Progetto di "Monitoraggio dei Chirotteri, dell'avifauna nidificante e svernante e del lupo nel territorio della Provincia di Pistoia".

RELAZIONE FINALE

ANNO 2014

A cura di: Gianna Dondini e Simone Vergari, Alessio Bartolini, Francesca Ciuti

Progetto realizzato con il contributo della Regione Toscana sul bando 2013 per "Iniziative e attività di monitoraggio faunistico di interesse regionale in materia faunistico-venatoria".

Centro di Ricerca Documentazione e Promozione del Padule di Fucecchio

itinerari

Castanea
Società Cooperativa Agr. For.

Progetto realizzato con il contributo della Regione Toscana sul bando 2013 della Misura C.2.2. Az.a) del Piano Regionale Agricolo Forestale (PRAF) - Sostegno alle attività di valorizzazione dell'ambiente e della fauna di interesse regionale. Azione a) iniziative e attività di monitoraggio faunistico di interesse regionale in materia faunistico-venatoria.

Con il contributo e la partecipazione del Corpo Forestale dello Stato – Ufficio Territoriale Biodiversità di Pistoia, del Comune di Quarrata, del Comune di Sambuca Pistoiese e del Consorzio di Bonifica 3 Medio Valdarno (ex Consorzio di Bonifica Ombrone Pistoiese Bisenzio).

INTRODUZIONE

Le attività di monitoraggio, che hanno interessato i vari ambienti della provincia, sono state svolte dagli esperti del Centro R.D.P. Padule di Fucecchio (ente capofila) per la parte relativa all'avifauna nidificante e svernante; la Società Cooperativa Itinerari si è occupata invece dei Chirotteri e l'Associazione Castanea del lupo.

Sono state analizzate due tipologie ambientali di elevato interesse per gli uccelli, i chirotteri ed il lupo, e che presentano ampia diffusione e diversificazione nel territorio della provincia di Pistoia: le aree umide della "Piana" e della Valdinievole (con alcuni boschi planiziali) e le aree forestali appenniniche.

SOMMARIO

I Chirotteri

1. Introduzione generale 5

2. Monitoraggio chirotterofauna delle Riserve Naturali Statali di Pian degli Ontani, Campolino, Abetone e Acquerino (Pistoia) 15

3. Monitoraggio chirotterofauna del SIC Tre Limentre – Reno (IT5130009) 38

4. Monitoraggio chirotterofauna ANPIL "La Querciola" e "Bosco La Magia" (Quarrata, Pistoia) 43

5. Monitoraggio chirotterofauna SIC Padule di Fucecchio (IT5130007) 59

6. Monitoraggio chirotterofauna dell'ANPIL proposta "Torrente Ombrone P.se" 66

7. Bibliografia consultata 77

L'avifauna nidificante e svernanate

1. Introduzione 82

2. L'avifauna nidificante e svernante nelle Riserve Naturali Statali di Acquerino, Abetone, Pian degli Ontani e Campolino 83

3. L'avifauna nidificante e svernante nel SIC IT5130009 Tre Limentre – Reno 111

4. L'avifauna nidificante e svernante delle ANPIL proposta Torrente Ombrone P.se 121

5. L'avifauna nidificante e svernante nelle ANPIL La Querciola di Quarrata e Bosco di Villa La Magia 130

6. L'avifauna nidificante e svernate nel SIC/ZPS IT5130007 Padule di Fucecchio 145

7. Ringraziamenti 175

8. Bibliografia consultata 175

Il Lupo

1. Introduzione 179
2. Obiettivi 179
3. Area di studio 180
4. Materiali e metodi 181
5. Risultati 192
6. Discussione 202
7. Indicazioni gestionali 203
8. Bibliografia consultata 204

Ente capofila del progetto Centro di Ricerca, Documentazione e Promozione del Padule di Fucecchio Onlus, via Castelmartini 125/a, Larciano (PT), tel. 0573/84540, email fucecchio@zoneumidetoscane.it**, pagine web** www.paduledifucecchio.eu

IL LUPO

A cura di ***Francesca Ciuti***

Società Cooperativa Castanea

Canis Lupus foto di Gavazzi G.L.

1. Introduzione

Nella Provincia di Pistoia il lupo è stato presente quasi sicuramente fino ai primi del Novecento, per essere successivamente considerato estinto come nel resto dell'Appennino settentrionale. I primi segni di ricomparsa si sono verificati all'inizio degli anni '80: nel 1983 tre lupi (1 maschio e 2 femmine) vengono uccisi nel corso di una battuta di caccia nell'alto Appennino pistoiese, sul confine con la provincia di Modena; nel 1984 due femmine vengono rinvenute morte, una investita in località Casotti di Cutigliano e l'altra avvelenata a Lizzano Pistoiese. Dagli anni novanta le segnalazioni di avvistamenti e il ritrovamento di individui morti va via via intensificandosi.

Il 2014 è stato il primo anno di ricerca sulla specie *Canis Lupus* condotto con specifico progetto nella Provincia di Pistoia. Lo *status* conoscitivo parziale ha richiesto un notevole sforzo iniziale di impostazione del programma di monitoraggio ed un elevato impegno da parte degli operatori che ha portato però a importanti risultati.

Riteniamo di estrema rilevanza aver iniziato a colmare il *gap* conoscitivo su questo predatore in un'area della catena appenninica fondamentale per la specie. In un momento storico come questo infatti, nel quale spesso sentiamo parlare dei grandi carnivori per fatti anche gravi, la loro conservazione deve passare innanzitutto dalla ricerca scientifica e da azioni di monitoraggio prolungate nel tempo, che ci diano un quadro il più esaustivo possibile del loro *status*. I grandi carnivori sono utilizzati nelle politiche di conservazione come specie indicatrici, le cosiddette specie "ombrello". Richiedono infatti la presenza di ambienti naturali estesi e complessi, caratterizzati da un'ampia biodiversità di specie preda. La loro conservazione ha quindi una ricaduta positiva su tutta la biodiversità eco-sistemica.

Le implicazioni di carattere sociale ed economico che il ritorno del lupo sul territorio inevitabilmente comporta e l'aumento ancora in corso di consistenza e areale su tutto il territorio appenninico e sulla catena alpina, necessitano quindi di risposte gestionali fondate su dati scientifici consolidati.

2. Obiettivi

Il progetto di monitoraggio del lupo in Provincia di Pistoia ha i seguenti obiettivi:

- Accertare le aree di presenza della specie;
- Accertare la presenza di nuclei riproduttivi;

- Approfondire le conoscenze sulla genetica della popolazione di lupo creando una banca dati digitalizzata contenente i genotipi degli individui presenti sul territorio e consentendo al contempo di accertare eventuali casi di ibridazione con il cane.
- Avviare e standardizzare una serie di attività che dovranno essere ripetute negli anni in modo da poter monitorare la popolazione di lupo a lungo termine nel territorio provinciale.

3. Area di studio

L'area di studio ha compreso le aree forestali appenniniche della Provincia di Pistoia (Foto 1) con particolare riferimento al **SIC Tre Limentre-Reno** (9.360 ettari) e alle **Riserve Naturali Statali** gestite dal CFS (Riserva Naturale Biogenetica di Acquerino, Riserva Naturale Biogenetica di Abetone, Riserva Naturale Orientata di Campolino e Riserva Naturale Biogenetica di Pian degli Ontani, per complessivi 1.515 ettari), (Fig 1). Il lavoro ha necessariamente interessato un'area più ampia rispetto alle aree protette, dati i grandi territori che la specie va ad utilizzare.

Foto 1. Foreste e crinali dell' Appennino Pistoiese (F. Ciuti).

