



INQUINAMENTO DA COMPOSTI ORGANOSTANNICI

Effetti su organismi marini

Bruno Pavoni, Elena Centanni,
Francesca Pellizzato
Dipartimento di Scienze Ambientali
Università di Venezia
brown@unive.it

Gli effetti dei composti organostannici sono stati studiati su gasteropodi (*Hexaplex trunculus*) campionati in aree a differente impatto antropico e diversa normativa ambientale.

Analisi biologiche hanno riguardato il livello di *imposex*, mentre analisi chimiche hanno quantificato le concentrazioni di derivati butilici e fenilici.

I composti organici dello stagno sono caratterizzati da un atomo del metallo legato covalentemente ad uno o più sostituenti organici. Le forme più importanti sono: $R\text{SnX}_3$, $R_2\text{SnX}_2$, $R_3\text{SnX}$, in cui R è un gruppo alchilico o arilico e X è una specie anionica, come un alogenuro, un ossidrilico, un ossido (forma dimerica) o un acetato (Fig. 1). Sono composti stabili fino ad una temperatura di 200 °C per cui, in condizioni ambientali, non si verifica apprezzabile decomposizione termica.

Il rischio derivante da tali sostanze per gli organismi presenti in acqua e nel sedimento è funzione della loro tossicità, concentrazione e persistenza.

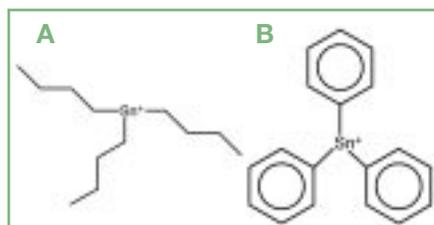


Fig. 1 - Esempi di composti organostannici.
A: tributilstagno, B: trifenilstagno

Quest'ultima negli ecosistemi inquinati dipende dai meccanismi di rimozione. Una volta in acqua i composti organostannici sono sottoposti a processi di degradazione che possono essere di natura sia chimica che biologica e consistono nella perdita progressiva di gruppi alchilici o arilici.

In relazione alla degradazione chimica, è noto che il legame Sn-C può essere attaccato da agenti sia elettrofili, sia nucleofili; quindi composti come acidi

minerali e acidi carbossilici sono in grado di rompere il legame Sn-C.

Anche le radiazioni UV sono in grado di scindere il legame Sn-C, pur con delle differenze tra i composti; infatti il trifenilstagno (TPhT) è degradato rapidamente da tale radiazione, mentre il tributilstagno (TBT) presenta una velocità di degradazione molto più bassa. A causa dell'attenuazione della penetrazione della luce solare con la profondità della colonna d'acqua, la fotolisi probabilmente non è un processo importante a grandi profondità, nei sedimenti e nel suolo.

Per quanto riguarda la degradazione biologica è stato dimostrato che microalghe e batteri svolgono un ruolo importante nella biodegradazione dei composti organici dello stagno negli ecosistemi acquatici. È importante tenere, però, presente che l'attività biologica è limitata dalle concentrazioni tossiche di queste sostanze e da altre condizioni ambientali limitanti, come la luce, la temperatura e i nutrienti [1].

Alcuni composti, come mono-, di- e trimetilstagno, oltre che dalle fonti antropi-

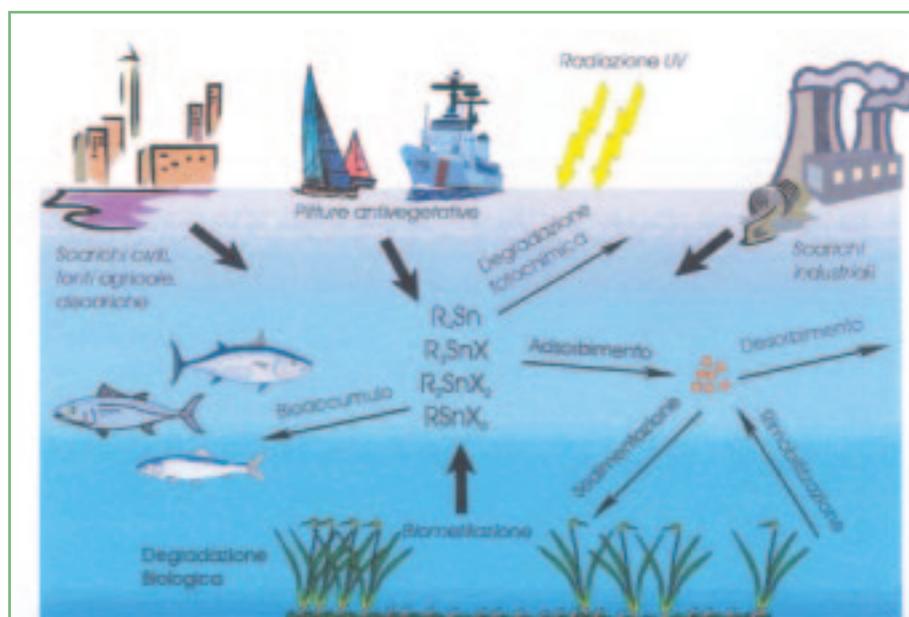


Fig. 2 - Distribuzione e destino dei composti organostannici (da [1])

che, possono derivare da processi di biometilazione che avvengono nell'ambiente acquatico [2]; la metilcobalamina (coenzima metilico della vitamina B₁₂) e il metilioduro (composto prodotto da certe alghe), per esempio, sono in grado di trasformare lo stagno inorganico in metilstagno, aumentandone la tossicità verso gli organi-

smi acquatici rispetto al metallo inorganico. La presenza di dibutilstagno (DBT) e monobutilstagno (MBT) era stata sempre messa in relazione con la degradazione nell'ambiente del TBT. Ora, invece, è stata individuata una via di immissione diretta di DBT e MBT, che vengono rilasciati da materiali in polivinilcloruro, in cui essi sono

