



UNIVERSITÀ
DI TORINO

Università degli Studi di Torino

*Corso di laurea magistrale in Evoluzione del
Comportamento Animale e dell'Uomo.*

Titolo

Ecologia alimentare e comportamento di
marcatura del lupo (*Canis lupus*) nelle Alpi
Marittime

Relatrice

Marucco Francesca

Candidata

Macario Michela

Matricola: 859946

Correlatrice

Ruco Valentina

Anno Accademico 2021/2022

“...quando arrivano le lunghe notti invernali e i lupi seguono la selvaggina nelle valli più basse, può essere visto correre alla testa del branco nella pallida luce lunare o nel luccichio dell’aurora boreale. Egli balza gigantesco sopra i suoi compagni, e dalla possente gola spalancata si leva il canto dell’infanzia del mondo, che è il canto del branco.”

John Griffith London, “Il richiamo della foresta”.



Foto realizzata da Macario Michela

INDICE

1.INTRODUZIONE.....	4
1.1 GENERALITÀ SUL LUPO, DECLINO E CRESCITA.....	4
1.2 IL PROGETTO LIFE WOLFALPS EU.....	6
1.3 I LUPI E LE LORO PREDE.....	7
1.4 ANALISI DELL'ECOLOGIA TROFICA DEL LUPO E DEI COMPORTAMENTI DI MARCATURA.....	8
1.5 OBIETTIVI DELLA PRESENTE RICERCA	10
2. AREA DI STUDIO.....	11
3. MATERIALI E METODI	17
3.1 IL CAMPIONAMENTO.....	17
3.2 RICONOSCIMENTO E RACCOLTA DEL CAMPIONE.....	18
3.3 LAVORAZIONE DEI CAMPIONI E RICONOSCIMENTO DEI PELI.....	19
3.4 ANALISI GENETICHE	23
3.5 GRANDEZZA E RAPPRESENTATIVITÀ DEL CAMPIONE RACCOLTO.....	24
3.6 METODI DI QUANTIFICAZIONE	25
3.7 CONFRONTI STATISTICI	27
3.8 LA VALUTAZIONE DELLA PRECISIONE DEI RISULTATI DELLA DIETA	28
3.9 SUDDIVISIONE DEI CAMPIONI PER L'ANALISI DELLA DIETA	28
3.10 ANALISI DEL COMPORTAMENTO DI MARCATURA.....	29
4. RISULTATI	30
4.1 CAMPIONAMENTO ED EFFICIENZA DEI TRANSETTI	30
4.2 RISULTATI DELL'ANALISI GENETICHE.....	34
4.3 ANALISI DELLA DIETA	35
4.4 COMPORTAMENTO DI MARCATURA.....	48
5.DISCUSSIONE.....	49
5.1 L'ECOLOGIA ALIMENTARE DEL LUPO NELLE ALPI MARITTIME...	49
5.2 IL COMPORTAMENTO DI MARCATURA, POSSIBILI SVILUPPI.....	53
6.CONCLUSIONI.....	55
7.BIBLIOGRAFIA.....	56

1. INTRODUZIONE

1.1 GENERALITÀ SUL LUPO, DECLINO E CRESCITA

Il lupo (*Canis lupus*) è un predatore generalista, territoriale e sociale, all'apice delle catene trofiche degli ecosistemi in cui vive (Bassi et al. 2015). È un animale estremamente adattabile, in grado di percorrere lunghe distanze e di sopravvivere in habitat diversi, anche in presenza dell'uomo (Bassi et al. 2015). Come predatore, viene riconosciuto per il suo ruolo di regolatore dei sistemi ecologici e svolge un ruolo fondamentale nel mantenere la salute degli ecosistemi e le interazioni ecologiche che avvengono all'interno di essi (Khosravi et al. 2018). La sua presenza, in Europa, è stata costante fino al XVIII secolo, infatti la distribuzione del lupo prima del 1800 era definita "olartica circumpolare" essendo ampiamente presente nell'emisfero boreale, dall'ottantesimo fino al ventesimo parallelo nord, escluse Gran Bretagna e Irlanda (Ersmark et al. 2016). A partire dal XIX secolo si assistette ad un generale declino della specie a causa della sistematica persecuzione da parte dell'uomo dovuta al conflitto tra il predatore e le attività umane, sia quelle legate agli allevamenti sia quelle legate alla caccia. L'odio e la paura sfociarono in una lotta tanto intensa da portare la specie all'estinzione ovunque tranne che in aree impervie e isolate di Portogallo, Spagna, centro Italia, penisola balcanica, Grecia e Finlandia (Promberger & Schröder 1993).

