



Università  
Ca' Foscari  
Venezia

Corso di Laurea Magistrale in Scienze Ambientali  
ordinamento ex D.M. 270/2004

Tesi di Laurea Magistrale

# **Accumulo di elementi in tracce in anatidi svernanti in Laguna di Venezia**

**Relatore**

Ch. Dr. Marco Picone

**Correlatore**

Ch. Dr. Fabiana Corami

**Laureanda**

Elena Ermacora  
Matricola 865363

**Anno Accademico**

2017 / 2018

*A mio padre.*

## INDICE

SCOPO E OBIETTIVI.....	p.04
1. INTRODUZIONE	
1.1. Il bioaccumulo: biomonitoring con avifauna.....	p.06
1.2. L'uso delle penne come matrice di indagine.....	p.09
2. MATERIALI E METODI	
2.1. Specie target e prelievo delle penne.....	p.15
2.1.1. Ecologia di <i>Anas crecca</i> (alzavola).....	p.17
2.1.2. Cenni di ecologia di <i>Anas platyrhynchos</i> (germano reale).....	p.20
2.2. Ptilocronologia e calcolo del tasso di deposizione.....	p.22
2.3. Caratterizzazione chimica delle penne per l'analisi degli elementi in traccia.....	p.23
2.4. Analisi statistica.....	p.30
3. RISULTATI	
3.1. Ptilocronologia.....	p.31
3.2. Analisi degli elementi in traccia.....	p.32
3.3. Tassi di deposizione.....	p.58
4. DISCUSSIONE.....	p.63
5. CONCLUSIONI.....	p.82
6. RINGRAZIAMENTI.....	p.85
7. BIBLIOGRAFIA.....	p.86
8. SITOGRAFIA.....	p.95
APPENDICI.....	p.96

## SCOPO E OBIETTIVI

Lo scopo di questa tesi sperimentale è l'analisi di penne di uccelli svernanti nella Laguna di Venezia per valutare il *body burdens* e l'eventuale bioaccumulo di elementi in traccia. In particolare, è stato stimato il *body burdens* di due elementi maggiori, alluminio (Al) e calcio (Ca), di elementi in traccia micronutrienti quali il cobalto (Co), il cromo (Cr) il rame (Cu), il selenio (Se) e lo zinco (Zn) e di elementi in traccia tossici per il biota, come cadmio (Cd), mercurio (Hg), piombo (Pb), e vanadio (V).

La specie selvatica indagata è l'alzavola (*Anas crecca* Linnaeus, 1758) della quale sono state analizzate penne prelevate da otto esemplari cacciati in Laguna di Venezia. Sono state analizzate inoltre penne di dieci esemplari di germano reale (*Anas platyrhynchos* Linnaeus, 1758) domestico. Per poter valutare le fonti e l'eventuale bioaccumulo degli elementi in traccia, sono state inoltre analizzate penne di altri uccelli presenti in Laguna di Venezia, come il cormorano (*Phalacrocorax carbo sinensis*, Blumenbach, 1798), il gabbiano comune (*Chroicocephalus ridibundus*, Linnaeus 1766) e la garzetta (*Egretta garzetta*, Linnaeus 1766), ma anche penne di uccelli quali il barbagianni (*Tyto alba*, Scopoli, 1769) e il fringuello comune (*Fringilla coelebs*, Linnaeus, 1758).

L'analisi effettuata è di tipo passivo e non prevede la sperimentazione tossicologica diretta e attiva.

L'alzavola selvatica è stata scelta come indicatore di eventuali fenomeni di bioaccumulo, poiché è la specie svernante più abbondante in laguna. I germani reali domestici sono invece stati scelti per avere un modello comparativo per i livelli "basali" degli elementi in tracce, presenti in anatidi mantenuti in condizioni minime di esposizioni ambientali ad agenti inquinanti.

Lo scopo ultimo è fornire indicazioni sulla potenziale esposizione dell'alzavola a sostanze tossiche presenti in ambiente ed operare un confronto con valori

*benchmark* di letteratura, per definire se l'esposizione ambientale ad alcuni elementi in traccia costituisca un pericolo per le specie indagate.

Essendo l'alzavola una specie migratrice regolare, è possibile valutare l'eventuale trasferimento di elementi in traccia dagli areali riproduttivi russi e siberiani a quelli italiani di svernamento, passando per gli stopover<sup>1</sup> intermedi dell'Europa dell'Est.

---

<sup>1</sup> stopover: aree di sosta intermedie tra i siti di svernamento e di nidificazione in cui gli uccelli recuperano l'energia necessaria a proseguire la migrazione

# 1. INTRODUZIONE

## 1.1. IL BIOACCUMULO: BIOMONITORING CON AVIFAUNA

La salute dell'ambiente è un tema che negli anni ha suscitato un interesse crescente nell'opinione pubblica e, quindi, anche negli organi governativi.

Per questo motivo identificare degli indicatori, che ricoprono un ruolo chiave nelle dinamiche ambientali e che consentano di analizzarne lo stato, è fondamentale.

L'utilizzo di prodotti chimici nelle industrie, nell'agricoltura e nell'ambito domestico incrementa di giorno in giorno. I termini "contaminanti" ed "inquinanti" sono ormai considerati sinonimi<sup>2</sup>, in quanto raramente si può dire che i contaminanti non abbiano la potenzialità di causare danni ambientali (Walker et al., 2003).

Il biota, che viene in contatto con composti organici ed elementi in traccia, può assimilarli in relazione alla loro bioaccessibilità e biodisponibilità, tramite diverse vie di esposizione (contatto dermico, ingestione, respirazione di contaminanti atmosferici, ecc.), conservandole all'interno dei propri tessuti (in tutti o solo in alcuni tessuti *target*), rendendole eventualmente disponibili al trasferimento verso livelli più alti della rete trofica (Corami et al., 2009; Cairns et al., 2011).

Come rilevato da Burger and Gochfeld (1997), il semplice monitoraggio non è in grado da solo di indicare se la potenziale esposizione degli organismi ai contaminanti sia biologicamente rilevante e se ne derivino dei rischi. Infatti, per ottenere un quadro esaustivo è necessario conoscere sia i dati riguardanti l'esposizione ambientale ed il bioaccumulo, sia i *benchmark* ottenuti da studi tossicologici di laboratorio con cui correlarli, così da determinare se i livelli rilevati

---

<sup>2</sup>i termini "contaminante" e "inquinante" definiscono entrambi delle sostanze chimiche che superano il livello di background presente naturalmente in ambiente, ma solo gli "inquinanti", tra i due, causano un danno effettivo all'ambiente stesso. (Walker et al., 2003)

nei tessuti rappresentino o meno un rischio per le specie.

Questa correlazione potrebbe risultare difficile, poiché gli studi in laboratorio sono condotti in condizioni controllate, mentre per le popolazioni naturali non è possibile controllare tutte le variabili ambientali coinvolte (Newman, 2014).

Per definizione, il bioaccumulo è la quantità di contaminanti accumulati in un organismo; rappresenta cioè la risultante netta dei fenomeni di uptake, trasformazione ed eliminazione (Hoffman et al, 2003).

Per poter studiare il bioaccumulo l'impiego di uccelli acquatici come bioindicatori sta diventando sempre più diffuso (Green and Elberg, 2014).

Come per tutti i bioindicatori, l'impiego degli uccelli presenta vantaggi e svantaggi metodologici ed interpretativi, che devono essere tenuti in considerazione nella pianificazione e discussione delle indagini di bioaccumulo.

Tra i vantaggi relativi al loro utilizzo come bioindicatori si annoverano:

- la facilità di identificazione e di censimento delle popolazioni;
- la loro rilevanza per l'opinione pubblica, con l'indubbio vantaggio di avere un impatto mediatico e politicamente forte nel momento in cui l'evidenza di cambiamenti ambientali vada ad influire su dimensioni delle popolazioni e/o generi fenomeni di abbandono di habitat (Furness and Greenwood, 1993);
- la disponibilità di dati storici di lungo termine per molte comunità, grazie alla passione storica dei birdwatchers amatoriali (gli uccelli vantano la serie più ampia e più lunga di dati di tutte le popolazioni naturali (Furness and Greenwood, 1993));
- la loro rilevanza biologica e la loro presenza a diversi livelli trofici nelle reti alimentari acquatiche, in cui spesso giocano un ruolo chiave;
- sono sensibili agli stressori in maniera non eccessiva e i cambiamenti che manifestano sono rilevabili e pressoché costanti in relazione allo specifico stressore (specificità) (Burger and Gochfeld, 2001);
- forniscono importanti servizi ecosistemici di vario tipo (culturali, di

approvvigionamento, di supporto e di regolazione) che possono essere alterati dall'esposizione ai contaminanti (Green and Elberg, 2014).

Inoltre, come bioindicatori per il bioaccumulo, gli uccelli acquatici possono avere un ruolo fondamentale come “*early warnings*” e le loro penne (così come altri tessuti) possono essere molto utili per il monitoraggio degli elementi in traccia e di altri contaminanti (Green and Elberg, 2014).

La longevità di questi organismi permette loro di integrare gli effetti degli stressori nel corso del tempo, permettendo per esempio, di misurare gli effetti a livello individuale e sub-individuale attraverso esposizioni prolungate nel tempo (uno o più anni) anche se, al contempo, ciò rende più difficile analizzare le perturbazioni di breve termine.

In maniera analoga, la loro mobilità offre la possibilità di effettuare dei monitoraggi che coprano scale spaziali più ampie (dipendenti dalle caratteristiche ecologiche della specie scelta), ma la variabilità individuale dei comportamenti migratori può rendere difficile stabilire la scala spaziale rappresentata, aggiungendo a questa la variabilità temporale dei singoli tempi migratori e il passaggio attraverso le stesse zone di popolazioni provenienti da luoghi diversi (Furness and Greenwood, 1993).

Nel presente lavoro, si è scelto di studiare una specie chiave dell'avifauna svernanti della Laguna di Venezia: l'alzavola (*Anas crecca* Linnaeus, 1758). Con una presenza media di circa 180000 individui negli ultimi 5 anni, l'alzavola rappresenta la specie con la popolazione più cospicua tra l'avifauna acquatica ed è una potenziale e significativa via nel trasferimento di nutrienti, energia e contaminanti a livello transfrontaliero (Associazione faunisti veneti, 2018).

Essa, inoltre, rientra tra le specie cacciabili, rappresentando una potenziale fonte di trasferimento degli inquinanti dall'ambiente alla dieta umana.

Nel presente lavoro sperimentale si vogliono analizzare le penne di alcuni individui di questa specie, al fine di indagare il livello di contaminanti assimilati e conservati



dagli organismi e successivamente trasferiti da areali di nidificazione e stopover ad areali di svernamento.

Le alzavole sono migratrici a medio-lungo raggio; in quanto migratori, questi uccelli non sono esenti dagli svantaggi precedentemente esposti, ma, mediante la ricostruzione dei loro cicli biologici, è possibile indicare con ragionevole approssimazione quali siano stati i luoghi e i tempi in cui gli inquinanti sono stati accumulati.

Il confronto tra alzavole e individui domestici di germano reale permette di indagare un'eventuale differenza tra il livello di esposizione in ambiente e una situazione di controllo (allevamento).

Il rapporto tra il *body burdens* degli elementi in tracce e le misure di ptilocronologia (tasso di crescita delle penne), permette di valutare l'accumulo medio giornaliero e quindi di valutare l'eventuale bioaccumulo degli elementi assimilati dalle alzavole durante la muta e successivamente conservati nelle penne.

## 1.2. L'USO DELLE PENNE COME MATRICE DI INDAGINE

Varie tecniche possono essere utilizzate per l'analisi del *body burdens* e del bioaccumulo negli uccelli.

Possono essere stimati i *body burdens* di elementi in traccia in organi, come ad esempio i reni e fegato (Eagles-Smith et al., 2009), nei fluidi corporei, come il sangue (Evers et al., 2008) nel tessuto osseo (Binkowski and Sawicka-Kapusta, 2015), nelle uova (all'interno o nel guscio, Burger and Gochfeld, 1995), nelle penne (in tutta la penna o solo in alcune parti, Burger and Gochfeld, 1992; Mashroofeh et al., 2015; Schmude et al., 2018), ma anche nel guano (Binkowski and Sawicka-Kapusta, 2015) o nell'acido urico (Clapp et al., 2012).

Raccogliere ed analizzare le penne per monitorare il *body burdens* e anche il bioaccumulo di contaminanti è un'alternativa preferibile all'impiego di organi

interni, quali reni e fegato o del plasma sanguigno, perché è possibile raccogliere maggiori quantità di campione, che può essere conservato a temperatura ambiente, e soprattutto perché la raccolta può essere effettuata su individui vivi, senza compromissione della loro sopravvivenza della loro fisiologia. Infatti, le penne prelevate possono essere prontamente rimpiazzate da altre, così come sono sostituite le penne perse, durante la muta, o accidentalmente cadute durante l'anno, ad esempio in seguito all'attacco di un predatore oppure durante la competizione per le femmine nella stagione riproduttiva (Ginn and Melville, 2013).

Quindi, il prelievo delle penne, permette di stimare il *body burdens* e il bioaccumulo in specie protette senza arrecare loro disturbo, consentendo di ricercare possibili cause relative al declino delle popolazioni.

Nella raccolta del campione è preferibile prelevare penne completamente sviluppate da organismi vivi, o in alternativa da organismi abbattuti in regime venatorio, così da conoscerne lo stato fenologico al momento del prelievo (adulto o giovanile, periodo riproduttivo, muta pre- o post-riproduttiva) e risalire al momento in cui la penna è stata sviluppata.

### **Struttura della penna**

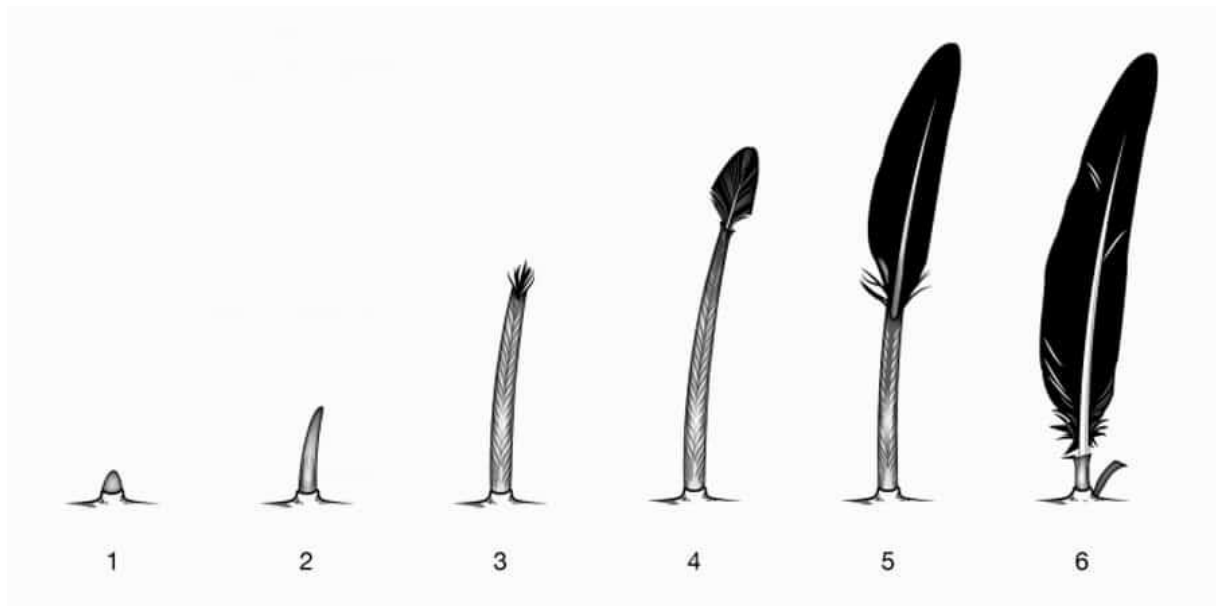
La matrice proteica delle penne è essenzialmente costituita da cheratina, proteina ricca di ponti sulfidrilici (-S-S-).

Molti elementi in tracce hanno una forte affinità per i gruppi tiolici (-SH), che sono presenti nell'amminoacido cisteina, componente fondamentale nella struttura peptidica della cheratina (Lodenius and Solonen, 2013); questa affinità permette il legame tra un elemento e il gruppo tiolico e permette anche la sostituzione di alcuni elementi con altri.

All'interno delle penne sono inoltre presenti altre sostanze, quali pigmenti, che sembrerebbero influenzare una deposizione preferenziale di alcuni contaminanti rispetto ad altri (Grubb, 2006); non essendo ancora ben chiaro questo meccanismo

ed avendo il presente lavoro altri scopi, possibili influenze di questo tipo vengono considerate trascurabili ai fini dei risultati ottenuti.

### **Sviluppo della penna e ptilocronologia**



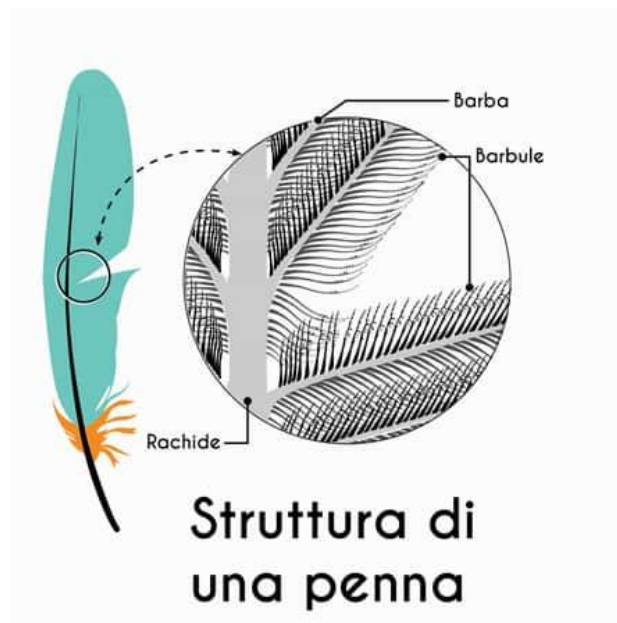
**Figura 1. Sviluppo della penna (fonte: <https://animalivolanti.xyz/uccelli/piumaggio-uccelli/#come-si-sviluppano-le-penne>)**

Come riportato da Ginn and Melville (2013), la penna è prodotta da una piccola struttura a forma di cono (papilla) riccamente irrorata di sangue all'interno del follicolo della pelle.

Una guaina cerosa flessibile e cilindrica racchiude la penna in crescita. Quest'ultima cresce spingendo con forza la vecchia penna finché non viene espulsa, così da poter emergere dal follicolo (Figura 1, punti 1 e 2).

Appena la punta della penna è libera dal follicolo e sufficientemente lontana dalla pelle, la guaina inizia a rompersi progressivamente partendo dalla punta. Le barbe prima compresse iniziano, quindi, ad allargarsi (Figura 1, punti 3, 4 e 5).

Finché l'intera penna non è cresciuta del tutto, la guaina forma un collare attorno al calamo per poi, infine, sfaldarsi completamente (Figura 1, punto 6) e lasciare



**Figura 2. Struttura di una penna** (Fonte: <https://animalivolanti.xyz/uccelli/piumaggio-uccelli/#come-si-sviluppano-le-penne>, modificato)

dietro di sé la nuova penna interamente formata e libera (Figura 2). In relazione alla specie, la guaina può anche rimanere intera finché la penna non è completamente cresciuta (Ginn and Melville, 2013), ma non è il caso degli anatidi analizzati nella presente tesi. Solo nel periodo di crescita, il rachide permette la connessione della penna al sistema circolatorio; questo determina un limite temporale per la deposizione all'interno delle penne degli elementi presenti nella circolazione sanguigna (orizzonte temporale di accumulo del contaminante), poiché i vasi sanguigni si atrofizzano progressivamente alla fine della crescita della penna, quando questa non è più irrorata (Burger and Gochfeld, 1992).

Il periodo di crescita della penna è variabile e il numero di giornate impiegate per una crescita completa può essere calcolato mediante la ptilocronologia (Grubb, 2006).

La ptilocronologia è lo studio del tasso di crescita delle penne degli uccelli; essa consiste nell'analizzare le barre di crescita giornaliere in cui è suddivisa ogni

penna.

Ogni barra di crescita è composta da una banda scura affiancata da una più chiara: le bande scure sono costituite dal materiale deposto nel follicolo durante il giorno, mentre quelle chiare rappresentano la parte depositata durante la notte.

L'assunto cardine di questa analisi è che una coppia di bande, che compone una barra di crescita, sia costituita dal materiale deposto nel corso di 24 h di crescita della penna stessa (Grubb, Jr, 2006).

Dalla normalizzazione del quantitativo di contaminanti complessivamente presenti nella penna stessa rispetto al tempo impiegato per fissarli nella matrice cheratinica (desunto dalla ptilocronologia), si può stimare l'accumulo giornaliero medio dei contaminanti stessi e, quindi, confrontare penne di diverso peso (e densità) e di diversa lunghezza.

Secondo Bortolotti (2010), nonostante i meccanismi fisiologici delle penne non siano ancora del tutto chiari dopo decenni di studi, gli elementi aventi funzione strutturale sono depositi in proporzione alla massa della penna, cioè proporzionalmente alla costruzione dell'intera struttura finale della penna, mentre gli elementi privi di funzione strutturale sono depositi nella matrice cheratinica in maniera proporzionale al tempo di crescita, cioè in relazione al tempo in cui il sangue ha continuato a circolare e ha quindi continuato a portare a contatto con la matrice in crescita i contaminanti in circolo.

Quindi, il tasso di crescita delle penne è fondamentale per analizzare la deposizione dei vari elementi e permette di stimare il tasso di accumulo dei contaminanti in termini di quantità (*body burdens*)/tempo.

### **La muta e il suo ruolo nello studio del bioaccumulo**

Come riportato da Ginn and Melville (2013), il piumaggio degli uccelli viene naturalmente rimpiazzato una o più volte all'anno per evitare che la sua usura possa causare impedimenti al volo.

Il processo di cambiamento del piumaggio è detto muta. Si parla di muta solamente quando le nuove penne in crescita “spingono via” quelle vecchie emergendo progressivamente dal follicolo.

In generale, il ciclo della muta può prevedere due distinti eventi: una muta completa in cui vengono rimpiazzate progressivamente tutte le penne del corpo (che solitamente avviene una volta all’anno) e una parziale in cui solo alcune penne (variabili di specie in specie) vengono rimpiazzate (Ginn and Melville, 2013).

La muta delle penne può essere considerata un meccanismo di detossificazione (Lodenius and Solonen, 2013). Nelle nuove penne in formazione vengono depositati gli inquinanti presenti nel circolo sanguigno più una frazione variabile (generalmente minoritaria) di inquinanti già conservati in altri organi e rimobilizzati durante il periodo di muta dell’uccello.

I *body burdens* presenti nelle nuove penne rifletteranno così le concentrazioni degli inquinanti in circolo nel momento in cui si sono formate (Burger and Gochfeld, 1991; Lodenius and Solonen, 2013).

Stimare i *body burdens* degli elementi in tracce nelle penne contribuisce a valutare le fonti di contaminazione e le vie di trasporto nella rete trofica; gli uccelli vengono continuamente in contatto con i contaminanti, che possono essere presenti nel cibo e nell’acqua contaminata da reflui chimici industriali o dal runoff agricolo o dal fallout dell’inquinamento dell’aerosol (Burger and Gochfeld, 1991).

Ai fini dell’analisi di bioaccumulo nelle alzavole utilizzate nel presente lavoro di tesi, è inoltre fondamentale conoscere il ciclo della muta, in quanto consente di valutare **il periodo dell’anno** in cui la penna analizzata è stata prodotta; dalla combinazione di questa informazione con le conoscenze sulle rotte migratorie, è possibile poi individuare **l’area** in cui si trovava l’individuo mentre era in muta e, quindi, la provenienza geografica dei contaminanti che sono depositati nella penna.

## 2. MATERIALI E METODI

### 2.1. SPECIE TARGET E PRELIEVO DELLE PENNE

Due specie sono state studiate per questo lavoro di tesi: l'alzavola (*Anas crecca* Linnaeus, 1758) e il germano reale (*Anas platyrhynchos* Linnaeus, 1758).

Entrambe sono inserite nell'allegato II parte A e nell'allegato III della "Direttiva 2009/147/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 30 novembre 2009 concernente la conservazione degli uccelli selvatici", detta anche "Direttiva Uccelli", secondo il quale possono essere soggette a caccia regolamentata dagli Stati Membri purché non se ne pregiudichi la conservazione.

Nell'allegato III della suddetta direttiva il germano reale rientra nella parte A ed è considerato specie per cui non è vietata la vendita, il trasporto e la detenzione per la vendita di uccelli vivi o morti e/o di parti riconoscibili, purché siano stati cacciati o catturati o comprati legalmente; sempre nell'allegato III l'alzavola rientra nella parte B (gli Stati Membri possono ammettere o limitare le attività precedentemente citate per la parte A).

