

**CAPITOLO 2. SCOPO**



© Stefano Franceschetti (ritaglio)

Il lupo è un animale protetto sul territorio nazionale ed i termini della sua tutela sono espressi in numerose leggi, decreti e direttive. L'interesse verso la specie non si spiega solo con il tentativo di conservare la biodiversità, ma dipende anche da alcune caratteristiche proprie della specie.

La specie in esame, per le sue caratteristiche biologiche, ecologiche ed etologiche risulta essere molto importante nel contesto ambientale. Mech nel 1970 sosteneva che il lupo è fondamentale dal punto di vista ecologico per l'azione di eliminazione selettiva degli anelli deboli nelle popolazioni di prede, rimuovendo gli individui malati, vecchi o feriti.

È inoltre importante evidenziare che il lupo, come predatore, agisce direttamente come regolatore delle dimensioni delle popolazioni delle prede. In Appennino, le prede di elezione sono il cinghiale ed il capriolo, specie che per molteplici motivi (abbandono delle aree montane, introduzione, assenza di predatori naturali) causano ingenti danni, sia nel contesto agricolo sia nel contesto della sicurezza e della viabilità. È quindi opportuno sottolineare come la presenza del lupo sia molto importante per contenere le dimensioni di queste popolazioni e, quindi, limitarne i danni.

Lo studio in natura della specie attraverso il monitoraggio con tecniche non invasive, che non rischia di alterarne le abitudini o i comportamenti, è inoltre molto importante ai fini gestionali della specie. Conoscere la presenza di un predatore come il lupo è essenziale per capire come limitarne i danni. Il lupo è spesso accusato (a ragione o meno) di strage negli allevamenti: essere a conoscenza della presenza della specie sul territorio potrebbe permettere di agire preventivamente, riducendo il rischio di attacchi al bestiame.

Le conoscenze sulle abitudini territoriali della specie permettono di concludere che il lupo, pur non presentando requisiti particolari di habitat (MECH 1970, CARBYN 1987) generalmente si stabilisce in ambienti con determinate caratteristiche in termini di copertura vegetale, densità di prede e presenza antropica (FULLER 1995). Il lupo italiano si è evoluto in un ambiente fortemente antropizzato e questo, insieme alla forte persecuzione, gli ha permesso di sviluppare un comportamento estremamente elusivo. È stato però dimostrato che in condizioni estreme la specie si spinge in prossimità di paesi e città: questo è stato osservato in condizioni di scarsità di prede, quando i lupi arrivano a nutrirsi di rifiuti nelle discariche, oppure in condizioni di inverni particolarmente difficili (Febbraio 2012) quando alcuni individui feriti e denutriti si sono introdotti in stalle o cortili per cercare riparo. Nonostante questi eventi eccezionali, il lupo rimane un animale schivo che tende a evitare l'uomo, ma la

crescita demografica registrata negli ultimi anni unita alla mancanza di territori liberi ha costretto la specie ad espandere l'areale in ambienti più antropizzati.

Questo studio ha previsto l'elaborazione dei dati raccolti nel corso delle attività di monitoraggio effettuate, in modo irregolare, in seguito ai primi avvistamenti della specie nell'area protetta (2006). Le conoscenze pregresse messe a disposizione dall'Ente Parco e dai vari collaboratori hanno permesso di concentrare l'attività di monitoraggio nelle zone maggiormente frequentate dalla specie (o sospettate tali) e di definire gli obiettivi della tesi. Lo scopo di questa tesi è stato innanzitutto monitorare la presenza della specie in modo intensivo e con sforzo regolare (applicando le tecniche non invasive sperimentate per le specie elusive) nell'area di pertinenza del Parco Regionale dei Boschi di Carrega, dove dai primi avvistamenti è stato accertato un passaggio regolare della specie nonostante l'investimento di uno sforzo saltuario.

L'obiettivo finale è stato valutare l'efficacia delle diverse tecniche indirette standardizzate per il monitoraggio della specie contestualizzati al territorio in esame, rapportando i risultati ottenuti con le singole metodologie allo sforzo di campionamento ed al costo economico di attuazione delle stesse.

**CAPITOLO 3. MATERIALI E METODI**



© Mario Andreani \_ fototrappola (ritaglio)

Per poter mettere in atto un'efficace politica di gestione e conservazione del lupo è necessario disporre di informazioni adeguate sulla distribuzione, sulla consistenza e sulle dinamiche delle popolazioni. Per questo motivo il quadro normativo attuale richiede espressamente che il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, le Regioni e le Province realizzino un monitoraggio delle popolazioni di lupo (D.P.R. 357/97, art. 7 c. 2).

Si deve comunque evidenziare una generale scarsità ed inadeguatezza di dati disponibili sulla specie per l'Italia, in parte a causa delle effettive difficoltà connesse alla raccolta di dati sul lupo (che vive tipicamente a basse densità e con ampia dispersione, con un comportamento elusivo e che lascia tracce difficilmente identificabili o comunque facilmente confondibili con cani di grossa taglia) ed in parte a causa della mancanza di organizzazione, di coordinamento e di impegno che non permette una sistematica raccolta delle informazioni più facilmente accessibili (carcasse di lupi ritrovati morti, resti di predazione) (GENOVESI 2002).

Le tecniche utilizzate nel monitoraggio della specie sono state selezionate in base a principi di semplicità e per la possibilità di standardizzazione. Un aspetto critico della loro applicazione è l'impossibilità di misurare l'accuratezza e la precisione delle stime che ne derivano (GENOVESI 2002).

In generale, il monitoraggio permette di rispondere ad alcune domande (GENOVESI 2002), tra cui:

- È presente il lupo?
- La presenza della specie è stabile o occasionale?
- Quali e quanti danni fa il lupo, qual è la loro distribuzione e che impatto hanno sull'economia locale?
- Quanti nuclei riproduttivi sono presenti e da quanti individui è composto ciascun nucleo?
- Quali parametri demografici (mortalità, natalità, classi d'età, rapporto sessi) e sanitari caratterizzano la popolazione?

Per rispondere a queste domande, sono state quindi utilizzate diverse tecniche: raccolta di campioni per la tipizzazione genetica durante tutto l'anno, tracciatura su neve nel periodo invernale, ululato indotto nel periodo estivo, utilizzo di fototrappole in sospetti punti di passaggio, analisi di resti di predazione.

### 3.1 AREA DI STUDIO

Nel corso del progetto “Conservazione e gestione del Lupo su scala regionale: proposta per la gestione associata di un progetto di ricerca e monitoraggio delle unità territoriali di Lupo nelle zone di crinale” attuato nel biennio 2006-2007, il territorio provinciale è stato suddiviso in 15 settori sulla base di caratteristiche orografiche, antropiche e di uso del suolo e di pregresse conoscenze sulla distribuzione della specie.

L’area di studio di questa tesi si inserisce nel settore 15 “Bassa Val Baganza – Boschi di Carrega e Monte Prinzerà”, che complessivamente si estende dal comprensorio di collina definito in modo da comprendere l’area del Parco Regionale dei Boschi di Carrega ed i comprensori del Monte Prinzerà e del “###”.

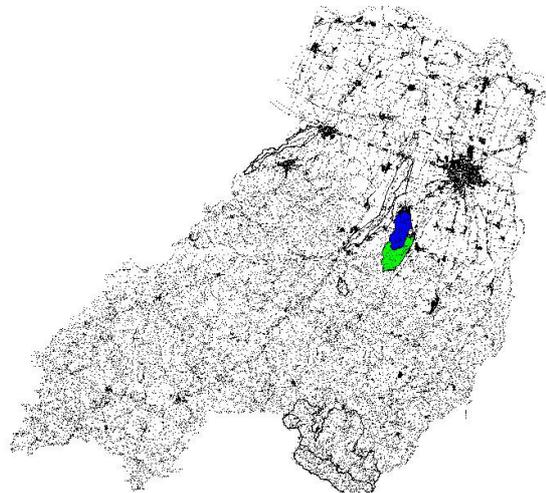


Fig. 36.: Rappresentazione cartografica della localizzazione del Parco sul territorio provinciale.

Per questa tesi l’area di studio è stata circoscritta al solo territorio di competenza del Parco Regionale dei Boschi di Carrega per ottimizzare lo sforzo e poter attuare con maggiore regolarità il monitoraggio. In particolare l’attività è stata concentrata su due transetti, uno interno al Parco ed uno nell’immediata zona di Pre-Parco, percorsi con cadenza settimanale dall’inizio di Novembre 2011 alla fine di Febbraio 2013.

