



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

**Esposizione di spermatozoi di riccio di mare a nanoparticelle di ZnO:
danni al DNA e qualità degli embrioni.**

DNA damages and offspring quality in sea urchin *Paracentrotus lividus* sperms exposed to ZnO nanoparticles.

Tesi di Laurea di:
Mastri Vanessa

Docente referente:
Prof. Maradonna Francesca

A.A 2019/20

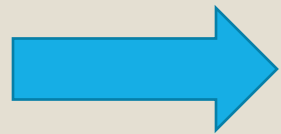
Introduzione

Nanomateriali (NM):

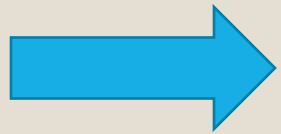
- Nanoparticelle di ZnO sono utilizzate come filtri UV nelle creme solari, che soprattutto durante i periodi estivi, introducono sostanze chimiche nell'ambiente marino.
- Effetti eco-tossici.
- Inducono danni al DNA e alterazioni cromosomiche negli embrioni del riccio di mare.



Scopo del lavoro:



Valutare il danno di diverse dimensioni di particelle di ZnO (ZnO NPs 100 nm, ZnO NPs 14 nm e ZnO Bulk 200 nm) su spermatozoi di *Paracentrotus Lividus*.



Valutare se la lesione genotossica potesse influenzare la capacità di fecondazione e la qualità della prole.

Materiali e Metodi.

Paracentrotus Lividus.

- Selezionati 3M e 3F.
- Tenuti in acquari per 24h a 28°C.
- Deposizione delle uova è indotta da Cloruro di Potassio.



Test Comet.

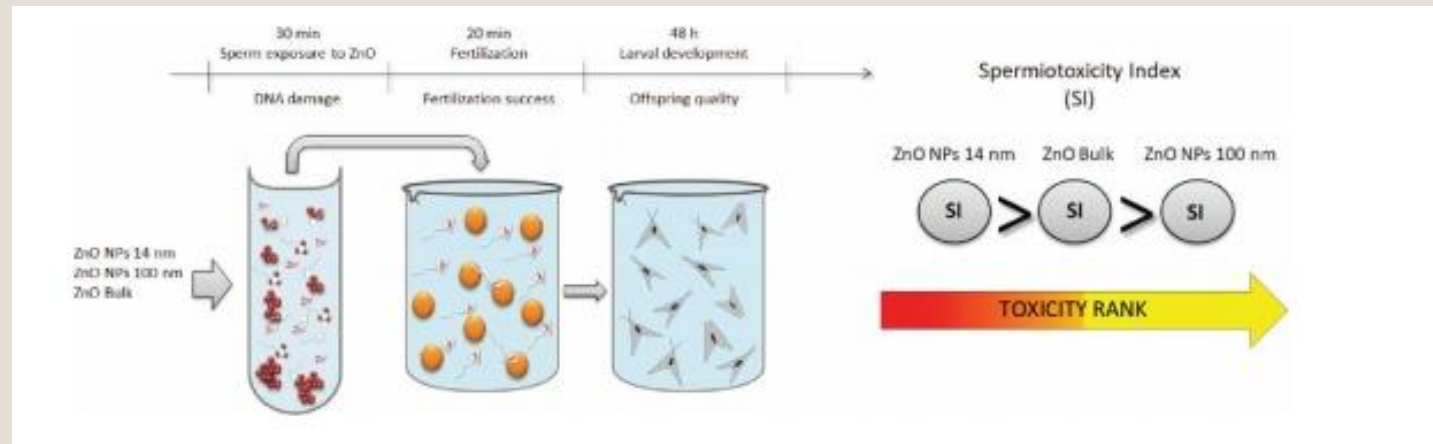
- Sperma secco è stato esposto a sospensioni di particelle di ZnO e ZnSO₄ per 30 min.
- 2 lavaggi.
- Colorazione vetrini con etidio di bromuro.
- Visualizzazione mediante epifluorescenza.
- Calcolato l'SMI.

Test capacità di fecondazione.