Le penne dell'alzavola analizzate nel presente lavoro sono state prelevate da individui selvatici, cacciati regolarmente nelle Valli della Laguna Nord di Venezia durante la stagione venatoria 2017/18. È stata analizzata una delle due penne più esterne della coda (R8) di ogni individuo, per un totale di 8 penne prelevate da 4 maschi e 4 femmine.

Con lo stesso criterio di prelievo, le penne R10 sono state prelevate anche da dieci germani reali domestici (5 maschi e 5 femmine) allevati da privati presso San Giorgio di Nogaro (UD), inizialmente al fine di essere usati come richiami vivi in stagione della caccia, ma dopo la stagione venatoria 2016/17 tenuti esclusivamente come animali da compagnia. Le condizioni di allevamento sono controllate e le variabili ambientali sono note: il substrato su cui vivono è di tipo drenante fatto di

ciottoli, recintato da una rete a maglie larghe alta, che impedisce il volo libero, e l'area è dotata di due vasche alimentate con acqua corrente di falda (derivante da un pozzo artesiano). Il cibo viene lasciato loro liberamente sui sassi (materiale vegetale in foglie) oppure in ciotole di metallo (granaglie). Non vi sono coperture dalle intemperie tranne un telo da pacciamatura messo *ad hoc* per le situazioni atmosferiche particolarmente avverse.

Contestualmente all'analisi delle penne degli anatidi, sono state analizzate penne di altre specie aviarie, appartenenti ad altri livelli trofici e caratterizzati da dieta variabile. Le specie sono il cormorano (*Phalacrocorax carbo sinensis*, Blumenbach, 1798), il gabbiano comune (*Chroicocephalus ridibundus*, Linneus 1766), la garzetta (*Egretta garzetta* Linnaeus, 1766), il barbagianni (*Tyto alba* Scopoli, 1769) e il fringuello comune (*Fringilla coelebs* Linnaeus, 1758).

Le penne di altre specie aviare sono state analizzate come confronto per verificare se il *body burdens* e il bioaccumulo siano funzione della specie considerata (variazioni interspecifiche). Inoltre, non essendo possibile reperire un materiale di riferimento certificato, le penne delle altre specie aviare sono diventate il materiale di riferimento, poiché si è potuto raccogliere più penne di uno stesso individuo. Delle altre specie aviare non si è potuto risalire al sesso, essendo animali morti in seguito all'investimento da parte di autoveicoli.



### 2.1.1. ECOLOGIA DI *ANAS CRECCA* (ALZAVOLA)



**Figura 3. esemplari di femmina (sx) e maschio (dx) di alzavola in livrea riproduttiva. Fonte: <https://www.hbw.com/ibc/photo/common-teal-anas-crecca/common-teal-anas-crecca-1>**

L'alzavola (*Anas crecca* Linnaeus, 1758) è un anatide lungo circa 38 cm, compatto e dal collo corto, il cui peso oscilla attorno ai 300 g (Cramp and Simmons, 1983; Bricchetti et al, 1992).

È la specie più piccola tra le anatre europee ed è tra gli anatidi più abbondanti con un numero di coppie riproduttive che si aggira tra le 557000 e le 915000. Nonostante il trend riproduttivo non sia conosciuto, non si ritiene che l'alzavola sia in via d'estinzione in Europa: è infatti tra gli anatidi più cacciati e soggetti a predazione nel continente (Giunchi et al., 2018).

Si riproduce in tutte le medie latitudini occidentali del Paleartico e manifesta comportamento migratorio, con pochi individui residenti in alcune aree (Paesi Bassi, Inghilterra, Francia e sud dell'Europa). Anche in Italia l'alzavola è principalmente migratrice e svernante, con poche coppie riproduttive (Cramp and Simmons, 1983).

Utilizzando il rilevamento satellitare di individui dotati di GPS, si è appurato che

gli individui svernanti in Italia (e nell'alto Adriatico) appartengono principalmente alle popolazioni nidificanti in Russia europea ed in Siberia e, secondariamente, in Fennoscandia (Giunchi et al., 2018). In Laguna di Venezia, le coppie nidificanti sono al massimo una decina (Bon et al, 2014), mentre gli svernanti si aggirano in media attorno ai 180000 individui negli ultimi 5 anni, raggiungendo regolarmente almeno l'1% della popolazione del Paleartico (Associazione faunisti veneti, 2018).

### **Habitat e alimentazione**

Cramp and Simmons (1983) riportano che durante le migrazioni o lo svernamento, l'alzavola è preferenzialmente presente nei pressi di zone umide, come lagune, stagni e altri corpi d'acqua; si adatta a qualunque tipo di habitat acquatico, tranne le acque profonde, prive di vita, con corrente forte o troppo agitate.

Quando nidifica, invece, tende a scegliere acque eutrofiche in zone umide in cui è essenziale la presenza di vegetazione; ha bisogno di un ampio range di tipologie di habitat per le varie attività giornaliere e notturne e si adatta ad habitat aperti a diverso grado di salinità, evitando preferenzialmente il disturbo umano intenso o frequente (Cramp and Simmons, 1983).

È una specie essenzialmente onnivora, con notevole variabilità nella dieta dipendente da tipo di habitat, ora del giorno, stagione, clima e sesso (Cramp and Simmons, 1983).

L'alzavola si procura l'alimento camminando tra la vegetazione dove l'acqua è profonda pochi centimetri; filtra il substrato con il becco dotato di lamelle per ingerire elementi animali e vegetali di dimensioni molto piccole (tra cui semi di piante, molluschi gasteropodi e larve di ditteri). Nella stagione fredda (autunno-inverno) è prevalentemente granivora, con un incremento, in estate della componente animale, costituita da invertebrati, ricca di proteine (Cramp and Simmons, 1983; Dessborn et al, 2011).

I semi che mangia (con dimensioni comprese tra 1 e 2.6 mm), possono appartenere

a specie diverse in relazione all'habitat di residenza.

La richiesta giornaliera di cibo è di circa 20-30g in peso fresco, che corrisponde a più o meno 7-8% del peso corporeo (Cramp and Simmons, 1983).

### **Migrazione e muta**

La migrazione primaverile degli individui svernanti in laguna di Venezia inizia a febbraio e si protrae fino ad aprile, con l'arrivo nelle breeding areas in Russia e Fennoscandia tra maggio e giugno (Giunchi et al., 2018). Uno studio precedente riporta che la permanenza nelle aree di nidificazione si prolunga fino a luglio, mentre la migrazione autunnale post-riproduttiva vada agosto agli inizi di novembre, con arrivo e permanenza nelle wintering areas da fine ottobre a dicembre (Cramp and Simmons, 1983).

L'alzavola presenta due cicli di muta, uno pre-riproduttivo e uno post-riproduttivo. La muta pre-riproduttiva (o autunnale) è parziale, interessa in entrambi i sessi varie parti del corpo che solitamente non includono le penne esterne della coda (impiegate per il presente lavoro) e va da fine agosto a novembre, anche se talvolta nelle femmine può protrarsi fino a febbraio-marzo. In base a quanto precedentemente riportato per il comportamento migratorio, queste penne vengono mutate durante la migrazione dalle breeding areas verso le wintering areas, cioè dalle aree di nidificazione in Russia verso la Laguna di Venezia, passando per l'Europa dell'Est (Cramp and Simmons, 1983; Ginn and Melville, 2013; Giunchi et al., 2018).

La muta post-riproduttiva (o estiva) in generale inizia a giugno e si conclude agli inizi di agosto e risulta essere completa. Tutte le penne del corpo vengono sostituite e gli individui non sono in grado di volare per circa 4 settimane. Generalmente, in questo periodo gli animali si trovano nelle loro aree di nidificazione in Russia o negli stopover (areali di sosta) in Russia o Europa dell'Est (Cramp and Simmons, 1983; Ginn and Melville, 2013; Giunchi et al., 2018;).

Per le attività sperimentali sono state impiegate penne esterne della coda di individui in livrea riproduttiva cacciati a gennaio; si considera che tali penne siano state prodotte durante la muta estiva o post-riproduttiva nelle aree di nidificazione oppure negli stopover in Russia o nell'Europa dell'Est.

#### 2.1.2. CENNI DI ECOLOGIA DI *ANAS PLATYRHYNCHOS* (GERMANO REALE)



**Figura 4. Femmina con pulli e maschio di germano reale, adulti in livrea riproduttiva (<https://fineartamerica.com/featured/1-mallard-duck-family-jan-holden.html>)**

Il germano reale (*Anas platyrhynchos* Linnaeus, 1758) è un'anatra di grandi dimensioni, lunga in media di 50-65 cm, il cui peso si aggira attorno al chilogrammo, con oscillazioni legate al sesso (Cramp and Simmons, 1983; Bricchetti et al, 1992).

Risulta adattabile ad un amplissimo range di habitat, preferendo habitat che includono l'acqua, alla quale tuttavia non è strettamente legata. È l'anatra che meglio tollera la vicinanza umana o il disturbo intenso ed è in grado di sfruttarla a

suo vantaggio per trarne cibo e riparo (Cramp and Simmons, 1983).

Il germano è una specie onnivora ed opportunista, che utilizza un'ampia gamma di alimenti e di metodi di nutrimento, che dipendono dall'habitat, dalla stagione, dalla disponibilità di cibo e dal tipo di cibo (Cramp and Simmons, 1983).

Gli esemplari domestici studiati sono nutriti 1 volta al giorno con percentuali variabili di grano/granaglie, fogliame di vario tipo (insalata e/o erbe di campo), talvolta con sorgo e risetta; inoltre, soprattutto in estate, possono ricevere porzioni di frutta fresca.

La specie presenta due eventi di muta. La muta post-riproduttiva è completa va da fine maggio a metà luglio per i maschi, e per le femmine che non hanno avuto successo riproduttivo, come quelle studiate (Spina and Volponi, 2008; Ginn and Melville, 2013; Cramp and Simmons, 1983).

La muta pre-breeding risulta, invece, parziale e riguarda la testa, il corpo, la coda (che non sempre risulta completa ma spesso prolungata) e le terziarie. Inizia poco dopo la muta delle ali, da agosto a i primi di ottobre per i maschi mentre le femmine spesso la concludono prima di novembre, ma possono anche ritenere le penne della coda talvolta fino a primavera (Ginn and Melville, 2013; Cramp and Simmons, 1983).

Le penne studiate, essendo le più esterne della coda prelevate ad aprile (Figure 5 e



**Figura 5. Coda di germano reale femmina domestico. Foto: Elena Ermacora**



6), molto probabilmente si sono sviluppate in autunno, durante la muta pre-riproduttiva.



**Figura 6. Coda di germano reale maschio domestico. Foto: Elena Ermacora**

## 2.2. PTILOCRONOLOGIA E CALCOLO DEL TASSO DI DEPOSIZIONE

La ptilocronologia permette di quantificare in quanti giorni sia cresciuta una singola penna (Grubb, Jr, 2006).

Per il calcolo del tasso di crescita delle penne, in questo studio è stato seguito il metodo proposto da T. C. Grubb, Jr.

Ogni penna è stata fissata alle sommità su un foglio nero (per far risaltare meglio le barre) con del nastro adesivo. Con uno spillo sono stati fatti due buchi per segnare le estremità della penna stessa in modo da misurarne la lunghezza complessiva con il calibro (precisione di 0.01 mm). Un buco è stato fatto in corrispondenza dei  $\frac{2}{3}$  della lunghezza totale a partire dalla punta del calamo. Infine, per ogni parte distale della banda scura di ogni barra di crescita visibile, è stato fatto un altro buchino.

Per poter essere valide ai fini della ptilocronologia in base al metodo di Grubb, Jr, sono state datate solamente le penne aventi tra le 5 e le 10 barre distinguibili (tranne nel caso di un'alzavola femmina, di cui sono state contate solamente tre barre; infatti, le barre non risultano facilmente visibili in tutte le penne) e

ravvicinate tra loro il cui centro corrispondesse a questi 2/3.

Usando un software per analisi di immagini digitali (ImageJ) è stato possibile calcolare lo spessore di ogni barra di crescita delimitata dai puntini fatti con lo spillo prendendo come riferimento una barra misurata con il calibro (precisione di 0.01 mm). È stata, quindi, calcolata la lunghezza di ogni singola barra visibile e, in seguito, la lunghezza media delle barre in ogni singola penna.

Infine, dividendo la lunghezza totale della penna per questo valore, è stato possibile ricavare il tempo (in giorni) che la penna ha impiegato a svilupparsi. Tramite il metodo della ptilocronologia sono state datate le penne di alzavola selvatica e di germano reale domestico.

Per la valutazione del bioaccumulo in termini di quantità/tempo, è stato calcolato il rapporto tra il *body burdens* e il tempo di crescita medio, ottenuto dalla ptilocronologia.

### 2.3. CARATTERIZZAZIONE CHIMICA DELLE PENNE PER L'ANALISI DEGLI ELEMENTI IN TRACCIA

La caratterizzazione chimica delle penne di alzavola (*Anas crecca* Linnaeus, 1758) e germano reale (*Anas platyrhynchos* Linnaeus, 1758) prevede la completa mineralizzazione del campione e la successiva analisi tramite uno spettrometro di massa accoppiato induttivamente al plasma (ICP-MS Agilent 7500a).

In aggiunta alle specie target del presente lavoro, sono state analizzate delle penne di confronto prelevate da altre specie: il cormorano (*Phalacrocorax carbo sinensis*, Blumenbach, 1798), il gabbiano comune (*Chroicocephalus ridibundus*, Linnaeus, 1766), il barbagianni (*Tyto alba*, Scopoli, 1769), la garzetta (*Egretta garzetta*, Linnaeus, 1766) e il fringuello comune (*Fringilla coelebs*, Linnaeus, 1758).

Per ogni campione di penna è stata valutata la concentrazione totale (*body burdens*) di alluminio (Al), calcio (Ca), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr),

mercurio (Hg), piombo (Pb), rame (Cu), selenio (Se), vanadio (V) e zinco (Zn).

L'obiettivo è poter stimare il bioaccumulo nelle penne, stimando la concentrazione di elementi in tracce presenti all'interno delle matrici tissutali.

Le specie di confronto, caratterizzate da livello trofico differente e da dieta differente rispetto agli anatidi, sono state impiegate per valutare comparativamente le quantità di elementi in traccia depositati nelle penne rispetto alle anatre e valutare, quindi, eventuali differenze legate ad abitudini alimentari.

Ogni penna è stata pesata intera; prima della mineralizzazione è stata decontaminata, per asportare eventuali impurezze che potessero apportare elementi in tracce (contaminazione esterna da deposizioni atmosferiche e preening).

Tutti i procedimenti sono stati eseguiti sotto cappa aspirante, pulita e decontaminata.

Con l'aiuto di pinzette teflonate e decontaminate (passaggi successivi con acqua ultrapura Elga e con una soluzione di acetone 1M (Acetone 99.9% SpS Romil) e l'utilizzo di vetrini da orologio o capsule petri preventivamente pulite, ogni penna è stata lavata ripetutamente alternando acqua ultra pura con una soluzione di acetone 1 M ed infine risciacquata con acqua ultra pura per rimuovere ogni traccia della soluzione di acetone.

La mineralizzazione delle penne avviene tramite la tecnologia “*vessel inside vessel*” in mineralizzatore a microonde (Milestone, Ethos 1).

Dopo la decontaminazione, ogni penna pesata e lavata è stata inserita in una vessel di quarzo pulita, nella quale sono stati aggiunti acido nitrico ultra puro ( $\text{HNO}_3$ , 67-69%, Plasmasure Quantanalitica) e perossido di idrogeno ultrapuro ( $\text{H}_2\text{O}_2$ , 30-32%, Romil) in un rapporto ottimale per la mineralizzazione del campione (4:1).

Ogni vessel di quarzo chiusa è stata poi inserita in una vessel in fluoro polimero di seconda generazione (TFM) a tecnologia *vent and release*, nella quale viene aggiunta una miscela di acqua ultra pura e di  $\text{H}_2\text{O}_2$  ultra puro.

Ai fini della quantificazione degli elementi in traccia nelle penne, per ogni giro di digestione è stato analizzato un bianco, ovvero una delle vessels è stata riempita



soltanto con i reagenti utilizzati per la mineralizzazione. Anche questa vessel, in maniera analoga a tutte le altre, è stata maneggiata prestando attenzione a minimizzare i rischi di contaminazione.

Una volta chiuse ed inserite in un rotore ad alta pressione, tutte le vessels sono state poste in un mineralizzatore a microonde (ETHOS 1, Milestone) per il processo di digestione a temperatura e pressione controllata.

La mineralizzazione è un processo di solubilizzazione completa della matrice solida, che viene effettuato in un sistema chiuso (in *vessel*), utilizzando acidi forti, in digestori/mineralizzatori a microonde.

L'utilizzo delle microonde, infatti, permette di ovviare ad alcuni problemi, come l'incompleta disgregazione della matrice in esame, la possibilità di contaminazioni, l'eventuale perdita degli analiti di interesse, fenomeni di adsorbimento, ecc.

Nella mineralizzazione si utilizzano reattivi di solubilizzazione e di ossidazione, come ad esempio gli acidi puri. L' $\text{HNO}_3$  ultrapuro e concentrato è un ottimo ossidante, ma la sua forza è incrementata quando è utilizzato accoppiato ad un altro ossidante, l' $\text{H}_2\text{O}_2$  ultra puro, ad alta temperatura.

Nella tecnologia *vessel inside vessel* la miscela di acqua ultra pura e di  $\text{H}_2\text{O}_2$  ultra puro nelle vessels in TFM, riscaldandosi, produce ossigeno, che a sua volta va a trasformare il diossido di carbonio ( $\text{CO}_2$ ) e gli ossidi di azoto ( $\text{NO}_x$ ), prodotti durante il processo digestivo, in acido nitrico, riducendo notevolmente la pressione all'interno delle vessels (Milestone, 2017).

A mineralizzazione completata, ogni campione è stato recuperato e pesato.

Dopo ogni digestione è necessaria la pulizia delle vessels. Ogni vessel è stata quindi risciacquata con acqua ultrapura; le vessels in quarzo sono state riempite con acido nitrico ultrapuro, mentre le vessels in TFM sono state riempite come per la mineralizzazione ed è stato quindi effettuata una mineralizzazione a vuoto.

Dello stesso campione mineralizzato sono state successivamente preparate diverse aliquote con diluizione opportuna con acqua distillata ultrapura, che sono state conservate a  $-20^\circ\text{C}$  fino al momento delle analisi.

Per verificare l'accuratezza della procedura di mineralizzazione, non essendo disponibile un materiale certificato di riferimento (CRM), sono state utilizzate penne di altre specie di volatili (*Phalacrocorax carbo sinensis*, *Tyto alba*, *Fringilla coelebs*, *Egretta garzetta*, *Chroicocephalus ridibundus*), che, a differenza delle specie in esame, era stato possibile raccogliere in quantità maggiore.

Dopo la mineralizzazione, per le penne di confronto sono state preparate diverse aliquote a diluizione opportuna, che sono state conservate e analizzate come le penne degli anatidi.

Tutti i campioni opportunamente diluiti sono stati analizzati tramite ICP-MS Quadrupole 7500a (Agilent).

La spettroscopia di massa è impiegata nell'analisi quantitativa e qualitativa di analiti organici e inorganici.

La spettrometria di massa accoppiata con un plasma accoppiato induttivamente (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS), è la tecnica utilizzata per la determinazione della concentrazione degli elementi in tracce (ppm-ppb) e in ultratracce (ppb-ppq) (Agilent, AAVV 2009).

La strumentazione utilizzata è costituita da diverse componenti:

1. Sistema di introduzione del campione
2. Sorgente di ionizzazione
3. Interfaccia
4. Sistema di focalizzazione
5. Analizzatore di massa
6. Rivelatore
7. Data System

Il sistema di introduzione del campione all'interno dell'ICP genera un aerosol finemente suddiviso.

Poiché il plasma non è efficiente nel decomporre gocce di grandi dimensioni, si utilizza la camera di nebulizzazione, al fine di mantenere elevata la temperatura del plasma, ridurre le interferenze dovute agli ossidi e migliorare l'efficienza nella

decomposizione della matrice.

Il plasma accoppiato induttivamente è la sorgente di ioni e permette la ionizzazione e l'atomizzazione dei campioni, introdotti sotto forma di aerosol, a temperature dell'ordine dei 6000-8000°C.

È utilizzato un plasma di argon, che possiede una energia di prima ionizzazione (15.75 eV) più alta dell'energia di I ionizzazione di quasi tutti gli elementi in tracce, ma più bassa della loro energia di II ionizzazione. Questo evita la formazione di ioni a doppia carica, motivo di interferenza spettrale.

Le gocce di aerosol finemente suddiviso, provenienti dalla camera di nebulizzazione, sono trasportate nel plasma mediante un flusso di argon (carrier gas) e, a causa dell'elevata temperatura, vengono disidratate, atomizzate e ionizzate in seguito a collisioni con elettroni liberi, atomi di Ar e ioni Ar<sup>+</sup>. Elettroni, cationi Ar<sup>+</sup> e specie neutre nel plasma raggiungono velocemente l'equilibrio e, assorbendo energia da una sorgente esterna (generatore di RF), mantengono acceso il plasma ad una temperatura tale da sostenere successive ionizzazioni.

Gli ioni che si formano sono generalmente a carica unitaria (M<sup>+</sup>); possono però formarsi specie doppiamente cariche (M<sup>2+</sup>) in grado di ricombinarsi con altri elementi presenti nel plasma producendo specie molecolari stabili o metastabili (es. MAr<sup>+</sup>, M<sup>2+</sup>, MO<sup>+</sup>, etc.). Molte di queste, cariche positivamente, possono essere trasmesse all'analizzatore e provocare interferenze spettrali. Però, mantenere alta e stabile la temperatura del plasma fa sì che il grado di decomposizione della matrice sia efficiente, permettendo quindi l'assenza di interferenti all'interfaccia.

Nella strumentazione ICP-MS vengono accoppiati un plasma, operante a pressione ambiente, ed uno spettrometro di massa, che necessita di un alto vuoto (10<sup>-4</sup>-10<sup>-5</sup> torr); è perciò fondamentale un'interfaccia fra le due componenti.

L'interfaccia è composta da due coni concentrici (*sampler cone* e *skimmer cone*) dotati di un orifizio centrale e coassiale il cui diametro, ≤ 1 mm, garantisce l'alto vuoto all'interno dello spettrometro di massa. Alla fine dell'interfaccia gli ioni

vengono accelerati, attraverso un elettrodo carico negativamente (da -100 a -600 V), verso una serie di lenti di focalizzazione. Il campo elettrostatico generato applicando un voltaggio alle lenti permette di discriminare le specie che potrebbero causare interferenze.

L'analizzatore discrimina gli ioni provenienti dalle lenti di focalizzazione in base al loro rapporto massa/carica. Con l'ICP-MS vengono utilizzati tre diversi tipi di analizzatore: l'analizzatore a quadrupolo, settore magnetico, doppia focalizzazione e a tempo di volo. Essi si differenziano per quantità di sostanza da esaminare, tempo di scansione e risoluzione.

Gli strumenti a quadrupolo, considerati i rapidi tempi di scansione, sono gli analizzatori di massa generalmente più utilizzati.

La componente del rivelatore nell'ICP-MS è responsabile dell'elevata sensibilità, proprietà che si raggiunge solamente qualora il detector sia in grado di distinguere ciascuno ione dal rumore di fondo. Viene normalmente utilizzato un elettromoltiplicatore, costituito da numerosi elettrodi con superficie di Cu/Be, ciascuno caricato ad un potenziale superiore al precedente in modo da avere un'amplificazione del segnale (guadagni di corrente dell'ordine dei  $10^7$  A).

Il rivelatore, misurando la corrente elettrica, che è funzione del numero di elettroni che passano, conta gli elettroni di ogni massa specifica, e di conseguenza gli ioni.

Per ogni elemento in traccia un insieme di soluzioni standard a diversa concentrazione nota è analizzato nelle stesse condizioni utilizzate per l'analisi dei campioni, per costruire la curva di calibrazione. Applicando il metodo dei minimi quadrati si ottiene la retta di calibrazione, formata dalle diverse coppie segnale/concentrazione standard, e può essere utilizzata per la valutazione della concentrazione di analita nei campioni.

La presenza di uno standard interno permette di valutare puntualmente la stabilità strumentale e di avere indicazioni precise riguardo ad eventuali interferenze e derive di segnale dovute all'effetto matrice e/o derivante dalla nebulizzazione dei campioni e dal loro passaggio nelle varie fasi dell'analisi, assieme agli standard di

calibrazione esterna. Lo standard interno è un elemento non presente o presente a livelli trascurabili nel campione da analizzare, che manifesta un comportamento simile a quello degli analiti di interesse e deve essere presente con un unico isotopo. Lo standard interno, usato per l'ICP-MS per queste analisi, è il rodio, con un rapporto m/z intermedio ( $^{103}\text{Rh}$ ), presente nei campioni a livelli trascurabili.

Assieme ai campioni, o ai bianchi o agli standard per la curva di calibrazione lo standard interno arriva alla spray chamber (o camera di nebulizzazione); il suo segnale subisce poi lo stesso destino di quello degli analiti di interesse ed è monitorato per tutta la durata della sequenza analitica. Ciò permette di individuare eventuali interferenze e derive strumentali, che possono essere corrette normalizzando il numero dei colpi degli analiti e degli standard esterni con il numero dei colpi dello standard interno.

