Impiego di tecniche di induzione all'emissione dei gameti in Crassostrea gigas per l'esecuzione di test di embriotossicità

Edoardo Turolla, Federica Savorelli, Donatella Palazzi & Fernando Gelli

Riassunto

In questo lavoro si riportano i risultati di uno studio che ha avuto lo scopo di sperimentare la praticabilità di tecniche per l'induzione all'emissione dei gameti nell'ostrica concava, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793), ai fini dell'esecuzione di saggi embriotossicologici.

911 ostriche mature sono state stimolate all'emissione dei gameti mediante l'aggiunta di perossido d'idrogeno

(5 mM). Una parte dei riproduttori (342) è stata stimolata in ambiente basico (pH 9,1); una parte (299) a pH non modificato e altri 270 esemplari hanno avuto la funzione di controllo (nessuna stimolazione). La variante della metodica che prevedeva l'aggiunta del perossido a pH 9,1 è risultata più efficiente (42,1% di emittenti) rispetto alla variante con pH non modificato (29,4%). Non sono state invece riscontrate differenze significative nel numero di uova emesse/femmina in relazione alle due varianti.

Le uova fecondate provenienti dalle prove di stimolazione sono state impiegate per l'esecuzione di saggi embriotossicologici statici a breve termine in acqua marina artificiale, utilizzando il nitrato di rame come tossico di riferimento. Al termine delle 24 ore del saggio, la percentuale di larve vive con completo sviluppo della conchiglia osservate nel controllo è stata dell'84 \pm 7 %, valore ampiamente al di sopra del limite del 70% richiesto per l'accettabilità del test. La EC50 media, calcolata con il metodo statistico Trimmed Spearman- Karber, è risultata pari a 23,06 \pm 5,21 µg/l di Cu2+, in accordo con quanto riportato in letteratura. L'impiego del perossido di idrogeno come stimolante per l'ostrica concava è risultato, pertanto, un metodo altamente efficace, pratico, poco costoso ed ha consentito di ottenere gameti di buona qualità, idonei ad essere utilizzati nell'esecuzione di saggi embriotossicologici.

Abstract

This work reports the results obtained studying spawning induction techniques in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* (Thunberg, 1793) to perform embryo toxicity bioassays.

911 mature oysters were induced to spawn by adding hydrogen peroxide (5 mM): 342 in basic seawater (pH 9.1) and 299 in unaltered seawater. 270 oysters were the control group (no stimulations).

The basic seawater method (pH 9.1) was more efficient (42.1% spawners) than the unaltered seawater method (29.4% spawners).

No significant differences were observed in the spawned eggs/females ratio obtained by both methods. Fertilized eggs coming from stimulation trials were employed to carry out short-term static embryo toxicity tests performed in artificial seawater, using copper nitrate as reference toxicant.

After 24 hours, the percentage of living larvae with completely developed shells in negative controls was $84 \pm 7\%$. This value is greater than the test acceptability limit requested in embryo toxicity bioassays (70%). The average 24h-EC50, calculated by Trimmed Spearman-Karber statistical method, was 23.06 \pm 5.21 µg/l Cu2+ as reported in the literature.

The use of hydrogen peroxide to induce spawning in Pacific oyster is a simple, effective and inexpensive method to obtain good quality gametes for embryo toxicity bioassays.

Parole chiave

Bivalvia, Crassostrea gigas, deposizione di uova, riproduzione, test di embriotossicità.