Tab. 1 - Usi dei composti organostannici (da [1])

Applicazione	Funzione	Composti organostannici impiegati
Stabilizzanti per PVC	Stabilizzazione del PVC contro termo-decomposizione e fotodecomposizione	R_2SnX_2 , $RnSnX_3$ (R=Me, Bu, Oct)
Pitture antivegetative	Biocidi	R_3SnX (R= Bu, Ph)
Agricoltura	Fungicidi, insetticidi, acaricidi	R_3SnX (R= Bu, Ph)
Conservazione del legno	Insetticidi, fungicidi	Bu_3SnX
Trattamento del vetro	Precursore del film di ossido di stagno sul vetro	$RnSnX_3$ (R= Me, Bu)
Protezione di materiali (pelle, carta)	Fungicidi, algicidi, battericidi	Bu_3SnX
Industria tessile	Insetticidi	Ph_3SnX

Bu= butil; Me= metil; Oct= ottil; Ph= fenil

utilizzati come stabilizzanti [3]. Dalla Figura 2 è possibile osservare la distribuzione e il destino dei composti organostannici nell'ambiente. In Tabella 1 sono elencati i diversi impieghi dei composti organostannici.

Una trentina d'anni fa sono state introdotte nel mercato vernici antivegetative a base di TBT; anche il TPhT, che un tempo era usato essenzialmente in agricoltura, a partire dal 1998 è stato introdotto nelle vernici antifouling con funzione a lungo termine, come cobioicida [4]. Tali vernici vengono applicate sugli scafi delle imbarcazioni e su tutte le infrastrutture sommerse per impedire la formazione del *fouling*.

Il *fouling* è quella comunità di organismi che necessita di un substrato duro per completare il proprio ciclo vitale: essi, infatti, aderiscono a tutte le strutture parzialmente o completamente sommerse,

creando seri problemi, in quanto accelerano la corrosione superficiale danneggiando lo strato protettivo.

Il *fouling* si sviluppa in quattro stadi principali (Fig. 3), iniziando non appena una superficie viene immersa in acqua; su questa si accumulano rapidamente materiale organico disciolto e molecole, come polisaccaridi e proteine. Questo processo avviene entro pochi secondi, si stabilizza in alcune ore e prepara la superficie per gli stadi successivi.

Nel secondo stadio batteri, funghi e protozoi aderiscono alla superficie formando il *microfouling*; vengono secrete molte sostanze chimiche, tra cui anche polisaccaridi. La presenza di sostanze adesive e la rugosità dovuta all'irregolarità delle colonie microbiche permette l'intrappolamento di particelle e organismi, che includono spore algali, funghi marini e protozoi.

Nel terzo stadio si passa, quindi, da un biofilm microbico ad una comunità più complessa, che comprende produttori primari, organismi pascolatori e decompositori. Il quarto stadio prevede l'insediamento e la crescita di invertebrati di dimensioni maggiori (spugne, cnidari, policheti, cirripedi, briozoi, tunicati, patelle e ascidie) e la crescita di macroalghe, che vanno a costituire il *macrofouling*. Il risultato dell'aumento della complessità della comunità sugli scafi delle imbarcazioni è una penetrazione maggiore ed una velocità di corrosione elevata.

Tali organismi, aderendo agli scafi delle barche, aumentano l'attrito verso lo scivolamento,

riducendo la velocità e portando ad un maggior consumo di carburante; risulta, perciò, necessario pulire e ripristinare periodicamente gli scafi delle imbarcazioni, con conseguente aumento dei costi di manutenzione. Un metodo per evitare tale fenomeno consiste appunto nel rendere le superfici sommerse non adatte per lo sviluppo di questi organismi, impedendo, così, che essi aderiscano ai substrati artificiali introdotti dall'uomo nell'ambiente acquatico. Vengono, quindi, utilizzate delle pitture antivegetative, che, una volta applicate sullo scafo, rilasciano sostanze tossiche all'interfaccia vernice-acqua, che impediscono agli organismi di aderirvi [5]. Il TBT previene la formazione del *fouling*, in quanto è rapidamente assimilato dalle cellule nelle quali inibisce i processi di trasferimento di energia nella respirazione e nella fotosintesi, agendo su mitocondri e cloroplasti [6].