La concentrazione degli analiti di interesse nei campioni incogniti è valutata tramite la curva di calibrazione esterna.

Per valutare la stabilità dello strumento, si controlla anche la validità della retta di calibrazione durante la sequenza di analisi, rileggendo quindi alcuni degli standard e valutandone la ripetibilità.

Per ogni campione è stata valutata la deviazione standard, la deviazione standard relativa percentuale (RSD%) e l'errore standard. Per gli analiti di interesse, la RSD % è generalmente compresa tra il 5% e il 10%, in alcuni casi è risultata essere superiore (~ 15%). L'errore standard è generalmente <5%, in alcuni casi risulta compreso tra il 5% e il 10%.

La procedura di mineralizzazione e la successiva fase analitica tramite ICP-MS risultano ripetibili e riproducibili.

Nella sezione risultati e discussione, nel testo sarà riportato l'errore standard.

## 2.4. ANALISI STATISTICA

È stata fatta l'analisi della varianza (ANOVA, Analysis of Variance) a una via mediante il software Statistica 7.0, per verificare eventuali differenze significative nella lunghezza media delle barre di crescita, nei *body burdens* e nel bioaccumulo tra:

1. maschi e femmine della stessa specie,
2. alzavole e germani (differenza interspecifica) in maniera indipendente dal sesso.

Prima di eseguire l'analisi della varianza sono state verificate le ipotesi fondamentali per l'applicazione di questo test parametrico, ovvero:

- distribuzione normale dei dati appartenenti allo stesso gruppo (verificata tramite metodo Kolmogorov-Smirnov),
- l'omoschedasticità della varianza, ovvero gli errori devono avere una varianza omogenea all'interno dello stesso gruppo (verificata tramite il test di Levene).

Nel caso in cui i dati grezzi non rispettassero le condizioni di normalità e omogeneità delle varianze, si è proceduto all'analisi trasformando i dati in logaritmo (ad esempio per il confronto dei *body burdens* tra alzavola e germano (ad esempio per il confronto dei *body burdens* tra alzavola e germano). Quando anche la trasformazione in logaritmo non ha consentito di soddisfare le condizioni di omogeneità delle varianze, si è proceduto ad eseguire l'ANOVA di Welch mediante software IBM SPSS Statistics.

## 3. RISULTATI

### 3.1. PTILOCRONOLOGIA

Le misure di ptilocronologia sono state eseguite per un totale di 7 penne di alzavola (3 femmine e 4 maschi) e 5 penne di germano reale domestico (2 maschi e 3 femmine). I risultati dell'analisi ptilocronologica per le due specie in esame (*A. crecca* e *A. platyrhynchos*) sono riportati nelle tabelle 1 e 2 in appendice.

Dall'analisi statistica con ANOVA a una via, non si sono evidenziate differenze significative nel tasso di crescita delle penne tra germano e alzavola (ANOVA a una via:  $F_{1,93}=2.43$   $p=0.123$ ); analogamente non sono state riscontrate differenze tra i sessi dei germani reali domestici (ANOVA a una via:  $F_{1,41}=1.64$   $p=0.209$ ) e nemmeno tra i sessi delle alzavole (ANOVA a una via:  $F_{1,50}=2.24$   $p=0.14$ ).

Le alzavole sono risultate avere un tempo di crescita medio di 25.4 giorni, mentre i germani di 29.4 giorni.

In seguito, da questi dati, è stato poi possibile calcolare il tasso di deposito giornaliero dei contaminanti per ogni penna, che verrà riportato in appendice in tabella 4.

### 3.2. ANALISI DEGLI ELEMENTI IN TRACCIA

Il bioaccumulo, come accennato nell'introduzione, è dato dalla risultante netta dei fenomeni di uptake da tutte le sorgenti (cibo, acqua, aria, sedimento, suolo), trasformazione ed eliminazione, cioè rappresenta la quantità di contaminanti che rimangono nell'organismo in seguito al completamento del processo metabolico. (Hoffman et al., 2003).

I contaminanti presenti nelle penne, derivando dal flusso ematico, hanno già subito processi di uptake, distribuzione, biotrasformazione (tra cui la metilazione del mercurio), per cui, rappresentano già una frazione "netta" di quanto assimilato e quindi possono già essere considerati un risultato del processo di bioaccumulo. Essendo, tuttavia, il fenomeno di stoccaggio nelle penne già di per sé considerabile una via di eliminazione o deposito (imputabile all'inertizzazione dei contaminanti nella matrice cheratinica) come riportato da Seco Pon et al (2011), nell'ambito di questo lavoro di tesi gli elementi in traccia presenti nelle penne saranno considerati come dei "*body burdens*" (Burger et al, 1994), mentre come indicatore del bioaccumulo sarà considerato il tasso di deposito calcolato rapportando i *body burdens* ai tassi di crescita.

Sono di seguito riportati i risultati relativi alle analisi degli undici elementi in traccia studiati nelle penne delle specie oggetto di indagine.

Nei grafici e nelle tabelle, per semplicità di esposizione, si è seguita la seguente codifica delle specie: AP\_D (*Anas platyrhynchos* domestico); AC (*Anas crecca*); CR (*Chroicocephalus ridibundus*); TA (*Tyto alba*); PC (*Phalacrocorax carbo sinensis*); FR (*Fringilla coelebs*); EG (*Egretta garzetta*). Le lettere M e F identificano maschi e femmine degli anatidi e il numero associato agli anatidi è un numero progressivo attribuito casualmente al momento del prelievo delle penne dagli individui di appartenenza, mentre la lettera S è stata attribuita casualmente per identificare che i germani reali domestici erano di San Giorgio di Nogaro



(UD). Per la specie *Egretta garzetta*, nei grafici i numeri 1 e 2, accanto alla sigla associata EG, indicano due penne dello stesso organismo, mentre nel testo viene riportata la media tra i due valori.

Le quantità sono riportate in  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (o ppb) di peso fresco (ww), tranne per gli elementi maggiori come Al, Ca e Zn, per i quali le quantità sono riportate in  $\text{mg}/\text{kg}$  (ppm); nel testo, a fianco dei valori di *body burdens* è riportato l'errore (calcolato dall'errore standard).

## 1- Alluminio (Al)

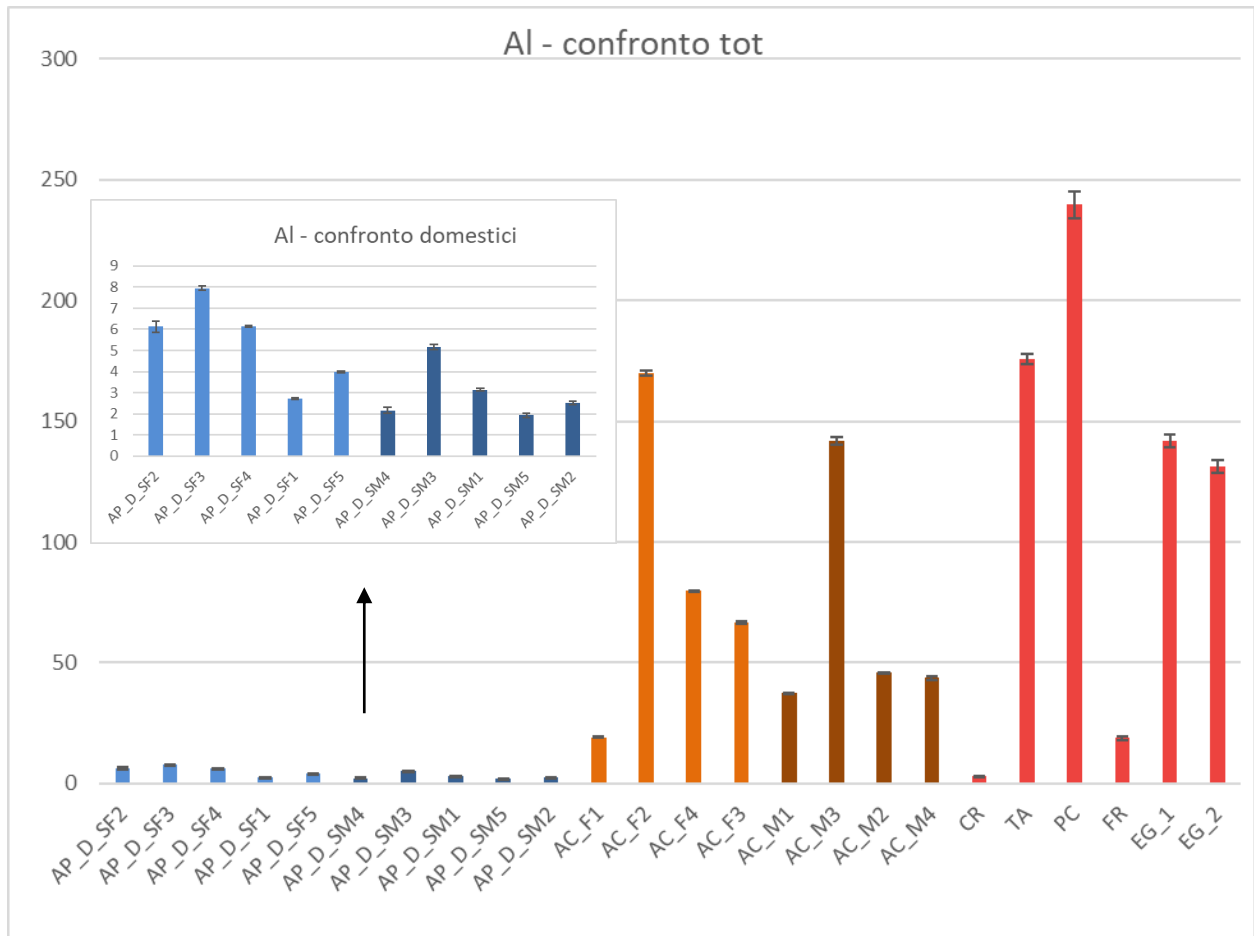


Figura 7. Grafico di comparazione tra germani domestici, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Al depositate nelle singole penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Il piccolo grafico interno ingrandisce il confronto tra i soli germani reali domestici. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

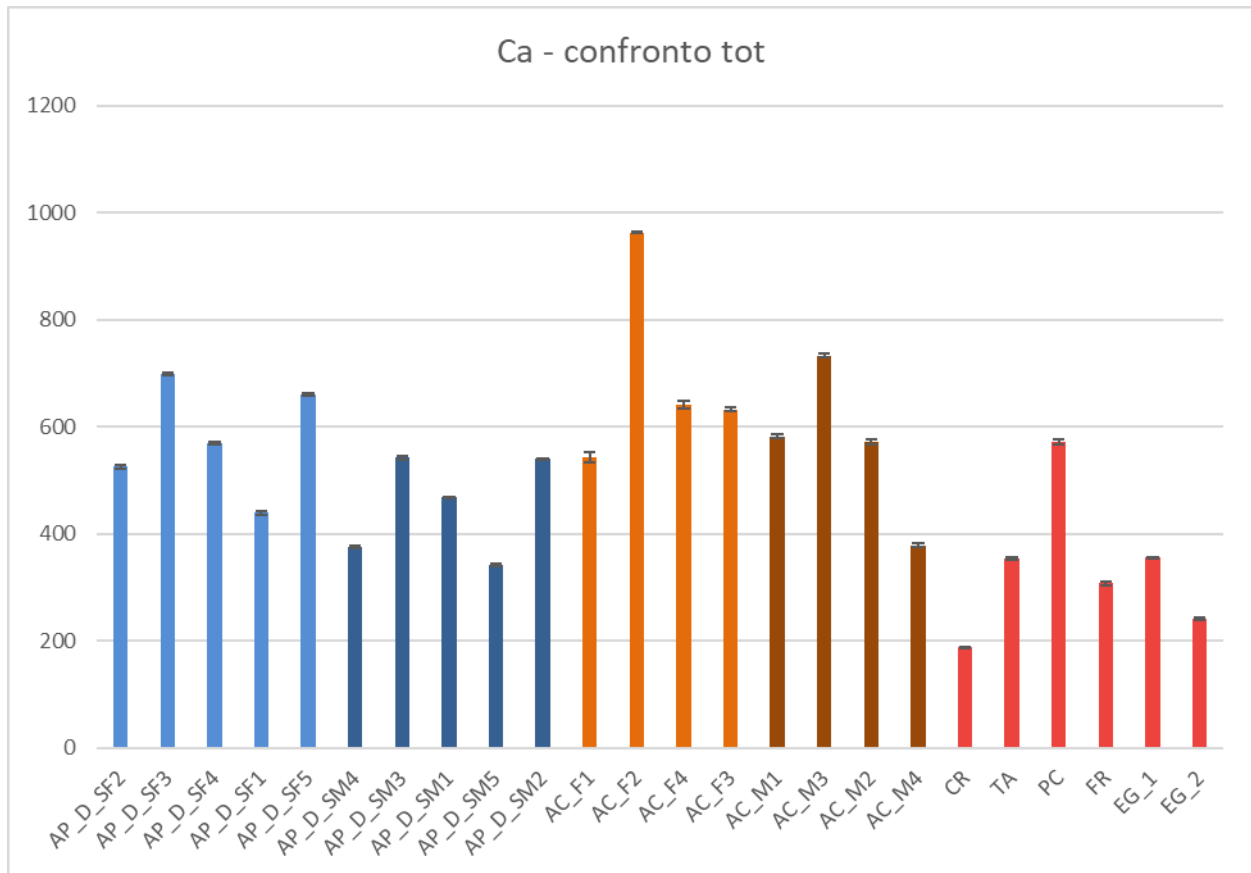
Nelle alzavole il *body burdens* di Al è di un ordine di grandezza più elevato rispetto a quanto osservato nei germani domestici (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=94.91$ ;  $p<0.001$ ), con un valore medio di  $75.6\pm 0.3$  mg/kg e di  $4.2\pm 0.1$  mg/kg rispettivamente. Considerando gli individui femmine e maschi del germano domestico, il *body burdens* medio è rispettivamente di  $5.4\pm 0.1$  mg/kg e  $3.0\pm 0.1$  mg/kg. Nelle penne delle femmine di alzavola il *body burdens* medio è  $83.9\pm 0.3$  mg/kg, mentre nelle penne dei maschi il valore medio è pari a  $67.3\pm 0.4$  mg/kg.

La differenza osservata tra femmine e maschi non è risultata significativa né per il germano reale domestico (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=4.93$ ;  $p=0.057$ ) né per le alzavole (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.06$ ;  $p=0.815$ ).

Mentre il *body burdens* in *C. ridibundus* ( $2.9\pm 0.1$  mg/kg) è dello stesso ordine di grandezza di quello osservato nei germani domestici, mentre quello osservato nelle penne di *F. coelebs* ( $18.9\pm 0.4$  mg/kg) è dello stesso ordine di grandezza delle alzavole.

Di un ordine di grandezza più elevato è il *body burdens* osservato nelle penne di *T. alba* ( $176\pm 1$  mg/kg), *P. carbo sinensis* ( $240\pm 3$  mg/kg) ed *E. garzetta* ( $137\pm 2$  mg/kg).

## 2- Calcio (Ca)



**Figura 8.** Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Ca depositate nelle singole penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

Il *body burdens* del Ca è simile per tutte e due le specie target (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=2.75$ ;  $p=0.117$ ).

Il *body burdens* medio nelle penne dei germani reali domestici è di  $516\pm 3$  mg/kg per penna, mentre per le alzavole  $631\pm 5$  mg/kg.

Nelle penne delle femmine delle specie in esame (rispettivamente  $579\pm 3$  mg/kg per germani reali e  $695\pm 5$  mg/kg per le alzavole) la concentrazione totale di Ca è superiore rispetto ai maschi ( $453\pm 2$  mg/kg per i germani e  $567\pm 4$  mg/kg per le alzavole).

Né per germano (ANOVA a una via:  $F_{1,8}= 4.03$ ,  $p= 0.080$ ) né per alzavola (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=1.19$ ;  $p=0.317$ ) queste differenze risultano significative. Sebbene i *body burdens* delle specie di confronto siano dello stesso ordine di grandezza osservato negli anatidi, si osservano alcune differenze inter-specifiche, *C. ridibundus* ( $187\pm 2$  mg/kg) è la specie con il *body burdens* più basso, mentre *E. garzetta* ( $299\pm 1$  mg/kg), *F. coelebs* ( $307\pm 4$  mg/kg) e *T. alba* ( $354\pm 3$  mg/kg) mostrano *body burdens* simili; *P. carbo sinensis* ( $572\pm 5$  mg/kg) presenta un valore poco superiore alla media dei germani reali domestici ma comunque inferiore alla media delle alzavole.

### 3- Cadmio (Cd)

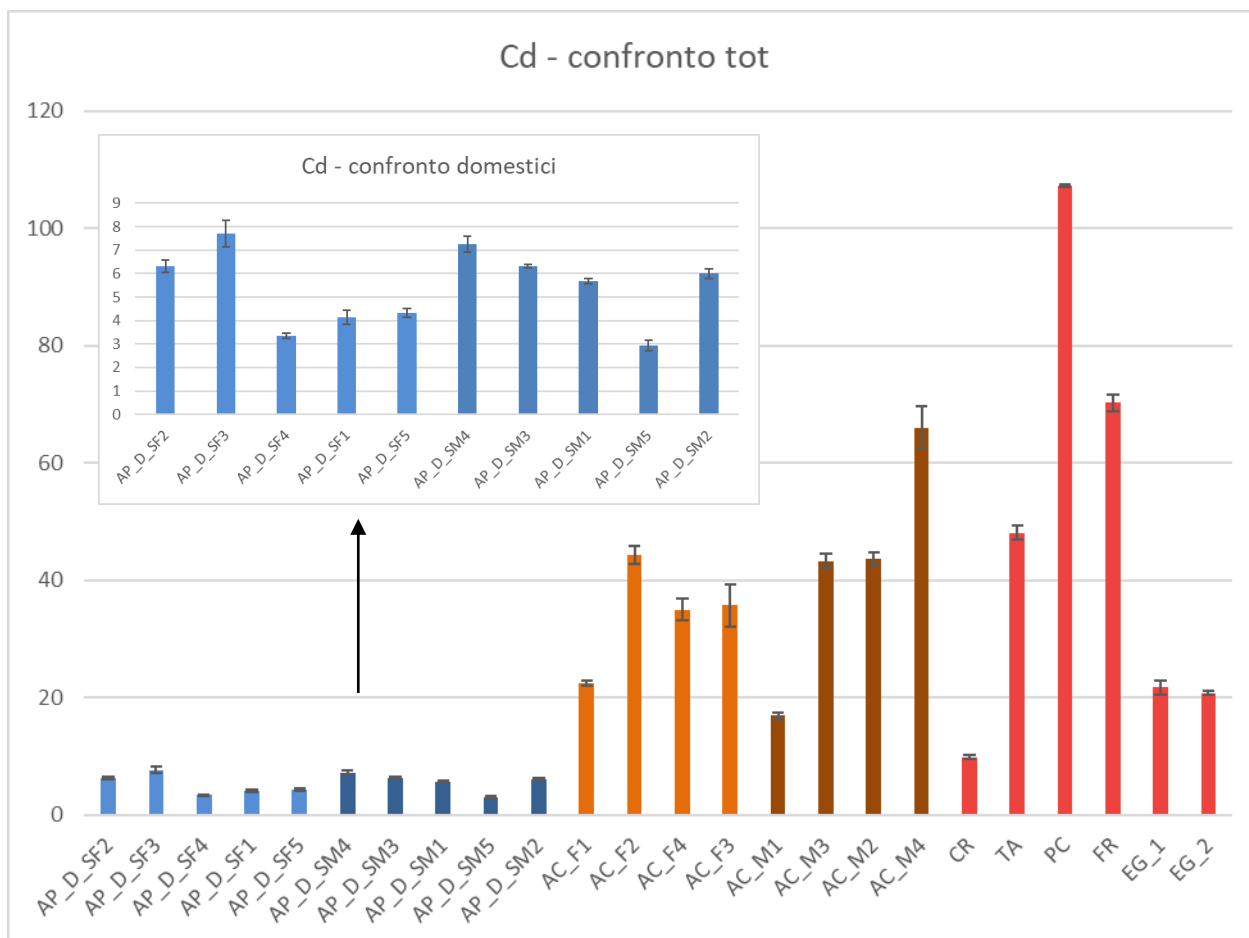


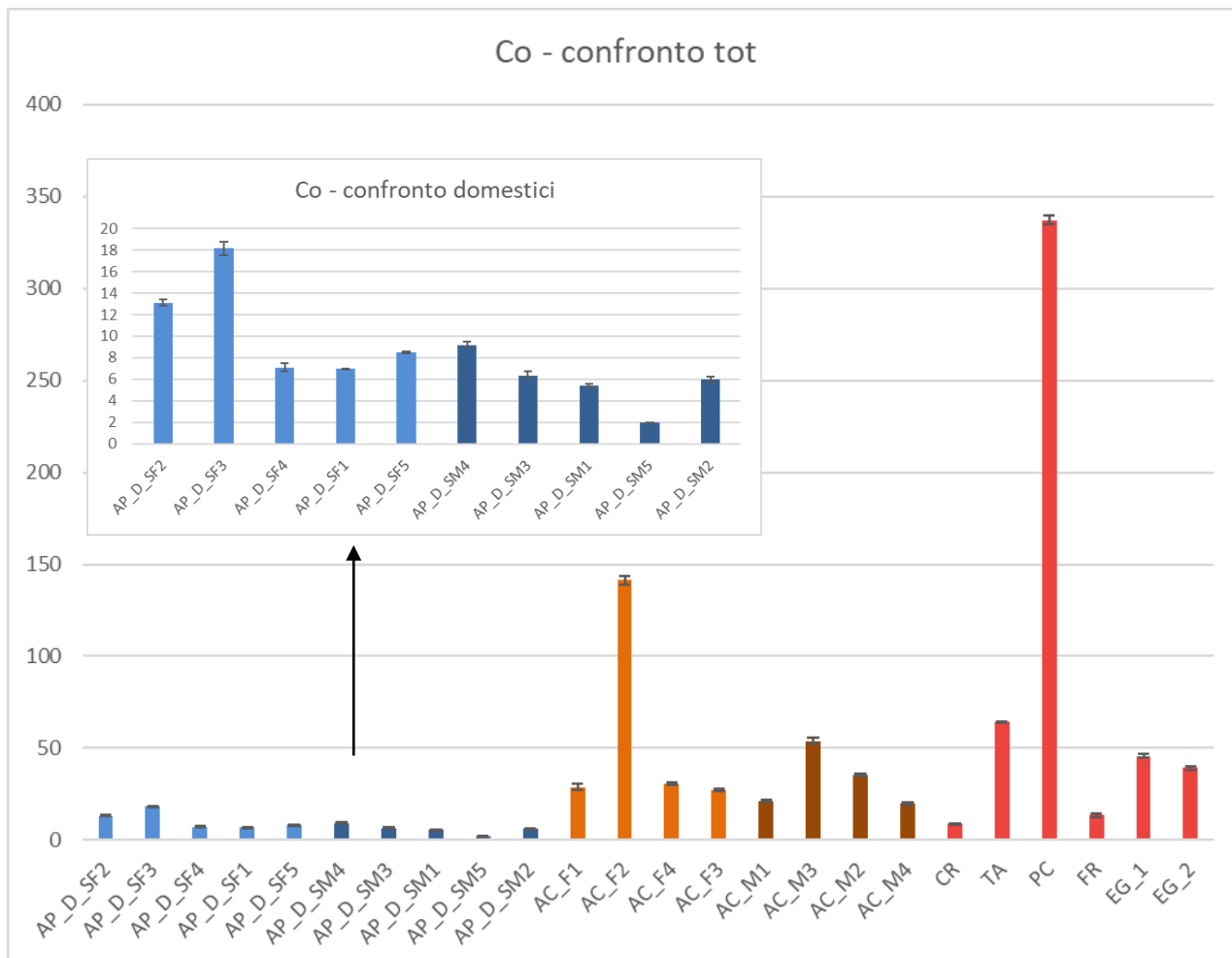
Figura 9. Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Cd depositate nelle singole penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Il piccolo grafico interno ingrandisce il confronto tra i soli germani reali domestici. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

Il *body burdens* del cadmio nelle alzavole è di un ordine di grandezza più elevato rispetto a quello dei germani reali domestici (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=3.14$ ;  $p<0.001$ ), con un valore medio di  $38.4\pm 1.7$  µg/kg contro i  $5.4\pm 0.2$  µg/kg dei germani, rispettivamente.