In Italia, il lupo è stato considerato per secoli "specie nociva" e quindi per legge cacciabile. Questo portò alla sua totale scomparsa nelle Alpi nel 1920 (Brunetti, 1984) e dopo la seconda Guerra Mondiale, nel periodo compreso fra gli anni '50 e '70, la popolazione di lupi italiani arrivò alla soglia dell'estinzione contando poco più di un centinaio di esemplari sopravvissuti nelle zone più inaccessibili dell'Appennino e dell'area tirrenica (Boitani, 1992).

Con l'inizio degli anni '70 la nuova condivisione dei concetti di conservazione della natura iniziò a portare dei grandi cambiamenti legislativi e passando attraverso due decreti legge (1971 e 1973) si arrivò nel 1976 al completo divieto di caccia nei confronti del lupo. Nel 1977 la legge 968 trasformò tutta la fauna selvatica da "res nullius" a "res communitatis", cioè "patrimonio indisponibile dello Stato" e tolse il titolo di "specie nociva" al lupo promuovendone la protezione, essendo la specie arrivata a un minimo di presenza storica vicina all'estinzione. Tale impegno, anche nei confronti di

tutto l'ambiente naturale, venne ribadito negli anni attraverso nuove direttive, tra le principali: la Convenzione di Berna (1979) che venne approvata in Italia nel 1981, la direttiva habitat del 1992 (direttiva 92/43 CEE) che venne attuata nel nostro paese con il D.P.R 357 del 1997 e la convenzione di Washington (c.d. CITES, 1973, recepita dall'Italia nel 1975 con L. 874, e poi con L. 150 nel 1992. Regolamento della CEE n. 338/97). A partire dagli anni '70, in Italia ma non solo, si assiste ad un'inversione di tendenza: le azioni di protezione intraprese, la plasticità comportamentale e l'ecologia opportunistica e generalista della specie, insieme al concomitante e progressivo abbandono delle montagne da parte dell'uomo, e l'aumento delle popolazioni di ungulati selvatici ha permesso alla specie di sopravvivere e ripopolare man mano gli areali storici (Corsi et al. 1999; Fabbri et al. 2007). Le popolazioni residue in Appennino, hanno quindi rappresentato il bacino di ripopolamento per le zone Alpine dove ritroviamo i primi dati di presenza del 1993 nel parco nazionale del Marcantour, seguiti poi dalla valle Pesio nel 1995 e in seguito in valle Stura (Marucco et al. 2010). Nel 1999 si stimavano 20 individui in regione Piemonte, nel 2011, 70 (Marucco, F. & Avanzinelli, 2011) e nel 2017, dopo vent'anni dal primo avvistamento, sono stati stimati circa 293 individui, divisi principalmente tra le provincie di Cuneo e Torino. Ad oggi, riportando i dati del report nazionale di monitoraggio pubblicato ad aprile 2022, si stima che la popolazione di lupi italiana sia pari a 3307 individui (La Morgia et al. 2022), con 946 esemplari per la regione Alpina divisi tra le popolazioni centro-occidentali (680 individui) e centro-orientali(266 individui) (Marucco et al. 2022). In particolare, in Piemonte vengono stimati un minimo di 67 branchi e 13 coppie riproduttive (Marucco et al. 2022).

La naturale ricolonizzazione del lupo in aree dove la specie era stata assente per molti anni ha riaperto il conflitto tra uomo e predatore (Corsi et al. 1999; Caniglia et al. 2010). Con il fine di approfondire, monitorare e intraprendere opportune strategie di conservazione e gestione per mitigare il conflitto con le attività umane, negli anni sono stati avviati molti studi e progetti come "Progetto Lupo Piemonte" del 1999 e i Progetti LIFE WolfAlps (2013-2018) e WolfAlps EU (in corso).

1.2 IL PROGETTO LIFE WOLFALPS EU

Il progetto LIFE WolfAlps EU (Project LIFE18 NAT/IT/000972 - LIFE WolfAlps EU “Coordinated Actions to Improve Wolf-Human Coexistence at the Alpine Population Level” 2019-2024), è un progetto Europeo che si propone di garantire la conservazione del lupo e di supportare la coesistenza e la convivenza della specie con l’uomo sulle Alpi, non solo in Italia ma anche in Francia, Austria e Slovenia. Inoltre è il primo tassello verso la realizzazione di un monitoraggio nazionale omogeneo e simultaneo della presenza e abbondanza del lupo in tutta Italia. Tale progetto vuole, tra gli altri obiettivi, creare le basi per un monitoraggio a lungo termine che porti dati scientifici e robusti tali da permettere la definizione di ulteriori strategie gestionali della specie (Marucco et al. 2020). In particolare vengono definiti i seguenti obiettivi:

- Elaborare un modello di monitoraggio, conservazione e gestione della specie a livello di popolazione sulle Alpi
- Istituire una rete di professionisti internazionali, denominato Network Lupo Alpino, per avviare un monitoraggio a lungo termine e fornire dati scientifici abbastanza robusti da permettere di definire ulteriori strategie di gestione della specie
- Controllare l’ibridazione lupo-cane e recuperare i lupi feriti
- Combattere il bracconaggio
- Esplorare le cause dei conflitti per sviluppare soluzioni concrete e diminuire l’impatto del lupo sull’allevamento domestico con sistemi di prevenzione efficaci
- Combattere la disinformazione sulla specie tra allevatori, cacciatori e cittadini, aumentandone le conoscenze.
- Promuovere attività eco turistiche che abbiano il lupo come principale attrattore.
- Valutare il ruolo del lupo nelle dinamiche preda-predatore-cacciatore, coinvolgendo direttamente il mondo venatorio per favorire la coesistenza.

Nel contesto di quest’ultimo punto, per cercare di comprendere meglio le relazioni esistenti tra predatori, prede e attività umane, è stato avviato uno studio specifico che viene portato avanti in quattro aree di interesse,

diversificate tra loro per il diverso grado di interazione: in Slovenia nelle Alpi sudorientali, la zona delle Alpi Marittime nelle Alpi Sud-occidentali, nel parco Nazionale delle Stelvio nelle Alpi centrali dove tra l'altro non è presente nessun predatore e infine in Francia nelle Alpi Sud-occidentali. L'obiettivo di questo studio è quantificare le risposte comportamentali nello spazio e nel tempo da parte dei grandi ungulati (≥ 10 kg) al rischio di predazione percepito da lupi e umani, tenendo conto anche della presenza di prede alternative (domestiche e selvatiche) e predatori alternativi (linci e cani da guardiania). Si vuole poi caratterizzare la dieta del lupo, obiettivo della presente tesi, per analizzare nel dettaglio l'ecologia alimentare della specie e ottenere indicazioni che possano guidare studi futuri su altri possibili effetti dei lupi sulle prede selvatiche e domestiche.

1.3 I LUPI E LE LORO PREDE

Il lupo è un carnivoro generalista ed opportunista che varia la sua dieta a seconda dell'ambiente in cui vive, spaziando anche molto tra le diverse specie (Guimarães et al. 2022). Le prede principali del lupo sono gli ungulati selvatici (Sin et al. 2019) ma in caso di necessità, può nutrirsi anche di uccelli, piccoli mammiferi quali lepri, marmotte o roditori, carcasse, animali domestici, rifiuti, frutta e altri vegetali (Capitani et al. 2004; Marucco et al. 2008).

La grande plasticità trofica permette ai lupi di adattare l'alimentazione in base alle esigenze del branco o del singolo animale e si riflette anche sulla tipologia di caccia attuata che cambierà in relazione alla preda scelta (Metz et al. 2012). Cacciare per i lupi, come per altri animali sociali, è un'attività organizzata e collaborativa a cui partecipano in modo diverso tutti i membri, la cooperazione e la capacità di coordinarsi sono gli elementi che permettono al branco di cacciare prede anche molto più grosse con un maggior successo di riuscita (MacNulty et al. 2014). Anche se si è dimostrato che la dieta dei lupi può variare molto a seconda dell'ambiente e delle condizioni, un'altra evidenza è che questi animali selezionano la preda rispondendo ad un cambiamento della densità delle prede stesse (Sand et al. 2016) o all'efficacia di predazione su una preda rispetto ad un'altra (Benson et al. 2017). Inoltre, durante la sessione di caccia, i lupi selezionano l'individuo in base all'età e alla fragilità, preferendo cuccioli e animali malati, questo per ridurre i costi e aumentare i benefici (Huggard, 1993b). L'attività di caccia dei lupi quindi è condizionata dalla

selezione che essi fanno delle prede e questo è il motivo per cui questo predatore è in grado di mantenere in salute e in equilibrio gli ecosistemi in cui vive (Khosravi et al. 2018).

Nell'aria di studio da noi considerata, le potenziali prede dei lupi possono essere: gli ungulati selvatici quali il capriolo (*Capreolus capreolus*), il cinghiale (*Sus scrofa*), il cervo (*Cervus elaphus*) e il camoscio (*Rupicapra rupicapra*) altri mammiferi selvatici come roditori, canidi e mustelidi e per quanto riguarda il periodo estivo gli ungulati domestici quali vacche, pecore e capre.