- Aggiunta di sospensione di sperma a uova non trattate.
- Incubazione a $18 \pm 1^\circ\text{C}$ per 20 minuti.
- Calcolato l'SFI

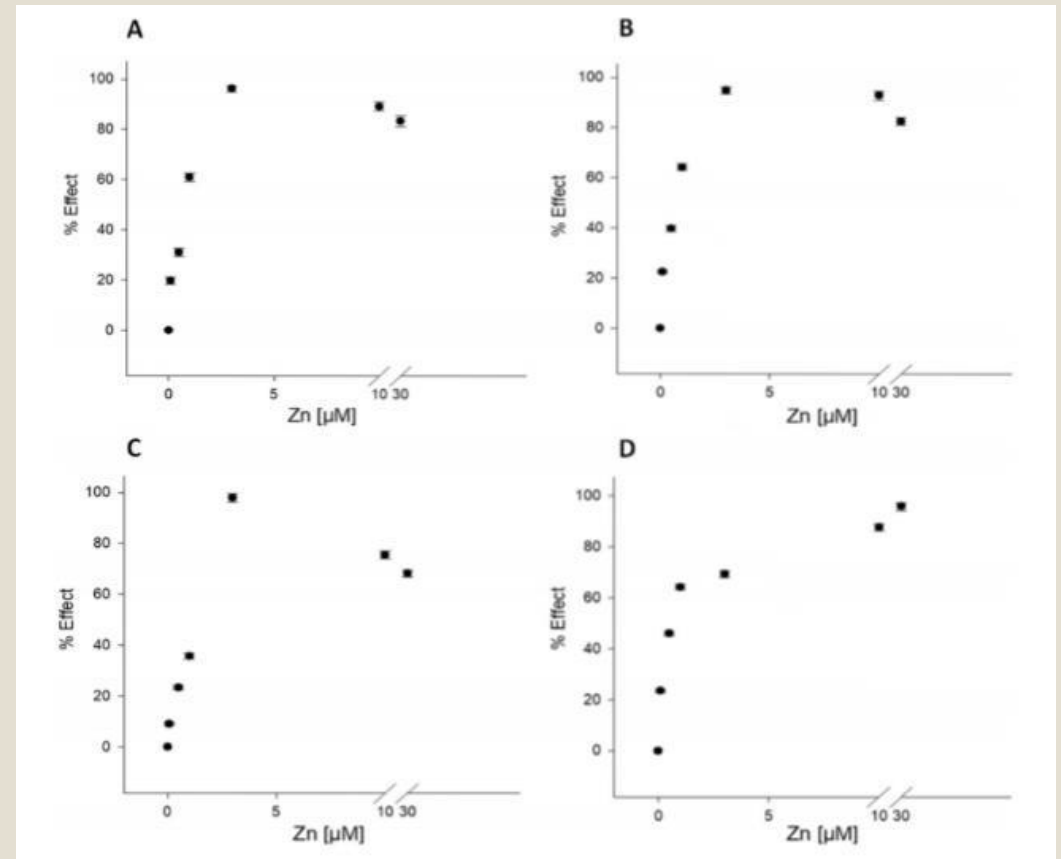
Test qualità della prole.

- Incubazione uova fecondate a $18 \pm 1^\circ\text{C}$ per 48-50h.
- Calcolato l'OSI



Risultati e Discussioni.

- Effetti genotossici (espressi come % di effetto) sugli spermatozoi di *P. lividus* esposti a ZnO NPs 100 nm (A), ZnO NPs 14 nm (B), ZnO Bulk (C) e ZnSO₄ (D).
- ZnO NPs e ZnSO₄ hanno mostrato un diverso trend di genotossicità.



