



UNIVERSITÀ DI PARMA

Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità
Ambientale

Corso di Laurea Magistrale in Ecologia ed Etologia per la Conservazione della
Natura

Ruolo ecologico del lupo italiano (*Canis lupus italicus*)
come predatore della nutria (*Myocastor coypus
bonariensis*) nella Riserva Naturale di Torrile e
Trecasali, in provincia di Parma: un approccio
multidisciplinare

Relatore: Professor Francesco Nonnis Marzano

Correlatori: Professor Davide Persico

Dottor Claudio Ferrari

Laureanda: Fogu Luna

Anno accademico 2020-2021

*"The future of the world is up to you.
Protect the sunrise for everyone's
sake."*

ABSTRACT

Canis lupus italicus (Altobello, 1921) è la sottospecie italiana di *Canis lupus* (Linnaeus, 1758); è stato fortemente perseguitato in Italia, principalmente a causa di conflitti con cacciatori ed allevatori, fino a raggiungere il minimo storico di 100 esemplari negli anni '70. Grazie a motivi legali, ecologici e storici ha potuto riprendersi spontaneamente, ri-colonizzando la penisola italiana. Ad oggi, a causa di saturazione degli ambienti alpini ed appenninici ed espansione delle specie preda, sta raggiungendo ed occupando anche gli ambienti di pianura, dove era finora stato assente. La mancata co-evoluzione dell'uomo con il lupo in questi ambienti, ha fatto emergere conflitti e minacce per la conservazione di questo animale. Il panorama trofico in pianura è però diverso da quello montano: gli ungulati sono disponibili in minor quantità, mentre risultano estremamente abbondanti i mammiferi di media e piccola taglia. In particolare, *Myocastor coypus bonariensis* (Geoffroy De St. Hilaire, 1805), sottospecie di *Myocastor coypus* (Molina, 1782), introdotta in Italia nel 1928 a scopo commerciale, è una specie alloctona invasiva estremamente dannosa per agricoltura, sistemi idrici ed ecosistemi. Sono previsti dalla legge piani di eradicazione (ove possibile) o controllo numerico, ma questi non risultano efficaci nella maggior parte dei casi. L'instaurarsi di una relazione preda-predatore tra nutria e lupo avrebbe un doppio vantaggio: controllo delle popolazioni di nutria e diminuzione degli attacchi di lupo ai domestici, con un conseguente miglioramento dell'opinione pubblica sulla presenza del lupo nel territorio. Nel presente lavoro si è studiata la dieta di un branco di lupi stabilitosi nei comuni di Torrile e Trecasali (in provincia di Parma) nel 2019, con l'obiettivo di dimostrare la predazione su nutria ed il controllo delle popolazioni presenti nel territorio. Lo studio, affrontato con approccio multidisciplinare, ha visto intrecciarsi analisi genetiche e morfologiche dei resti indigesti, utilizzo di fototrappole e citizen-science per la raccolta di video e utilizzo di dati sugli abbattimenti pregressi e stima attuale della popolazione di nutria per individuare una diminuzione della loro abbondanza nel tempo. L'approccio multidisciplinare ha permesso di dimostrare che la nutria fa parte delle prede del lupo, ma non è stato possibile evidenziare una vera e propria azione di controllo. Sebbene i risultati debbano essere considerati preliminari, aprono la strada a studi futuri e sviluppi relativi alle metodologie da applicare e agli aspetti da approfondire.

Sommario

1.	INTRODUZIONE.....	1
1.1.	LE SPECIE	2
1.1.1.	<i>Canis lupus</i>	2
1.1.2.	<i>Myocastor coypus</i>	16
1.2.	LO STUDIO	28
2.	MATERIALI E METODI	33
2.1.	AREA DI STUDIO	33
2.2.	STUDIARE LA DIETA DEL LUPO	35
2.2.1.	RACCOLTA ESCREMENTI, ANALISI GENETICHE E MORFOLOGICHE	36
2.3.	RACCOLTA VIDEO	43
2.4.	STIMA DELLA POPOLAZIONE E ABBATTIMENTI DI NUTRIE	45
3.	RISULTATI	50
3.1.	RACCOLTA ESCREMENTI.....	50
3.1.1.	ANALISI GENETICHE.....	51
3.1.2.	ANALISI MORFOLOGICHE	53
3.2.	RISULTATI FOTOTRAPPOLE.....	56
3.3.	STIMA POPOLAZIONE E ABBATTIMENTI NUTRIE A CONFRONTO	58
4.	DISCUSSIONE	63
5.	CONCLUSIONI	69
6.	BIBLIOGRAFIA	70
	RINGRAZIAMENTI	83

1. INTRODUZIONE

Il lupo (*Canis lupus* Linneaus, 1758) è una specie carismatica, ma non per questo esente dalle persecuzioni dell'uomo. Le sue numerose sottospecie, compresa quella italiana *Canis lupus italicus* (Altobello, 1921), hanno attraversato periodi di forte decremento numerico (soprattutto dopo il secondo dopoguerra), causati non solo da un impoverimento ecologico delle aree da loro frequentate, provocato a sua volta da un sovrasfruttamento delle risorse da parte dell'uomo, ma anche da vere e proprie "cacce al lupo", per via dei conflitti di interessi con gli allevatori e i cacciatori. Dopo aver raggiunto il minimo storico di 100 esemplari nella nostra penisola negli anni '70, sono nate campagne di sensibilizzazione della comunità scientifica (la prima in assoluto è stata l'"Operazione San Francesco" del WWF) portando poi all'emanazione di decreti e leggi che proibiscono la caccia al lupo, considerato specie protetta, con messa al bando di esche avvelenate, trappole, eccetera. Grazie a ciò, ad un abbandono delle zone rurali da parte dell'uomo (inurbamento), ad un miglioramento delle condizioni ecologiche ed un ritorno delle specie preda principali, ovvero ungulati come cinghiale e capriolo, anche il lupo ha ripreso spontaneamente la propria espansione. L'ultima stima del numero di lupi nel nostro paese ne contava tra i 1600 e i 1900 esemplari (Mattioli et al., 2014) e sono in continuo aumento, anche verso la pianura. Questo nuovo avvicinamento del carnivoro alle aree maggiormente antropizzate, ha fatto riemergere paure e conflitti, mettendo alla luce nuovi rischi per la sua conservazione. Nelle zone pianeggianti però, pare che il lupo non si nutra principalmente di ungulati, ma di mammiferi appartenenti alla micro e meso-fauna. In questo studio, si è voluto esaminare il ruolo del lupo come predatore della nutria *Myocastor coypus bonariensis* (Geoffroy De St. Hilaire, 1805), specie alloctona invasiva introdotta in Italia a scopo commerciale, che si è poi naturalizzata nei nostri ecosistemi. Questa è una specie altamente dannosa per le attività umane e, data la sua abbondanza, si ipotizza che possa rappresentare (ora, come in futuro), la specie preda principale per i lupi di pianura, andando a creare un sistema di controllo a supporto di quelli già attualmente utilizzati per ridurre e contenere le nutrie in Italia (progetti che non hanno avuto finora grande successo). Questo nuovo ruolo del lupo potrebbe portare l'opinione pubblica maggiormente a favore di questo carnivoro, portando così un doppio beneficio, in quanto l'abbondanza di nutrie scoraggerebbe il lupo ad attaccare gli ungulati domestici, evitando sanguinosi conflitti con gli allevatori.

1.1. LE SPECIE

In questo capitolo tratterò elementi di biologia generale e situazione italiana delle due specie cardine del mio studio: *Canis lupus* (Linnaeus, 1758) e *Myocastor coypus* (Molina, 1782).

1.1.1. *Canis lupus*

Sistematica - Il lupo grigio (*Canis lupus* Linnaeus, 1758; **FIG. 1.1**), è un mammifero placentato appartenente all'ordine dei carnivori, compreso nella famiglia dei canidi. Appartengono a tale ordine gli animali che si sono adattati, in modo più o meno obbligato, ad una dieta ricca di proteine animali e per questo presentano alcune caratteristiche peculiari, quali una dentatura specializzata con lunghi canini e denti carnassiali (o "ferini") trancianti, un sistema digerente semplice con intestino piuttosto corto, visione binoculare, artigli affilati (più o meno retrattili) ed olfatto ben sviluppato. Il genere *Canis*, oltre al lupo, comprende altre 16 specie selvatiche e la specie *Canis lupus* vede riconosciute ben 37 sottospecie in tutto il mondo, tra cui la sottospecie italiana *Canis lupus italicus*, a lungo dibattuta, ma attualmente riconosciuta grazie a diversi studi genetici (Pilot et al., 2010; Montana et al., 2017).



FIG. 1.1. ESEMPLARE DI *Canis lupus* (foto di William Ervin)

Morfologia - Questo animale presenta un'elevata variabilità fenotipica, dalla colorazione del pelo (dal bianco quasi puro a diverse sfumature di biondo, crema, ocra, grigio, marrone e nero), al peso e dimensioni, che variano seguendo la latitudine secondo la Regola di Bergmann: dimensioni e peso aumentano con l'aumentare della latitudine, mentre i colori si schiariscono seguendo lo stesso andamento (Hepter e Naumov, 1998). Il lupo rappresenta il membro più grande e pesante della famiglia dei Canidi, con una lunghezza testa-corpo che generalmente varia (secondo il gradiente appena esposto) dai 100 ai 150 cm (solo la coda è lunga 30-50 cm). L'altezza al garrese varia tra i 70-90 cm (Hepter e Naumov, 1998) e il peso dai 25 ai 45 kg, con le femmine che pesano generalmente il 10-15% in meno dei maschi (Peterson et al., 1984). In generale il lupo si presenta come un animale dall'aspetto slanciato, di corporatura snella e robusta, con la schiena pendente e il collo muscoloso. Questo aspetto rende il lupo un ottimale trotatore, adatto a coprire lunghe distanze.

Distribuzione - Storicamente la specie era distribuita in tutto l'emisfero boreale (distribuzione chiamata "olartica circumpolare") con l'areale originario che comprendeva l'intero continente nordamericano ed eurasiatico (compreso il Giappone) e le popolazioni più meridionali erano situate in Messico, Arabia e sub-continente indiano (Mech, 1970). Grazie alla sua straordinaria capacità di adattamento a differenti condizioni ecologiche, la specie risulta assente solo dai biomi delle foreste tropicali e dei deserti aridi (con l'eccezione della sottospecie *Canis lupus arabs*). È infatti il mammifero terrestre selvatico che ha raggiunto, in tempi storici, la distribuzione geografica più estesa. Purtroppo, ha alle spalle una lunga storia di persecuzioni da parte dell'uomo, in aggiunta a competizione con esso per le specie preda, che lo hanno portato a ridursi drasticamente di numero praticamente ovunque. Alla fine del XVIII secolo, la specie era ancora presente in tutti i paesi fuorché Gran Bretagna e Irlanda. Durante il diciannovesimo secolo e in particolare negli anni che seguirono la Seconda Guerra Mondiale, la persecuzione della specie fu così intensa che il lupo si estinse in tutti i paesi dell'Europa settentrionale e centrale. Più recentemente il lupo ha vissuto una fase di ripresa, grazie alla parziale cessazione dei conflitti con l'uomo (dato il declino delle attività pastorali e rurali), ri-colonizzando spontaneamente territori dai quali era scomparso totalmente, per cui è riconosciuto dalla IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) a livello mondiale con la categoria "*least concern*" o "minor preoccupazione". Ad oggi popolazioni consistenti di lupo sono presenti in Nord America, nell'ex-Unione Sovietica e nei paesi dell'Europa centro-orientale, con popolazioni meno consistenti ed isolate nella penisola Iberica, in Italia, in Scandinavia, nei Balcani e in Medio Oriente (**FIG. 1.2**).

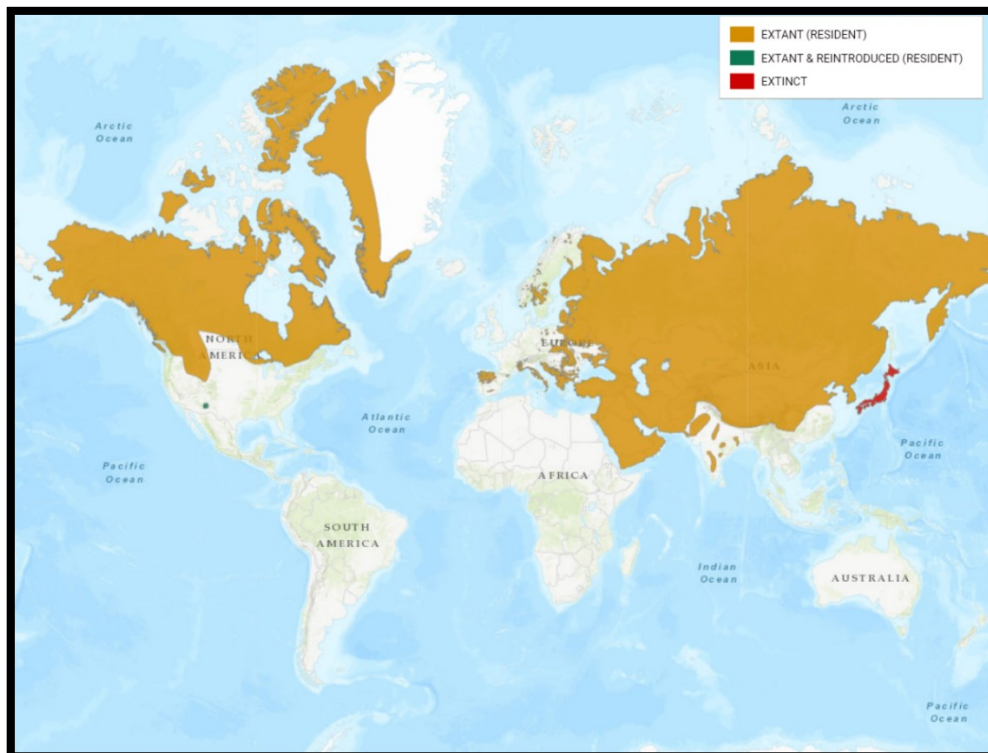


FIG. 1.2. DISTRIBUZIONE MONDIALE DI *Canis lupus* SECONDO IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources), 2021

Struttura sociale - Il lupo è un animale sociale, la cui aggregazione tipica è quella del branco, funzionale in aree con prede di grosse dimensioni e che necessitano strategie di caccia complesse (Zimen, 1976), ma anche per l'allevamento dei nuovi nati e la difesa del territorio. I branchi sono generalmente costituiti da una coppia riproduttiva (la cosiddetta “coppia alfa” o dominante che rappresenta il grado gerarchico maggiore), i cuccioli dell’anno corrente e la progenie degli anni precedenti (Mech, 1970). Molti nuovi nati, si disperdono dal loro territorio nativo (Fritts e Mech, 1981) e formano nuovi branchi quando trovano un disperso del sesso opposto e una zona non colonizzata dove stabilire un nuovo territorio (Mech, 1970; Rothman e Mech, 1979). All’interno del branco esiste, appunto, una gerarchia sociale, che si traduce in differenze di ruoli che si possono manifestare in termini di spostamenti, caccia, difesa del territorio, privilegio nell’accesso al cibo, nella riproduzione, eccetera. Questa gerarchia viene mantenuta attraverso comportamenti (più o meno ritualizzati) di dominanza che possono portare, se l’avversario perdente non si sottomette volontariamente (esibendo determinati comportamenti, come mostrare il ventre, leccare il muso, ecc.), all’uccisione, all’allontanamento o all’emarginamento (Mech, 1970) dell’individuo. Attraverso questa gerarchia di dominanza ed i suoi meccanismi di mantenimento, l’aggressività dei singoli individui viene inibita e vengono invece assicurate l’intesa e l’integrazione tra i componenti del gruppo.

Riproduzione - La riproduzione generalmente avviene solo a favore della coppia dominante ed è preceduta da una fase di corteggiamento dalla durata variabile; l'estro delle femmine dura all'incirca 5-7 giorni ed avviene un'unica volta durante l'anno in un periodo che a seconda della latitudine può variare tra i mesi di gennaio e marzo (in Italia tra gennaio e febbraio). La gestazione ha una durata di circa 63 giorni al termine dei quali (in Italia tra aprile e giugno - Cagnolaro et al., 1993; Boscagli, 1985) vengono alla luce mediamente dai 4 ai 6-8 cuccioli che alla nascita sono ciechi e sordi (acquistano l'udito dopo pochi giorni e aprono gli occhi dopo 11-15 giorni), pesano 315-395 grammi (fino a 500 g - Rutter e Pimlott, 1968) e possiedono scarse capacità termo-regolative. La nascita avviene in una tana scavata appositamente circa 15-20 giorni prima del parto o ottenuta adattando quella di altre specie o rifugi naturali; attorno ad essa (e nell'area limitrofa dove verranno spostati i cuccioli dopo circa 2 mesi) si concentrerà l'attività dell'intero branco e i membri del gruppo vi faranno ritorno portando il cibo alla femmina e ai piccoli. Spesso le tane sono situate in zone isolate e prossime ai corsi d'acqua. I cuccioli sono alimentati con il latte materno per circa 20 giorni, successivamente con latte integrato da rigurgiti a base di carne (sia della madre che di altri membri del branco) per circa 40 giorni (Boscagli, 1985). Lo svezzamento avviene intorno alla quinta settimana di vita e nello stesso periodo si possono udire i primi ululati. La mortalità neonatale osservata in natura può raggiungere anche il 60-70% (Boitani, 1986). Le principali cause di mortalità naturali dei cuccioli sono dovute alla carenza alimentare, a malattie gastrointestinali e alla rogna. I giovani abbandonano la tana dopo circa tre mesi, iniziano a partecipare all'attività di caccia e l'intera attività del branco si sposta in aree dove avviene la fase finale dello sviluppo dei cuccioli (*rendez-vous sites*). L'abbandono dei *rendez-vous sites* avviene con il sopraggiungere dell'inverno, nel periodo compreso tra settembre e ottobre (Murie, 1944; Harrington e Mech, 1982b), al momento in cui i giovani hanno maturato le capacità fisiche per seguire gli adulti negli spostamenti. A partire dal settimo mese il giovane ha definitivamente assunto il fenotipo tipico della specie, ma il completamento dello sviluppo dell'apparato scheletrico e le dimensioni definitive saranno raggiunte ad un anno di età (Rausch, 1967). I cuccioli rimangono all'interno del gruppo sino al raggiungimento della maturità sessuale (a circa 2 anni - Boscagli, 1985); a questo punto possono entrare in dispersione nel tentativo di trovare un partner e un territorio idoneo alla riproduzione in cui formare un nuovo branco. Tale processo aumenta le probabilità riproduttive del singolo individuo, abbassa il rischio di incroci tra consanguinei e sicuramente riduce il rischio di sovrautilizzo delle risorse trofiche favorendo la continua espansione dell'areale di distribuzione. La dispersione risulta essere anche un'attività ad altissima mortalità. In alternativa, i cuccioli possano rimanere all'interno del branco natale cercando di acquisire una posizione dominante; la scelta di una delle due differenti strategie è legata a fattori quali la disponibilità di prede, ambienti sicuri per la colonizzazione e la densità intraspecifica (Messier, 1984).

Habitat – Non sembrano esserci caratteristiche geomorfologiche o vegetazionali particolarmente preferite dal lupo, come dimostrato dal vasto areale di distribuzione e dalla plasticità ecologica del mammifero. I requisiti per la sopravvivenza del lupo comprendono una buona disponibilità di prede o fonti di cibo alternative, presenza di rifugi, buona copertura forestale e mancanza di fattori di disturbo (Duprè et al., 1996), che potrebbero interagire negativamente con riproduzione, allevamento dei piccoli e interazione sociale. Si può quindi fare una suddivisione in habitat ottimali ed habitat marginali, dove l'interferenza antropica (persecuzione diretta, alterazione dell'ambiente e scarsità di prede) si traduce in tassi di mortalità che la popolazione non è in grado di sostenere.

Territorio - Il lupo è un animale piuttosto territoriale, che delimita il territorio del branco tramite la deposizione di escrementi ed urina in punti ben visibili (marcatura olfattiva), e tramite vocalizzazioni (Field, 1979) (marcatura uditiva). Il territorio occupato da un branco comprende le aree di caccia e di spostamento. Le dimensioni del territorio variano da un minimo di 65 km² fino ad un massimo di 384 km² (Mech, 1973). Ogni branco tende ad occupare un territorio esclusivo dal quale eventuali conspecifici estranei vengono attivamente estromessi, alle volte con scontri mortali. Nonostante ciò, i territori di branchi vicini possono sovrapporsi creando aree cuscinetto (*buffer zones*) frequentate da entrambi i branchi in momenti diversi. Le marcature odorose, che aumentano in corrispondenza di queste zone, diventano quindi indicative dell'intervallo temporale trascorso dall'ultimo passaggio. La dimensione del territorio può variare in funzione della densità e distribuzione delle prede, della densità intraspecifica e del livello di alterazione del paesaggio ad opera dell'uomo. La distanza degli spostamenti dipende dalla distribuzione delle prede: i lupi che vivono in aree con una bassa densità di prede si spingono in zone extraterritoriali e presentano una dimensione del territorio ampia e instabile nel corso dell'anno.

Ecologia alimentare – Come detto all'inizio, il lupo fa parte dell'ordine dei carnivori e il suo percorso evolutivo lo ha portato a sviluppare specializzazioni nella caccia di prede di grosse dimensioni (Mech, 1966). Nonostante ciò, non può essere considerato un iper-carnivoro, come molti felidi, in quanto la sua plasticità ecologica si riflette anche nell'alimentazione. Può passare da una dieta prevalentemente a base di ungulati selvatici in ambienti naturali ottimali (ha solitamente una o due specie preda principali, che variano in base alla regione geografica di riferimento - Mech, 1970; Fritts e Mech, 1981; Mattioli et al., 1995), ad una dieta opportunistica composta da risorse alternative quali frutta (Meriggi et al., 1991), rifiuti (Boitani, 1986), invertebrati e animali domestici da allevamento in aree denaturalizzate con scarsità di ungulati e un maggior grado di antropizzazione. Inoltre è stato documentato che il lupo si nutra anche di micro e meso-mammiferi, ma questi risultano essere spesso di marginale importanza nella sua dieta (Fritts e Mech, 1981; Mattioli et al., 1995), categorizzati come

“supplementary preys” (Newsome et al., 1983), ovvero prede supplementari alla dieta, che solitamente ne rappresentano solo una parte trascurabile, ma che ne possono diventare una parte abbondante nel caso in cui vi sia diminuzione della densità delle specie preda principali, o scarsità di risorse (Voigt et al., 1976). La loro presenza nei territori occupati dai lupi è quindi estremamente importante. Infatti, in contesti ecologici caratterizzati dall'assenza di un'abbondante disponibilità di specie preda principali (ungulati selvatici) o comunque fortemente alterati a causa di un notevole impatto antropico, è stata registrata una rilevante importanza nella dieta del lupo di queste specie supplementari (Pimlott et al., 1969; Mech, 1970). La misura in cui differenti specie preda sono rappresentate nella dieta dipende essenzialmente dalla loro abbondanza relativa nel territorio (più la preda è abbondante, meno tempo ci metteranno ad incontrarla, meno energia verrà spesa nella ricerca), dalla loro accessibilità o vulnerabilità (fattori fisici, comportamentali e ambientali che influenzano la suscettibilità alla predazione) e dalla loro fruibilità (l'apporto di biomassa in relazione all'energia e al tempo impiegati per acquisirlo) (Huggard, 1993; Mech e Boitani, 2003; Mattioli et al., 2011). Per questi motivi all'interno della specie sono maggiormente selezionati gli individui più facili da cacciare, giovani o individui debilitati (Mech, 1970), soprattutto in estate (Mech, 1970; Voigt et al., 1976; Fritts e Mech, 1981; Mattioli et al., 1995), quando ci sono anche i cuccioli da nutrire (Meriggi, 1991; Meriggi e Lovari, 1996). È importante sottolineare come la presenza di una determinata categoria alimentare all'interno, ad esempio, di un escremento, può essere imputabile alla predazione diretta, ma anche ad altri fenomeni quali *scavenging* (abitudine del lupo di nutrirsi di carcasse) e *caching* (abitudine, comune a molti canidi, di nascondere porzioni di cibo sottoterra, come riserva per i periodi più difficili) (Mech e Boitani, 2003). Per chiarire ulteriormente l'argomento, vi è una review molto interessante di Newsome e colleghi dal titolo *“Food habits of the world’s grey wolves”* del 2015, che si basa su 177 studi di campo effettuati tra il 1939 e il 2014 (l'88% dopo il 1970) in cui la dieta del lupo *Canis lupus*, comprese molte delle sue sottospecie, è stata quantificata mediante analisi del contenuto di escrementi e stomaco. Gli studi provengono da diverse parti del mondo e vengono raggruppati, per semplificazione, in 3 continenti: Nord America (77 studi), Europa (85 studi) e Asia (15 studi); ciascuno dei continenti è a sua volta suddiviso in bioregioni. Sono state prese in considerazione 6 diverse categorie di cibo (ovvero quelle maggiormente rilevanti): ungulati selvatici di grandi dimensioni, ungulati selvatici di medie dimensioni, ungulati domestici, mammiferi di media taglia, piccoli mammiferi e roditori. Dallo studio emergono alcune considerazioni interessanti. Per quanto riguarda il Nord America, la dieta del lupo risulta basata, nella maggior parte dei casi, sugli ungulati selvatici di medie o grandi dimensioni. La predazione sui domestici è pressoché assente nella maggior parte delle bioregioni, trascurabili i roditori e i piccoli mammiferi, mentre risultano di importanza rilevante i meso-mammiferi (4-21 kg), quali lagomorfi e castori (Thompson, 1952; Fritts e Mech, 1981).

Queste specie rappresentano circa il 43% della dieta in Canada dell'Est, con particolare abbondanza del castoro canadese, che risulta essere addirittura la preda principale dei lupi in questo paese (dove, infatti, risulta essere particolarmente abbondante). In Asia la situazione è molto diversa, gli ungulati domestici risultano essere la principale fonte di cibo assieme agli ungulati di medie dimensioni, questo perché l'abbondanza di ungulati selvatici è bassa e questo si riflette in un maggior consumo di livestock. Infine, in Europa le prede principali sono rappresentate dagli ungulati di media taglia, seguiti dalla predazione sui domestici (soprattutto in Europa meridionale, dove l'interferenza delle attività umane è maggiore) (FIG. 1.3).