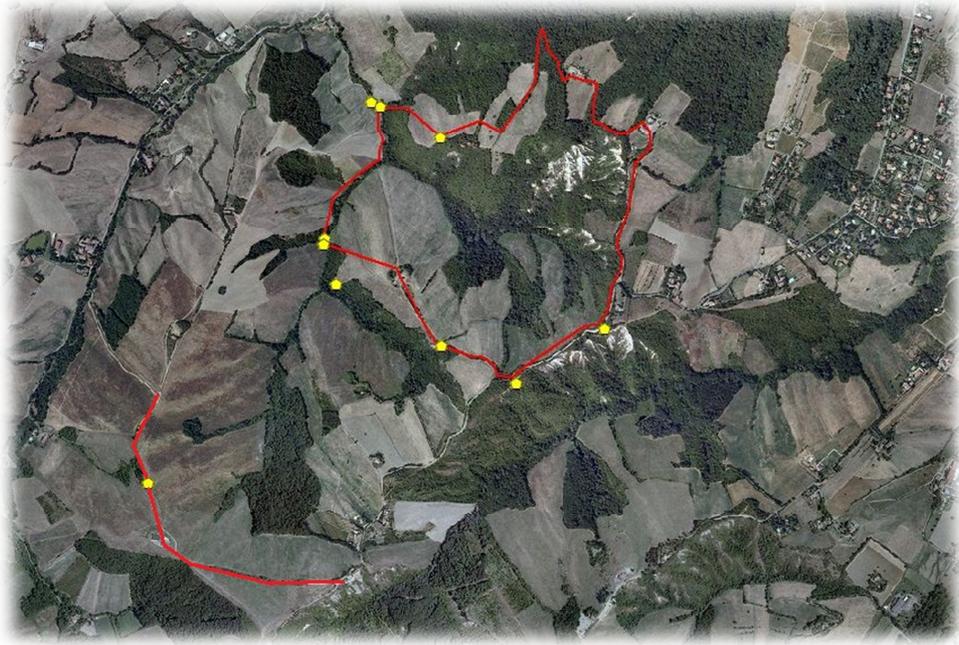


Fig. 37.: Rappresentazione da satellite della localizzazione dei due transetti (in rosso).

Il percorso circolare, in località “ \*\*\* “, è stato costruito per delimitare l’area di rendez-vous utilizzata dalla specie negli anni precedenti (individuato attraverso wolf-howling nel 2006). Questo transetto, percorso con cadenza settimanale da Novembre 2011 a Febbraio 2013 ha permesso di tenere monitorata l’area che con maggiore probabilità vedeva la presenza (o il passaggio) del lupo.

Il percorso lineare, in località “ +++ “, è stato aggiunto a Novembre 2012 nell’indagine dei punti di entrata/uscita dal Parco.

### 3.2 SEGNI DI PRESENZA ED ANALISI GENETICHE

I segni di presenza (escrementi, tracce, ululati, avvistamenti) devono essere attentamente valutati e verificati poiché presentano tutti un notevole rischio di errore di attribuzione: impronte ed escrementi sono praticamente indistinguibili da quelli di un cane medio-grande, ma anche ululati ed avvistamenti fugaci rendono spesso difficile discriminare chiaramente tra lupo e cane (GENOVESI 2002).

L'attribuzione di escrementi ed impronte va affidata ad operatori particolarmente esperti e necessita di una conoscenza approfondita dell'area di studio e di repliche di campionamento nel tempo. Per quanto riguarda gli escrementi, non esistono caratteri effettivamente diagnostici (dimensione, contenuto, posizione, frequenza di deposizione), ma le informazioni devono essere considerate alla luce della densità e della presenza relativa di lupi e cani di taglia medio-grande nel territorio in questione. L'esatta attribuzione di escrementi (e di peli) può essere fatta sulla base di analisi genetiche (GENOVESI 2002).

#### 3.1.1. CRITERI DI SELEZIONE E RACCOLTA DEI CAMPIONI

Riuscire a distinguere gli escrementi di lupo (Fig. 38) da quelli di altri carnivori, come cane e volpe, è molto difficile soprattutto perché non esiste un criterio univoco che permetta tale distinzione. In fase di raccolta si tenta quindi di adottare una serie di criteri che, pur non permettendo una distinzione certa se presi singolarmente, contribuiscono a diminuire la probabilità di errori nell'attribuzione e, quindi, nel campionamento (CIUCCI 1994, CIUCCI E BOITANI 1998). I criteri utilizzati sono quindi:

- Diametro  $\geq 2,5-3,0$  cm (WEAVER E FRITTS 1979): in questo modo è stato possibile ridurre il rischio di raccolta di campioni di volpe o di cani di piccola taglia, pur aumentando la possibilità di scartare un certo numero di escrementi comunque appartenenti a lupo.
- Volume di circa 100 cc: inteso come dimensione generale dell'escremento e stimato ad occhio al momento della raccolta.
- Odore acre caratteristico della specie, a volte dovuto alla secrezione delle ghiandole anali (ASA ET AL. 1985, CIUCCI E BOITANI 1998, HARRINGTON E ASA 2003).
- Zona di ritrovamento all'interno dell'area di studio.
- Frequenza di ritrovamento nei siti di deposizione ed indice del comportamento di marcatura (VILÀ ET AL. 1994, HARRINGTON E ASA 2003).

- Ricorrenza di passaggio e frequenza relativa di cani e lupi nella zona di rinvenimento.
- Presenza di altri segni specie-specifici come impronte, peli, etc.



Fig. 38.: Escrementi di lupo.

Talvolta sono stati raccolti campioni che non rispettavano questi criteri, qualora considerati importanti per la presenza di particolari caratteristiche (a livello di contenuto o di localizzazione).

Nel contesto dello studio in atto, sono stati raccolti esclusivamente i campioni considerati freschi, cioè deposti al massimo una settimana prima, anche se è stata considerata una certa variabilità determinata dalle condizioni ambientali (temperatura, esposizione ai fattori climatici) per l'influenza che esse hanno sulla qualità del materiale genetico nei campioni fecali (RANDI ET AL. 2000, RANDI E LUCCHINI 2002). È stato infatti dimostrato che solo per i campioni freschi si ottiene un'elevata percentuale di successo nell'estrazione e nel sequenziamento del DNA (LUCCHINI ET AL. 2002, RANDI 2002), questo perché il DNA contenuto negli escrementi si degrada facilmente se esposto a calore, luce, pioggia, oppure se intaccato da muffe o batteri.

L'età dei campioni veniva valutata soggettivamente in base alle caratteristiche dell'escremento tenendo conto di alcuni criteri di valutazione quali:

- Aspetto esterno del campione: gli escrementi freschi appaiono ricchi di matrice, umidi, di consistenza duttile, solitamente ricoperti da un sottile strato di muco, marcatamente odorose e spesso, se il pasto precedente è stato a base di carne, di colore scuro e consistenza semiliquida (MECH 1970, JHALA 1993, FLOYD ET AL. 1978, WEAVER 1993).
- Calendario di raccolta: la frequenza di percorrenza del circuito di raccolta ed il tempo trascorso dall'ultimo svolgimento.

- Esposizione del sito di deposizione: fattori come il vento, le alte temperature e l'esposizione al sole aumentano la velocità di essiccazione e fanno sì che le eliche di DNA si deteriorino più rapidamente (CIUCCI 1994).
- Nel caso di escrementi ritrovati su tracciatura, l'età del campione è stata attribuita in base alla stima dell'età della tracciatura.

Per ogni campione raccolto è stata compilata una scheda (Fig. 39), dove vengono riportate tutte le informazioni utili per l'identificazione del campione: codice campione, località di raccolta (toponimo e coordinate UTM32), nome dell'operatore, data, substrato di deposizione (utile nello studio del comportamento di marcatura).

Dagli escrementi giudicati idonei sono stati prelevati campioni di circa 2-3 cm<sup>3</sup> di materiale fecale e riposti in contenitori sterili contenenti etanolo al 95%. Questi campioni sono stati successivamente conservati in freezer ad una temperatura di -20°C e ad ogni contenitore è stata applicata un'etichetta di riconoscimento completa di codice campione.

Per lo svolgimento di questa attività è stato quindi indispensabile l'utilizzo di alcuni strumenti, quali:

- Palmare GPS Garmin Oregon per la registrazione delle posizioni di latitudine e longitudine.
- Contenitori sterili preventivamente riempiti con etanolo al 95%.
- Etichette e schede di raccolta.
- Matita per la compilazione dell'etichetta (l'inchiostro renderebbe illeggibile il codice nell'eventualità di una fuoriuscita di etanolo).



**Scheda raccolta escrementi lupo**  
**Centro Referenza Lupo Parma**  
**c/o Parco Regionale Boschi di Carrega**



ID campo: ..... ID reg: .....

Raccogliitore: ..... Data: .....

Comune: ..... Località: .....

Coordinate (UTM32): X ..... Y .....

Substrato di deposizione: (t) terreno; (c) cespuglio; (r) roccia; (n) neve; (a) asfalto  
 Altro: .....

.....

Campione raccolto :  
 (n) su tracciatura su neve, sess.....(t) lungo transetto n..... settore.....  
 (r) sito di rendez vous (c) nei pressi di una carcassa (i) associato ad altri  
 campioni

Data di deposizione : (1) max 1 giorno; (2) < 1 settimana; (3) > una settimana  
 Sito di marcatura (r) ricorrente (p) possibile (nr) non ricorrente  
 Priorità di analisi genetica (a) alta (m) media (b) bassa

Note:  
 .....  
 .....

