

## Residui di mercurio, piombo, cadmio e cromo nelle uova di cinque specie di uccelli nidificanti in Lombardia

PAOLA ANNA MOVALLI\* e EMANUELE SANGIORGI\*\*

\* Istituto di Chimica Organica, Facoltà di Farmacia, Università di Milano, Via Venezian 21, 20133 Milano, Italy.

\*\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, Via Bianchi 7, 25100 Brescia, Italy.

**Riassunto** - Nella primavera 1990 sono state raccolte e analizzate 95 uova di 5 specie di uccelli nidificanti in Lombardia allo scopo di identificare e quantificare la presenza dei metalli mercurio, piombo, cadmio, cromo in esse. Le specie erano: Germano reale *Anas platyrhynchos*, Merlo *Turdus merula*, Gallinella d'acqua *Gallinula chloropus*, Cornacchia grigia *Corvus corone cornix*, Piccione domestico *Columba livia domestica*. Sono state rilevate le dimensioni delle uova, è stato calcolato l'indice guscio e il volume e ne sono state ricercate le correlazioni con le concentrazioni dei quattro metalli. Solo per due specie i coefficienti di correlazione sono risultati significativi: per la Cornacchia grigia tra il mercurio e indice guscio ( $P < 0,001$ ), mercurio e volume ( $P < 0,001$ ), piombo e indice guscio ( $P < 0,02$ ) e cromo e indice guscio ( $P < 0,05$ ); per il Piccione domestico tra piombo e indice guscio ( $P < 0,02$ ). Il coefficiente di correlazione era negativo solo per il piombo in entrambe le specie, come avviene per il DDT ed i suoi metaboliti. Le altre correlazioni erano positive e il significato di ciò va verificato. I livelli di mercurio appaiono più elevati nelle uova della Gallinella d'acqua ( $\bar{x} = 0,175$  ppm su peso umido) che non nelle altre specie mentre il cadmio e il piombo sono presenti in quantità trascurabili in tutte e quattro le specie analizzate; tuttavia un'alimentazione povera in calcio può portare ad un aumentato assorbimento di questi due metalli e ad un conseguente aumento della loro tossicità. Il Piccione domestico e il Germano reale mostrano alcuni livelli più elevati di cromo rispetto alle altre specie. Vanno ancora identificate le implicazioni tossicologiche dei livelli dei metalli rintracciati nelle uova. La tossicità di questi metalli potrebbe essere amplificata in presenza di altri contaminanti e fattori di stress (es. carenza di cibo, freddo). Ulteriori studi sono necessari allo scopo di indagare l'importanza delle uova come via di eliminazione dei metalli in uccelli esposti ad intossicazione cronica.

### Introduzione e scopo della ricerca

L'accresciuta antropizzazione dell'ambiente e i mutamenti nelle tecniche agro-silvocolturali costituiscono le cause indirette della progressiva riduzione numerica in numerose specie di uccelli, mentre gli attacchi diretti alla loro sopravvivenza possono provenire dalla pressione venatoria e dagli inquinamenti. La determinazione del livello dei vari contaminanti in differenti comparti dell'ecosistema (acque, sedimenti, organismi) rappresenta, insieme alla quantificazione degli effetti tossici causati da tali contaminanti sugli organismi, la strategia più utilizzata per studiare l'inquinamento ambientale (Bayne 1976; Goldberg 1980; Jenkins e Sanders 1986; Bayne *et al.* 1988; Viarengo & Canesi 1991). Noi abbiamo scelto di individuare e quantificare la presenza in tracce dei metalli mercurio, piombo, cadmio e

cromo in specie di avifauna selvatica cronicamente esposte a bassi livelli di tali elementi; in particolare sono stati ricercati nelle loro uova, come possibile, indiretta misurazione dei livelli di metalli nell'alimentazione.

L'ingestione di cadmio per via orale può inibire l'assorbimento intestinale di calcio (Hamilton e Smith 1978). Se gli uccelli che vivono in libertà hanno un ridotto apporto di calcio nella loro alimentazione, la contemporanea presenza di cadmio nell'alimentazione può sicuramente produrre effetti sulla riproduzione, poiché la femmina necessita di depositi di calcio nelle ossa che devono essere poi mobilizzati per la produzione delle uova (Simkiss 1961; Sell 1975; White e Finley 1978; Leach *et al.* 1979; Scheuhammer 1987). Anche l'accumulo e la tossicità del piombo possono variare grandemente se si somministra agli animali una alimentazione

priva di calcio. Esperimenti su ratti (es. Six and Goyer 1970; Mahaffey *et al.* 1973; Van Barneveld and Van den Hamer 1985) dimostrano che l'assorbimento del piombo è massimo se gli animali vengono precedentemente alimentati con una dieta povera o priva di calcio. L'antagonismo biologico tra questi due metalli è di rilevante importanza, poiché negli esperimenti condotti in laboratorio gli effetti tossici del piombo potrebbero essere mascherati dalla presenza di calcio, in quanto gli alimenti normalmente somministrati agli uccelli ne contengono in aggiunta (1-3%) (Scheuhammer 1987).

Il mercurio si accumula nelle uova in quantità dose-dipendente, in risposta a livelli maggiori di metil-Hg nell'alimentazione (Tejning 1967; Heinz 1976; March *et al.* 1983). Romanoff e Romanoff (1949) dimostrarono che le proteine contenute nelle uova degli uccelli provenivano da quelle del siero del sangue della madre. Jakubowski *et al.* (1970) hanno dimostrato che il mercurio nel sangue dell'uccello è legato alle proteine del siero. Test di laboratorio su uccelli domestici hanno evidenziato che il selenio nell'alimentazione fa aumentare l'accumulo di mercurio nei tessuti e nelle uova (Sell 1977; Magat e Sell 1979; Ohlendorf *et al.* 1986). Mentre gli effetti tossici dovuti ad esposizione cronica di mercurio - come ad esempio la sua capacità di influire negativamente sulla riproduzione degli uccelli, di ritardare lo sviluppo dei testicoli nei maschi (Hill e Soares 1984) e di ridurre la fertilità delle uova nelle femmine (Hill e Shaffner 1976) - sono da tempo conosciuti, il significato tossicologico del cromo negli uccelli non è del tutto noto, poiché sono stati effettuati relativamente pochi studi (es. Bourne 1976; Ohlendorf *et al.* 1986) sulla sua presenza rispetto agli altri metalli.

L'età è stata considerata da molti autori come fattore che influenza il bioaccumulo in molte specie di uccelli (es. Hoffman e Curnow 1979; Evans & Moon 1981; Cheney *et al.* 1981; Hutton 1981; Lambertini 1982; Maedgen *et al.* 1982), così come la variabile sesso (es. Peterson e Ellarson 1976; Hulse *et al.* 1980; Parslow *et al.* 1982; Custer e Mulhern 1983; Custer *et al.* 1986; Gochfeld e Burger 1987). Differenze elevate sono state ritrovate tra maschi e femmine; i motivi possono essere molteplici: differenze nell'alimentazione e differenze nel metabolismo e nella distribuzione nei tessuti. Le femmine hanno anche la possibilità di eliminare i metalli pesanti attraverso la produzione di uova (Stoneburner 1980; Gochfeld e Burger 1987).

Il ritrovamento di concentrazioni apprezzabili di metalli pesanti nelle uova di uccelli selvatici in ecosistemi caratterizzati da differenti peculiarità trofiche, suggerisce come, attraverso le diverse catene alimentari, tali sostanze si accumulino nell'organismo delle femmine e nelle uova da queste deposte. Attraverso l'analisi delle uova è possibile pertanto risalire al livello di contami-

nazione dell'area in cui queste sono state deposte, corrispondente all'area in cui la femmina produttrice delle uova si è alimentata (Stoneburner *et al.* 1980).