La prima volta in cui sono stati osservati effetti dovuti ai composti organostannici nei confronti di organismi non target risale al 1975, quando si è visto che la produzione di ostriche *Crassostrea gigas*, nella molluschicoltura situata nella baia di Arcachon in Francia, stava subendo un grave danneggiamento in seguito alla progressiva diminuzione della capacità di riproduzione e di reclutamento di individui giovani e ad anomalie nella calcificazione della conchiglia nelle ostriche adulte [7]. Negli anni successivi si notò un altro effetto, dovuto alla presenza di queste sostanze nell'ambiente acquatico, che interessava molluschi gasteropodi a sessi separati, in particolare Neogasteropodi, e che consisteva nella presenza di caratteri sessuali maschili nelle femmine, fenomeno noto come *imposex*. Il termine *imposex* fu coniato da Smith nel 1971 [8], viene indi-

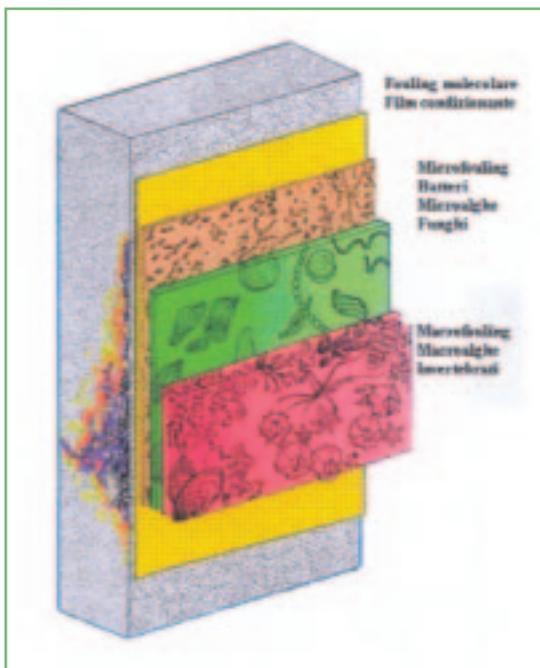


Fig. 3 - Sviluppo del fouling (<http://www.biosciences.bham.ac.uk/external/biofouling>)

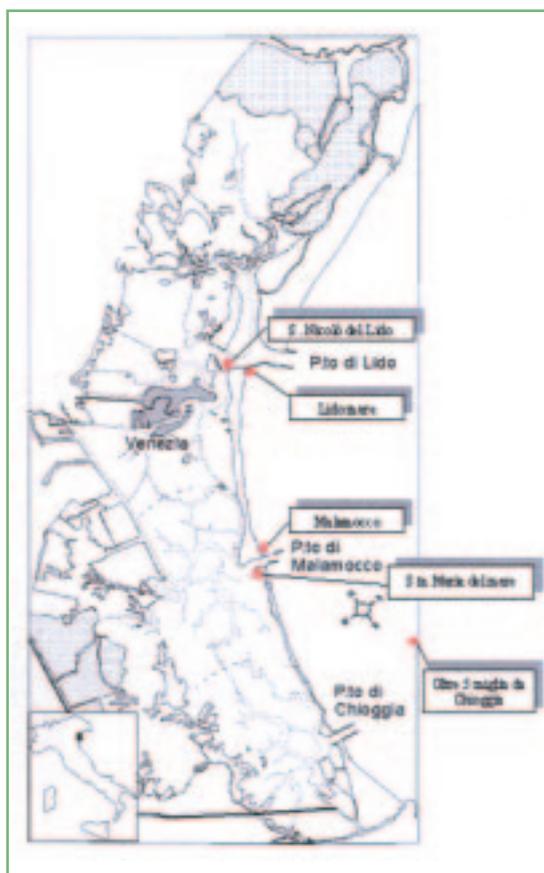


Fig. 4 - Stazioni di campionamento in Laguna di Venezia

cato anche con il termine pseudoermafroditismo [9] e si presenta essenzialmente con lo sviluppo di un pene e di un vaso deferente.

Nel 1970 Blaber [10] fu il primo ad osservare che alcune femmine del gasteropode *Nucella lapillus* (L.) presentavano un accrescimento dietro il tentacolo cefalico destro che occupava una posizione simile a quella del pene nei maschi.

La coincidenza tra l'alto grado di *imposex* e la prossimità di porti commerciali e turistici ha mostrato come l'inquinamento fosse quasi certamente associato ad attività di navigazione [11] ed in particolare alla presenza di composti organici dello stagno introdotti nelle vernici antivegetative.

Numerose specie sono state utilizzate per lo studio dell'*imposex*, come *Hexaplex trunculus* [9, 12], *Bolinus brandaris* [13], *Ocenebra erinacea* [14, 15], *Thais clavigera* e *Thais bronni* [16, 17], *Hinia incrassata* [18], *Hinia reticulata* [19], *Buccinum undatum* [20].

L'esatto meccanismo che sta alla base dello sviluppo dell'*imposex* non è ancora chiaro, ma diverse ipotesi sono state proposte e tutte evidenziano il coinvolgimento del sistema endocrino: il TBT può agire come una neurotossina che va a localizzarsi nei gangli che producono un neuro-ormone peptidico (Penis Morphogenic Factors, PMF) che normalmente induce la differenziazione sessuale nei maschi [21]; oppure, il TBT può agire come inibitore competitivo dell'enzima aromatasi che converte gli ormoni androgeni in

estrogeni [22]; infine, sembra che il TBT inibisca la coniugazione degli androgeni che normalmente deattiverrebbe gli ormoni steroidei [23].