Fig. 39.: Scheda di raccolta.

### 3.1.2. GENETICA NON INVASIVA

La genetica non invasiva si può applicare ad una grande varietà di campioni biologici lasciati dall'animale nell'ambiente, dai campioni fecali (TABERLET ET AL. 1996 E 1999, KOHN E WAYNE 1997, KOHN ET AL. 1999) ai bulbi piliferi (GOOSSENS ET AL. 1998, FLAGSTAD ET AL. 1999, WOODS ET AL. 1999), dalla saliva all'estro o alle tracce di sangue, evitando di intervenire direttamente sull'individuo ed preservandolo da situazioni stressanti (MORIN 2001, RANDI 2002, LUCCHINI ET AL. 2002). La tecnica generalmente permette di riconoscere: la specie di appartenenza, il sesso, il genotipo, la popolazione di origine degli individui campionati.

Per quanto riguarda il lupo, gli escrementi sono i campioni biologici più facilmente reperibili su campo, e le analisi si sviluppano prevalentemente in questa direzione. I peli non sono facilmente rinvenibili nell'ambiente e ne servirebbero molti dal momento che il DNA nei peli si presenta spesso a concentrazioni basse ed altamente spezzettato, con conseguente aumento del rischio di errore nella genotipizzazione (MILLER ET AL. 2002). Inoltre spesso i peli rinvenuti nelle attività di monitoraggio (ad esempio impigliati in fili spinati o trattenuti nella neve negli acciambellamenti) sono privi di bulbo, e quindi inutili ai fini delle analisi poiché il DNA è contenuto proprio in questo.

Le tecniche di laboratorio di genetica non invasiva permettono di estrarre il DNA mitocondriale e nucleare delle cellule di sfaldamento dell'epitelio intestinale che residuano negli escrementi. Questa tecnica, nei limiti di affidabilità dei risultati, offre un valido ausilio nell'interpretazione delle ipotesi formulate sulla base dei risultati ottenuti con le altre metodologie di monitoraggio (FARREL ET AL. 2000, LUCCHINI ET AL. 2005, ANDREANI 2007).

La tecnica della genetica non invasiva permette, nel caso del lupo (LUCCHINI ET AL. 2005) di:

- Riconoscere la specie (*Canis lupus*) dalle altre specie sistematicamente ed ecologicamente affini, come il cane (*Canis lupus familiaris*) e la volpe (*Vulpes vulpes*).
- Determinare la popolazione di origine, se italiana (*Canis lupus italicus*), europea o extraeuropea.
- Tipizzare un individuo sulla base del genotipo unico.
- Determinare il sesso dell'individuo.

Nel dettaglio, questa analisi applicata agli escrementi permette quindi di definire:

- la presenza della specie Lupo nell'area di studio e, attraverso un monitoraggio regolare e costante, di dedurre quali siano gli individui residenti per poi definirne gli ambiti territoriali.
- la presenza di cani o eventuali ibridi di prima o seconda generazione nell'area di studio.
- evidenziare il grado di parentela degli individui nell'area di studio.
- comprendere gli spostamenti e definire eventuali individui in dispersione.
- creare una mappa spazio-temporale delle localizzazioni degli individui tipizzati e dei branchi nell'area di studio, comparandole con altre osservazioni risultate durante la ricerca.
- definire la composizione e l'associazione del branco nel caso dei campioni ritrovati su tracciatura.

Le analisi genetiche sono state svolte presso il laboratorio di genetica dell'ISPRA ed hanno riguardato sia il DNA nucleare sia quello mitocondriale. Il laboratorio ha codificato i campioni tipizzati con un codice crescente, ad esempio "WPR1": W indica che si tratta di lupo; PR indica la provincia di raccolta, quindi Parma; 1 indica il primo animale campionato nell'area in esame.

Il DNA può essere presente in due forme:

- mtDNA: il DNA mitocondriale viene ereditato esclusivamente dalla madre, viene utilizzato generalmente per determinare la specie e la linea materna (WOOD E STROBECK 2000). Per le sue caratteristiche viene utilizzato nella tipizzazione delle popolazioni di animali selvatici e nella ricostruzione della filogenesi della specie. Il DNA mitocondriale è presente in numerose copie in ogni cellula e questo ne permette una maggiore frequenza di amplificazione rispetto ai geni nucleari (KOHN E WAYNE 1997, LUCCHINI ET AL. 2002). Inoltre l'mtDNA presenta un'estrema semplicità strutturale, l'assenza di fenomeni ricombinativi ed una maggiore variabilità (cioè un elevato tasso di mutazione)(LUCCHINI ET AL. 2005).
- nDNA: il DNA nucleare viene ereditato da entrambi i genitori ed è utilizzato per identificare gli individui (DNA fingerprint o "impronta digitale"), la paternità (CRAIGHEAD ET AL. 1995), il grado di eterozigosi (STROBECK E PAETKAU 1994) ed il sesso (HENDRICK E MILLER 1992). L'impronta digitale genetica rimane identica per

tutta la vita dell'individuo e, una volta definita, viene confrontata con gli altri genotipi determinati sul territorio (WOODS E STRONBECK 2000).

Per l'identificazione della specie le indagini vengono condotte sul DNA mitocondriale, in particolare il sequenziamento interessa la parte ipervariabile della regione di controllo (mtDNA CR), diagnostica per la popolazione italiana di lupi (RANDI ET AL. 2000). Il DNA mitocondriale identifica però esclusivamente la linea materna, per cui un'ulteriore verifica della determinazione della specie viene ottenuta utilizzando sei loci microsatelliti: grazie a queste analisi è possibile distinguere tra la popolazione italiana di lupi e quella di cani, oltre ad identificare gli animali ibridi anche a livello di DNA nucleare.

La determinazione del sesso avviene attraverso l'analisi del gene ZFX/ZFY, un frammento di 430 nucleotidi posto sui cromosomi sessuali. Questo gene, essendo più lungo rispetto ai microsatelliti, è più debole e più facilmente degradato. Le sequenze di ZFX e ZFY vengono amplificate mediante PCR (40 cicli) e da ogni prodotto di PCR si ottiene un modello sesso-specifico di RFLP in seguito a digestione con 10 unità di HaeIII. Le sequenze vengono quindi fatte correre in elettroforesi su gel di agarosio al 4%, da cui si ottengono due bande visibili nei maschi ed una sola nelle femmine. Poiché i primer utilizzati per l'amplificazione di ZFX e ZFY sono comuni a molti vertebrati si ha un elevato rischio di amplificazione del DNA delle prede, per questo motivo è necessario confrontare le sequenze genotipiche individuali ricavate con sequenze omologhe di potenziali prede (caprioli, pecore, suidi, cavalli).

Per i campioni fecali collezionati ed inviati all'ISPRA sono stati calcolati:

- la resa di tipizzazione: il numero di campioni fecali la cui analisi ha permesso di ottenere il profilo genetico dell'individuo (DNA fingerprinting) rispetto al numero totale di campioni inviati.
- l'errore di raccolta: il numero di campioni fecali che in seguito alle analisi genetiche si sono rivelati essere di altre specie (cane, volpe) rispetto al numero totale di campioni raccolti e classificati come appartenenti a lupo.
- la resa di attribuzione del sesso: numero di campioni fecali che hanno permesso di risalire all'identità sessuale dell'individuo rispetto al numero totale di campioni fecali analizzati.
- la resa di attribuzione della specie: numero di campioni fecali che hanno reso come risultato dell'analisi il riconoscimento della specie di appartenenza dell'individuo rispetto al numero totale di campioni analizzati.

### 3.3 TRACCIATURA SU NEVE

Questa tecnica di monitoraggio era già ampiamente utilizzata in Nord America negli anni '50 (DE VOS 1950, ROWAN 1950, THOMPSON 1952) e consiste nel rilevare le tracce lasciate dai lupi sul manto nevoso ed analizzarne le piste, valutando andamento e composizione. Inizialmente questa tecnica veniva utilizzata per effettuare una stima della consistenza numerica della popolazione e degli spostamenti dei singoli membri del branco (DE VOS 1950, ROWAN 1950), ma successivamente venne abbinata ad altre tecniche di indagine e monitoraggio, come l'analisi degli escrementi, la radio-telemetria o il wolf-howling) per raccogliere informazioni sulla biologia della specie. In questo modo fu possibile acquisire conoscenze sul rapporto del lupo con le prede (THOMPSON 1952), sull'utilizzo dell'home range (Joslin 1967) e sul comportamento di marcatura (ROTHMAN E MECH 1979).

Il rilevamento delle piste può essere effettuato sia seguendo le tracce da terra sia sorvolando a bassa quota l'area in esame con piccoli aeroplani, anche se quest'ultima modalità non è praticabile nella realtà appenninica vista l'importante copertura forestale (MECH 1966, CRETE E MESSIER 1987).