Per l'Italia e più in generale per l'Europa meridionale sono disponibili poche informazioni circa i livelli di metalli pesanti nelle uova di specie differenti di uccelli selvatici e per la maggior parte sono riferite a specie marine nell'area mediterranea (es. Focardi *et al.* 1980; Hutton 1981; Lambertini 1981; Fossi *et al.* 1984; Renzoni *et al.* 1986; Lambertini e Leonzio 1986; Focardi *et al.* 1988; Gonzalez e Hiraldo 1988; Crivelli *et al.* 1989). Per la Lombardia non esistono dati relativi alla contaminazione da metalli delle specie di avifauna selvatica nidificante.

Allo scopo di quantificare la presenza di tali contaminanti abbiamo ritenuto opportuno ricavare dati da uno studio "sul campo", utilizzando uova di specie selvatiche, poiché pensiamo che siano in grado di contribuire ad una valutazione ecotossicologica più rispondente alla realtà rispetto a quelli ottenuti in precedenti valutazioni, eseguite soprattutto in cattività. Studi effettuati sui passeriformi, ad esempio, indicano che sono sufficienti livelli di contaminanti ben più bassi di quelli considerati subletali in letteratura per causare effetti negativi sullo sviluppo e la sopravvivenza dei nidiacei, qualora tali sostanze siano combinate con altri fattori di stress (Pinowski pers. comm.). È infatti impossibile predire o spiegare gli effetti tossici che eventualmente potrebbero verificarsi in natura, tenendo unicamente conto di quelli osservati in laboratorio su un numero relativamente limitato di animali da esperimento (es. ratti, quaglie, pesci, ecc.); vari studi (es. Furness e Hutton 1980; Becker *et al.* 1985; Thompson *et al.* 1991) hanno infatti dimostrato che specie diverse mostrano di possedere una differente sensibilità ai vari contaminanti e che gli effetti tossici sono più evidenti in condizioni di stress associato a minor disponibilità di cibo, così come avviene spesso in natura (Thompson *et al.* 1991; Hamer *et al.* 1991).

## Materiali e metodi

Sono state raccolte 95 uova di 5 specie di uccelli (Germano reale *Anas platyrhynchos*, Merlo *Turdus merula*, Gallinella d'acqua *Gallinula chloropus*, Cornacchia grigia *Corvus corone cornix*, Piccione domestico *Columba livia domestica*). La Figura 1 visualizza le aree della Lombardia (Italia) in cui sono stati effettuati i prelievi, mentre nella Tabella 1 vengono riportate le località e le date della campionatura.

Le uova sono state misurate con calibro (diametro minore o larghezza e maggiore o lunghezza) ed è stato calcolato il valore dell'allungamento (lung/larg). Venivano poi pesate, il loro contenuto rimosso mediante aspira-

Tabella 1. Località e date prelievo delle 95 uova raccolte in Lombardia

Specie	no. uova	Località	Data prelievo	Ambiente
Germano reale	n = 30	10 Montanaso Lombardo (MI)	27/03/90	Rive fiume Adda
		2 Lago di Varese (VA)	18/04/90	Canneto
		2 Palude Brabbia (VA)	18/04/90	Canneto Lago Varese
		1 Osmate (VA)	18/04/90	Canneto Lago Monate
		2 Ranco (VA)	18/04/90	Area Boschiva - Rive Lago Maggiore
		3 Cassano D'Adda (MI)	11/04/90	Cava adiacente fiume Adda
		10 Monasterolo (BG)	02/05/90	Discarica Lago d'Endine
Merlo	n = 25	2 Venegono Inferiore (VA)	18/04/90	Discarica
		2 Cairate (VA)	18/04/90	Rive fiume Olona
		4 Ornago (MI)	19/04/90	Discarica
		4 Broni (PV)	20/04/90	Area urbana
		4 Busto Arsizio (VA)	22/04/90	Area urbana
		6 Montanaso Lombardo (MI)	17/04/90	Bosco
		3 Broni (PV)	28/04/90	Area urbana
Gallinella d'acqua	n = 8	5 Montanaso Lombardo (MI)	26/04/90	Area rurale
		3 Lago D'Endine (BG)	30/04/90	Rive Lago
Cornacchia grigia	n = 13	3 Tradate (VA)	18/04/90	Cartiera
		3 Ornago (MI)	18/04/90	Discarica
		2 Basiano (MI)	18/04/90	Bosco vicinanza discarica
		5 Montanaso Lombardo (MI)	26/04/90	Area rurale
Piccione domestico	n = 19	4 Montanaso Lombardo (MI)	27/03/90	Area rurale
		3 Cairate (VA)	18/04/90	Rive fiume Olona
		2 Tradate (VA)	18/04/90	Area rurale
		2 Travedona Monate (VA)	18/04/90	Area rurale
		2 Lentate (VA)	18/04/90	Area rurale
		2 Casale Litta (VA)	18/04/90	Area rurale
		2 Ornago (MI)	09/04/90	Area rurale
		2 Besate (VA)	09/04/90	Bosco



Figure 1: Aree di prelievo sul territorio lombardo.

1 Tradate (Va) Piccione domestico - Cornacchia grigia

2 Venegono Inferiore (Va) Merlo  
 3 Cairate (Va) Merlo - Piccione domestico  
 4 Casale Litta (Va) Piccione domestico  
 5 Palude Brabbia (Va) Germano reale  
 6 Travedona Monate (Va) Piccione domestico  
 7 Osmate (Va) Germano reale  
 8 Lentate (Va) Piccione domestico  
 9 Ranco (Va) Germano reale  
 10 Lago d'Endine (Bg) Gallinella d'acqua  
 11 Monasterolo (Bg) Germano reale  
 12 Busto Arsizio (Va) Merlo  
 13 Ornago (Mi) Merlo-Cornacchia grigia - Piccione domestico  
 14 Basiano (Mi) Cornacchia grigia  
 15 Galgagnano (Mi) Germano reale  
 16 Cassano d'Adda (Mi) Germano reale  
 17 Besate (Mi) Piccione domestico  
 18 Broni (Pv) Merlo  
 19 Montanaso Lombardo (Mi) Germano reale - Merlo - Gallinella d'acqua - Cornacchia grigia - Piccione domestico

zione, i gusci asciugati e fatti essiccare a temperatura ambiente per trenta giorni; i gusci erano poi ripesati per il calcolo dell'indice guscio con la formula di Ratcliffe (Ratcliffe 1967; Newton *et al.* 1986): peso / lung x larg, che riflette lo spessore del guscio stesso. Per il calcolo del volume è stata utilizzata l'equazione di Kendeigh *et al.* (1956):  $V = K_v \times \text{lung} \times \text{larg}^2$ , dove  $K_v$  è il coefficiente del volume. A  $K_v$  è stato dato il valore di 0,524, secondo Bergtold (1929) e Worth (1940): supponendo che il volume di un uovo sia uguale a quello di un ellissoide di rivoluzione avente lo stesso asse maggiore e minore,  $K_v$  è uguale a 0,524. Tale valore è stato da noi utilizzato per il calcolo del volume (Tab. 2).

La determinazione di mercurio, piombo, cadmio e cromo è stata eseguita mediante spettroscopia ad assorbimento atomico. Il contenuto delle uova (tuorlo + albume) è stato omogenato e dopo digestione utilizzato direttamente per l'analisi, opportunamente suddiviso in due aliquote, una per il mercurio e l'altra per il piombo, il cadmio e il cromo.