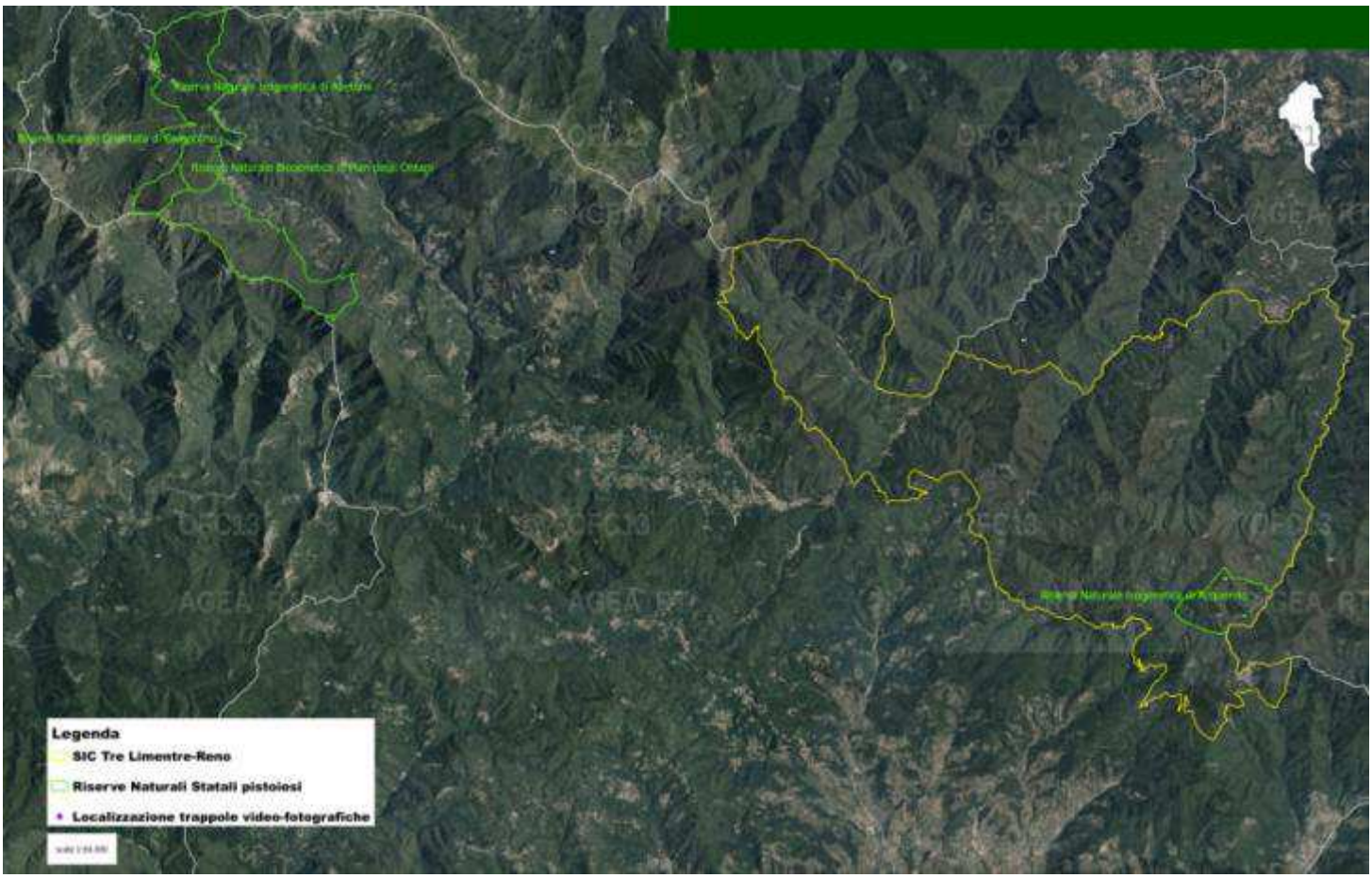

Fig 1. Area di studio del progetto di monitoraggio del lupo nella Provincia di Pistoia.

4. Materiali e metodi

Le metodologie di monitoraggio utilizzate nel presente progetto sono le seguenti:

- Ricerca dei segni di presenza riferibili alla specie
- Foto-videotrappolaggio (*camera trapping*)
- Analisi genetica di campioni non invasivi (escrementi)
- Ululato indotto (*wolf-howling*)

Queste metodologie rientrano nella categoria dei metodi indiretti, che consentono di ottenere informazioni relative alla presenza, distribuzione e abbondanza ricercando i segni specie-specifici di presenza sul territorio, quindi senza interagire direttamente con l'animale.

4.1 Ricerca segni di presenza

I segni di presenza di *Canis lupus* (foto 2) nell'area di indagine sono stati rilevati durante l'effettuazione di specifici transetti per il repertamento delle fatte. Ogni segno di presenza è stato georeferito con GPS e registrato su apposita scheda cartacea. Sono inoltre state registrate su apposita scheda le segnalazioni ritenute attendibili e pervenute da personale d'istituto (agenti del CFS, agenti della Polizia Provinciale) ma anche da persone che a vario titolo sono frequentatrici dei luoghi interessati dalla presenza del lupo (allevatori, cacciatori, cercatori di funghi, escursionisti, appassionati). In molti casi dopo la segnalazione sono stati effettuati sopralluoghi di accertamento.

Per segno di presenza sono stati considerati:

- fatte, impronte e tracce attribuibili alla specie;
- carcasse di animali (sia selvatici che domestici) predati o comunque consumati;
- avvistamenti effettuati da personale direttamente coinvolto nell'attività di monitoraggio o comunque considerata attendibile;
- vocalizzazioni

a)

b)

c)

Foto 2. Segni di presenza di *Canis lupus* (F. Ciuti): a) escremento b) resti di pasto avvenuto su cinghiale c) pista su neve.

4.2 Foto-videotrappolaggio (*camera trapping*)

Le trappole video-fotografiche sono stazioni automatizzate costituite da una fotocamera attivata da un sensore di movimento ad infrarossi passivi (PIR) che rileva le radiazioni ad infrarossi emesse da un soggetto che si muove in una determinata area. I sensori passivi, di più recente introduzione e diffusione, basano il loro funzionamento sul rilevamento termico dello spazio inquadrato: appena viene rilevata una differenza di temperatura nell'area, un sensore sensibile ai raggi infrarossi, fa scattare la fotocamera.

È una tecnica che ha vantaggi sia applicativi che di impatto sugli animali. Può essere applicata infatti su grandi aree con poco personale, lavorando anche in condizioni proibitive per l'uomo, permette una più precisa identificazione delle specie, fornisce informazioni temporali di notevole importanza come il giorno, l'ora di scatto e la direzione di spostamento dell'animale per ogni immagine o video prodotti. Inoltre non è invasiva e implica il minimo disturbo ambientale.

Le difficoltà legate al fototrappolaggio sono rappresentate in generale da alcuni problemi pratici nell'uso di questi strumenti: il malfunzionamento dell'attrezzatura, come ad esempio il precoce esaurimento delle batterie o della scheda di memoria, può vanificare una sessione di ricerca. Allo stesso modo un posizionamento e/o un'inclinazione errata della macchina possono compromettere i risultati. Un altro problema da tenere in considerazione è rappresentato dal rischio di furto o comunque di danneggiamento, soprattutto in zone piuttosto frequentate da persone.

Il dispositivo utilizzato, la foto-videotrappola BS513BF (foto 3), è dotato di un sensore di movimento molto sensibile ad infrarossi passivo (PIR) e può essere impostata sia sulla modalità foto che video (10 - 20 o 30 sec). Ha un illuminatore ad infrarossi integrato con LED neri black flash, che funziona da flash invisibile in modo da effettuare foto o video B/N chiare e nitide (anche di notte fonda) e da riprendere a colori alla luce del giorno. Inoltre ha un registratore audio integrato.

Foto 3. Foto-videotrappola BS513BF installata per monitoraggio lupo in provincia di Pistoia (F. Ciuti).

La strumentazione, per un totale di 10 apparecchi, è stata disposta con approccio opportunista in punti di marcatura, lungo passaggi obbligati, su animali predati, su strade sterrate e piste forestali.