Nel presente nostro lavoro sono stati determinati i livelli di concentrazione di composti organostannici (TBT, DBT, MBT, TPhT, DPhT, MPhT) e l'estensione dell'*imposex* in organismi appartenenti alla specie *Hexaplex trunculus* prelevati in stazioni a differente impatto antropico. La scelta delle aree di campionamento è stata fatta per confrontare zone sottoposte a normative diverse, più o meno restrittive e, in alcuni casi, completamente assenti, al fine di valutare se una corretta gestione dell'ambiente costiero possa rappresen-

tare una via preliminare per riportare le popolazioni di gasteropodi al loro stato naturale.

Si è studiato, inoltre, se esistono differenze di concentrazione di TBT nelle due parti del corpo di questi gasteropodi, i visceri, dove si trovano le gonadi e la ghiandola digestiva e il muscolo, cioè la parte restante dell'organismo, per individuare se in queste parti del corpo del mollusco sono presenti sistemi diversi di accumulo e detossificazione.

Materiali e metodi

Organismi appartenenti alla specie *Hexaplex trunculus* sono stati campionati in cinque stazioni della Laguna di Venezia: S. Nicolò del Lido, S. Maria del Mare, Lido Mare, Malamocco e a oltre 5 miglia dalla bocca di porto di Chioggia (Fig. 4). Altri campionamenti sono stati eseguiti in due aree, una nel sud Italia in prossimità di un'area marina protetta, e una nel nord Adriatico, in una zona al di fuori della Comunità Europea.

Una volta campionati, gli organismi sono stati mantenuti a -20 °C fino al momento delle analisi biologiche. Per queste, gli organismi sono stati, quindi, scongelati, sgusciati utilizzando una morsa e il mantello è stato aperto longitudinalmente, esponendo il complesso palliale.

Per distinguere i sessi ci si è basati sulla presenza o assenza di una vagina e di una ghiandola per la formazione delle capsule ovigere (*capsule gland*). Queste caratteristiche sono presenti allo stesso modo nelle femmine che presentano o non presentano *imposex*.

Per la determinazione del grado di *imposex* si è fatto riferimento al Vas Deferens Sequence Index (VDSI) descritto da Stroben *et al.* [19], successivamente

Tab. 2 - Caratteristiche della strumentazione

HRGC-LRMS	
Modello di HRGC	HP 5890 serie II
Modello di LRMS	HP 5970 B
Modalità di iniezione	Splitless
Volume iniettato	1 µL
Temperatura dell'iniettore	300 °C
Gas di trasporto	Elio
Colonna	HP-5 (50 m x 0,20 mm x 0,33 mm)
Pressione in testa alla colonna	199 kPa
Programma di temperatura	80 °C x 2 min., quindi 20 °C/min. fino a 290 °C, 20 min. a 290 °C
Temperatura all'interfaccia GC-MS	280 °C
Modalità di ionizzazione	Impatto elettronico (70 eV)
Analizzatore	Quadrupolo

modificato e adattato alla specie *Hexaplex trunculus* da Axiak *et al.* [12], in cui lo sviluppo dell'*imposex* è diviso in otto stadi:

Stadio 0: le femmine sono normali senza imposizione di caratteristiche maschili. La sezione palliale dell'ovidotto termina in una vagina chiaramente definita.

Stadio 1: esistenza di un piccolo pene che forma una cresta dietro il tentacolo oculare destro. Non si osserva il penedotto.

Stadio 2: presenza di un pene con un penedotto sviluppato.

Stadio 3: le femmine mostrano un pene più accentuato, con penedotto che continua in un vaso deferente, che, comunque, non raggiunge l'apertura vaginale.

Stadio 4: il vaso deferente raggiunge la vulva e la vagina.

Stadio 4.3: il vaso deferente oltrepassa l'apertura vaginale, che, a questo stadio, non risulta modificata. La femmina è ancora in grado di accoppiarsi.

Stadio 4.7: il vaso deferente si estende oltre il punto dello stadio 4.3 e corre lungo la ghiandola per la formazione delle capsule

ovigere per circa il 30% della sua lunghezza. **Stadio 5:** la femmina è sterile, la vulva non è visibile e il vaso deferente corre lungo l'intera lunghezza della *capsule gland*, che risulta spesso aperta. La ghiandola per la formazione delle capsule ovigere può presentare al suo interno capsule abortite.

Dopo aver fatto l'analisi biologica, sono stati separati i visceri e il muscolo dei diversi organismi, sono stati suddivisi in pool, sulla base del sesso e del grado di *imposex*, e conservati in vasetti di vetro a -20 °C fino alle analisi chimiche.

Ogni pool era composto di un numero variabile di individui, da 2 fino a 6.

Sui tessuti liofilizzati e omogeneizzati sono state eseguite le analisi chimiche per la determinazione del contenuto di composti organostannici.

La procedura analitica prevede cinque fasi:

I fase: i composti organostannici vengono estratti come complessi dalla matrice (0,5 g di tessuto di *H. trunculus*, visceri e muscolo), utilizzando 13 mL di soluzione

del legante tropolone disciolto in metanolo (0,03%) in ambiente acido (con 1 mL di HCl al 37%), per migliorare l'estrazione di specie disostituite e in particolare monosostituite. Successivamente i campioni sono immersi in un bagno a ultrasuoni ad una temperatura inferiore a 40 °C per evitare processi di degradazione e perdite per evaporazione.