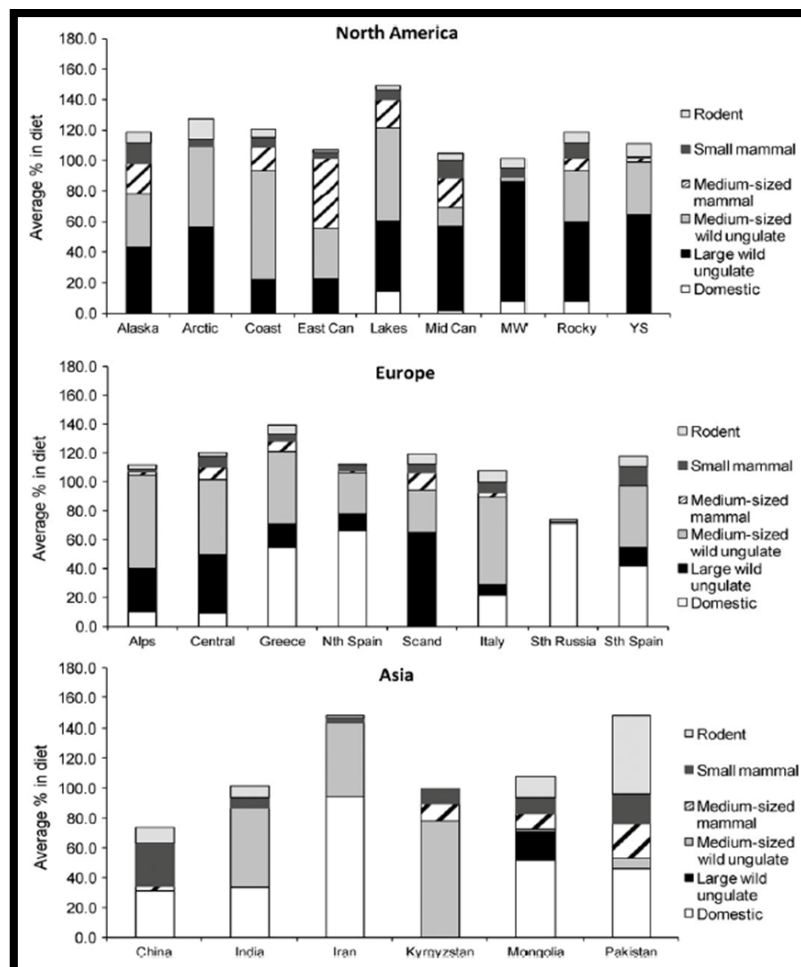


FIG. 1.3. COMPOSIZIONE DELLA DIETA DEL LUPO (e sue sottospecie) IN TRE CONTINENTI (da Newsome et al., 2016)

1.1.1.1. *Canis lupus italicus*

Morfologia - Il lupo italiano, *Canis lupus italicus* (Altobello, 1921), è la sottospecie italiana di *Canis lupus* e presenta alcune peculiarità: ha dimensioni ridotte, con altezza al garrese di 49-73 cm (Ciucci e Boitani, 2003) e peso medio sui 25-35 kg; la lunghezza del corpo varia tra i 100 ed i 140 cm, la coda misura 30-45 cm (Viviani et al., 2006); spesso i polpastrelli anteriori e posteriori sono uniti alla base da un ponte carnoso. Il mantello varia notevolmente di colore, da toni più rossicci a toni fulvi e grigi, sono spesso presenti due bande scure nella parte frontale delle zampe anteriori (chiamate focature) (Altobello, 1925), una fascia di larghezza variabile scura lungo il dorso e la punta della coda nera. È presente una maschera facciale di colore chiaro, le parti interne degli arti sono chiare, le orecchie sono corte e hanno spesso un margine più scuro (**FIG. 1.4**).



FIG. 1.4. ESEMPLARE DI *Canis lupus italicus* (foto di Massimo Alviani)

Distribuzione - Il lupo era ampiamente diffuso sull'intera penisola italiana fino alla metà del secolo scorso (Cagnolaro et al., 1974), venne poi sterminato sulle Alpi (già a partire dal 1880) negli anni 20 (Cagnolaro et al., 1974) ed in Sicilia negli anni 40 (dove vi era una sottospecie unica, *Canis lupus cristaldii*), mentre in Sardegna non è mai giunto nella sua forma attuale. La distribuzione della specie appariva continua lungo la catena appenninica fino alla metà degli anni '50, ma subì un'ulteriore drastica riduzione nel ventennio che seguì il secondo conflitto mondiale: negli anni '50 si fa rarissimo in tutto l'appennino tosco emiliano (dove si era mantenuto fino a quel momento) e nel decennio successivo subisce l'attacco più grave (numerosissime uccisioni). Raggiunse il minimo storico di 100 esemplari negli anni '70. Le cause dello Stato critico della popolazione lupina in Italia in quegli anni erano di due tipi: dirette e indirette.

Tra le cause dirette troviamo:

1. La mortalità dovuta alla caccia da parte dell'uomo (2/3 del totale dei morti);
2. L'uso del veleno (bocconi avvelenati, allora legali);
3. Gli incidenti stradali.

Tra le cause indirette troviamo:

1. Il randagismo: il numero di cani vaganti in Italia in quegli anni era tale da causare competizione per l'alimentazione, lo spazio e la riproduzione; inoltre, cane e lupo, appartenendo alla stessa specie, sono interfecondi, dando origine ad ibridi (problema per la conservazione della specie);
2. Il disturbo degli habitat del lupo, causato dall'abbattimento dei boschi e dal loro sfoltimento, oltre che dalle attività locali che vi si svolgevano (turismo, case, piste da sci, strade, ecc.). Questa eccessiva pressione antropica impediva anche la ricostituzione delle popolazioni di erbivori selvatici, già diminuiti per la pressione venatoria (Apollonio, 1993; Francisci e Mattioli, 1993);
3. Il conflitto con le attività zootecniche: in assenza di prede selvatiche, aumentava la pressione predatoria esercitata dal lupo sul bestiame domestico (a cui si aggiungeva la stessa attività perpetrata dai cani inselvaticiti, a cui però non si dava la stessa importanza);
4. L'ecologia alimentare del lupo, che in una situazione del genere si basava principalmente sulle discariche di rifiuti;
5. Una tradizione popolare ostile, alimentata da campagne di stampa terroristiche;
6. La diffusione della rabbia silvestre, considerata una malattia trasmissibile dalla popolazione di cane inselvaticito al lupo (l'ultimo caso di rabbia Silvestre segnalato in Italia è stato diagnosticato nel febbraio 1992 in volpi al confine con la Slovenia);
7. L'esiguo numero di individui che faceva temere che fossero ormai troppo pochi per potersi riprendere.

Dagli anni '70 ad oggi si è assistito alla graduale e spontanea espansione dell'area di presenza stabile del lupo (**FIG. 1.5**). Già negli anni '80 l'area di distribuzione risultava accresciuta del 50% (Boitani, 1986).

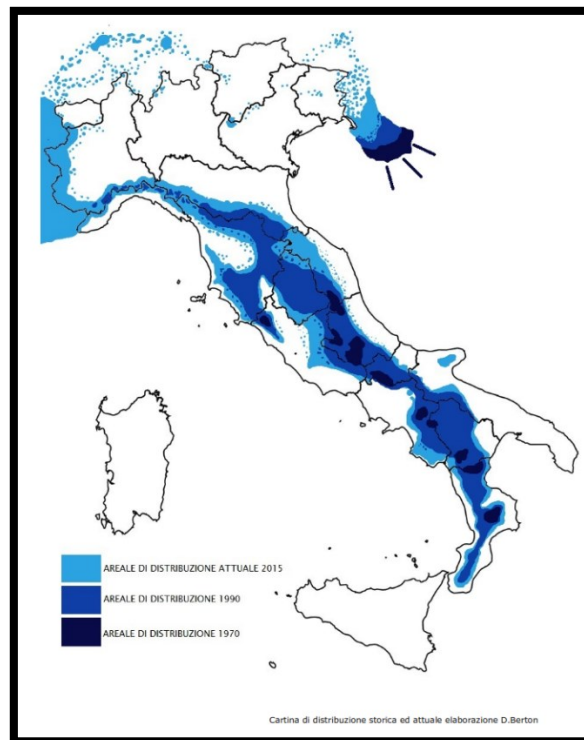


FIG. 1.5. EVOLUZIONE DELL'AREALE DI DISTRIBUZIONE DEL LUPO IN ITALIA (aggiornato al 2015, elaborazione di Davide Berton, referente nazionale del Gruppo Grandi Carnivori CAI)

È importante sottolineare che in Italia non sono mai stati pianificati né effettuati interventi di ripopolamento o introduzione di lupi in ambiente selvatico. Il recente processo di espansione della specie in Italia è il risultato di una serie di fattori di natura storica, ecologica, ambientale e legale:

- Fattori storico sociali, legati al progressivo abbandono di montagne e colline da parte dell'uomo, alla conseguente espansione di foreste ed incolti e alla maggior disponibilità di prede naturali grazie alla crescita (e reintroduzione, anche per la caccia) dei principali ungulati (cinghiale, capriolo, cervo, daino e muflone) (Francisci e Mattioli, 1993; Apollonio, 1993);
- Fattori ecologici, legati alla notevole plasticità biologica della specie, in grado di sopravvivere anche in territori relativamente antropizzati. Presenta un'ecologia alimentare molto opportunistica con una dieta non necessariamente composta solo di carne ma che può includere dalla frutta ai rifiuti umani, in base alla disponibilità e all'accessibilità locale delle diverse risorse. Un altro elemento ecologico importante è il fenomeno della dispersione, che consente ai giovani lupi di stabilizzarsi e definire un territorio proprio, qualora trovino un'area idonea e un conspecifico di sesso opposto con cui riprodursi. Questo fenomeno fa sì che, anche in caso

di estinzione di una sub-popolazione locale, vi possa essere la sopravvivenza di alcuni individui che si erano precedentemente allontanati ed una possibile ricolonizzazione di quel territorio resosi nuovamente disponibile. In Italia la limitatezza delle risorse (prede e spazio) fa sì che i lupi siano raggruppati in branchi poco numerosi (3/5 individui – Boscagli, 1985) e che il fenomeno della dispersione sia esasperato. Si vengono così a formare molti piccoli nuclei riproduttivi e si ha un forte aumento demografico; il processo della dispersione si esaspera ulteriormente in seguito alla saturazione dell'habitat e determina un rapido processo di colonizzazione di nuove aree;

- Fattori ambientali, relativi alla creazione di nuove aree protette e parchi nazionali che hanno garantito nuovi spazi protetti per il lupo;
- Fattori legali, relativi alla promulgazione di leggi per la tutela della specie.

A questo proposito vi sono diverse leggi nazionali:

- Decreto Ministeriale Natali (luglio 1971), che tolse il lupo dall'elenco degli animali nocivi e ne proibì la caccia su tutto il territorio nazionale fino al dicembre 1973. Vietava inoltre l'uso di bocconi avvelenati. Il decreto venne poi rinnovato per altri tre anni. Questo primo atto di tutela legale del lupo si ebbe anche come conseguenza delle pressioni dell'opinione pubblica, in seguito all'avvio dell'“Operazione San Francesco” promossa da parco nazionale d'Abruzzo e dal WWF;
- Decreto Ministeriale Martora (22 novembre 1976), decreto definitivo per la protezione del lupo con il quale la specie diviene integralmente protetta;
- Nel 1977 viene abrogato il Regio Decreto 1016 del 1939 che indicava il lupo come specie nociva;
- Legge 968 del 1977 “Principi generali e disposizioni per la protezione e la tutela della fauna e la disciplina della caccia”, che prevedeva la totale protezione del lupo e di altri predatori minacciati di estinzione, assieme alla messa al bando di trappole, lacci, esche avvelenate, ecc.;
- Legge 157 del 1992 “Norme per la protezione della fauna omeoterma e prelievo venatorio”: rappresenta la legge quadro di disciplina in materia di caccia e tutela della fauna selvatica. Recepisce in parte la Direttiva Uccelli (Dir. 79/409/CEE) e la Convenzione di Berna (1979), della quale l'Italia è firmataria. Riconosce la fauna come patrimonio indisponibile dello Stato e tutelata nell'interesse nazionale ed internazionale. Prevede che tutte le specie di fauna selvatica siano protette, tranne quelle inserite nell'articolo 18, ovvero le specie cacciabili. Questa legge definisce il lupo come specie particolarmente protetta e ne proibisce, oltre all'uccisione e alla cattura, anche la detenzione;

- DPR 357/97 (attuazione della direttiva CEE 92/43 Habitat), che prevede lo studio della specie e ne riconosce l'importanza comunitaria, l'interesse prioritario e la rigorosa protezione. Prevede inoltre l'obbligo di monitoraggio delle popolazioni lupine;
- Legge 221/02 "Integrazioni alla Legge 11 Febbraio 1992 numero 157, in materia di protezione della fauna selvatica e di prelievo venatorio, in attuazione dell'articolo 9 della Direttiva 79/409/CEE";
- Ogni legge regionale sulla caccia protegge il lupo integralmente, mentre altre norme diverse da regione a regione (non sempre presenti) stabiliscono il rimborso dei danni causati al patrimonio zootecnico.

Oggi la IUCN lo inserisce nelle proprie liste rosse e lo considera una specie di minor preoccupazione a livello globale, mentre in Italia è categorizzato come "vulnerabile". Pur essendo evidente la tendenza positiva della specie in Italia e pur essendo definito lo status legale della specie, purtroppo si riscontra anche qui una continua persecuzione antropica a livello locale, retaggio di tradizioni e convinzioni errate delle popolazioni rurali. Nonostante vi siano leggi regionali che prevedono l'indennizzo totale o parziale dei danni provocati dal lupo al patrimonio zootecnico, le uccisioni illegali continuano ad essere tra le maggiori cause di mortalità del lupo (è ad oggi fermo il nuovo Piano d'Azione Nazionale del lupo, che dovrebbe appunto delineare un protocollo d'azione per la conservazione del carnivoro in Italia - quello attualmente pubblicato sul sito di Ispra è datato al 2002). Non si sa precisamente quanti individui siano presenti sul territorio italiano ad oggi (l'ultima stima grossolana di lupi in Italia ne conta tra i 1600 e i 1900 esemplari - Mattioli et al., 2014 - con ovvie fluttuazioni annuali dovute a fattori sia naturali che antropici; è stato effettuato, da ottobre 2020 a marzo 2021, il Monitoraggio Nazionale del lupo in ambiente alpino/appenninico, di cui si stanno ancora aspettando i risultati da ISPRA), ma la specie è in continua espansione e, ormai da tempo, ha raggiunto anche zone di pianura, maggiormente antropizzate. Questo è confermato dall'elevato numero di articoli di giornale che hanno popolato il web negli ultimi anni (alcuni fin troppo allarmistici) e da diversi reperti video e fotografici. Non si ha ancora letteratura a riguardo, ma i motivi di tale espansione sono probabilmente legati alla saturazione dell'ambiente appenninico, all'espansione in pianura degli ungulati selvatici (che i lupi seguono) e alla presenza di abbondanti specie preda che attraggono predatori opportunistici e adattabili come i lupi (Molinari, Wolf Appennine Center, unpublished). Viene da sé che gli aspetti conservazionistici più rilevanti sono legati soprattutto alla necessità di garantire una soddisfacente convivenza del lupo con le attività dell'uomo.

Ecologia alimentare - In Italia l'ecologia alimentare del lupo appare diversificata e riflette l'accessibilità e la disponibilità delle risorse presenti nelle varie realtà locali. Nei contesti ambientali caratterizzati dalla presenza di popolazioni vitali di ungulati selvatici si assiste al ripristino di una condizione naturale originaria, con la dieta del lupo costituita prevalentemente da fauna selvatica; si osservano invece situazioni intermedie laddove siano presenti altre categorie alimentari. Nella regione mediterranea, ad esempio, il lupo si è localmente specializzato a nutrirsi di categorie animali alternative come erbivori domestici (Ragni et al., 1985) (in particolare ovini e caprini, oppure nelle nostre zone vitelli o vacche a terra – Meriggi e Lovari, 1996), frutti (Meriggi et al., 1991) e rifiuti (Reig et al., 1985), con un'evidente influenza antropica sulla dieta (probabilmente in conseguenza alla diminuzione degli erbivori selvatici). Per quanto riguarda invece l'appennino si evidenzia una naturale e sostanziale dipendenza del lupo dagli erbivori selvatici (Meriggi et al., 1991). Una review del 2016 di Mori e colleghi prende in considerazione 16 studi sull'analisi degli escrementi di lupo in Italia, estrapolandone le prede principali nella dieta: il cinghiale risulta essere la specie maggiormente predata, al secondo posto troviamo il capriolo, seguito dagli ungulati domestici (**FIG. 1.6**).

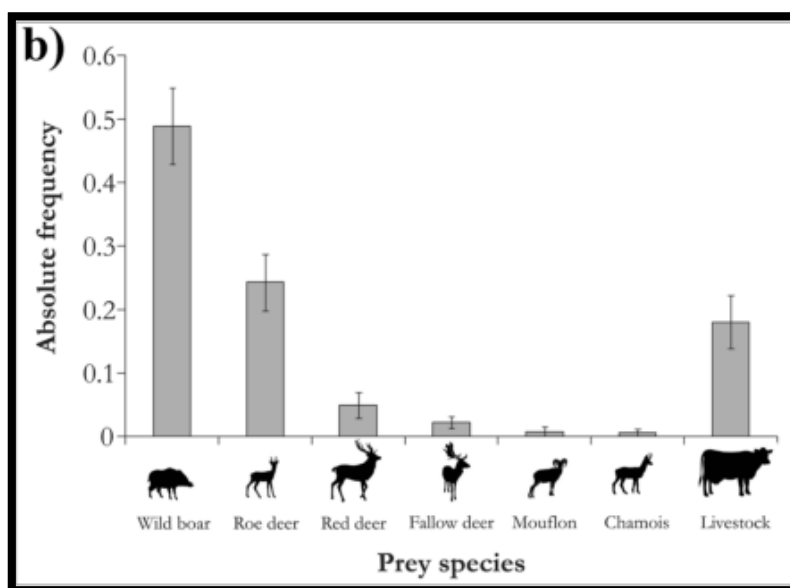


FIG. 1.6. SPECIE PREDA MAGGIORMENTE CONSUMATE DAL LUPO APPENNINICO (da Mori et al., 2017)

Gli ungulati domestici risultano essere in generale una preda allettante per il lupo, in quanto anni di domesticazione da parte dell'uomo hanno causato una perdita del loro naturale istinto antipredatorio, rendendole prede di facile cattura. Diversi studi (Mech, 1970; Fritts e Mech, 1981; Meriggi et al., 1991; Meriggi e Lovari, 1996) hanno però dimostrato l'esistenza di una significativa correlazione negativa tra la frequenza percentuale di comparsa nella dieta degli ungulati domestici e di quelli selvatici (**FIG. 1.7**).

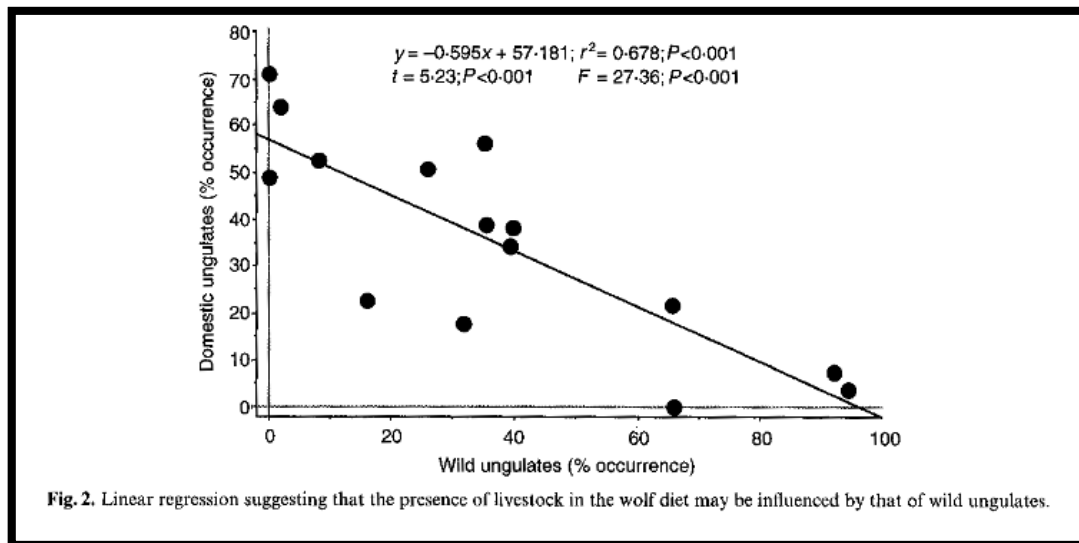


FIG. 1.7. REGRESSIONE LINEARE CHE EVIDENZIA LA CORRELAZIONE NEGATIVA TRA LA PRESENZA DI UNGULATI DOMESTICI E QUELLA DI UNGULATI SELVATICI NELLA DIETA DEL LUPO (da Meriggi e Lovari, 1996)

Inoltre, comunità diversificate di ungulati selvatici influenzano maggiormente la diminuzione della predazione a carico del bestiame, rispetto a situazioni più povere dove prevale ad esempio un'unica specie, anche quando risulta abbondante (Meriggi e Lovari, 1996). Gli episodi di predazione sui domestici costituiscono il principale problema per la conservazione del lupo, in quanto possono condurre a persecuzioni. Questo si verifica anche dove vi è una temporanea presenza di ungulati selvatici, ma i domestici sono localmente abbondanti e non adeguatamente protetti. Infatti, nelle regioni dell'appennino centro meridionale in cui il lupo è sempre stato presente, la prevenzione delle predazioni è perseguita con diversi sistemi (sorveglianza delle greggi o mandrie, ricovero notturno, cani da guardiania) mentre nelle aree in cui il predatore è stato per molto tempo assente c'è una mancata coevoluzione tra modalità di allevamento e presenza del lupo e questo genera forti conflitti. Predando gli animali domestici, infatti, i lupi fanno perdere ingenti quantità di denaro al settore zootecnico, nonostante ci siano indennizzi per coprire i costi di eventuali perdite. I sistemi di prevenzione, quali recinzioni (anche elettrificate), dissuasori sonori e luminosi, cani da guardiania, sono spesso sconvenienti in termini di costi-benefici e gli indennizzi, una volta detratti i costi di smaltimento dei resti e considerate le consistenti perdite accessorie (tempo necessario al recupero delle carcasse, mancate produzioni, danni indiretti quali ferite, fuga del bestiame, aborti, perdita di latte), non coprono i reali danni subiti, con la conseguenza che il lupo viene ancora percepito come una minaccia da eliminare. Alcuni accorgimenti (ad esempio una miglior gestione dei resti negli

allevamenti) possono essere fattori importanti nella prevenzione, ma non bastano ad arginare il conflitto. Questo è uno dei principali problemi per la conservazione del lupo (**FIG. 1.8**).

Tabella 1 - Principali fattori di minaccia per il lupo in Italia.

Minacce e fattori limitanti	Rilevanza
Bracconaggio	Primaria
Conflitti con la zootecnia	Primaria
Conflitti con l'attività venatoria	Primaria
Riduzione e frammentazione degli habitat	Secondaria
Disturbo antropico	Secondaria
Piccoli numeri, basse densità e fluttuazioni demografiche	Secondaria
Forma e frammentazione dell'areale	Secondaria
Inquinamento genetico	Primaria
Altre minacce legate alla presenza di cani vaganti	Primaria
Assenza di coordinamento degli interventi di conservazione	Primaria

FIG. 1.8. PRINCIPALI FATTORI DI MINACCIA PER IL LUPO IN ITALIA: I PRIMI TRE RIGUARDANO CONFLITTI DIRETTI CON L'UOMO (di rilevanza primaria) (da Quad. Cons. Natura n° 13. Ministero dell'Ambiente)

1.1.2. *Myocastor coypus*

Sistematica - La nutria, *Myocastor coypus* (Molina, 1782, **FIG. 1.9**) è un roditore di media taglia appartenente alla famiglia dei Miocastoridi, originario della sub regione patagonica del Sud America e delle aree temperate del Cile e dell'Argentina. È stata descritta per la prima volta da Molina come *Mus coypus*, poi riclassificata come appartenente al genere monotypico *Myocastor* da Kerr nel 1792. La specie è stata introdotta in molti paesi sia nel Nord America che nell'Europa dove è riuscita a costituire popolazioni naturalizzate. Sono presenti cinque sottospecie nell'areale d'origine:

- *M. c. bonariensis* (Geoffroy De St. Hilaire, 1805)
- *M. c. coypus* (Molina, 1782)
- *M. c. melanops* (Osgood, 1943)
- *M. c. santacruzae* (Hollister, 1914)
- *M. c. pepelairi* (Osgood, 1943)



FIG. 1.9. ESEMPLARE DI *Myocastor coypus* (foto di Oleksandr Lytvynenko)

Morfologia – È un roditore di medie dimensioni, classificabile come meso-mammifero. La lunghezza di testa e corpo è compresa tra 43 e 63.5 cm, quella della coda tra 25.5 e 42.5 cm, la lunghezza del piede tra 12 e 15 cm e quella delle orecchie tra 2.5 e 3 cm. Pesa generalmente tra 5 e 10 kg, talvolta può raggiungere i 17 kg (Novak, 1999). Gli individui delle popolazioni europee tendono a pesare circa il 25% in più rispetto a quelli delle popolazioni di origine, con i maschi solitamente più grandi delle femmine. Presenta i caratteristici incisivi da roditore, larghi e robusti, con uno smalto color arancione brillante, particolarmente indicativo della specie (Woods et al., 1992). Il corpo è piuttosto tozzo e robusto, la pelliccia che lo ricopre è composta da lunghi peli rigidi color bruno-giallastro o bruno-rossastro, che nascondono quasi completamente il sotto-pelliccia grigio scuro, soffice e vellutato. Le parti ventrali sono giallo chiaro e meno ruvide delle parti dorsali. Il mento è ricoperto di peli biancastri e il muso presenta lunghe vibrisse. La testa è larga e di forma triangolare, gli occhi e le orecchie sono piccoli e, insieme alle narici, sono situate nella parte superiore della testa, in modo da essere tenuti al di fuori dell'acqua quando l'animale nuota. La bocca porta delle labbra chiudibili dietro agli incisivi cosicché l'animale possa nutrirsi di piante sott'acqua. Gli arti sono relativamente corti, con i piedi più lunghi delle zampe anteriori e muniti di 5 dita, di cui le prime 4 connesse tra loro da una membrana cutanea che li rende palmati, mentre il quinto è libero ed è solitamente utilizzato per pettinare la pelliccia. La pianta dei piedi è priva di peli. Le zampe anteriori hanno invece 4 dita lunghe, flessibili, non palmate e con un pollice rudimentale. Gli artigli sono affilati e robusti. Una secrezione oleosa, utilizzata per lubrificare il pelo e probabilmente anche per marcare il territorio, viene emessa da alcune ghiandole poste sui lati del muso nella zona dove sorgono le vibrisse e intorno alla regione anale. La coda è

ricoperta finemente di peli, tranne che alla base, e di scaglie. La sua forma è cilindrica, non compressa lateralmente. Le femmine hanno 4-5 paia di mammelle toraciche, situate molto in alto sui lati del corpo, per agevolare l'allattamento dei piccoli anche durante il nuoto (LeBlanc, 1994), oppure per permettere alla femmina di rimanere in stato di allerta anche durante la nutrizione dei piccoli.

Distribuzione - L'area di provenienza comprende Brasile, Paraguay, Uruguay, Bolivia, Argentina e Cile (Gosling e Baker, 1991). All'interno di questo areale, occupa ambienti molto diversi tra loro e caratterizzati da condizioni climatiche variabili, dal clima subtropicale dell'Argentina settentrionale agli inverni particolarmente freddi della Patagonia. La nutria è stata introdotta in tutto il mondo nel corso dell'ultimo secolo per gli allevamenti di pelliccia e ora si è stabilizzata in ogni continente eccetto l'Australia e l'Antartide (Carter e Leonard, 2002) (**FIG. 1.10**). I primi allevamenti commerciali per la produzione di pellicce sorsero alla fine del secolo scorso in Argentina e nel 1931 esistevano già 60 allevamenti solo in quel paese. In seguito, questo tipo di allevamento si diffuse in altre parti del mondo utilizzando quasi sempre la sottospecie *M. c. bonariensis*. La diffusione di questa attività si deve sia all'interesse commerciale della pelliccia che, soprattutto nei primi anni, era abbastanza elevato, sia alla facilità con cui le nutrie potevano essere allevate. Successivamente però, l'allevamento si rivelò una pratica sempre meno remunerativa e venne gradualmente abbandonato; fu proprio in questo periodo che iniziarono a verificarsi le prime immissioni, sia volontarie che accidentali, di nutrie in natura. Queste immissioni hanno consentito la formazione di nuclei naturalizzati in grado di auto sostenersi e di espandersi (questo è il caso dell'Italia).