Il protocollo ha previsto il posizionamento della foto-videotrappola e nuovo sopralluogo dopo 15 giorni per il cambio della scheda di memoria (scheda SD) e la sostituzione delle batterie (8 pile stilo ricaricabili da 1,5 V per strumento). La strumentazione è stata utilizzata per aree. La collocazione delle foto-videotrappole (Fig. 2) e quindi il luogo di eventuali "catture" sono state georeferenziate tramite l'utilizzo di apparecchiatura Global Position System Garmin Oregon 550. Le informazioni raccolte (specie, data e ora di rilevamento, comportamento, ecc.) sono state archiviate in uno specifico data base. In tutta l'area di monitoraggio gli strumenti sono stati sistemati su 27 punti diversi, ad un'altezza dal terreno tra 30 cm e 2 metri, con angolazione variabile rispetto alla traiettoria degli animali (Forconi et al. 2009).

Nella fase di analisi dei dati, un evento è inteso come il passaggio di un animale (o gruppo di animali) davanti alla fototrappola. Animali della stessa specie fotografati più volte nella stessa stazione in scatti successivi sono considerati come un unico evento.

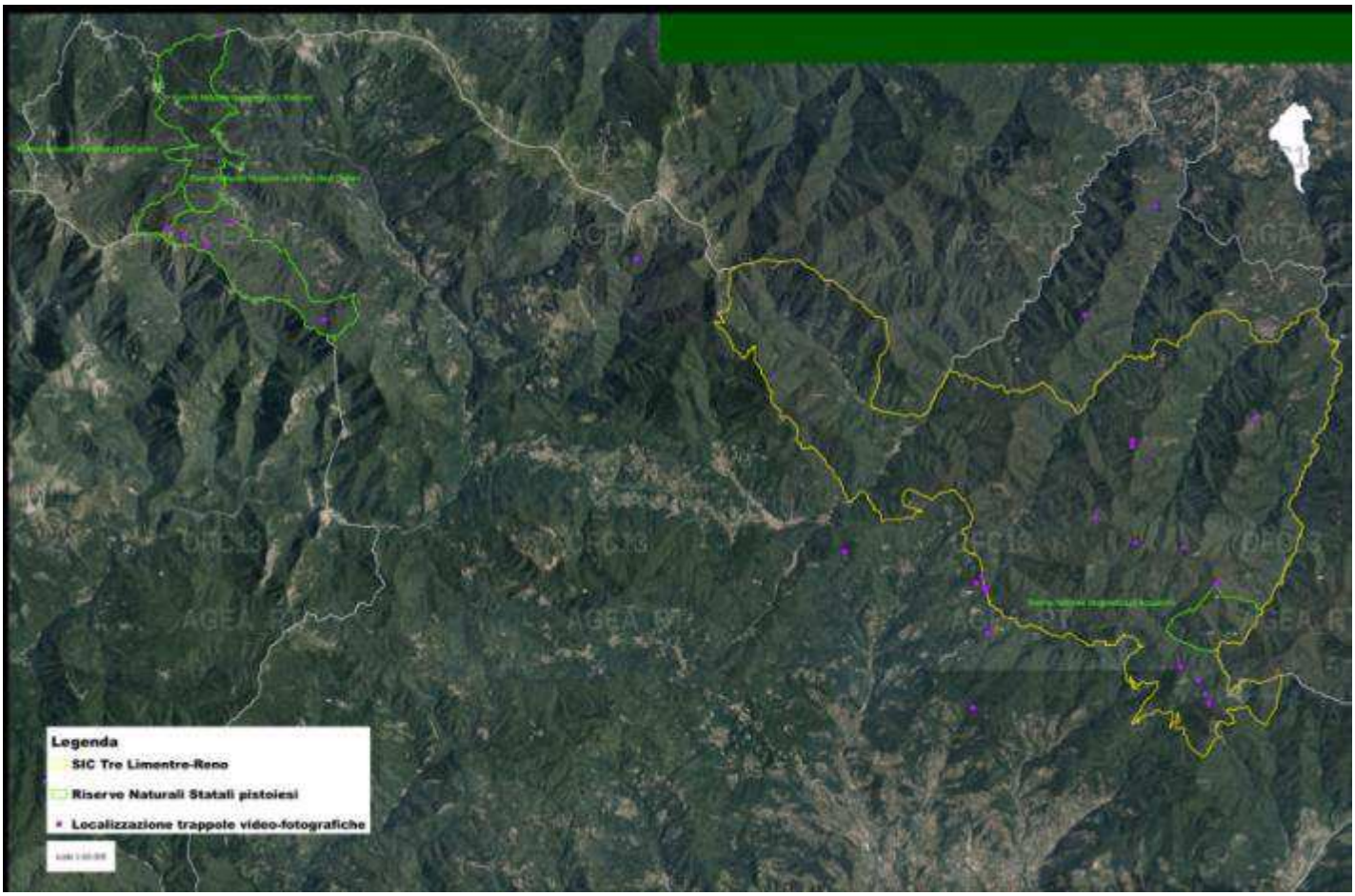

Fig. 2 Localizzazione della strumentazione utilizzata per la camera trapping.

I risultati attesi dall'utilizzo del metodo sono:

- accertamento della presenza/assenza della specie;
- individuazione dei branchi;
- stima del numero minimo di individui presenti nell'area di studio;
- verifica di anomalie fenotipiche (presenza di ibridi);
- accertamento di avvenuta riproduzione (presenza di cuccioli) e quindi accertamento della presenza di un "territorio";
- verifica di particolari condizioni fisiche (gravidanza, stato di salute …);

4.3 Analisi genetica di campioni non invasivi

Nelle feci è possibile estrarre DNA di lupo in quanto sono presenti le cellule di sfaldamento dell'epitelio intestinale e per questo l'analisi dello stesso DNA consente di ottenere l'identificazione del genotipo di ogni individuo campionato (DNA *fingerprinting*), del sesso e della specie (lupo, cane o eventuale ibrido lupo x cane). In questo modo viene creta una banca dati digitalizzata contenente i genotipi degli individui presenti sul territorio, consentendo al contempo di accertare eventuali casi di ibridazione con il cane e di ottenere stime della dimensione della popolazione. Ogni campione non-invasivo è stato georeferenziato, localizzando così gli individui presenti sul territorio nello spazio e nel tempo e fornendo dati su spostamenti di ogni singolo individuo che venga ricampionato, turnover della popolazione, dispersione giovanile.

Raccolta campioni fecali

L'identificazione genetica è stata effettuata su campioni fecali raccolti sul campo con le seguenti modalità:

- durante transetti appositamente percorsi (Fig. 3)
- raccolti casualmente sul territorio (vicino resti di pasto, su segnalazione di personale esterno)
- visitando periodicamente i siti di marcatura che nel tempo vengono localizzati, georeferenziati ed inseriti in un database implementabile e aggiornato costantemente nel tempo.

In questo primo anno di indagine sono stati individuati 16 percorsi standardizzati con lunghezze tra 1,6 e 13 km, per un totale di 96,4 km, scelti in modo da coprire nel modo più uniforme possibile l'area di indagine. I punti di marcatura individuati sono stati tutti georeferenziati con GPS. I transetti sono stati percorsi con cadenza stagionale ed ogni fatta attribuibile al lupo è stata georefita e solo in alcuni casi campionata, come di seguito specificato.