Gli estratti sono posti in imbuti separatori con aliquote di 15 mL di CH₂Cl₂ e una soluzione di NaCl al 10% necessaria per diminuire la solubilità dei composti poco polari, quindi per evitare la formazione di emulsione e migliorare l'efficienza di estrazione dalla soluzione acquosa a quella organica. L'estratto viene fatto passare attraverso solfato di sodio anidro per eliminare l'acqua. L'estrazione liquido-liquido con gli imbuti separatori, mediante agitazione manuale, viene ripetuta due volte per ogni estratto. Viene aggiunto 1 mL di isootano all'estratto per effettuare un cambio di solvente (da CH₂Cl₂ a isootano) sotto flusso di azoto, necessario in quanto il diclorometano non è compatibile con il reattivo di Grignard che sarà usato nella fase successiva.

II fase: si procede alla derivatizzazione dei composti organostannici con un eccesso (1 mL) di reattivo di Grignard: bromuro di pentilmagnesio 2 M in dietilene. Viene introdotto un gruppo pentilico perché il pentilstagno non è un composto usato nell'industria e si è certi che non si forma naturalmente; in questo modo può essere fatta una distinzione tra i composti presenti nel campione originale e quelli formati durante la procedura.

Si aggiunge il tripropilstagno pentilato come standard interno per l'analisi quantitativa, scelto perché può essere determinato come gli altri composti organostan-

nici, non è mai stato trovato in campioni naturali e non ha applicazioni tecnologiche. L'eccesso del reattivo di Grignard viene idrolizzato con 2 mL di acqua distillata aggiunta goccia a goccia: questa è una fase delicata, perché la reazione risultante è violenta, portando allo sviluppo di idrossido di magnesio.

III fase: si procede ad una doppia estrazione dei composti pentilati con 2 mL di esano e 5 mL di H₂SO₄ 1 M.

IV fase: l'estratto viene purificato da tutte



le sostanze grasse e i lipidi, che potrebbero interferire con la misura, facendolo passare attraverso una colonna di sodio solfato anidro e di florisil condizionata con 10 mL di miscela esano-toluene 1:1. Anche l'eluizione è fatta con miscela esano-toluene 1:1.

V fase: la concentrazione degli organostannici viene misurata con un sistema HRGC-LRMS, le cui caratteristiche sono presentate in Tabella 2.

In Figura 5 la procedura analitica è rappresentata schematicamente.

L'accuratezza della procedura per quanto riguarda i composti butilici è stata valutata analizzando materiale certificato (CRM 477, tessuto di mitili).

La precisione è stata verificata analizzando lo stesso campione due o più volte e la riproducibilità delle misure è risultata entro il 20%.

Infine, è stato fatto il calcolo del limite di rilevabilità (Limit of Detection, LOD) come concentrazione media del bianco più tre volte la deviazione standard.

In Tabella 3 vengono riportati la percentuale di recupero e il limite di rilevabilità della metodologia analitica.

Risultati e discussione

Dall'analisi biologica è risultato che a Venezia e nell'area esterna alla comunità europea tutte le femmine sono affette da *imposex*, anche a stadi abbastanza elevati. In Laguna di Venezia lo stadio più

Tab. 3 - Percentuale di recupero e limite di rilevabilità della metodologia analitica

Composto	% di recupero	LOD (ng-Sn g ⁻¹ d.w.)
TBT	80	8
DBT	74	8
MBT	84	9
MPhT		2
DPhT		1
TPhT		0,5

basso, corrispondente a 3, è stato trovato in mare aperto a oltre 5 miglia dalla bocca di porto di Chioggia e nella stazione di S.ta Maria del Mare. A S. Nicolò del Lido sono state trovate femmine allo stadio 5 che presentavano la ghiandola per la formazione delle capsule ovigere aperta. Nell'area al di fuori della Comunità Europea lo stadio di *imposex* più basso che è stato riscontrato è pari a 4.3. Nell'Area Marina Protetta, invece, sono stati trovati stadi di *imposex* molto più bassi; il valore massimo osservato è pari a 2 ed è stata messa in evidenza la presenza di femmine normali allo stadio 0, senza caratteri maschili visibili (Fig. 6).

Dall'analisi chimica, è possibile osservare come l'area extracomunitaria (Area 3), caratterizzata dagli stadi di *imposex* più elevati, presenti anche le concentrazioni di composti organostannici più alte rispetto alle altre zone (Fig. 7).

In base ai risultati dell'analisi chimica, dalla Figura 7 è possibile osservare che la Laguna di Venezia e l'Area Marina Protetta non presentano concentrazioni di composti organostannici significativamente differenti.