Il piombo, il cadmio e il cromo sono stati determinati con il metodo di Stryjewska (1987) e Welz e Schlemmer (1988). Digestione: g 1-5 di omogenato vengono posti in bottiglie di teflon, si aggiungono ml 3 di  $\text{HNO}_3$  70% e ml 2 di  $\text{HClO}_4$  65%, si lascia a t.a. per 15', si scalda a 50°C per 30', poi a 90°C per 30' ed infine a 150°C per due ore. Si raffredda, si diluisce 1:10 con acqua bidistillata e si filtra. Determinazione: in AAS con fornetto di grafite ed effetto Zeeman per la correzione del fondo. Piombo:  $\lambda$  283,3 nm, slit 0,7 nm, incenerimento 850°C, atomizzazione 2200°C, modificante di matrice palladio nitrato 0,15% più magnesio nitrato 0,10%, effetto Zeeman. Sensibilità: 15 pg. Cadmio:  $\lambda$  228,8 nm, slit 0,7 nm, incenerimento 250°C, atomizzazione 1600°C, effetto Zeeman. Sensibilità: 0,5 pg. Cromo:  $\lambda$  357,9 nm, slit 0,7 nm, incenerimento 1200°C, atomizzazione 2300°C. Sensibilità: 15 pg.

Il mercurio è stato determinato previa digestione: g 1 di omogenato vengono posti in bottiglie di vetro munite di refrigerante a ricadere, si aggiungono ml 3 di  $\text{HNO}_3$  70% e si scalda a 90°C per 90'. Si raffredda e si porta a 20 ml con acqua. Determinazione: in AAS mediante strippaggio dei vapori a caldo (90°C) usando come soluzione riducente cadmio cloruro al 10% più stagno cloruro al 50%.  $\lambda$  253,3 nm; sensibilità: 10 pg.

## Risultati e discussione

La Tabella 2 mostra i dati relativi alle 95 uova analizzate con le concentrazioni dei quattro metalli ricercati, espresse in  $\mu\text{g/g}$  su peso umido. Data la distribuzione non-normale delle concentrazioni ritrovate nelle uova, non è stata calcolata la deviazione standard.

Per il mercurio i livelli da noi trovati nelle uova del Pic-

cione domestico ( $n = 15$ ;  $\bar{x} = 0,027 \mu\text{g/g}$ ) risultano molto bassi rispetto a quelli evidenziati in altre specie (es. Kochert 1972; Lambertini 1981; Lambertini 1982; Helander *et al.* 1982; Gonzalez e Hiraldo 1988; Crivelli *et al.* 1989).

I valori di mercurio nelle uova della Gallinella d'acqua appaiono più elevati ( $n = 8$ ;  $\bar{x} = 0,175 \mu\text{g/g}$ ) rispetto alle uova delle altre specie analizzate. In questo caso i campioni sono stati raccolti in un'area industriale nelle vicinanze del fiume Adda e lungo le rive del Lago d'Endine. Tale lago, secondo la classificazione della qualità delle acque lacustri in Lombardia, appartiene alla classe C con  $20 < P \leq 50 \mu\text{g/l}$  ed è considerato meso-eutrofico (Settore Ecologia, Servizio Tutela e Gestione delle Acque, Regione Lombardia 1985). La Gallinella d'acqua è una specie onnivora (Cramp e Simmons 1980) ed è probabile che i livelli più elevati di mercurio derivino da una sua maggiore adattabilità a vivere in ambienti caratterizzati da acque anche molto contaminate, come quelle in cui sono stati raccolti i campioni esaminati.

Su 25 uova di Merlo alcuni valori di mercurio appaiono rilevanti, in considerazione del fatto che è una specie terrestre e non una specie acquatica. È noto infatti che gli uccelli che si alimentano di pesci assumono maggiori quantità di tale contaminante e quindi possono presentare livelli più elevati nelle loro uova; è comunque probabile che il Merlo abbia assunto il mercurio nelle aree in cui ha nidificato. Le popolazioni di uccelli marini si sono adattate ai più elevati livelli di mercurio presenti negli ecosistemi in cui vivono (Thompson *et al.* 1991), dimostrando quindi una maggiore resistenza alla tossicità di tale metallo rispetto alle specie terrestri. I livelli di mercurio nelle uova del Germano reale appaiono decisamente inferiori a quello riportato da Heinz (1979) ( $0,80 \mu\text{g/g}$ ) e considerato sufficiente per ridurre il successo riproduttivo in questa specie. Un solo campione si avvicina a tale valore ( $0,688 \mu\text{g/g}$ ). Per il Germano reale e per la Gallinella d'acqua, Cerrati *et al.* (1991) hanno analizzato altri campioni di uova, 54 e 27 rispettivamente, prelevati sempre in Lombardia, per la ricerca dei metalli mercurio, piombo, cadmio e cromo. I dati evidenziano livelli più elevati di mercurio nella Gallinella d'acqua ( $\bar{x} = 0,097 \mu\text{g/g}$ ) che non nel Germano reale ( $\bar{x} = 0,054 \mu\text{g/g}$ ).

Delle 13 uova di Cornacchia grigia analizzate due campioni raccolti in località Montanaso Lombardo (Milano) mostrano concentrazioni di mercurio superiori a  $0,10 \mu\text{g/g}$ .

I valori di piombo nel Piccione domestico sono bassi ( $n = 19$ ;  $\bar{x} = 0,050 \mu\text{g/g}$ ) se confrontati con quelli di altre specie (es. Gonzalez e Hiraldo 1988); per il cromo invece appaiono più elevati i valori in alcune uova prelevate in località vicino alla città di Milano. I valori di piombo e cromo trovati nelle uova di Merlo non ap-

Tabella 2. Concentrazioni dei metalli nelle 95 uova (ug/g su peso umido)

Specie	N. uova	Lung. mm.	Larg. mm.	Peso g	Lung/larg	Vol. cm <sup>3</sup>	Indice guscio	Hg ug/g	Pb Ug/g	Cd ug/g	Cr ug/g
Germano reale	Media	57,9	41,9	55,7	1,4	53,4	3,6	0,068	0,037	0,009	0,061
	Range	52,3 - 63,0	38,5 - 44,7	43,0 - 64,5	1,3 - 1,5	40,6 - 62,8	2,73 - 4,73	<0,010 - 0,688	<0,010 - 0,328	<0,001 - 0,067	<0,010 - 0,225
	n.	30	30	30	30	30	29	20	29	29	29
Merlo	Media	28,5	20,9	6,3	1,4	6,6	0,3	0,076	0,056	0,003	0,021
	Range	25,7 - 30,9	19,2 - 22,3	5,5 - 7,5	1,2 - 1,5	5,3 - 7,7	0,25 - 0,39	0,020 - 0,230	0,020 - 0,110	<0,001 - 0,026	<0,010 - 0,134
	n.	25	25	25	25	25	22	24	21	21	21
Gallinella d'acqua	Media	43,6	30,7	21,9	1,4	21,6	1,6	0,175	0,036	0,002	0,031
	Range	42,2 - 45,3	28,8 - 32,4	19,0 - 27,0	1,3 - 1,6	19,7 - 23,4	1,07 - 2,36	0,048 - 0,319	0,003 - 0,066	0,001 - 0,010	0,010 - 0,062
	n.	8	8	8	8	8	6	8	8	8	8
Cornacchia grigia	Media	42,2	29,2	18,1	1,4	18,9	0,8	0,069	0,085	0,013	0,017
	Range	38,8 - 43,9	28,0 - 30,8	16,4 - 19,5	1,4 - 1,5	16,3 - 21,4	0,72 - 0,94	0,020 - 0,123	0,023 - 0,280	<0,001 - 0,046	<0,010 - 0,052
	n.	13	13	13	13	13	11	13	13	13	13
Piccione domestico	Media	39,5	30,1	18,6	1,3	18,8	1,003	0,027	0,050	0,006	0,047
	Range	36,6 - 42,3	28,0 - 32,3	14,5 - 22,8	1,2 - 1,4	15,9 - 22,1	0,84 - 1,21	<0,010 - 0,206	<0,010 - 0,301	<0,001 - 0,085	<0,010 - 0,156
	n.	19	19	19	19	19	18	15	19	19	19

paiono particolarmente indicativi (un solo valore per entrambi superiore a  $0,10 \mu\text{g/g}$ ). Per la Cornacchia grigia tre uova raccolte a 100 m dalla discarica di Cavenago Brianza a Ornago (Milano) presentano concentrazioni di piombo superiori ai valori medi rintracciati nelle altre uova ( $n = 13$ ;  $\bar{x} = 0,085 \mu\text{g/g}$ ). Due campioni di Germano reale prelevati a Ranco (Varese) e Cassano d'Adda (Milano) mostrano livelli di cromo elevati ( $0,225$  e  $0,223 \mu\text{g/g}$ ) rispetto ai valori medi delle altre uova analizzate ( $n = 29$ ;  $\bar{x} = 0,061 \mu\text{g/g}$ ).