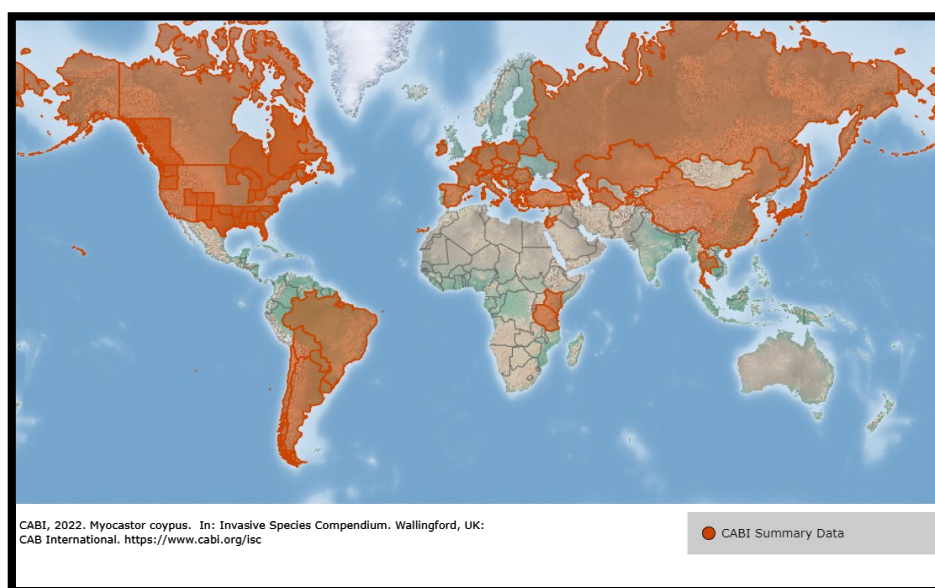


FIG. 1.10. DISTRIBUZIONE MONDIALE DI *Myocastor coypus* (CABI, 2022. In: Invasive Species Compendium)

Struttura sociale e riproduzione - Nel loro areale originario i gruppi sociali di nutria contengono approssimativamente dieci individui che consistono in giovani, subadulti e adulti di entrambi i sessi. La nutria presenta un sistema di accoppiamento poliginico, che si evidenzia anche nelle strutture sociali organizzate (Gosling e Baker, 1987). Ogni gruppo, infatti, ha tipicamente un maschio dominante che è più grande degli altri maschi (Guichón et al., 2003b) e che frequenta un territorio abitato da più femmine, con le quali si accoppia. Il maschio dominante è territoriale e allontana i giovani maschi in via di sviluppo o già maturi sessualmente dal gruppo (la maturità sessuale viene raggiunta intorno ai 4-6 mesi – Evans, 1970). Questo comportamento porta i maschi a disperdersi maggiormente rispetto alle femmine (Gosling e Baker, 1989). L'accoppiamento può avvenire durante tutto l'anno (Bound et al., 2003) ma la maggior parte delle nascite si concentra nei mesi di maggio e settembre/novembre. Le femmine sono poliestre, l'estro dura 24-26 giorni, con un periodo di ricettività di 1-4 giorni. L'ovulazione può essere indotta dalla copula. Possono partorire 2-3 volte l'anno (Brown, 1975) e si può verificare un estro post-partum dopo 1-2 giorni dal parto. La gestazione dura 127-138 giorni (Newson, 1966), nascono in media 5 piccoli per parto (Gosling, 1977) fino a un massimo osservato di 11-13 cuccioli (Gosling, 1974) di ben 50-200 g rivestiti di pelo e con occhi aperti, capaci di nuotare appena a 24 ore dalla nascita. Il cucciolo può sopravvivere lontano dalla madre già a soli 5 giorni di vita, ma di solito rimane con essa fino a 6-10 settimane. L'80% della mortalità di questa specie avviene nel primo anno di vita, in pochi raggiungono più di 2 o 3 anni (il freddo intenso è il principale fattore limitante - Evans, 1970; Gosling et al., 1983; Doncaster and Micol, 1990). In cattività invece è stata riscontrata un'aspettativa di vita fino a dieci anni. Il numero di figli teoricamente prodotti da una femmina in un anno è di 13.96 (Riga e Cocchi, 1997): ciò dà un'idea del potenziale biotico esprimibile della specie. Di norma la crescita delle popolazioni viene limitata da meccanismi fisiologici quali aborti selettivi, riassorbimento dei feti e mortalità postnatale. Gosling (1974) ha stimato che una popolazione di 8000-10.000 esemplari può aumentare fino a 15.000-18.000 individui in un anno in assenza di controllo della popolazione. Fattori quali clima e le condizioni ambientali possono influenzare anche fortemente la distribuzione e la densità delle popolazioni di nutria. La densità annuale può variare da 0.5 a 21.4 individui per ettaro (Willner et al., 1979) e la densità di popolazione varia grandemente in base all'habitat.

Habitat - Le popolazioni di nutria sono comuni in una grande varietà di ambienti acquatici come laghi, stagni, acquitrini, canali di drenaggio, fiumi, torrenti e altri sistemi acquatici dal flusso lento (LeBlanc, 1994). Sebbene preferisca acqua dolce e fresca (Dozier, 1985), alcune popolazioni vivono in acque salate o salmastre (Bounds, 2000). La nutria utilizza ripari di due tipi: tane scavate nel terreno o sugli argini di fiumi e canali, con gallerie del diametro di circa 20-30 cm, che variano da semplici tunnel a

complessi intrecci di camere e passaggi che si estendono per oltre 15 metri e possiedono diverse entrate per la maggior parte sommerse dall'acqua, oppure ripari in una sorta di nido ricoperto dalle canne sia sulla terraferma sia su piattaforme galleggianti. È in grado di utilizzare anche tane di altri animali come rifugio. Essendo la specie originaria di regioni subtropicali, le massime densità di popolazione vengono raggiunte in ambienti umidi dotati di buone disponibilità alimentari. Al contrario, il freddo intenso è un forte fattore limitante, poiché non solo impedisce la fruizione di rizomi e radici (alimento principale in inverno - Gosling, 1981) portando ad una debilitazione degli individui, ma può portare anche ad un aumento degli aborti e in generale ad una riduzione delle nascite. Inoltre, i canali e le zone umide gelate possono immobilizzare le nutrie in acqua e provocare loro ferite, soprattutto agli arti e alla coda. Oltre a ciò, il controllo operato dall'uomo, soprattutto in areali non nativi, si sostituisce all'azione dei predatori naturali (caimani). Nonostante ciò, la nutria è in grado di adattarsi a diversi livelli di interazione umana, soprattutto negli areali non originari.

Territorio – La nutria è un animale prevalentemente notturno, sia in areali nativi che di introduzione (Chabreck, 1962; Palomares et al., 1994), ma la si può vedere in attività durante tutto il giorno (Bounds et al., 2003), soprattutto in inverno (Gosling et al., 1980). I pattern di attività cambiano in risposta sia a fattori climatici che umani. Generalmente le nutrie usano una piccola area per i movimenti quotidiani, fino a 180 m dalla localizzazione del rifugio. L'*home range* può variare grandemente da meno di due ettari a più di 30 ettari e può variare stagionalmente. I maschi generalmente utilizzano *home ranges* più ampi e la dimensione può comunque dipendere anche dalla disponibilità delle risorse; infatti, le nutrie sono in grado di disperdersi anche per lunghe distanze se le risorse sono scarse (Aliev, in uno studio del 1965, ha documentato un individuo che si è disperso ad una distanza di 65 km in due anni in Est Europa). A nuoto possono percorrere diversi chilometri lungo i canali, con una media di 1.19 km (Doncaster e Micol, 1989).

Ecologia alimentare – La nutria è essenzialmente erbivora e gli alimenti più utilizzati sono piante acquatiche, radici, foglie, tuberi e rizomi. Integrano con cereali se sono presenti campi coltivati vicino ai loro insediamenti. Le nutrie possono sovra-utilizzare specie vegetali preferenziali (Borgnia et al., 2000), ma sono anche in grado di cambiare le proprie abitudini alimentari stagionalmente basandosi sulla disponibilità delle risorse di cibo (Abbas, 1991); per esempio il consumo di radici aumenta in inverno quando le altre risorse di cibo sono scarse. Ingeriscono da 700 a 1500 grammi di materia vegetale al giorno: considerando un peso medio di 2,5 kg, consumano una quantità che corrisponde a circa il 25% del loro peso corporeo (Gosling, 1974; Guichón et al., 2003a; Woods et al, 1992). Ciascun individuo consuma quindi l'equivalente di 27 kg di materia secca ogni anno.

1.1.2.1. In Italia

Distribuzione - In Italia i primi esemplari di nutria furono importati nel 1928 a scopo di allevamento commerciale (produzione di pelliccia) a cura dell'Istituto di conigliicoltura di Alessandria (Santini, 1978). Da allora questa forma di allevamento, condotta da singole imprese agricole, ha conosciuto una vasta diffusione. L'allevamento spesso attuato con strutture di stabulazione inadeguate ha facilitato le ripetute immissioni più o meno accidentali avvenute nel corso degli ultimi decenni. Le notizie sulla distribuzione in natura del roditore furono inizialmente piuttosto frammentarie (Toschi, 1965). Da iniziali presenze puntiformi si è passati ad una distribuzione che ha via via interessato comprensori sempre più ampi sino alla situazione attuale, che vede la presenza di due areali di dimensione interregionale comprendenti, senza soluzione di continuità, il primo la pianura padana e la costa alto e medio adriatica (fino all'Abruzzo), il secondo la costa tirrenica compresa tra il bacino dell'Arno e quello del Tevere (dalla Liguria sino alla Campania) (Cocchi e Riga, 1999). Lungo la costa medio adriatica (Marche, Abruzzo), quella bassa tirrenica e in Italia meridionale e insulare sono invece presenti nuclei apparentemente isolati di dimensioni più contenute (Cocchi e Riga, 2001). In base ai modelli di idoneità ambientale, la specie può colonizzare gran parte dell'Italia, isole comprese (Panzacchi et al., 2007). All'interno dell'areale appena descritto le aree dove le popolazioni raggiungono consistenze numericamente più rilevanti sono zone umide, aree deltizie e comprensori di bonifica solcati da una rete di canali naturali e/o artificiali. La capacità dispersiva della specie risulta agevolata in presenza di settori geografici dotati di un fitto reticolo idrografico; in ragione di ciò anche aree per altri versi non particolarmente vocate possono ospitare insediamenti vitali. Nel 2020 si è ritenuto opportuno procedere a un aggiornamento dei dati distributivi e per questo sono stati richiesti i dati aggiornati alle amministrazioni regionali e provinciali, all'associazione teriologica italiana (ATIt) e si sono consultate alcune piattaforme di citizen-science. Il quadro distributivo della nutria che si ricava dalle mappe (**FIG. 1.11**) evidenzia una macroarea con presenze continue in corrispondenza del settore padano dal Piemonte al Friuli alla Romagna. Un secondo comprensorio in ordine di importanza è quello toscano umbro dove però l'occupazione del territorio non appare continua escludendo le zone di crinale. Invece scendendo a latitudini inferiori le presenze si fanno più frammentate e localmente isolate.

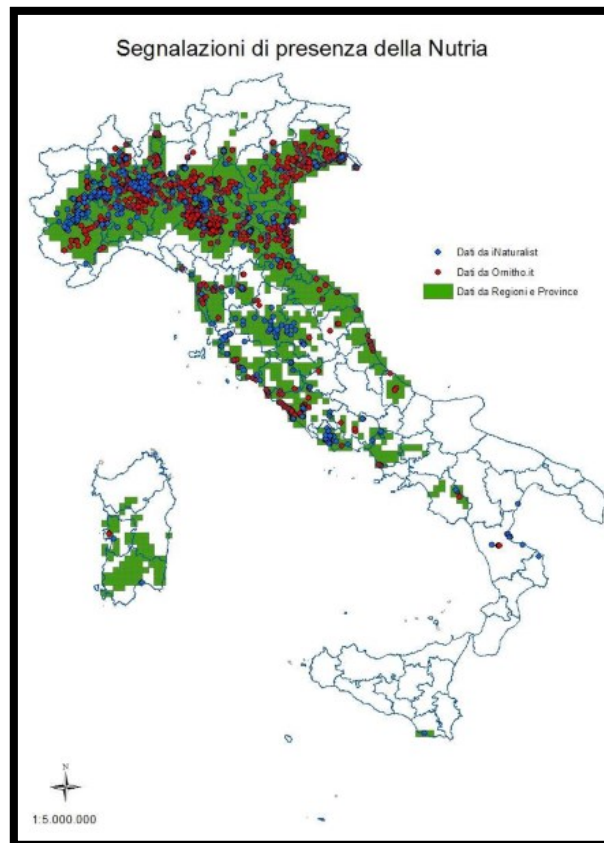


FIG. 1.11. DISTRIBUZIONE DI *Myocastor coypus* IN ITALIA
(da Piano di Gestione Nazionale della Nutria, 2020)

Impatto ambientale - La nutria è una specie alloctona ed invasiva, come tale nei nostri ambienti non ha ancora predatori efficaci, quindi la sua introduzione in ecosistemi europei ha comportato negli anni un continuo aumento della popolazione con conseguenti danni agli ecosistemi naturali (ed artificiali). I danni che la nutria provoca sono di diverso tipo (Bertolino e Genovesi, 2007): danni ambientali, alle colture, alle infrastrutture idrauliche e problemi sanitari. Sono stati riportati regolarmente anche i danni a prati e giardini in ambienti rurali e metropolitani.

Riassunto degli impatti ambientali:

1. Biocenosi:

- Impatto trofico sulle fitocenosi naturali che può determinare alterazioni nella struttura, nella composizione, nella funzionalità e nell'estensione delle zone umide (oltre che competizione con specie minacciate);
- Competizione per siti di nidificazione con gli uccelli acquatici, distruzione dei nidi (le nutrie utilizzano i nidi galleggianti in acqua come piattaforme per il riposo) e predazione delle

uova (Bertolino et al., 2011; Angelici et al., 2012), disturbo con conseguente allontanamento (contrazioni delle popolazioni di gallinella d'acqua, svasso maggiore, tuffetto, mignattino piombato e sterna comune, sono state messe in relazione ad un incremento locale del roditore - Scaravelli, 2002; Tinarelli, 2002).

2. Agricoltura:

- Asporto di coltivazioni, soprattutto quelle prospicienti a corsi d'acqua (le piante coltivate sono generalmente più ricche di elementi nutritivi rispetto a quelle naturali, più concentrate nello spazio, quindi il bilancio energetico è più favorevole): l'utilizzo di colture è condizionato dalla distanza delle colture dai corsi d'acqua e dalla presenza di fonti alimentari naturali; infatti, se disponibile, la nutria si alimenta sulla vegetazione acquatica e delle rive evitando di allontanarsi per raggiungere aree coltivate (Borgnia et al, 2000; D'Adamo, 2000), altrimenti potrebbe nutrirsi delle colture (Corriale et al., 2006). Le coltivazioni più colpite sono: cereali (riso, granturco, frumento), barbabietola da zucchero, soia, ortaggi in genere (radicchio, carote) e in alcuni casi cortecce di piante arboree. A titolo indicativo i danni alle attività agricole indennizzati nel periodo 1995-2000 in Italia sono stati mediamente di 935.138 € (Panzacchi et al, 2007).

3. Infrastrutture irrigue

- Perforazione delle arginature dei canali di irrigazione (la tana viene ricavata nelle sponde con escavazione diretta di un tunnel di vari metri, con camere terminali per il riposo e alcune uscite secondarie), di scolo delle acque e di bacini artificiali, con rischio di infiltrazioni e cedimenti e conseguenti possibili esondazioni;
- Smottamento delle banchine;
- Occlusione dei canali irrigui secondari, collassamento delle arginature delle risaie.

I danni alle arginature ai prodotti dalle nutrie possono essere notevoli: nel periodo 1995-2000 in Italia sono stati spesi per il ripristino mediamente 10.696.583 € (Panzacchi et al., 2007).

4. Potenziali problemi sanitari

- Serbatoio per la diffusione di alcuni parassiti (es: *Fasciola hepatica*, *Leptospira interrogans*), anche all'uomo (*Leptospira* è stata accertata nelle feci e nell'urina; quindi, può causare leptospirosi ad altri animali selvatici o al bestiame allevato).

Per tutti questi motivi *Myocastor coypus* è inclusa nella lista delle 100 peggiori specie invasive aliene al mondo (“100 World’s Worst Invasive Alien Species”), documento pubblicato da ISSG (Invasive Species Specialist Group) nel 2000 e anche tra le 10 specie invasive con il più alto numero di tipologie di impatto sui servizi ecosistemici (Vilà et al., 2010). La comunità scientifica è concorde nel ritenere che l'introduzione di specie alloctone costituisca la seconda causa di perdita di biodiversità a livello globale subito dopo la distruzione degli habitat.

Legislazione – Proprio per l’alto livello di invasività di questa specie, è stato necessario creare ed aggiornare negli anni un quadro normativo nazionale (ed internazionale). Oltre alla Convenzione di Rio del 1992 e al Regolamento dell’UE del 2014, che vietano di introdurre specie alloctone e che, nel caso, ne chiedono il controllo o l’eliminazione se costituissero una minaccia per gli ecosistemi, si evidenziano due misure importanti:

- Raccomandazione del Consiglio d’Europa n. 77/1999 che include la nutria tra le specie alloctone invasive che causano impatti rilevanti alla biodiversità e chiama i Paesi membri del Consiglio d’Europa a eradicare, ove possibile, tale specie;
- Regolamento di esecuzione (UE) 2016/1141 della Commissione del 13 luglio 2016 che adotta un elenco di specie esotiche invasive di rilevanza unionale in applicazione del regolamento n. 1143/2014, in cui la nutria è compresa.

A livello nazionale, invece, riporto alcune leggi importanti:

- Legge n. 157/1992 “Norme per la protezione della fauna selvatica omeoterma e per il prelievo venatorio” e successive modifiche e in particolare l’art.19, comma 2, che prevede per le Regioni la facoltà di effettuare piani di limitazione di specie di fauna selvatica (la nutria era inizialmente stata inserita) per la migliore gestione del patrimonio zootecnico, per la tutela del suolo, per motivi sanitari, per la selezione biologica, per la tutela delle produzioni zoo-agro-forestali ed ittiche, sulla base di parere (obbligatorio ma non vincolante) di ISPRA, chiamato a verificare la selettività dei metodi di prelievo utilizzati;
- Legge n. 116/2014 “Disposizioni urgenti per il settore agricolo, la tutela ambientale e l'efficientamento energetico dell'edilizia scolastica e universitaria, il rilancio e lo sviluppo delle imprese, il contenimento dei costi gravanti sulle tariffe elettriche, nonché la definizione immediata di adempimenti derivanti dalla normativa europea” e in particolare con l'art. 11, comma 11 bis, le nutrie, al pari di talpe, ratti, topi propriamente detti e arvicole, sono escluse dalla fauna selvatica oggetto della legge 157/92 modificando in tal senso l'art.2, comma 2;

- Legge n. 221/2015 “Disposizioni in materia ambientale per promuovere misure di green economy e per il contenimento dell’uso eccessivo di risorse naturali”, pubblicata sulla G.U. n.13 del 18/1/2016, in vigore dal 2/2/2016, e in particolare l’art. 7, comma 5 lett. a) che prevede, ferma restando l’esclusione della nutria dalle specie di fauna selvatica di cui all’art.2 della L. 157/92, che la gestione di tale specie sia finalizzata all’eradicazione o comunque al controllo delle popolazioni secondo il disposto dell’articolo 19 della legge n. 157/92. Appellandosi a questo dettato normativo alcune amministrazioni locali hanno attuato provvedimenti finalizzati al contenimento numerico della specie. Titolare dell'attuazione dei piani di controllo sono le regioni.

A seguito di un Pest Risk Assessment, prodotto in base al Regolamento europeo 1143/2014, la nutria è stata inclusa nel primo elenco delle specie esotiche invasive di rilevanza unionale, entrato in vigore nel luglio 2016 (Regolamento di esecuzione (UE) 2016/1141 della commissione del 13 luglio 2016). Tale norma comunitaria ha quindi introdotto diversi obblighi per l'Italia che ha dovuto dotarsi di un piano nazionale di gestione della nutria (uscito nel 2020) e attivare in tempi rapidi efficaci misure di eradicazione, controllo demografico (riduzione nel tempo della densità o della consistenza totale della popolazione) o contenimento spaziale (rimozione dei nuclei limitati ma non isolati spazialmente da aree con popolazioni estese e avviare attività di controllo delle aree che la specie può utilizzare per ricolonizzare) della specie (che già veniva effettuato). Il controllo numerico di popolazioni selvatiche deve, di norma, essere attuato con metodi ecologici. Qualora venga verificata l'inefficacia dei suddetti metodi ecologici le regioni possono attuare piani di abbattimento.

Sistemi di prevenzione dei danni (metodi ecologici):

- Recinzioni elettrificate: filo elettrificato posto ad un'altezza da terra di 15 cm con cui perimetrare gli appezzamenti suscettibili di subire danneggiamento;
- Protezione meccanica degli argini: reti composite che vengono stese al suolo e coprono sia la parete immersa dell'argine che la sua parte sommitale (dopo poche settimane la rete viene completamente inglobata nella parte più profonda del cotico erboso il che permette di attuare senza problemi le normali operazioni di sfalcio).

Tecniche di controllo numerico:

- Trappolaggio: le gabbie trappola consentono la cattura in vivo dell'animale, risultando selettive dato che, controllandole almeno una volta al giorno, si possono liberare le specie non bersaglio. Inoltre, in genere non inducono alcun danneggiamento ai soggetti catturati, che vengono poi soppressi con metodi in grado di evitare inutili sofferenze (es: gassificazione con cloroformio direttamente sul luogo di cattura);

- Abbattimento mediante arma da fuoco: sebbene questa tecnica possa fornire risultati importanti nelle fasi iniziali di applicazione, per via degli animali ancora poco diffidenti e avvicinabili con relativa facilità, lo stesso non si può dire per il lungo periodo, dato che gli animali diventano, appunto, evasivi nei confronti dell'uomo. Si tratta inoltre di una tecnica ad alto disturbo generalizzato; quindi, se ne sconsiglia l'applicazione se non in occasioni estremamente favorevoli (molti individui che escono dalle tane durante le gelate invernali);
- Lotta chimica: tramite esche avvelenate (rodenticidi), ma questo è un metodo che non assicura una sufficiente selettività;
- Controllo della riproduzione: mediante cattura, sterilizzazione chirurgica (o somministrazione di sostanze immuno-contraccettive) e successiva liberazione. Questo processo richiede però ingenti impegni economici ed operativi, che conviene applicare solo in alcune realtà locali con nuclei numericamente contenuti e spazialmente isolati (non possono quindi essere applicati alla generalità del territorio italiano).

La cattura mediante gabbia trappola con successiva soppressione eutanasica dei soggetti catturati viene considerata lo strumento più idoneo, come misura aggiuntiva si può prevedere l'occasionale ricorso all'abbattimento con l'arma da fuoco in coincidenza con persistenti gelate invernali. A livello economico, bisogna inoltre tenere conto degli ingenti costi di smaltimento, qualunque sia il metodo che si decida utilizzare.

Per quel che si sa ad oggi, i tentativi di eradicazione di popolazioni di nutria nei paesi dove la specie è stata introdotta, si sono rivelati generalmente infruttuosi. L'unica eccezione è rappresentata dalla Gran Bretagna (Gosling et al., 1988; Gosling e Baker, 1989), nella regione dell'East Anglia, dove, dopo una campagna di controllo numerico mediante trappolaggio durata diversi anni (dal 1981 al 1989), si è arrivati alla pressoché completa eliminazione della specie da un'area di 5400 km². L'intervento ha avuto successo grazie a un'attenta pianificazione, basata sulla sperimentazione delle tecniche su un'area limitata (simulazione degli sforzi di controllo, dei costi, degli animali da rimuovere e della possibilità di successo dell'eradicazione) e successiva applicazione su scala spaziale più ampia; inoltre il personale reclutato (composto da 24 trapper) si dedicava alle catture a tempo pieno, incentivato economicamente da un sistema di bonus addizionali alla retribuzione con il raggiungimento per tempo degli obiettivi del piano.

In una revisione critica circa le condizioni necessarie affinché l'eradicazione di specie introdotte possa sortire esiti positivi, Bomford e O'Brien (1995) individuano sei requisiti che occorre si realizzino contemporaneamente:

- 1) Un tasso di rimozione maggiore dell'incremento naturale della popolazione;
- 2) La mancanza di fenomeni di immigrazione;
- 3) Tutti gli animali riproduttivi devono essere potenzialmente catturabili;
- 4) Contattabilità degli animali anche a bassa densità;
- 5) Analisi costi benefici favorevole all'eradicazione;
- 6) Un adeguato consenso sociopolitico.

La contemporanea presenza di tutte le condizioni sopra evidenziate, si verifica in un limitatissimo numero di casi e ciò spiega il perché di tanti fallimenti. Bisogna inoltre considerare come in Italia le attività di controllo e gestione delle popolazioni di nutria siano iniziate negli anni '80 del secolo scorso, ma abbiano subito una forte limitazione (interruzione in alcuni casi) nel 2014, a causa dell'esclusione della nutria dalle specie di fauna selvatica (in concomitanza con lo scioglimento delle province). Dove svolte, le attività erano condotte in maniera spazialmente e temporalmente discontinua, facendo ricorso al solo volontariato (spesso venatorio) e senza alcuna pianificazione degli obiettivi e verifica dei risultati conseguiti. Vi sono diverse aree del paese in cui ancora non è stata attuata una pianificazione regionale in risposta al nuovo assetto normativo. In generale, in Italia gli interventi di controllo della nutria non hanno fermato l'espansione della specie, con un conseguente aumento degli impatti: nel periodo 1995-2000 ad esempio, nonostante la rimozione di almeno 220.688 animali, i danni all'agricoltura e alle arginature sono continuati ad aumentare nel corso dei sei anni, indicando un controllo inefficace a scala nazionale e locale. Nonostante questo, esistono degli esempi di gestione di popolazioni di nutria che hanno avuto un discreto successo in termini di contenimento delle popolazioni (Bertolino et al., 2005; Cocchi e Riga, 2007; Bertolino e Viterbi, 2010), riduzione delle perdite economiche (Bertolino e Viterbi, 2010) e conservazione della biodiversità (Bertolino et al., 2005). Un elemento fondamentale e comune a questi progetti è stato un adeguato livello di sforzo di cattura che è stato mantenuto costante o addirittura aumentato dopo aver raggiunto i primi risultati positivi. Si tratta però di pochi casi isolati, che non hanno portato alla risoluzione generale del problema. La nutria rimane ancora oggi una specie altamente dannosa per il territorio italiano, compresa l'Emilia-Romagna, regione in cui ha un impatto particolarmente severo (e in cui l'eradicazione non è ritenuta fattibile).