Il valore medio di Cd per i germani è pressoché identico tra i due sessi ( $5.2\pm 0.3$  µg/kg per le femmine e  $5.6\pm 0.2$  µg/kg per i maschi) e quindi significativamente non diverso (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=0.184$ ,  $p=0.679$ ), mentre per le alzavole è di

poco superiore per i maschi ( $42.5 \pm 1.6 \mu\text{g/kg}$ ) rispetto alle femmine ( $34.4 \pm 1.8 \mu\text{g/kg}$ ), anche se la differenza risulta non significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.54$ ;  $p=0.490$ ). Quindi non è evidente un *body burdens* differente tra i sessi. *C. ridibundus* ( $9.9 \pm 0.4 \mu\text{g/kg}$ ) è l'unica specie di confronto che più si avvicina alla media dei germani reali domestici, mentre *E. garzetta* ( $21.2 \pm 0.7 \mu\text{g/kg}$ ) e *T. alba* ( $48.1 \pm 1.1 \mu\text{g/kg}$ ) si avvicinano di più alla media delle alzavole. Il fringuello *F. coelebs* ( $70.3 \pm 1.4 \mu\text{g/kg}$ ) presenta una concentrazione quasi doppia rispetto alle alzavole e *P. carbo sinensis* è la specie in cui è stata trovata la concentrazione più elevata di questo elemento, con  $107.2 \pm 0.2 \mu\text{g/kg}$ .

#### 4- Cobalto (Co)



**Figura 10.** Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Co depositate nelle singole penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Il piccolo grafico interno ingrandisce il confronto tra i soli germani reali domestici. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

Le alzavole presentano un *body burdens* di Co ( $44.8 \pm 1.1 \mu\text{g/kg}$ ) di un ordine di grandezza superiore rispetto ai germani domestici ( $8.3 \pm 0.3 \mu\text{g/kg}$ ) (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=31.02$ ;  $p < 0.001$ ).

Per quanto concerne le differenze intraspecifiche, non sono state rilevate differenze significative tra maschi e femmine di germani reali (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=4.154$ ,  $p=0.076$ ), con *body burdens* medi di  $10.8 \pm 0.3 \mu\text{g/kg}$  nelle femmine di



germano reale domestico e di  $5.8 \pm 0.2$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  nei maschi.

Nelle alzavole, le femmine hanno un *body burdens* medio di  $57.0 \pm 1.3$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  mentre nei maschi il valore medio è  $32.5 \pm 0.9$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Va sottolineato che tale differenza è imputabile alla presenza di un outlayer, relativo all'individuo AC\_F2 con  $141.3 \pm 2.2$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , senza il quale il valore medio delle femmine si attesterebbe a  $28.9 \pm 0.8$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , valore medio simile a quello dei maschi.

L'analisi della varianza, in presenza dell'outlayer, non riscontra alcuna differenza nei *body burdens* tra maschi e femmine di alzavola (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.706$ ;  $p=0.433$ ).

Le specie di confronto *C. ridibundus* ( $9.1 \pm 0.2$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e *F. coelebs* ( $13.48 \pm 1.04$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) si avvicinano alla media dei germani reali domestici, mentre *E. garzetta* ( $42.44 \pm 1.03$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e *T. alba* ( $64.2 \pm 0.6$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) hanno dei valori simili a quelli delle alzavole. *P. carbo sinensis* ( $337 \pm 3$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) è la specie il cui *body burdens* di Co è di un ordine di grandezza più elevata rispetto alle alzavole e di due ordini di grandezza rispetto ai germani domestici.

## 5- Cromo

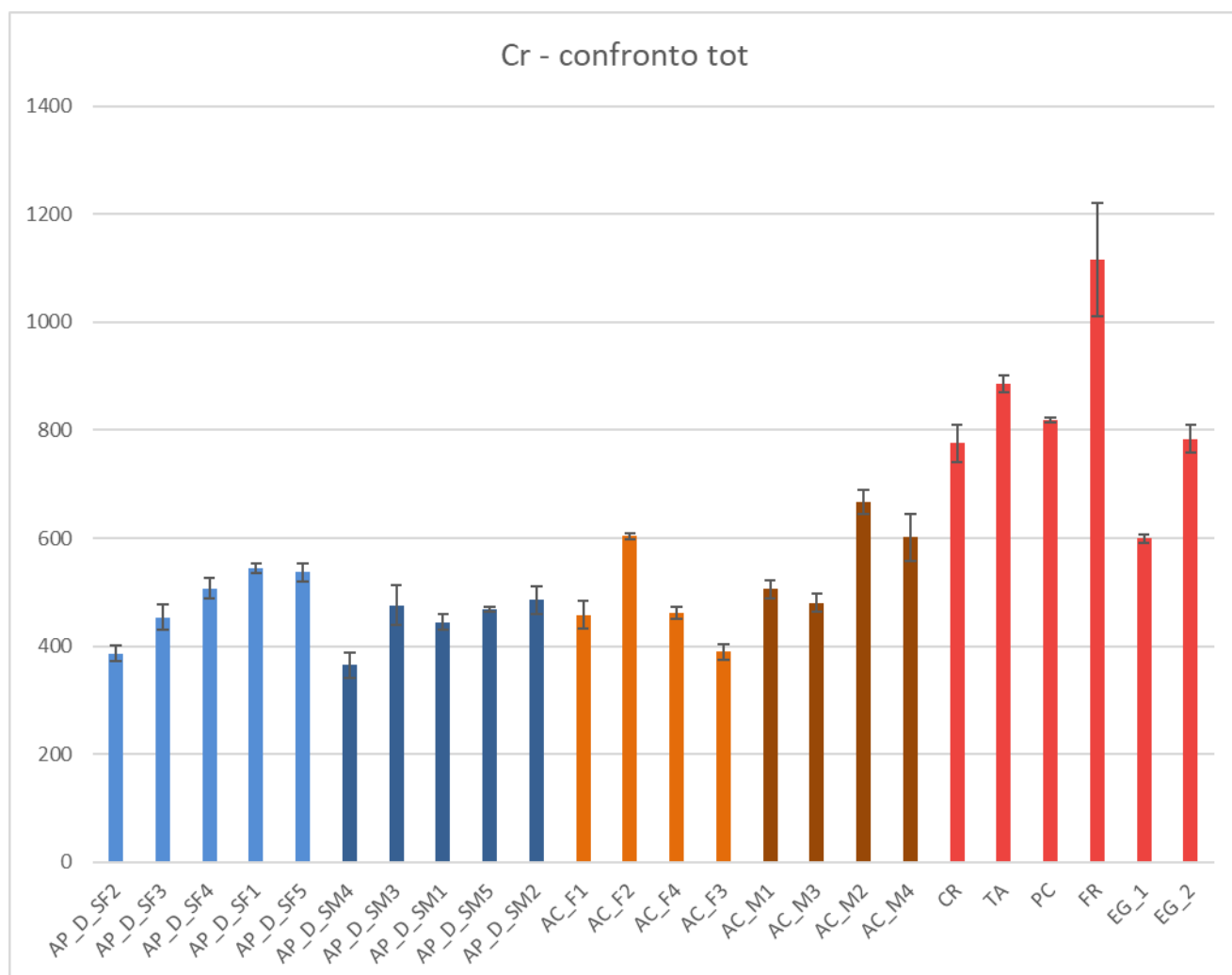


Figura 11. Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Cr depositate nelle singole penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

I *body burdens* del Cr nelle due specie in esame non sono significativamente diversi (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=2.29$ ,  $p=0.150$ ). Le alzavole hanno un valore medio totale di  $521\pm 20$  µg/kg; le alzavole femmine hanno un *body burdens* medio pari a  $478\pm 14$  µg/kg, mentre i maschi mostrano un *body burdens* più alto (valore medio  $563\pm 25$  µg/kg), ma la differenza non è significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=1.85$ ,  $p = 0.223$ ). Nei germani il *body burdens* medio è pari a  $467\pm 19$  µg/kg,

con differenze non significative tra femmine ( $485 \pm 16 \mu\text{g/kg}$ ) e maschi ( $448 \pm 21 \mu\text{g/kg}$ ), come mostra il test ANOVA a una via ( $F_{1,8}=1.05$ ,  $p=0.336$ ).

Rispetto agli anatidi, *F. coelebs* ha un *body burdens* di un ordine di grandezza superiore ( $1116 \pm 105 \mu\text{g/kg}$ ); anche nelle altre specie aviarie di confronto si osserva una elevata concentrazione totale di Cr: *T. alba* ( $886 \pm 15 \mu\text{g/kg}$ ) e *P. carbo sinensis* ( $819 \pm 5 \mu\text{g/kg}$ ), infine *C. ridibundus* ( $776 \pm 34 \mu\text{g/kg}$ ) ed *E. garzetta* ( $691 \pm 17 \mu\text{g/kg}$ ).

## 6- Mercurio (Hg)

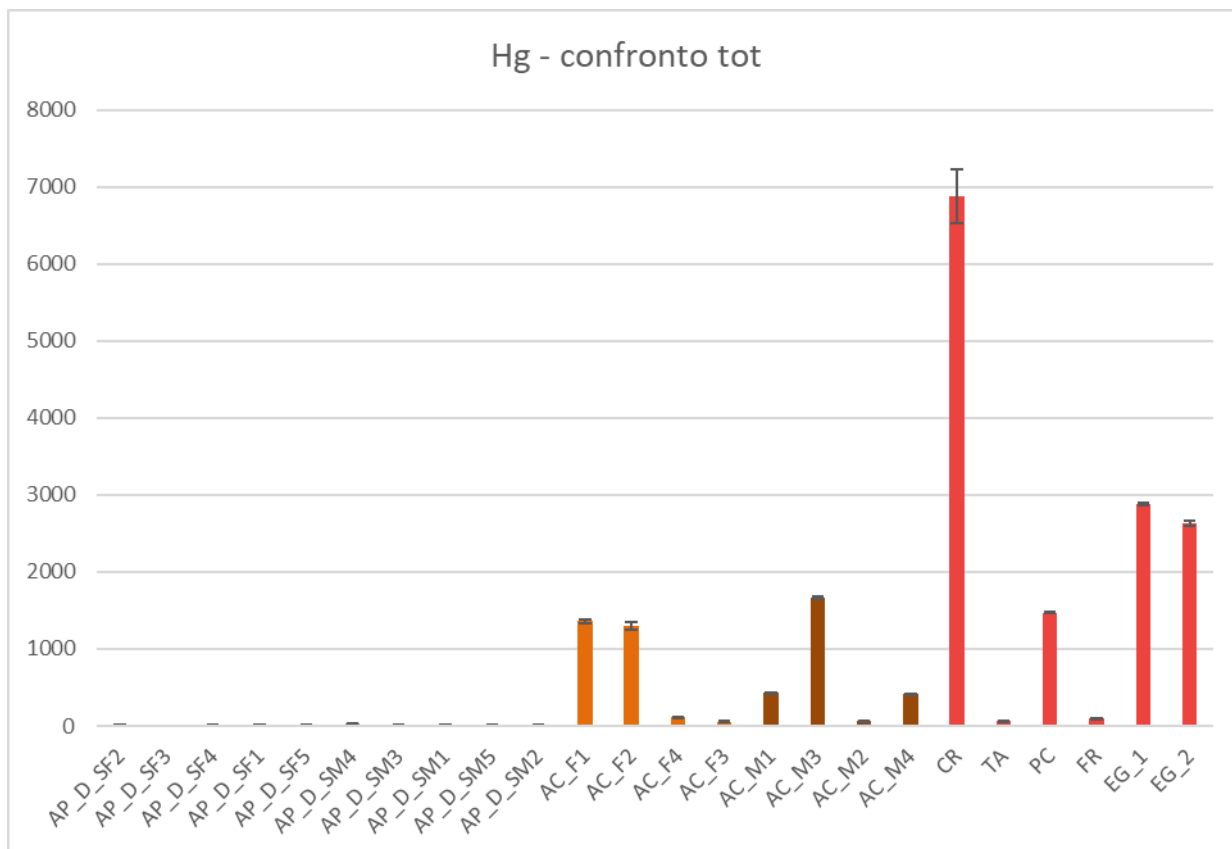


Figura 12. Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Hg depositate nelle singole penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Per la barra di errore è riportato l'errore standard

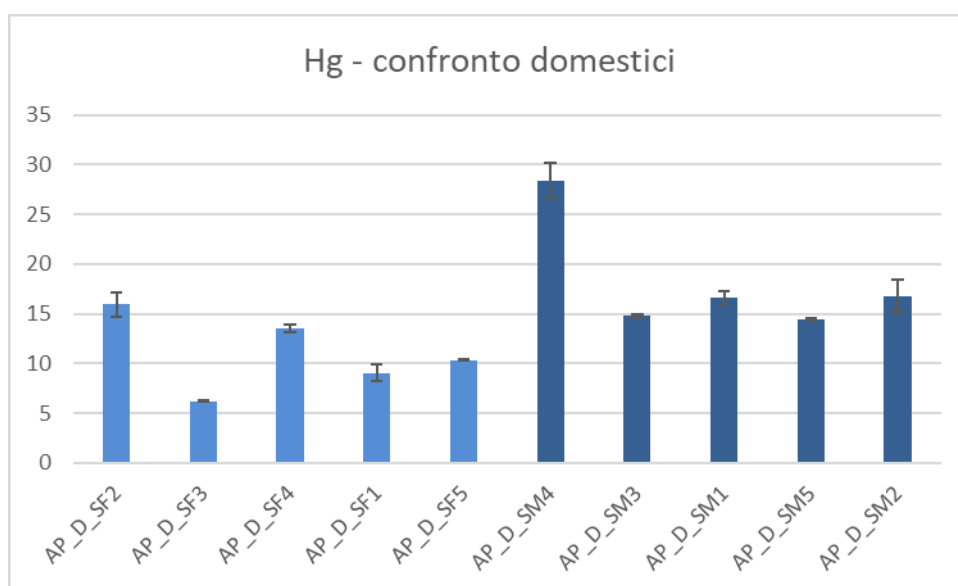
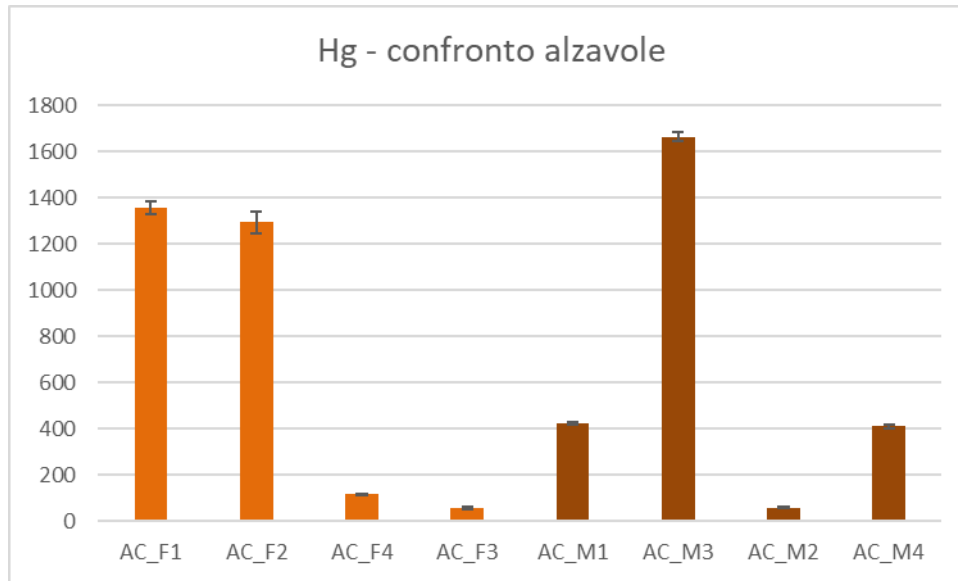


Figura 13. Grafico di comparazione tra germani reali domestici per le concentrazioni di Hg depositate nelle singole penne. Le femmine hanno le barre bluette e i maschi blu. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.



**Figura 14. Grafico di comparazione tra alzavole per le concentrazioni di Hg depositate nelle singole penne. Le femmine hanno le barre marrone chiaro e i maschi marrone scuro. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.**

Le concentrazioni di mercurio rilevate presentano differenza significativa tra germano e alzavola (Welch ANOVA:  $F_{\text{Welch};1,7} = 8.04$ ;  $p=0.025$ ); i germani hanno una media di  $14.6 \pm 0.7 \mu\text{g/kg}$  di mercurio nelle penne contro i  $674 \pm 14 \mu\text{g/kg}$  delle alzavole, con differenze anche di due ordini di grandezza tra gli individui. Per quanto riguarda le differenze tra i sessi, è risultata esserci una differenza al limite della significatività tra maschi e femmine del germano domestico (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=5.43$ ;  $p=0.048$ ): i maschi hanno un *body burdens* medio di  $18.2 \pm 0.9 \mu\text{g/kg}$  e le femmine di  $11.0 \pm 0.5 \mu\text{g/kg}$ . La differenza tra i sessi delle alzavole, al contrario, è risultata essere non significativa tra maschi e femmine, nonostante la presenza di grosse differenze interindividuali in entrambi i sessi (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.02$ ;  $p=0.898$ ): la concentrazione media presente nelle femmine è di  $707 \pm 20 \mu\text{g/kg}$  con un valore minimo rappresentato da AC\_F3 ( $56.5 \pm 5.2 \mu\text{g/kg}$ ) e uno massimo rappresentato da AC\_F1 ( $1357 \pm 26 \mu\text{g/kg}$ ), mentre la media nei maschi è di  $641 \pm 9 \mu\text{g/kg}$ , con valori che spaziano dal minimo di  $60.4 \pm 2.1 \mu\text{g/kg}$  presenti in AC\_M2 al massimo di  $1664 \pm 18 \mu\text{g/kg}$  di AC\_M3.

Tre specie di confronto hanno una concentrazione di mercurio presente nelle proprie penne notevolmente più elevata rispetto sia alla media delle alzavole sia alla media dei germani domestici: *C. ridibundus* ( $6877 \pm 345 \mu\text{g/kg}$ ), *E. garzetta* ( $2756 \pm 24 \mu\text{g/kg}$ ) e *P. carbo sinensis* ( $1471 \pm 10 \mu\text{g/kg}$ ); al contrario, *T. alba* ( $64.8 \pm 2.4 \mu\text{g/kg}$ ) e *F. coelebs* ( $91.5 \pm 8.5 \mu\text{g/kg}$ ) hanno un *body burdens* superiore alla media dei germani e di un ordine di grandezza inferiore rispetto alla media delle alzavole.

## 7- Piombo (Pb)

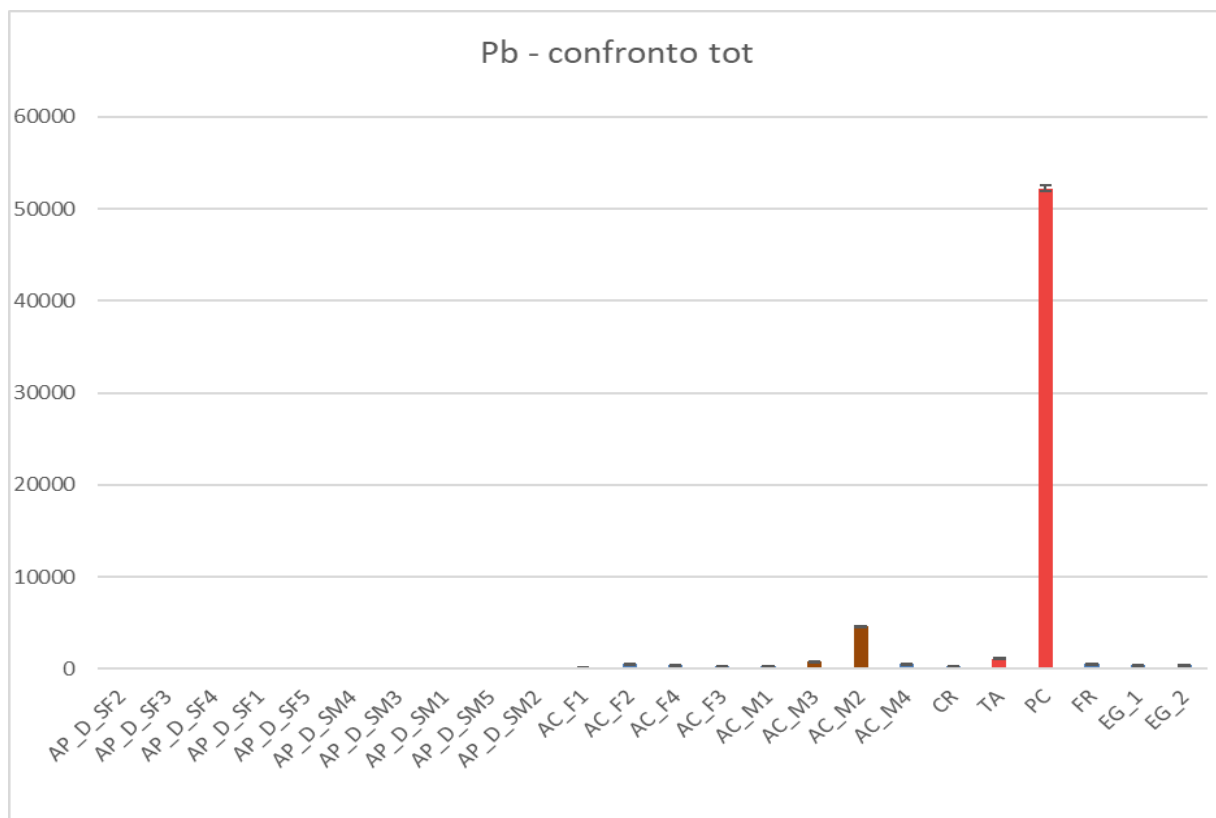


Figura 15. Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Pb depositate nelle singole penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

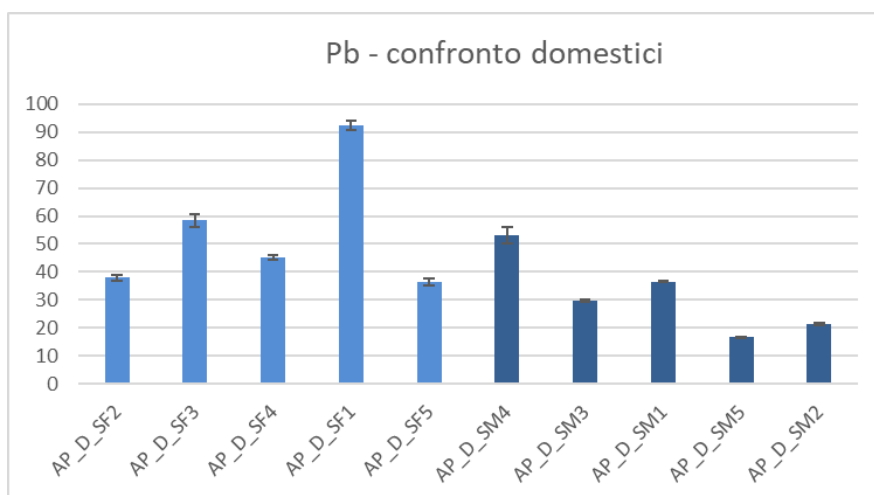


Figura 16. Grafico di comparazione tra germani reali domestici per le concentrazioni di Pb stoccate nelle singole penne (femmine bluette e maschi blu). Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

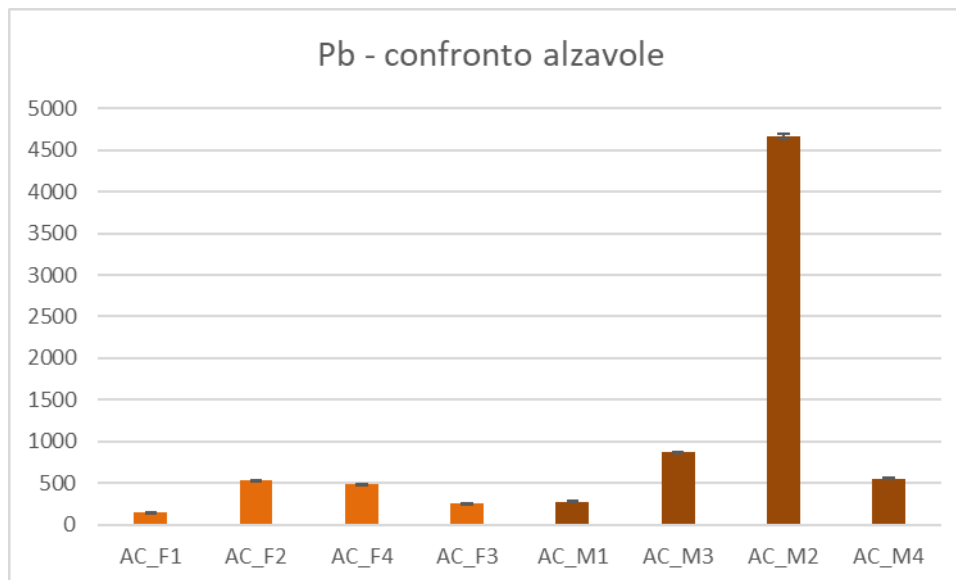


Figura 17. Grafico di comparazione tra alzavole per le concentrazioni di Pb stoccate nelle singole penne (femmine marrone chiaro, maschi marrone scuro). Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

Nelle alzavole il *body burdens* di Pb è superiore rispetto ai germani domestici (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=50.85$ ;  $p<0.001$ ), con un valore medio di  $974\pm 8$  µg/kg e di  $42.8\pm 1.1$  µg/kg, rispettivamente.