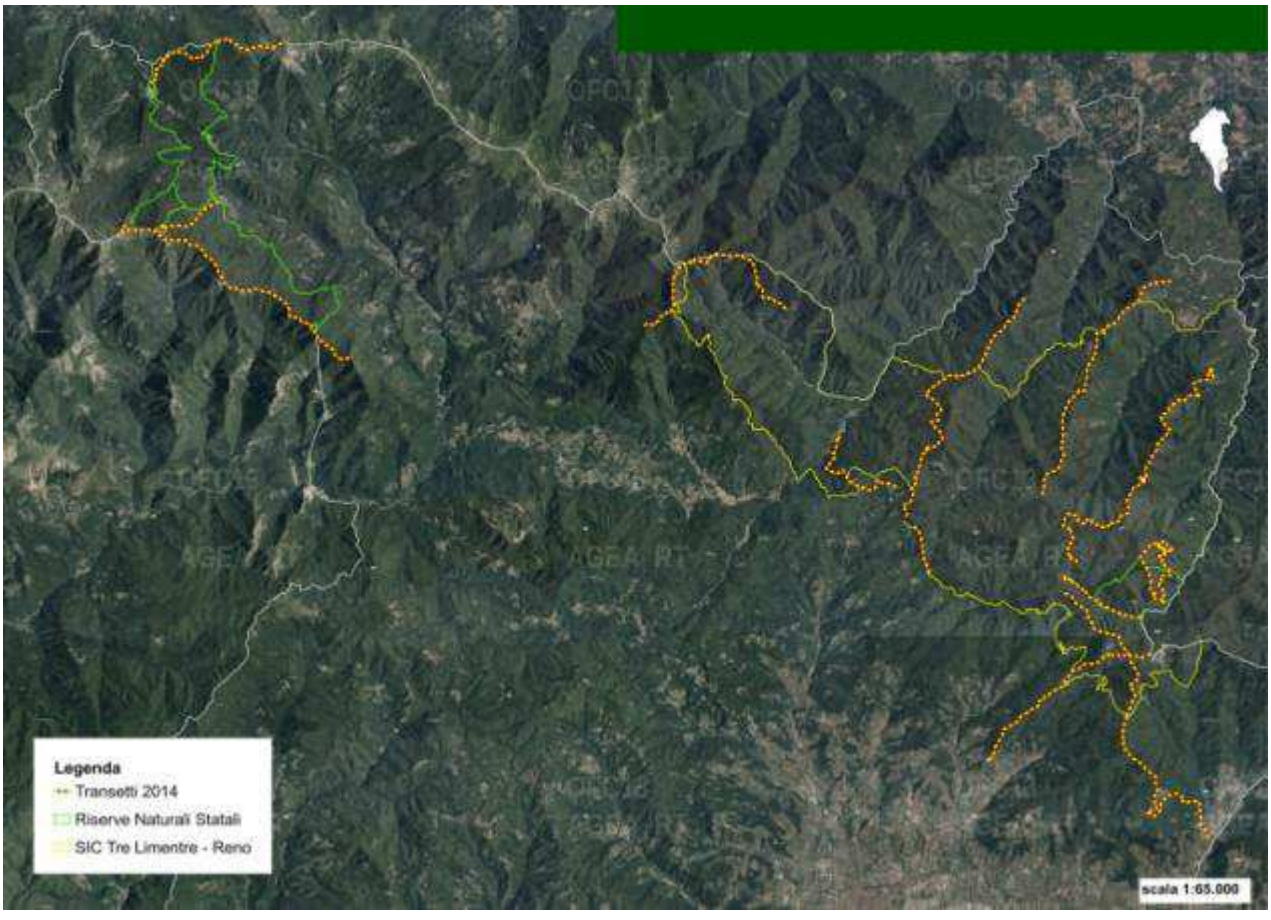

Fig. 3 Visualizzazione dei transetti per la ricerca dei campioni non invasivi.

Il campionamento degli escrementi ha seguito un protocollo ben preciso per ridurre al minimo la possibilità di inquinamento genetico del campione stesso evitando la contaminazione tra campioni diversi e al contempo massimizzare la restituzione di risultati da parte del laboratorio di analisi: per questo motivo la strumentazione necessaria per la raccolta è stata sterilizzata ogni volta e sono stati utilizzati guanti in lattice monouso (Foto 4).

Foto 4. *Raccolta campioni fecali per analisi genetica (A.S. Fappiano).*

Con GPS è stato preso il punto di campionamento ed è stata inoltre compilata un'apposita scheda cartacea contenente i seguenti dati:

- Rilevatore/i
- Data
- Località
- n° *Way Point*
- Codice identificativo (annotato anche sull'etichetta del contenitore)
- Stima di deposizione (di giornata, più o meno di una settimana);

- Tipologia del sito di marcatura (abituale, probabile, casuale);

- Tipologia di ritrovamento (transetto, casuale, vicino a resti di pasto, in sito di *rendez vous*)

- Tipologia di habitat del ritrovamento (foresta, zona aperta, ecc.);

- Caratteristiche del luogo di ritrovamento (strada, incrocio, crinale, ecc.);

- Substrato (prato, foglie, terra, neve, ecc.);

- Dimensioni della fatta (diametro e lunghezza in cm);

- Stima delle proporzioni di composizione della fatta in peli (annotando la specie preda supposta), ossa e materiale amorfo;

- Presenza di eventuali parassiti

- Presenza di altre marcature

Metodologia di raccolta

Per eseguire la raccolta, dalle fatte stimate vecchie meno di una settimana e quindi potenzialmente contenenti frammenti di DNA analizzabili, è stato preso un campione preferibilmente ricoperto da muco (sostanza prodotta dalla ghiandola anale dell'animale essenziale per l'analisi genetica) ed è stato messo in un contenitore di plexiglass (25 ml) in etanolo al 95% , per conservare eventuali cellule epiteliali. È stata comunque rispettata la proporzione di 1 parte di campione 2/3 parti di etanolo.

Stoccaggio e conservazione

Nel caso in cui campioni siano stati raccolti da personale esterno e messi in sacchetti di plastica sterili, sono stati consegnati nel più breve tempo possibile al referente del progetto e, in attesa, conservati in freezer. I campioni conservati in etanolo sono stati refrigerati e mantenuti al buio. Ogni campione è stato corredato di etichetta con codice identificativo riportato anche su relativa scheda cartacea compilata al momento del campionamento.

Analisi genetica (dottor Alberto Santini, NGB Genetics)

Le successive analisi genetiche sono state effettuate dal laboratorio **NGB Genetics s.r.l**., Spin-Off dell'Università di Ferrara con sede a Bologna.

Per le analisi di laboratorio sono state applicate le raccomandazioni per le analisi forensi e non-invasive nel settore animale suggerite da Budowle et al. (2005) allo scopo di garantire la massima qualità e affidabilità del dato genetico.

- **Estrazione e quantificazione del DNA**

Il DNA è stato purificato dai campioni di feci mediante il metodo di Gerloff et al. (1995). Per normalizzare la concentrazione del DNA di tutti gli estratti si è proceduto alla quantificazione del DNA genomico utilizzando il marcatore PicoGreen (Applied Biosystem) ed un termociclatore "Real Time" con una curva standard di riferimento. Sulla base dei risultati della quantificazione si è proceduto ad una serie di diluzioni per rendere omogenee le concentrazioni tra i campioni.

- **Amplificazione dei microsatelliti**

Per l'identificazione dell'individuo e della specie di appartenenza dei campioni, il DNA estratto è stato amplificato mediante PCR per sette loci autosomici microsatelliti, di cui 4 tetranucleotidici (FH2088, FH2096, FH2137, FH2004: Francisco et al. 1996) e 3 dinucleotidici (u250: Friedholm & Wintero 1995; CPH2, CPH8: Ostrander et al. 1993). Per ogni campione è stato inoltre determinato il sesso dell'esemplare mediante l'analisi del gene dell'Amelogenina, un marcatore localizzato nei cromosomi sessuali.

- **Stima del genotipo di consenso e affidabilità del genotipo**

Per ogni campione non-invasivo sono state effettuate tre repliche di amplificazione per ciascun marcatore analizzato (multiple tube approach; Taberlet et. al. 1996) allo scopo di confermare il risultato genetico.

Per ogni campione che ha dato esito positivo alle analisi è stato ottenuto, utilizzando il software GIMLET v1.33 (Valiere 2002), il genotipo di consenso delle tre repliche.