1.2. LO STUDIO

Il primo branco riproduttivo di lupi segnalato in Pianura Padana, risale al 2018, localizzato a San Daniele Po (tra la Lombardia e l'Emilia-Romagna); probabilmente è da qui che i lupi si sono dispersi verso le pianure emiliane, in particolare nelle province di Parma e Reggio Emilia (Molinari, Wolf Appennine Center, unpublished), dove sono ormai presenti da diversi anni con gruppi dai 2 ai 6 individui (in media). Sono stati registrati diversi eventi riproduttivi di nuclei familiari, con ambiti territoriali a nord della via Emilia e dell'autostrada A1 (WAC, unpublished). Sono inoltre circolati fotografie e video, ci sono stati incidenti stradali o esemplari uccisi da bracconieri, e soprattutto allarmistici titoli di giornale, che evidenziano, non solo le possibili perdite economiche da parte degli allevatori a causa degli eventuali attacchi agli ungulati domestici, ma anche una ingiustificata paura viscerale nei confronti di questo predatore, in quanto la popolazione urbana non è abituata alla convivenza con esso. In ambienti antropizzati di pianura i lupi, per allevare i cuccioli, scelgono zone poco frequentate dall'uomo come gli ambienti fluviali, i campi di granturco o le aree recintate e inaccessibili al pubblico (WAC, unpublished). Il 24 luglio 2019 è circolata la prima fotografia di un cucciolo di lupo di circa un mese e mezzo, nei pressi dei comuni di Torrile e Trecasali (**FIG. 1.12**), in provincia di Parma, proprio nei pressi di un campo. Ai precedenti avvistamenti già segnalati (i lupi potrebbero essere stati presenti nel territorio già ad inizio 2019, considerando il concepimento che dev'essere avvenuto intorno a febbraio, a territorio già occupato), si sono nel tempo aggiunte una serie di altre prove video-fotografiche, avvistamenti, ritrovamenti di segni di presenza quali fatte, impronte e carcasse. Grazie all'ausilio di fototrappole in punti strategici, sforzo esercitato dalle responsabili della Riserva LIPU di Torrile e Trecasali, si è potuta confermare la presenza stabile di un branco, che, a fine novembre 2019, era presumibilmente composto da 2 adulti e 6 cuccioli (un settimo cucciolo venne trovato investito). Il lavoro di monitoraggio del branco è culminato con il mio progetto di tesi. Il panorama trofico ritrovato dal lupo nelle zone di pianura fortemente antropizzate è completamente diverso da quello appenninico o alpino. La presenza di ungulati selvatici è bassa, con una grande abbondanza di mammiferi di media e piccola taglia (principalmente appartenenti agli ordini dei Roditori e dei Lagomorfi) e avifauna galliforme (es: fagiani). In particolare, una specie che desta interesse è la nutria, oltremodo presente lungo i torrenti Lorno e Galasso che attraversano i comuni di Torrile e Trecasali. La nutria è anche chiamata "castorino" o "castoro sudamericano", in relazione alla sua forte somiglianza con il castoro, animale con abitudini molto simili, ma con differenze e adattamenti atti alla vita in fiumi dalla forte corrente e climi rigidi. Riprendendo la review di Newsome e colleghi del 2015, un punto interessante mostra come in Nord America, in 53 studi su 77, il lupo si nutra di castoro in quantità elevata e soprattutto come in Canada dell'Est, questo rappresenti la sua preda principale (**FIG.**

1.3). Questo punto fa sorgere una riflessione sull'importanza delle cosiddette “*supplementary preys*” già citate: prede che in certi casi comprendono i principali elementi della dieta, ma in altri contribuiscono solo in misura minima e sono generalmente accessorie alla preda principale. Queste prede supplementari, come già riportato, sono molto importanti per i lupi quando le loro prede principali diminuiscono ed includono per l'appunto castori, lagomorfi, roditori, uccelli, pesci ed eventualmente altri carnivori di piccola taglia (Newsome et al., 2015). Prendendo atto di queste informazioni, e considerando la plasticità ecologica del lupo, è molto probabile che nei territori di pianura, i “castorini” rappresentino un'importante preda supplementare, ed anzi, probabilmente una delle prede principali.



**FIG. 1.12. CUCCIOLO DI LUPO NEI PRESSI DEL
COMUNE DI TORRILE-TRE CASALI, 24 LUGLIO 2019**

Il lupo, nella sua definizione ecologica di predatore, migliora lo status delle prede, sia eliminando quelle malate e vecchie, sia muovendole continuamente da un'area all'altra; compete con gli altri predatori e ne limita l'espansione; contribuisce a ridurre i danni da eccessivo brucamento o calpestio, apre nicchie trofiche per nuovi abitanti, irrobustisce la biodiversità generale. Essendo il lupo un predatore in cima alla catena trofica, infatti, è risaputo che può attuare controllo top-down su livelli trofici inferiori, generando effetti a cascata (Ripple et al., 2014). Un esempio locale è il gran bosco di

Salbertrand, un parco regionale piemontese istituito per proteggere foreste di Abete bianco di particolare pregio. Tra gli anni 80 e il 2000 ha visto aumentare la popolazione di cervi e ne ha quindi dovuto programmare abbattimenti selettivi per limitare il danno al rinnovo degli alberi. La stanzialità di un branco di lupi ha risolto il problema portando alla cessazione delle fucilate. I censimenti del 1995 toccarono l'apice di 240 cervi, mentre oggi se ne contano circa 100 (Luca Giunti in “Le conseguenze del ritorno”). In pochi anni la popolazione dei cervi è stata assestata senza comprometterne la consistenza. Un esempio internazionale ben più famoso è dato dalla reintroduzione dei Lupi nel parco di Yellowstone, dove la presenza del carnivoro ha portato nel tempo a modificare addirittura il corso dei fiumi (**FIG. 1.13**).

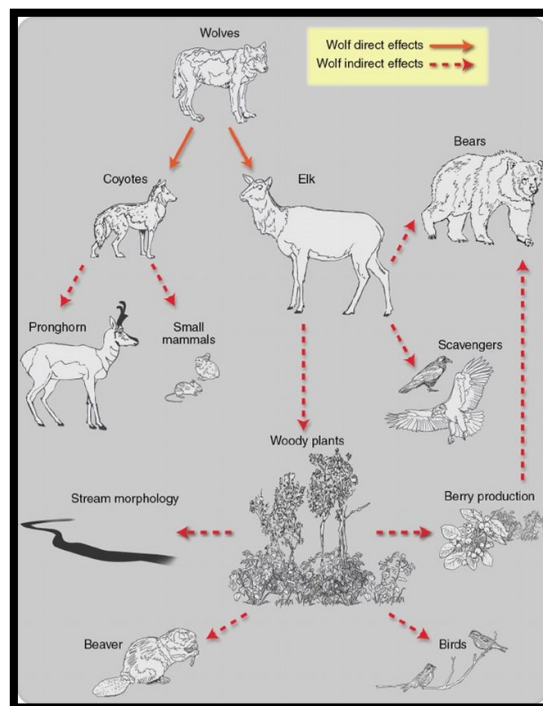


FIG. 1.13. DIAGRAMMA CONCETTUALE CHE MOSTRA EFFETTI DIRETTI ED INDIRETTI SULL'ECOSISTEMA A CAUSA DELLA REINTRODUZIONE DEL LUPO NEL PARCO DELLO YELLOWSTONE (da Ripple et al., 2014)

Sono noti anche studi riguardo il controllo effettuato dal lupo sulle popolazioni di cinghiale, specie anch'essa ritenuta particolarmente problematica a causa del suo alto tasso riproduttivo e ai danni alle coltivazioni. Uno studio effettuato in Polonia mostra come vi sia una significativa correlazione tra le fluttuazioni di densità di lupi e cinghiali (Kanzaki and Perzanowski, 1997) (**FIG. 1.14**).

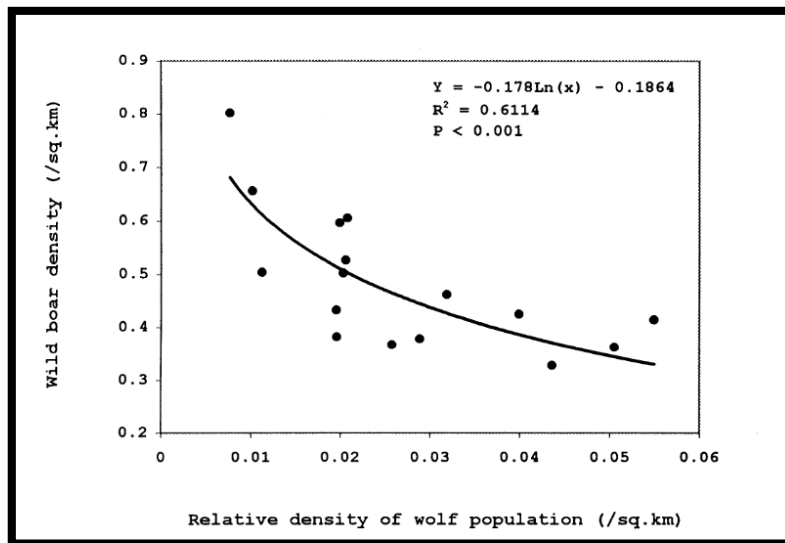


FIG. 1.14. RELAZIONE TRA LA DENSITA' DELLA POPOLAZIONE DI CINGHIALE E QUELLA DI LUPO STIMATA TRA IL 1980 E IL 1996 NELLE MONTAGNE DI BIESZCZADY (POLONIA, da Kanzaki and Perzanowski, 1997)

La dieta del lupo, come già accennato, si basa inoltre su abbondanza e vulnerabilità della preda (Mattioli et al., 2011). La nutria rappresenta una fonte di cibo abbondante in pianura, quindi di facile reperimento, potrebbe rappresentare la preda principale nella dieta del carnivoro, con un possibile doppio vantaggio: controllo delle popolazioni di nutria (con conseguente riduzione dei danni a loro attribuiti) e diminuzione degli attacchi agli ungulati domestici (grazie all'abbondanza delle specie preda selvatiche) (Ciucci, 1994; Patalano e Lovari, 1993).

Sulla base di questi concetti l'ipotesi del presente studio è che il branco di lupi stabilitosi a Torrile e Trecasali, si nutra di nutria e svolga un servizio ecologico di controllo sulle popolazioni presenti nel territorio.

Per l'indagine ci si è basati essenzialmente su quattro punti, con un approccio multidisciplinare:

1. Raccolta di escrementi di lupo ed analisi genetica dei resti indigesti (ossa) qui ritrovati: ci si aspetta di identificare DNA appartenente a nutria, dimostrandone l'appartenenza alla dieta del carnivoro;
2. Analisi morfologica dei resti indigesti (ossa) maggiormente diagnostici: ci si aspetta di identificare resti appartenenti a nutria, rafforzando l'ipotesi;

3. Raccolta di prove video-fotografiche grazie all'ausilio di fototrappole e rete di comunicazione con agricoltori/allevatori, ad ulteriore supporto all'analisi, per dimostrare la predazione attiva su nutria;
4. Confronto tra abbattimenti pregressi di nutria (forniti dalla polizia provinciale) e stima della popolazione nelle stesse zone, per cercare di individuare un pattern di diminuzione eventuale degli esemplari dall'arrivo del lupo.

Non c'è ancora letteratura pubblicata riguardo la dieta di questo carnivoro in territori pianiziali vicini ai centri urbani, quindi il presente lavoro rappresenta uno studio preliminare sull'argomento. Il ruolo ecosistemico di contenimento naturale delle nutrie potrebbe essere un importante strumento che si affiancherebbe agli attuali metodi di gestione, basati principalmente sul trappolaggio e l'abbattimento con arma da fuoco, portando ad un generale miglioramento della situazione e ad una migliore reputazione di questo carnivoro agli occhi dell'opinione pubblica, rendendo più semplici le azioni di conservazione.

2. MATERIALI E METODI

2.1. AREA DI STUDIO

L'area di studio è rappresentata dalla Riserva Naturale di Torrile e Trecasali (e i suoi dintorni), che si trova inclusa all'interno di una più ampia zona di tutela, inserita nell'elenco dei SIC e ZPS della Rete Natura 2000 dal 2004 (IT4020017 - ZSC-ZPS - Area delle risorgive di Viarolo, Bacini zuccherificio Torrile, fascia golenale del Po, **FIG. 2.1**). Il sito comprende una vasta zona di pianura che va', appunto, da Viarolo sino al fiume Po, in coincidenza con il confine regionale con la Lombardia. Ha una superficie complessiva di 2622 ettari ed interessa i comuni di Colorno, Parma, Sissa Trecasali e Torrile.

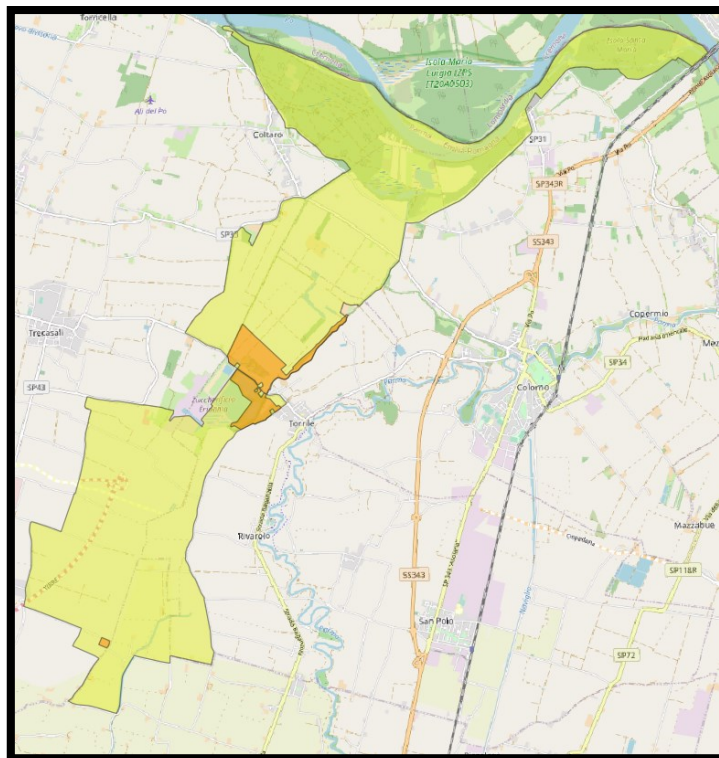


FIG. 2.1. RISERVA NATURALE DI TORRILE E TRECASALI (in arancione), INCLUSA IN UNA PIU' AMPIA ZONA DI TUTELA (IT4020017 - ZSC-ZPS - Area delle risorgive di Viarolo, Bacini zuccherificio Torrile, fascia golenale del Po; in giallo – mappa QGIS)

È caratterizzato da un'elevata presenza e diversità di ambienti umidi quali fontanili, canali (Lorno e Galasso), golene fluviali del Po e vi si sono integrati i bacini dello zuccherificio Eridania di Torrile e alcune zone umide ripristinate con misure agroambientali che attraggono fortemente l'avifauna. La copertura prevalente è costituita da colture cerealicole estensive, incluse le colture in rotazione con

maggese regolare (circa il 73% della superficie del sito). Sono presenti anche impianti forestali a monocoltura, inclusi pioppeti o specie esotiche (circa il 16%), e corpi d'acqua interni (acque stagnanti e correnti, circa il 6%). Sono anche presenti aree boschive che rappresenterebbero il rifugio perfetto per specie come il lupo. Circa il 5% della superficie del sito è ricoperta da dieci diversi habitat di interesse comunitario: tre tipi d'acqua dolce stagnante, con vegetazione galleggiante o sommersa, anche temporanea, e due d'acqua corrente tipica dei fontanili, sono accostati da bordi con erba alta e da prateria permanente, con brevi tratti di bosco ripariale e planiziale costituiti da ontaneti, pioppeto-saliceti e farneti con olmo e frassino. Sono stati identificati nel sito anche quattro habitat di interesse regionale, sempre a carattere ripariale, dalle elofite delle acque correnti, ai magnocariceti di alte ciperacee, ai canneti, ai saliceti di salice grigio. A livello avifaunistico è uno dei siti della pianura emiliana occidentale con la maggiore ricchezza e diversità ornitica: sono segnalate almeno 43 specie di interesse comunitario, 14 delle quali nidificanti, mentre le restanti migratorie o svernanti. Oltre all'avifauna sono presenti altre specie di interesse comunitario tra mammiferi, anfibi, rettili, pesci e invertebrati. Tra le specie invasive, trova l'habitat perfetto la nutria, grazie alla compresenza di colture cerealicole estensive e ambienti acquatici.

La Riserva Naturale Torrile e Trecasali, nello specifico, è stata istituita nel 2010 dalla regione Emilia-Romagna, mentre prima era conosciuta come Oasi LIPU di Torrile. Quest'ultima nacque nel 1988, in principio per favorire la sosta e la nidificazione del Cavaliere d'Italia, che nidificava spontaneamente già dal 1977 nelle vasche di lagunaggio dello zuccherificio Eridania. Inizialmente vennero donati per il progetto di restauro 8 ettari di terreno che dovevano essere trasformati in un habitat di palude diversificata, ma grazie al lavoro di molti attivisti della Sezione LIPU di Parma, oggi l'oasi copre 34 ettari ed è anche stata riconosciuta come un'IBA (International Bird Area). La Riserva Naturale si estende per circa 109 ettari nei Comuni di Torrile e Trecasali, nella porzione nord-orientale della Provincia di Parma. In particolare, l'area protetta tutela una zona umida localizzata alla sinistra del Torrente Parma, accanto alle vasche di decantazione dello zuccherificio Eridania e, a pochi chilometri di distanza, dai Fontanili siti in località Commenda. La Riserva costituisce un'importante riserva biogenetica e floristica, grazie alla presenza di piante rare o in pericolo di estinzione nella bassa pianura e nella provincia. Le principali finalità della Riserva sono quelle di garantire la protezione e la conservazione degli ambienti rinaturalizzati come habitat per la nidificazione, lo svernamento e la migrazione dell'avifauna e di assicurare il mantenimento, in uno stato di conservazione soddisfacente, delle specie e degli habitat di interesse comunitario, indicati come caratterizzanti il sito d'importanza comunitaria "SIC ZPS IT4020017", oltre a tutelare e conservare le specie faunistiche e floristiche presenti, promuovere attività di informazione, divulgazione di educazione ambientale e di ricerca

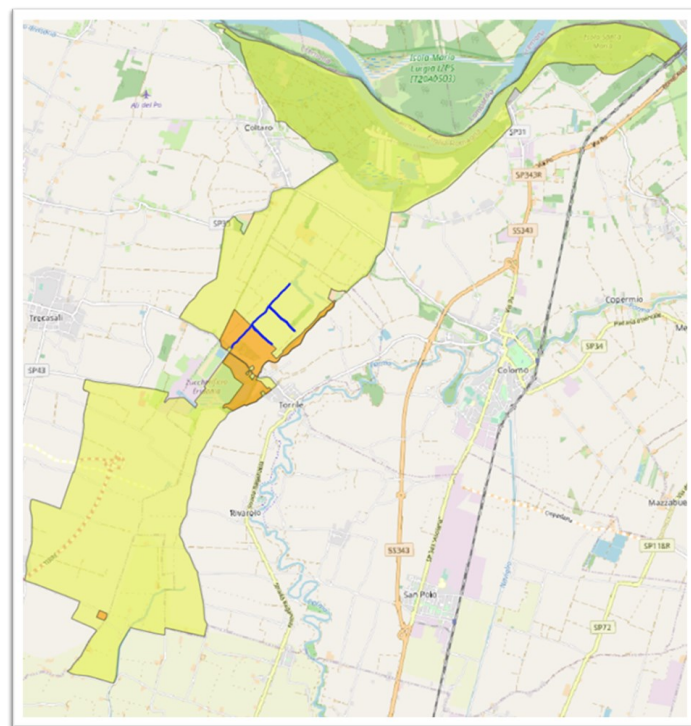
scientifica basate sulla conoscenza e sul rispetto della biodiversità e del paesaggio della riserva, promuovere forme di gestione delle risorse naturali compatibili con le finalità di tutela della riserva e finalizzate alla conservazione di spazi naturali e seminaturali del paesaggio agrario, incentivare la fruizione del territorio nelle forme e nei modi compatibili, allo scopo di promuovere la conoscenza dei fenomeni naturali ed i principi della loro conservazione.

2.2. STUDIARE LA DIETA DEL LUPO

Il tema della dieta del lupo è stato frequentemente affrontato in Italia, soprattutto in contesti ecologici appenninici. È noto, come già esposto, che il lupo basa la sua dieta principalmente su ungulati selvatici di media taglia (quali cinghiale e capriolo), seguiti dagli ungulati domestici (soprattutto ovini e bovini), mentre i piccoli e medi roditori rappresentano una percentuale spesso trascurabile. Qual è la necessità di approfondire ulteriormente questo tema? Come già accennato, in aree di recente ricolonizzazione i conflitti fra uomo e lupo insorgono sia se il lupo preda animali domestici sia se il consumo si concentra sugli ungulati selvatici (competizione rispettivamente con allevatori e cacciatori, due tra le maggiori minacce alla conservazione di questo carnivoro). Lo studio della dieta riveste una notevole importanza soprattutto in contesti agricoli in cui le attività zootecniche costituiscono la componente principale nell'economia locale (Morehouse e Boyce, 2011), come nel caso dei comuni di Torrile e Trecasali. La comprensione dell'ecologia alimentare del lupo risulta quindi fondamentale per l'individuazione di appropriate strategie per la gestione della specie. Lo studio della dieta di un animale può venire effettuato mediante metodi indiretti, quali analisi del contenuto stomacale e analisi degli escrementi, oppure direttamente tramite l'individuazione delle carcasse degli animali consumati. Il metodo più utilizzato, economico e meno impattante e soprattutto quello maggiormente applicabile nel contesto ecologico italiano, è sicuramente la *"scat analysis"*, ovvero l'analisi dei resti indigesti presenti negli escrementi (Kruuk e Parish, 1981; Reynolds e Aebischer, 1991; Ciucci et al., 1996; Poullè et al., 1997). È importante però sottolineare che questa tecnica fornisce informazioni sui tipi di prede che il lupo ha consumato ma non necessariamente ucciso, questo perché i lupi ricorrono frequentemente anche allo *"scavenging"*, ovvero al consumo di carcasse di animali morti per altre cause (Potvin, 1987; Huggard, 1993).

Nel presente studio in particolare, ci si è concentrati nella specifica ricerca di resti assimilabili a nutria, tramite analisi di tipo genetico e morfologico, perché si ritiene che studiare la relazione preda-predatore tra questi due mammiferi, sia potenzialmente vantaggioso per risolvere i conflitti che entrambi hanno con l'uomo.

La raccolta dei campioni di materiale fecale viene organizzata in base all'individuazione di idonei percorsi (*scat-trails* o transetti) e ad una precisa calendarizzazione delle attività (Ciucci, 1994). I transetti sono finalizzati al rilevamento dei segni di presenza della specie, quali escrementi, ma anche impronte, urine, raspate, peli, resti alimentari e, nei casi più fortunati, l'osservazione diretta. Nel presente caso, è stato selezionato un solo transetto considerato il maggiormente frequentato nei dintorni della Riserva Naturale di Torrile e Trecasali, sulla base di precedenti monitoraggi con fototrappole e ritrovamenti di feci (**FIG. 2.2**).



**FIG. 2.2. TRANSETTO SELEZIONATO PER LA RACCOLTA DEGLI
ESCREMENTI (mappa QGIS)**

La lunghezza totale di 4 km è stata percorsa una volta a settimana da aprile a luglio 2021, alla ricerca di fatte di lupo. Si è deciso di percorrere il transetto con una certa frequenza, perché il periodo primaverile, e soprattutto quello estivo, sono i meno indicati per la raccolta, dato che il calore e l'umidità tendono a seccare e degradare più velocemente gli escrementi. Il transetto è stato percorso a piedi, facendo attenzione soprattutto ai siti tradizionali di deposizione o comunque a tutte quelle situazioni tipologicamente idonee alla marcatura. Gli escrementi (**FIG. 2.3**) sono stati raccolti e riposti in un sacchetto di plastica, numerati e depositati in un congelatore. Per ogni fatta sono state prese le

coordinate geografiche tramite applicazioni gps, quali ViewRanger (successivamente decaduto e sostituito con GaiaGPS) e Google Earth Pro (7.3.4.8573).



FIG. 2.3. EScremento DI LUPO (fotografia scattata personalmente)

Considerando il fatto che non esiste un criterio diagnostico in grado di discriminare con certezza un escremento di lupo da quello di volpe o di cane (Ciucci, 1994) si è adottato un protocollo di raccolta basato su molteplici parametri selettivi di valutazione.

I fattori da considerare, descritti da Ciucci (1994), sono:

- il diametro, che nel caso di escremento di lupo (composto generalmente da più frammenti solidi) deve essere al di sopra o uguale a 25-30 mm (Weaver e Fritts, 1979), escludendo così escrementi di canidi di piccola taglia, con il rischio però di escludere gli escrementi di cuccioli di lupo, a meno che essi non vengano raccolti in vicinanza dei siti di tana e allevamento (*home-sites*). Le dimensioni e l'aspetto degli escrementi variano ovviamente molto anche in funzione del contenuto del pasto;
- il contenuto, generalmente con peli, ossa, unghie, cartilagini e altri resti indigesti, essenziale nella differenziazione col cane padronale alimentato con mangimi;
- l'odore, che negli escrementi di lupo è molto acre e caratteristico, riconducibile alle secrezioni delle ghiandole anali durante la defecazione (Asa et al., 1985) (in parte o completamente atrofizzate nei cani), ma può variare a seconda della composizione del pasto e del tempo trascorso dalla deposizione (Ciucci, 1998). L'odore può a volte risolversi sotto effetto della pioggia, della temperatura e del vento;

- il ritrovamento delle feci in siti usuali di marcatura: la deposizione presso intersezioni fra più sentieri o in corrispondenza di particolari punti di riferimento è molto frequente (Vila et al., 1993);
- la localizzazione sul territorio: generalmente lontano da abitati ed allevamenti con cani;
- la presenza di segni riconducibili all'uomo, che permettono di discriminare dall'escremento di cane o, al contrario, di altri segni di presenza riconducibili al lupo, come impronte, urine, raspate, ecc.

È importante sottolineare come l'utilizzo di più criteri contemporaneamente aumenti la possibilità di discriminare efficacemente tra le diverse specie simpatriche, ma si tratta sempre di una probabilità. Precedenti studi sottolineano i limiti legati alla discriminazione fra specie simpatriche sulla base di criteri morfologici della fatta stessa, suggerendo invece le analisi genetiche come metodo non ambiguo e robusto (Foran et al., 1997). Poiché i costi elevati non permettono di applicare questa tecnica a tutti gli escrementi, si sono utilizzati i tradizionali criteri sopra riportati.

Per ampliare il dataset della presente analisi, si è deciso di utilizzare anche gli escrementi raccolti dalle responsabili della Riserva LIPU di Torrile e Trecasali, a partire dal mese di settembre 2020.

2.2.2.1. ANALISI GENETICHE DEI RESTI INDIGESTI

Allo scopo di identificare geneticamente resti ossei contenuti nelle feci campionate, si è utilizzato il metodo del DNA barcoding ("codice a barre del DNA"), una tecnica molecolare sviluppata per identificare entità biologiche a livello di specie a partire dall'analisi di una specifica sequenza di DNA. Il locus mitocondriale codificante la subunità I della citocromo ossidasi (COI) è stato dimostrato essere eccezionalmente efficace come sequenza "barcode" a livello di specie (Hebert et al., 2003) ed è quindi stato scelto per le analisi genetiche del presente lavoro. Il DNA barcoding comporta l'uso di primer universali (complementari a regioni del DNA conservate in diversi taxa) o specifici che mirano ad amplificare, tramite PCR (Polymerase Chain Reaction) una regione genica del DNA (COI, nel presente caso) di lunghezza variabile. Le feci in particolare spesso contengono DNA degradato e frammentato, ovvero ridotto in numerosi frammenti, a causa della natura stessa del campione e delle condizioni ambientali che hanno insistito su di esso dal momento della deposizione da parte dell'animale sino alla raccolta in campo. Lo stato "non ottimale" del campione e il suo non essere fresco, impediscono l'amplificazione di lunghe ed ininterrotte sequenze di DNA (ampliconi). Per superare questo problema, esiste una variante del DNA barcoding, chiamata DNA mini-barcoding, in cui vengono selezionati ampliconi più brevi (massimo 250 paia basi) del gene COI, per massimizzare la possibilità di

amplificazione e quindi d'identificazione della specie di appartenenza. Per lo stesso motivo, si preferisce in questi casi ricorrere a primer maggiormente specifici (disegnati appositamente), per livelli di taxa inferiori (genere, specie), che siano in grado di appaiarsi con maggiore probabilità al gene COI appartenente al taxon di nostro interesse.

Le analisi genetiche si sono svolte presso il laboratorio di genetica e genomica animale dell'Università di Parma. Nel presente lavoro si è deciso di adottare un approccio gerarchico, con tre sessioni di analisi genetiche.

Come prima cosa, si sono estratti dei frammenti ossei da escrementi conservati in freezer a -20°C , scegliendo quelli di dimensioni maggiori (circa 1 cm di diametro) e preferibilmente non porosi, per massimizzare la possibilità di estrarne con successo il DNA genomico con minore frammentazione e degradazione (**FIG. 2.4**).