Considerando i *body burdens* dei maschi e delle femmine, non si sono riscontrate differenze significative per quanto riguarda i germani reali domestici (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=3.451$ ,  $p=0.100$ ); i maschi dei germani domestici presentano una concentrazione media di  $31.5\pm 0.8$  µg/kg, e le femmine mediamente  $54.1\pm 1.4$  µg/kg. Al contrario, nell'alzavola si osserva una differenza di un ordine di grandezza tra il *body burdens* dei maschi e quello delle femmine (rispettivamente  $1592\pm 11$  µg/kg e  $357\pm 4$  µg/kg). Questa differenza è determinata dal valore outlier  $4664\pm 28$  µg/kg relativo al maschio AC\_M2. Eliminando tale valore, le differenze riscontrate risultano non significative (ANOVA a una via:  $F_{1,5}=1.42$ ;  $p=0.278$ ).

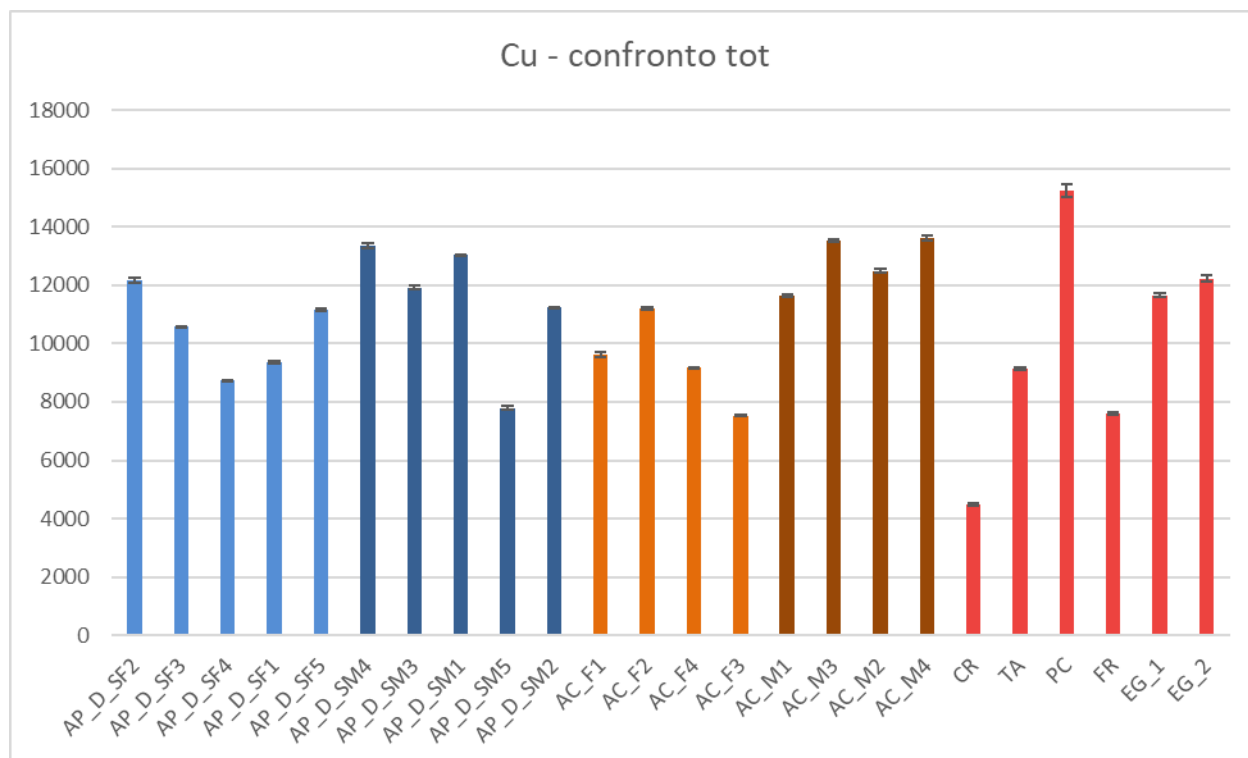
Tre delle specie di confronto hanno un *body burdens* più basso della media delle alzavole: *C. ridibundus* ( $257\pm 3$  µg/kg), *E. garzetta* ( $466\pm 4$  µg/kg) e *F. coelebs* ( $512\pm 7$  µg/kg), mentre il *body burdens* di *T. alba* è simile a quanto osservato nelle alzavole ( $1132\pm 27$  µg/kg).



Invece, la concentrazione totale di piombo in *P. carbo sinensis*, ( $52223 \pm 282$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) è di tre ordini di grandezza superiore rispetto ai germani reali e di due rispetto alle alzavole.

Tutte le specie di confronto superano la concentrazione media dei germani domestici.

## 8- Rame (Cu)



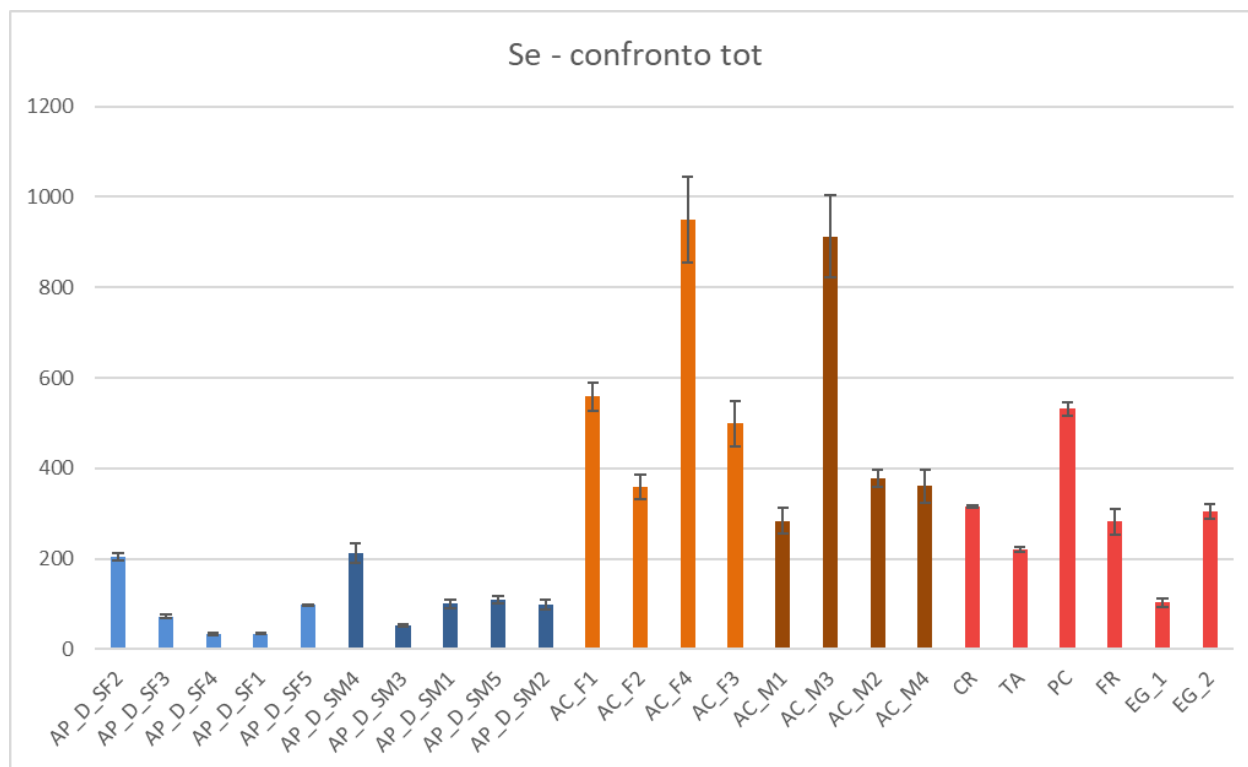
**Figura 18.** Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Cu depositate nelle singole penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

I *body burdens* di rame sono risultati essere non significativamente diversi tra i due anatidi analizzati (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=0.032$ ,  $p = 0.861$ ). In media, la concentrazione totale di Cu nelle due specie di anatidi ha valori confrontabili ( $11098\pm 49$  µg/kg e  $10930\pm 46$  µg/kg, rispettivamente).

Le differenze intraspecifiche sono risultate essere significative per le alzavole (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=14.68$ ,  $p = 0.009$ ): nei maschi si osserva un valore più elevato ( $12810\pm 59$  µg/kg) rispetto a quello delle femmine ( $9386\pm 40$  µg/kg). Nei germani reali, invece, la differenza tra i sessi risulta non essere significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=0.83$ ,  $p = 0.389$ ; valore medio di Cu, di  $10398\pm 40$  µg/kg per le femmine e di  $11462\pm 53$  µg/kg per i maschi).

Tra le specie di confronto, *P. carbo sinensis* ( $15218 \pm 220$   $\mu\text{g/kg}$ ) ha un *body burdens* superiore rispetto a quanto osservato negli anatidi e nelle altre specie di confronto. In *E. garzetta* il *body burdens* è simile a quanto osservato negli anatidi ( $11938 \pm 92$   $\mu\text{g/kg}$ ), mentre in *T. alba* ( $9136 \pm 29$   $\mu\text{g/kg}$ ), il *body burdens* è poco inferiore alla media dei germani reali domestici. In *C. ridibundus* ( $4491 \pm 50$   $\mu\text{g/kg}$ ) e *F. coelebs* ( $7616 \pm 37$   $\mu\text{g/kg}$ ) i *body burdens* mostrano valori inferiori rispetto ad entrambe.

## 9- Selenio (Se)



**Figura 19.** Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Se stoccate nelle penne. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

Il *body burdens* medio di Se è più elevato nelle alzavole rispetto ai germani reali, con un valore medio di  $538 \pm 47 \mu\text{g/kg}$  contro i  $102 \pm 7 \mu\text{g/kg}$  dei germani. La differenza risulta statisticamente significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=42.91$ ;  $p < 0.001$ ).

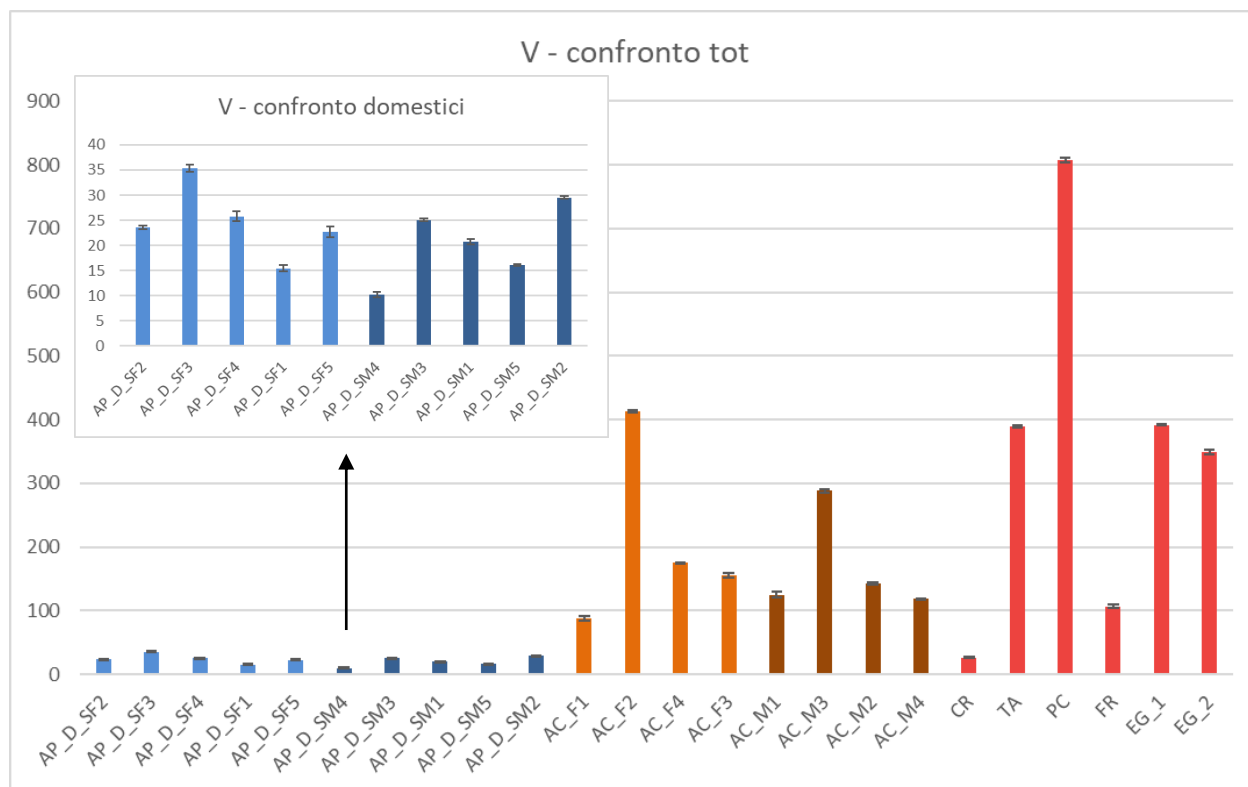
La concentrazione totale di Se per individui maschi e femmine non evidenzia differenze significative nei germani e nemmeno nelle alzavole. Le femmine delle alzavole presentano una concentrazione media di Se nelle penne di  $592 \pm 50 \mu\text{g/kg}$ , di poco superiore a quella osservata nei maschi ( $484 \pm 44 \mu\text{g/kg}$ ; ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.31$ ;  $p=0.595$ ).

Analogamente, i maschi dei germani reali mostrano *body burdens* simile a quello

delle femmine, con un valore medio di  $115\pm 10$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  e di  $89\pm 4$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  rispettivamente (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=0.411$ ,  $p=0.539$ ).

La specie di confronto *P. carbo sinensis* ha una concentrazione di Se ( $531\pm 15$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) simile alla media delle alzavole. *E. garzetta* ( $204\pm 13$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), *T. alba* ( $222\pm 5$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), *F. coelebs* ( $282\pm 28$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e *C. ridibundus* ( $314\pm 3$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) mostrano un *body burdens* di Se più basso rispetto a quanto osservato nelle alzavole, ma decisamente superiore ai valori osservati nei germani domestici.

## 10- Vanadio (V)



**Figura 20. Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di V stoccate nelle penne singole. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Il piccolo grafico interno ingrandisce il confronto tra i soli germani reali domestici. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.**

Il *body burdens* di V mostra concentrazioni significativamente superiori nelle alzavole rispetto a quanto osservato nei germani reali (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=103.53$ ;  $p<0.001$ ).

Infatti, il valore medio di V per le alzavole è di  $188\pm 3$  µg/kg, mentre i germani presentano una media di  $22.5\pm 0.5$  µg/kg, con una media statisticamente non diversa tra femmine ( $24.6\pm 0.7$  µg/kg) e maschi ( $20.3\pm 0.4$  µg/kg) (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=0.840$ ,  $p=0.386$ ).

Come osservato per i germani, non si osservano significative differenze nel *body burdens* tra femmine e maschi delle alzavole (con una concentrazione media di

208±3 µg/kg e di 169±3 µg/kg, rispettivamente; ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.23$ ;  $p=0.647$ ).

Il *body burdens* di *P. carbo sinensis* (807±4 µg/kg) è più elevato rispetto sia alla media delle alzavole sia dei germani domestici. Mentre la concentrazione totale in *C. ridibundus* (26.67±1.02 µg/kg) si avvicina alla media dei germani domestici, quella in *F. coelebs* (107±3 µg/kg) si avvicina maggiormente alla media delle alzavole. Invece, il *body burdens* in *Tyto alba* (389±2 µg/kg) ed *E. garzetta* (370±2 µg/kg) è circa il doppio della media delle alzavole e un ordine di grandezza superiore al valore medio dei germani domestici.

## 11- Zinco (Zn)

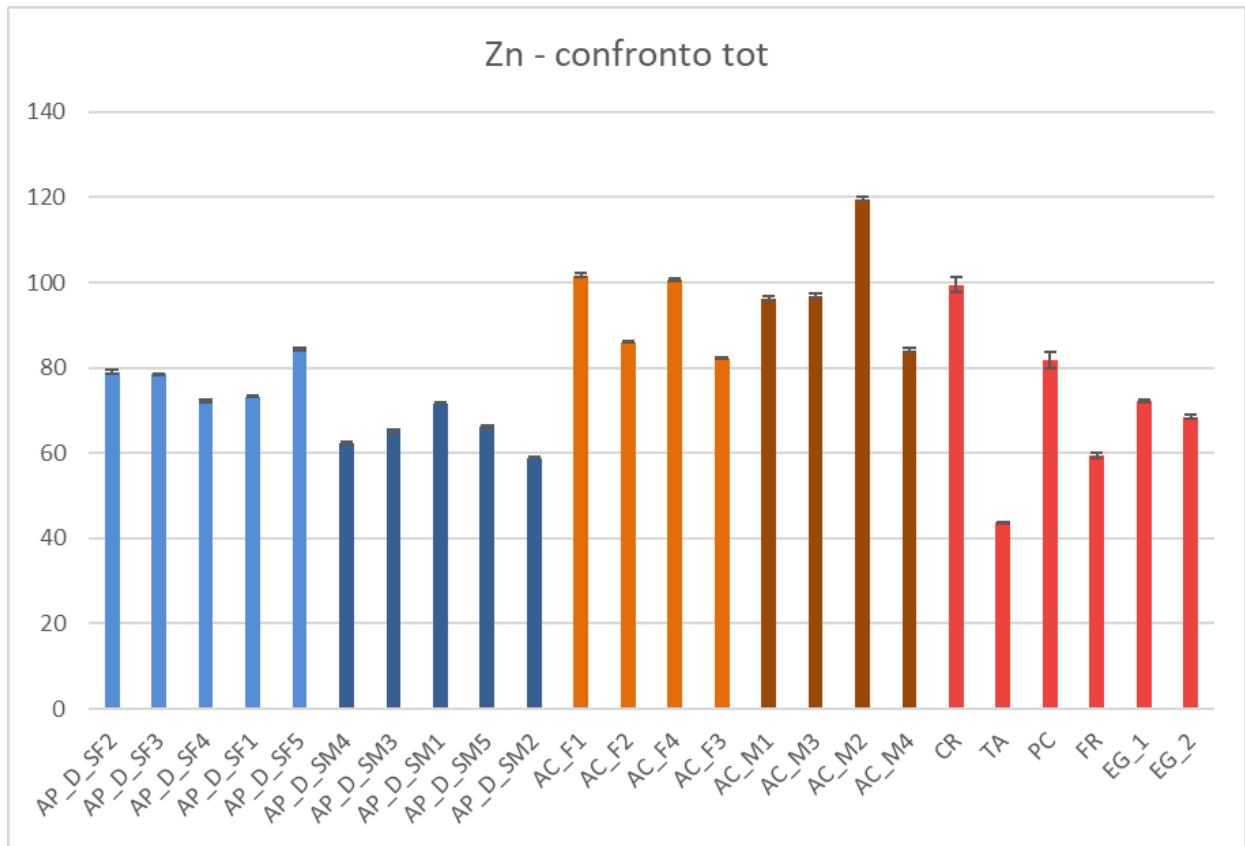


Figura 21. Grafico di comparazione tra germani, alzavole e specie di confronto per le concentrazioni di Zn stoccate nelle penne singole. I germani reali domestici hanno le barre color blu (femmine bluette e maschi blu), le alzavole color marrone (femmine marrone chiaro e maschi marrone) e le specie di riferimento color rosa scuro, senza distinzioni di sfumatura in quanto il sesso è sconosciuto. Per la barra di errore è riportato l'errore standard.

Le concentrazioni di Zn risultano superiori in maniera significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=26.86$ ,  $p<0.001$ ) nelle alzavole ( $95.9\pm 0.4$  mg/kg) rispetto ai germani reali domestici ( $71.1\pm 0.3$  mg/kg). Nelle alzavole i valori medi degli individui maschi ( $99.2\pm 0.6$  mg/kg) e femmine ( $92.6\pm 0.3$  mg/kg) sono risultati essere non significativamente diversi (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.54$ ,  $p = 0.489$ ). Nei germani reali domestici, si ha una media significativamente superiore (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=17.59$ ,  $p=0.003$ ) per le femmine ( $77.5\pm 0.2$  mg/kg), rispetto a quanto osservato nei maschi ( $64.8\pm 0.3$  mg/kg).

Nelle specie di confronto, il *body burdens* medio di *P. carbo sinensis* è intermedio



tra i due anatidi ( $81.77 \pm 2.03$  mg/kg); mentre la concentrazione totale in *C. ridibundus* è simile al valor medio osservato nelle alzavole ( $99.4 \pm 1.7$  mg/kg) *E. garzetta* ha un *body burdens* medio simile ai germani ( $70.3 \pm 0.4$  mg/kg), Le altre due specie di confronto, *F. coelebs* ( $59.5 \pm 0.6$  mg/kg) e *T. alba* ( $43.7 \pm 0.1$  mg/kg), mostrano concentrazioni inferiori.

Complessivamente, i *body burdens* medi rilevati per le specie (totali e suddivisi in base al sesso) del presente lavoro, sono riportati nella tabella 3 in appendice.

### 3.3 TASSI DI DEPOSIZIONE

Il bioaccumulo è stato calcolato come tasso di deposizione giornaliero, cioè come rapporto tra i *body burdens* degli elementi in traccia, misurati tramite l'analisi delle penne, e il numero di giorni impiegati in media dalla specie a sviluppare le penne stesse, ricavati dalla ptilocronologia. L'unità di misura è  $\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ , tranne per gli elementi maggiori (Al, Ca e Zn), in cui l'unità di misura è  $\text{mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ .

Studiare la ptilocronologia nelle specie aviare di confronto esulava dagli scopi di questo lavoro di tesi, pertanto il bioaccumulo è stato valutato solo negli anatidi.

#### **1- Alluminio (Al)**

Nelle due specie di anatidi si osservano differenze significative per il bioaccumulo di Al (ANOVA a una via:  $F_{1,16} = 105.08$ ,  $p < 0.001$ ); infatti le alzavole hanno un accumulo medio di un ordine di grandezza più elevato rispetto ai germani. Per quanto riguarda le differenze tra i sessi, il bioaccumulo (tasso di deposizione giornaliero) delle femmine di germano è  $0.2 \text{ mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ , contro i  $0.1 \text{ mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  dei maschi; mentre nelle alzavole quello delle femmine è di  $3.3 \text{ mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ , il bioaccumulo nelle alzavole maschio è  $2.6 \text{ mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ . Ciononostante, non è stata rilevata significatività né nei germani (ANOVA a una via:  $F_{1,8} = 4.93$ ,  $p = 0.057$ ), né nelle alzavole (ANOVA a una via:  $F_{1,6} = 0.17$ ,  $p = 0.693$ ).

#### **2- Calcio (Ca)**

Il tasso di deposizione giornaliero di Ca nelle alzavole ( $24.8 \text{ mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) è circa il 30% più elevato di quanto osservato nei germani reali domestici ( $17.6 \text{ mg kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ). Questa differenza non è però risultata significativa. (ANOVA a una via:  $F_{1,16} = 2.63$ ,  $p = 0.124$ ), come non è significativa la differenza tra maschi e femmine delle due specie (ANOVA a una via:  $F_{1,6} = 1.19$ ,  $p = 0.317$  per le alzavole, ANOVA a una via:  $F_{1,8} = 4.03$ ,  $p = 0.080$  per i germani).

### **3- Cadmio (Cd)**

Il bioaccumulo di Cd è mediamente di un ordine di grandezza più elevato nelle alzavole ( $1.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) rispetto a quanto osservato nei germani ( $0.2 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ). La differenza osservata è fortemente significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=136.70$ ,  $p<0.001$ ). Considerando le femmine e i maschi di alzavola, la differenza non risulta significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.54$ ,  $p=0.490$ ), sebbene nelle prime si osservino valori inferiori rispetto ai secondi ( $1.4 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  e  $1.7 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ , per rispettivamente). Anche per i germani reali domestici la differenza tra i due sessi non è risultata significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=0.18$ ,  $p=0.679$ ).

### **4- Cobalto (Co)**

Come osservato per il Cd, il bioaccumulo di Co nelle alzavole è risultato significativo, rispetto a quanto osservato nei germani reali domestici (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=36.91$ ,  $p<0.001$ ). Infatti, nelle alzavole il tasso di deposizione giornaliera di Co è di un ordine di grandezza superiore ( $1.8 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ), rispetto a quanto osservato nei germani ( $0.3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ).

In entrambe le specie di anatidi, le differenze tra i sessi non sono risultate significative (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=4.15$ ,  $p=0.076$  per i germani, (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.71$ ,  $p=0.433$  per le alzavole), nonostante sensibili differenze tra i tassi di deposizione giornalieri. Ciò è particolarmente evidente nelle alzavole femmine ( $2.2 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ), nelle quali il tasso di deposizione giornaliero è circa il 35% più elevato rispetto a quello osservato nei maschi ( $1.3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ).

### **5- Cromo (Cr)**

Anche per il Cr il bioaccumulo è significativamente diverso tra alzavole e germani (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=11.75$ ,  $p=0.003$ ). Infatti, le alzavole ( $20.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) mostrano un tasso di deposito superiore del 25 % circa rispetto ai germani reali domestici ( $15.9 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ). Per quanto riguarda le differenze tra i sessi, le

differenze non sono significative sia nelle alzavole (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=1.85$ ,  $p=0.223$ ) sia nei germani reali domestici (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=1.05$ ,  $p=0.336$ ).