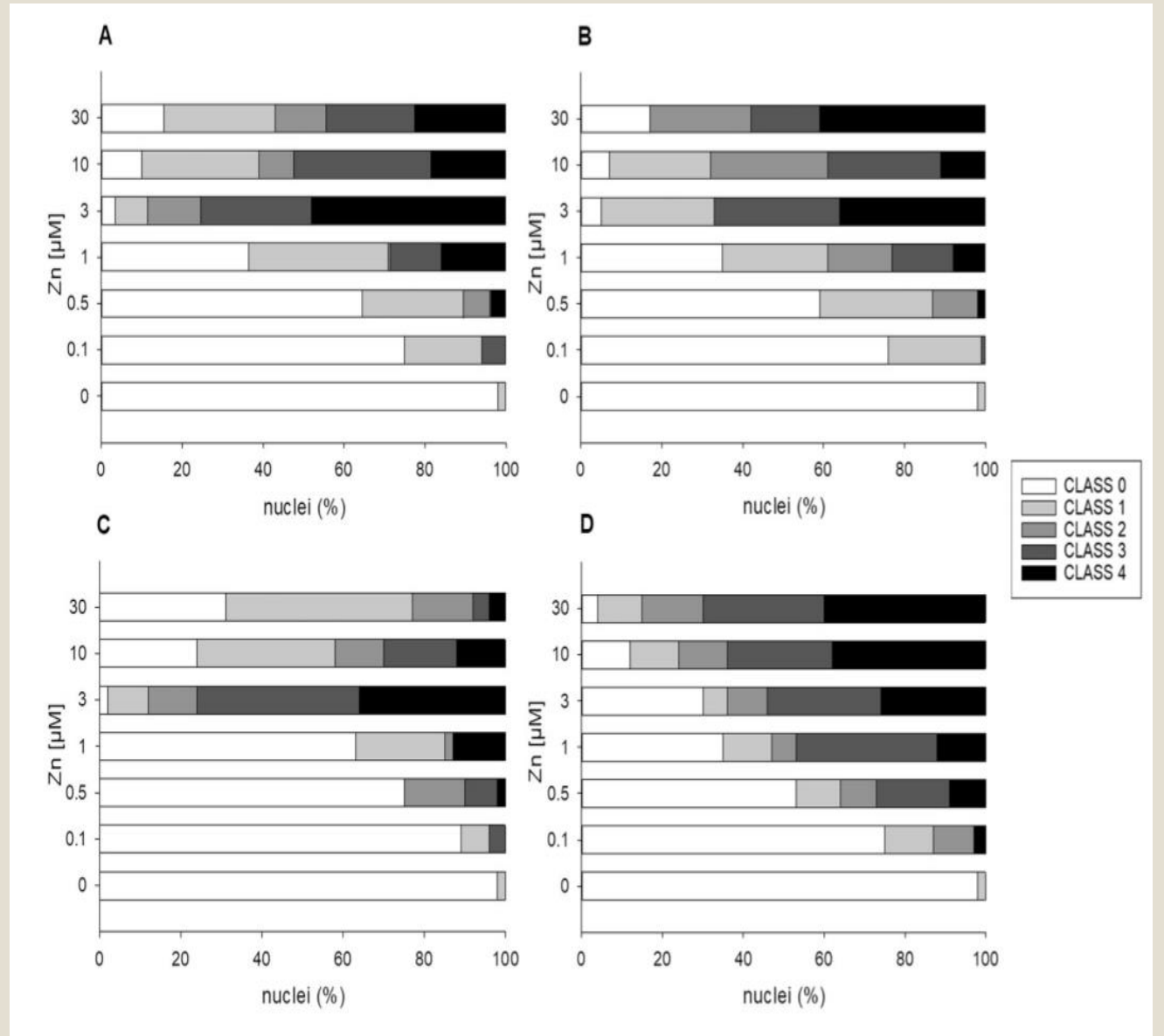
	ZnO NPs 100 nm	ZnO Bulk	ZnO NPs 14 nm	ZnSO ₄
Control				
0.1 μM				
0.5 μM				
1 μM				
3 μM				
10 μM				
30 μM				