È importante sottolineare che in Nord America spesso la tracciatura su neve è associata alla radio-telemetria (CRETE E MESSIER 1987, WALTON ET AL. 2001) e questo permette di ottenere informazioni sulla dinamica di popolazione che non si potrebbero ottenere altrimenti (mortalità, dispersione, interazione con le prede) (FULLER ET AL. 2003). In Europa per diversi motivi (finanziari, topografici ed antropici) la radio-telemetria è raramente applicata e le tracciate continuano ad essere una tecnica molto utilizzata per il monitoraggio del lupo (CIUCCI 2001). Nonostante la tracciatura su neve sia una tecnica molto semplice, è soggetta ad una serie di limiti e fonti d'errore che devono essere considerati sia nella fase di programmazione dell'attività sia in fase di elaborazione dei risultati (CIUCCI E BOITANI 1999, CIUCCI 2001).

Il principale limite di questa tecnica è costituito dal suo assunto fondamentale, per cui "le tracce di lupo siano identificate con certezza e non vengano confuse con quelle di cani di media-grossa taglia": cani e lupi non sono però facilmente distinguibili in base ad una singola impronta (HARRIS E REAM 1983) e non sempre le piste dei cani sono diverse da quelle dei lupi (BOITANI ET AL. 1985). Per limitare il più possibile gli errori di attribuzione delle tracce durante la fase di ricerca sul campo è stato applicato un approccio conservativo basato sulla conoscenza dell'area di studio da parte degli operatori, in modo tale da poter identificare la presenza di cani inselvatichiti o vaganti e delle zone ritenute più a rischio anche grazie

all'osservazione di una serie di elementi come la localizzazione, l'andamento, la frequenza e segni di presenza antropica (impronte o segni di pneumatici) (CIUCCI 1994). D'altra parte l'applicazione delle tecniche di indagine genetica ai campioni fecali raccolti durante la tracciatura ha permesso di evidenziare eventuali errori, supportando i risultati.

Durante la tracciatura è prevista la raccolta di eventuali campioni biologici e la registrazione di informazioni di vario tipo, quali:

- il numero di aperture ad asola per stimare il numero di lupi presenti sulla stessa tracciatura (CIUCCI 1994)
- il numero ed il tipo di marcature per stimare il sesso e lo stato sociale degli individui seguiti (ROTHMAN E MECH 1979, BEKOFF 1980)
- il numero ed il tipo di campioni biologici (Fig. 40), come la presenza di sangue come indicazione della fase proestrile della femmina (PACKARD 2003), i campioni fecali usati nelle indagini genetiche non invasive (LUCCHINI ET AL. 2002) e le urine per analizzare il comportamento di marcatura e lo stato nutrizionale (ROTHMAN E MECH 1979, MECH ET AL. 1987, ASA ET AL. 1990)
- il tipo di attività, come la presenza di resting-site (depressioni di forma circolare formate in seguito allo schiacciamento della neve ad opera delle zampe e del corpo acciambellato del lupo, dove possono essere ritrovati peli trattenuti dalla neve) che indicano un periodo di riposo dell'animale, episodi di predazione, l'ispezione dei giacigli utilizzati dagli ungulati oppure il recupero di fonti di cibo precedentemente sotterrate (food-caching, MECH 1970).

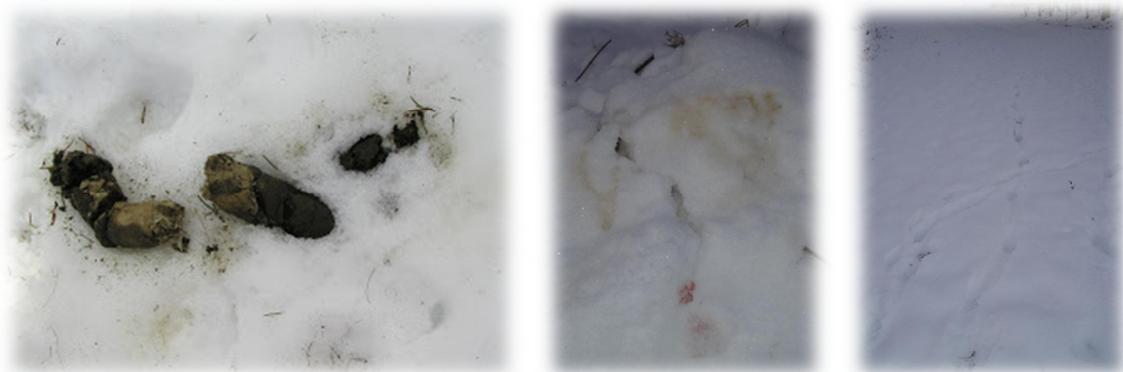


Fig. 40.: Esempi di campioni biologici (fatta, urina e sangue) ritrovati in prossimità di una pista e di apertura di una traccia.

Per quanto riguarda gli episodi di predazione, questi eventi sono facilmente ricostruibili su neve attraverso la raccolta di indizi come:

- segni di inseguimento e di lotta (impronte sulla neve)
- spruzzi di sangue sul terreno
- ciuffi di pelo della preda strappati durante l'inseguimento
- rami e vegetazione spezzata, che possono trattenere pelo della preda e/o dei lupi
- ematomi sottocutanei diffusi dovuti alla lotta, a traumi subiti durante la fuga ed a ferite da attacco e presa sulla preda

In assenza di questi indizi è impossibile stabilire con certezza la causa della morte della preda. Nell'identificazione delle urine rinvenute su neve si tiene conto delle posture di minzione alle quali si può risalire con una certa accuratezza analizzando i segni lasciati sulla neve (BECKOFF 1980). In particolare si distinguono le RLU ("Raised-leg urination") attribuite ai maschi dominanti, le SQU ("Squat urination") tipiche delle femmine e degli individui immaturi o subordinati e le FLU ("Flexed-leg urination") attribuite alle femmine dominanti (ROTHMAN E MECH 1979, MECH ET AL. 1987, ASA ET AL. 1990). Questa distinzione permette di distinguere verosimilmente gli individui che hanno prodotto uno specifico getto d'urina, in particolare distinguendone il sesso grazie alle differenze anatomiche dell'apparato uro-genitale.

Nel contesto della ricerca per la quale è stato svolto il monitoraggio attraverso questa tecnica, la tracciatura su neve ha permesso di acquisire informazioni relative alla presenza/assenza della specie (in termini di lupi territorialmente stabili ed escludendo quindi i lupi transienti), alle principali aree di attività e le principali direttrici di spostamento, alla dimensione e composizione del branco ed all'associazione e lo stato riproduttivo dei componenti del nucleo familiare.

L'efficacia di questa tecnica è strettamente correlata alla frequenza ed alle condizioni della neve, e questo rende incerta la possibilità di effettuare un numero significativo di repliche.

Il circuito è stato percorso a partire da 36-48 ore dall'ultima nevicata poiché si verificavano le condizioni ottimali per distinguere le tracce più recenti da quelle preesistenti. L'attesa permette ai lupi di compiere spostamenti all'interno del territorio, aumentando quindi la probabilità di intercettarne le piste. Un intervallo di tempo maggiore potrebbe però compromettere la lettura delle tracce, sia per il mutamento delle condizioni del substrato nevoso, sia per l'interferenza di tracce di altra natura (animali selvatici, domestici, uomo), sia per la sovrapposizione di cicli di attività degli stessi lupi (CIUCCI E BOITANI 1999, CIUCCI 2001). Il circuito è stato percorso a piedi con l'ausilio di racchette da neve e, qualora durante il circuito fossero stati intercettati gli spostamenti dei lupi, questi sarebbero stati seguiti in

senso opposto al loro senso di marcia (intuito dalla pista) per non arrecare disturbo agli animali (Fig. 41).



Fig. 41.: Immagine esplicativa della direzione da seguire al ritrovamento di una pista.

L'età delle tracce viene valutata considerando diversi fattori, tra cui il tempo trascorso dall'ultima nevicata e dall'ultima percorrenza del circuito, lo stato della neve e l'aspetto delle tracce. Questo metodo di datazione delle tracce ne permette la stima di un intervallo di riferimento e non la definizione di un valore preciso (CIUCCI 1994). Eventuali piste di lupi ritrovate sono state registrate attraverso palmare GPS Garmin e-Trex e la direzione dello spostamento è stata definita con l'ausilio di una bussola. Al rinvenimento di ogni traccia è prevista la compilazione di una specifica scheda cartacea e le informazioni ivi riportate verranno successivamente digitalizzate in GIS. Tra le informazioni importanti in questo contesto, si ricordano:

- lo sforzo di campionamento: quantità di lavoro effettuato da ciascun operatore durante l'uscita in cerca delle tracce, esprimibile in termini di km percorsi o di numero di ore impiegate
- sessione: ricostruzione continua di un tragitto di lupi realizzata seguendone le tracce nella neve, intesa senza interruzioni della pista
- tracciatura: se la sessione ha portato alla ricostruzione del tragitto dei lupi, corrisponde al segmento di attività ricostruito
- resa di campionamento: rapporto tra il campionamento effettivo (tracciatura) e lo sforzo di campionamento (tragitto percorso a piedi dagli operatori) espresso come  $\text{km tracciatura} / \text{km delle sessioni}$  oppure come numero di sessioni che hanno portato alla tracciatura / numero di sessioni totali

Per evitare il rischio di una sovrastima, il conteggio del numero di lupi presenti su una tracciatura è stato fatto considerando come numero massimo il valore desunto dalle aperture ad asola, solamento qualora queste fossero più di una.