## **6- Mercurio (Hg)**

Il mercurio è l'elemento per cui sono state osservate le maggiori differenze interspecifiche. Infatti, le alzavole mostrano un bioaccumulo di due ordini di grandezza superiore ( $26.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ), rispetto a quanto osservato nei germani reali domestici ( $0.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) (Welch ANOVA:  $F_{\text{Welch};1,7}= 8.08$ ;  $p=0.025$ ).

Mentre per i germani reali domestici la differenza tra i sessi è al limite della significatività (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=5.40$ ,  $p=0.049$ ), nelle alzavole non si osservano differenze significative (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.02$ ,  $p=0.899$ ) nei valori medi di bioaccumulo tra femmine e maschi, nonostante i valori individuali di bioaccumulo siano molto diversi. Ad esempio, nelle femmine di alzavola si osserva un bioaccumulo minimo di  $2.2 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  dell'individuo AC\_F3 ed un bioaccumulo massimo di  $53.4 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  di AC\_F1, con un tasso di deposizione giornaliero medio di  $27.8 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ .

## **7- Piombo (Pb)**

Il bioaccumulo è significativamente diverso (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=56.64$ ,  $p<0.001$ ) nelle due specie di anatidi. Le alzavole mostrano un tasso di deposizione giornaliero ( $38.3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) di un ordine di grandezza più elevato rispetto ai germani reali domestici ( $1.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ).

Nonostante tra maschi e femmine di alzavola non siano riscontrabili differenze significative nel tasso di deposizione (ANOVA a una via:  $F_{1,6}= 2.38$ ,  $p=0.174$ ), è stata rilevata una certa variabilità interindividuale, con un valore minimo di bioaccumulo di  $6.0 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  (individuo AC\_F1 nelle femmine) e  $11.0 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  (individuo AC\_M1 nei maschi) e un valore massimo di  $21.0 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  (individuo AC\_F2 nelle femmine) e di  $34.3 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  (individuo AC\_M2 nei maschi).

Anche nei germani reali domestici non si osservano differenze significative tra i

due sessi (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=3.45$ ,  $p=0.100$ ) e si osserva una minore variabilità interindividuale.

### **8- Rame (Cu)**

Non si osservano differenze significative nel bioaccumulo di Cu nei germani reali domestici ( $372 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) e nelle alzavole ( $437 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=2.99$ ,  $p=0.103$ ). Nonostante la differenza di bioaccumulo nei due sessi di germano reale non sia significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=0.83$ ,  $p=0.389$ ), i maschi mostrano un valore più elevato di tasso di deposizione giornaliero rispetto a quanto osservato nelle femmine ( $390 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  e  $354 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ , rispettivamente). Al contrario dei germani, la differenza nel bioaccumulo tra maschi e femmine risulta significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=14.68$ ,  $p=0.009$ ); i maschi mostrano un tasso di deposizione giornaliero ( $504 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) circa il 30% più elevato rispetto al valore medio osservato nelle femmine.

### **9- Selenio (Se)**

Il bioaccumulo medio di Se nelle penne di alzavola è maggiore ( $21.2 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) rispetto a quanto osservato nei germani ( $3.5 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) e questa differenza è risultata significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=50.37$ ,  $p<0.001$ ). Come osservato per altri elementi, non ci sono differenze significative tra i sessi in nessuna delle due specie (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=0.41$ ,  $p=0.539$  per i germani, ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.31$ ,  $p=0.595$  per le alzavole).

### **10- Vanadio (V)**

Il bioaccumulo del V presenta differenze interspecifiche significative (ANOVA a una via:  $F_{1,16}=118.67$ ,  $p<0.001$ ). L'alzavola mostra un tasso medio di deposizione giornaliero di un ordine di grandezza superiore ( $7.4 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ) rispetto a quanto osservato nei germani reali ( $0.8 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ ). Considerando gli individui maschi e femmine, le differenze nei germani reali (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=0.84$ ,  $p=0.386$ ) e

nelle alzavole (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.23$ ,  $p=0.647$ ) non sono risultate significative.

### **11- Zinco (Zn)**

Nelle alzavole il bioaccumulo medio, pari a  $3.8 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ , è circa il 40% più elevato rispetto a quanto osservato nei germani reali domestici ( $2.4 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) (ANOVA a una via:  $F_{1,16}: 62.57$ ,  $p<0.001$ ). Nonostante il bioaccumulo nelle femmine di germano ( $2.6 \text{ mg kg}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) sia il 17% più elevato di quanto osservato nei maschi, questa differenza tra i due sessi per questa specie in esame è risultata significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,8}=17.59$ ,  $p=0.003$ ). Al contrario, la differenza osservata tra i tassi medi di deposizione giornaliera delle femmine e dei maschi di alzavola non è risultata significativa (ANOVA a una via:  $F_{1,6}=0.54$ ,  $p=0.489$ ).

Complessivamente, i tassi medi di bioaccumulo giornaliero rilevati per le specie target del presente lavoro (suddivisi in totali e per sesso), sono riportati nella tabella 4 in appendice.

## 4. DISCUSSIONE

I germani reali domestici e le alzavole analizzate nel presente studio hanno mostrato delle differenze, anche notevoli, sia nei *body burdens* sia nei tassi di accumulo per molti degli analiti presi in considerazione: gli unici due elementi che non hanno evidenziato differenze interspecifiche nel bioaccumulo sono Ca e Cu, mentre per i *body burdens*, a questi si aggiunge anche il Cr.

Non sono risultate esserci differenze significative tra i sessi né per quanto riguarda i tassi di bioaccumulo e nemmeno i *body burdens* ad eccezione, per entrambi, di Hg e Zn per i germani reali e Cu nelle alzavole, sintomo dell'assenza di meccanismi diversi di eliminazione e/o stoccaggio tra maschi e femmine, almeno per quanto riguarda gli elementi in esame e il periodo di muta delle penne analizzate.

A seguito dell'esposizione ambientale a quantità di un elemento in traccia, perché si possa avere il suo ingresso all'interno di un organismo, è necessario che sia bioaccessibile e biodisponibile. Fairbrother et al. (2007) definiscono come metallo disponibile in ambiente la quantità totale di metalli disponibili ad essere modificati da parte di processi fisici, chimici e biologici, cioè non sequestrati in una matrice. Secondo gli stessi autori, la superficie del biota interagisce con la frazione bioaccessibile dei metalli disponibili in ambiente, la quale diventa potenzialmente disponibile all'assorbimento (o all'adsorbimento) da parte degli organismi stessi. Biodisponibile è invece la parte di metalli bioaccessibili che in seguito viene assorbita dagli organismi all'interno di un tempo definito e in determinate condizioni ambientali (Fairbrother et al., 2007).

Nel considerare il livello di inquinamento di un ambiente, è quindi da ricordare come la presenza di un contaminante in un suo comparto abbia la potenzialità di arrecare danno solamente quando questo risulti essere biodisponibile e bioaccessibile per gli organismi considerati e come ciò possa essere variabile.

## 1- Alluminio (Al)

L'alluminio è il terzo elemento più abbondante nella crosta terrestre, ha anche diversi impieghi industriali, non ultimo il suo utilizzo come fertilizzante e nell'industria alimentare come imballaggio. In passato l'acidificazione di acque superficiali legata alle piogge acide in molte aree ha determinato un cambiamento negli equilibri portando al rilascio di Al dai sedimenti nelle acque, mentre le attività di combustione o incenerimento ne favoriscono l'ingresso in atmosfera (Barabasz et al., 2002).

Barabasz et al. (2002) riportano che Al può causare effetti avversi ad elevate concentrazioni anche negli uccelli, in cui può andare a interferire con il metabolismo di calcio e fosforo (per esempio nella deposizione di Ca nel guscio delle uova o nelle ossa) e anche manifestare affinità per gli acidi nucleici. Lucia et al. (2010) riportano inoltre che negli uccelli acquatici Al può determinare un incremento della mortalità.

Le alzavole sono risultate avere *body burdens* e tassi di bioaccumulo superiori rispetto ai germani, con una differenza media per entrambi i valori di un ordine di grandezza tra le due specie. Ci possono essere diverse ragioni dietro questa differenza. La modalità di nutrimento delle alzavole che le porta in parte a filtrare il sedimento e a ingerire prede invertebrate limivore (anellidi) (Cramp and simmons 1983) può aver favorito l'ingresso nell'apparato digerente anche del sedimento stesso, permettendo la mobilizzazione di Al nell'ambiente acido dello stomaco, soprattutto dal materiale argilloso (ad esempio, caolinite o montmorillonite). L'abitudine degli anatidi di ingerire piccoli sassi che si accumulano nel ventriglio può essere un'altra modalità di ingestione del sedimento.

Non è da escludersi che la presenza dell'alluminio nelle penne sia legata all'arricchimento in questo elemento del cibo ingerito dalle alzavole nelle aree di nidificazione o stopover, che possono trovarsi in vicinanza di zone estrattive o in zone in cui sono presenti condizioni ambientali che favoriscono la



rimobilizzazione di Al, rendendolo maggiormente disponibile per l'uptake. Ad esempio, secondo Cramp and Simmons (1983), sebbene le alzavole preferiscano zone di acque eutrofiche per l'alimentazione, in presenza di cibo in quantità abbondante possono tollerare anche condizioni ambientali piuttosto acide. Lungo le principali rotte migratorie delle alzavole (Giunchi et al., 2018) sono presenti delle zone, in cui c'è stato un incremento nella solubilità degli ioni Al dal suolo per la vicinanza a zone industriali con impianti di fusione e di combustione in Polonia e in Repubblica Ceca (Zołotajkin et al., 2011), per cui esiste la possibilità che l'uptake si avvenuta in seguito ad una sosta in queste regioni.

Mancando una soglia di tossicità che consenta di relazionare le concentrazioni di Al nelle penne con effetti tossici a livello di individuo o progenie, non è possibile stabilire se i *body burdens* rilevati nelle due specie siano associabili ad effetti negativi. Le uniche soglie di tossicità presenti in letteratura riguardanti l'alluminio sono relative alle dosi negli alimenti (>1000 mg/kg) che possono causare effetti tossici nei pulli (Sparling et al., 1997).

Tuttavia, considerati i valori bassi rilevati nei germani e che questi non sono esposti ad alcuna fonte di contaminazione, è plausibile considerare i *body burdens* di *A. platyrhynchos* come dei valori "basali" per il metabolismo aviario. Più difficile fare previsioni relativamente alle alzavole, anche se, viste le differenze riscontrate con le specie di confronto che presentano maggiore tenore di Al (*E. garzetta* 137±2 mg/kg; *T. alba* 176±1 mg/kg; *P. carbo sinensis* 240±3 mg/kg) ed i dati di letteratura relativi a *P. carbo sinensis* (113 - 222 mg/kg; Hribšek et al., 2017), è presumibile che i *body burdens* di Al non rappresentino un pericolo nemmeno per *A. crecca*.

## **2- Calcio (Ca)**

Il calcio è un elemento essenziale per il biota, uccelli compresi, in cui ricopre un ruolo fondamentale come cofattore nella regolazione osmotica e nel metabolismo (Ca-ATPasi), come costituente scheletrico ed elemento fondamentale per il

successo riproduttivo (costruzione del guscio delle uova).

L'assenza di differenze statisticamente significative tra le due specie e tra i sessi sottolinea come il Ca abbia un ruolo fondamentale come costituente strutturale delle penne (Howell et al., 2017) e che la quantità di Ca depositata sia legata esclusivamente a questo ruolo strutturale e sia indipendente dalla strategia trofica o dall'habitat delle specie prese in esame.

### **3- Cadmio (Cd)**

Il cadmio è un elemento in traccia non essenziale, che può essere immesso in ambiente da sorgenti naturali e antropiche, tra le quali si annoverano la produzione e l'impiego di fertilizzanti, di anticorrosivi e di plastiche, le industrie estrattive o di lavorazione dei minerali (Burger, 2008). Un caso tipico riportato in letteratura di contaminazione da Cd nei sedimenti che si traduce in un accumulo nell'avifauna è relativo all'estuario della Gironda in Francia. Qui l'inquinamento da Cd di acqua e sedimenti, legato alle industrie dismesse presenti 400 km più a nord lungo il fiume Lot, ha causato la contaminazione di potenziali prede per gli uccelli, come ostriche, vongole e pesci (Lucia et al., 2010).

Gli effetti del Cd nei confronti degli uccelli, che risultano essere meno sensibili degli invertebrati acquatici, riguardano danni ai reni, alterazioni comportamentali, riduzione dell'assunzione di cibo, inibizione della crescita, alterazione del metabolismo del calcio, con conseguenze come l'assottigliamento del guscio delle uova. Altri effetti subletali rilevati sono l'anemia e il danneggiamento dei testicoli. È inoltre sospetto cancerogeno (Burger, 2008; Burger and Gochfeld, 2000).

Le soglie di tossicità riferite alle penne riportate in letteratura, relative a berte e sterne, sono comprese tra 100 µg/kg e 2000 µg/kg, rispettivamente; tali soglie tuttavia sono state ricavate da misure indirette, ovvero da un rapporto tra le concentrazioni in reni e penne (Burger and Gochfeld, 2000). Le alzavole nel presente studio hanno stoccato significativamente più cadmio rispetto ai germani, con un tasso di deposizione giornaliero medio circa 10 volte superiore; entrambe le

specie presentano comunque *body burdens* medi inferiori alle soglie citate ( $38.4 \pm 1.7$  e  $5.4 \pm 0.2$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , rispettivamente per alzavole e germani).

Basandosi su Burger (2008), si può supporre che i *body burdens* medi di entrambi siano relativamente bassi perché le penne non risultano tra i principali comparti di stoccaggio per Cd, come invece lo sono i reni o il fegato (con una correlazione positiva tra i due).

Dal momento che le vie di esposizione sono le stesse, cioè l'assunzione tramite alimento, la differenza interspecifica tra gli anatidi può essere legata al diverso livello di contaminazione del cibo nel luogo in cui hanno nutrito; in particolare, per le alzavole ci può essere stata maggiore esposizione legata anche all'accumulo di Cd nei sedimenti degli ambienti acquatici in cui hanno sostato (Burger, 2008).

Nello studio effettuato da Lucia et al. (2010) nella regione estuarina della Gironda, in Francia, per i germani reali viene riportato un valore medio di  $0.03$   $\mu\text{g}/\text{g}$ , simile alle alzavole del presente lavoro, mentre Sadeghi et al. (2017) nella zona umida internazionale di Fereydoonkenar in Iran hanno trovato concentrazioni molto più elevate sia per il germano che per l'alzavola (rispettivamente  $0.21$   $\mu\text{g}/\text{g}$  e  $0.39$   $\mu\text{g}/\text{g}$ ). Gli autori riportano che questa zona umida ha una superficie di poco più di 5 ettari e riceve le acque che passano attraverso i campi coltivati raccogliendo pesticidi, fertilizzanti e fungicidi, che possono contribuire alla presenza di elementi in tracce e, quindi, al loro inserimento nella rete trofica.

Quasi tutte le specie di confronto del presente studio non hanno depositato concentrazioni di Cd che superino le soglie riportate da Burger and Gochfeld (2000), ad eccezione del cormorano, che è l'unica specie avente il *body burdens* che supera la soglia dei  $100$   $\mu\text{g}/\text{g}$  precedentemente citata. Il maggiore accumulo presente nel cormorano potrebbe essere legato alla sua dieta piscivora (Burger, 2008).

#### 4- Cobalto (Co)

Il cobalto è naturalmente presente nella crosta terrestre, nell'acqua e negli organismi viventi, ma può anche essere immesso in ambiente da varie fonti antropiche, come runoff da aree agricole, lisciviazione e scarichi da miniere e deposizione di isotopi radioattivi (Gál et al., 2008).

Per gli uccelli diventa assimilabile ingestione di suolo, alimento contaminato o tramite preening (Gál et al., 2008).

Le differenze interspecifiche risultano essere significative sia per i *body burdens* sia per i tassi di accumulo. È possibile le alzavole abbiano passato il periodo della muta in una zona con presenza maggiore di Co. Ciò può essersi verificato, ad esempio, per quegli individui che seguono rotte migratorie verso la Russia e la Scandinavia (Giunchi et al., 2018). Tali rotte possono averle portate nei pressi di centrali nucleari nell'ex URSS, in bacini che raccolgono acque di scolo agricole ricche in Co, in prossimità di impianti estrattivi in Scandinavia e soprattutto in Russia (tra le principali Nazioni estrattrici di Co) (Boyd et al., 2009). È dunque possibile che l'uptake di questo elemento sia avvenuto durante le attività di grazing in queste aree, soprattutto nel caso dell'individuo AC\_F2, che ha depositato nelle proprie penne una concentrazione di Co molto superiore ai conspecifici. Attualmente in letteratura non sono disponibili soglie che relazionino *body burdens* nelle penne a effetti tossici negli uccelli. Confrontando quanto trovato con dati da letteratura, si può evidenziare che le alzavole del presente studio abbiano una concentrazione inferiore rispetto a quanto riscontrato da Hosseini Alhashemi et al. (2011) in un altro anatide (*Marmaronetta angustirostris*;  $1.01 \pm 0.3$  mg/kg) con abitudini alimentari simili a quelle dell'alzavola, nella una zona umida di Shadegan in Iran, interessata da diverse fonti di inquinamento che comprendono acque reflue industriali e domestiche e runoff agricolo. Si può quindi supporre che le aree in cui le alzavole analizzate nel presente lavoro hanno mutato, non siano fortemente contaminate come lo sono altre realtà, per quanto sia presente Co accessibile all'uptake da parte del biota.

## 5- Cromo (Cr)

Il cromo è un elemento presente naturalmente nelle rocce sedimentarie (nella sua forma trivalente), la cui presenza nella biosfera è significativamente aumentata per gli input antropici legati all'impiego di fertilizzanti, alle produzioni chimiche e metallurgiche (che sono la fonte della forma esavalente). La forma trivalente (CrIII) rappresenta uno degli elementi essenziali per il funzionamento del metabolismo del glucosio (Kim et al., 1996; Egwumah et al., 2017), mentre la forma esavalente (CrVI) può essere in grado di generare tossicità (genotossicità, in particolare).

Secondo Burger and Gochfeld (2000) è difficile derivare un livello di cromo nelle penne da associare ad effetti avversi; gli stessi autori riportano anche che, da un rapporto tra livello nelle penne e nel fegato, si può presupporre una soglia di tossicità di 2800 µg/kg che, se superata, può essere legata ad effetti avversi.

Egwumah et al. (2017) evidenzia anche che tra i possibili effetti avversi causati da Cr nei germani reali ci sono alterazioni dello sviluppo embrionale, anomalie tissutali e compromissione della schiusa. Secondo Eisler (2000), invece, per i pulli di *Anas rubripes* non ci sono state alterazioni nel comportamento conseguenti l'assimilazione di Cr attraverso l'alimento.

Nel presente lavoro, non sono state rilevate differenze significative tra i *body burdens* degli anatidi, mentre invece il tasso di accumulo risulta maggiore nelle alzavole rispetto ai germani. Nel caso delle alzavole si ipotizza una maggiore esposizione ambientale e/o maggiore uptake di cromo nel periodo corrispondente alla muta.

Le specie di confronto risultano avere tutte valori superiori rispetto sia alle alzavole sia ai germani; la concentrazione più elevata nel presente studio è stata trovata in *F. coelebs* (1116±105 µg/kg).

Paragonando i dati del presente lavoro con studi condotti in diversi contesti geografici, la concentrazione depositata dalle specie nelle penne sembra sia correlata alla presenza di Cr in ambiente più che al livello trofico occupato. Infatti,

nella zona umida di Freidoonkenar (Iran), Karimi et al. (2016) hanno studiato cinque specie di anatidi trovando delle concentrazioni medie di Cr (in peso secco) nelle penne della coda che risultano essere molto superiori a quelli delle alzavole del presente studio (*Anser anser* 2.50 µg/g, *A. platyrhynchos* 2.22 µg/g, *A. acuta* 1.73 µg/g, *A. ferina* 1.76 µg/g e *A. penelope* 3.11 µg/g). Questi valori rilevati da Karimi negli anatidi sono, inoltre, superiori a quelli rilevati in *P. carbo sinensis*, (0.996±0.450 µg/g, d.w.) da Hribšek et al. (2017) in Serbia e nel presente studio (0.819±0.005 µg/g), sebbene il cormorano occupi un livello trofico superiore rispetto agli anatidi.

È quindi possibile ipotizzare che le alzavole analizzate non siano venute a contatto con ambienti particolarmente contaminati dal cromo.

## **6- Mercurio (Hg)**

Il mercurio è stato storicamente impiegato dall'uomo a fini produttivi industriali e medici (almeno 2000 anni), perciò a livello globale si ha una contaminazione legata a centinaia di anni di immissioni in ambiente, come nel caso della miniera spagnola di Almadén, nella quale le prime estrazioni risalgono all'epoca degli antichi romani. Le varie miniere (anche di cinabro) hanno contribuito a contaminare suoli, acqua aria e biota anche dopo la loro dismissione. Nel ventesimo secolo questo elemento è stato usato in molti modi diversi, come nell'estrazione dell'oro e come biocida, anche se tra le principali vie di emissione antropica rientrano inceneritori, immissioni industriali in ambiente (anche se, a seguito del caso di tossicosi legata a scarichi industriali diretti presso Minamata negli anni '60, questi si sono ridotti) e impianti di energia a carbone. Stime indicano che circa due terzi del Hg oggi globalmente presente sia riconducibile ad immissione antropica. Può essere presente in ambiente in forma organica e inorganica, ma nel caso delle penne, che possono essere considerate la principale via di detossificazione di questo elemento per gli uccelli, la maggior parte del mercurio è presente in forma organica, cioè sotto forma di metilmercurio (Burger

and Gochfeld, 1997; Hoffman et al, 2003). Inoltre, il mercurio è un elemento che biomagnifica (Dominik et al., 2014); quindi la sua presenza negli organismi è generalmente correlata alla dieta e alla posizione occupata dalla specie target nella rete trofica, oltre che all'ambiente.

Negli uccelli, la presenza e gli effetti avversi che causa questo elemento sono stati studiati dagli anni '60 (Burger and Gochfeld, 1997). Secondo Hoffman et al (2003) può essere teratogeno, può passare la barriera encefalica ed essere trasferito dalla madre alle uova nella sua forma più tossica, metilmercurio. Whitney and Cristol (2017) fanno una review di una serie di effetti avversi che potrebbero essere legati ad esposizione subletale di varie specie di uccelli a questo elemento, in cui sono inclusi iperattività o riduzione delle attività ad alto dispendio energetico, possibili impatti sul sistema immunitario, alterazione del comportamento parentale, egg-shell thinning, alterazione del comportamento dei pulli, embriotossicità (in particolare teratogenicità e mortalità embrionale), diminuzione del numero di uova schiuse e degenerazione assonica e problemi neurologici. Tuttavia, i medesimi autori sottolineano che nei germani reali egg-shell thinning e alterazione comportamentale dei pulli non sono indotti da Hg.

Eisler (1987) riporta che in varie specie di uccelli già a concentrazioni di 5000 µg/kg nelle penne possono manifestarsi compromissione della schiusa delle uova e sterilità, mentre Burger and Gochfeld (1997) sottolineano che per *A. platyrhynchos* livelli di 9000-11000 µg/kg nelle penne (peso secco) sono legati a deficit riproduttivi e comportamentali.

I germani e le alzavole nel presente studio hanno valori medi complessivi di *body burdens* di un ordine di grandezza di differenza, mentre sono due gli ordini di grandezza che ne differenziano i tassi di deposito. Nelle alzavole non ci sono differenze significative tra maschi e femmine, ma in entrambi i sessi la variabilità interindividuale è molto forte sia per i *body burdens* sia per i tassi di accumulo medio giornaliero. Alcuni individui risultano avere concentrazioni dello stesso ordine di grandezza dei germani reali, mentre altri risultano molto superiori. Ciò si

può spiegare con la diversità di tipologie di alimenti assunti, la presenza di prede animali nella dieta dell'alzavola e il livello trofico delle stesse, oltre alla eventuale differenza di inquinamento da mercurio delle aree frequentate dai singoli individui. Caso emblematico della variabilità dei *body burdens* di Hg è rappresentato dall'individuo di alzavola (AC\_M3 1664±18 µg/kg) che ha un valore superiore a quello trovato nella penna di *P. carbo sinensis* (1471±10 µg/kg) e altri due vi si avvicinano molto (AC\_F1 1357±26 µg/kg; AC\_F2 1294±47 µg/kg).

Da confronto con la letteratura, si può notare come il grado di inquinamento ambientale incida in maniera rilevante sull'accumulo di di Hg negli anatidi, infatti nel nord-est dell'Austria, sul fiume Danubio, Plessl et al. (2017) hanno rilevato una concentrazione di 1031 µg/kg nelle penne di germano reale, mentre in Iran Ahmadpour et al. (2016) per la stessa specie riporta un valore di 280 µg/kg. Zolfaghari et al. (2009) sempre in Iran (Khuzestan) ha analizzato alzavole con un valore medio di 2230 µg/kg, simile al valore analizzato nella specie di confronto *E. garzetta* (2756±24 µg/kg).