1.4 ANALISI DELL'ECOLOGIA TROFICA DEL LUPO E DEI COMPORAMENTI DI MARCATURA

L'analisi delle fatte degli animali selvatici è molto importante e in questi ultimi decenni si sono susseguiti molti studi di questo genere, sia sui lupi ma anche su altri predatori come ad esempio le volpi (Page et al. 2021) e in letteratura si trovano esempi sia per l'Italia che per tutto il resto del mondo sia che si parli di carnivori che di erbivori (Marti, 1974; Wallace & Merritt, 1980; Nerini, 1984; Huggard, 1993; Litvaitis et al. 2000; Martin et al. 2020; Muñoz-Pedrerros, 2021; Freschi et al. 2021; Freschi et al. 2022). Studiare gli escrementi degli animali significa non solo studiarne l'ecologia alimentare, importante per capirne le abitudini e il comportamento (Litvaitis et al. 2000), ma può portare anche ad analizzare i profili genetici degli individui, lo stato di salute, l'uso del territorio (Berja et al. 2004; Gable et al. 2017; Di francesco et al. 2019). Questo lavoro si vuole concentrare sullo studio dell'ecologia alimentare dei lupi delle Alpi Marittime e sul comportamento di marcatura che questi animali hanno nel contesto dell'uso del territorio.

Nel contesto dello studio delle abitudini alimentari, studiare le fatte degli animali che si trovano all'apice del loro ecosistema, come i lupi, è molto importante per comprendere come questi animali interagiscano con le altre componenti della loro catena trofica, come modificano le interazioni ecologiche, come selezionino le prede e come questo possa modificare o meno le loro abitudini (Martin et al. 2020).

L'analisi delle fatte dei lupi, come di altri grandi carnivori, trova quindi la sua utilità sia nelle informazioni che restituisce, sia nella sua relativa semplicità,

nei bassi costi (Steenweg et al. 2015) e nella sua efficienza nel seguire animali che vivono in home range molto ampi, con popolazioni a bassa densità e comportamenti altamente elusivi (Marucco et al. 2009). Inoltre è un'analisi non invasiva per gli animali e per la sua praticità permette di analizzare molti campioni velocemente (Steenweg et al. 2015). Infine, studiare le abitudini alimentari del lupo è fondamentale anche per diversi motivi economici e sociali visti i seri conflitti che spesso scaturiscono con l'uomo, che considera la specie una minaccia sia nel caso in cui preda bestiame domestico sia ungulati selvatici (Meriggi et al. 2011). Gli studi sulla dieta, non dissimili da quello che si vuole fare con questa tesi, sono stati condotti per diversi anni nell'area di studio di nostro interesse e questo permette di avere uno storico di dati utile per i confronti (Marucco et al. 2008; Regine 2007; Ciampichini 2005)

Nel contesto delle analisi dell'uso del territorio, questo lavoro si vuole concentrare sul comportamento di marcatura fecale. I lupi sono animali territoriali (Harrington et al. 1983) e come altri predatori sociali, hanno aree domestiche distinte e ben definite. Questi territori vengono segnalati a conspecifici tramite l'utilizzo di marcature olfattive che forniscono informazioni utili sull'uso dello spazio da parte di branchi stranieri o individui esterni al branco familiare (Biscoe et al. 2002). Le marcature odorose che i lupi usano per controllare e proteggere il loro territorio, vengono emesse anche in assenza di branchi circostanti, denotando un comportamento importante e intrinseco della specie (Briscoe et al. 2002), ma assumono un ruolo fondamentale quando più gruppi familiari condividono la stessa area (Gese&Ruff, 1997). A marcare il territorio sono generalmente gli individui adulti e dominanti del branco ed è stato studiato che le deposizioni cambiano non solo in base ai fattori sociali, ma anche stagionali ed ecologici (Gese&ruff, 1997; Llaneza et al. 2014).

Per marcature odorose si intendono elementi contenenti feromoni, quali l'urina e gli escrementi (Asa et al. 1985). Molti studi evidenziano l'importanza della prima (Woolpy, 1968; Peters&Mech, 1975; Fox&Cohen, 1978; Asa et al. 1985) ma molta meno bibliografia valuta l'importanza delle fatte (Peters&Mech, 1975; Asa et al. 1985) in quanto la deposizione degli escrementi non è caratterizzata da una postura stereotipata o da comportamenti ripetuti e la secrezione della ghiandola anale, che dal punto di vista chimico è

quella ricca di feromoni utili per marcare, è presente solo nel 10% delle fatte depositate (Asa et al. 1985).