Le concentrazioni di cadmio riscontrate nelle uova di tutte e cinque le specie analizzate risultano per la maggioranza dei campioni inferiori ai limiti del metodo con un valore massimo di  $0,085 \mu\text{g/g}$  in un uovo di piccione torraio.

Per il Germano reale su 30 uova raccolte in differenti aree delle province di Milano, Varese e Bergamo, i valori dei quattro metalli non hanno importanza tossicologica. Per la Gallinella d'acqua le concentrazioni di piombo, cadmio e cromo appaiono non elevate.

Sono state inoltre ricercate le correlazioni esistenti tra le concentrazioni dei 4 metalli e le variabili volume e indice guscio. Per la Cornacchia grigia sono stati trovati coefficienti di correlazione significativi tra mercurio e volume ( $r = 0,77$ ;  $P < 0,001$ ;  $n = 13$ ), mercurio e indice guscio ( $r = 0,82$ ;  $P < 0,001$ ;  $n = 13$ ), piombo e indice guscio ( $r = -0,60$ ;  $P < 0,02$ ;  $n = 13$ ), cromo e indice guscio ( $r = 0,56$ ;  $P < 0,05$ ;  $n = 13$ ); per il Piccione domestico tra piombo e indice guscio ( $r = -0,54$ ;  $P < 0,02$ ;  $n = 19$ ). È interessante notare il coefficiente di correlazione negativo per il piombo trovato in queste due specie: aumentando la concentrazione del metallo lo spessore del guscio diminuisce, come nel caso del DDT e dei suoi metaboliti (es. Newton *et al.* 1986). Viene riportato il grafico più rappresentativo e cioè quello tra il mercurio e l'indice guscio per la Cornacchia grigia (Fig. 2). In questo caso all'aumentare della concentrazione del mercurio l'indice guscio aumenta in modo proporzionale. Nel grafico è rappresentata la retta di regressione ricavata con il metodo dei minimi quadrati.

Le specie da noi analizzate sono state utilizzate raramente per un monitoraggio ambientale, perciò i nostri risultati sono difficilmente confrontabili con altri della bibliografia; i nostri dati appaiono inferiori a quelli riportati da alcuni autori e riferiti ad altre specie (es. Lambertini 1981; Renzoni *et al.* 1982; Renzoni *et al.* 1986; Focardi *et al.* 1988; Becker e Sperveslage 1989; Newton *et al.* 1990). Tuttavia, paragonati ad esempio a quelli rilevati in alcuni uccelli marini (Bourne 1976), i livelli medi di mercurio da noi trovati nelle uova di Merlo, Cornacchia grigia e Germano reale sono simili a quelli ritrovati nella Sterna antartica, *Sterna vittata* ( $n = 9$ ;  $\bar{x} = 0,06 \mu\text{g/g}$ ), mentre quelli della Gallinella d'acqua sono addirittura superiori a quelli della Sterna comune, *Sterna hirundo*, e del Pellicano bruno, *Pelecanus*

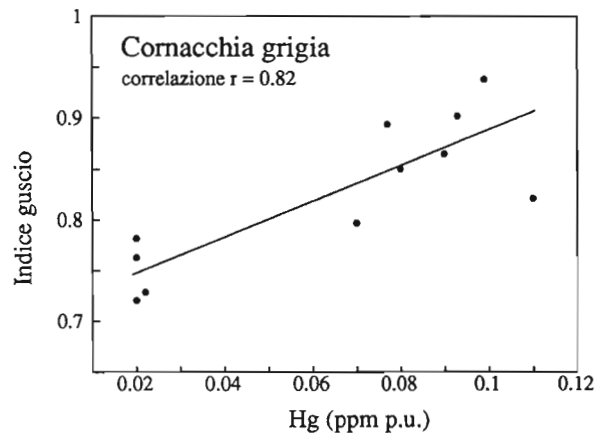


Figura 2: Correlazione tra le concentrazioni di Hg e l'indice guscio (peso/lung. x larg.) nelle uova di Cornacchia grigia ( $r = 0,82$ ;  $P < 0,001$ ;  $n = 13$ ).

*occidentalis*; i valori medi del Piccione torraio ( $n = 15$ ;  $\bar{x} = 0,027 \mu\text{g/g}$ ) risultano invece sempre inferiori. Renzoni *et al.* (1982) hanno invece riscontrato livelli di mercurio più elevati nelle uova della Sterna comune e di altre specie di uccelli marini da loro raccolte nell'area mediterranea; solo l'Avocetta, *Recurvirostra avosetta*, mostra livelli simili ( $n = 5$ ;  $\bar{x} = 0,185 \mu\text{g/g}$ ) a quelli da noi rintracciati nella Gallinella d'acqua.

Per il Germano reale i valori di mercurio da noi trovati ( $n = 20$ ;  $\bar{x} = 0,068 \mu\text{g/g}$  peso umido) sono molto simili a quelli riscontrati da Fossi *et al.* (1984) nelle uova della stessa specie raccolte nel delta del Danubio ( $n = 4$ ;  $\bar{x} = 0,269 \mu\text{g/g}$  peso secco; tenendo conto che il peso secco delle uova è circa il 27% del peso umido, la concentrazione in peso umido è ca. 4 volte inferiore). Tali concentrazioni, secondo Fossi *et al.* (1984), sono basse e rifletterebero l'alimentazione in natura prevalentemente costituita da semi.

Fimreite (1979) ha osservato che livelli di mercurio superiori a  $0,5 \mu\text{g/g}$  sono sufficienti per causare effetti negativi sulla riproduzione del Fagiano, *Phasianus colchicus*, in condizioni sperimentali. Scheuhammer (1987) afferma che il mercurio è in grado di esercitare tali effetti anche a dosi più basse di quelle richieste per produrre altri effetti tossici evidenti.

Stoneburner *et al.* (1980) hanno notato che la concentrazione media di mercurio nelle uova della Sterna scura, *Sterna fuscata*, superava la soglia di tossicità stimata da Fimreite (1974) e Connors *et al.* (1975) tra  $1,0$  e  $3,6 \mu\text{g/g}$  p.u. per la Sterna comune, senza osservare evidenti patologie.