Nessuna delle due specie di anatidi è risultata superare la soglia di 5000 µg/kg sopracitata (Eisler 1987), mentre una delle specie di confronto, cioè *C. ridibundus*, supera questa soglia con un valore di 6877±345 µg/kg, il massimo trovato tra le specie su cui è stata effettuata l'analisi. È stato riscontrato, da letteratura, come in alcune specie i valori di Hg siano molto più elevati rispetto a quanto riscontrato in questo lavoro, come nel caso di *Himantopus mexicanus*, un limicolo a dieta insettivora, in cui il valore trovato presso la baia di San Francisco (USA) è di 12160 ± 1110 µg/kg (Eagle-Smith, 2008).

## **7- Piombo (Pb)**

Il piombo è un elemento non essenziale, che può entrare in contatto con gli uccelli acquatici mediante diverse vie, ad esempio l'inquinamento dei corsi d'acqua vicino a miniere ed impianti di lavorazione metallurgica, l'ingestione di pallini da caccia soprattutto in aree venatorie e l'ingestione di piombini da pesca.



I pallini da caccia, in particolare, possono essere scambiati per sassolini che normalmente alcuni anatidi possono ingerire per agevolare la digestione, oppure possono essere ingeriti con sedimento e materiale vegetale, divenendo così una delle vie di esposizione più importanti al Pb (Binkowski and Sawicka-Kapusta, 2015; De Francisco et al., 2003; Eisler, 2000; Andreotti et al., 2018)

Ad essere impattati dal Pb sono suoli, sedimenti e ambienti eutrofici, all'interno dei quali tende ad accumularsi e può essere oggetto di precipitazione e/o rimobilizzazione al variare delle condizioni redox e del tenore di ossigeno. Siccome il piombo può impiegare tra i 100 e i 300 anni ad essere degradato in relazione alle condizioni climatiche e ambientali (De Francisco et al., 2003), in ambiente può essere tuttora presente in maniera consistente per motivi venatori (oggi l'uso dei pallini di piombo per la caccia rispetto al passato è soggetto a restrizioni, ma non completamente bandito), come riportato da Plessl et al. (2017). Gli stessi autori, infatti, riportano una stima di 25000 t/y di piombo metallico immesso in ambiente in Italia, tra pallini di piombo e piombini da pesca. Andreotti et al. (2018) fanno una stima economica del costo degli impatti causati dalla sola ingestione di questi pallini sulle popolazioni di uccelli acquatici in Europa; nel caso della sola alzavola, rimpiazzare gli individui morti in seguito ad ingestione di pallini in Europa costerebbe più o meno 9,022,106 €.

Le emissioni legate alle composizioni delle benzine e degli antidetonanti, non completamente bandite a livello mondiale, contribuiscono ad aumentare gli input di Pb nella biosfera.

Le alzavole hanno *body burdens* e bioaccumulo maggiori rispetto ai germani, da cui si può dedurre una maggiore esposizione ambientale nelle aree di nidificazione/stopover. Vi è una certa variabilità interindividuale tra le alzavole, anche se il valore più basso di *body burdens* e di bioaccumulo delle alzavole è comunque di un ordine di grandezza superiore alla media dei germani.

Un solo individuo di alzavola (AC\_M2) presenta *body burdens* che superano la soglia di tossicità di 4000 µg/kg, a cui, come riportato da Burger and Gochfeld

(2000) sono associati disturbi subletali e di tipo riproduttivo (tra cui l'incapacità di riconoscere i genitori o i pulli, la compromissione della termoregolazione, della capacità di movimento, della percezione della profondità e delle abitudini alimentari).

Come evidenziato da Eisler (2000) e da De Francisco et al. (2003) una causa molto probabile a cui imputare questo dato è l'ingestione di pallini da caccia durante l'alimentazione, nel caso in cui questi avessero avuto un diametro simile a quello delle piccole pietre che ingeriscono naturalmente per favorire la triturazione degli alimenti all'interno del ventriglio, anche se le conseguenze sull'organismo possono variare anche in relazione alla grandezza dei pallini.

Il Pb presente nei pallini è rimobilizzato e reso accessibile in seguito all'azione combinata della macinazione dei muscoli e del basso pH degli acidi gastrici; è quindi possibile l'assorbimento e la distribuzione nei tessuti, con conseguente tossicosi da piombo (De Francisco et al., 2003).

Il rilascio del Pb nei vari distretti corporei risulterebbe quindi prolungato nel tempo, con ripercussioni anche sul tasso di deposizione giornaliera nelle penne.

L'individuo AC\_M2 potrebbe essersi trovato in una situazione simile a quella osservata per alcuni germani reali in due diversi specchi d'acqua in Polonia, studiati da Binkowski and Sawicka-Kapusta (2015); nei loro tratti gastro-intestinali sono infatti risultati essere presenti pallini di piombo. Va sottolineato che la Polonia, in particolare, rientra nella rotta migratoria delle alzavole secondo Giunchi et al. (2018).

Valori di letteratura per germano e alzavola evidenziano una situazione complessivamente eterogenea.

Il valore medio trovato nelle penne delle alzavole del presente lavoro si mantiene su una media di 600 µg/kg (escluso AC\_M2), mentre in uno studio effettuato da Sadeghi et al. (2017) in Iran (Fereydoonkenar International Wetland) sono riportati valori che superano la soglia di tossicità di 4000 µg/kg da Burger and Gochfeld (2000). Per gli individui adulti delle alzavole, infatti, questi valori riportano un

valore di 8.04 µg/g e per i germani reali la concentrazione è di 5.83 µg/g (Sadeghi et al., 2017).

Sempre per quanto riguarda i germani reali, Lucia et al. (2010) in Francia riportano una concentrazione di 1.91 µg/g, mentre in California Cahill et al. (1998) hanno rilevato 2200 µg/kg; in entrambi i casi, quindi, il dato non supera la soglia di tossicità.

Per quanto concerne altre specie, non appartenenti agli anatidi, sono riportati diversi casi di superamento della soglia di tossicità. Ad esempio, in Corea Kim and Koo (2008) riportano concentrazioni di 20800 µg/kg nel limicolo *Calidris tenuirostris* (piovanello beccosottile), mentre Fasola et al. (1998) segnalano una concentrazione di 4522 µg/kg nelle penne di *E. garzetta* nella garzaia di Villarasca. A tale proposito, la specie di confronto che ha evidenziato *body burdens* più elevati è *P. carbo sinensis*, superando la soglia sopracitata di 4000 µg/kg di almeno 12 volte. Non è escluso che l'individuo, con dieta piscivora, risulti avere un'intossicazione da piombo legata ad ingestione di pesci affetti da tossicosi di piombo o sia stato colpito esso stesso da pallini.

## **8- Rame (Cu)**

Il rame è un elemento in traccia essenziale. È fondamentale il suo ruolo nella fissazione del calcio nelle ossa e nelle uova, nell'emoglobina, nel metabolismo del glucosio e della termoregolazione. La sua presenza è riportata anche in alcuni pigmenti naturali delle penne (Howell et al., 2017).

Muszyński et al (2017) riportano che un deficit nutritivo di Cu diminuisce la funzionalità degli osteoblasti senza, tuttavia, intaccare la funzionalità degli osteoclasti, creando così problemi ai tessuti ossei e cartilaginei.

La presenza di questo elemento in ambiente può essere naturale, legata a fonti vulcaniche, ad esempio, oppure può essere dovuta ad impatto antropico, ad esempio per le attività delle acciaierie e degli inceneritori urbani (Gaetke and Chow, 2003). Gli stessi autori riportano che la tolleranza degli animali a questo

elemento dipende dalla specie. Il rame in eccesso, nella forma ionica, ha la capacità di concorrere alla formazione di radicali e superossidi.

Per molte specie di uccelli il fegato è sito di accumulo preferenziale per il Cu. Lucia et al. (2010) riportano una soglia di tossicità riferita ai germani reali basata sulla sola quantità accumulata nel fegato, mentre non sono disponibili in letteratura soglie riferite alla concentrazione nelle penne.

Gli anatidi analizzati nel presente studio non hanno mostrato differenze significative interspecifiche né nei *body burdens* né nei tassi di deposizione giornalieri.

Basandosi su uno studio di Howell et al. (2017), condotto su altre specie (berte), è stata osservata la presenza di questo elemento nel rachide in maniera discontinua e, in maniera minore, nel calamo e nelle barbe. Si può ipotizzare che la mancanza di differenze tra le due specie di anatidi sia legata ad una funzione strutturale del Cu nelle penne.

Questa considerazione si può sostenere anche dal confronto con la letteratura; infatti, nella zona umida del Fereydoonkenar (Iran) (Sadeghi et al., 2017), sia l'alzavola sia il germano reale selvatici hanno mostrato valori simili a quelli trovati nel presente studio.

Anche studi su altre specie di anatidi catturati nell'estuario della Gironda, in Francia, hanno rilevato *body burdens* simili a quelli del presente studio, tranne nel caso di *Anser anser*, che è l'unica specie con un valore medio di circa il triplo e con elevata variabilità interindividuale associata (Lucia et al., 2010).

Tuttavia, poiché anche le specie di confronto presentano concentrazioni più o meno simili a quelle degli anatidi, non si esclude che i livelli di questo elemento essenziale possano essere fisiologicamente simili all'interno della classe degli uccelli.

L'unica differenza riscontrata è tra i maschi e le femmine delle alzavole, con i maschi che mostrano tassi di accumulo e *body burdens* superiori alle femmine. Non sono riportate in letteratura informazioni relative all'accumulo differenziale di

Cu tra maschi e femmine di specie ornitiche. La differenza osservata potrebbe essere dovuta a meccanismi di deposito e accumulo e detossificazione differenziati tra i sessi.

## **9- Selenio (Se)**

Il selenio è un elemento micronutriente essenziale per gli organismi; è naturalmente abbondante in aree geografiche corrispondenti a fondali marini del Cretaceo e del Terziario, mentre le immissioni in ambiente possono essere sia di origine naturale sia antropica. Infatti, può essere presente in forma biodisponibile anche nei combustibili fossili, così come in alcuni prodotti industriali e nei fertilizzanti (Hoffman et al., 2003).

Nelle acque superficiali può essere presente in concentrazioni elevate in seguito alla deposizione atmosferica di ceneri o alla presenza di scarichi di acque reflue agricole o dalle raffinerie, e può essere immesso anche in seguito a estrazioni di zolfo, uranio, fosfato, bentonite e carbone (Hoffman et al., 2003).

Burger and Gochfeld (2000) riportano soglie di tossicità corrispondenti a *body burdens* di Se nelle penne compresi tra 1800 e 26000 µg/kg nelle penne (desunti dal rapporto tra le concentrazioni presenti in fegato e penne); queste concentrazioni possono causare effetti avversi tra cui malformazioni embrionali (1800 µg/kg), mentre tra le conseguenze negative per gli adulti, ci sono anomalie comportamentali, deficit riproduttivi e morte.

Le concentrazioni a cui si manifesta tossicità da Se sono legate alla specie e ai livelli di esposizione cui sono sottoposti gli individui. Ashbaugh et al. (2018), ad esempio, considerano nel proprio studio una soglia tossicità di 5000 µg/kg per la specie *Charadrius nivosus*, un limicolo insettivoro in che colonizza ambienti salini. Per i germani reali sono riportate diverse concentrazioni di Se nella dieta che possono portare a vari livelli di tossicosi fino alla morte (Spallholz and Hoffman, 2002).

*Body burdens* e tassi di deposizione nelle penne sono significativamente diversi tra

alzavole e germani, lasciando supporre un maggiore uptake da parte delle prime. Nel complesso, comunque, né gli anatidi in esame, né le specie di confronto, che appartengono a livelli trofici diversi, superano le soglie sopra riportate.

In relazione alla loro dieta e al livello di contaminazione degli ambienti in cui hanno sostato, le alzavole possono aver avuto accesso a una maggiore quantità di Se durante la loro migrazione.

Da quanto riportato da Hoffman et al. (2003), infatti, i maggiori accumulatori di questo elemento dall'acqua possono essere le piante e gli invertebrati, ovvero i principali costituenti della dieta delle alzavole secondo Cramp and Simmons (1983). Nonostante il Se non biomagnifichi, il livello occupato nella catena trofica dall'organismo considerato e dagli organismi di cui si nutre, può incidere sui *body burdens* (Hoffman et al., 2003), soprattutto se si considera la preferenza delle alzavole per gli specchi d'acqua eutrofici, come ad esempio le zone umide o le zone riceventi le acque di scolo agricole. Inoltre, non si può escludere che la causa dell'arricchimento di Se nella dieta e quindi nell'organismo sia da ricercare nella vicinanza a zone estrattive.

L'importanza della dieta è sottolineata anche dallo studio di Lucia et al. (2010), nel quale sono state analizzate le penne di *Anser anser* nell'estuario della Gironda, in Francia. Questi autori, infatti, hanno trovato una concentrazione di Se di 0.4 µg/g, valore simile al valore medio delle alzavole del presente studio. Nello stesso studio i *body burdens* nelle penne di limicoli come piovieressa *Pluvialis squatarola* (1.9 µg/g) e piovanello maggiore *Calidris canutus* (8.7 µg/g) sono più elevati dei valori osservati nelle alzavole, superando in media le soglie di tossicità di Burger and Gochfeld (2000).

Il valore più elevato trovato in letteratura per le specie selvatiche risulta essere in *Calidris alpina pacifica*, con una concentrazione di 10400 ± 900 µg/kg in British Columbia (Canada) è riportata da St. Clair et al. (2015).

## **10- Vanadio (V)**

Il vanadio è un elemento naturalmente presente in natura anche nei petroli e nei bitumi, per cui le attività di estrazione e di combustione possono determinarne l'immissione in ambiente (Stendahl and Sprague, 1982; Dechaine and Gray, 2010). In uno studio di Rattner et al. (2006) sono stati indagati gli effetti tossici di questo elemento nei germani reali e nell'anatra canadese; gli autori riportano che tra le manifestazioni di tossicità nei germani reali ci sono emorragie intestinali, danni al fegato, al cuore e perdita di peso, ultima la morte. Ashbaugh et al. (2018) riportano una concentrazione di 14 mg/kg di V nella dieta come soglia a cui può manifestarsi tossicità. Non sono state trovate, invece, soglie di tossicità riferite alle concentrazioni nelle penne.

La Russia rientra tra i principali estrattori di questo metallo e sono presenti aree minerarie nelle zone delle rotte migratorie delle alzavole (Giunchi et al., 2018; Moskalyk and Alfantazi, 2003). Ciò potrebbe aver contribuito ad incrementare i *body burdens* e tassi di accumulo nelle alzavole rispetto ai germani.

In letteratura i dati rilevati nella zona umida di Shadegan in Iran da Hosseini Alhashemi et al. (2011) per le specie *Marmaronetta angustirostris* (3.66 mg/kg), con un livello trofico simile all'alzavola, e *Porphyrio porphyrio* (2.76 mg/kg) sono più elevati di un ordine di grandezza rispetto a quanto osservato nel presente studio e di due ordini di grandezza rispetto ai germani. L'ipotesi è che il livello di inquinamento ambientale in questa zona umida sia superiore a quello presente negli stopover e/o negli areali di nidificazione delle alzavole.

## **11- Zinco (Zn)**

Lo zinco può derivare da sorgenti naturali o antropiche. Tra queste ultime ci sono soprattutto l'immissione da industrie metallurgiche, i fertilizzanti agricoli e l'impiego di combustibili fossili, ma anche le particelle rilasciate dall'usura degli pneumatici e dilavate dalle strade con le piogge (Callender and Rice, 2000; Councell et al., 2004)

È uno degli elementi essenziali per la vita degli uccelli ed è fondamentale nella crescita delle ossa, nella struttura degli enzimi e delle cellule del sistema immunitario (Park et al., 2004).

Studi effettuati sulla topobiologia degli elementi chimici nelle penne degli uccelli hanno messo in evidenza la presenza con probabile ruolo strutturale di Zn anche nelle penne di *A. platyrhynchos*, sebbene distribuzione e densità dell'elemento risultino variabili tra famiglie e specie (Howell et al., 2017).

Lo zinco può causare effetti tossici se assunto al di fuori dell'optimum fisiologico, come nel caso degli uccelli domestici, in cui elevati livelli di zinco possono causare inappetenza e perdita di peso dovuta ad una diminuzione della capacità di digerire le prede (Lucia et al., 2010).

Nei germani reali, inoltre, tra i sintomi della tossicosi di Zn causati dall'ingestione di pallini da caccia in lega di Zn, vengono riportati anche diarrea, danni al pancreas, anemia e morte (Levengood et al., 1999). Einoder et al. (2018) riporta una soglia di tossicità riferita a concentrazioni nelle penne di 200 mg/kg.

Nel presente studio, nelle alzavole i *body burdens* sono più elevati rispetto ai germani domestici, così come lo sono i tassi di bioaccumulo.

Nelle prime, nei due sessi si osservano deposizioni giornaliere e *body burdens* simili; al contrario, le femmine dei germani hanno *body burdens* e tassi di accumulo maggiori rispetto ai maschi. È possibile che meccanismi di deposito ed eliminazione siano diversi tra maschi e femmine. La soglia sopracitata non viene comunque mai superata da nessuna specie analizzata nel presente studio.

Le alzavole possono aver accumulato un quantitativo maggiore di zinco, poiché si alimentano in ambienti acquatici, nei quali la concentrazione accessibile al biota dello Zn può essere influenzata anche dall'impatto antropico, oppure per la presenza di componente animale, con elevati *body burdens* di Zn, nella loro dieta.

La possibile ingestione accidentale di sedimento con elevate concentrazioni di questo elemento non è da escludersi.

In letteratura, Sadeghi et al. (2017) in Iran per *A. crecca* (98.0 µg/g) riporta un



valore simile a quello del presente studio, mentre la concentrazione in *A. platyrhynchos* è 99.65 µg/g, superiore a quanto trovato nel presente studio.

In altre specie sono stati trovati valori più elevati, ma non oltre la soglia sopracitata, come nello studio di *Calidris alpina pacifica* di St. Clair et al. (2015) in British Columbia (Canada) è stato trovato un valore medio di 197 mg/kg.

## 5. CONCLUSIONI

Mediante le analisi effettuate è stato possibile quantificare 11 elementi presenti nelle penne di 8 alzavole selvatiche cacciate in Laguna di Venezia, 10 germani reali domestici e singoli individui di 5 specie selvatiche di confronto. Mediante la ptilocronologia è stato possibile calcolare il numero di giorni impiegati mediamente dalle penne delle due specie di anatidi per crescere usando le bande e barre di crescita. Il tasso di deposizione giornaliero degli analiti in queste due specie è stato calcolato dal rapporto tra *body burdens* e tempo medio di crescita delle penne, permettendo il confronto tra il bioaccumulo della specie selvatica e di quella domestica.

Le alzavole sono risultate avere *body burdens* più elevati dei germani per tutti gli elementi tranne Ca, Cu; queste differenze risultano assenti in quanto elementi con funzione strutturale per le penne, che quindi vengono depositi in maniera indipendente dai livelli di esposizione per la costruzione della penna.

Tra le due specie ci sono differenze statistiche fortemente significative per tutti gli elementi, a parte Hg, dove c'è comunque significatività statistica, e Ca, Cu e Cr, che invece risultano statisticamente simili. I sessi delle due specie di anatidi hanno mostrato concentrazioni medie statisticamente comparabili per tutti gli elementi ad eccezione di Hg e Zn (germani) e Cu (alzavole), sia per quanto riguarda i *body burdens* sia per i tassi di deposizione.

Non per tutti gli elementi indagati è stato possibile trovare soglie di tossicità in letteratura che associano concentrazioni rilevabili nelle penne con effetti avversi nell'organismo, ma nessuna concentrazione media trovata nelle alzavole né nei germani ha superato le soglie di tossicità trovate. Solo un individuo di alzavola (AC\_M2) ha *body burdens* che superano la soglia di tossicità riportata da Burger and Gochfeld (2000) per il Pb, evidenziando una probabile intossicazione da Pb. La tossicosi da Pb è uno dei maggiori pericoli per l'avifauna acquatica e in particolare per gli anatidi a causa della massiccia presenza in ambiente di pallini da

caccia in Pb nei sedimenti; questi, infatti, possono essere accidentalmente ingeriti e ritenuti nel ventriglio durante le normali attività di alimentazione di questi uccelli.

Dal confronto con i dati di letteratura è emersa la presenza di aree geografiche in cui l'accumulo di elementi in traccia nell'alzavola è decisamente superiore rispetto a quanto rilevato per gli svernanti nella Laguna di Venezia.

Questi sono indicatori di una maggiore esposizione.

Analogamente, sia nel contesto lagunare, sia in altre aree geografiche sono state rilevate specie caratterizzate da *body burdens* superiori, sia per quanto concerne anatidi con strategia trofica simile a quella delle alzavole, sia per quanto concerne specie limicole e piscivore per cui è lecito osservare una maggiore tendenza alla deposizione, almeno per quegli elementi che non ricoprono importante strutturale (Ca e Cu).

Oltre alla strategia trofica, le differenze riscontrate tra specie e contesti geografici diversi potrebbero essere imputabili a diversi fattori, tra cui la presenza di contaminanti bioaccessibili e biodisponibili in ambiente ma anche possibili diversi meccanismi di stoccaggio ed eliminazione. Non tutti i contaminanti analizzati, infatti, hanno come sito di accumulo preferenziale o di detossificazione/eliminazione le penne: ad esempio, Hg viene stoccato preferenzialmente nelle penne, Cd ha come principale sito di deposito alcuni organi interni.

In conclusione, le concentrazioni trovate nei germani reali domestici hanno sottolineato come questi individui siano esposti a concentrazioni molto basse di molti degli elementi indagati, supportando l'ipotesi che i *body burdens* nelle penne siano considerabili come "basali", cioè legati alla presenza di inquinamento diffuso e non puntuale.

La specie *A. crecca* svernante in Laguna di Venezia non sembra sia stata esposta negli areali di nidificazione (o negli stopover) in Fennoscandia o in Russia ad un livello tale di contaminazione da causarle pericolo. Essa risulta comunque contribuire al trasferimento geografico dei contaminanti dagli areali di

riproduzione a quelli di svernamento.

## 6. RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano i proprietari dei germani reali domestici, il Dr. Marco Picone e la Dr.ssa Fabiana Corami.

Un ringraziamento va a tutti coloro che mi hanno sostenuta.

## 7. BIBLIOGRAFIA

- Associazione faunisti veneti, 2018. Censimento degli uccelli acquatici svernanti in provincia di Venezia. Marco Basso e Mauro Bon (a cura di).
- Ahmadopour, M., Lan-Hai, L., Ahmadopour, M., Hosseini, S. H., Mashrofeh, A., Binkowski, Ł. J., 2016. Mercury concentration in the feathers of birds from various trophic levels in Fereydunkenar International wetland (Iran). *Environ Monit Assess*, 188: 666. DOI 10.1007/s10661-016-5671-y
- Andreotti, A., Guberti, V., Nardelli, R., Pirrello, S., Serra, L., Volponi, S., Green, R., E., 2018. Economic assessment of wild bird mortality induced by the use of lead gunshot in European wetlands. *Science of the Total Environment* 610–611: 1505–1513.
- Ashbaugh, H.M., Conway, W.C., Haukos, D.A., Collins, D.P., Comer, C.E., French, A.D., 2018. Evidence for exposure to selenium by breeding interior snowy plovers (*Charadrius nivosus*) in saline systems of the Southern Great Plains. *Ecotoxicology* 27, 703–718. <https://doi.org/10.1007/s10646-018-1952-2>
- AAVV Agilent, 2009. La tecnologia ICP-MS
- Barabasz, W., Albińska, D., Jaśkowska, M., Lipiec, J., 2002. Ecotoxicology of Aluminium. *Polish J. Environ. Stud.* 11, 199–203.
- Binkowski, Ł.J., Sawicka-Kapusta, K., 2015. Lead poisoning and its *in vivo* biomarkers in Mallard and Coot from two hunting activity areas in Poland. *Chemosphere* 127, 101–108.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.01.003>
- Bon M., Scarton F., Stival E., Sattin L., Sgorlon G. (a cura di), 2014. Nuovo Atlante degli Uccelli nidificanti e svernanti in provincia di Venezia. Associazione Faunisti Veneti, Museo di Storia Naturale di Venezia, 43
- Bortolotti, G.R., 2010. Flaws and pitfalls in the chemical analysis of feathers : bad news — good news for avian chemoecology and toxicology. *Ecol. Appl.* 20,

1766–1774.