1.5 OBIETTIVI DELLA PRESENTE RICERCA

Come già specificato, la presente tesi rientra nell'ambito dello studio delle interazioni tra prede, predatori e attività umane e si pone come obiettivo principale l'analisi dell'ecologia alimentare dei lupi in un'area specifica delle Alpi Marittime. In particolare vengono sviluppati tre obiettivi specifici:

- Confrontare la dieta del lupo nei periodi di campionamento inverno 2020/21, inverno 2021/22 ed estate 2022, per indagare le possibili differenze annuali e stagionali
- Verificare la distribuzione dei branchi nell'area di studio sulla base dei dati genetici dei campioni dell'inverno 2020/21, quindi testare eventuali differenze nella dieta tra branchi adiacenti

Oltre all'analisi trofica la presente tesi ha l'obiettivo di indagare il comportamento di marcatura del lupo nel periodo di campionamento 2020/21. In particolare si vuole verificare se esiste una correlazione tra la deposizione delle fatte in vicinanza agli incroci, che vengono riconosciuti come luoghi altamente marcabili per i lupi (Barja et al. 2004), e lo status degli animali (dalle informazioni genomiche lo stato di riproduttore, spesso detti individui "alpha", o subordinato/giovane).

2. AREA DI STUDIO

L'area di studio è localizzata nella provincia di Cuneo nella porzione delle Alpi Marittime che coinvolge 4 comuni: Chiusa di Pesio, Roccaforte Mondovì, Peveragno e in piccola parte Pianfei, per la zona che circonda il lago omonimo (*Figura 1*). I confini dei comuni disegnano il perimetro di quella che è l'area di studio che può essere vista nel dettaglio in *Figura 2*.

Parte dell'area ricade nel territorio del Parco del Marguareis (*Figura 2*) e in un sito d'importanza comunitaria, entrambi gestiti dall'Ente di gestione delle Aree protette delle Alpi marittime. Il SIC in questione è denominato "Alta valle Pesio e Tanaro" (IT1160057) e tutela un'ampia zona centrata sul massiccio del Marguareis.

Valle Pesio

La Valle del Pesio è una valle breve che ha inizio dal comune di Chiusa di Pesio e risale lungo il percorso fluviale fino alla sua sorgente che è nominata "pis del Pesio", un esempio di troppopieno che ben rappresenta la natura carsica delle montagne che affiancano la valle. Dalla cresta assiale alpina che ne costituisce la testata (da ovest a est: Testa Ciaudon, Monti delle Carsene, gruppo Marguareis) la Valle Pesio si sviluppa da sud a nord sul versante alpino settentrionale, fino ai 575 metri di quota dell'abitato di Chiusa Pesio, subito a valle del quale il corso del torrente Pesio sbocca nell'altopiano cuneese. Sulla sinistra orografica la Valle è separata dalla contigua Valle Vermenagna, e quindi dalle Alpi Marittime, dalla dorsale che, da sud verso nord, va dalla Punta S. Salvatore (2415 m), alla Cima della Fascia (2495 m), alla Punta Mirauda (2157 m), al Bric Costa Rossa (2404 m), concludendosi verso la pianura con il Monte Besimauda o Bisalta (2231 m). A nord-ovest di questa montagna tra le Valli Pesio e Vermenagna si insinuano la breve Val Colla e la brevissima Valle Josina, entrambe facenti parte delle Alpi Liguri. Sulla sua destra orografica la Valle Pesio è separata dalla Valle Ellero dal contrafforte che origina dalla Cima Bozano (2564 m, vetta più orientale del gruppo del Marguareis) e, dopo la Porta Sestrera (2225 m, valico per la Valle Ellero), prosegue con la Cima Serpentera (2568 m), la Cima S. Lorenzo (2305 m), la Cima Cars (2204 m), per concludersi con il Monte Pigna (1768 m), dove arrivano gli impianti di risalita della stazione sciistica di Lurisia. La vicinanza

con il mare è responsabile delle abbondanti precipitazioni che rendono la valle una delle più boschive delle Alpi occidentali. Il legname, anche pregiato, così come le risorse forestali sono state per secoli gestite dai monaci Certosini e oggi questo patrimonio arricchisce il valore turistico della valle e viene amministrato dall'Ente di gestione del parco.

Il parco del Marguareis

Il parco venne istituito nel 1978 con il nome di “Parco naturale Alta Valle Pesio e Tanaro”, dal 2016 fa parte, insieme al Parco naturale delle Alpi Marittime, sette riserve naturali presenti sul territorio e altri siti “Natura 2000”, dell'Ente di gestione delle aree protette delle Alpi Marittime.