- **Assegnazione dei genotipi alla specie e confronto tra i genotipi ottenuti**

Ogni genotipo individuale ottenuto è stato assegnato alla popolazione di lupo italiano o di cane domestico mediante analisi statistica Bayesiana utilizzando il software STRUCTURE (Pritchard et al. 2000).

L'assegnazione è stata effettuata mettendo a confronto i genotipi con un campione della popolazione italiana di lupo, un campionamento di razze canine e un gruppo di esemplari ibridi tra lupo italiano e cane, allo scopo di valutare la presenza di eventuali tracce di ibridazione tra lupo e cane (Randi & Lucchini 2002; Anderson et al. 2002; Vilà et al. 2003).

Tutti i genotipi ottenuti sono stati confrontati tra di loro per rilevare eventuali ricampionamenti degli stessi soggetti utilizzando il software GIMLET v1.33 (Valiere 2002).

4.4 Ululato indotto (*wolf-howling*)

Il *wolf-howling* o tecnica dell'ululato indotto consiste nell'emissione, da punti acusticamente favorevoli (Foto 5), di ululati pre-registrati che stimolano la risposta vocale nei lupi, qualora presenti nell'area investigata (Ciucci et al., 1998). Questa tecnica viene spesso utilizzata nel periodo estivo-autunnale (tra giugno e settembre), in orario crepuscolare e notturno, per accertare la presenza e l'avvenuta riproduzione di un branco di lupi (grazie al fatto che le voci dei cuccioli sono distinguibili da quelle degli adulti). Tenuto conto che i cuccioli ancorano il branco in

una determinata e ristretta area (*rendez vous sites*) durante il periodo dello svezzamento (da giugno a settembre), conoscere la loro localizzazione significa conoscere la posizione di un nucleo di esemplari che lì rimarrà fino al completo svezzamento.

Foto 5. Sessione di monitoraggio con wolf-howling sull'Appennino-Pistoiese, 2014 (G.L.Gavazzi).

Per le sessioni di *wolf-howling* è stata utilizzata una strumentazione costituita da un lettore mp3 per l'emissione, contenente una o più registrazioni di ululati di branco (con individui alfa, *helper* ed eventualmente cuccioli) collegato ad un amplificatore e ad un altoparlante a megafono.

Le operazioni di *wolf-howling* sono state eseguite dopo le 20.00 (comunque immediatamente dopo il tramonto) fino alle prime ore del mattino in funzione dei percorsi effettuati e solo se le condizioni meteorologiche erano ottimali (assenza di precipitazioni e vento con velocità inferiore ai 12 Km/h) per minimizzare i disturbi acustici (rumore di fondo). È sempre stato organizzato un solo gruppo di operatori con funzione sia di emissione che di ascolto. Anche in questo caso è stato seguito un protocollo ben preciso (adottato dal Parco Nazionale dell'Appennino Tosco-emiliano), utilizzando la registrazione di ululati di lupo appenninico (P.Ciucci) e di seguito riportato:

- Raggiungimento del punto di emissione con la massima discrezione, osservando precauzionalmente 10 minuti di silenzio una volta sul punto stesso, prima dell'emissione;
- Emissione, da ciascun punto, di 3 *trial* (singole emissioni) consecutivi a volume crescente per non inibire eventuali lupi vicini, intervallati da circa 1 minuto di silenzio;
- Cronometraggio del tempo tra un *trial* ed il successivo per registrare l'intervallo trascorso dalla fine dell'n trial e l'eventuale risposta;
- In caso di risposta positiva se l'emissione del richiamo registrato è ancora in corso interrompere l'emissione e rimanere in ascolto per stimare il numero degli esemplari che rispondono e la direzione di provenienza degli ululati. Aspettare almeno 30-40 minuti prima di emettere nuovamente il richiamo in quella stazione, per localizzare il *rendez vous*;
- Osservanza di 15 minuti di silenzio al termine del terzo trial;
- Percorrenza di ogni circuito per almeno 2 repliche stagionali

Ogni sessione ha previsto la compilazione di apposita scheda in cui sono stati indicati la posizione degli operatori (rilevata con GPS) e l'orario esatto e direzione rispetto al Nord della eventuale risposta; inoltre è stata annotata una stima minima del numero di individui del branco, la presenza/assenza di cuccioli e la durata della risposta.

Data l'estensione dell'area da monitorare il metodo è stato applicato in modo semiopportunistico tramite sessioni effettuate nelle aree in cui la presenza del lupo era stata precedentemente osservata con una certa continuità (soprattutto dai dati del fototrappolaggio). Ad un primo studio teorico per la scelta dei punti di emissione eseguito a tavolino tramite l'utilizzo di GIS (QGIS 2.4.0) e assumendo che la capacità umana di sentire gli ululati sia di 1,5 Km, come si evince dalla letteratura sull'argomento, è seguita una fase di campo per valutare se i punti precedentemente scelti fossero acusticamente favorevoli e facilmente raggiungibili.

Nel 2014 sono stati individuati e utilizzati 30 punti di emissione (Fig. 4), alcuni dei quali con valenza "doppia" (punti che sul crinale possono essere utilizzati su due versanti diversi direzionando il megafono opportunamente) e uno fuori Regione in area di confine.

I limiti del metodo sono che non si ha la certezza di una risposta da parte di tutti i branchi dell'area di studio, della presenza di tutti gli individui del singolo branco al momento della risposta e che gli individui solitari (giovani in dispersione) possono non rispondere all'emissione di un ululato di branco.