FIG. 2.4. A SINISTRA EScremento CONGELATO SELEZIONATO, A DESTRA ESEMPIO DI FRAMMENTO OSSEO IDONEO PER L'ESTRAZIONE DI DNA

Consapevoli dell'alta probabilità di avere un DNA frammentato al loro interno, per via della parziale digestione dei resti ossei, si è deciso di estrarre il DNA tramite due diversi metodi: un metodo standard di estrazione da tessuto, applicando il protocollo descritto da Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI, USA) e un metodo forense con Fenolo Cloroformio, applicando il protocollo convenzionale di Sambrook e Russel (2001). Quest'ultimo è stato selezionato perché la genetica forense ha a che fare con DNA non fresco e danneggiato, perciò si avvale di metodi in grado di massimizzare la possibilità di estrazione del DNA. Una volta estratto il DNA, la fase successiva consiste nella tecnica della Polymerase Chain Reaction (PCR), una tecnica di biologia molecolare che consente di amplificare in modo selettivo, uno specifico tratto di DNA del quale sono note le sequenze

nucleotidiche iniziali e terminali e complementari alle regioni di DNA da amplificare. Per iniziare la reazione, occorre che il DNA stampo venga denaturato; l'enzima che si occupa della replicazione (DNA polimerasi) ha bisogno di un innesco da cui partire, così nella PCR si utilizzano due brevi frammenti di DNA a singola elica (primers) lunghi circa 15-30 pb, in grado di appaiarsi ad una specifica regione del DNA per entrambe le eliche denaturate. La regione di DNA che viene così amplificata è quella compresa tra i due oligonucleotidi. La PCR è una reazione ciclica, costituita da 25-30 cicli ciascuno con 3 passaggi (a temperature diverse): denaturazione DNA (94-99°C), appaiamento primers (50-60°C), polimerizzazione ("montaggio" dei nucleotidi replicati dalla DNA polimerasi, 72°C). Dopo n cicli, da una singola molecola di DNA si possono ottenere 2^n frammenti di DNA. Per la procedura si usa un termociclatore, uno strumento in grado di programmare la temperatura nel tempo, all'interno del quale vengono inseriti tubi da 0.2 ml, contenenti i seguenti reagenti: acqua, buffer contenente cloruro di magnesio, nucleotidi liberi, primers e Taq polimerasi. In questa tesi si è deciso di amplificare attraverso PCR il marcatore molecolare COI con il metodo barcoding. Sono stati utilizzati i primer universali FF2d e FR1d descritti da Ivanova et al., (2007), che permettono di amplificare una sequenza di 608 paia basi. Inoltre, è stata utilizzata la tecnica del DNA mini-barcoding, che prevede l'amplificazione di una sequenza di 226 paia basi con la coppia di primer "Fish_miniE" di Shokralla et al. (2015), seguendo le indicazioni descritte da Filonzi et al. (2021) per le concentrazioni e le condizioni della PCR. Per la terza sessione si è invece deciso di utilizzare primer specifici per la specie di interesse: *Myocastor coypus*. Questi sono stati appositamente disegnati utilizzando il software Primer3, recuperando dalla banca dati NCBI (National Center for Biotechnology Information) le sequenze depositate presenti. Questo è stato poi allineato, tramite il software MEGA11 (Tamura et al., 2021), con sequenze COI recuperate sulla banca dati BOLD (Barcode Of Life Data SYSTEM), per individuare le regioni maggiormente conservate, prossime al locus di nostro interesse al fine di individuare regioni con il minor numero di SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) per disegnare i primer. Le sequenze così ottenute sono le seguenti: TCGGAAACTGACTTGTCCT (*Myocastor_coypus_F*) e TAGTTAGATCGACGGAGGC (*Myocastor_coypus_R*), con temperatura "melting" di 57.3/59.4 °C, che amplificano una regione di 250 paia basi, sufficiente per l'identificazione a livello di specie sulle banche dati genetiche e ottimale per l'amplificazione di DNA degradato e frammentato. Ogni PCR conteneva 14.3 µl di acqua, 1.5 mM di Mg^{2+} , 0.2 mM di ogni dNTP (deossinucleosidi trifosfato, utilizzati dalla DNA polimerasi per l'amplificazione del DNA), 1 µl di ogni primer (concentrazione di 10 pmol) (Forward e Reverse), 1 U di Taq polimerasi e infine 1 µl di DNA da amplificare (non per il controllo), per un volume finale di 25 µl in ciascuna delle 8 provette. La PCR per l'amplificazione con i primer universali di Ivanova e colleghi, è stata impostata come segue: ciclo iniziale a 94°C per 2 minuti, 35 cicli a 94°C per 30 secondi, 52°C per 40 secondi e 72°C per un minuto, con un'estensione finale a 72°C per 10 minuti. La

PCR per l'amplificazione con i primer descritti da Shokralla et al., è stata impostata seguendo le indicazioni di Filonzi e colleghi (2021): un iniziale step di denaturazione a 95°C per 10 minuti, seguito da 34 cicli di 45 secondi a 95°C, 45 secondi a 67°C e 45 secondi a 72°C ed un'estensione finale a 72°C per 10 minuti. Per l'amplificazione con primer specifici, invece, è stato impostato il seguente protocollo: 10 minuti a 95°C per la denaturazione iniziale del DNA, 30 cicli di 30 secondi a 95°C per la denaturazione, 40 secondi a 53°C per l'appaiamento dei primer, 1 minuto a 72°C per estensione del DNA ed infine 10 minuti sempre a 72°C per l'estensione finale. A seguito della PCR, si procede alla verifica del risultato tramite corsa su gel di agarosio (1.8%). Una volta che il DNA è stato amplificato, si è proceduto alla sua purificazione tramite il protocollo del MinElute purification Kit (QIAGEN) e il DNA purificato è stato quantificato tramite il metodo descritto dal protocollo del Kit Qubit™ dsDNA High Sensibility Assay (al fine del sequenziamento, per un amplicone di 150-200 pb, la quantità di DNA richiesta nelle specifiche dalla ditta Eurofins Genomics era 5 ng/μL). I campioni così quantificati sono stati inviati alla ditta Eurofins Genomics per il sequenziamento tramite metodo Sanger. Gli elettroferogrammi risultanti vengono poi editati e infine la specie di appartenenza è identificata tramite il software BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), che confronta la sequenza con quelle presenti nel database online NCBI (**FIG. 2.7**). Sono state ritenute valide, al fine di individuare la specie di appartenenza, le sequenze con un valore identificativo pari o superiore al 98%, come da studi precedenti (Barbuto et al., 2010).

FIG. 2.7. PAGINA DI INSERIMENTO SEQUENZE PER RICERCA CORRISPONDENZE TRAMITE BLAST

2.2.2.2. ANALISI MORFOLOGICHE

I 31 escrementi raccolti, a seguito dell'estrazione di alcuni frammenti ossei per le analisi genetiche, sono stati trattati secondo il metodo riportato da Mattioli e colleghi (1995): deposti in un setaccio a maglie strette e lavati sotto il getto dell'acqua corrente, in modo da dilavare la matrice (composta da micro-costituenti considerati trascurabili nella dieta), trattenendo ed isolando i macro-costituenti indigesti, quali peli e ossa, ai fini dell'identificazione. I macro-residui sono separati per categorie omogenee (peli e ossa) tramite l'uso di pinzette e il tutto lasciato ad asciugare per circa una settimana su di un supporto a maglie appositamente costruito. Una volta asciutti i resti ossei sono stati suddivisi in sacchetti e contenitori numerati con un identificativo (da 1 a 31) e il tutto è stato portato in laboratorio presso l'Università di Parma. Piccoli campioni di pelo corrispondenti a ciascuna fatta sono stati inclusi ai fini di un'analisi tricológica al microscopio a supporto dell'analisi morfologica delle ossa. Il contenuto di ciascun campione ha subito un'analisi preliminare ed è stato selezionato sulla base della presenza o meno di frammenti ossei con caratteri morfologici diagnostici, utili alla classificazione tassonomica a livello specifico. Dei 31 campioni analizzati, 8 sono stati esclusi poiché privi di elementi ossei tassonomicamente determinabili. Tutti i resti selezionati dai 23 escrementi rimasti, sono stati trasferiti in contenitori di ugual misura, uno per escremento, con l'aggiunta di perossido d'idrogeno a 30 volumi per pulire le ossa (**FIG. 2.8**), asportando gli ultimi resti di sostanza organica, e renderle così più facilmente osservabili al microscopio ottico stereoscopico a 10-40 ingrandimenti.



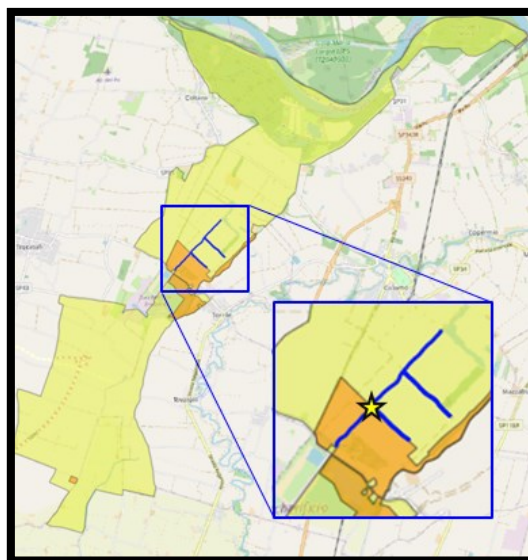
FIG. 2.8. A SINISTRA RESTI OSSEI SELEZIONATI POSTI IN PEROSSIDO D'IDROGENO, A DESTRA GLI STESSI RESTI LASCIATI AD ASCIUGARE

Le analisi morfologiche sono state compiute sulla base dei principi dell'anatomia comparata, mediante l'uso di atlante anatomico (Schmidt, 1972) e immagini e dati comparativi provenienti da siti specifici di anatomia comparata dello scheletro e articoli scientifici. Si è quindi proceduto a quantificare ciascuna categoria alimentare sul totale delle occorrenze evidenziate (Lockie, 1959), tramite il metodo della

frequenza delle occorrenze (viene definita “occorrenza” la presenza di una qualsiasi categoria alimentare nell’escremento).

2.3. RACCOLTA VIDEO

A supporto delle analisi genetiche e morfologiche, al fine di dimostrare predazione attiva del lupo nei confronti della nutria, si sono raccolti video tramite due diversi approcci: l’utilizzo di una fototrappola e la raccolta di video girati da cittadini, allevatori ed agricoltori della zona (approccio di citizen-science). L’uso delle trappole fotografiche è un metodo non invasivo, che permette, tramite la dotazione di sensori, di scattare fotografie o video al rilevamento del passaggio di un animale, che ci permettono poi di operare riconoscimento individuale o stima della densità della specie, oltre che studi di tipo etologico su comportamenti di varia natura, quali marcatura e predazione. Le fotocamere impiegate devono avere obiettivi ed elevata luminosità ed essere impermeabili, oltre che poter imprimere sui negativi dati relativi allo scatto, come mese giorno ora e minuti numero di fotogramma. Per il presente studio si sono utilizzati i dati ricavati da una singola fototrappola, posizionata in un incrocio tra sentieri (utilizzati principalmente dai trattori per i lavori agricoli nei campi coltivati circondanti la zona) facente parte il transetto selezionato per la ricerca degli escrementi, proprio perché fu un punto di marcatura e passaggio frequente già evidenziato in passato (**FIG. 2.9**).



**FIG. 2.9. POSIZIONE DELLA FOTOTRAPPOLA
(mappa QGIS)**

La fototrappola in questione è una LTL Acorn 5310 da 12MP (**FIG. 2.10**), a sensori attivi con un tempo di attivazione di 0.6 secondi grazie a 44 led infrarossi invisibili ad occhio animale, distanza massima 20 m, angolo di ripresa di 100°, funzionamento con 8 batterie di tipo AA e una capacità di memoria massima di 16 GB.



**FIG. 2.10. MODELLO FOTOTRAPPOLA LTL
ACORN 5310**

La fototrappola, dai colori mimetici, è stata assicurata ad un cartello, ad una distanza di circa 1 m dal punto di passaggio, ad un'altezza dal suolo di circa 40-50 cm. Una volta a settimana, da aprile a luglio 2021, si è proceduto al cambio delle batterie e della scheda di memoria (da 8 o 16 GB) e alla revisione dei video. Nel presente studio si è deciso di comprendere nell'analisi anche video precedentemente raccolti dal personale della Riserva Naturale di Torrile e Trecasali a partire da settembre 2019, tramite l'ausilio di diverse fototrappole posizionate in punti diversi in maniera opportunistica (**FIG. 2.11**).

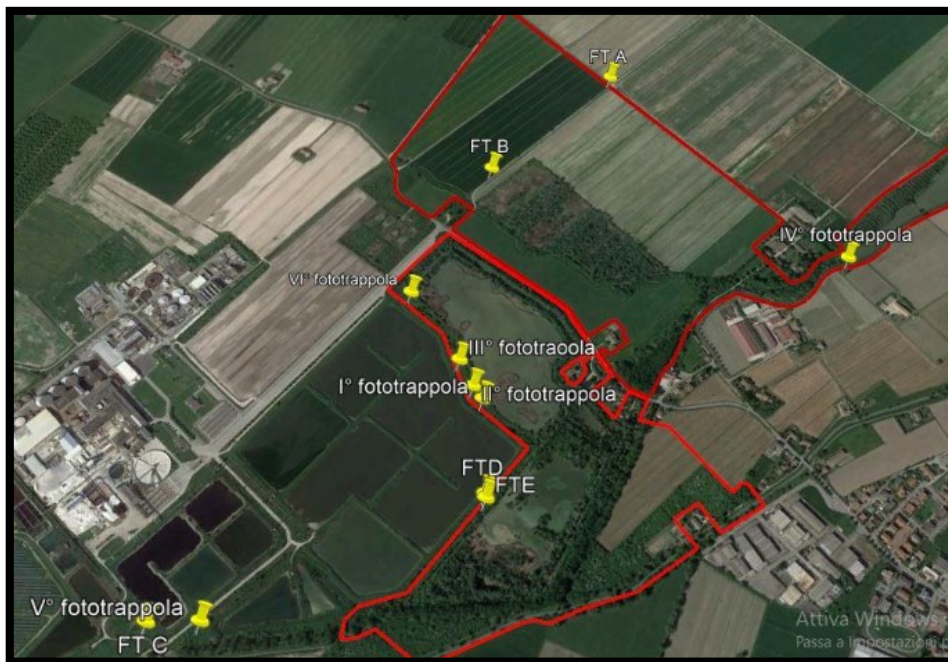


FIG. 2.11. POSIZIONE DELLE FOTOTRAPPOLE UTILIZZATE DALLA RISERVA LIPU A PARTIRE DA SETTEMBRE 2019 (mappa Google Earth)

Oltre ai video ottenuti grazie all'ausilio di fototrappole, si sono raccolti video spontaneamente condivisi, anche negli anni passati, da, soprattutto, agricoltori della zona, in contatto con la responsabile della riserva LIPU di Torrire e Trecasali. Questi video, sebbene non muniti di posizione precisa delle riprese, sono stati un'aggiunta importante ai dati raccolti.

2.4. STIMA DELLA POPOLAZIONE E ABBATTIMENTI DI NUTRIE

Uno degli obiettivi del presente lavoro è quello di individuare, se presente, un pattern di diminuzione degli esemplari di nutria dall'arrivo del lupo (febbraio-maggio 2019). Per farlo si è deciso di utilizzare i dati degli abbattimenti di nutrie a partire dal 2018 (prima dell'arrivo del lupo), fino al 2021. Da studi precedenti (Imperio et al., 2010) è infatti dimostrato come, a parità di sforzo di caccia, il numero di abbattimenti sia correlato alla dimensione della popolazione animale e sia quindi un metodo di stima della popolazione accurato (testato per alcune specie di ungulati). Per confermare questa correlazione si è deciso di selezionare dei transetti da percorrere, costeggianti i canali Lorno e Galasso e facenti parte della Riserva Naturale di Torrire e Trecasali, dove si erano precedentemente avvistate nutrie e tane delle stesse, in cui effettuare la conta degli animali. I transetti selezionati all'inizio dei lavori sono stati 3, dalla lunghezza complessiva di circa 2.8 km. Una volta ogni due settimane, da aprile a luglio

2021, sono stati percorsi e le nutrie individuate geolocalizzate tramite l'utilizzo di applicazioni quali View Ranger (ora dismesso), Google Earth e Gaia GPS. Nel frattempo, si sono presi contatti con la polizia provinciale, incaricata di eseguire gli abbattimenti di nutrie nei due comuni di interesse. Presasi carico di raggruppare in maniera ordinata i dati degli abbattimenti pregressi (2018, 2019, 2020), li ha inviati ormai alla fine dei censimenti (ottobre 2021). Comparando le aree pattugliate dalla provinciale con i transetti selezionati si è ritenuto opportuno scartarne uno non pattugliato, in cui peraltro non si erano raccolti un numero sufficiente di dati a causa della fitta vegetazione. Un altro transetto, da percorrere in auto, è stato scartato alla fine del processo proprio per la difficoltà nell'individuare gli esemplari. Così si è optato per aggiungere un nuovo transetto, sulla base delle dichiarazioni della provinciale, lungo circa 890 metri, percorso tra novembre 2021 e gennaio 2022 (**FIG. 2.12**). Si è infine provveduto anche a richiedere i dati degli abbattimenti per l'anno 2021, ricevuti a fine gennaio 2022.

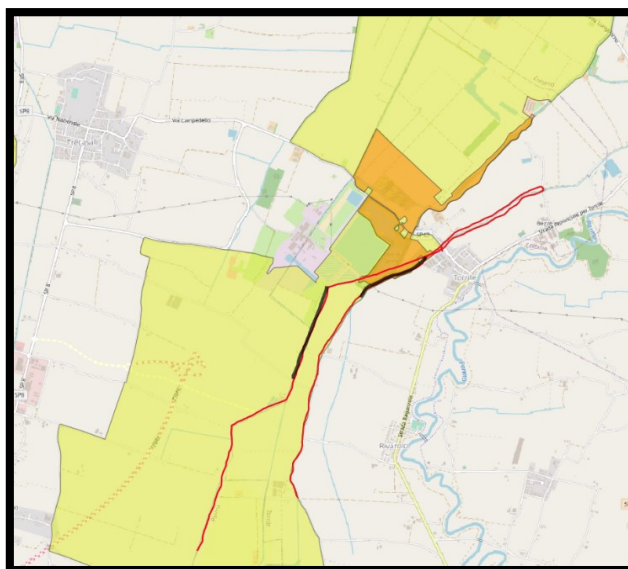


FIG. 2.12. IN NERO I DUE TRANSETTI SELEZIONATI PER I CENSIMENTI, IN ROSSO I TRANSETTI PATTUGLIATI DALLA POLIZIA PROVINCIALE PER GLI ABBATTIMENTI (mappa QGIS)

È risultato purtroppo evidente come questo metodo di stima della popolazione avrebbe dato scarsi risultati a fini comparativi (a causa della scarsità degli avvistamenti e impossibilità di riconoscimento individuale) così si è deciso di stimare la popolazione di nutria nei transetti selezionati utilizzando un metodo indiretto, convalidato da Balestrieri e colleghi nel 2015: la conta dei "*paths*". I *paths*, o punti di risalita, sono i percorsi tracciati dagli esemplari di nutria per risalire sulle sponde dal corso d'acqua. Nello studio citato si è trovata una correlazione tra il numero di *paths* e il numero di nutrie (stimato tramite tre diverse metodologie), potendone quindi stimare l'abbondanza tramite una regressione

lineare, dove la variabile dipendente è il numero di nutrie e quella indipendente il numero di *paths*. Si è proceduto quindi a conteggiare il numero di punti di risalita considerabili attivi lungo le due sponde del canale. I *paths* vengono considerati attivi, quando sono evidenti tracce del loro frequente utilizzo, quali sentieri ben tracciati, vegetazione “a tunnel” o schiacciata, rami spezzati, presenza di feci, segni di unghie e così via. Inoltre, *paths* “a forma di Y” ovvero con più punti di risalita convergenti in un unico sentiero che porta sulla riva, sono stati considerati come un unico percorso, così come quelli a meno di un metro di distanza. Nello studio viene messo in relazione il numero di nutrie stimato (tramite 3 diversi metodi basati sul trappolaggio degli individui) in 12 canali di irrigazione o corsi d’acqua lunghi 1 km, con il numero di *paths* ogni 100 m contati su entrambe le sponde. Vengono prese in considerazione anche alcune variabili ambientali che possono influenzare il numero di nutrie o di punti di risalita, che nel presente caso non sono state considerate (profondità e velocità dell’acqua, ampiezza canale, altezza ed inclinazione delle sponde). Il modello di regressione multipla così ricavato è il seguente: $y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_{p-1} x_{p-1} + \varepsilon$

Dove β_i sono i coefficienti di regressione stimati con la tecnica dei minimi quadrati e β_0 è l’intercetta (punto di intersezione della retta di regressione con l’asse delle ordinate). Nel presente studio si sono considerati solo pendenza ed intercetta relativi alla variabile indipendente relativa al numero di *paths*. Per ricavare questi valori sono state eseguite tre diverse regressioni lineari tramite il software R (Ver. 4.1.2), utilizzando i dati relativi al numero di nutrie stimate con i tre diversi metodi, e il numero di *paths* per ciascuna delle 12 aree analizzate (**FIG. 2.13**). Poi, tramite la funzione `predict()` si è potuto stimare il numero di nutrie a partire dal numero di *paths* da me raccolti in ciascuno dei due transetti. I valori di stima della popolazione di nutrie nei transetti da me percorsi, sono stati poi resi proporzionali alla lunghezza totale dei transetti percorsi dalla polizia provinciale per gli abbattimenti, per rendere i dati maggiormente comparabili. Per quanto riguarda questi ultimi dati, sono stati forniti in fogli Excel per gli anni 2018, 2019, 2020, 2021, con le seguenti informazioni: data dell’abbattimento, numero di esemplari abbattuti, canale di abbattimento (**FIG. 2.14**).

Table 1 Number of coypu paths/100 m, estimated population size and 95% confidence intervals (CIs) as assessed by three different methods for the 12 trap sites (1-km long stretches of watercourses)

Stretch code	Peterson-Lincoln		Capwire		Accumulation curves		Paths/100 m
	$\hat{N}$	95% CI	$\hat{N}$	95% CI	$\hat{N}$	95% CI	
SG	98	29–167	90 ^a	51–135	92	84–96	20.1
PS A	55	13–122	53 ^a	18–75	16	13–16	10.3
PS B	84	32–143	71 ^a	48–120	38	32–38	16.4
FE	21	15–34	15 ^a	12–20	12	11–12	5.4
CAR	24	12–43	48 ^a	21–100	14	11–14	6.15
SM1	28	26–33	62 ^a	37–137	37	27–37	5.9
NB	69	34–106	46 ^a	23–45	25	23–25	12.3
SB	29	9–63	15 ^a	7–33	8	7–8	5.3
SM2	53	27–83	32 ^b	25–37	23	22–23	8.8
CAV	54	14–119	55 ^a	18–115	24	23–24	3.8
TOR	152	64–241	196 ^a	127–278	171	165–171	23.9
PIZ	15	11–25	42 ^a	12–42	12	11–12	3.1

^aEqual capture model.

^bTwo-innate rates model.

FIG. 2.13. TABELLA CONTENENTE NUMERO DI PATHS/100 m, STIMA DELLA DIMENSIONE DELLA POPOLAZIONE CON TRE DIVERSI METODI (e relativi intervalli di confidenza) IN 12 DIVERSI SITI DI TRAPPOLAGGIO (da Balestrieri et al., 2015)

Abbattimento Nutrie Anno 2018			
Comune di SissaTrecasali			
24/01/18	Lorno		8
14/03/18	Lorno Eridania		6
23/03/18	Lorno Eridania		2
08/06/18	Lorno		3
21/11/18	Lorno		6
20/12/18	Lorno		10
		Totale	35
Comune di TorriLe			
26/01/18	Galasso		1
	Vasche Longhi		4

FIG. 2.14. ESEMPIO DI FORMATO DATI ABBATTIMENTI FORNITI DALLA POLIZIA PROVINCIALE (data-canale-numero animali abbattuti)

Quest'ultimo punto era corredato di mappa Google Earth dove sono stati evidenziati i transetti pattugliati dalla provinciale corrispondenti ai canali (**FIG. 2.15**).

3. RISULTATI

3.1. RACCOLTA ESCREMENTI

Gli escrementi raccolti sono stati in totale 31, di cui 25 da parte delle responsabili dell'Oasi LIPU di Torrile e Trecasali, da settembre 2020 a marzo 2021, mentre i restanti 6 raccolti da aprile a luglio 2021 nel transetto designato. In accordo con studi precedenti (Mattioli et al., 1995; Regine, 2008; Larentis, 2017) si è deciso di suddividere gli escrementi in base alla stagione di raccolta: sono stati considerati “invernali” escrementi raccolti nei mesi da novembre ad aprile (9) ed “estivi” quelli raccolti da maggio a ottobre (22) (**TAB. 3.1**).

**TAB. 3.1. NUMERO DI ESCREMENTI RINVENUTI PER
CIASCUN MESE DI RACCOLTA**

MESE DI RACCOLTA	N° ESCREMENTI RINVENUTI
SETTEMBRE 2020	3
OTTOBRE 2020	13
NOVEMBRE 2020	4
DICEMBRE 2020	1
GENNAIO 2021	3
FEBBRAIO 2021	0
MARZO 2021	1
APRILE 2021	0
MAGGIO 2021	5
GIUGNO 2021	1
LUGLIO 2021	0

La raccolta da parte della LIPU si è concentrata in prevalenza nel transetto scelto e percorso durante il lavoro di tirocinio, permettendo una certa sovrapposizione dei dati, mentre un esiguo numero di escrementi (3) è stato rinvenuto all'interno dell'Oasi LIPU e nei pressi dei sentieri diretti verso lo Zuccherificio Eridania (**FIG. 3.1**). Essendo il lupo un animale dall'home range piuttosto ampio (da 65 a 354 km²), vi è una certa sicurezza che si tratti di fatte attribuibili al medesimo branco. Il protocollo prevedeva almeno un'uscita a settimana, ma, date le altre mansioni da svolgere in riserva, lo sforzo di

campionamento delle responsabili LIPU è risultato maggiore. Purtroppo, si sono perse le coordinate GPS di 6 dei 31 escrementi raccolti.