La spiegazione per queste differenti risposte si potrebbe ricercare nel fatto che gli uccelli che vivono in libertà sono esposti a basse dosi di un numero elevato di sostanze tossiche, ma per lunghi periodi di tempo; in molti casi l'interazione con altri contaminanti, che può

dar luogo a possibili effetti additivi e/o sinergici, può avere serie conseguenze per la specie; l'influenza di queste interazioni sulle popolazioni di uccelli che vivono in un particolare habitat sono quindi da tenere in considerazione. La domanda se le concentrazioni di un singolo contaminante rilevate nelle uova sono basse o elevate e se siano in grado di produrre effetti tossici sugli adulti deve quindi tener conto della eventuale presenza di altri contaminanti, che potrebbero potenziare tali effetti o portare comunque gli individui ad una condizione di maggiore stress. Heinz (1979) ha dimostrato che femmine di Germano reale sottoposte alla somministrazione di soli 0,5 µg/g di metilHg mostravano effetti negativi sulla riproduzione - riduzione del numero di uova deposte - alla seconda e terza generazione. È possibile quindi che occorra del tempo prima che gli effetti tossici dei metalli pesanti risultino evidenti, suggerendo così che tali sostanze possono causare, a basse dosi ma per periodi prolungati nel tempo, effetti negativi sulla riproduzione.

Per quanto riguarda il piombo è stato dimostrato che durante il periodo riproduttivo e anche in quello appena precedente le femmine di alcune specie di uccelli sono meno sensibili alla sua azione tossica (Jordon e Bellrose 1951; Bellrose 1959); è probabile che ciò sia dovuto alla mobilizzazione del calcio per la formazione delle uova. Il maggiore deposito di piombo nelle ossa delle femmine che depongono le uova rispetto a quelle che non le depongono può essere messo in relazione con l'aumentato turnover del calcio necessario per la formazione del guscio (Taylor 1970). La mobilizzazione del calcio dai depositi ossei fa aumentare la sintesi a livello intestinale della CaBP (Ca-binding protein) e, di conseguenza, l'assorbimento intestinale di calcio (Edelstein *et al.* 1984; Scheuhammer 1987). L'aumentata sintesi della CaBP in risposta ad una dieta contenente poco calcio favorisce l'aumento dell'assorbimento del piombo. I metalli come il piombo, che possono occupare i siti leganti al posto del calcio, sono infatti anche più efficientemente assorbiti (Scheuhammer 1987).

Rocke e Samuel (1991) hanno osservato che le femmine immagazzinano più piombo nel femore e meno nel fegato rispetto ai maschi. Anche Finley e Dieter (1978) hanno notato che le femmine che depongono uova mostrano livelli di piombo più elevati nelle ossa. L'immunodepressione del piombo negli uccelli può essere influenzata da molti fattori tra cui: differenti condizioni fisiologiche (diverso assorbimento nell'assorbimento e nell'accumulo del metallo nei tessuti e nelle ossa dei maschi e delle femmine), attività ormonale e cambiamenti stagionali nella dieta (Rocke e Samuel 1991).

Cheney *et al.* (1981) hanno rilevato che le concentrazioni di piombo rilevate nei tessuti dell'Airone della Louisiana, *Hydranassa tricolor*, e dell'Airone guarda-

buoi, *Bubulcus ibis*, aumentano dai giovani agli adulti, suggerendo così che il piombo si accumula nei tessuti con l'età; viene inoltre sottolineato il ritrovamento di una più elevata concentrazione di piombo nei gusci che non nel contenuto delle uova delle due specie analizzate, ipotizzando così l'esistenza di un possibile trasferimento di tale metallo dal guscio all'embrione in via di sviluppo. Tale trasferimento potrebbe avere conseguenze negative solo se la concentrazione di piombo nel guscio è sufficientemente elevata da risultare tossica all'embrione.

Le concentrazioni da noi trovate nelle uova delle specie analizzate sono comprese tra 0,03 e 0,08 µg/g, simili a quelle evidenziate in altre specie selvatiche (es. Hulse *et al.* 1980, Cheney *et al.* 1981); sebbene le quantità di piombo nelle uova siano appena rilevabili, ciò non significa che queste concentrazioni non possano causare effetti negativi, considerando inoltre che la eventuale presenza di altri contaminanti potrebbe aumentare la tossicità del metallo. Il significato tossicologico dei livelli di questo metallo nelle uova è ancora da verificare. L'inquinamento delle acque da parte del cromo e soprattutto da parte di cromati esavalenti è un fenomeno diffuso in paesi industrializzati. Ohlendorf *et al.* (1986) hanno riscontrato, ad esempio, elevate concentrazioni di numerosi metalli pesanti, tra cui il cromo, nei sedimenti della baia di San Francisco (California). Diversi cromati sono cancerogeni in topi e ratti, nel sito di applicazione. In vitro composti del cromo esavalente provocano lesioni del DNA e mutazioni in colture di batteri e di cellule di mammifero; in queste ultime si osservano aberrazioni cromosomiche con scambi tra cromatidi fratelli; talora si ottiene trasformazione tumorale. Nell'uomo vi è una sicura correlazione tra esposizione a cromati e tumori polmonari (Gravela 1984); nei topi il cromo induce un aumento della risposta anticorpale e una riduzione della fagocitosi (Perkall 1992). Negli uccelli gli effetti tossicologici del cromo sono ancora da verificare, in particolare per quanto riguarda gli effetti negativi sulla riproduzione. Le concentrazioni di cromo che abbiamo ritrovato nelle uova delle specie da noi analizzate suggeriscono ulteriori studi allo scopo di chiarire il significato tossicologico del suo trasferimento nelle uova.

Il cadmio introdotto con l'alimentazione non mostra una citotossicità diretta, ma piuttosto gli effetti tossici sono dovuti alle conseguenze delle alterazioni causate da questo metallo sul normale metabolismo dei metalli essenziali ferro e zinco (Richardson *et al.* 1974; Scheuhammer 1987); viene inoltre inibito l'assorbimento intestinale di calcio (Hamilton e Smith 1978). Poiché le femmine degli uccelli hanno la necessità di immagazzinare il calcio nelle ossa per mobilizzarlo poi durante la produzione delle uova, livelli elevati di cadmio con l'alimentazione potrebbero causare effetti ne-

gativi sulla riproduzione; White e Finley (1978) hanno somministrato 200 ppm di cadmio per un periodo di oltre 90 giorni al Germano reale dimostrando che la produzione di uova veniva inibita completamente.

Sell (1975) e White e Finley (1978) hanno rintracciato livelli di cadmio molto bassi nelle uova indipendentemente dalle quantità consumate nella dieta. Leonzio e Massi (1989) affermano che i metalli mercurio, piombo e cadmio vengono trasferiti nelle uova della Quaglia giapponese, *Coturnix coturnix japonica*, in quantità minime rispetto a quelle somministrate sperimentalmente con la dieta (quantità crescenti per un periodo di 45 giorni); tali autori concludono che le uova sono dei pessimi indicatori dell'intake di metalli in studi ambientali. Al contrario, Stoneburner *et al.* (1980) hanno evidenziato nelle uova della Sterna scura, *Sterna fuscata*, concentrazioni di cadmio ( $n = 12$ ;  $\bar{x} = 2,25 \mu\text{g/g p.u.}$ ) tali da far supporre che tale metallo possa essere trasmesso alle generazioni successive; gli stessi autori suggeriscono che, oltre all'eliminazione attraverso le feci e il piumaggio, esiste un terzo meccanismo di escrezione dei metalli pesanti, e cioè attraverso le uova. Viene inoltre indicata la possibilità che tale trasferimento possa rappresentare la "bio-magnificazione", ossia i residui di metallo presenti negli alimenti ingeriti si accumulano nel sangue e si concentrano ulteriormente nelle uova (Stoneburner *et al.* 1980).