In entrambe le stagioni di applicazione di questa tecnica (Inverno 2011 ed Inverno 2012) è stato presente un unico operatore attivo sul territorio in esame. Questo ha permesso una raccolta dati regolare ma limitata ai soli transetti descritti in precedenza.

Il monitoraggio attraverso questa tecnica è stato limitato all'area di competenza del Parco Regionale dei Boschi di Carrega. La copertura nevosa nell'area di studio è stata sporadica, discontinua e di breve persistenza durante il periodo di svolgimento di questa tesi. Questo non ha permesso di mettere in atto un monitoraggio intensivo ed efficace.

### 3.4 WOLF-HOWLING

L'ululato è la principale forma di comunicazione a lungo raggio del lupo e ad esso sono state attribuite molteplici funzioni:

- Riunione di individui di uno stesso branco temporaneamente separatisi (THEBERGE E FALLS 1967, TOOZE ET AL. 1990)
- Coesione e sincronia sociale tra individui di uno stesso branco: questi ululati sarebbero “contagiosi” all'interno del branco ed è stata evidenziata una relazione tra il verificarsi di questi ululati di gruppo e momenti di forte eccitazione del branco, come quelli immediatamente precedenti la caccia (MECH 1970, ZIMEN 1981)
- Difesa del territorio: questo aspetto sarebbe evidenziato dal fatto che generalmente i branchi che rispondono all'ululato indotto permangono nella medesima posizione mentre quelli che non rispondono si allontanano. Inoltre questo comportamento è accentuato in presenza di risorse collegate al successo riproduttivo come una carcassa o la presenza di cuccioli (HARRINGTON E MECH 1979, HARRINGTON E ASA 2003). L'ululato sarebbe quindi una forma di marcatura ad ampio raggio con effetto immediato (HARRINGTON E MECH 1979) che consente di minimizzare gli incontri e gli scontri con branchi rivali (JOSLIN 1967).
- Accoppiamento: è stata registrata la tendenza dei lupi in cattività ad ululare durante il periodo riproduttivo (ZIMEN 1981), ma un legame è stato evidenziato anche in natura, dove è stato visto che individui solitari tendono ad avvicinarsi piuttosto che a rispondere (HARRINGTON E MECH 1979) e questo indicherebbe un ruolo nella localizzazione di potenziali compagni.

La specie tende naturalmente a rispondere ad ululati emessi da altri individui (PIMLOTT 1960) e questa propensione è sfruttata in Nord America dagli anni '60 a scopo di monitoraggio utilizzando come stimolo la riproduzione amplificata di ululati registrati oppure un'imitazione umana (CIUCCI E BOITANI 1999). L'applicazione dell'ululato indotto come tecnica di monitoraggio durante il periodo estivo può favorire l'acquisizione di informazioni altrimenti non ottenibili, come la localizzazione dei rendez-vous site e la stima del numero di branchi riproduttivi e stabili su un determinato territorio.

Inizialmente il wolf-howling veniva utilizzato per ricavare degli indici di presenza e per calcolare stime della composizione e della dimensione dei branchi (JOSLIN 1967, THEBERGE E STRICKLAND 1978). Successivamente questo metodo è stato sottoposto a valutazioni

sperimentali per testarne l'affidabilità e definire quali fossero le ideali condizioni di utilizzo, come in uno studio svolto da Harrington e Mech nel 1982 su una popolazione di lupi radiocollari nella Superior National Forest in Minnesota. In seguito all'analisi dei fattori che influenzano maggiormente le risposte agli ululati indotti e sulla base dei risultati ottenuti è stato prodotto il protocollo applicativo della tecnica, che può essere utilizzata su piccole aree (saturation census) e su territori ampi (sampling census).

I risultati ottenuti da Harrington e Mech evidenziano un maggior tasso di risposta durante il periodo estivo (luglio-agosto), anche se si sottolinea un momento caratterizzato da un alto tasso di risposta anche nella stagione invernale (febbraio-aprile) che però non raggiunge il valore estivo. Questo risultato, unitamente alla caratteristica maggiore stanzialità estiva dovuta alla presenza dei cuccioli, porta gli autori a consigliare l'utilizzo della tecnica in estate per individuare i branchi territorialmente stabili nell'area di studio. La tendenza a rispondere sembra inoltre essere influenzata dal tipo di ululato (singolo o di gruppo in rapporto al numero di componenti del branco), dalla dimensione del branco, dall'associazione e dalla localizzazione del branco nel territorio. Nel caso di branchi piccoli, è stato visto che il tasso di risposta è minore fuori dal rendez-vous e che individui singoli durante gli spostamenti tendono a non rispondere (HARRINGTON E MECH 1982).

In conclusione, il wolf-howling non permette di censire gli individui presenti nell'area di studio a causa della difficoltà di stabilire il numero esatto di individui che partecipano al coro, bensì, qualora si ottenga risposta, consente di stimare il numero di branchi riproduttivi presenti in virtù del fatto che l'ululato dei cuccioli è facilmente distinguibile da quello degli adulti: la tecnica permette quindi di stabilire presenza e localizzazione di cucciolate nell'area di studio.

Sampson e Fuller nel 1988 lavorando su lupi radiocollari in Minnesota hanno approfondito alcuni aspetti del protocollo indicato da Harrington e Mech (1982) hanno evidenziato come la tecnica, se applicata su aree molto vaste, presenti notevoli limitazioni logistiche e statistiche (in particolare la carenza di infrastrutture che permettano di raggiungere le stazioni di emissione). Per il campionamento in queste condizioni, secondo gli autori, sarebbe necessario uno sforzo notevole sia in termini di tempo che di operatori. Considerando che il numero di stazioni di emissione dipende dalla disponibilità di operatori, se non si ha un'elevata disponibilità di personale la stima della densità dei branchi che deriva dal campionamento presenta un ampio intervallo fiduciale. Gli autori confermano però che, qualora lo studio sia svolto su aree di dimensioni ridotte, dall'applicazione della tecnica può risultare una buona stima del numero di branchi presenti.

In Italia il wolf-howling è stato applicato sia per rilevare la presenza della specie, con relativa stima della densità locale (BOSCAGLI 1985a), sia in censimenti su larga scala (BOSCAGLI 1985b). Nel 1994 Ciucci ha utilizzato la tecnica per localizzare e monitorare i siti di allevamento dei cuccioli (rendez-vous site).

La tecnica dell'ululato indotto è stata applicata nell'area di studio allo scopo di verificare la presenza di branchi riproduttivi sul territorio e di definire la localizzazione dei siti di rendez-vous. I risultati ottenuti, qualora significativi, sono stati espressi in termini di presenza di unità riproduttive e non di stima di un numero di lupi presenti nell'area.

In assenza di una valutazione sperimentale della tecnica applicata al contesto italiano ci siamo riferiti al protocollo di un "saturation census", adottato in Nord America da Harrington e Mech nel 1982 e che, alla luce degli obiettivi prefissati, è risultato l'ideale prevedendo la copertura totale dell'area d'interesse. Il "saturation census" si basa su un campionamento sistematico programmato in seguito alla definizione di una griglia composta dai vertici di quadrati di 3 km di lato, determinati dalla stima di una capacità media di ascolto da parte di un rilevatore pari a 1,5 km. Questa organizzazione teorica viene poi integrata e modificata in base alla conformazione territoriale, minimizzando le "zone d'ombra" acustiche (cioè le aree che come conseguenza della loro dislocazione e delle caratteristiche orografiche non vengono interessate dal campionamento acustico) e tenendo conto della presenza di fonti di disturbo (che possono limitare anche significativamente la capacità di ascolto degli operatori): questo ha portato ad una proliferazione opportunistica delle stazioni rispetto alla loro definizione teorica.

Il Parco Regionale dei Boschi di Carrega presenta una conformazione orografica favorevole alla diffusione acustica, così come dimostrato con l'attività di wolf-howling sistematico esaustivo attuato nel 2007. In quell'anno la pianificazione teorica (HARRINGTON E MECH 1982) aveva portato alla definizione della griglia casuale che presentava il maggior numero di stazioni facilmente raggiungibili, collegate tra loro mediante un unico circuito (vista l'ampiezza ridotta dell'area di studio) in base alla comodità di percorrenza dei collegamenti ed allo scopo di ottenere la maggiore copertura possibile del territorio. In questo contesto le stazioni sono state spostate e/o moltiplicate per assicurare la completa copertura dell'area in esame fino all'ottenimento di un totale di n. 31 punti di emissione e di n. 5 punti di ascolto. Questa attività ha permesso di selezionare i punti di emissione migliori, consentendo di limitare il wolf-howling alle stazioni più significative, che sono state mantenute ed utilizzate

nel monitoraggio opportunistico effettuato dal 2008 al 2013 riducendo costi e sforzo di campionamento.