**FIG. 3.1. MAPPA GOOGLE EARTH RIPORTANTE I PUNTI GPS DEGLI
ESCREMENTI RACCOLTI**

3.1.1. ANALISI GENETICHE

Come anticipato nella sezione di Materiali e Metodi, l'approccio utilizzato per le analisi genetiche è stato di tipo gerarchico, partendo dall'amplificazione di marcatori molecolari "classici" del DNA barcoding, per poi optare per target più specifici, con primer non universali. Gli escrementi scelti per le analisi genetiche tramite DNA barcoding, nella prima sessione di analisi, sono stati 4 (N°16, 19, 29, 30), da ognuno dei quali è stato estratto un frammento osseo. Il DNA è stato estratto con successo sia con il metodo descritto dal protocollo Promega, che con il metodo forense di Sambrook e Russel (2001) per ogni frammento, per un totale di 8 campioni (2x frammento). Inizialmente è stata amplificata una sequenza di 608 paia basi tramite la tecnica PCR; i primer universali utilizzati sono quelli descritti da Ivanova e colleghi (2007) precedentemente citati. La corsa su gel di agarosio per la verifica dell'avvenuta amplificazione dei campioni non ha visto apparire nessuna banda di amplificazione per questo primo tentativo. Il DNA dei tessuti ossei parzialmente digeriti era probabilmente, come già supposto, troppo degradato e frammentato, per questo l'amplificazione di sequenze troppo lunghe,

come 608 paia basi, risulta difficoltosa (i primer non riescono ad appaiarsi). Nella seconda sessione di analisi, abbiamo deciso così di optare per la tecnica del DNA mini-barcoding, in cui la sequenza di DNA necessaria per l'identificazione a livello di specie non supera la lunghezza di 250 paia basi. Abbiamo estratto altri frammenti ossei a partire da due nuovi escrementi: N° 9 (estivo, 3 frammenti) e 24 (invernale, 1 frammento). Anche qui l'estrazione è avvenuta con successo con entrambi i metodi utilizzati, così si è proceduto ad amplificare il DNA utilizzando i primer universali descritti da Shokralla et al. (2015), con le condizioni di amplificazione tramite PCR di Filonzi e colleghi (2021), per 226 pb. La PCR non diede, nemmeno in questo caso, i risultati sperati su gel di agarosio, evidenziando la presenza di bande multiple, ovvero DNA aspecifici (amplificazione di diversi DNA) per 4 campioni su 8 (di cui ¾ estratti con il metodo Promega). Per l'ultima sessione di analisi si è quindi deciso di sfruttare i primer maggiormente specifici per *Myocastor coypus*, appositamente disegnati per individuare la nostra specie di interesse. La PCR è stata effettuata sul DNA già estratto per la precedente analisi. Questa volta la corsa su gel di agarosio ha evidenziato delle singole bande in corrispondenza di 5 campioni su 8: anche in questo caso il successo dell'amplificazione è stato maggiore per i campioni estratti con metodo Promega (4/5). Il DNA amplificato è stato così purificato e quantificato (i valori quantificati variano da un minimo di 3,86 ng/μl a un massimo di 6,74 ng/μl). I campioni quantificati, con aggiunta di un primer, sono stati inviati ad Eurofins Genomics per il sequenziamento con metodo Sanger. I risultati del sequenziamento sono stati evidenziati sottoforma di elettroferogrammi (**FIG.3.2**); in seguito è stata controllata la qualità di ciascun elettroferogramma (editing) attraverso il software MEGA11. Le sequenze così ottenute sono state inserite sul database online NCBI e quindi confrontate mediante il software BLAST, per la comparazione con i genomi depositati e hanno restituito tutte e 5 corrispondenze con genoma mitocondriale di *Myocastor coypus*, con un valore d'identificazione variabile dal 98,25% al 100% (Accession Number di NCBI: MH182628) (**FIG. 3.3**).

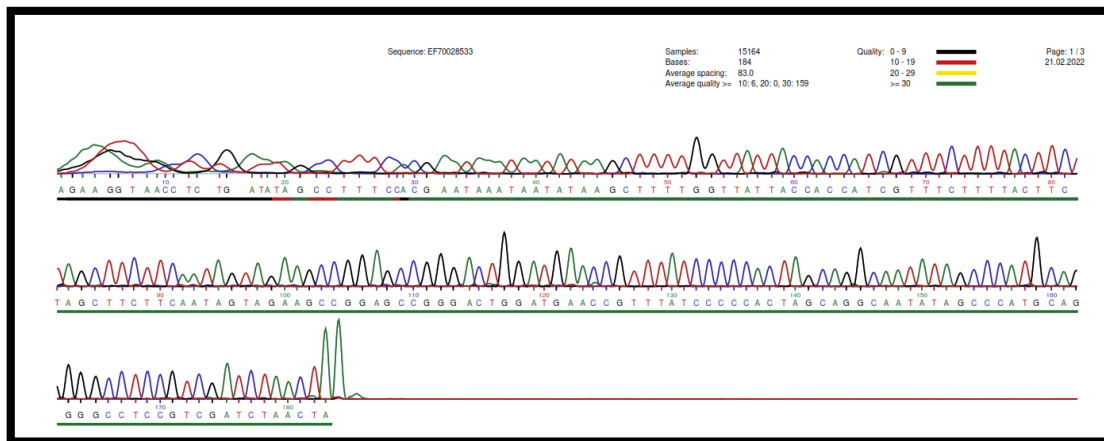


FIG.3.2. ELETTROFEROGRAMMA DEL FRAMMENTO MITOCONDRIALE COI RELATIVO AD UNO DEI CAMPIONI AMPLIFICATI (ESCREMENTO 9)

Sequences producing significant alignments									
Download Select columns Show 100									
☒ select all	100 sequences selected								
	Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒	Myocastor coypus mitochondrion, complete genome	Myocastor...	329	329	93%	7e-86	100.00%	16874	gi 146423050.1 MH182628.1
☒	Myocastor coypus mitochondrion, complete genome	Myocastor...	329	329	93%	7e-86	100.00%	16874	gi 1236180986.1 MF325938.1

FIG. 3.3. RISULTATO OTTENUTO TRAMITE SOFTWARE BLAST CHE EVIDENZIA IL 100% DI IDENTIFICAZIONE DELLA SEQUENZA INSERITA CON GENOMA MITOCONDRIALE DI *Myocastor coypus*

3.1.2. ANALISI MORFOLOGICHE

Gli escrementi contenenti resti diagnostici e quindi selezionati per le analisi morfologiche sono stati 23 su 31: 8 di questi sono stati raccolti nel periodo invernale (su un totale di 9), 15 nel periodo estivo (su 22). Il numero totale di occorrenze rilevate ammonta a 26: solo in 3 escrementi (N° 10, 12, 23) sono state rilevate 2 occorrenze, mentre in tutti i rimanenti si è identificata una singola occorrenza (probabilmente resti appartenenti a singoli individui). Le componenti non alimentari, quali materiale vegetale, sassi/terra e artropodi, non sono state considerate nella dieta in quanto probabilmente ingerite per errore e in percentuali irrisorie. Le specie individuate tramite l'analisi morfologica sono state 4: *Sylvilagus floridanus* (14 occorrenze + 1 incerta), *Lepus europaeus* (6 occorrenze + 1 incerta), *Myocastor coypus* (2 occorrenze) e resti di uccello, probabilmente *Phasianus colchicus* (3 occorrenze) (**FIG. 3.4**). I risultati della diagnosi sono riportati nella **TAB.3.2**.



FIG. 3.4. ESEMPI DI RESTI DIAGNOSTICI APPARTENENTI A NUTRIA (in alto a sx), LEPRE E UCCELLO (in alto a dx) E SILVILAGO (in basso). IN ALTO A DX DI CIASCUNA IMMAGINE È RIPORTATO IL NUMERO DI EScremento (fotografie scattate con macchina fotografica modello SONY RX 10 IV).

Si è proceduto quindi al calcolo della frequenza di occorrenza per ogni specie, tramite il rapporto tra il numero di occorrenze per ciascuna specie e il numero totale di occorrenze (Lockie, 1959), moltiplicato per 100. I risultati sono riportati nella tabella sottostante, dove si è tentato anche un calcolo stagionale delle frequenze (**TAB. 3.3**). Per silvilago e lepre c'è un range di percentuali, data l'incertezza dell'attribuzione di un'occorrenza. Resti ossei attribuibili alla specie di interesse, *Myocastor coypus*, sono stati ritrovati solo in 2 escrementi su 23, con una frequenza di occorrenza del 7.69%, significativamente inferiore rispetto a quella di *Sylvilagus floridanus* o *Lepus europaeus* (**FIG. 3.5**). Inoltre, la frequenza d'occorrenza invernale è maggiore di quella estiva.

TAB. 3.2. TABELLA RIPORTANTE GLI EScrementI SELEZIONATI PER LE ANALISI MORFOLOGICHE, DATA DI RACCOLTA E SPECIE DIAGNOSTICATA (in giallo escrementi estivi, in verde escrementi invernali)

NUMERO EScrementO	DATA DI RACCOLTA	DIAGNOSI MORFOLOGICA
1	24-09-2020	<i>Lepus europaeus</i>
4	01-10-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
6	03-10-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
9	03-10-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
10	03-10-2020	Uccello + <i>Lepus europaeus</i>
12	04-10-2020	Uccello + <i>Lepus europaeus</i>
13	13-10-2020	<i>Myocastor coypus</i>
14	13-10-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
16	18-10-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
17	07-11-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
18	07-11-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
19	18-11-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
20	26-11-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
21	11-12-2020	<i>Sylvilagus floridanus</i>
23	16-01-2021	Uccello + <i>Lepus europaeus</i>
24	16-01-2021	<i>Sylvilagus floridanus</i>
25	06-03-2021	<i>Myocastor coypus</i>
26	19-05-2021	<i>Lepus europaeus</i>
27	21-05-2021	<i>Sylvilagus floridanus</i>
28	21-05-2021	<i>Lepus europaeus</i> o <i>Sylvilagus floridanus</i> (?)
29	22-05-2021	<i>Lepus europaeus</i>
30	22-05-2021	<i>Sylvilagus floridanus</i>
31	10-06-2021	<i>Sylvilagus floridanus</i>

TAB. 3.3. TABELLA RIPORTANTE LA FREQUENZA DI OCCORRENZA PER CIASCUNA SPECIE, CON SUDDIVISIONE STAGIONALE DELLE OCCORRENZE

SPECIE	FREQUENZA DI OCCORRENZA	F.O. INVERNALE	F.O. ESTIVA
<i>Sylvilagus floridanus</i>	53.85 – 57.69%	66.67%	47.06 – 52.94%
<i>Lepus europaeus</i>	26.92 – 23.08%	11.11%	35.29 – 29.41%
<i>Phasianus colchicus</i> ?	11.54%	11.11%	11.76%
<i>Myocastor coypus</i>	7.69%	11.11%	5.88%

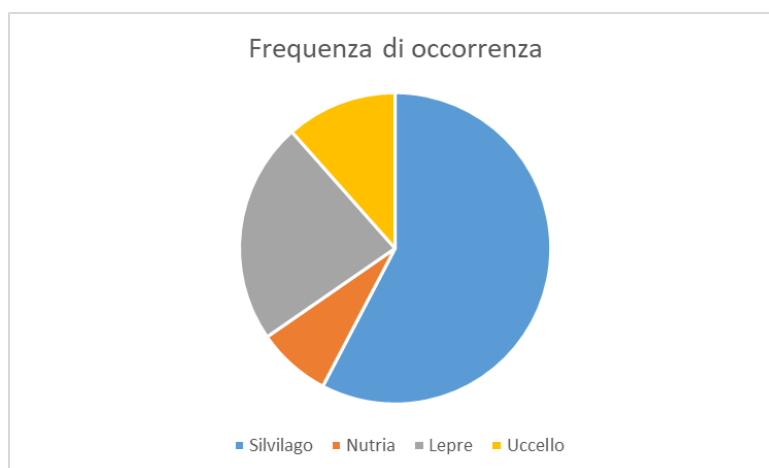


FIG. 3.5. GRAFICO A TORTA RIPORTANTE LA FREQUENZA DI OCCORRENZA DELLE DIVERSE SPECIE IDENTIFICATE

3.2. RISULTATI FOTOTRAPPOLE

Il numero totale di video revisionati tra aprile e luglio 2021 è stato di circa 1800, con un numero variabile di 130 o 260 video per settimana, in base alla scheda di memoria inserita (da 8 o 16 GB rispettivamente). Il lavoro di visualizzazione dei video ha spesso richiesto di eliminarne molti in cui non

veniva registrato il passaggio di alcun animale: essendo la fototrappola utilizzata un modello a sensori attivi, ha lo svantaggio di attivarsi e scattare a qualunque movimento percepito, che siano lupi, insetti o fili d'erba molto vicini alla fototrappola mossi dal vento. Dato che la memoria della fototrappola è limitata, questo inconveniente ha probabilmente causato perdita di diversi dati. Nei video in cui vi era effettivamente la presenza di animali, si è registrato il passaggio principalmente di fagiani e lepri, con qualche visita occasionale di caprioli, volpi, tassi e gatti. I lupi invece, sono stati rilevati in un totale di 24 video: 2 nel mese di aprile, 21 nel mese di maggio, nessuno nel mese di giugno ed uno nel mese di luglio. Essendo la fototrappola posizionata tra i campi coltivati, distante da corsi d'acqua, non si sono registrati passaggi di nutrie. Purtroppo, l'ausilio della fototrappola in questo periodo non ha immortalato predazioni su nutria, ma solo su lepre (1 evento predatorio). Per quanto riguarda i video raccolti dalle fototrappole della LIPU a partire da settembre 2019, il totale di video immortalanti lupi fino ad aprile 2021, ammonta a 179, con 33 video da settembre a dicembre 2019, 144 per l'anno 2020, e 2 da gennaio ad aprile 2021. Di questi, 4 video hanno immortalato un lupo con nutria in bocca, 3 raffiguranti lo stesso individuo in molteplici passaggi davanti le fototrappole, datati 06/12/2020 (**FIG. 3.6**) e uno datato 08/12/2020.



FIG. 3.6. FRAME DI UNO DEI VIDEO DA FOTOTRAPPOLA DATATO 06/12/2020, IN CUI SI VEDE UN LUPO CON IN BOCCA UNA NUTRIA

Per quanto riguarda il materiale video-fotografico raccolto da cittadini, agricoltori o allevatori, durante il mio periodo di tirocinio sono stati raccolti 8 video, di cui 2 immortalano un lupo con una nutria in bocca: uno di ottobre 2021, l'altro di marzo 2022 (il lupo in questione viene ripreso a Coltaro, un comune adiacente a quelli di nostro interesse). Uno in particolare riprende l'evento predatorio per intero.

3.3. STIMA POPOLAZIONE E ABBATTIMENTI NUTRIE A CONFRONTO

Nella fase di censimento di esemplari di nutria, lungo i due transetti selezionati, ci sono state, come anticipato, alcune difficoltà:

- 1) Non tutti i giorni di censimento è stato possibile individuare degli animali e in generale il numero di esemplari è stato sempre piuttosto basso (probabilmente gli individui rimanevano nascosti nelle proprie tane) (**TAB. 3.4**);
- 2) Vi era il dubbio di star contando sempre gli stessi individui, non potendo riconoscerli singolarmente.

TAB. 3.4. TABELLE RIPORTANTI IL NUMERO DI NUTRIE CENSITE DA APRILE A LUGLIO 2021 NEL TRANSETTO 1 (a sinistra), DA NOVEMBRE A GENNAIO 2022 NEL TRANSETTO 2 (a destra)

DATA CENSIMENTO	NUTRIE CENSITE	DATA CENSIMENTO	NUTRIE CENSITE
16-04-2021	1	03-12-2021	2
06-05-2021	1	10-12-2021	3
04-06-2021	1 + 4 CUCCIOLI	07-01-2022	6
02-07-2021	4 CUCCIOLI	13-01-2022	2
29-07-2021	3 + 4 CUCCIOLI	20-01-2022	9

Per ovviare al secondo problema, si è cercato di comparare i punti GPS presi durante le diverse uscite su Google Earth, tenendo a mente l'*home range* della nutria, che può arrivare a percorrere in un giorno diversi chilometri a nuoto (mediamente 1.19 km - Doncaster, 1989) e capire se fosse probabile star contando sempre gli stessi individui. Effettivamente, ci sono due fattori che ci lasciano intendere la risposta affermativa: la presenza di 4 cuccioli avvistati tra giugno e luglio 2021 (presumibilmente sempre gli stessi), che in giorni diversi sono stati avvistati in punti distanti quasi 600 m l'uno dall'altro, e la lunghezza dei canali pattugliati, che è pari a circa 1.1 km per il primo transetto e 890 m per il secondo (distanze che un esemplare adulto potrebbe percorrere anche in un solo giorno). Gli esemplari avvistati erano infatti quasi sempre immersi in acqua, raramente sulla sponda e nel caso ad una distanza massima di circa 2 o 3 metri: la probabilità che fossero gli stessi è molto alta. L'unico dato affidabile riguarda il numero massimo di nutrie avvistate in uno stesso giorno (che corrisponde quindi alla dimensione minima della popolazione lungo i transetti): pari a 7 nel primo transetto (29/07/2021), di cui 4 cuccioli presumibilmente nati a maggio, e 9 nel secondo (20/01/2022). Per quanto riguarda il

secondo transetto, non sono mai stati avvistati cuccioli (dato il periodo invernale), ma non si è nemmeno riusciti a distinguere individui giovani da individui adulti. Per tutti questi motivi, questo metodo di stima della popolazione di nutria è stato ritenuto troppo impreciso, quindi scartato. Per stimare in maniera maggiormente accurata il numero di nutrie presenti nei transetti censiti, si è sfruttata allora la correlazione tra numero di nutrie e numero di punti di risalita evidenziata dallo studio di Balestrieri e colleghi. I tre diversi valori di intercetta e pendenza della retta di regressione, ricavati dai dati dello studio, sono riportati nella tabella in **TAB. 3.5**. La conta di *paths* nei due transetti censiti ha restituito rispettivamente i valori di 114 e 106: nel primo transetto non è stato possibile attraversare il canale per contare i *paths* sulla sponda opposta perché vi era un cantiere con lavori in corso e la via era bloccata dalla presenza di un cancello, così si è assunto che il numero di *paths* per sponda fosse lo stesso, raddoppiando il numero contato, dato che le differenze di habitat erano trascurabili (il cantiere era distante a sufficienza dalla riva da permettere la risalita degli animali allo stesso modo della sponda percorsa a piedi, il disturbo umano poteva essere comparabile). Grazie ai valori di intercetta e pendenza e al numero dei punti di risalita da me contati, ho sfruttato la funzione `predict()` di R per ricavare 3 diverse stime della popolazione di nutrie nei due transetti, riportati in **TAB. 3.6**.

TAB. 3.5. TABELLA RIPORTANTE I VALORI DI INTERCETTA E PENDENZA RICAVATI DAI DATI DELLO STUDIO DI BALESTRIERI E COLLEGHI (2015) A PARTIRE DA 3 DIVERSI METODI DI STIMA DELLA POPOLAZIONE

METODO DI STIMA	INTERCETTA	PENDENZA
Peterson-Lincoln	0.7603753	0.5540350
Capwire	2.6720792	0.5705517
Accumulation curve	-20.8778053	0.5949227

TAB. 3.6. TABELLA RIPORTANTE LA STIMA DELLA POPOLAZIONE DI NUTRIE NEI DUE TRANSETTI $\pm$ ERRORE STANDARD, A PARTIRE DAI 3 DIVERSI METODI DI STIMA DELLO STUDIO DI BALESTRIERI E COLLEGHI (2015)

METODO DI STIMA	STIMA POPOLAZIONE TRANSETTO 1	STIMA POPOLAZIONE TRANSETTO 2
Peterson-Lincoln	63.92 $\pm$ 4.08	59.49 $\pm$ 4.01
Capwire	67.71 $\pm$ 8.67	63.15 $\pm$ 8.53
Accumulation curve	46.94 $\pm$ 7.59	42.18 $\pm$ 7.47

Per rendere questi valori comparabili con il numero di abbattimenti eseguito negli anni, si è fatta una proporzione sulla lunghezza totale dei transetti pattugliati per le uccisioni, ricavando un range di valori della popolazione di nutrie per ciascun metodo di stima (**TAB. 3.7**). I valori sono stati approssimati per eccesso ad una cifra decimale per le lunghezze e zero per le stime degli individui. La lunghezza totale del transetto 1 è di 1119.5 m, quella del transetto 2 di 890.6 m. La lunghezza dei transetti pattugliati dalla provinciale invece è rispettivamente 5086.5 m per il canale Lorno (A-B), 6597.3 m per il canale Galasso (C-D).

TAB. 3.7. TABELLA RIPORTANTE STIMA DELLA POPOLAZIONE LUNGO I TRANSETTI DI PATTUGLIA PER GLI ABBATTIMENTI, PROPORZIONALE ALLE STIME EFFETTUATE SUI TRANSETTI DI CONTEGGIO *PATHS*

METODO DI STIMA	STIMA POPOLAZIONE TRANSETTO A-B	STIMA POPOLAZIONE TRANSETTO C-D
Peterson-Lincoln	$272 < x < 309$	$411 < x < 470$
Capwire	$268 < x < 347$	$404 < x < 531$
Accumulation curve	$179 < x < 248$	$257 < x < 367$

Nell'area A-B il numero medio di nutrie stimate è di 270, con valori variabili tra un minimo di 179 e un massimo di 347. Nell'area C-D gli animali sono risultati più abbondanti con una media di 407 individui, tra un minimo di 257 e un massimo di 531.

I dati degli abbattimenti (relativi agli anni 2018, 2019, 2020, 2021) sono stati forniti come precedentemente riportato in **FIG. 2.14**, suddivisi nei due comuni di Torrice e Trecasali. Il numero di operatori e le ore di pattuglia sono state le generalmente sempre le stesse; quindi, per normalizzare i dati si è suddiviso il numero di animali abbattuti per l'area totale dei transetti pattugliati. Per ricavare questo dato si è eseguito, tramite il software QGIS, un buffer di 100 m attorno ai transetti, che ha restituito per il transetto A-B un'area di 1.04 km² e per il transetto C-D di 1.13 km². I valori così ottenuti sono stati inseriti in un dataset sul software R sottoforma di logaritmi, mettendoli in relazione al numero di giorni trascorsi a partire dal 31/12/2017, creando un grafico (**FIG. 3.7**): l'obiettivo è stato individuare un andamento degli abbattimenti nel tempo, correlabile all'abbondanza di nutrie. Per verificare l'affidabilità dei dati di abbattimento come stima dell'abbondanza di popolazione, si sarebbe dovuta cercare una correlazione tra l'abbondanza stimata tramite conta dei *paths* e gli abbattimenti totali per transetto, ma avendo dati comparabili solo per l'anno 2021 non è stato possibile. Una semplice comparazione numerica mette in evidenza come nel transetto A-B (270 individui stimati)

fossero state abbattute 75 nutrie, mentre nel transetto C-D (407 individui stimati) ne fossero state abbattute 46. Normalizzando i dati per l'area e il numero di giorni usciti per gli abbattimenti, otteniamo comunque un valore leggermente più alto di abbattimenti per il transetto A-B, che in realtà dovrebbe avere una popolazione di nutrie meno abbondante. Nonostante questi dati siano insufficienti per evidenziare la presenza o meno di correlazione tra abbattimenti e stima della popolazione, è consigliabile interpretare i seguenti risultati in maniera critica.

Sapendo che nel mese di luglio 2019 è stata confermata la presenza del branco presso la riserva grazie alla circolazione della foto di un cucciolo di un mese e mezzo circa, il branco di lupi era probabilmente presente nel territorio già da fine maggio (per il parto) o, con più probabilità, da fine febbraio (momento del concepimento); ci si aspetta quindi un calo nel numero di abbattimenti (e di conseguenza del numero di nutrie) tra 420 e 515 giorni, che corrispondono a tale periodo. Si è eseguita una Piecewise Regression sui dati: è un metodo in cui la variabile indipendente è scissa in intervalli, ciascuno dei quali viene rappresentato da un diverso segmento di retta di regressione. Nel presente caso la variabile indipendente è il tempo in giorni, che è stato idealmente suddiviso in due intervalli: prima e dopo l'arrivo del lupo. Il punto in cui la retta si spezza è definito "*breakpoint*" e ci si aspettava di evidenziarlo, appunto, intorno a 420-515 giorni. Si è anche tentato di utilizzare un altro tipo di regressione, chiamata Local Regression (regressione polinomiale locale), tramite il modello LOESS (LOcally Estimated Scatterplot Smoothing): si applica la regressione a sottoinsiemi dei dati corrispondenti ad intervalli regolari dell'asse delle ascisse, ottenendo le previsioni per una successione regolare di punti.

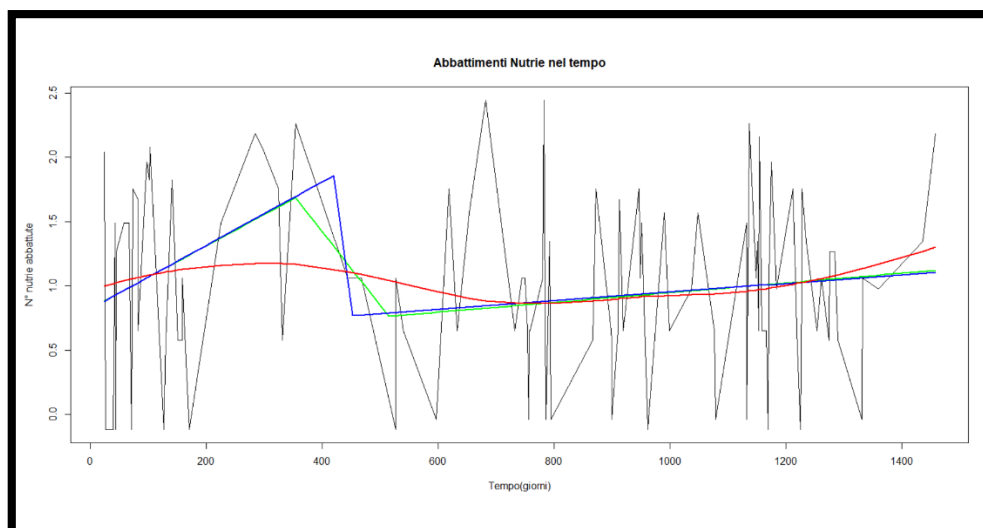


FIG. 3.7. GRAFICO CHE RIPOSTA IL (logaritmo del) NUMERO DI NUTRIE ABBATTUTE NEL TEMPO, A PARTIRE DA GENNAIO 2018 (= tempo 0). Le linee blu e verde rappresentano tentativi di Piecewise Regression (con *breakpoint* fissato a fine febbraio e fine maggio rispettivamente), mentre quella rossa il modello LOESS

Come si evince dalle linee nere del grafico, non è stato possibile evidenziare a vista un qualche tipo di andamento, i dati sembrano fluttuare casualmente. I metodi di regressione applicati tramite R, non hanno dato risultati significativi, ma, analizzando le curve risultanti, possiamo notare che entrambe evidenziano un calo nel numero di animali abbattuti a partire dal 370°- 415° giorno. Inoltre, il modello di Piecewise Regression identifica un secondo *breakpoint* tra il 420° e 515° giorno, con un andamento in leggero aumento piuttosto che in calo, come ci si sarebbe aspettato. Anche il modello LOESS identifica un leggero aumento del numero di nutrie abbattute, ma spostato nel tempo intorno al 700° giorno. Normalizzando il numero totale di esemplari abbattuti per ciascun anno con il numero totale di giorni di pattuglia effettuati, si evidenzia un andamento molto simile: un calo progressivo dal 2018 fino al 2020, con una leggera ripresa nel 2021. Il *breakpoint* in questo caso è unico e corrisponde all'inizio del 2021 (**FIG. 3.8**), ovvero intorno a 1097 giorni, ulteriormente spostato nel tempo.

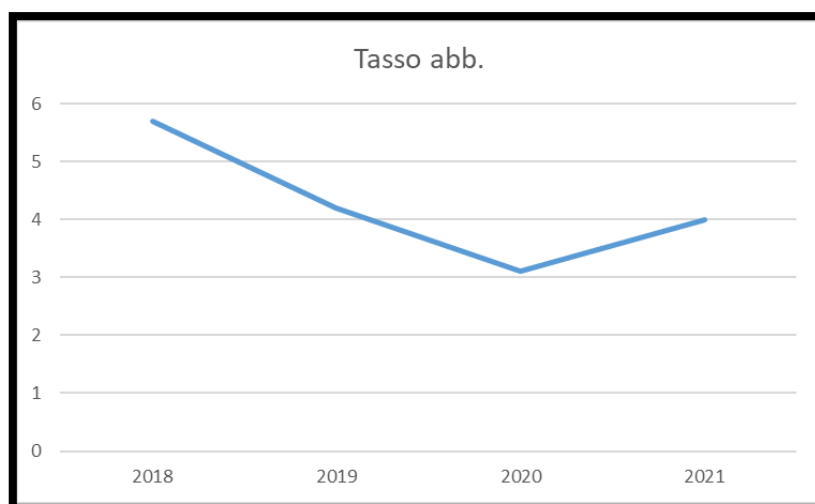


FIG. 3.8. TASSO DEGLI ABBATTIMENTI PER CIASCUN ANNO

4. DISCUSSIONE

Prima di iniziare la discussione dei risultati del presente studio, vi è una premessa doverosa da fare.