Considerando solo i dati ottenuti dall'analisi biologica potrebbe sembrare che i vincoli imposti nell'Area Marina Protetta siano abbastanza efficaci, in quanto non

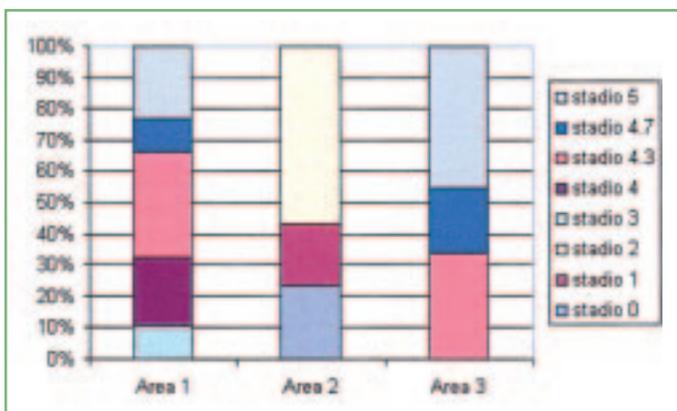


Fig. 6 - Percentuale di incidenza dell'imposex in ogni area di campionamento. Area 1: Laguna di Venezia; Area 2: Area Marina Protetta; Area 3: Area extracomunitaria

sono stati trovati organismi con stadio di imposex superiore a 2; i dati ottenuti dall'analisi chimica portano però a conclusioni diametralmente opposte, in quanto dal confronto delle concentrazioni di composti organostannici rilevate negli organismi dell'area protetta, con quelle rilevate negli organismi campionati a Venezia non si osservano delle differenze statisticamente significative, ma gli stadi di imposex trovati a Venezia sono molto più alti. Questo può portare a pensare che l'azione dell'Area Marina Protetta non sia sufficien-

te per la protezione dell'ambiente costiero dall'inquinamento e che sia necessario estendere la protezione ad un livello spaziale molto più ampio: infatti, come messo in evidenza da Allison *et al.* [24], le Aree Marine Protette salvaguardano le popolazioni all'interno dell'area stessa, ma non riescono a fornire protezione da principali minacce all'ambiente marino, come modificazioni della costa e successivi cambiamenti dell'idrodinamica locale e del regime sedimentario, la diffusione di specie esotiche e, soprattutto, la contaminazione chimica. Per quanto riguarda le elevate concentrazioni riscontrate nell'area extracomunitaria, è da sottolineare il fatto che in questa non è vigente la normativa europea e in particolare il Regolamento (CE) n. 782/2003 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 14

aprile 2003, sul divieto dei composti organostannici sulle navi, che all'articolo 5, commi 1 e 2, recita:

1) Non è ammessa la presenza di composti organostannici che agiscono come biocidi nei sistemi antivegetativi applicati alle carene o alle parti e superfici esterne delle navi, che sono state

autorizzate a battere la bandiera di uno Stato membro a decorrere dal 1° luglio 2003, e il cui sistema antivegetativo sia stato applicato, modificato o sostituito dopo tale data, salvo se tali navi sono provviste di un rivestimento che forma una barriera a tali composti e ne impedisce il rilascio da parte del sistema antivegetativo sottostante non conforme.

2) Dal 1° gennaio 2008, le navi di cui all'articolo 3, paragrafo 1, non usano composti organostannici che agiscono come biocidi nei sistemi antivegetativi applicati alle carene o alle parti e superfici esterne oppure sono provviste di un rivestimento che forma una barriera a tali composti impedendone il rilascio da parte del sistema antivegetativo sottostante non conforme.

Dal confronto del carico percentuale di TBT nei visceri e nel muscolo in ogni area, calcolato con la seguente formula:

$$\text{carico nei visceri}\% = \left[\frac{Q_v}{(Q_v + Q_m)} \right] \times 100$$

$$\text{carico nel muscolo}\% = 100 - \text{carico nei visceri}$$

dove: Q_v = concentrazione nei visceri x grammi di visceri (quantità di composto nei visceri); Q_m = concentrazione nel muscolo x grammi di muscolo (quantità di composto nel muscolo), si può osservare che, come evidenziato in Figura 8, nella zona fuori dalla Comunità Europea c'è un carico maggiore nei visceri (62%), nell'Area Marina Protetta il carico è, invece, maggiore nel muscolo (73%), infine a Venezia il carico è maggiore nel muscolo, ma meno marcatamente rispetto all'area protetta (60%).

Il TBT è un composto lipofilo, per cui tende a trasferirsi dall'acqua ad ambienti ricchi in lipidi e i visceri, in particolare, sono caratterizzati da un alto contenuto