Le concentrazioni di cadmio nelle uova delle specie da noi analizzate sono quasi sempre ai limiti della rilevanza analitica; è possibile quindi che gli uccelli abbiano assorbito e accumulato quantità trascurabili di tale metallo nel sangue e nei tessuti e di conseguenza il trasferimento nelle uova è stato minimo. Poiché però per alcune specie (es. germano, quaglia) è stato osservato che, in condizioni sperimentali, le femmine sono in grado di trasferire nelle uova minime quantità di cadmio rispetto alle quantità presenti nella dieta, i bassi livelli di cadmio da noi trovati non necessariamente riflettono un basso intake di tale metallo e di conseguenza le femmine potrebbero aver accumulato quantità di metallo che non vengono poi ritrovate nelle uova deposte.

Le differenti condizioni operative (laboratorio, in situ) e le variazioni interspecifiche nel trasferimento del cadmio nelle uova potrebbero spiegare le differenti risposte degli uccelli esposti ad una alimentazione contenente tale metallo. Uccelli selvatici sottoposti ad intossicazione cronica potrebbero eliminare il cadmio attraverso il piumaggio ed in minima parte nelle uova (es. Mayack *et al.* 1981).

Sebbene sia difficile dimostrare una correlazione diretta tra l'alimentazione e il "body-burden" di metalli pesanti, sembra ragionevole supporre che la dieta abbia una influenza determinante sulle concentrazioni di metalli nei tessuti degli uccelli. Inoltre gli effetti dell'ali-

mentazione sembrano essere più importanti che non le differenze tassonomiche nel determinare il "carico" dei metalli (Lock *et al.* 1992). I "body-burdens" e la distribuzione nei tessuti di un metallo pesante sono strettamente dipendenti dall'intensità e dal tempo di esposizione, dalle interazioni con altre sostanze presenti e anche da una varietà di fattori intrinseci alle specie esaminate (Gochfeld e Burger 1987). Sarebbe quindi opportuno misurare, per ciascuna specie esposta a varie forme di stress ambientale, le concentrazioni di contaminante che si possono accumulare nei tessuti e nelle uova e che potrebbero condurre a vari tipi di patologie (effetti osservabili) e/o a danni a lungo termine (effetti non osservabili). I livelli di contaminante rintracciabili sono infatti il risultato di un equilibrio dinamico tra le quantità assunte e le quantità eliminate (Evans e Moon 1981).

In generale i metalli considerati aumentano la sensibilità degli uccelli a vari tipi di patologie e riducono il loro successo riproduttivo (la percentuale di schiusa delle uova e/o la capacità di sopravvivenza dei pulcini). Molteplici fattori quali l'entità dell'esposizione, la dose, la durata dell'esposizione, l'età e le caratteristiche genetiche sono molto importanti per l'immunomodulazione indotta da metalli; gli studi portano a concludere che i metalli deprimono il sistema immunitario (Exon 1984; Lawrence 1985; Peakall 1992) e le conseguenze possono essere molto gravi come un aumento di infezioni virali, batteriche e parassitiche e di tumori (Bradley e Morahan, 1982; Krzystyniak *et al.* 1985; Dean *et al.* 1986; Penn 1987).

Nonostante un evidente aumento dell'immissione di sostanze tossiche nell'habitat in cui vivono, alcune specie non mostrano evidenti patologie facilmente identificabili come conseguenza diretta, ma è probabile che a livello molecolare si verifichino alcune modificazioni a cui seguiranno nel tempo gli effetti tossici. Si ritiene utile quindi identificare i contaminanti prima che gli effetti negativi possano interferire con i normali processi fisiologici come la crescita e la riproduzione e che quindi possano condurre ad una drastica riduzione della percentuale di uova deposte e ad altri effetti negativi sulla specie (es. Fendley e Brisbin 1976; Shugart 1990).

**Ringraziamenti** - Si ringrazia Mauro Fasola per i preziosi consigli e per la rilettura critica del lavoro; Vittorio Vigorita per l'indispensabile contributo alla realizzazione della ricerca; Guy Duke per la correzione del testo inglese. Si ringraziano inoltre le Amministrazioni Provinciali Lombarde per la collaborazione prestata nella raccolta dei campioni.

**Abstract** - Residues of mercury, lead, cadmium and chromium in eggs of five species of birds nesting in Lombardy (Italy) in 1990. In spring 1990, we collected and analysed a total of 95 eggs of five species of birds nesting in Lombardy, in order to identify and quantify levels of contamination with mercury, lead, cadmium



and chromium. The five species were Mallard *Anas platyrhynchos*, Blackbird *Turdus merula*, Moorhen *Gallinula chloropus*, Hooded Crow *Corvus corone cornix* and Domestic Dove *Columba livia domestica*. The eggs were measured and weighed and correlations between concentrations and both eggshell index and egg volume were investigated.

Significant correlations were observed only in Hooded Crow and Domestic Dove; in Hooded Crow, between mercury and eggshell index ( $P < 0.001$ ), between mercury and egg volume ( $P < 0.001$ ), between lead and eggshell index ( $P < 0.02$ ), and between chromium and eggshell index ( $P < 0.05$ ); and in Domestic Dove, between lead and eggshell index ( $P < 0.02$ ) only. For both these species, the correlation between lead and eggshell index was negative (similar to the known correlation with DDT and its metabolites); the other correlations were positive, but these must be further verified.

Mercury levels were higher in eggs of Moorhen ( $\bar{x} = 0.175 \mu\text{g/g w.w.}$ ) than in those of other species. Cadmium and lead were present in trace amounts in all five species; these amounts may however be toxic, particularly where there is a dietary calcium deficiency which may lead to increased uptake of these metals. Domestic Dove and Mallard showed somewhat higher levels of chromium than in Moorhen, Hooded Crow and Blackbird. The toxicological implications of the levels of metals found in the sampled eggs have yet to be identified. The toxicity of these metals may be amplified in the presence of other contaminants and stress factors (eg. food shortage, cold). Further studies are needed to investigate the importance of eggs as a route for the excretion of metals in birds exposed to chronic intoxication.