Il circuito pianificato è sempre stato ripetuto (sia nel monitoraggio esaustivo sia in quello opportunistico) per tre notti consecutive (repliche), ove le condizioni meteorologiche lo permettevano. Qualora non si siano verificate le condizioni idonee per l'applicazione della tecnica, le repliche sono state rimandate ed effettuate appena possibile.

La stima dell'area di ascolto medio (AAM: area di "pertinenza" minima effettiva di una stazione) effettiva è stata effettuata su base GIS tenendo conto per ogni stazione dei rilievi orografici, in grado di limitare la diffusione dello stimolo, e della possibilità di percepire le risposte per l'operatore, che è stata stimata per 1,5 km (HARRINGTON E MECH 1982).

In questo studio, ogni stazione è stata circondata da anelli concentrici ad intervalli radiali di 0,50 km stimando una progressiva riduzione della capacità di ascolto in base alla distanza ed alla conformazione territoriale dell'area di studio, in particolare all'orografia. Attraverso il software ArcView GIS 3.2 è stata valutata, per ogni stazione, la presenza di eventuali ostacoli acustici (prevalentemente orografici), assumendo che entro i 500 m dal sito di emissione eventuali rilievi ad altitudine pari o inferiore alla stazione non rappresentino una barriera insuperabile. I rilievi con altitudine maggiore, oppure a distanze maggiori di 500 m, sono stati considerati ostacoli acustici e sono state stabilite stazioni per la copertura della zona d'ombra. Il totale delle aree raggiunte dal campionamento acustico definisce l'Area di ascolto totale, rappresentato con il software ArcView GIS 3.2. In seguito all'analisi effettuata sulla cartografia prodotta in ArcView GIS 3.2, il Parco Regionale dei Boschi di Carrega si è rivelato essere un'area buona dal punto di vista acustico, in cui non sono stati individuati ostacoli significativi che causassero zone d'ombra nell'attuazione della tecnica.

L'area di ascolto medio è stata contenuta nel raggio di 1,5 km anche in situazioni in cui le condizioni ambientali avrebbero permesso di ipotizzare un raggio maggiore, ove in assenza di sperimentazioni specifiche. L'area effettivamente campionata come descritto è quindi soggetta ad una sottostima non quantificabile, mancando verifiche sul campo della portata acustica reale.

Nella fase di pianificazione delle stazioni sono state escluse le zone con maggiore densità antropica (paesi, villaggi, infrastrutture) ed aree con scarsa o nulla probabilità di ospitare tane

o siti di rendez-vous, insistendo invece in zone con maggiore probabilità di ospitare home-site (zone ad alta copertura forestale, vicinanza a fonti d'acqua, ridotta presenza umana).

Per l'attività di survey è stato scelto un periodo compreso tra la seconda metà di Luglio e la prima metà di Settembre, in riferimento alla dimostrata maggior suscettibilità da parte dei cuccioli a rispondere (HARRINGTON E MECH 1982). I due estremi definiti dovrebbero permettere di sfruttare il periodo di massima tendenza stagionale (Luglio) ed il limite ultimo (Settembre) considerato tale poiché:

- Le condizioni meteorologiche tendono a deteriorarsi
- Si riduce la propensione alla risposta
- L'aumentata mobilità territoriale potrebbe causare errori nel conteggio e nella stima della localizzazione dei rendez-vous (doppie conte, localizzazioni false o non rappresentative).

Il campionamento è stato effettuato sempre dopo il tramonto sulla base delle conoscenze biologiche riferite alla specie, che consentono di definire una maggiore attività dei branchi nelle ore notturne e tenendo conto di una riduzione dell'interferenza antropica (HARRINGTON E MECH 1982).

Le stazioni di emissione sono state raggiunte in silenzio per limitare il disturbo e, da ogni sito, dopo 10 minuti, sono state effettuate 3 singole serie di ululati (trial) intervallati da 1 min e 30 secondi di pausa. Il primo trial è stato effettuato a basso volume, che è stato alzato progressivamente per i successivi, allo scopo di non inibire l'eventuale risposta di lupi vicini al punto di emissione (HARRINGTON E MECH 1982). La stimolazione è stata fatta con un ululato di lupo singolo per ridurre il rischio di inibire la risposta di branchi poco numerosi (HARRINGTON E MECH 1982).

Sono state evitate tutte le condizioni atmosferiche che potessero falsare o inibire la percezione della risposta, in particolare precipitazioni e vento (HARRINGTON E MECH 1982) e in caso di vento superiore ai 12 nodi nautici orari (misurati con anemometro a pallina e corrispondenti a circa 10 km) la stazione è stata sospesa ed effettuata il giorno successivo.

Harrington e Mech (1982) hanno stimato una probabilità di risposta in condizioni medie e nel caso di presenza certa  $\leq 0,03$ , stabilendo quindi nel protocollo di ricerca la replica su 3 notti consecutive (o il più possibile tali) di una sessione di stimolazione, definita Replica notturna.

Nel caso in cui la risposta ottenuta sia attribuibile esclusivamente ad individui adulti si attuerà un protocollo di conferma e di localizzazione del sito di risposta, procedendo con:

- Ripetizione della sessione dalla stessa stazione dopo 15-20 minuti, possibilmente con dislocazione di una stazione di ascolto
- Attuazione di sessioni da stazioni casuali circostanti nella stessa notte, preferibilmente con replica nella notte successiva, e con più stazioni di ascolto

anche allo scopo di verificare l'assenza di cuccioli.

Per ogni stazione di emissione è stato registrato, indipendentemente dall'ottenimento di una risposta:

- Data e ora
- Numero del circuito, della stazione e della replica
- Caratteristica dell'ululato (indotto o spontaneo)
- Caratteristica dell'appostamento (survey, rendez-vous, preda, casuale)
- Caratteristica dello stimolo (vocale o registrato)
- Caratteristiche meteo (copertura del cielo, presenza/assenza di precipitazioni, vento).

Durante il campionamento per ogni risposta attribuibile a lupi e ad ogni emissione sono state registrate informazioni quali: intervallo temporale tra la fine del trial e la risposta (tempo di risposta), la durata della stessa, il tipo di habitat (area boscata, prateria) ed il numero di trial ai quali è stata percepita una risposta.

104

---

Alla fine di ogni emissione si è atteso un periodo di circa 15 minuti prima di raggiungere la stazione seguente e, in caso di risposta, per meglio udirla è stata interrotta la riproduzione dello stimolo dopo la fine del trial.

Infine, in caso di risposta, si tenterà di:

- Stimare un numero minimo di individui partecipanti all'ululato attraverso la conta delle voci successivamente entrate nel coro (JOSLIN 1961)
- Localizzare l'area di provenienza della risposta (attraverso triangolazione acustica tramite l'intersezione delle direzioni, ottenute con ausilio di una bussola)
- Monitorare l'area di risposta nei giorni seguenti in modo tale da poter registrare eventuali spostamenti del branco.

L'attrezzatura utilizzata durante l'attività di monitoraggio è stata costituita da:

- Amplificatore Amplivox B-20 Davoli potenza massima 18W

- Tromba RCF HD3421 frequenza di emissione 300-13000 Hz
- Tromba RCFH4827 frequenza di emissione 80-12000 Hz
- Lettore CD portatile Panasonic SL-SX228
- Anemometro manuale a pallina Dwyer con sensibilità minima 2 nodi
- 2 bussole (RECTA e SUUNTO)
- CD con traccia di ululati pre-registrati con tracce di ululati originali cortesemente concesse da P. Rivoira (1999, Università di Torino)
- 2 cronometri
- GPS palmare Garmin.

### 3.5 FOTOTRAPPOLE

Nel 1994 McDonald sosteneva la grande utilità di questa tecnica in tutti i casi in cui la presenza del ricercatore non è indispensabile (ma anzi potrebbe essere un disturbo) ed è necessario ottenere immagini che blocchino l'animale nel preciso momento in cui passa velocemente davanti all'obiettivo.

Le trappole fotografiche, sistemate in punti di passaggio della specie o in prossimità di esche alimentari o altri attrattivi, possono permettere l'identificazione della presenza del lupo. Questa tecnica è basata sullo scatto automatico attivato da sensori di movimento (GENOVESI 2002) che permette di ottenere foto o video di un animale di passaggio davanti al sensore. Attraverso le fototrappole è possibile verificare non solo la presenza di lupi all'interno di un territorio ma anche il numero di individui e la composizione del branco, l'eventuale riproduzione se vengono fotografati o filmati i cuccioli e, sicuramente, i punti di passaggio.

Sono stati definiti alcuni problemi associati all'utilizzo di questa tecnica, tra cui i costi dell'apparecchiatura, lo sforzo operativo, la scarsa selettività (l'attivazione avviene con il passaggio di qualunque animale) e la difficoltà di ottenere immagini in quantità e di qualità adeguate da permettere l'identificazione della specie con un ragionevole livello di attendibilità (GENOVESI 2002). Le fotografie così ottenute possono rappresentare comunque un ottimo indizio di presenza della specie, anche se l'identificazione va affidata ad operatori specializzati ed esperti a causa della grande variabilità morfologica delle diverse razze di cane (GENOVESI 2002).