Comprende 7.900 ettari di territorio alpino ripartito tra l'alta Valle Pesio e Tanaro e tre comuni: Chiusa di Pesio, Ormea e Briga Alta e circonda il monte Marguareis, vetta più alta delle Alpi Liguri e importante massiccio calcareo. Il parco è riconosciuto per la sua importanza paesaggistica, oltre al monte Marguareis, ci sono altre vette oltre ai 2600 m, vi sono state scoperte più di 700 grotte, importantissime per i loro micro-ecosistemi e gli animali unici, per non parlare delle cascate che oltre al Pis, arricchiscono l'ambiente. Oltre a questa parentesi paesaggistica, il parco è importante per le sue specie vegetali e animali, infatti, per le abbondanti precipitazioni, il territorio è ricco di biodiversità che è stata mantenuta e conservata in primis dai frati Certosini e oggi dall'ente stesso. Questa ricchezza si può quantificare riportando i dati aggiornati del parco, ovvero scrivendo che si stima vi siano presenti un quarto di tutte le specie botaniche italiane: 1501 specie censite con 9 endemismi e 2 micro-endemismi (*Beris aurosica* subsp. *nana*, *Fritillaria tubaeformis* subsp. *Moggridgei*), 600 ettari di foreste di faggio puro e 700 ettari di foreste di conifere ripartiti in diversi boschi e le varie parti del parco: nella zona dell'Alta valle Tanaro troviamo il bosco delle Larzelle costituito da pini uncinati (parenti stretti del pino mugo più comune in valle Pesio) e il maestoso bosco delle Navette formato da larice e abete bianco. Nelle zone più basse, intorno alla Certosa, troviamo i castagneti, i boschi misti di latifoglie con specie come aceri, olmi, tigli, ciliegi selvatici, frassini, amanti delle zone più fresche e i querceti che resistono sui versanti più caldi. All'aumentare della quota, si trovano le conifere: in Valle Pesio domina l'abete bianco, nella Valle di Carnino il pino uncinato e nel Vallone di Upega il larice. Le abetine del Prel e

del Buscaiè e la lariceta del Bosco delle Navette sono tra i primi boschi italiani iscritti nel Libro nazionale dei boschi da seme. Oltre agli alberi abbiamo poi moltissime specie arbustive, tra cui rododendri, mirtilli selvatici e ginepri, e erbacee tipiche delle Alpi occidentali e, in alcune zone, della vegetazione mediterranea. Questa parentesi ecologica, ci serve per sottolineare quanto l'area studiata sia ricca come ecosistema e questa ricchezza permette la compresenza di diverse specie animali, tra cui quelle citate precedentemente nell'elenco delle specie preda (paragrafo preda-predatore) oltre poi a 20 specie di pipistrelli, che rappresentano i tre quarti delle specie conosciute per il Piemonte, 201 specie di uccelli osservate tra cui 63 specie di uccelli ritenute prioritarie per l'Europa, fra cui 8 specie nidificanti di rapaci, 9 coppie di aquila reale e 3 specie di galliformi alpini: ovvero, *Lagopus muta* (pernice bianca), *Lyrurus tetrrix* (fagiano di monte) e *Alectoris graeca* (coturnice). Ci sono poi 5 specie ittiche, 9000 specie di invertebrati, di cui 30 nuove per la scienza e 300 specie di ragni, di cui 2 di nuova scoperta.

Valle Ellero

La Valle Ellero affianca la Valle Pesio e risale dalla frazione Rastrello fino alle sorgenti del fiume, una conca di origine lacustre che si trova ai piedi di Cima delle Saline. L'Ellero ha scavato la valle nelle rocce dolomie e nel primo tratto di discesa troviamo una zona erbosa, ampia e circondata dalle alte cime. Dove il fiume inizia a scorrere con più velocità, la valle abbandona le zone prative e diventa boscosa con un'abbondanza di latifoglie e alcuni gruppi di larici. La valle poi prosegue allargandosi fino al suo sbocco dove sorge il centro di Roccaforte Mondovì. Da qui il fiume prosegue fino ad immettersi nel Tanaro. L'alta Val Ellero fa parte del SIC IT1160057 ed è quindi area protetta. Per questa valle sono stati percorsi 4 transetti, di cui uno in bassa valle che ha permesso di monitorare una nuova zona frequentata dai lupi.

La Bisalta

Su molte carte viene indicata anche come Bisimauda, questo nome viene usato per indicare la cima vera e propria mentre il complesso montuoso che comprende anche la seconda cima, ovvero il Bric costa rossa, viene chiamato con il nome italiano. La montagna fa parte delle Alpi Liguri ed è alta 2231m. Si trova nella convergenza tra le due piccole valli, Colla e Josina, con la Valle

Pesio e interessa i comuni di Boves e Peveragno. I suoi pendii sono ricchi di arbusti, pascoli e pietraie. Questa zona è importante perché coincide con la convergenza tra Valle Pesio e Val Vermenagna e quindi risulta il punto di contatto tra i territori dei due rami omonimi presenti sul territorio.