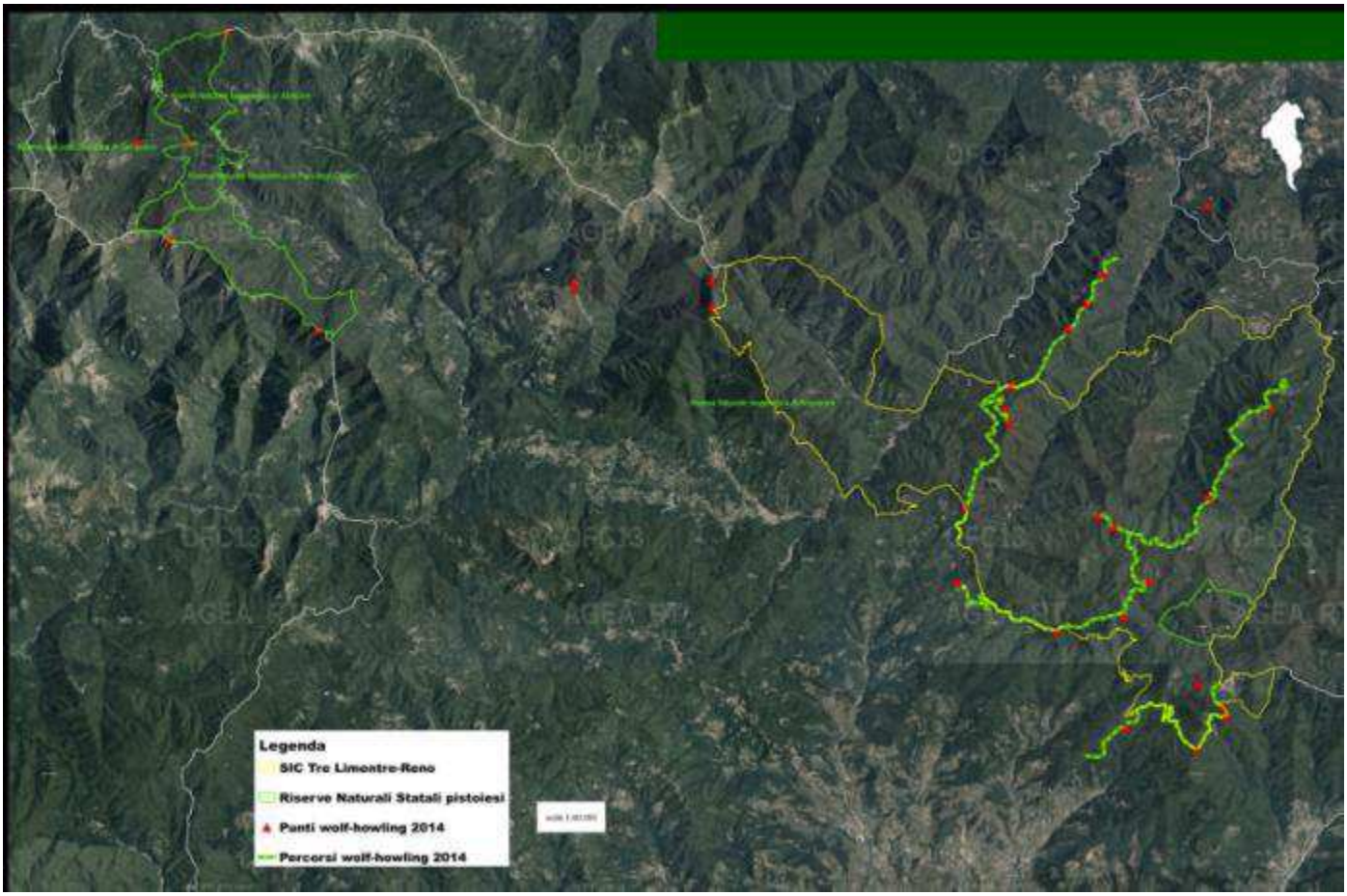

Fig. 4. Collocazione dei punti di emissione utilizzati nelle sessioni di wolf-howling.

5. Risultati

5.1 Segni di presenza

All'interno dell'area di studio e in zone limitrofe la presenza della specie è stata accertata e documentata dal rinvenimento di vari segni di presenza (Tab 1). Durante le perlustrazioni effettuate sui 16 transetti (vedi materiali e metodi) sono stati rinvenuti 65 escrementi attribuibili a *Canis lupus.* Solo in alcuni casi (vedi più avanti) è avvenuto il campionamento per l'analisi genetica. Inoltre sono state rinvenute 3 marcature di urina su neve (foto 5) e 4 piste su neve riconducibili con buona probabilità a lupo perché in tutti i casi si trattava di singole linee di impronte, con sovrapposizione del piede posteriore e anteriore tipica della specie. Le varie impronte singole non sono mai state schedate per l'incertezza nell'attribuzione tra lupo e cane. Sono inoltre stati fatti 18 sopralluoghi su carcasse di animali predati/consumati (foto 6 e 7): 6 domestici e 12 selvatici (8 cervi, 2 daini, 1 capriolo e 1 cinghiale). Tutti i segni di presenza, come già specificato, sono stati georeferenziati e questo ci permette di definire l'areale di presenza della specie, soprattutto per quanto riguarda le aree più "sensibili" cioè quelle antropizzate o vicine a centri abitati e città.

Segni di presenza	**N°**
Escrementi	**65**
Marcature urina	**3**
Piste neve/fango	**4**
Predazioni/resti di pasto	**18**
Peli	**1**
Carcasse	**1**

Tab 1. Segni di presenza di Canis lupus rinvenuti nell'area di studio.

Foto 5. Pista su neve di più individui e marcatura di urina (F. Ciuti).

Foto 6. Carcassa di daino palancone predata e consumata da lupo, Valle dell'Orsigna (L. Ferretti).

Foto 7. Carcassa di pecora massese consumata da lupo, Acquerino Pistoiese (F. Ciuti).

Nel Gennaio 2014 è stata inoltre rinvenuta da parte del Corpo Forestale la carcassa di una femmina di lupo nella Foresta di Acquerino pistoiese, morfologicamente attribuibile alla specie, di circa 7 mesi (foto 8). La carcassa, recuperata dal gruppo di ricerca e dal CFS, è stata in seguito inviata dal Corpo di Polizia Provinciale allo Zooprofilattico della Toscana e del Lazio per l'accertamento della causa di morte. Il referto medico-veterinario, a

seguito dei risultati dell'analisi del contenuto stomacale, attestando l'ingestione di fosfuro di zinco ci conferma l'avvelenamento dell'animale.

Foto 8. Carcassa di lupo rinvenuto morto in Acquerino dal CFS (F. Ciuti).

5.2 Foto-viedeo trappolaggio (*Camera trapping*)

I risultati ottenuti da questa metodologia hanno contribuito a definire l'area di presenza del lupo nella Provincia di Pistoia. Dalle 27 postazioni utilizzate abbiamo ottenuto "catture" (almeno uno scatto sulla specie lupo) in 13 casi e nessuna "cattura" in 14. In totale sono state effettuate 76 catture, filmando da 1 a 6 individui nello stesso filmato o in filmati scattati in sequenza. In uno dei filmati più belli (60 secondi) vediamo un branco di 6 individui sfilare davanti alla foto trappola. Le trappole fotografiche hanno quindi permesso di accertare la presenza di alcuni nuclei familiari distinti (foto 9) e di iniziare a delimitarne il territorio. Altri filmati (foto 10 e 11) hanno permesso di accertare la presenza di cuccioli in due aree di *rendez vous* differenti (3 e 2 cuccioli), consentendo in questo caso di documentare l'avvenuta riproduzione di due branchi distinti. Le riprese di un grosso maschio con collo possente, processo zigomatico molto sviluppato e tipicamente dominante (foto 12), hanno portato a considerarlo come lupo *alpha* di uno dei due branchi sopra citati. È stata inoltre filmata una femmina gravida all'interno di un branco di altri 3 individui (foto 13).

I filmati sono stati effettuati sia in orario notturno che diurno.

Foto 9. Ripresa di un branco di 4 individui (nell'immagine visibili solo 3) ripreso nella Riserva Statale di Acquerino (F. Ciuti).

Foto 10. Cuccioli "catturati" con video-fototrappola nel SIC Tre Limentre-Reno (F. Ciuti).

Foto 11. Cuccioli "catturati" con video-fototrappola nell'Oasi Dynamo (G.L.. Gavazzi).

Foto 12. Ripresa di un maschio dominante effettuata nel SIC Tre Limentre-Reno (F. Ciuti).

Foto 13. Ripresa di una femmina gravida nel SIC Tre Limentre-Reno (F. Ciuti).

Dai risultati ottenuti con questa metodologia una sola cattura fotografica ha posto qualche dubbio, a livello fenotipico, sulla eventuale purezza del soggetto ripreso (Foto 14), per la presenza di zampe di una colorazione atipica (troppo chiari).

Foto 14. Ripresa di un individuo con colorazione atipica delle zampe, Acquerino pistoiese (F.Ciuti).

5.3 Ululato indotto (*wolf howling*)

Con questa tecnica è stato possibile individuare alcuni branchi che si sono riprodotti accertando la presenza di cuccioli che hanno risposto positivamente all'emissione. Come visibile nella carta sotto riportata (Fig. 5) sono state individuate 3 cucciolate mentre in altri casi abbiamo avuto la risposta di singoli individui.

