali.

An *in vivo* approach on brown trout *Salmo trutta* to evaluate Bisphenol-A and Bisphenol-S genotoxic and estrogenic potential.

M. Bernardeschi[1], J. Martorell[2], N. Asker[2], V. Scarcelli[1], E. Jonsson Bergman[2], P. Guidi[1], J. Sturve[2], G. Frenzilli[1]

[1]Department of Clinical and Experimental Medicine, Unit of Applied Biology and Genetics, University of Pisa, Pisa, Italy margherita.bernardeschi@for.unipi.it
[2]Department of Biological and Environmental Sciences, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden

Abstract: Emerging pollutants can affect the DNA integrity and the endocrine functions of animals and humans. The endocrine disruptor bisphenol A (BPA) has received much attention due to its high production volume, since it is used in plastics manufacturing, including consumer products. It can also leach from plastic products, food and drink packaging thus contaminating canned food. BPA has also been detected in a variety of environmental samples. Bisphenol S (BPS) has recently appeared as a substitute for BPA in some plastic products.In this study, Salmo trutta specimens were exposed for 2 or 8 weeks to 2mg/kg and 20 mg/kg of BPA and BPS. Genotoxic potential was assessed by Cytome assay. CYP1a activity, EROD, thyroid hormone and plasma vitellogenin levels were assessed. After 2 weeks BPA exposure, Cytome assay revealed a significant increase in micronucleated cells at both doses. Treatments with BPS highlighted that only the low dose-short time exposure induced an increase in micronuclei frequency. Concerning nuclear abnormalities, a decrease in binucleated cells was shown after 8 weeks with the lowest BPA dose, while with BPS after 8 weeks a reduction in binucleated cells was found only at the highest dose.

Titanium dioxide and Carbon Black nanoparticles as potential tools for remediation of B(a)P polluted waters. An *in vitro* approach.

M. Genovese[1,2], M. Bernardeschi[1], M. Pagnoni[1], M. Palumbo[1,2], P. Guidi[1], V. Scarcelli[1], M. Alfè[3], P. Lucchesi[1], G. Frenzilli[1]

[1]Centro Interuniversitario di Biologia Marina ed Ecologia Applicata "G. Bacci", Livorno
m.genovese13@gmail.com
[2]Department of Clinical and Experimental Medicine, Unit of Applied Biology and Genetics, University of Pisa, Pisa, Italy
[3]Combustion Research Institute, IRC-CNR, Naples, Italy

Abstract: Nanoparticles (NPs) are widely used in the composition of several products and for many industrial processes. Due to their characteristic reactivity, NPs have been investigated for their potential role in environmental remediation.The aim of the present work was to evaluate the capability of different types of NPs to interact with classical environmental pollutants, such as PAHs, lowering their well-known genotoxic effect in co-exposure. Particularly, Mytilus galloprovincialis gill biopsies were in vitro treated with 2µg/ml Benzo(a)Pyrene (B(a)P) to evaluate the potential lowering in genetic damage by using 10µg/ml Carbon Black (CB) and 50µg/ml Titanium Dioxide Sigma and Degussa NPs. After exposure, Comet and Cytome assays were performed on isolated gill cells. These genotoxicity tests were used respectively to evaluate primary DNA damage and the frequency of nuclear abnormalities such as micronucleated cells. Moreover, TEM analysis were carried out to investigate NP cellular up-take. Cell viability was assessed by the Trypan Blue Exclusion Technique.Comet assay results showed that investigated NPs were able to reduce the DNA damage induced by B(a)P. Cytome assay results showed nuclear abnormalities presence induced by CB NPs, in other hand, Titanium Dioxide Sigma and Degussa NPs showed promising results since there was no chromosomal damage.

Phytotoxicity of vancomycin: seed germination and root elongation in some crops

G. Lofrano[1], D. Baldantoni[1], A. Bellino[1], G. Libralato[2], M. Carotenuto[1]

[1]Dipartimento di Chimica e Biologia "Adolfo Zambelli", Università, degli Studi di Salerno, Fisciano (SA)
[2]Dipartimento di Biologia, Università di Napoli Federico II, Napoli

Abstract: During last decades, the production and consumption of antibiotics have increased rapidly worldwide. This overuse has been highlighted as one of the biggest emerging threats to human health and ecosystems, due to the undesirable effects related to the antibiotics released into the environment. Most research focused on antibiotic resistance spread, whereas the toxicity to plants remained a quite unexplored field. Agricultural systems are recognized as a potentially significant source of antibiotics to the aquatic environment due to runoff and leaching after biosolid application from wastewater treatment plants, manure from livestock operations, or excretion from free-ranging livestock, but their effects on crops have not been well documented yet. The present study aimed at assessing the phytotoxic effects of a glycopeptide antibiotic (vancomycin) on seed germination of four different crops (*Solanum lycopersicum* cv. Crovarese, *Solanum lycopersicum* cv. San Marzano, *Eruca sativa*, *Diplotaxis tenuifolia*) during a short-term exposure (7 d). Crops were exposed to a range of concentrations (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 7.5, 10, 15, 22 mg/L) of vancomycin. Root and shoot emergence and final length, root elongation rate and total biomass were used as endpoints. Data were analysed by multivariate exploration with a Generalised Canonical Discriminant Analysis - modelling of parameter-dose relationships via Generalised Additive Models. Results showed that vancomycin can significantly affect the germination of all the analysed cultivars, with the only exception of *S. lycopersicum* cv. San Marzano.