Il lago di Pianfei

Situato tra i comuni di Pianfei e Chiusa di Pesio, questo bacino artificiale fu creato nel 1963 come riserva idrica per l'agricoltura. Il territorio circostante è ricco di biodiversità, si alternano boschi di latifoglie con pascoli e campi coltivati e l'intera zona è percorsa da strade sterrate e sentieri. Prevalentemente ospita fauna tipica della pianura come caprioli e cinghiali. Anche questa zona è di nuovo utilizzo per i lupi e viene monitorata con un unico transetto.

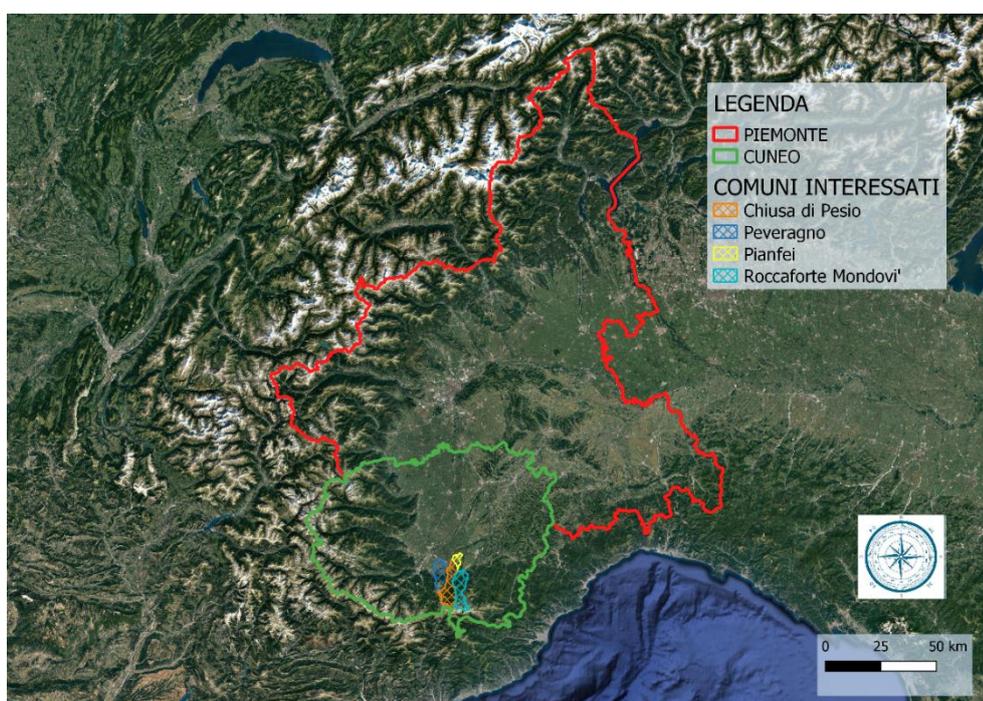


Figura 1: area di studio inquadrata sulla provincia di Cuneo

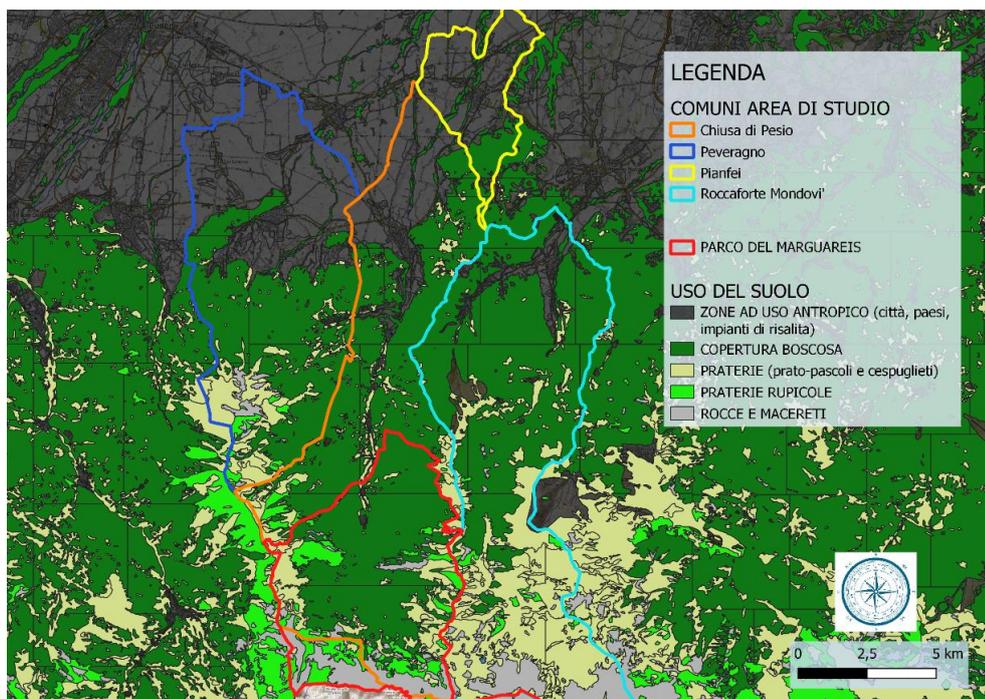


Figura 2: comuni area studio, confini del parco e uso del suolo

I lupi nell'area di studio

La presenza del lupo in Valle Pesio viene monitorata sin dal primo branco insediatosi nel 1996. Per questo è stata scelta nel presente lavoro ed è importante per analizzare le relazioni di preda-predatore inerenti agli obiettivi del Progetto LIFE.