## Bibliografia

- Bayne B.L. (Ed.) 1976. Marine mussels: their ecology and physiology. Cambridge University Press, London.
- Bayne B.L., Clarke K.R. e Gray J.S. (Ed.) 1988. MEPS Special - Biological Effects of Pollutants: Results of a practical workshop. Mar. Ecol. Prog. Ser., 46: pp.
- Becker P.H., Ternes W. e Russel H.A. 1985. Schadstoffe in Gelegen von Brutvögeln der deutschen Nordseeküste. II. Quecksilber. J. Orn. 126: 253-262.
- Becker P.H. e Sperveslage H. 1989. Organochlorines and heavy metals in Herring Gull (*Larus argentatus*) eggs and chicks from the same clutch. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 42: 721-727.
- Bellrose F.C. 1959. Lead poisoning as a mortality factor in waterfowl populations. Illinois Natural History Survey Bull. 27: 235-288.
- Bergtold W.H. 1929. Egg weights from egg measurements. Auk 46: 466-473.
- Bourne W.R.P. 1976. Seabirds and pollution. In: Johnston R., Ed. Marine Pollution. Academic Press, London, pp. 403-502.
- Bradley S.G. e Morahan P.S. 1982. Approaches to assessing host resistance. Environ. Health Persp. 44: 61-9.
- Cerrati A., Movalli P.A., Sangiorgi E., Vigorita V. 1991. I metalli pesanti (Hg, Pb, Cd, Cr) nelle uova di Germano reale (*Anas platyrhynchos*) e di Gallinella d'acqua (*Gallinula chloropus*), indicatrici di contaminazione ambientale. Supplementi Ricerche Biologia Selvaggina 19: 767-771.
- Cheney M.A., Hacker C.S. e Schroder G.D. 1981. Bioaccumulation of lead and cadmium in the Louisiana Heron (*Hydranassa tricolor*) and the Cattle Egret (*Bubulcus ibis*). Ecotoxicol. Environ. Safety 5: 211-24.
- Connors P.G., Anderlini V.C., Risebrough R. W., Gilbertson M., Hays H. 1975. Investigations of heavy metals in Common Tern populations. Can. Fld. Nat. 89: 157-162.
- Cramp S. e Simmons K.E.L. (Eds.) 1980. The birds of the Western Palearctic. Vol. II. Oxford University Press, Oxford.
- Crivelli A. J., Focardi S., Fossi C., Leonzio C., Massi A., Renzoni A. 1989. Trace elements and chlorinated hydrocarbons in eggs of *Pelicanus crispus*, a world endangered bird species nesting at Lake Mikri Prespa, north-western Greece. Environ. Pollut. 19: 235-247.
- Custer T.W. e Mulhern B.L. 1983. Heavy metal residue in pre fledging Black-crowned Night-Herons from three Atlantic coast colonies. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 30: 178-85.
- Custer T.W., Franson J.C., Moore J.F., Myers J.E. 1986. Reproductive success and heavy metal contamination in Rhode Island Common Terns. Environ. Pollut. 41: 33-52.
- Dean J.H., Ward E.C. e Murray M.J. 1986. Immunosuppression following 7,12-dimethylbenz(a)anthracene exposure in B6C3F1 mice. II. Altered cell-mediated immunity and tumour resistance. Int. J. Immunopharmac. 8: 189-98.
- Edelstein S., Fullmer C.S. e Wasserman R.H. 1984. Gastrointestinal absorption of lead in chicks: Involvement of the cholecalciferol endocrine system. J. Nutr. 114: 692-700.
- Evans P.R. e Moon S.J. 1981. Heavy metals in shorebirds and their prey in northeast England. In: Say P.J. e Whitton P.A., Eds. Heavy metals in northern England, environmental and biological aspects. Univ. Durham, pp. 181-90.
- Exon J.H. 1984. The immunotoxicity of selected environmental chemicals, pesticides and heavy metals. In: Chemical Regulation in Veterinary Medicine, Alan Liss, New York, pp. 355-68.
- Fendley T.T. e Brisbin I.L.Jr. 1976. Growth curve analyses: A potential measure of the effects of environmental stress upon wildlife populations. Techniques and Methods in Wildlife Research or Management, XIIIth Congress of Game Biologists, pp. 337-350.
- Fimreite N. 1974. Mercury contamination of aquatic birds in northwestern Ontario. J. Wildl. Manage. 38: 120-131.
- Fimreite N. 1979. Accumulation and effects of mercury on birds. In: Nriagu J.O. Ed. The Biogeochemistry of Mercury in the Environment. Elsevier, Holland Biomedical Press, Amsterdam, pp. 601-627.
- Finley M.T., Dieter M.P. e Locke L.N. 1976. Sublethal effects of chronic lead ingestion in Mallard ducks. J. Toxicol. Environ. Health 1: 929-937.
- Finley M.T. e Dieter M.P. 1978. Influence of laying on lead accumulation in bone of Mallard ducks. J. Toxicol. Environ. Health 4: 123-129.
- Focardi S., Leonzio C. e Renzoni A. 1980. Idrocarburi clorurati e metalli in tracce in uova di *Larus argentatus michahellis* Naumann e *Sterna albifrons albifrons* Pallas. In: Moroni A., Ravera O. e Anelli A. (Eds.), Atti 1° Cong. Naz. S.I.T.E. pp. 411-414.
- Focardi S., Fossi C., Lambertini M., Leonzio C., Massi A. 1988. Long term monitoring of pollutants in eggs of Yellow-legged Herring Gull from Capraia island (Tuscan Archipelago). Environ. Monit. Assess. 10: 43-50.
- Fossi M.C., Focardi S., Leonzio C., Massi A. 1984. Trace metals and chlorinated hydrocarbons in birds' eggs from the Delta of the Danube. Environ. Conserv. 11: 345-50.
- Furness R.W. e Hutton M. 1980. Pollutants and impaired breeding success of great skuas *Catharacta skua* in Shetland. Ibis 122: 88-94.
- Gochfeld M. e Burger J. 1987. Heavy metal concentrations in the liver of three duck species: influence of species and sex. Environ. Pollut., 45: 1-15.
- Goldberg E.D. 1980. The International Mussel Watch. Report of the International Mussel Watch Workshop, Commission on Natural Resources, National Academy of Sciences, Washington.
- Gonzalez L.M. e Hiraldo F. 1988. Organochlorine and heavy metal contamination in the eggs of the Spanish Imperial Eagle (*Aquila (heliaca) adalberti*) and accompanying changes in eggshell morphology and chemistry. Environ. Pollut. 51: 241-258.