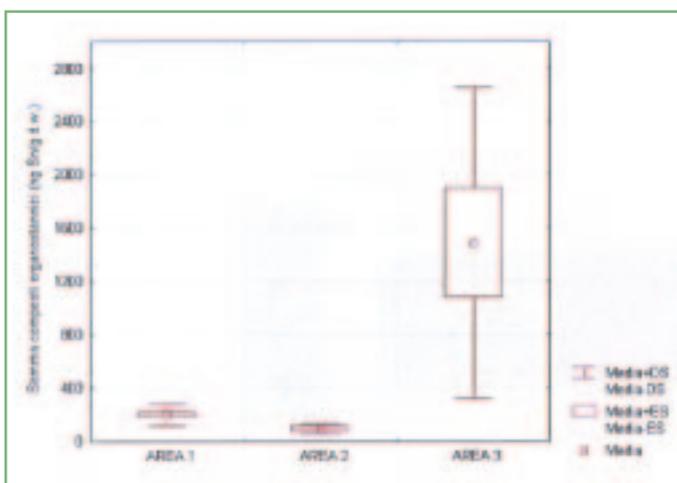
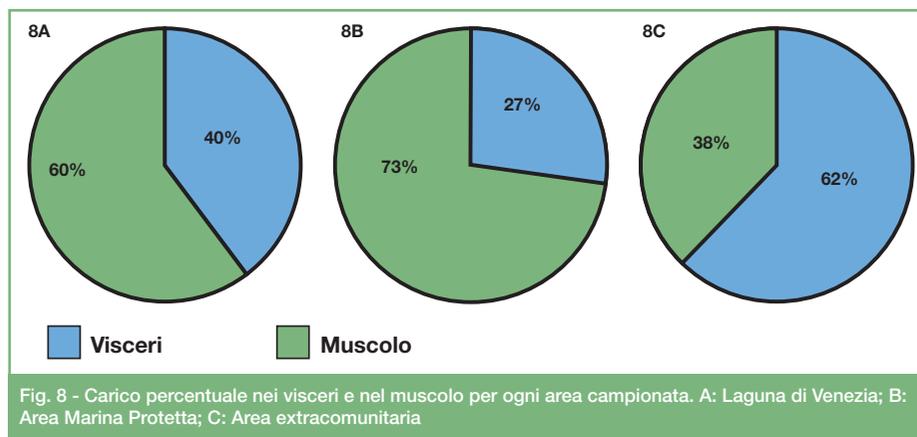


Fig. 7 - Confronto delle concentrazioni di composti organostannici nelle tre aree di campionamento. Area 1: Laguna di Venezia; Area 2: Area Marina Protetta; Area 3: Area extracomunitaria



posex è indubbio, ma recentemente è stata evidenziata la possibilità che altre sostanze possano intervenire nell'induzione del fenomeno dell'*imposex*: per esempio, Nias *et al.* [25] hanno osservato che il rame e fattori di stress ambientali sono in grado di indurre l'*imposex* in *Lepsiella vinosa*; Horiguchi *et al.* [16, 17] hanno dimostrato che in *Thais clavigera* e *Thais bronni* il trifenilstagno (TPhT) ha lo stesso effetto del TBT; Evans *et al.* [26] hanno, infine, osservato che l'*imposex* può probabilmente essere provocato da composti presenti negli escreti di uccelli, che incrostanto le coste adiacenti.

Alcuni composti organici persistenti (Persistent Organic Pollutant, POP) sono stati riconosciuti perturbatori del sistema endocrino, che sono "agenti esogeni che interferiscono con la sintesi, la secrezione, il trasporto, il legame, l'azione o l'eliminazione di ormoni naturali nel corpo responsabili del mantenimento dell'omeostasi, della riproduzione, dello sviluppo e/o del comportamento" (<http://www.epa.gov/endocrine/Pubs/smithrep.html>).

Policlorobifenili (PCB), pesticidi organoclorurati e idrocarburi policiclici aromatici (IPA) fanno parte dei POP e recentemente sono state evidenziate le loro attività come perturbatori del sistema endocrino. Sono in corso le analisi di questi composti organici e organoclorurati negli stessi organismi analizzati per i composti organostannici, al fine di valutare un loro possibile intervento nella promozione del fenomeno dell'*imposex*.

di questi, maggiore rispetto a quello del muscolo.

In *H. trunculus* l'assunzione di TBT può avvenire per contatto diretto tra il corpo dell'organismo ed il contaminante presente nell'acqua o nel sedimento, attraverso le branchie, ma principalmente attraverso l'ingestione di cibo contaminato. *H. trunculus*, infatti, è un organismo carnivoro e si ciba soprattutto di organismi filtratori, come i bivalvi che accumulano grandi quantità di contaminanti. I viscera costituiscono il principale organo con cui il cibo ingerito viene a contatto e che perciò assorbe gli inquinanti prima che essi vengano distribuiti nel resto del corpo tramite la circolazione sanguigna. È importante ricordare che nei viscera è presente il sito di dealchilazione del TBT in DBT e MBT [12], e i sistemi di detossificazione possono agire in modo tale da compensare la quantità introdotta e impedire l'accumulo di TBT, portando invece ad un aumento della concentra-

zione dei suoi prodotti di degradazione.

Una distribuzione come quella osservata nell'area extracomunitaria può essere indicativa di una contaminazione recente, che, probabilmente, è ancora in atto; infatti l'accumulo potrebbe essere continuo al punto tale che il TBT si trova distribuito di preferenza nei viscera e in misura minore nel muscolo.

Nell'Area Marina Protetta si potrebbe, invece, pensare ad una situazione, opposta, di apporto di TBT meno recente o più remoto, nel senso di derivante da più lontano. Probabilmente il TBT accumulato dagli organismi in un determinato periodo è stato in parte degradato e in parte trasferito al muscolo, con un conseguente carico maggiore in quest'ultimo.

A Venezia, infine, ci si trova in una situazione intermedia, in cui, probabilmente, il TBT è stato introdotto nell'ambiente in maniera più diretta e in tempi più recenti rispetto all'area protetta.