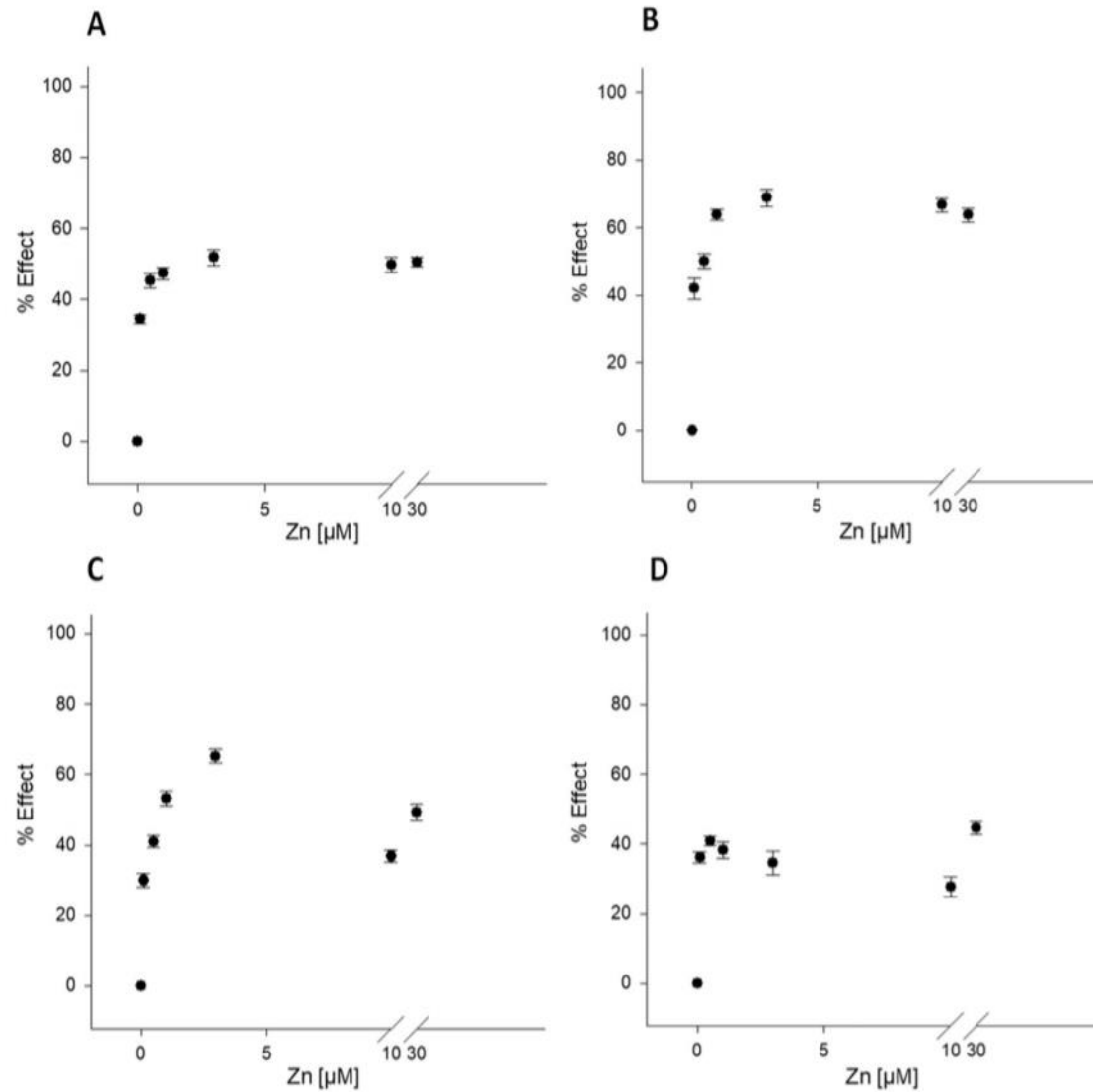
Immagine ad epifluorescenza del test Comet che mostra i nuclei degli spermatozoi del riccio di mare *P.lividus* esposti a particelle di ZnO e ZnSO₄ dopo 30 minuti.

Il test Comet ha mostrato che ZnO NP induceva effetti genotossici negli spermatozoi del riccio di mare *P.lividus*.

Percentuale di nuclei classificati come classe 0, classe 1, classe 2, classe 3 e classe 4 per gli spermatozoi di *P. lividus* esposti a diverse concentrazioni di ZnO NPs 100 nm (A), ZnO NPs 14 nm (B), ZnO Bulk (C) e ZnSO₄ (D).

ZnO NPs 100 nm ha mostrato un effetto mutageno maggiore rispetto a ZnO Bulk.