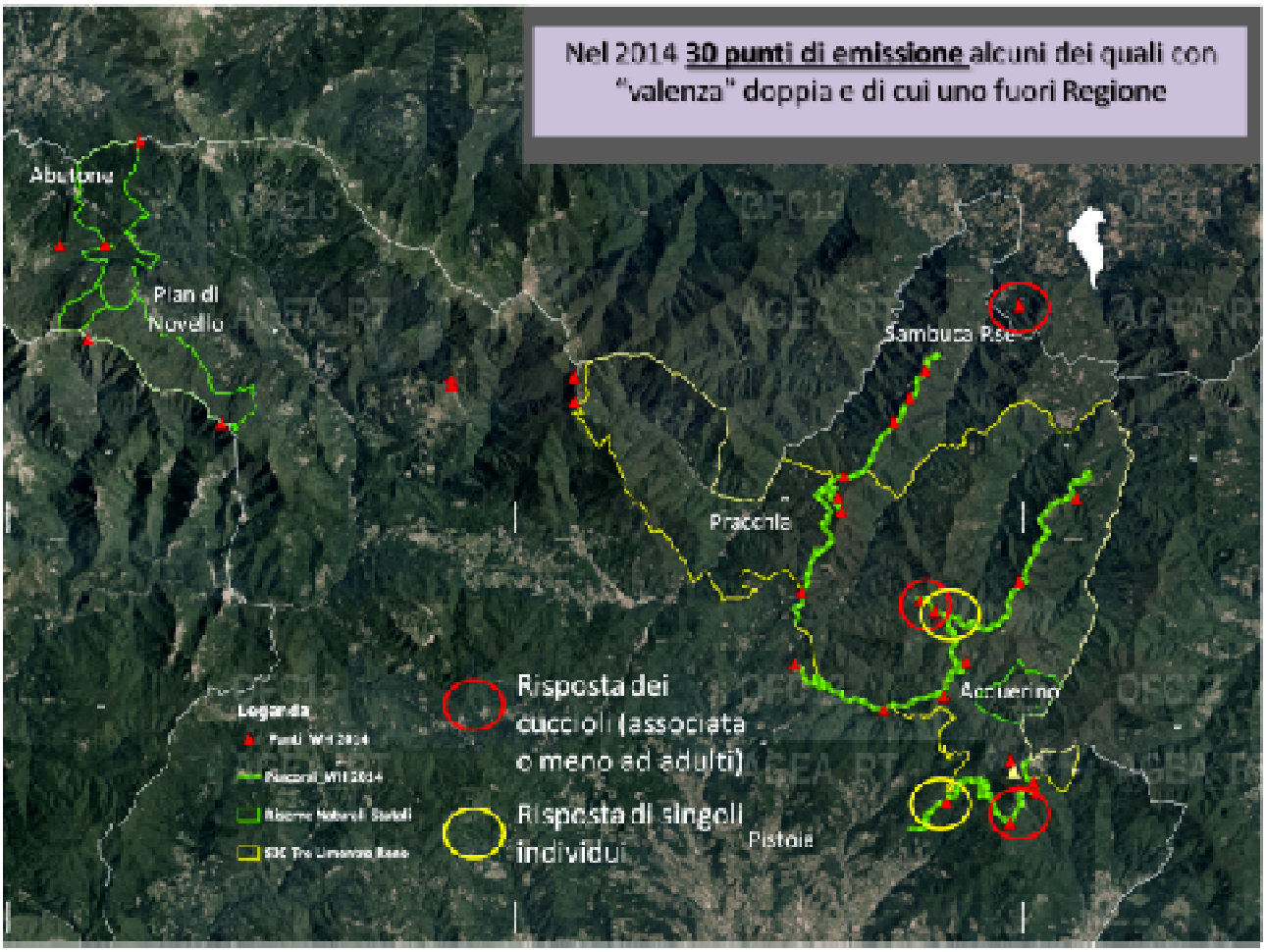

Fig 5. Punti di emissione e risposte di cuccioli (associate o meno ad adulti) e di singoli individui.

5.4 Analisi genetica di campioni non invasivi (dottor Alberto Santini, NGB genetics)

Da tutti i 10 campioni fecali analizzati (PT0114 - PT1-7, PTEX01, PTEX02, PTEX03) è stato possibile ottenere DNA analizzabile. Il campione N. 5 ha mostrato una resa di amplificazione (resa in PCR minore del 50%) ed è stato escluso dalle successive analisi statistiche. Dai 9 campioni fecali di buona qualità sono stati ottenuti 9 genotipi consenso. Ogni genotipo consenso a 7 loci è stato identificato con una lettera progressiva.

Da tutti i campioni sono stati identificati complessivamente 9 genotipi unici, **8 riferibili al genere *Canis*** e uno di presunta **volpe** (campione N. 6) presumibilmente dovuto ad un errore nell'attività di raccolta sul campo dei campioni.

E' stato campionato **un cane di sesso maschile** (campione n. 4) e **sette esemplari riferibili alla popolazione italiana di lupo, 3 maschi e 4 femmine** (Q value del software STRUCTURE > 98,2, media dell'assegnazione del cluster di riferimento). Nessun individuo è stato ricampionato.

5.5 Valutazione integrata dati fototrappolaggio e wolf-howling

I dati derivanti da queste due metodologie sono stati valutati complessivamente e in modo integrato per arrivare a stabilire in primo luogo la presenza di *Canis lupus* nell'area oggetto di indagine e accertare alcuni nuclei stabili e riproduttivi. In tabella 2 i risultati di questa analisi che ha portato ad individuare nel primo anno di monitoraggio **5 branchi presenti nell'area di studio e in zone limitrofe**. Il **sesto branco** (Pian degli Ontani) deriva dal confronto con i dati ottenuti e gentilmente condivisi del dottor Duccio Berzi. Questo nucleo occupa un territorio a cavallo del crinale che divide la Provincia di Pistoia e quella di Lucca e che interessa sicuramente anche le Riserve Statali di Abetone, Pian degli Ontani e Campolino.

In cartografia la localizzazione dei branchi individuati nel 2014 e riportati nella tabella 2:

ID branco	Nome di riferimento	Provincia	Comune	N° certo individui	Riproduzione certa	Metodologia accertamento	Ibridi
1	Pozzo del Bagno	PT	Pistoia, Montale, Sambuca P.se	3+cuccioli (forse 3)	Si	Wolf-howling	no
2	Posola	PT	Sambuca P.se	4+cuccioli (3)	Si	Fototrappolaggio	no
3	Bolago	PT	Pistoia, Sambuca P.se	4+cuccioli (?)	Si	Wolf-howling	no
4	Campisseri-Treppio	BO-PT	Castel di Casio, Sambuca P.se	4+cuccioli	Si	Wolf-howling Fototrappolaggio	no
5	Oasi Dynamo	PT	San Marcello	2+cuccioli (2)	Si	Fototrappolaggio	no
6	Pian degli Ontani	PT-LU	Cutigliano	3	No	Segnalazione attendibile	?

Tab 2. Nuclei riproduttivi (branchi) accertati in Provincia di Pistoia.