- Grandjean P. 1976. Possible effect of lead on eggshell thickness in Kestrels. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 16: 101-6.
- Gravela E. 1984. *Oncologia generale*. Piccin Nuova Libreria, Padova.
- Hamer K.C., Furness R.W. e Caldwell R.W.G. 1991. The effects of changes in food availability on the breeding ecology of great skuas *Catharacta skua* in Shetland. *Journal of Zoology*, London, 223: 175-188.
- Hamilton D.L. e Smith M.W. 1978. Inhibition of intestinal calcium uptake by cadmium and the effect of a low calcium diet on cadmium retention. *Environ. Res.* 15:175-84.
- Heinz G.H. 1976. Methylmercury: Second-year feeding effects on mallard reproduction and duckling behaviour. *J. Wildl. Manage.*, 40: 82-90.
- Heinz G.H. 1979. Methylmercury: reproductive and behavioral effects on three generations of Mallard ducks. *J. Wildl. Manage.* 43: 394-401.
- Helander B., Olsson M. e Reutergardh L. 1982. Residue levels of organochlorines and mercury compounds in unhatched eggs and the relationships to breeding success in White-tailed sea eagle (*Haliaeetus albicilla*) in Sweden. *Holarctic Ecol.* 5: 349-66.
- Hill E.F. e Shaffner C.S. 1976. Sexual maturation and productivity of Japanese quail fed graded concentrations of mercuric chloride. *Poult. Sci.* 55: 1449-59.
- Hill E.F. e Soares Jr. J.H. 1984. Subchronic mercury exposure in *Coturnix* and a method of hazard evaluation. *Environ. Toxicol. Chem.* 3: 489-502.
- Hoffman R.D. e Curnow R.D. 1979. Mercury in Herons, Egrets, and their foods. *J. Wildl. Manage.* 43: 85-93.
- Hoyt D.F. 1979. Practical methods of estimating volume and fresh weight of bird eggs. *Auk* 96: 73-77.
- Hulse M., Mahoney J.S., Schroder J.D., Hacker C.S., Pier S.M. 1980. Environmentally acquired lead, cadmium and manganese in Cattle Egret, *Bubulcus ibis*, and the Laughing Gull, *Larus atricilla*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 9: 69-78.
- Hutton M. 1981. Accumulation of heavy metals and selenium in three seabird species from the United Kingdom. *Environ. Pollut.* 26: 129-45.
- Jakubowski M., Piotrowski J. e Trojanowska B. 1970. Binding of mercury in the rat: Studies using  $^{203}\text{HgCl}_2$  and gel filtration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 16: 743-753.
- Jenkins K.D. e Sanders B.M. 1986. Assessing biological effects of contaminants in situ. In: *Urban Runoff Quality*. Eng. Found. Conf. Proc., ASCE/Henniker, NH, pp. 170-181.
- Jordan J.S. e Bellrose F.C. 1951. Lead poisoning in wild waterfowl. Illinois Natural History Survey Biological Notes 26, Champaign, Illinois, pp. 27.
- Kendeigh S.C., Kramer T.C. e Hammerstrom F. 1956. Variations in egg characteristics of the House Wren. *Auk* 73: 42-65.
- Kochert M.N. 1972. Population status and chemical contamination in Golden Eagles in Southwestern Idaho. M. Sc. Thesis, Univ. Idaho, p. 102.
- Krzystyniak K., Hugo P., Flipo D. e Fournier M. 1985. Increased susceptibility to mouse hepatitis virus 3 of peritoneal macrophages exposed to dieldrin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 80: 397-408.
- Lambertini M. 1981. Inquinamento da mercurio in uova e nidiate di Gabbiano reale (*Larus argentatus*) nell'isola di Capraia (Livorno). *Atti I Conv. Ital. Orn.*, Aulla, pp.93-96.
- Lambertini M. 1982. Mercury levels in *Larus audouinii* and *Larus argentatus michahellis* breeding in Capraia Island (Tyrrhenian Sea). *Riv. ital. Orn.* 52: 75-79.
- Lambertini M. e Leonzio C. 1986. Pollutant levels and their effects on Mediterranean seabirds. In: *Medmaravis and Monbailliu X. (ed.) "Mediterranean Marine Avifauna"*, NATO ASI, Vol. G 12, Springer-Verlag, Berlin.
- Lawrence D.A. 1985. Immunotoxicity of heavy metals. In: Dean J.H., Luster M.L., Munson A.E. and Amos H. Eds. *Immunotoxicology and Immunopharmacology*. Raven Press, New York, pp. 341-53.
- Leach R.M.Jr., Wang K.W. e Baker D.E. 1979. Cadmium and the food chain: The effect of dietary cadmium on tissue composition in chicks and laying hens. *J. Nutr.* 109: 437-43.
- Leonzio C. e Massi A. 1989. Metal biomonitoring in bird eggs. A critical experiment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 43: 402-406.
- Lock J.W., Thompson D.R., Furness R.W., Bartle J.A. 1992. Metal concentrations in seabirds of the New Zealand region. *Environ. Pollut.* 75: 289-300.
- Maedgen J.L., Hacker C.S., Schroder G.D., Weir F.W. 1982. Bioaccumulation of lead and cadmium in the Royal tern and Sandwich tern. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 11: 99-102.
- Magat W. e Sell J.L. 1979. Distribution of mercury and selenium in egg components and egg-white proteins. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 161: 458-463.
- Mahaffey K.R., Goyer R. e Haseman J.K. 1973. Dose-response to lead ingestion in rats fed low dietary calcium. *J. Lab. Clin. Med.* 82: 92-100.
- March B.E., Poon R. e Chu S. 1983. The dynamics of ingested methyl mercury in growing and laying chickens. *Poult. Sci.*, 62: 1000-9.
- Mayack L.A., Bush P.B., Fletcher O.J., Page R.K., Fendley T.L. 1981. Tissue residues of dietary cadmium in wood ducks. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 10: 637-645.
- Morrison M.L. 1986. Bird populations as indicators of environmental change. *Current Ornithol.* 3: 429-451.
- Newton I., Bogan J.A. e Rothery P. 1986. Trends and effects of organochlorine compounds in sparrowhawk eggs. *J. Appl. Ecol.* 23: 461-478.
- Newton I., Haas M.B. e Freestone P. 1990. Trends in organochlorine and mercury levels in Gannet eggs. *Environ. Pollut.* 63: 1-12.
- Ohlendorf H.M., Lowe R.W., Kelly P.R., Harvey T.E. 1986. Selenium and heavy metals in San Francisco Bay diving ducks. *J. Wildl. Manage.* 50(1): 64-71.
- Parslow J.L.F., Thomas G.J., Williams T.D. 1982. Heavy metals in the livers of waterfowl from the Ouse washes, England. *Environ. Pollut. Ser. A*, 29: 217-327.
- Peakall D. 1992. *Animal biomarkers as pollution indicators*. Chapman & Hall, London.
- Penn I. 1987. The neoplastic consequences of immunodepression. In: Berlin A., Dean J., Draper M.H., Smith E.M.B., Spreafico F. Eds. *Immunotoxicology*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp. 69-83.
- Peterson S.R. e Ellarson R.S. 1976. Total mercury residues in livers and eggs of Oldsquaws. *J. Wildl. Manage* 40: 704-709.
- Ratcliffe D.A. 1967. Decrease in eggshell weight in certain birds of prey. *Nature* 215: 208-210.
- Renzone A., Focardi S., Leonzio C., Fossi C., Mocci Demartis A. 1982. Contaminants of resident and migratory birds of the Mediterranean sea. *Thalassia Jugoslavica* 18(1-4): 245-252.
- Renzone A., Focardi S., Fossi C., Leonzio C., Majol J. 1986. Comparison between concentrations of mercury and other contaminants in eggs and tissues of Cory's Shearwater *Calonectris diomedea* collected on Atlantic and Mediterranean Islands. *Environ. Pollut.* 40: 17-35.
- Richardson M.E., Fox m.R.S. e Fry Jr.B.F. 1974. Pathological changes produced in Japanese quail by ingestion of cadmium. *J. Nutr.* 104: 323-38.
- Rocke T.E. e Samuel M.D. 1991. Effects of lead shot ingestion on selected cells of the mallard immune system. *J. Wildl. Diseases* 27(1): 1-9.
- Romanoff A.L. e Romanoff A.J. 1949. *The avian egg*. Wiles and Sons, NY. pp. 918.
- Scheuhammer A.M. 1987. The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury and lead in birds: A review. *Environ. Pollut.* 46: 263-295.
- Sell J.L. 1975. Cadmium and the laying hen: apparent absorption, tissue distribution and virtual absence of transfer into eggs. *Poult. Sci.* 54: 1674-8.

- Sell J.L. 1977. Comparative effects of selenium on metabolism of methylmercury by chickens and quail: tissue distribution and transfer into eggs. *Poult. Sci.* 56: 939-948.
- Shugart L.R. 1990. DNA damage as an indicator of pollutant-induced genotoxicity. *Aquatic Toxicology*: Vol. 13, pp. 348-355.
- Simkiss K. 1961. Calcium metabolism and avian reproduction. *Biol. Rev.* 36: 321-67.
- Six K.M. e Goyer R.A. 1970. Experimental enhancement of lead toxicity by low dietary calcium. *J. Lab. Clin. Med.* 76: 933-42.
- Stoneburner D.L., Patty P.C. e Robertson W.B.Jr. 1980. Evidence of heavy metal accumulations in Sooty Terns. *Science Total Environment* 14: 147- 152.
- Stryjewska E. 1987. Influence of mineralization methods on the results of heavy metals determination. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 327: 679.
- Taylor T.G. 1970. The role of the skeleton in eggshell formation. *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 10: 83-91.
- Tejning S. 1967. Biological effects of methyl mercury dicyandiamide-treated grain in the domestic fowl *Gallus gallus* L. *Oikos Suppl.* 8: 1-116.
- Thompson D.R., Hamer K.C. e Furness R.W. 1991. Mercury accumulation in great skuas *Catharacta skuas* of known age and sex, and its effects upon breeding and survival. *Journal of Applied Ecology* 28: 672-684.
- Van Barneveld A.A. e Van den Hamer C.J.A. 1985. Influence of Ca and Mg on the uptake and deposition of Pb and Cd in mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 79: 1-10.
- Viarengo A. e Canesi L. 1991. Mussels as biological indicators of pollution. *Aquaculture*, 94: 225-243.
- Welz B. e Schlemmer G. 1988. Palladium nitrate Magnesium nitrate modifier for GFAAS. *J. Anal. Atomic Spectrometry* 3: 695.
- White D.H. e Finley M.T. 1978. Uptake and retention of dietary cadmium in Mallard ducks. *Environ. Res.* 17: 53-59.
- Worth C.B. 1940 Egg volumes and incubation periods. *Auk* 57: 44-60.