La dimensione adeguata di un campione di feci, per essere rappresentativo della dieta in modo accurato, dev'essere compresa tra il 5 e il 10 % della "popolazione" totale di fatte (Marucco, 2003; Ciampichini, 2006) (minore è il numero di fatte analizzate maggiore sarà la variabilità associata alla percentuale relativa di ogni preda individuata nella dieta - Tosoni, 2002). Si è quindi calcolata la numerosità del totale di fatte (N) deposte nel corso dell'anno, tramite la seguente formula:

$$N = n^{\circ} \text{ lupi} \times 2 \frac{\text{fatte}}{\text{giorno}} \times n^{\circ} \text{ giorni}$$

Il calcolo viene effettuato separatamente per le due stagioni estiva ed invernale, utilizzando il numero minimo certo di lupi presenti nel branco a fine estate e fine inverno. La stima del tasso di defecazione è basata su osservazioni di *feeding trials* in cattività (Floyd et al., 1978), che riferiscono un tasso di defecazione di 4 fatte/lupo/giorno. Considerando la minore disponibilità di cibo in natura, questa stima viene dimezzata, utilizzando quindi un tasso di defecazione di 2 fatte/lupo/giorno, in analogia con quanto fatto in precedenti studi (Marucco, 2003; Ciampichini, 2006). Infine, vengono considerati al fine del calcolo 181 giorni invernali e 184 giorni estivi. Nel caso del presente studio, la percentuale di fatte raccolte sul totale (N = 2248), suddividendo i dati in estate 2020, inverno 2020-21 ed estate 2021 e facendo riferimento al numero minimo di lupi alla fine di ciascuna stagione ricavato tramite l'ausilio di fototrappole, risulta essere solo dell'1.38 % (molto più bassa del minimo richiesto), per cui qualunque interpretazione dei dati raccolti tramite le loro analisi riportata da qui in avanti è da ritenersi preliminare e andrà rafforzata solo dalla raccolta di ulteriori dati nel tempo.

Dei 31 escrementi totali, gli escrementi scelti per le analisi genetiche, n°9 e 24, sono rispettivamente appartenenti alla categoria estivo ed invernale; entrambi hanno restituito la presenza di DNA di nutria al proprio interno, dimostrando che questa specie rappresenta una preda per il branco di lupi in esame. L'esiguo numero di fatte su cui è stato possibile fare le analisi, rappresentano però un dataset troppo scarso per poter quantificare con quale frequenza i lupi si nutrano di queste prede. I limiti sono stati legati principalmente all'approccio gerarchico utilizzato, che ha portato ad una riduzione di tempo e soldi a disposizione per le analisi. L'approccio multidisciplinare ha fortunatamente permesso di raccogliere ulteriori dati, tramite il metodo delle analisi morfologiche. Dei 31 escrementi totali, ne sono stati selezionati 23 contenenti resti altamente diagnostici (quali, ad esempio per roditori e lagomorfi, i denti). La nutria è stata rilevata con due sole occorrenze, negli escrementi n° 13 e 25 (estivo ed invernale rispettivamente). Tramite il metodo della frequenza delle occorrenze, è stata rilevata la

presenza di resti in primis di *Sylvilagus floridanus* (in più della metà dei casi), seguito da *Lepus europaeus*, uccello (probabilmente *Phasianus colchicus* data la sua abbondanza nella zona) e infine *Myocastor coypus* con una frequenza di occorrenza pari al 7.69%. Nonostante un numero di sole due occorrenze di nutria sia scarsamente rilevante, si è tentata una suddivisione stagionale della frequenza ottenendo un valore di 11.11% in inverno e 5.88% in estate: questa differenza stagionale, se confermata da ulteriori studi in maniera significativa, sarebbe in accordo con la minor capacità di adattamento delle nutrie a climi freddi (Cocchi e Riga, 2001). I rigori invernali, specialmente quando prolungati nel tempo, possono indurre debilitazione organica a causa di una più rapida diminuzione delle riserve energetiche (oltre ad aborto delle figliate e riduzione nella frequenza delle nascite); il gelo impedisce la fruizione di rizomi e radici delle piante, che costituiscono il principale alimento invernale delle nutrie (Gosling, 1981), rendendole specie più vulnerabili e perciò maggiormente predabili da parte del lupo. Non a caso l'unico esempio di eradicazione avvenuta con successo in Inghilterra è stato facilitato dal susseguirsi di inverni particolarmente rigidi (Gosling e Baker, 1989): il controllo operato da un predatore come il lupo in sinergia con il controllo umano e condizioni climatiche particolarmente fredde, potrebbe essere l'unico spiraglio di azione contro questa specie invasiva.

L'elevata presenza nella dieta di *Sylvilagus floridanus* e *Lepus europaeus* rispetto a *Myocastor coypus* potrebbe essere giustificata dalla vita prettamente terrestre di queste specie che le renderebbe più facili e disponibili da predare, rispetto ad un animale semi acquatico come la nutria. Questo risultato è inoltre un interessante punto di partenza per ulteriori studi, in quanto la minilepre è una specie alloctona invasiva, introdotta illegalmente in Italia dal Nord America diverse volte a scopo venatorio (Meriggi, 2001; Spagnesi, 2002; Vidus-Rosin et al., 2008), che danneggia colture agricole e rappresenta una minaccia dal punto di vista ecologico e sanitario (Spagnesi, 2002; Tizzani et al., 2014; Tizzani et al., 2020). La predazione di questa specie da parte del lupo potrebbe rappresentare quindi un altro importante servizio ecosistemico.

Occorre però evidenziare un importante limite della tecnica utilizzata: il metodo della frequenza di occorrenza sovrastima sia componenti alimentari con alti rapporti superficie volume, sia quelli presenti in quantità scarsamente significative. Tale limitazione deriva dalla considerazione che l'assunto fondamentale di questa metodologia di quantificazione, basato sulla corrispondenza fra i resti indigesti e quantità di preda consumata, non è sempre realistico. È stato infatti dimostrato che dimensione e tipologia della preda, unitamente alla natura intrinseca dei resti indigesti, possono influenzare notevolmente la quantificazione delle singole categorie alimentari nella dieta (Reynold e Aebischer, 1991; Ciucci et al., 1996). Per questo motivo le prede di piccole dimensioni, caratterizzate da elevati i rapporti superficie volume, produrranno una maggiore quantità di resti indigesti rispetto alle prede

più grandi a parità di biomassa ingerita (Mech, 1970; Floyd et al., 1978); inoltre, le categorie alimentari presenti in tracce saranno sovrastimate (Kelly, 1991). Per questo motivo, nonostante nella presente analisi non siano stati identificati resti appartenenti ad ungulati, non significa che questi animali non facciano parte della dieta del branco in esame. La composizione della dieta viene quindi sottostimata e una prova a riguardo è rappresentata dal fatto che gli escrementi n° 9 e 24, analizzati geneticamente, hanno restituito la presenza di DNA di nutria, ma i rimanenti resti ossei appartenenti agli stessi escrementi sono stati diagnosticati come appartenenti a silvilago in maniera incontrovertibile, data la presenza di denti molari ed incisivi, altamente diagnostici (**FIG. 4.1**). Una spiegazione plausibile di questo fenomeno è legata all'utilizzo, nella tecnica genetica del DNA mini-barcoding, di primer specifici per *Myocastor coypus*, che sono risultati essere altamente efficienti amplificando unicamente il DNA di nostro interesse, evidenziando quindi la presenza certa della nutria negli escrementi selezionati, nonostante il tessuto osseo potesse appartenere a silvilago.

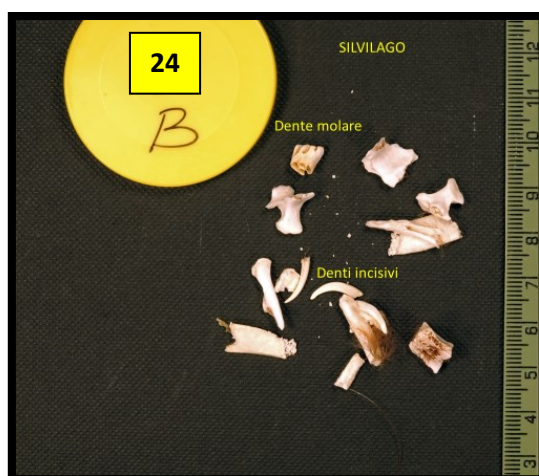


FIG. 4.1. RESTI OSSEI DI SILVILAGO RINVENUTI ALL'INTERNO DELL'ESCREMENTO N° 24, CONTENENTE MATERIALE GENETICO DI NUTRIA

Questo risultato evidenzia l'importanza dell'utilizzare diverse procedure d'analisi per poter correttamente interpretare i risultati ottenuti, tenendo in considerazione i limiti di accuratezza di ciascuna metodologia. Nel presente studio non si è purtroppo potuta effettuare l'analisi genetica di tutti i campioni, per motivi economici, metodologici e tempistici, ma sarebbe interessante, per studi futuri, riuscire ad effettuare queste analisi in parallelo per tutti i campioni disponibili.

Altra importante considerazione relativa sia ai metodi genetici che morfologici, riguarda la possibilità tramite il loro utilizzo di ottenere unicamente informazioni relative al diverso utilizzo delle risorse trofiche: non si possono infatti trarre delle conclusioni in termini di predazione delle differenti

componenti alimentari (Boitani e Ciucci, 1996), in quanto è stata ampiamente dimostrata la tendenza del lupo a cibarsi di carcasse (Potvin, 1987; Huggard, 1993). Oltretutto è da ritenere probabile che la disponibilità di animali morti possa essere elevata: fattori di origine naturale, come le basse temperature o le malattie, o di origine antropica (caccia, incidenti stradali) possono giocare un ruolo chiave in questo senso. Inoltre, non è evidenziabile alcuna dinamica di selezione differenziale rispetto alle categorie alimentari individuate. Questo perché non è stato possibile valutare la disponibilità di ogni potenziale preda del lupo presente nell'area di studio. Nonostante ciò, grazie all'ausilio delle fototrappole e di video raccolti da persone esterne (citizen-science) è stato possibile immortalare lupi con in bocca esemplari adulti di nutria, presumibilmente appena predati, ma soprattutto un vero e proprio evento di predazione, in cui osserviamo un lupo catturare prontamente un individuo di nutria fuori dall'acqua, distante meno di un metro dal canale, intento a brucare l'erba. Purtroppo, la memoria della fototrappola era limitata (sulla base della scheda SD a disposizione, tra 8 e 16 GB) e nella maggior parte dei casi, si esauriva entro i primi 3-4 giorni di posizionamento a causa dell'alta sensibilità allo scatto: molti dei video non riprendevano il passaggio di nessun animale, ma solo erba mossa dal vento o il passaggio di insetti. A causa di ciò, vi è stata ovviamente la perdita di molti dati. Nonostante però il numero esiguo di video raccolti riprendenti l'evento di nostro interesse, possiamo affermare che il lupo predi attivamente la nutria, non affidandosi quindi solo al fenomeno dello *scavenging*. L'utilizzo di fototrappole ci ha inoltre permesso di estrapolare interessanti informazioni relative al branco: il parto della femmina dominante e la dimensione minima al termine dello studio (Luglio 2021). Il 26/04/2021 la femmina dominante viene immortalata con ventre gonfio, probabilmente gravida; circa un mese dopo, nella settimana dal 21 al 28 maggio, abbiamo la presenza di un elevato numero di video, in uno dei quali si vede la femmina dominante con ventre sgonfio. Presumibilmente, quindi, il parto è avvenuto nel corso di questo mese. A confermarlo è una fotografia ricevuta da alcuni agricoltori il 29/05/2021, ritraente un cucciolo di lupo trovato in mezzo ai campi coltivati (**FIG. 4.2**).



FIG. 4.2. CUCCIOLO DI LUPO TROVATO DAGLI AGRICOLTORI TRA L'ERBA FITTA DI UN CAMPO IN DATA 29/05/2021

È probabile quindi che la lupa avesse partorito proprio tra l'erba alta. A seguito di questo ritrovamento, nel quale il lupacchiotto è stato lasciato in posto, abbiamo un calo degli avvistamenti su fototrappola, con un solo video registrato la sera del 14/07/2021. Con tutta probabilità il branco si è allarmato e ha compreso di dover spostare i cuccioli, probabilmente in una zona boscosa poco distante. Anche il ritrovamento delle fatte, già ridotto nei mesi estivi, si è ulteriormente rarefatto nei mesi di giugno e luglio a sostegno di tale ipotesi. Dai video delle fototrappole possiamo inoltre affermare che a ottobre 2020 il branco era composto da almeno 5 individui: coppia dominante + 2 adulti e un cucciolo dell'anno, il quale viene ritrovato morto bracconato il 22/11. A fine luglio 2021 invece, ci sono almeno 3 individui, ovvero la coppia alfa e il cucciolo. È probabile che i giovani degli scorsi anni, si siano dispersi poco distante formando un proprio branco nel comune di Coltaro, data la presenza di alcuni video provenienti da cittadini della zona. Ulteriori monitoraggi dovrebbero essere portati avanti nei prossimi anni per confermare e studiare l'espansione dei lupi nella zona.

Grazie alle analisi genetiche e morfologiche e al supporto di video, è confermata la presenza della nutria nella dieta del lupo, ma per verificare se questo operi effettivamente un controllo sulla popolazione si è cercato di confrontare ed analizzare dati sulla stima attuale della popolazione e abbattimenti avvenuti negli anni passati. La stima della popolazione a partire dal numero di *paths* ha richiesto alcune assunzioni: essendoci basati sui dati dello studio di Balestrieri e colleghi effettuato in alcune province lombarde, si assume che le popolazioni di nutrie emiliane si comportino alla stessa maniera, occupando habitat simili e sfruttando mediamente un numero di punti di risalita simile a quelli dello studio; inoltre, la stima della popolazione lungo gli interi transetti pattugliati dalla

provinciale è stata ricavata tramite proporzione a partire dalla stima effettuata sull'effettivo conteggio di *paths* lungo i transetti selezionati per il censimento, che corrispondono per minima parte ai primi: si è dovuto quindi assumere anche in questo caso di avere condizioni ecologiche simili a quelle riscontrate. La popolazione media stimata nel transetto A-B è di 270 individui, mentre nel transetto C-D di 407: confrontando questi numeri con il numero di animali abbattuti nel 2021 nei rispettivi transetti, abbiamo un valore di 75 individui e 46, corrispondenti ad un 28 % e un 11 % della popolazione stimata. Queste basse percentuali fanno intuire il motivo dell'inefficacia delle operazioni di controllo in Italia. Per capire se, dall'arrivo del lupo tra febbraio e maggio 2019, si sia evidenziato un calo dell'abbondanza di nutrie, si sono sfruttati i dati relativi agli abbattimenti di queste, dal 2018 al 2021. Si presuppone una relazione lineare tra abbattimenti e abbondanza della popolazione e che ciascun individuo abbia la stessa probabilità di essere abbattuto: è stato dimostrato come in alcuni casi gli indici di caccia funzionino bene nell'individuare questa correlazione e siano quindi utilizzati per stimare la popolazione (Imperio et al., 2010), anche se nel presente studio non è stato possibile individuare tale correlazione. Questi assunti sono infatti difficilmente rispettati o non conosciuti, con potenziali bias nei risultati (Engeman et al. 2013), ad esempio l'efficacia di una battuta può dipendere da fattori diversi dalla densità di animali come il meteo (Grauer e König 2009) o la motivazione dei cacciatori. Nonostante ciò, i dati di caccia erano gli unici a disposizione del presente lavoro per provare ad identificare un andamento della popolazione nel tempo, quindi l'interpretazione dei risultati deve avvenire con cautela.

Quello che possiamo notare osservando i grafici (**FIG. 3.6 e 3.7**) è un calo degli abbattimenti a partire dal 2018 fino al 2020, dove comincia una leggera ripresa. Questi andamenti evidenziati dai modelli di regressione utilizzati non sono risultati significativi, ovvero il numero degli animali abbattuti non è variato significativamente nel tempo (e di conseguenza l'abbondanza delle popolazioni). Le fluttuazioni emerse hanno probabilmente un'alta componente stocastica o relativa ad altri fattori (clima, mortalità naturale), dato che il calo degli abbattimenti comincia a partire dal 2018, quando il lupo non era ancora presente nei nostri territori; notiamo anzi una ripresa nel 2020, con il lupo è ormai presente da un anno. La spiegazione potrebbe essere che il lupo non operi controllo sulla popolazione di nutrie, ma è più plausibile è che i dati raccolti non siano sufficienti a dare delle risposte in termini di controllo delle popolazioni preda da parte del lupo: è arrivato da poco e probabilmente sta ancora esplorando le diverse possibilità trofiche a sua disposizione. È probabile che sia ancora troppo presto per l'instaurarsi di un meccanismo ecologico stabile preda-predatore, solo ulteriori studi potranno chiarire questi dubbi.

5. CONCLUSIONI

Grazie all'utilizzo di un approccio multidisciplinare è stato possibile dimostrare con certezza l'appartenenza di *Myocastor coypus bonariensis* alle specie preda di *Canis lupus italicus* nel branco di Torrile e Trecasali, anche se non è stata per il momento individuata un'azione di controllo numerico su di essa. È stata evidenziata l'importanza di utilizzare un approccio multidisciplinare per far fronte alle diverse limitazioni insite nelle singole metodologie. Nelle analisi genetiche è stata testata e dimostrata l'efficacia di primer specifici disegnati appositamente per *Myocastor coypus* tramite DNA mini-barcoding: nonostante il numero esiguo di campioni, il 100% di questi ha restituito il DNA della specie di interesse, con un valore identificativo sempre maggiore al 98%. A fronte di ulteriori analisi e test, questi primer potrebbero essere utilizzati in studi futuri. Le analisi morfologiche hanno evidenziato la presenza di resti appartenenti a *Sylvilagus floridanus* in quantità significativa: si tratta di un'altra specie alloctona invasiva; sarebbe utile ed interessante venisse studiata più approfonditamente la sua relazione con il lupo. L'utilizzo di fototrappole, unitamente alla raccolta di video da parte dei cittadini, è risultato fondamentale per dimostrare l'effettiva predazione attiva su nutria da parte del lupo, evidenziando inoltre l'importanza di un approccio di citizen-science per la ricerca scientifica. È stato infine testato in ambiente emiliano un metodo indiretto per la stima della popolazione di nutrie (Balestrieri et al., 2015), che potrebbe essere applicato anche in futuro su più larga scala, in seguito ad ulteriori prove, in quanto veloce, semplice ed economico. Questo lavoro ha rappresentato un primo tentativo di studio del branco di lupi di Torrile e Trecasali ed in generale un primo approccio allo studio della dieta dei lupi in pianura, in assenza di letteratura a riguardo; ha evidenziato l'importanza di un approccio multidisciplinare, riuscendo a mettere in luce aspetti interessanti che dovranno essere ulteriormente approfonditi in ricerche future.

6. BIBLIOGRAFIA

- Abbas A., 1991. Feeding strategy of coypu (*Myocastor coypus*) in central western France. *Journal of Zoology*, London 224: 385–401.
- Aliev F.F., 1965. Dispersal of nutria in the U.S.S.R.. *Journal of Mammalogy* 46: 101– 102.
- Altobello G., 1925. Vertebrati del Molise e dell’Abruzzo. Forme locali, *Annuario dell’Istituto Tecnico Provinciale "Leopoldo Pilla"*, Campobasso, pp. 231-255.
- Angelici C., Marini F., Battisti C., Bertolino S., Capizzi D., Monaco A., 2012. Cumulative impact of rats and coypu on nesting waterbirds: first evidences from a small Mediterranean wetland (Central Italy). *Vie milieu - Life and Environment*, 62: 137-141.
- Apollonio M., 1993. Evoluzione dell’ambiente e delle attività antropiche nelle aree appenniniche in relazione alla presenza del lupo. In F. Cecere (ed.) 1996. *Atti del Convegno “Dalla parte del lupo”*, serie atti e studi del WWF Italia, 10: 54-63.
- Asa C. S., Peterson E. K., Seal U. S., Mech L. D., 1985. Deposition of anal sac secretion by captive wolves. *J. Mamm.*, 66:89-93.
- Asbury T. A., Bennett R., Price A. S., da Silva C., Burgener M., Klein J. D., Maduna S. N., Sidat N., Fernando S., Bester-van der Merwe A. E., 2021. Application of DNA mini-barcoding reveals illegal trade in endangered shark products in southern Africa. *African Journal of Marine Science*, 43(4): 511-520.
- Balestrieri A., Zenato M., Fontana E., Vezza P., Remonti L., Caronni F. E., Saino N., Prigioni C., 2015. An indirect method for assessing the abundance of introduced pest *Myocastor coypus* (Rodentia) in agricultural landscapes. *Journal of Zoology*, doi:10.1111/jzo.12284.
- Barbuto M., Galimberti A., Ferri E., Labra M., Malandra R., Galli P., Casiraghi M., 2010. DNA barcoding reveals fraudulent substitutions in shark seafood products: the Italian case of “palombo” (*Mustelus spp.*). *Food Research International*, 43: 376-381.
- Bertolino S., Angelici C., Monaco E., Monaco A., Capizzi D. 2011. Is the coypu (*Myocastor coypus*) a nest predator or a nest destroyer? *Hystrix Italian Journal of Mammalogy*, 22: 333-339.
- Bertolino S., DIVAPRA Entomology and Zoology, University of Turin, Italy & IUCN/SSC Invasive Species Specialist Group (ISSG), 2022. *Myocastor coypus*. In: *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc.
- Bertolino S., Genovesi P., 2007. Semiaquatic mammals introduced into Italy: case studies in biological invasion. In: Gherardi F. (editor). *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats*. Springer, pp. 175-191.

- Bertolino S., Ingegno B., 2009. Modelling the distribution of an introduced species: The coypu *Myocastor coypus* (Mammalia, Rodentia) in Piedmont region, NW Italy. Italian Journal of Zoology, 76:3, 340-346.
- Bertolino S., Perrone A., Gola L., 2005. Effectiveness of coypu control in small Italian wetland areas. Wildlife Society Bulletin 33: 714-720.
- Bertolino S., Viterbi R., 2010. Long-term cost-effectiveness of coypu (*Myocastor coypus*) control in Piedmont (Italy). Biol Invasions, 12: 2549-2558.
- Bertolino S., Viterbi, R. 2010. Long-term cost-effectiveness of coypu (*Myocastor coypus*) control in Piedmont (Italy). Biological Invasions 12: 2549-2558.
- Berzi D., Il lupo (*Canis lupus* L. 1758) nell'Appennino della provincia di Firenze: presenza, distribuzione, ecologia e rapporto con le attività zootecniche. Tesi di Laurea, Università degli studi di Firenze, anno accademico 1996-1997, Relatore: Casanova Paolo.
- Bocedi R., Evoluzione demografica del lupo in Italia: cause storiche del declino e della ripresa, nuove problematiche indotte e possibili soluzioni. Tesi di Laurea, Università degli studi di Parma, anno accademico 2003-2004, Relatore: Bracchi Piergiovanni.
- Boitani L., 1986. Dalla parte del lupo. G. Mondadori, Milano.
- Bomford M., O'Brien P., 1995. Eradication or control for vertebrate pests? Wildl. Soc. Bull., 23(2):249-255.
- Borgnia M., Galante M. L., Cassini M. H., 2000. Diet of the coypu (*Myocastor coypus*) in agro-systems of the Argentinean Pampas. The Journal of Wildlife Management 64: 354-361.
- Boscagli G., 1985. Il lupo. Carlo Lorenzini ed. Udine.
- Bounds D. L., Sherfy M. H., Mollett T. A., 2003. Nutria. In: Wild mammals of North America. G. A. Felhamer, B. C. Thompson and J. A. Chapman, eds. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland: 1119-1147.
- Bounds, D.L., 2000. Nutria: an invasive species of national concern. Wetland Journal 12(3): 9-16
- Brown L. N., 1975. Ecological relationships and breeding biology of nutria (*Myocastor coypus*) in the Tampa, Florida, area. Journal of Mammalogy 56: 928-930.
- Cagnolaro L., Comencini M., Martinoli A., Oriani A., 1993. Dati storici sulla presenza e su casi di antropofagia del lupo nella Padania centrale. In F. Cecere (ed.) 1996, Atti del Convegno "Dalla parte del lupo", serie atti e studi del WWF Italia, 10, 83:99.

- Cagnolaro L., Rosso D., Spagnesi M., Venturi B., 1974. Inchiesta sulla distribuzione del lupo in Italia e nei cantoni Ticino e Grigioni (Svizzera). *Ricerche della biologia della selvaggina*, 59: 1-75.
- Caniglia R., Fabbri E., Greco C., Randi E. (a cura di). *Quad. Cons. Natura*, 33, Min. Ambiente - ISPRA.
- Capitani C., Bertelli I., Varuzza P., Scandura M., Apollonio M, 2004. A comparative analysis of wolf (*Canis lupus*) diet in three different Italian ecosystems. *Mammalian Biology*, 69: 1-10.
- Carter J., Leonard B.P., 2002. A review of the literature on the worldwide distribution, spread of, and efforts to eradicate the coypu (*Myocastor coypus*). *Wildlife Society Bulletin*, 30: 162-175
- Chabreck R. H., 1962. Daily Activity Of Nutria in Louisiana. *Journal of Mammalogy*, Vol. 43, Issue 3, Pages: 337-344.
- Ciampichini, M. C., 2006. Ecologia alimentare del lupo nelle Alpi Liguri Marittime. Tesi di Laurea. Università degli Studi di Roma "La Sapienza".
- Ciucci P., 1994. Movimenti, attività e risorse del lupo (*Canis lupus* L.), in due aree dell'Appennino centro-settentrionale. Tesi di dottorato. Università degli studi di Roma «La Sapienza».
- Ciucci P., Boitani L., 1998. Il lupo. Elementi di biologia, gestione, ricerca. Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica «Alessandro Ghigi», Documenti Tecnici, 23.
- Ciucci P., Boitani L., 2003. Il Lupo *Canis lupus* Linnaeus, 1758, in L. Boitani, S. Lovari, A. Vigna Taglianti (eds), *Fauna d'Italia: Mammalia III, Carnivora-Artiodactyla*, Calderini, Bologna, pp. 20-47.
- Ciucci P., Boitani L., Pelliccioni E. R., Rocco M and Guj I., 1996. A comparison of scat-analysis methods to assess the diet of the wolf *Canis lupus*. *Wildl. Biol.* 2:37-48.
- Ciucci P., Mancinelli S., Boitani L., Gallo O., Grottoli L., 2019. Anthropogenic food subsidies hinder the ecological role of wolves: Insights for conservation of apex predators in human-modified landscapes. *Global Ecology and Conservation*, 21, e00841.
- Ciucci P., Teofili C., Boitani L. (eds.) 2005. Grandi carnivori e zootecnia tra conflitto e coesistenza. *Biol. Cons. Fauna* 115, Full Journal: 1-192. Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica "Alessandro Ghigi".
- Cocchi R., Bertolino S., 2020. Piano di gestione nazionale della Nutria *Myocastor coypus*. Min. Ambiente - ISPRA - Sistema Nazionale per la Protezione dell'Ambiente.