- Boyd, R., Barnes, S.J., De Caritat, P., Chekushin, V.A., Melezhik, V.A., Reimann, C., Zientek, M.L., 2009. Emissions from the copper-nickel industry on the Kola Peninsula and at Noril'sk, Russia. *Atmos. Environ.* 43, 1474–1480. doi: 10.1016/j.atmosenv.2008.12.003
- Bricchetti, P., De Franceschi, P., Baccetti, N. (eds.), 1992. *Fauna d'Italia. XXIX. Aves. I, Gaviidae-Phasianidae*. Edizioni Calderini, Bologna.
- Burger, J., 2008. Assessment and management of risk to wildlife from cadmium. *Sci. Total Environ.* 389, 37–45. doi: 10.1016/j.scitotenv.2007.08.037
- Burger, J., Gochfeld, M., 2001. On developing bioindicators for human and ecological health. *Environ. Monit. Assess.* 66, 23–46.
- Burger, J., Gochfeld, M., 2000. Metal levels in feathers of 12 species of seabirds from Midway Atoll in the northern Pacific Ocean. *Sci. Total Environ.* 257, 37–52. PII: S0048-9697(00)00496-4
- Burger, J., Gochfeld, M., 1997. Risk, mercury levels, and birds: Relating adverse laboratory effects to field biomonitoring. *Environ. Res.* 75, 160–172. <https://doi.org/10.1006/enrs.1997.3778>
- Burger, J., Gochfeld, M., 1995. Heavy metal and selenium concentrations in eggs of herring gulls (*Larus argentatus*): Temporal differences from 1989 to 1994. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 29, 192–197. <https://doi.org/10.1007/BF00212970>
- Burger, J., Pokras, M., Chafel, R., Gochfeld, M., 1994. Heavy metal concentrations in feathers of common loons (*Gavia immer*) in the Northeastern United States. *Environmental Monitoring and Assessment* 30: 1-7.
- Burger, J., Gochfeld, M., 1992. Trace element distribution in growing feathers: Additional excretion in feather sheaths. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 23, 105–108. <https://doi.org/10.1007/BF00226002>
- Burger, J., Gochfeld, M., 1991. Cadmium and lead in common terns (aves: *Sterna*

- hirundo*): relationship between levels in parents and eggs. *Environmental Monitoring and Assessment* 16, 253-258.
- Cahill, T.M., Anderson, D.W., Elbert, R.A., Parley, B.P., Johnson, D.R., 1998. Elemental profiles in feather samples from a mercury-contaminated lake in Central California. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35, 75–81. <https://doi.org/10.1007/s002449900352>
- Callender, E., Rice, K.C., 2000. The urban environmental gradient: Anthropogenic influences on the spatial and temporal distributions of lead and zinc in sediments. *Environ. Sci. Technol.* 34, 232–238. <https://doi.org/10.1021/es990380s>
- Clapp, J.B., Bevan, R.M., Singleton, I., 2012. Avian urine: Its potential as a non-invasive biomonitor of environmental metal exposure in birds. *Water Air Soil Pollut* 223, 3923–3938. <https://doi.org/10.1007/s11270-012-1161-1>
- Council, T.B., Duckenfield, K.U., Landa, E.R., Callender, E., 2004. Tire-wear particles as a source of zinc to the environment. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4206–4214. <https://doi.org/10.1021/es034631f>
- Corami, F., Cairns, W. R. L., Turetta, C., Rigo, C., Barbante, C., Capodaglio, G., Cescon, P., 2009. Speciation Analysis of Trace Elements in the Waters and in the Sediments of the Venice Lagoon. XIX Convegno AIOL, Venezia.
- Cairns, W. R. L., Corami, F., Rigo C., 2011. BIODISPONIBILITÀ E BIOTOSSICITÀ DEI CONTAMINANTI LAGUNARI ED EVOLUZIONE NORMATIVA, Programma di Ricerca La Laguna di Venezia nel quadro dei cambiamenti climatici, delle misure di mitigazione ed adattamento e dell'evoluzione degli usi del territorio. CoRiLa, Venezia.
- Cramp and Simmons, 1983, *Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa: The birds of Western Palearctic*. Oxford University Press, London.
- Dechaine, G. P., Gray, M. R., 2010. Chemistry and association of vanadium compounds in heavy oil and bitumen, and implications for their selective



- removal. *Energy Fuels* 24, 2795–2808.
- De Francisco, N., Ruiz Troya, J. D., Agüera, E. I., 2003. Lead and lead toxicity in domestic and free living birds. *Avian Pathol.* 32, 3–13. <https://doi.org/10.1080/0307945021000070660>
- Dessborn, L., Brochet, A. L., Elmberg, J., Legagneux, P., Gauthier-Clerc, M., Guillemain, M., 2011. Geographical and temporal patterns in the diet of pintail *Anas acuta*, wigeon *Anas penelope*, mallard *Anas platyrhynchos* and teal *Anas crecca* in the Western Palearctic. *Eur J Wildl Res.* 57:1119-1129.
- Dominik, J., Tagliapietra, D., Bravo, A. G., Sigovini, M., Spangenberg, J. E., Amouroux, D., Zonta, R., 2014. Mercury in the food chain of the Lagoon of Venice, Italy. *Marine pollution bulletin*, 88(1), 194-206.
- Eagles-Smith, C.A., Ackerman, J.T., De La Cruz, S.E.W., Takekawa, J.Y., 2009. Mercury bioaccumulation and risk to three waterbird foraging guilds is influenced by foraging ecology and breeding stage. *Environ. Pollut.* 157, 1993–2002. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.03.030>
- Eagles-Smith, C. A., Ackerman, J. T., Adelsbach, T. L., Takekawa, J. Y., Miles, A. K., Keister, R. A., 2008. Mercury correlations among six tissues for four waterbird species breeding in San Francisco Bay, California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27(10), 2136–2153
- Egwumah, F. A., Egwumah, P. O., Tyowua, B. T., 2017. An investigation of Chromium Toxicity in the Wild Population of Black-Headed Oriole *Oriolus brachyrhynchus* (Swainson, 1837) Using Atomic Absorption Spectrometry (AAS). *Int J Avian & Wildlife Biol.* 2(5): 00031. DOI: 10.15406/ijawb.2017.02.00031
- Einoder, L. D., MacLeod, C. K., Coughanowr, C., 2018. Metal and Isotope Analysis of Bird Feathers in a Contaminated Estuary Reveals Bioaccumulation, Biomagnification, and Potential Toxic Effects. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 75, 96–110. <https://doi.org/10.1007/s00244-018-0532-z>

- Eisler, R., 2000. Handbook of chemical Risk Assessment: Health hazards to humans, plants, and animals. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- Eisler, R., 1987. Mercury hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. U.S. Fish and Wildlife Service Biological Report 85(1.10).
- Evers, D.C., Savoy, L.J., Desorbo, C.R., Yates, D.E., Hanson, W., Taylor, K.M., Siegel, L.S., Cooley, J.H., Bank, M.S., Major, A., Munney, K., Mower, B.F., Vogel, H.S., Schoch, N., Pokras, M., Goodale, M.W., Fair, J., 2008. Adverse effects from environmental mercury loads on breeding common loons. *Ecotoxicology* 17, 69–81. <https://doi.org/10.1007/s10646-007-0168-7>
- Fairbrother, A., Wenstel, R., Sappington, K., Wood, W., 2007. Framework for Metals Risk Assessment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 68, 145–227. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.03.015>
- Fasola, M., Movalli, P. A., Gandini, C., 1998. Heavy Metal, Organochlorine Pesticide, and PCB Residues in Eggs and Feathers of Herons Breeding in Northern Italy. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 34, 87–93.
- Furness, R.W., Greenwood, J.J.D. (eds), 1993. Birds as monitors of environmental change. Chapman & Hall. London 1-356. ISBN 0-412-40230-0
- Gaetke, L.M., Chow, C.K., 2003. Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients. *Toxicology* 189, 147–163. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00159-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00159-8)
- Gál, J., Hursthouse, A., Tatner, P., Stewart, F., Welton, R., 2008. Cobalt and secondary poisoning in the terrestrial food chain: Data review and research gaps to support risk assessment. *Environ. Int.* 34, 821–838. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.10.006>
- Ginn, H. B., Mellville, D. S., 2013. Moulting in birds. The British Trust for Ornithology 1-112. ISBN 0-903793-02-4
- Giunchi, D., Baldaccini, N.E., Lenzoni, A., Luschi, P., Sorrenti, M., Cerritelli, G., Vanni, L., 2018. Spring migratory routes and stopover duration of satellite-

- tracked Eurasian Teals *Anas crecca* wintering in Italy. *Ibis* (Lond. 1859). 1–14. <https://doi.org/10.1111/ibi.12602>
- Green, A. J., Elmberg, J., 2014. Ecosystem services provided by waterbirds. *Biological reviews*. 89: 105-122. doi: 10.1111/brv.12045
- Grubb, T. C., Jr, 2006. *Ptilochronology, feather time of the biology of birds*. Oxford ornithology series.
- Hoffman, D. J., Rattner, B. A., Allen Burton, G., Jr, Cairns, J., Jr, (eds), 2003. *Handbook of ecotoxicology, Second Edition*. Lewis Publisher, CRC Press LLC 1-1290.
- Hosseini Alhashemi, A.S., Karbassi, A.R., Hassanzadeh Kiabi, B., Monavari, S.M., Nabavi, S.M.B., Sekhavatjou, M.S., 2011. Bioaccumulation of trace elements in trophic levels of wetland plants and waterfowl birds. *Biol. Trace Elem. Res.* 142, 500–516. <https://doi.org/10.1007/s12011-010-8795-x>
- Howell, N.R., Lavers, J.L., Uematsu, S., Paterson, D., Howard, D.L., Spiers, K., De Jonge, M.D., Hanley, T., Garrett, R., Banati, R.B., 2017. The Topobiology of Chemical Elements in Seabird Feathers. *Sci. Rep.* 7, 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01878-y>
- Hribšek, I., Jovičić, K., Karadžić B., Skorić S., 2017. Allocation of Metals and Trace Elements in Different Tissues of Piscivorous Species *Phalacrocorax carbo*. *Arch Environ Contam Toxicol.* 73:533-541.
- Karimi, M.-H. S, Hassanpour, M., Pourkhabbaz, A.-R., Blaszczyk, M., Paluch, J., Binkowsky, L. J., 2016. Trace Element concentrations in feathers of five Anseriformes in the south of the Caspian Sea, Iran. *Environ Monit Assess.* 188:22. DOI 10.1007/S10661-015-5015-3
- Kim, J., Koo, T.-H., 2008. Heavy Metal Concentrations in Feathers of Korean Shorebirds. *Arch Environ Contam Toxicol*, 55:122–128 DOI 10.1007/s00244-007-9089-y
- Kim, Y. H., Han, In K., Shin, I. S., Chae, B. J., Kang, T. H., 1996. Effect of dietary

- excessive chromium picolinate on growth performance, nutrient utilizability and serum traits in broiler chicks. *AJAS* 9, 349-354
- Levengood, M., Sanderson, G.C., Anderson, W.L., 1999. Acute toxicity of ingested zinc shot to game-farm mallards. *Illinois Nat. Hist. Surv.* 36, 1–36.
- Lodenus, M., Solonen, T., 2013. The use of feathers of birds of prey as indicators of metal pollution. *Ecotoxicology* 22, 1319–1334. <https://doi.org/10.1007/s10646-013-1128-z>
- Lucia, M., André, J.M., Gontier, K., Diot, N., Veiga, J., Davail, S., 2010. Trace element concentrations (mercury, cadmium, copper, zinc, lead, aluminium, nickel, arsenic, and selenium) in some aquatic birds of the southwest atlantic coast of France. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 58, 844–853. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9393-9>
- Mashroofeh, A., Bakhtiari, A.R., Ghobeishavi, A., Ahmadpour, M., Asadi, A., Ahmadpour, M., Hosseini, S.H., Eskandari, T., Burger, J., 2015. Mercury levels in avian feathers from different trophic levels of eight families collected from the northern region of Iran. *Environ. Monit. Assess.* 187, 275. <https://doi.org/10.1007/s10661-015-4482-x>
- Moskalyk, R.R., Alfantazi, A.M., 2003. Processing of vanadium: A review. *Miner. Eng.* 16, 793–805. [https://doi.org/10.1016/S0892-6875\(03\)00213-9](https://doi.org/10.1016/S0892-6875(03)00213-9)
- Muszyński, S., Tomaszewska, E., Kwiecień, M., Dobrowolski, P., Tomczyk, A., 2017. Effect of Dietary Phytase Supplementation on Bone and Hyaline Cartilage Development of Broilers Fed with Organically Complexed Copper in a Cu-Deficient Diet. *Biol Trace Elem Res*, 182:339–353
- Newman, M.C., 2014. *Fundamentals of ecotoxicology*, Fourth edition. CRC Press, Boca Raton Florida, USA, 1-680
- Park, S.Y., Birkhold, S.G., Kubena, L.F., Nisbet, D.J., Ricke, S.C., 2004. Review on the role of dietary zinc in poultry nutrition, immunity, and reproduction. *Biol. Trace Elem. Res.* 101, 147–163. <https://doi.org/10.1385/BTER:101:2:147>

- Plessl, C., Jandrisits, P., Krachler, R., Keppler, B.K., Jirsa, F., 2017. Heavy metals in the mallard *Anas platyrhynchos* from eastern Austria. *Sci. Total Environ.* 580, 670–676. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.013>
- Rattner, B.A., McKernan, M.A., Eisenreich, K.M., Link, W.A., Olsen, G.H., Hoffman, D.J., Knowles, K.A., McGowan, P.C., 2006. Toxicity and hazard of vanadium to mallard ducks (*Anas platyrhynchos*) and canada geese (*Branta canadensis*). *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A.* <https://doi.org/10.1080/15287390500398265>
- Sadeghi, M., Ghasempouri, S.M., Bahramifar, N., 2017. Xenobiotic and essential metals biomonitoring by feathers: molting pattern and feather regrowth sequence in four dominant waterfowl. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* <https://doi.org/10.1007/s13762-017-1557-y>
- Seco Pon, J. P., Beltrame, O., Marcovecchio, J., Favero, M., Gandini, P., 2011. Trace metals (Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, and Zn) in feathers of Black-browed Albatross *Thalassarche melanophrys* attending the Patagonian Shelf. *Marine Environmental Research.* 72, 40-45. doi: 10.1016/j.marenvres.2011.04.004
- Schmude, E., Ertl, H.M.H., Taylor, R.J., Mora, M.A., 2018. Using Feathers to Evaluate Adverse Effects of Metals on Northern Bobwhites (*Colinus virginianus*) in Texas. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 75, 87–95. <https://doi.org/10.1007/s00244-018-0520-3>
- Spallholz, J.E., Hoffman, D.J., 2002. Selenium toxicity: cause and effects in aquatic birds. *Aquat. Toxicol.* 57, 27–37. [https://doi.org/10.1016/S0166-445X\(01\)00268-5](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00268-5)
- Sparling, D. W., Lowe, T. P., Campbell P. G. C., 1997. Ecotoxicology of aluminium to fish and wildlife. In: Yokel RA, Golub MS (eds) *Research issues in aluminium toxicity.* Taylor and Frances, Washington, DC, 47-68
- Spina F. & Volponi S., 2008 - *Atlante della Migrazione degli Uccelli in Italia.* 1. non-Passeriformi. Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA).

Tipografia CSR-Roma, 1-800

- St. Clair, C. T., Baird, P., Ydenberg, R., Elner, R., Bendell, L. I., 2015. Trace elements in pacific Dunlin (*Calidris alpina pacifica*): patterns of accumulation and concentrations in kidneys and feathers. *Ecotoxicology* 24, 29–44. DOI 10.1007/s10646-014-1352-1
- Stendahl, D.H., Sprague, J.B., 1982. Effects of water hardness and pH on vanadium lethality to rainbow trout. *Water Res.* 16, 1479–1488. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(82\)90246-9](https://doi.org/10.1016/0043-1354(82)90246-9)
- Walker, C. H., Hopkin, S. P., Sibly, R. M., Peakall, D. B., 2003. Principles of ecotoxicology, Second edition. Taylor & Francis, 1-309.
- Whitney, M. C., Cristol, D. A., 2017. Impacts of sublethal mercury exposure on birds: a detailed review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*. 244. DOI 10.1007/398\_2017\_4.
- Zolfaghari, G., Esmaili-Sari, A., Ghasempouri, S. M., Baydokhti, R. R., Kiabi, B. H., 2009. A multispecies-monitoring study about bioaccumulation of mercury in Iranian birds (Khuzestan to Persian Gulf): Effect of taxonomic affiliation and trophic level. *Environmental Research* 109: 830–836.
- Zołotajkin, M., Ciba, J., Kluczka, J., Skwira, M., Smoliński, A., 2011. Exchangeable and bioavailable aluminium in the mountain forest soil of Barania Góra Range (Silesian Beskids, Poland). *Water. Air. Soil Pollut.* 216, 571–580. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0554-2>

## 8. SITOGRAFIA

<https://animalivolanti.xyz/uccelli/piumaggio-uccelli/#come-si-sviluppano-le-penne>

<https://www.hbw.com/ibc/photo/common-teal-anas-crecca/common-teal-anas-crecca-1>

<https://fineartamerica.com/featured/1-mallard-duck-family-jan-holden.html>

<https://milestonesci.com/ethos-accessories/>

# APPENDICI

**Tabella 1. Calcoli ptilocronologici delle penne delle alzavole; i nomi degli individui femminili riportano una lettera F vicino al numero associato casualmente al momento del prelievo delle penne e il colore rosa della cella; i nomi degli individui maschili riportano una lettera M vicino al numero associato casualmente al momento del prelievo delle penne e il colore azzurro della cella; il colore rosso attribuito al risultato e all'intestazione è stato assegnato casualmente per evidenziarli. Tutte le lunghezze sono in mm (precisione di 0.01 mm) e le età in giorni**

Alzavole ( <i>A. crecca</i> )								
Individuo	AC_F1	AC_F2	AC_F4	AC_M1	AC_M2	AC_M3	AC_M4	
Lunghezza tot (mm)	70.53	77.68	72.73	74.30	82.87	77.13	76.24	
Lunghezza 2/3 (mm)	20.99	9.64	17.06	29.25	30.29	23.81	18.95	
Lunghezza bande (mm)	1.92	2.26	2.19	3.17	2.18	2.11	2.97	
	2.19	4.28	3.45	2.63	2.92	2.45	3.90	
	2.28	3.30	4.15	2.58	6.13	3.40	2.94	
	2.10		2.57	2.38	4.44	4.20	2.70	
	2.60		2.13	2.56	3.63	1.98	3.03	
	1.60		2.77	4.04	3.04	3.32	3.36	
	3.61			2.57	4.95	2.53		
	1.77			2.53	3.53	2.89		
	3.20			2.86		1.52		
				1.77				
				2.44				
Lunghezza media bande (mm)	2.36	3.28	2.88	2.68	3.85	2.71	3.15	Media delle medie (mm) 2.99
Giorni di crescita	23.6	26.0	24.3	24.9	27.7	25.8	25.5	Età media penne (gg) 25.4



**Tabella 2. Calcoli ptilocronologici delle penne dei germani reali domestici, in cui la lettera S davanti al nome è stata assegnata casualmente per indicare che provengono da San Giorgio di Nogaro (UD); i nomi degli individui femminili riportano una lettera F vicino al numero associato casualmente al momento del prelievo delle penne e il colore rosa della cella; i nomi degli individui maschili riportano una lettera M vicino al numero associato casualmente al momento del prelievo delle penne e il colore azzurro della cella; il colore verde attribuito al risultato e all'intestazione è stato assegnato casualmente per evidenziarli. Tutte le lunghezze sono in mm (precisione di 0.01 mm) e le età in giorni.**

Germani reali domestici ( <i>A. platyrhynchos</i> )						
Individuo	AP_SF2	AP_SF3	AP_SF4	AP_SM1	AP_SM2	
Lunghezza tot (mm)	97.30	100.59	89.41	106.29	113.81	
Lunghezza 2/3 (mm)	64.87	67.06	59.60	70.86	75.87	
Lunghezza bande (mm)	4.12	2.77	3.96	3.01	5.69	
	4.23	2.66	3.18	3.27	5.48	
	3.29	3.39	3.01	2.74	3.53	
	4.38	2.60	4.00	3.49	3.32	
	4.91	2.95	3.23	3.36	4.72	
	3.70	3.93	2.47	2.22		
		2.47	1.98	3.23		
			2.13	2.47		
			2.59	2.04		
			1.87	3.32		
			2.95			
			1.77			
			3.14			
			2.24			
		2.44				
Lunghezza media bande (mm)	4.10	2.97	2.73	2.91	4.55	Media delle medie (mm) 3.45
Giorni di crescita	28.2	29.1	25.9	30.8	33.0	Età media penne (gg) 29.4

**Tabella 3. *Body burdens* medi riportati in µg/kg per tutte le specie analizzate; per gli anatidi sono riportati anche i valori medi per sesso. I colori sono attribuiti casualmente per agevolare la distinzione tra le specie target da quelle di confronto e tra i sessi e i valori totali degli anatidi. A fianco di ogni valore medio è riportato l'errore standard. Le virgole separano le migliaia e i punti separano le cifre intere dai decimali.**

	<i>A. platyrhynchos</i>			<i>A. crecca</i>		
	♂	♀	♂ + ♀	♂	♀	♂ + ♀
<b>Al</b>	2,979 ± 98	5,388 ± 99	4,184 ± 99	67,263 ± 390	83,928 ± 255	75,597 ± 323
<b>Ca</b>	453,409 ± 2,234	578,659 ± 3,126	516,034 ± 2,680	566,639 ± 4,059	694,670 ± 5,327	630,654 ± 4,693
<b>Cd</b>	5.6±0.2	5.2±0.3	5.4±0.2	42.5 ± 1.6	34.4 ± 1.8	38.4 ± 1.7
<b>Co</b>	5.8±0.2	10.8±0.3	8.3±0.3	32.5 ± 0.9	57.0±1.3	44.8 ± 1.1
<b>Cr</b>	448±21	485±16	467±19	563±25	478±14	521±20
<b>Hg</b>	18.2±0.9	11.0±0.5	14.6±0.7	641±9	707±20	674±14
<b>Pb</b>	31.5±0.8	54.1±1.4	42.8±1.1	1,591±11	357±4	974±8
<b>Cu</b>	11,462±53	10,398±40	10,930 ±46	12,810±59	9,386±40	11,098±49
<b>Se</b>	115±10	89±4	102±7	484±44	592±50	538±47
<b>V</b>	20.3±0.4	24.6±0.7	22.5±0.5	169±3	208±3	188±3
<b>Zn</b>	64,794±330	77,476±192	71,135±261	99,171±573	92,605±266	95,888±419

	<i>C. ridibundus</i>	<i>T. alba</i>	<i>P. carbo sinensis</i>	<i>F. coelebs</i>	<i>E. garzetta</i>
<b>Al</b>	2,936 ± 138	175,757 ± 1,148	239,781 ± 3,191	18,863 ± 392	136,643 ± 1,502
<b>Ca</b>	187,206 ± 2,072	353,751 ± 3,308	571,662 ± 4,552	307,033 ± 3,828	299,057 ± 1,447
<b>Cd</b>	9.9 ± 0.4	48.1 ± 1.1	107.2 ± 0.2	70.3 ± 1.4	21.2 ± 0.7
<b>Co</b>	9.1 ± 0.2	64.2 ± 0.6	337 ± 3	13.48 ± 1.04	42.44 ± 1.3
<b>Cr</b>	776 ± 34	886 ± 15	819 ± 5	1,116 ± 105	691 ± 17
<b>Hg</b>	6,877 ± 345	64.8 ± 2.4	1,471 ± 10	91.5 ± 8.5	2,756 ± 24
<b>Pb</b>	257 ± 3	1,132 ± 27	52,222 ± 282	512 ± 7	466 ± 4
<b>Cu</b>	4,491 ± 50	9,136 ± 29	15,218 ± 220	7,616 ± 37	11,938 ± 92
<b>Se</b>	314 ± 3	222 ± 5	531 ± 15	282 ± 28	204 ± 13
<b>V</b>	26.67 ± 1.02	389 ± 2	807 ± 4	107 ± 3	370 ± 2
<b>Zn</b>	99,438 ± 1,739	43,652 ± 133	81,773 ± 2,025	59,517 ± 632	70,713 ± 384

**Tabella 4. Tassi di deposizione medi riportati in  $\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$  per gli anatidi analizzati. I colori sono attribuiti casualmente per agevolare la distinzione tra le specie target e tra i sessi e i valori totali. Le virgole separano le migliaia e i punti separano le cifre intere dai decimali.**

	<i>A. platyrhynchos</i>			<i>A. crecca</i>		
	♂	♀	♂ + ♀	♂	♀	♂ + ♀
<b>Al</b>	101	183	142	2,647	3,303	2,975
<b>Ca</b>	15,427	19,689	17,558	22,302	27,341	24,821
<b>Cd</b>	0.2	0.2	0.2	1.7	1.4	1.5
<b>Co</b>	0.2	0.4	0.3	1.3	2.2	1.8
<b>Cr</b>	15.2	16.5	15.6	22.2	18.8	20.5
<b>Hg</b>	0.6	0.4	0.5	25.2	27.8	26.5
<b>Pb</b>	1.1	1.8	1.5	62.6	14.1	38.3
<b>Cu</b>	390	354	372	504	369	437
<b>Se</b>	3.9	3.0	3.5	19.0	23.3	21.2
<b>V</b>	0.7	0.8	0.8	6.6	8.2	7.4
<b>Zn</b>	2,205	2,636	2,420	3,903	3,645	3,774