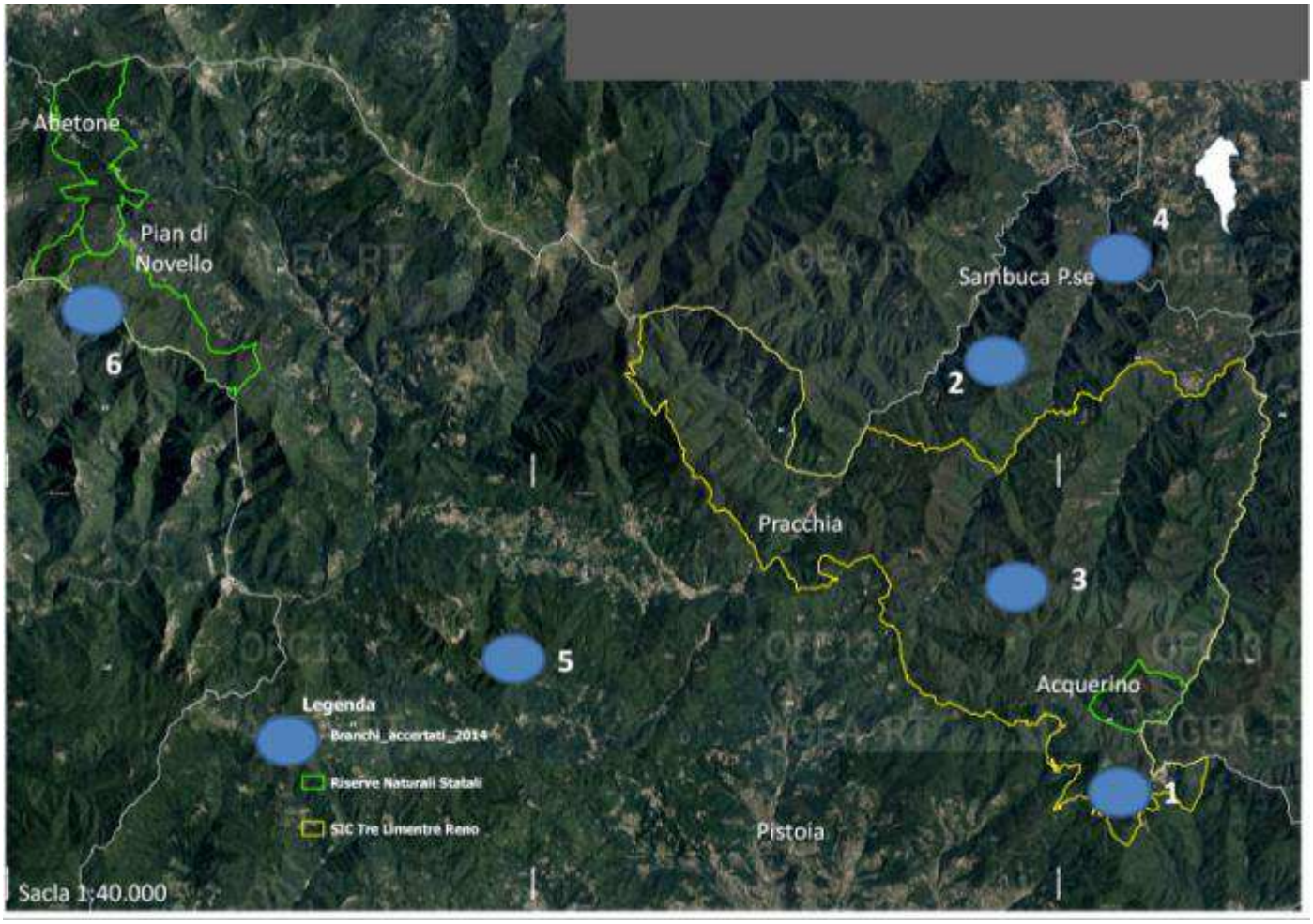

Fig 6. Localizzazione dei branchi individuati nel 2014 in Provincia di Pistoia e riportatinela tabella precedente.

6. Discussione

La morfologia del territorio, l'abbondanza di prede selvatiche, la copertura forestale e la bassa densità abitativa che caratterizza in parte il territorio pistoiese, rendono questa Provincia un'area particolarmente *vocata* alla presenza del lupo. Con molta probabilità la prosecuzione del monitoraggio nei prossimi anni porterà all'individuazione di nuovi branchi oltre ai sei già localizzati, soprattutto in quelle aree ancora poco o solo in parte indagate (parte appenninica tra la Valle dell'Orsigna e Abetone, fascia collinare pistoiese, Valdinievole). Possiamo con certezza dire quindi che quanto ottenuto in questo primo anno di monitoraggio sia una sottostima della reale consistenza della popolazione effettivamente presente. Precisiamo però che alcuni branchi, trovandosi a cavallo di confini provinciali ed anche regionali vanno ad interessare sicuramente un territorio più ampio rispetto a quello provinciale. Abbiamo sicuramente un nucleo "condiviso" con la Regione Emilia Romagna, uno con la Provincia di Prato e uno con la Provincia di Lucca.

Per quanto riguarda il fenomeno degli **ibridi**, considerato attualmente una delle minacce più serie per la conservazione della specie, nel presente studio non è stato individuato alcun individuo con anomalie fenotipiche tali da aver suscitato forti dubbi. Anche dai risultati della genetica non risulta alcun ibrido, anche se l'esiguo numero di campione rende per ora il risultato poco significativo. Dobbiamo considerare infatti che dalla metà degli anni '90 nell'Appennino Tosco-Emiliano sono documentati esemplari melanici. Alcuni esemplari con caratteristiche fenotipiche atipiche sono inoltre documentati dal 2011 attraverso trappolaggio video-fotografico

nella Riserva dell'Acquerino Cantagallo (provincia di Prato). Da uno studio più approfondito ed effettuato nel tempo con continuità potrebbe emergere una situazione in parte diversa.

7. Indicazioni gestionali

L'esistenza di una rete di aree protette (SIC e Riserve Naturali Statali) con caratteristiche ecologiche tali da garantire nel tempo la sopravvivenza di branchi (grazie all'abbondanza di prede e di aree indisturbate adatte al periodo riproduttivo e di cura della prole) che non dipendano dalla presenza di attività zootecniche tradizionali, risultano fondamentali nella conservazione della popolazione di lupo stessa. Il predatore ha esteso infatti ormai il proprio areale fino alle zone collinari molto antropizzate e caratterizzate da un più elevato fattore di rischio. Per questo indichiamo come priorità, dalle molteplici positive ricadute sul territorio, il ripristino di *habitat* idonei agli ungulati nelle aree montane e alto-collinari: ricreare aree utilizzabili a livello trofico da queste specie predate dal lupo in modo da "riportarle" lontano dalle zone più basse e vicine ai centri abitati.

In quest'ottica dovranno essere intensificate le attività di monitoraggio proprio nelle aree più antropizzate, dove sempre più spesso vengono fatte segnalazioni di avvistamenti, predazioni e ritrovamenti di segni di presenza attribuibili a *Canis lupus.*

Come indicazione gestionale prioritaria per la conservazione del lupo indichiamo il proseguimento dell'attività di monitoraggio della presenza di eventuali **individui o nuclei ibridi lupo X cane**. L'introgressione di genoma canino nella popolazione di lupo presente in Appennino e in Italia viene attualmente considerato il pericolo più grosso per la conservazione della specie stessa. La cosiddetta ibridazione "antropogenica" tra specie domestica e conspecifico selvatico (come quella di lupo con cane) infatti è da considerarsi negativa in quanto causa di perdita di identità genica e spesso estinzione di una popolazione. Solo un costante studio del fenomeno potrà indicare le strategie migliori per arginare il problema da parte degli Enti Pubblici preposti alla gestione della fauna selvatica.

8. Bibliografia consultata

- Allendorf F.W., Leary R.F., Spruell P., Wenburg J.K., 2001 The problems with hybrids.

- Allendorf F.W. & Luikart G., 2007 Conservation and genetics of populations. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

- Berzi D., Groff C., 2002. L'uso delle foto trappole fotografiche per indagini faunistiche sul lupo e su altri grandi carnivori: prime indicazioni sulla sperimentazione in Italia. Atti del convegno : Il lupo ed i parchi. Parco Nazionale Foreste Casentinesi.

- Bocci A. Boitani L., 2014. Linee guida per la gestione degli ibridi lupo-cane in Italia & Linee guida specifiche per la Provincia di Grosseto.

- Canetti N., Rigacci L., 2011. Un conflitto superabile. In Il Divulgatore, anno XXXIV n°5/6 2011.

- Centofanti E., Gotti C., 2011. Sistemi di prevenzione. In Il Divulgatore, anno XXXIV n°5/6 2011.

- Ciucci P. Boitani L., 1998. Il lupo, elementi di biologia, gestione, ricerca. INFS Documenti tecnici, 23.

- Fumagalli V., 1993 L'alba del Medioevo. Pg 74. Edizioni Il Mulino Bologna.

- Giacchini P., Scotti M., Zabaglia C. (a cura di), 2012. Il lupo nelle Marche. Ieri, oggi..... e domani? Regione Marche, Assessorato Ambiente.

- Guj I., 2009. Piano di monitoraggio del lupo (*Canis lupus*) nel Parco Naturale Regionale dei Monti Simbruini

- Marucco F., 2014. Il lupo, biologia e gestione sulle Alpi e in Europa. Il Piviere Edizioni

- Randi E. Cabiglia R., Fabbri E., Galaverni M., Greco C., Mialnesi P., Zanni ML.,- Il lupo in Emilia-Romagna. Strategie di convivenza e gestione dei conflitti.