Il trappolamento fotografico può inoltre fornire informazioni sul fenotipo degli animali presenti, che potrebbe essere utile al fine di individuare casi di palese ibridazione con il cane (come in provincia di Firenze e nell'Appennino tosco-emiliano), oltre ad informazioni sullo stato fisiologico degli animali monitorati (ANDREANI 2007).

Per lo svolgimento di questa tesi, la tecnica del foto-trappolaggio è stata utilizzata soprattutto per compensare la difficoltà di svolgimento di snow-tracking e la ridotta quantità di campioni biologici ritrovati sul territorio, sfruttando conoscenze preliminari delle abitudini e degli spostamenti della specie. A questo scopo sono state utilizzate un totale di n. 6 fototrappole Scout Guard SG 565 F (Fig. 42) di dimensioni 130x80x50 mm, che permettono di fare foto e video a 5 Megapixels a colori durante il giorno ed in bianco e nero di notte grazie al flash bianco integrato, con 8 batterie alcaline AA e/o ricaricabili per ogni macchina. Le fotografie sono state salvate su schede SD di 4 e 8 Gb.



Fig. 42.: Fototrappola Scout Guard SG 565 F.

Le fototrappole sono state posizionate in siti in cui si sospettava il passaggio della specie allo scopo di verificare la presenza del lupo e possibilmente monitorarne gli spostamenti, in particolare i punti di ingresso ed uscita dal parco. In particolare questa metodologia è stata focalizzata all'area circostante il rendez vous utilizzato negli anni passati, concentrando gli strumenti limitati e lo sforzo di manutenzione nell'area in cui si ipotizzava la maggior presenza ed il maggior passaggio della specie. Inoltre sono state posizionate alcune fototrappole in zone periferiche, allo scopo di verificare i punti di accesso/uscita utilizzati dai lupi negli spostamenti sul territorio del parco.

Non è stato utilizzato nessun attrattivo per la specie allo scopo di indurne il passaggio davanti alla fototrappola, al fine di studiare gli spostamenti spontanei degli animali sul territorio.



Fig. 43.: Foto realizzate al Parco Regionale dei Boschi di Carrega (PR) nel corso dello svolgimento di questa tesi.

### 3.5.1 AVVISTAMENTI E FOTOTRAPPOLE

Quando si parla di specie elusive si tende ad attribuire grande importanza agli avvistamenti. Nel Piano d'Azione Nazionale per la Conservazione del Lupo gli avvistamenti vengono trattati nel contesto dei segni di presenza insieme ad escrementi, tracce ed ululati. Genovesi

sottolinea però l'impossibilità di discriminare con assoluta certezza, in seguito ad un avvistamento fugace, tra lupo e cane. La difficoltà esiste anche per l'occhio esperto ed il dubbio nell'attendibilità della segnalazione aumenta proporzionalmente con la diffusione di razze morfologicamente simili al lupo (Cane lupo cecoslovacco, Cane lupo di Saarloos), senza contare che un avvistamento fugace aumenta la probabilità d'errore.

La discriminazione tra cani e lupi costituisce un problema anche nella fase di analisi dei prodotti del monitoraggio con fototrappole. Gli apparecchi posti su carraie immortalano facilmente il passaggio di cani che, se di determinate razze e lasciati liberi, potrebbero mettere in difficoltà nella classificazione.

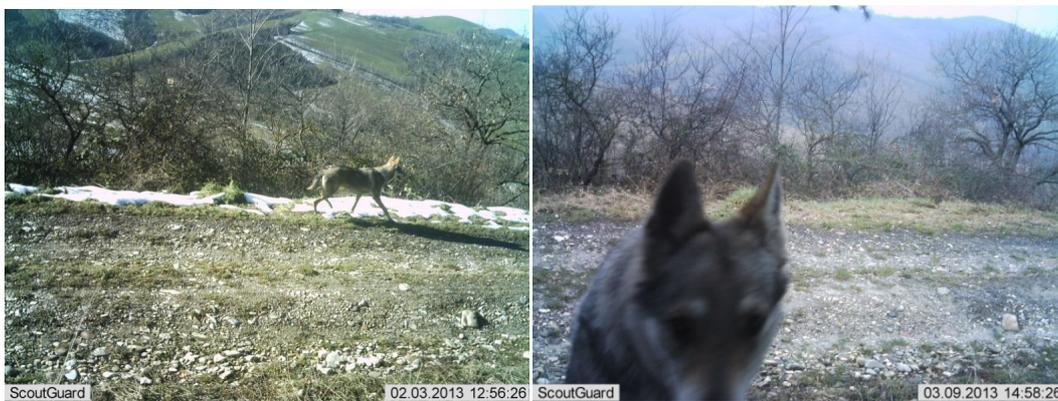


Fig. 44.: Cane Lupo Cecoslovacco immortalato da una fototrappola in località “ +++ “ (3 Febbraio 2013, 9 Marzo 2013).

La trappola fotografica si rivela comunque più attendibile dei semplici avvistamenti per diversi motivi.

Innanzitutto la fototrappola viene visionata da esperti nel settore faunistico e questo aumenta probabilità di effettuare un riconoscimento corretto, al contrario l'avvistamento effettuato dal comune cittadino è estremamente dubbia anche alla luce della scarsa conoscenza dei segni distintivi tipici dell'ecotipo italiano.

In secondo luogo la fototrappola permette di effettuare delle valutazioni a livello statistico poiché, dal momento in cui viene posizionata, registra qualsiasi passaggio. Al contrario l'avvistamento è un evento estremamente casuale, e quindi di scarso significato statistico.

Per i motivi analizzati, questo studio non analizza gli avvistamenti come segni di presenza anche se registrati da esperti. Questi eventi hanno però, in diversi casi, dato importanti indicazioni per indirizzare l'attività di monitoraggio.

### 3.6 RESTI DI PREDAZIONE E CARCASSE

Un indizio della presenza della specie potrebbe essere dato dai resti di predazione, sia in termini di animali selvatici sia di domestici di allevamento. Poiché il lupo preda generalmente animali di grandi dimensioni, a volte questi non vengono consumati completamente. Generalmente prima vengono consumati i grossi muscoli delle cosce, del tronco e del collo, poi gli organi interni come l'intestino, il fegato, i polmoni ed il cuore. Della carcassa rimangono solo le grandi ossa, come quelle delle zampe, del bacino, del cranio e le grandi vertebre.

Qualora si ritrovi la carcassa intera, in alcuni casi è possibile distinguere l'artefice della predazione dai segni di uccisione. Il lupo uccide le prede con un morso alla gola, ma quando attacca grosse prede come adulti di ungulati selvatici o mucche e cavalli, spesso colpisce ai fianchi, alle cosce ed all'addome. Anche in questo caso è però molto difficile discriminare se il responsabile dell'uccisione sia lupo o cane.

La verifica di eventi di predazione, per quanto possa fornire indicazioni sulla distribuzione spaziale, non rappresenta un'effettiva tecnica di monitoraggio della specie. Considerando però che la conflittualità tra lupo e zootecnia rurale (e mondo venatorio) è tuttora il principale fattore di rischio della specie, è un'attività fondamentale a fini gestionali. Raccogliere elementi sul reale impatto del lupo sul bestiame domestico è fondamentale per poter predisporre interventi di sensibilizzazione, di prevenzione e di supporto presso gli allevatori qualora si verificano eventi di predazione (ANDREANI 2007).

Nello svolgimento di questa tesi sono state prese in esame le segnalazioni di predazioni su domestici ricevute dagli allevatori in prossimità dell'area occupata dal Parco ed i ritrovamenti di ungulati selvatici nella zona del Parco dei Boschi di Carrega e del vicino Parco del Taro. Si sospetta infatti che, considerando le dimensioni medie dei territori della specie e la vicinanza tra i Parchi, entrambe le aree protette ricadano all'interno del territorio del medesimo branco. Cinghiali e caprioli attraversano spesso la SS62 per spostarsi da un Parco all'altro, e ci sono evidenze che lo stesso percorso venga seguito dai lupi. Tutti gli eventi di predazione presi in considerazione sono stati attribuiti alla specie da un veterinario esperto in seguito ad autopsia.



Fig.45.: Autopsia su pecora di allevamento amatoriale (PR) predata da lupo.

Sono stati infine considerate per lo svolgimento di questa tesi tutte le carcasse di Lupo rinvenute nelle immediate vicinanze del Parco alla luce delle grandi capacità di spostamento della specie.

### 3.7 RADIOTELEMETRIA E RADIO-COLLARE

La radiotelemetria, o radiotracking, rappresenta una tecnica di marcaggio che permette di seguire gli animali a distanza attraverso l'utilizzo di radiotrasmittenti. Introdotta negli anni '60 in campo eto-ecologico (GAGLIARDI E TOSI 2012), nel 1978 era definita da Eltringham come una sofisticata forma di marcatura, percepibile attraverso la ricezione di onde radio. Questa tecnica ha permesso di rivoluzionare l'etologia e l'ecologia di campo verso la metà del Novecento, offrendo considerevoli vantaggi soprattutto nello studio di animali notturni, elusivi, di piccole dimensioni corporee o che vivono in zone a densa copertura vegetazionale: quando cioè l'osservazione diretta è difficile o impossibile.