Il ruolo del TBT nella promozione dell'*im-*

Pollution from Organotin Compounds and their Effects on Marine Organisms **ABSTRACT**

The effects of organotin pollution have been studied in gastropods (*Hexaplex trunculus*) sampled in areas with different human impact and environmental legislation. Biological analyses have determined imposex levels, whereas chemical determinations have quantified the concentrations of butyl and phenyl- derivatives.

Conclusioni

In questo lavoro si è potuto osservare che nei siti di campionamento a Venezia e nell'area extracomunitaria non sono state trovate femmine di *Hexaplex trunculus* normali senza caratteri maschili sovrapposti; è probabile, però, che la situazione non sia ancora completamente compromessa. Infatti, non tutte le femmine presentano gradi di *imposex* così alti da impedire la riproduzione, come, invece, è stato riscontrato in *Nucella lapillus* lungo le coste inglesi da Bryan *et al.* [11] che hanno osservato una completa inibizione della riproduzione e un declino della popolazione. Nell'Area Marina Protetta, invece, sono stati campionati organismi con basso grado di *imposex* e anche femmine normali che non presentavano caratteri maschili.

L'analisi chimica ha messo in evidenza come, nel caso dell'Area Marina Protetta, sia necessaria una protezione ad un livello spaziale più ampio, dato che le concentrazioni negli organismi qui prelevati non differiscono significativamente da quelle riscontrate a Venezia.

Le alte concentrazioni di composti organostannici negli organismi campionati nell'area al di fuori della Comunità Europea riflettono la mancanza di normativa riguardante l'utilizzo di tali inquinanti in questo Paese. Il fatto di analizzare visceri e muscolo di *Hexaplex trunculus* separatamente, viste le loro differenze nell'accumulo e nella degradazione dei composti organostannici, ha permesso di discriminare contaminazioni più o meno recenti o vicine di TBT in una determinata zona.

Dato che la letteratura ha messo in eviden-

za la possibilità che sostanze diverse dal TBT possano intervenire nella promozione del fenomeno dell'*imposex* e che composti appartenenti alla classe degli inquinanti organici persistenti (POP, Persistent Organic Pollutants), come PCB, pesticidi clorurati e IPA, sono stati riconosciuti come perturbatori del sistema endocrino, sono in corso analisi degli stessi organismi di cui è stato determinato il contenuto di composti organostannici, anche per questi inquinanti al fine di indagare un loro possibile ruolo nello sviluppo dell'*imposex*.

Ringraziamenti: gli autori sono riconoscenti ai dott. Marco Faimali e Francesca Garaventa del Laboratorio ISMAR di Genova del CNR per l'aiuto fornito nelle fasi di campionamento e di analisi biologiche di riconoscimento dell'*imposex*.

Bibliografia

- [1] M. Hoch, *Applied Geochemistry*, 2001, **16**, 719.
- [2] G.W. Bryan *et al.*, *Nucella lapillus*. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 1988, **68**, 733.
- [3] R.J. Maguire, *Applied Organometallic Chemistry*, 1987, **1**, 475.
- [4] Y. Morcillo, C. Porte, *Trends in analytical chemistry*, 1998, **17**(2), 109.
- [5] A. Terlizzi *et al.*, *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 2001, **11**, 311.
- [6] K. Fent, *Critical Reviews in Toxicology*, 1996, **26**, 1.
- [7] C. Alzieu, *Ocean & Coastal Management*, 1998, **40**, 23.
- [8] B.S. Smith, Proc. of the Malacological Society of London, 1971, **39**, 377.
- [9] A. Terlizzi *et al.*, *Marine Pollution Bulletin*, 1998, **36**, 749.
- [10] S.J.M. Blaber, Proc. of the Malacological Society of London, 1970, **39**, 231.
- [11] G.W. Bryan *et al.*, *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 1986, **66**, 611.
- [12] V. Axiak *et al.*, *Marine Biology*, 1995, **121**, 685.
- [13] M. Solè *et al.*, *Environmental Pollution*, 1998, **99**, 241.
- [14] P.E. Gibbs *et al.*, *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 1990, **70**, 639.
- [15] L.E. Hawkins, S. Hutchinson, *Functional Ecology* 1990, **4**, 449.
- [16] T. Horiguchi *et al.*, *Marine Pollution Bulletin*, 1995, **31**, 402.
- [17] T. Horiguchi, *et al.* *Applied Organometallic Chemistry*, 1997, **11**, 451.
- [18] J. Oehlmann *et al.*, *Aquatic Toxicology*, 1998, **43**, 239.
- [19] E. Stroben *et al.*, *Marine biology*, 1992, **113**, 625.
- [20] C.C. Ten Hallers-Tjabbes *et al.*, *Marine Pollution Bulletin*, 1994, **28**, 311.
- [21] E. Oberdoster, P. McClellan-Green, *Marine Environmental Research*, 2002, **54**, 715.
- [22] C. Bettin *et al.*, *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 1996, **50**, 299.
- [23] M.J.J. Ronis, A.Z. Mason, *Marine Environmental Research*, 1996, **42**, 161.
- [24] G.W. Allison *et al.*, *Ecological Applications*, 1998, **8**, 79.
- [25] D.J. Nias *et al.*, *Marine Pollution Bulletin*, 1993, **26**, 380.
- [26] S.M. Evans *et al.*, *Marine Pollution Bulletin*, 2000, **40**, 212.