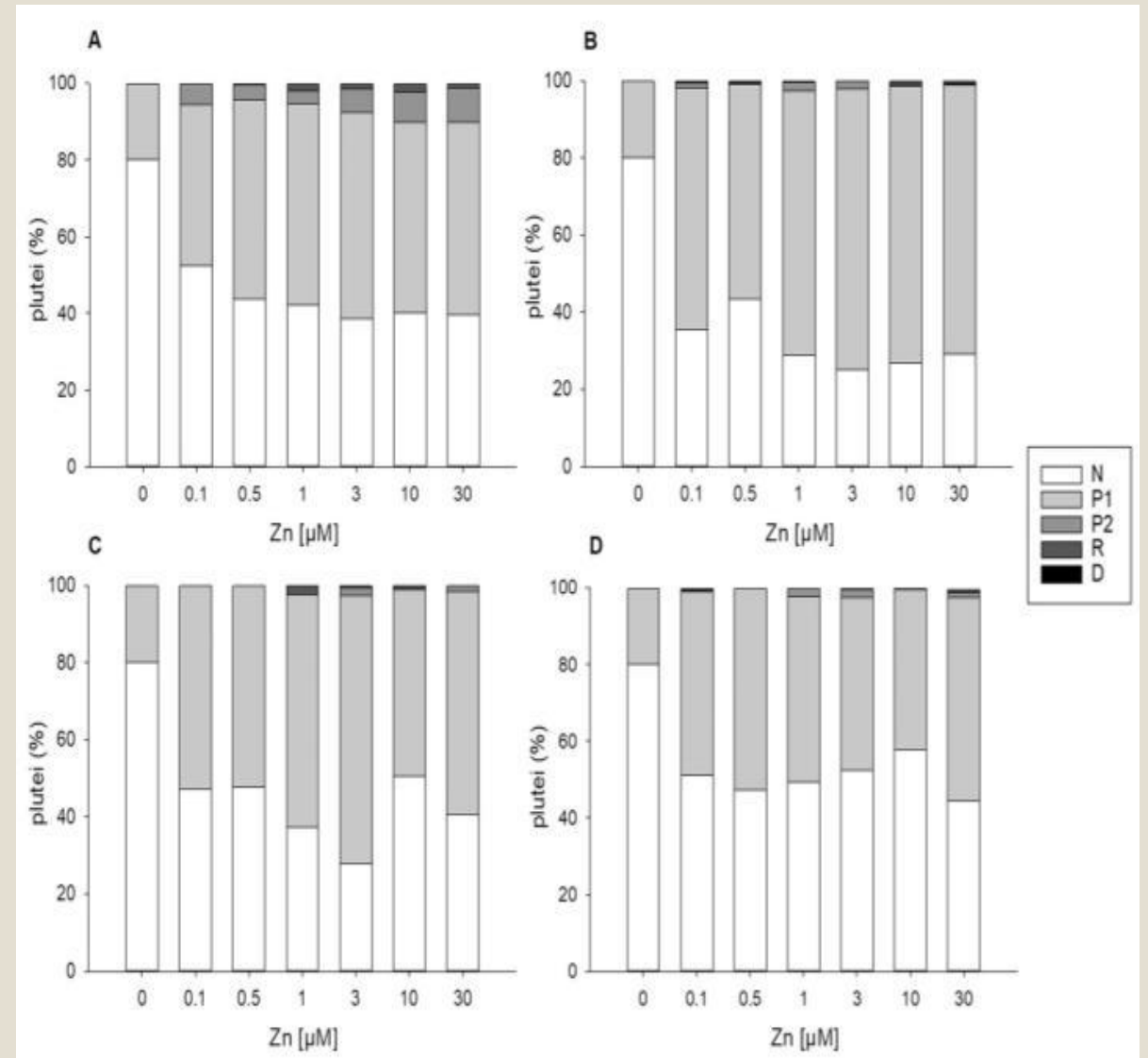


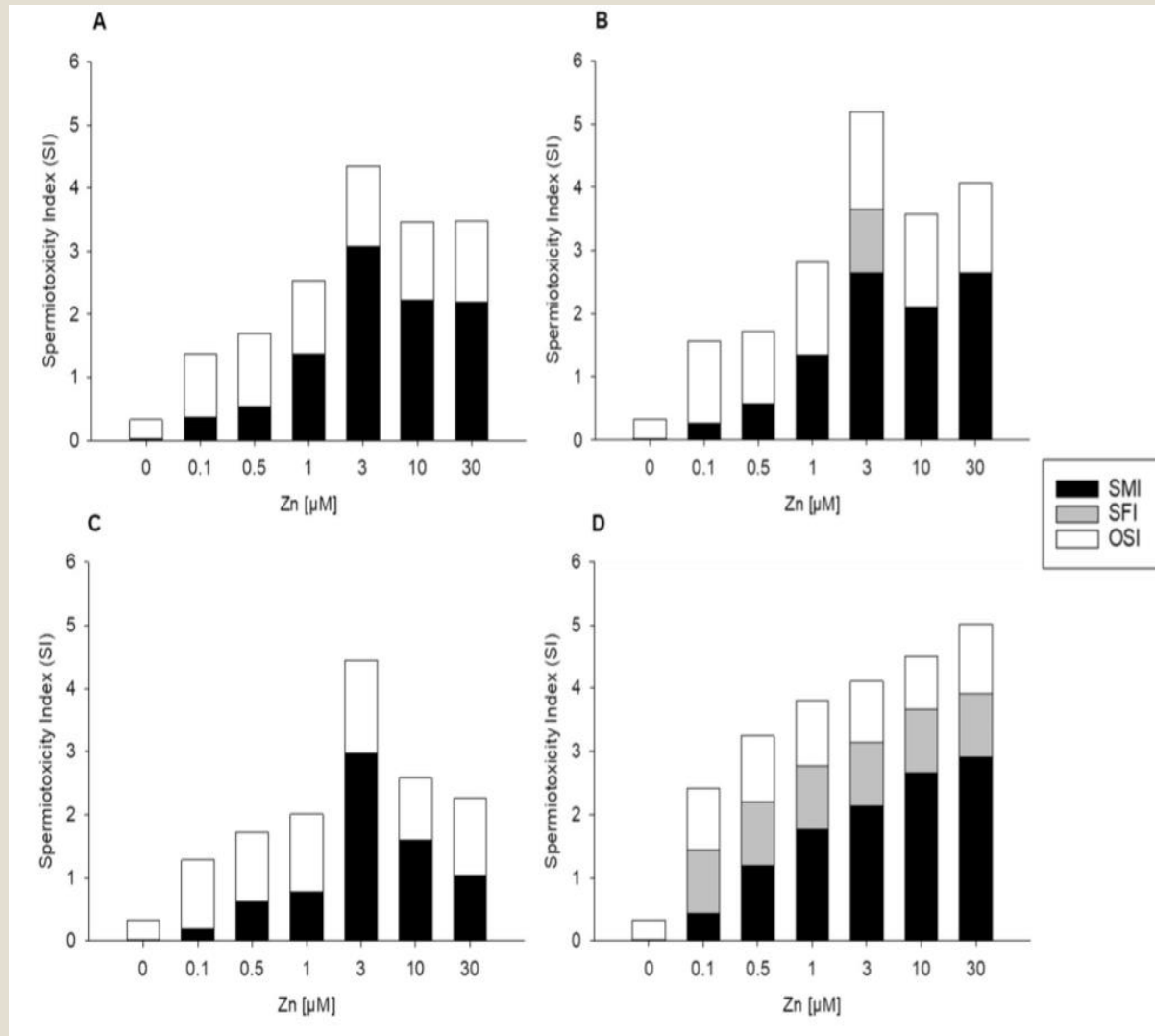
Effetti tossici sulla prole (espressi come % di effetto) degli spermatozoi di *P. lividus* esposti a ZnO NPs 100 nm (A), ZnO NPs 14 nm (B), ZnO Bulk (C) e ZnSO4 (D).

Tossicità dipendente dalle dimensioni delle NP.

Percentuale di plutei N, P1, P2, R e D derivanti da spermatozoi esposti a ZnO NPs 100 nm (A), ZnO NPs 14 nm (B), ZnO Bulk (C) e ZnSO4 (D).

Le larve malformate hanno mostrato alterazioni dello scheletro.



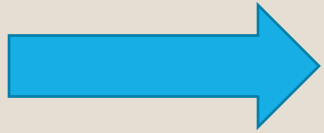


Indice di spermiotossicità (SI) e i suoi componenti (SMI, SFI, OSI) per ZnO NPs 100 nm (A), ZnO NPs 14 nm (B), ZnO Bulk (C) e ZnSO4 (D).

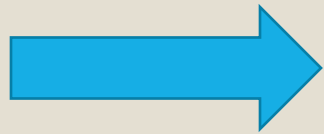
L'indice SI:

- ha confermato che la spermiotossicità più elevata si è verificata a 3 μM , per tutte le particelle ZnO.
- ha permesso di classificare la tossicità delle particelle di ZnO.

Conclusioni.



Gli effetti genotossici erano correlati alla dimensione delle particelle di ZnO.



Le particelle di ZnO hanno indotto danni al DNA e alterazioni nel normale sviluppo larvale.