La radiotelemetria si basa sull'emissione di impulsi radio, prodotti continuamente o ad intervalli fissi da apposite trasmittenti, che vengono applicate agli animali studiati. Uno o più ricevitori dotati di antenne direzionali percepiscono questi impulsi e li trasformano in segnali visivi o sonori, riconoscibili dal ricercatore. Il segnale viene emesso dalla trasmittente attraverso un'antenna sporgente (circolare o eretta), ma questa può essere anche incorporata nella trasmittente (o nel collare). L'energia necessaria per la produzione degli impulsi è fornita dalle batterie, che costituiscono la parte più delicata del trasmittitore e ne determinano la potenza e la durata (LOVARI E ROLANDO 2004).

Una peculiarità importante della tecnica consiste nel peso dell'apparecchiatura: più la trasmittente è leggera minore è il disturbo causato all'animale, ma un peso ridotto comporta batterie più piccole e quindi meno efficaci in termini di durata. Alcuni ricercatori suggeriscono che le radiotrasmittenti non dovrebbero superare il 5% del peso dell'animale, anche se l'applicazione di una percentuale fissa è estremamente complessa poiché ha un impatto proporzionalmente maggiore negli animali di grandi dimensioni. Una proporzione fissa non tiene inoltre conto del tipo di animale a cui viene applicata la tecnica: animali volatori possono risentire del peso maggiormente rispetto ad altri (LOVARI E ROLANDO 2004). Kenward nel 2001 suggeriva un limite del 2-3% del peso degli animali, anche se l'opzione migliore sarebbe raggiungere il peso minore possibile per ridurre il fastidio all'animale (l'1% o meno).

La distanza massima di percezione del segnale dipende da diversi fattori tra cui: la potenza dell'apparecchio usato per trasmettere (influenzata anche dalla temperatura a cui è esposto l'apparecchio), la sensibilità di quello ricevente, le caratteristiche topografiche (le aree forestate a conifere attutiscono maggiormente la potenza degli impulsi rispetto alla

vegetazione decidua; gli ambienti montuosi tendono ad alterare la direzione di provenienza del segnale)(LOVARI E ROLANDO 2004).

Esistono diverse modalità per applicare l'apparecchio trasmittente al soggetto in studio. Per i mammiferi di solito si fa uso di un collare o di una speciale "imbracatura", a seconda della struttura fisica dell'animale.

Generalmente vengono utilizzati resistenti collari in canapa e gomma oppure in kevlar, risultati molto utili nelle ricerche per mammiferi di medie e grandi dimensioni. Per evitare che l'animale crescendo rimanga strangolato dal collare, vengono utilizzati modelli resi espansibili da speciali fermagli a scatto o da altri sistemi.

I recenti progressi tecnologici in campi anche non strettamente connessi alla gestione faunistica, come il posizionamento satellitare per la navigazione veicolare, hanno permesso di migliorare alcune tecniche di monitoraggio tradizionale, tra cui il radiotracking. A differenza del radiotracking convenzionale, basato sulla ricezione in tempo reale di segnali radio emessi sulla banda VHF, il radiotracking mediante rilevamento satellitare (GPS) demanda tutte le funzioni di determinazione della posizione all'apparecchiatura collocata sull'individuo monitorato, svincolando (del tutto o in parte) il personale dal compito di mantenere un contatto continuo con gli animali muniti di trasmettitore. Nella maggior parte delle apparecchiature attualmente disponibili sul mercato, è infatti il tag GPS a determinare automaticamente la propria posizione ad intervalli di tempo programmabili. I dati registrati nei modelli più semplificati vengono memorizzate nel tag, che deve essere recuperato per scaricare le informazioni su un supporto (ad esempio su un computer). In altri casi l'apparecchiatura comprende anche un sistema di trasmissione dati (Radio-modem) in banda VHF che permette di interrogare il tag a distanza ottenendo i dati memorizzati ed, eventualmente, modificando la programmazione dell'apparecchiatura stessa. Altri modelli ancora utilizzano la rete telefonica cellulare (UTMS o GSM) per ricevere e trasmettere dati in forma di SMS su un comune telefono cellulare (GAGLIARDI E TOSI 2012).

Le problematiche relative all'applicazione del radiotracking per quanto concerne la corretta percezione del segnale in determinate aree non vengono risolte dalle tecnologie GPS che richiedono la ricezione del segnale di almeno quattro satelliti, condizione che non sempre si verifica. Al contrario le nuove tecnologie hanno permesso di ottenere strumentazioni con un ingombro notevolmente inferiore, compensato comunque da un costo complessivo superiore.

Il livello di protezione di cui gode la specie Lupo sul territorio nazionale prevede, per ogni attività di cattura a fini scientifici di rappresentanti della specie, la richiesta di autorizzazioni

regionali (L. 157/92, art.4), del Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio (D.P.R. 357/97, art. 11) da concedere in seguito alla consultazione dell’Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica (ora Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale). Il “Piano d’Azione Nazionale per la Conservazione del Lupo” esclude la tecnica del radio-tracking dalle linee guida per il monitoraggio della specie che, prodotte essenzialmente per fornire supporto alle amministrazioni ed agli enti locali, mirano ad evidenziare gli aspetti pratici ed applicativi di tecniche di facile impiego. La radiotelemetria è classificata come tecnica complessa in quanto la si considera applicata ad individui catturati a fini scientifici.

Il Parco Regionale dei Boschi di Carrega svolge, nel contesto della gestione e della conservazione delle specie (lupo compreso) un importante ruolo in qualità di Centro Recupero Animali Selvatici (CRAS PR2 “Casa Rossa”, Ente per la gestione dei Parchi e della Biodiversità – Emilia Occidentale). In assenza di un progetto di ricerca che permetta di svolgere attività di cattura di individui ai fini di monitoraggio con radiocollare, l’applicazione degli apparecchi effettuata presso la struttura viene limitata ad individui rinvenuti feriti o avvelenati sul territorio Provinciale, ivi curati e successivamente reimmessi in natura.

Per lo svolgimento di questa tesi sono stati analizzati i casi di due lupi reimmessi in natura con radiocollare sul territorio provinciale. Entrambi gli animali sono stati dotati di radiocollare GPS PRO Light 1 prodotti da Vectronic Aerospace GmbH, in disponibilità al CRAS grazie al Piano di Azione Ambientale 2010-2011 (finanziato da Regione Emilia Romagna e Provincia di Parma). I collari presentano un sistema Drop Off programmato per indurre lo sganciamento dopo 560 giorni dall’attivazione. Il peso dell’apparecchio completo è pari a 630g, rispettando quindi i parametri stabiliti in rapporto al peso dei soggetti.

### 3.7.1 LAZZARO

Il lupo battezzato Lazzaro è un maschio del 2012 (età stimata sulla base di misure biometriche, su analisi della dentizione e di esami radiologici che hanno dimostrato l’incompleta ossificazione delle costole).

L’animale è stato rinvenuto stremato in una cunetta della strada di collegamento tra Canesano e Signatico, in prossimità dello



spartiacque tra Val Baganza e Val Parma, il 6 gennaio 2013.

Il lupo è stato ricoverato presso il CRAS PR2 “Casa Rossa” in Sala Baganza (Parma) ed è stato reimpresso in natura il 20 gennaio 2013 dotato di radiocollare.



Foto: Davide e Isacco Zerbini

### 3.7.2 FILIPPO

Il lupo battezzato Filippo è un maschio del 2012 (età stimata sulla base di misure biometriche, su analisi della dentizione e di esami radiologici che hanno dimostrato l’incompleta ossificazione delle costole).

L’animale è stato rinvenuto con frattura ad entrambi gli arti anteriori nella siepe di un’abitazione, tra il Parco Regionale dei Boschi di Carrega ed il Parco Fluviale Regionale del Taro il 12 gennaio 2013.

Il lupo è stato ricoverato presso il CRAS PR2 “Casa Rossa” in Sala Baganza (Parma) e ne è previsto il rilascio in natura nel mese di Aprile 2013 (oltre il termine di questo studio) dotato di radiocollare.



Foto: Mario Andreani

Il lupo Filippo, ritrovato quindi nella zona di corridoio ecologico tra le due aree protette e che verrà liberato probabilmente nel mese di Aprile 2013, ci ha permesso di inserire questa tecnica di monitoraggio nello studio ottenendo così una maggiore completezza nell’analisi comparativa tra le diverse metodologie applicate alla specie.

Poiché la liberazione dell’animale non è stata possibile prima della chiusura di questo studio, è stato inserito come termine di paragone il lupo Lazzaro che, rilasciato pochi mesi prima, ci ha permesso di effettuare alcune valutazioni sull’efficacia del radiocollare confrontando la tecnica con le altre.