- Cocchi R., Riga F. 2007. Control of a coypu *Myocastor coypus* population in northern Italy and management implications. Italian Journal of Zoology 75: 37-42.
- Cocchi R., Riga F., 1999. Nutria *Myocastor coypus* (Molina, 1782). In: Spagnesi M. e S. Toso (eds.), Iconografia dei Mammiferi d'Italia, Ministero dell'Ambiente, Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica.
- Cocchi R., Riga F., 2001. Linee guida per il controllo della Nutria (*Myocastor coypus*). Quad. Cons. Natura, 5. Min. Ambiente – Ist. Naz. Fauna Selvatica.
- Cocchi R., Riga F., 2008. Control of a coypu *Myocastor coypus* population in northern Italy and management implications. Italian J. of Zoology, 75:1, 37-42.
- Corriale M.J, Arias S.M., Bo' R.F., Porini G., 2006. Habitat-use patterns of the coypu *Myocastor coypus* in an urban wetland of its original distribution. Acta Theriologica, 51: 295-302.
- D'Adamo P., Guichón M.L., Bó R.F., Cassini M.H., 2000. Habitat use of the coypu (*Myocastor coypus*) in agro-systems of the Argentinean Pampas. Acta Theriologica 45: 25-33.
- Doncaster C. P. and Micol T. 1990. Response by coypus to catastrophic events of cold and flooding. Holarctic Ecology, 13: 98–104.
- Doncaster C. P. and Micol T., 1989. Annual cycle of a coypu (*Myocastor coypus*) population: male and female strategies. Journal of Zoology, London 217: 227–240.
- Dozier H. L., 1985. The present status and future of nutria in the southeast states. Proceedings of the Annual Conference of the Southeastern Association of Game and Fish Commissioners, 5:368- 73.
- Duprè E., 1996. Distribuzione potenziale del lupo (*Canis lupus*) in Italia e modelli di espansione dell'areale: un approccio multivariato sviluppato attraverso un GIS. Tesi di Dottorato, Università di Roma "La Sapienza", Roma.
- Engeman R. M., Massei G., Sage M., Gentle M. N., 2013. Monitoring wild pig populations: a review of methods. Environmental Science and Pollution Research, 20: 8077-8091.
- Evans, J. 1970. About Nutria and Their Control. U.S. Government Printing Office Wash. D.C.: Bureau of Sport Fisheries and Wildlife, Denver Wildlife Research Center.
- Field R., 1979. A prospective of Syntactics of wolf Vocalization. In (Klinghammer E. ed.) 1979.
- Filonzi L., Vaghi M., Ardenghi A., Rontani P. M., Voccia A., Marzano F. N., 2021. Efficiency of DNA Mini-Barcoding to Assess Mislabeling in Commercial Fish Products in Italy: An Overview of the Last Decade. Foods, 10, 1449.
- Foran, D.R., Crooks, K.R., Minta, S.C., 1997. Species identification from scat: an unambiguous genetic method. Wildlife Society Bulletin, 25: 835-839

- Francisci F., Mattioli S., 1993. Cause della recente ripresa del lupo in Appennino settentrionale. In F. Cecere (ed.) 1996. Atti del Convegno "Dalla parte del lupo", serie atti e studi del WWF Italia, 10.
- Fritts S. H., Mech L. D., 1981. Dynamics, movements, and feeding ecology of a newly protected wolf population in northwestern Minnesota. Wildlife Monographs, n. 80. The Wildlife Society, Bethesda, MD. Pp. 79.
- Gazzola A., Bertelli I., Avanzinelli E., Tolosano A., Bertotto P., Apollonio M., 2005. Predation by wolves (*Canis lupus*) on wild and domestic ungulates of the western Alps, Italy. J. Zool., Lond. 266: 205-213.
- Genovesi P. (a cura di), 2002. Piano d'azione nazionale per la conservazione del Lupo (*Canis lupus*). Quad. Cons. Natura, 13, Min. Ambiente – Ist. Naz. Fauna Selvatica.
- Gervasi V., Salvatori V., Catullo G., Ciucci P., 2021. Assessing trends in wolf impact on livestock through verified claims in historical vs. recent areas of occurrence in Italy. European Journal of Wildlife Research, 67:87.
- Gosling L. M. and Baker S. J. 1987. Planning and monitoring an attempt to eradicate coypus from Britain. Symp. Zool. Soc. Lond., 58: 99-113.
- Gosling L. M. and Baker S. J. 1989. Demographic consequences of differences in the ranging behaviour of male and female coypus. In: Mammals as pests. R. J. Putman, ed. Chapman & Hall, London: 155–167.
- Gosling L. M. and Baker S. J. 1991. Coypu. In: Handbook of British mammals. G. B. Corbet and S. Harris, eds. Third edition. Blackwell Scientific, Oxford: 267–275.
- Gosling L. M. et al., 1983. A simulation approach to investigating the response of a coypu population to climatic variation. EPPO Bulletin 13: 183-92.
- Gosling L. M., 1974. The Coypu in East Anglia. Trans. Norfolk Norwich Nats Soc., 23: 49-59.
- Gosling L. M., 1977. Coypu, *Myocastor coypus*. In: Corbet G. B. e H. N. Southern (eds.), The handbook of British Mammals, Blackwell Scientific Publication. Oxford, pp.; 256-265.
- Gosling L. M., Huson L. W., Addison G. C., 1980. Age Estimation of Coypus (*Myocastor coypus*) from Eye Lens Weight. Journal of Applied Ecology, Vol. 17, No. 3, pp.: 641-647.
- Gosling L. M., Watt A. D. and Baker S. J., 1981. Continuous retrospective census of the East Anglian coypu population between 1970 and 1979. Journal of Animal Ecology 50: 885–901.
- Gosling L.M., Baker S.J., Clarke C.N., 1988. An attempt to remove coypus from a wetland habitat in East Anglia. Journal of Applied Ecology 25: 49-62.

- Grauer A., König A., 2009. Management of Chamois in Bavaria (Germany): The Importance of Game Activities in Scabies Control. *Wildl. Biol. Pract.*, 5(2): 115-127.
- Guichón M. L., Benítez V. B., Abba A., Borgnia M. and Cassini M. H. 2003a. Foraging behaviour of coypus *Myocastor coypus*: why do coypus consume aquatic plants? *Acta Oecologica* 24: 241–246.
- Guichón M. L., Borgnia M., Fernández Righi C., Cassini G. and Cassini M. H. 2003b. Social behavior and group formation in the coypus (*Myocastor coypus*) in the Argentinean pampas. *Journal of Mammalogy* 84: 254–262.
- Hallerman E.M., 2021. Applications and limitations of DNA barcoding in Environmental Biology. *J. Environ. Biol.*, 42, 1-13.
- Harrington F. H., Mech L. D., 1982b. Fall and winter homesite use by wolves in Northeastern Minnesota. *Canadian Field-Naturalist* 96: 79-84.
- Heberlein T.A., Ericsson G., 2008. Public attitudes and the future of wolves *Canis lupus* in Sweden. *Wildl. Biol.*, 14: 391-394.
- Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., deWaard J. R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond.*, 270: 313-321.
- Heptner V. G., Naumov, N. P., 1998. Mammals of the Soviet Union. SIRENIA AND CARNIVORA (Sea cows; Wolves and Bears), Science Publishers, Vol. 2, Parte 1a, pp 164-270.
- <https://ambiente.regione.emilia-romagna.it/it/parchi-natura2000/aree-protette/riserve-naturali/torr>
- <https://ambiente.regione.emilia-romagna.it/it/parchi-natura2000/rete-natura-2000/siti/it4020017>
- Huggard D. J., 1993. Prey selectivity of wolves in Banff National Park. I. Prey species. *Canadian Journal of Zoology* 71: 130-139.
- Imbert C., Caniglia R., Fabbri E., Milanesi P., Randi E., Serafini M., Torretta E., Meriggi A., 2016. Why do wolves eat livestock? Factors influencing wolf diet in northern Italy. *Biological Conservation*, 195: 156-168.
- Imperio S., Ferrante M., Grignetti A., Santini G., Focardi S., 2010. Investigating population dynamics in ungulates: Do hunting statistics make up a good index of population abundance? *Wildl. Biol.* 16:205-214.
- ISPRA e Sistema Nazionale per la Protezione dell’Ambiente, COMUNICATO STAMPA, IL LUPO IN ITALIA: MONITORAGGIO DELLO STATO DI CONSERVAZIONE, DELLE MINACCE, DELLA

PREVENZIONE DEI CONFLITTI, Verso un Piano Nazionale di monitoraggio della specie. Roma, 3-4 dicembre 2018.

- IUCN. 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-3. <https://www.iucnredlist.org>.
- Ivanova V. N., Zemlak T. S., Hanner R. H., Hebert P. D. N, 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Molecular Ecology Notes, doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01748.x.
- Jarnevich C.S., Young N.E., Sheffels T.R., Carter J., Sytsma M.D., Talbert C., 2017. Evaluating simplistic methods to understand current distributions and forecast distribution changes under climate change scenarios: An example with coypu (*Myocastor coypus*). NeoBiota 32(1):107-125.
- Kanzaki N. and Perzanowski K., 1997. The potential role of wolf predation in regulating wild boar population in Bieszczady, Poland. Wildlife Conservation Japan, 2(4): 205-212.
- Kelly B. T., 1991. Carnivore scat analysis: an evaluation of existing techniques and the development of predictive models of prey consumed. Tesi di Master, Univ. of Idaho, pag. 151.
- Kruuk H., Parish T., 1981. Feeding specialization of the European badger *Meles meles* in Scotland. J. Anim. Ecol. 50: 773-788.
- Larentis, M., 2017. L'ecologia alimentare del lupo (*Canis lupus*) in un'area di recente ricolonizzazione nel Parco Nazionale del Gran Paradiso. Tesi di Laurea. Università degli studi di Torino.
- LeBlanc, Dwight J., 1994. Nutria. The Handbook: Prevention and Control of Wildlife Damage. 16.
- Letnic M., Ritchie E.G., Dickman C.R., 2012. Top predators as biodiversity regulators: the dingo *Canis lupus dingo* as a case of study. Biological Reviews, 87: 390-413.
- Lockie J. D., 1959. The estimation of the food of foxes. Journal of Wildlife Management, Vol.23 pp.224-227.
- Manghi L., Il lupo (*Canis lupus*) nelle Alpi Marittime: aspetti demografici ed ecologia alimentare. Tesi di Laurea, Università degli studi di Parma, anno accademico 2002-2003, Relatore: Gandolfi Gilberto.
- Marino A., Braschi C., Ricci S., Salvatori V., Ciucci P., 2016. Ex post and insurance-based compensation fail to increase tolerance for wolves in semi-agricultural landscapes of central Italy. Eur J Wildl Res, 62: 227-240.
- Marucco F., E. Avanzinelli, B. Bassano, R. Bionda, F. Bisi, S. Calderola, C. Chioso, U. Fattori, L. Pedrotti, D. Righetti, E. Rossi, E. Tironi, F. Truc and K. Pilgrim, Engkjer C., Schwartz M., 2018. La

popolazione di lupo sulle Alpi Italiane 2014-2018. Relazione tecnica, Progetto LIFE 12 NAT/IT/00080 WOLFALPS – Azione A4 e D1.

- Marucco, F., 2003. Wolf ecology in the Western Alps: analysis with noninvasive techniques. Tesi di Master. University of Montana, Missoula.
- Mattioli L., Apollonio M., Mazzarone V., Centofanti E., 1995. Wolf food habits and wild ungulate availability in the Foreste Casentinesi National Park, Italy. *Acta Theriologica*, 40 (4): 387-402.
- Mattioli L., Capitani C., Gazzola A., Scandura M., Apollonio M., 2011. Prey selection and dietary response by wolves in a high-density multi-species ungulate community. *Eur J Wildl Res*, DOI: 10.1007/s10344-011-0503-4.
- Mattioli L., Forconi P., Berzi D., Perco F., 2014. Wolf population estimate in Italy and monitoring perspectives. Conference: IX Congresso italiano di Teriologia Civitella Alfedena (AQ), 7-10 maggio 2014. At: *Hystrix the Italian Journal of Mammalogy*, Volume: 25.
- Mech L. D., 1966. The wolves of Isle Royale. U.S. National Park Serv. Fauna Ser. 7, 210.
- Mech L. D., 1970. The wolf. The ecology and behavior of an endangered species. University of Minnesota Press, Minneapolis.
- Mech L. D., 1973. Wolf number in the superior National Forest of Minnesota. USDA Forest service Res. Pap. Nc-97. St. Paul, MN.
- Mech L.D., Boitani L., 2003. Wolves: behavior, ecology, and conservation. University of Chicago Press.
- Meriggi A. and Lovari S., 1996. A review of wolf predation in southern Europe: does the wolf prefer wild prey to livestock? *Journal of Applied Ecology*, 33: 1561-1571.
- Meriggi A., 2001. *Sylvilagus floridanus* (Allen, 1890), *Silvilago*, Minilepre. In: Prigioni C, Cantini M, Zilio A (eds) *Atlante dei mammiferi della Lombardia*. Regione Lombardia e Università degli Studi di Pavia, Milano, pp 144–146.
- Meriggi A., Brangi A., Matteucci C., Sacchi O., 1996. The feeding habits of wolves in relation to large prey availability in northern Italy. *Ecography*, 19: 287-295.
- Meriggi A., Rosa P., Brangi A., Matteucci C., 1991. Habitat use and diet of the wolf in northern Italy. *Acta Theriologica*, 36 (1-2): 141-151.
- Messier F., 1984. Ungulate population models with predators: A case study with the North American moose. *Ecology*, 75(2): 478-488.
- Miller B.J., Harlow H.J., Harlow T.S., Biggins D., Ripple W.J., 2012. Trophic cascades linking wolves (*Canis lupus*), coyotes (*Canis latrans*), and small mammals. *Can. J. Zool.*, 90: 70-78.

- Montana L., Caniglia R., Galaverni M., Fabbri E., Randi E., 2017. A new mitochondrial haplotype confirms the distinctiveness of the Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Mammalian Biology - Zeitschrift für Säugetierkunde*, vol. 84, p. 30.
- Morehouse A., Boyce M. S., 2011. From venison to beef: seasonal changes in wolf diet composition in a livestock grazing landscape. *Frontiers in Ecology and the Environment*, Vol. 9, Issue 8, Pages: 440-445.
- Mori E., Benatti L., Lovari S., Ferretti F., 2016. What does the wild boar mean to the wolf? *Eur J Wildl Res.* DOI: 10.1007/s10344-016-1060-7.
- Muggeo V. M., 2008. "segmented: an R Package to Fit Regression Models with Broken-Line Relationships." *R News*, 8(1), 20–25. <https://cran.r-project.org/doc/Rnews/>.
- Murie A., 1944. The wolves of Mount McKinley. U.S. National Park Service Fauna Series, n. 5. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. Pp. 238.
- Newsome A.E., Catling P.C., Corbett L.K., 1983. The feeding ecology of the dingo II. Dietary and numerical relationships with fluctuating prey populations in south-eastern Australia. *Australian Journal of Ecology* 8: 345–366.
- Newsome T.M., Boitani L., Chapron G., Dickman C.R., Dellinger J.A., Lopez-Bao J.V., Peterson R.O., Wirsing A.J., Ripple W.J., 2016. Food habits of the world's grey wolves. *Mammal Review*. DOI: 10.1111/mam.12067.
- Newson R. M., 1966. Reproduction in the feral coypu (*Myocastor coypus*). In: Rowlands I. W. (ed.), *Comparative biology of reproduction in mammals*. Symp. Zool. Soc. Lond., 15: 323-334.
- Novak R. M., 1999. *Walker's Mammals of the World*, 6th edition, Johns Hopkins University Press.
- Occhipinti S., *Analisi della consistenza numerica e della distribuzione spaziale dei branchi di lupo (Canis lupus) nella provincia di Arezzo*. Tesi di Laurea, Università degli Studi di Milano, anno accademico 2007-2008, Relatore: Vailati Giovanni.
- Palomares F., Delibes M., Beltran J. F., Moreno S., 1994. Winter circadian activity pattern of free-ranging coypus in the Paraná River Delta, eastern Argentina. *Acta Theriologica*, 39(1):83-88.
- Panzacchi M., Bertolino S., Cocchi R., Genovesi P., 2007. Cost/benefit analysis of two opposite approaches to pest species management: permanent control of *Myocastor coypus* in Italy versus eradication in East Anglia (UK). *Wildlife Biology* 13: 159-171.
- Patalano M., Lovari S., 1993. Food habits and trophic niche overlap of the wolf *Canis lupus*, L. 1758 and the red fox *Vulpes vulpes* (L. 1758) in a Mediterranean mountain area. *Rev. Ecol. (Terre Vie)*, vol. 48.

- Peterson R. O., Woolington J. D., Bailey T. N., 1984. Wolves of the Kenai Peninsula, Alaska. Wildlife Monographs 88: 1-52.
- Petrini R. and Venturato E. (a cura di) 2002. Atti del Convegno Nazionale “La gestione delle specie alloctone in Italia: il caso della nutria e del gambero rosso della Louisiana”. Quaderni del Padule di Fucecchio n.2. Centro di Ricerca, Documentazione e Promozione del Padule di Fucecchio.
- Pezzo F., Parigi L., Fico R., 2003. Food habits of wolves in central Italy based on stomach and intestine analyses. Acta theriol., 48(2): 265-270.
- Pilot M. G., Branicki W., Jędrzejewski W. O., Goszczyński J., Jędrzejewska B. A., Dykyy I., Shkvyrya M., Tsingarska E., 2010. Phylogeographic history of grey wolves in Europe. BMC Evolutionary Biology, vol. 10, p. 104.
- Pimlott D. H., Shannon J. A., Kolenosky G.B., 1969. The ecology of the timber wolf in Algonquin Provincial Park. Ontario Dep. Lands and For., Ottawa.
- Potvin F., 1987. Wolf movements and population dynamic in Papineau Labelle reserve, Quebec. Can. J. Zoo. 66: 1266-1276.
- Poulle M. L., Carles L., Lequette B., 1997. Significance of ungulates in the diet of recently settled wolves in the Mercantour mountains (south-eastern France). Rev. Ecol. (Terre Vie) 52: 357-368.
- Prigioni C., Balestrieri A., Remonti L., 2005. Food habits of the coypu, *Myocastor coypus*, and its impact on aquatic vegetation in a freshwater habitat of NW Italy. Folia Zool., 54(3): 269-277.
- QGIS.org, 2021. QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>
- Ragni B., Mariani L., Inverni A., Armetano L., Magrini M., 1985. Il lupo in Umbria. In atti del Convegno Nazionale «Gruppo lupo Italia», Civitella Alfedena, 1-2 Maggio 1982. Camerino.
- Rausch R. A., 1967. Some aspect of the population ecology of wolves, Alaska. Am. Zool. 7: 253-265.
- Reggiani G., Boitani L., De Stefano R., 1995. Populations dynamics and regulation in the coypu *Myocastor coypus* in central Italy. Ecography, 18: 138-146.
- Regine D., 2008. Ecologia alimentare del lupo in sistemi multi-preda: tre anni di studio sulle Alpi Occidentali. Tesi di Laurea. Università degli Studi di Roma “La Sapienza”.
- Reig S., Cuesta L. and Palacios F., 1985. Impact of human activity on the food habits of the red fox and the wolf in Old Castile (Spain). Rer. Ecol. (Terre et Vie) 40: 151-155.

- Reynolds J. C., Aebischer N. J., 1991. Comparison and quantification of carnivore diet by faecal analysis: a critique, with recommendations, based on a study of the Fox *Vulpes vulpes*. Mammal. Rev. 21:97-122.
- Riga F., Cocchi R., 1997. Programma di monitoraggio della composizione della popolazione di nutria *Myocastor coypus* presente nelle valli di Argenta e Marmorta – Provincia di Ferrara. Contratto LIFE B4-3200-94-778. Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica, Consorzio della Bonifica Renana.
- Ripple W.J., Estes J.A., Beschta R.L., Wilmers C.C., Ritchie E.G., Hebblewhite M, Berger J., Elmhagen B., Letnic M., Nelson M.P., Schmitz O.J., Smith D.W., Wallach A.D., Wirsing A.J., 2014. Status and Ecological Effects of the World's Largest Carnivores. Science, 343. DOI: 10.1126/science.1241484.
- Rodrigues N. T., Saranholi B. H., Angeloni T. A., Pasqualotto N., Chiarello A. G., Galetti Jr P. M., 2020. DNA mini-barcoding of leporids using noninvasive fecal DNA samples and its significance for monitoring an invasive species. Ecology and Evolution, Vol.10, Issue 12, 5219-5225.
- Rondinini, C., Battistoni, A., Peronace, V., Teofili, C. (compilatori). 2013. per il volume: Lista Rossa IUCN dei Vertebrati Italiani. Comitato Italiano IUCN e Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, Roma.
- Rothman R. J., Mech L. D. (1979). Scent-marking in lone wolves and newly formed pairs. Animal behaviour 27: 750-760.
- Rutter R. J., Pimlott D. H., 1968. The world of the wolf. Lippincott. J.B. Co., Philadelphia.
- Sambrook J, Russell DW, 2001. Molecular cloning: A laboratory manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, USA 2001; vol. 1–3
- Sand H., Eklund A., Zimmermann B., Wikenros C., Wabakken P., 2016. Prey selection of Scandinavian Wolves: Single Large or Several Small? PLOS ONE, DOI: 10.1371.
- Santini L., 1978. La Nutria (*Myocastor coypus* Molina) allo stato selvatico in Toscana. Frustula entomologica, nuova serie I (XVI):273-288.
- Scaravelli D., 2002. Problema *Myocastor*: considerazioni dell'esperienza ravennate. In: Petrini R., Venturato E. (eds). La gestione delle Specie Alloctone in Italia: il Caso della Nutria e del Gambero Rosso della Louisiana. Fucecchio: Centro di ricerca, documentazione e promozione del Padule di Fucecchio, pp. 25-28.
- Schmid E., 1972. Atlas of animal bones. Elsevier Science Publishing.
- Selva P., Ecologia alimentare del lupo (*Canis lupus*) in Lessinia: un confronto fra transetti e siti di rendezvous. Tesi di Laurea, Università degli studi di Padova, Anno accademico 2017-2018, Relatrice: Guidolin Laura.

- Sheffels T. R., "Status of Nutria (*Myocastor coypus*) Populations in the Pacific Northwest and Development of Associated Control and Management Strategies, with an Emphasis on Metropolitan Habitats" (2013). Dissertations and Theses. Paper 665.
- Shokralla, S.; Hellberg, R.S.; Handy, S.M.; King, I.; Hajibabaei, M. A DNA Mini-barcoding system for authentication of processed fish products. *Sci. Rep.* 2015, 5, 15894.
- Spagnesi M., 2002. *Silvilago, Sylvilagus floridanus*. In: Spagnesi M, De Marinis AM (eds) *Mammiferi d'Italia. Quaderni di Conservazione della Natura*. Ministero Ambiente-Istituto Nazionale della fauna Selvatica, Bologna, pp 144–146
- Tamura K., Stecher G., Kumar S., 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38:3022-3027.
- Thompson D. Q., 1952. Travel, range, and food habits of timber wolves in Wisconsin. *Journal of Mammalogy* 33: 429-442.
- Tinarelli R., 2002. L'impatto della nutria sulle zone umide dell'Emilia Romagna e considerazioni sulle misure di controllo. In: Petrini R., Venturato E. (eds). *La gestione delle Specie Alloctone in Italia: il Caso della Nutria e del Gambero Rosso della Louisiana*. Fucecchio: Centro di ricerca, documentazione e promozione del Padule di Fucecchio, pp. 39-40.
- Tizzani P., Andrade D., Molinar Min A. R., Peano A., Meneguz P. G., 2020. Does the Introduction of Alien Species Represent a Sanitary Threat for Native Species? The Case of the Eastern Cottontail *Sylvilagus floridanus* in Italy. *Life*, 10, 142.
- Tizzani P., Catalano S., Tossi L., Duignan P. J., Meneguz P. G., 2014. Invasive species and their parasites: eastern cottontail rabbit *Sylvilagus floridanus* and *Trichostrongylus affinis* (Graybill, 1924) from Northwestern Italy. *Parasitology Research*, 113:1301–1303.
- Toschi A., 1965. *Fauna d'Italia. Mammalia*. Calderini, Bologna.
- Tosoni, E. 2002. *Il lupo nel Parco Nazionale del Pollino: ecologia, metodi di quantificazione e strategia di campionamento della dieta*. Tesi di Laurea. Università degli studi di Roma "La Sapienza".
- Vidus Rosin A., Gilio N., Meriggi A., 2008. Introduced Lagomorphs as a Threat to "Native" Lagomorphs: The Case of the Eastern Cottontail (*Sylvilagus floridanus*) in Northern Italy. In: Alves, P.C., Ferrand, N., Hackländer, K. (eds) *Lagomorph Biology*. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Vila C., Urios V., Castrojejo J., 1993. Use of faeces for marking in Iberian wolves. *Can. J. Zool.* 72:374-377.
- Vilà M., Basnou C., Pysek P., Josefsson M., Genovesi P., Gollasch S., Nentwig W., Olenin S., Roques A., Roy D., Hulme P. E., 2010. How well do we understand the impacts of alien species

on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in ecology and the environment*, Vol. 8, Issue 3, Pages: 135-144.

- Viviani A., Gazzola A., Scandura M., 2006. Il Lupo: Un predatore sociale ed adattabile, in Marco Apollonio e Luca Mattioli (a cura di), *Il Lupo in provincia di Arezzo*, Montepulciano (SI), Editrice Le Balze, pp. 29-43.
- Voigt D. R., Kolenosky G. B., Pimlott D. H., 1976. Changes in summer foods of wolves in central Ontario. *Journal of Wildlife Management* 40: 658-663.
- Weaver J. L. and Fritts S. H., 1979. Comparison of wolves and coyote scat diameters. *J. Wild. Manage.* 43:786-788.
- Willner G.R., Chapman J.A., Pursley D. 1979. Reproduction, physiological responses, food habitats, and abundance of nutria on Maryland marshes. *Wildlife Monographs* 65: 1-43.
- Wolf Appennine Center, Regione Carabinieri Forestale Emilia-Romagna Gruppo Reggio Emilia in collaborazione con il Servizio Veterinario dell'Azienda Usl di Reggio Emilia, 2021. Buone pratiche per una corretta convivenza con il lupo in aree agricole ed antropizzate.
- Woods C. A., Contreras L., Willner-Chapman G., Whidden H. P., 1992. *Myocastor coypus*. *Mammalian Species*, The American Society of Mammalogist., 398: 1-8.
- Zimen E., 1976. On the regulation of pack size in wolves. *Zeitschrift fur Thierpsychologie* 40: 300-341.
- Zlatanova D., Ahmed A., Valasseva A., Genov P., 2014. Adaptive Diet Strategy of the Wolf (*Canis lupus* L.) in Europe: a Review. *Acta Zoologica Bulgarica*, 66 (4): 439-452.

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio in primis mia madre e mio padre, per avermi trasmesso sin da piccola l'amore e il rispetto per la natura che ci circonda. Li ringrazio per il supporto e l'incoraggiamento a seguire i miei sogni e a non mollare davanti alle difficoltà, a prescindere da ciò che mi riserverà il futuro.

Ringrazio Christian, che mi ha supportata e soprattutto sopportata con amore in questo percorso, anche nei momenti più bui. Grazie per tutto quello che hai fatto e fai per me, per la tua immensa pazienza e per il tuo amore sincero. Sono felice di condividere la mia vita con te.

Ringrazio il Professor Nonnis, che è sempre riuscito, nonostante tutto, a ritagliarsi del tempo per me; il Dottor Ferrari, per la pazienza e le analisi genetiche; il Professor Persico, per le analisi morfologiche, per la sua passione e per avermi citata nel suo libro; il Professor Leonardi, per l'aiuto con la statistica e per la "ramanzina paterna" che mi ha incoraggiata; tutti gli altri professori del mio corso, per avermi insegnato materie importanti.

Ringrazio le ragazze della LIPU: Gigliola e Cecilia, per la fiducia e per avermi passato il testimone in questo progetto, insegnandomi cosa fare. Per tutto il lavoro, l'impegno e l'interesse, grazie.

Ringrazio Aidano Gatti, per la disponibilità, i dati degli abbattimenti e la gentilezza: grazie per non aver sparato a quella nutria quel giorno.

Ringrazio Luigi Molinari, per gli incontri di sensibilizzazione per una corretta convivenza con il lupo; l'educazione è il primo passo verso la conservazione.

Ringrazio i miei amici, che mi sono stati vicini senza saperlo, alleggerendomi l'anima.

Ringrazio i colleghi, per l'amicizia, l'ascolto reciproco e la condivisione delle ansie.

E ringrazio me stessa, per essere arrivata in fondo, nonostante tutto.

"È ciò che fai del dono della vita che stabilisce chi sei."