Il lupo è l'unico grande predatore dell'area è un animale territoriale e i branchi utilizzano il territorio a secondo dell'habitat, della distribuzione delle prede, dei fattori antropici e della distribuzione dei gruppi familiari adiacenti, se presenti (Marucco et al. 2007). Fino al 2019 si era a conoscenza di un branco storico della Valle Pesio il cui territorio si estendeva fino al confine con la Val Vermenagna e la Vall'Ellero. Durante il campionamento svolto da Ottobre 2021 sono stati trovati campioni anche in zone che non rientrano nei confini storici, questo ha portato ad allargare l'area di studio verso zone a quote più basse come il lago di Pianfei e la bassa vall'Ellero. Nell'ambito dell'ultimo campionamento 2020-2021 a scala regionale, nella zona sono stati campionati 3-4 branchi di lupo (*Figura 3*).

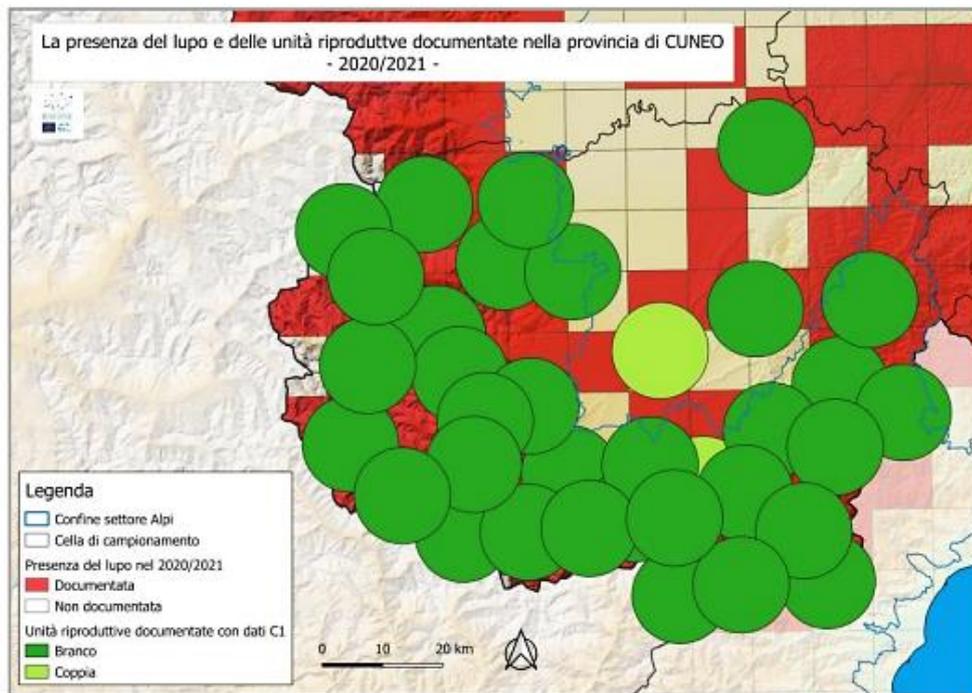


Figura 3: Branchi di lupo campionati nell'areale di interesse nell'anno 2020- 2021 nell'ambito del monitoraggio nazionale. Immagine tratta da Avanzinelli et al . (2022)

3. MATERIALI E METODI

3.1 IL CAMPIONAMENTO

Il campionamento, ossia la raccolta degli escrementi sul campo, è stato effettuato principalmente in modo sistematico per tutto l'anno. Viene considerata invernale la raccolta, da ottobre 2021 ad aprile 2022 ed estiva da maggio 2022 a settembre 2022.

Dal punto di vista pratico, le differenze per il campionamento stanno nel come vengono cercate le fatte sul territorio e questo dipende dalla presenza della neve o meno. Nel periodo estivo e nei mesi invernali in cui ancora non nevicava, il campionamento viene portato avanti eseguendo dei percorsi prestabiliti chiamati transetti (*Figura 4*) questi percorsi vengono tracciati cercando di tener conto della morfologia dell'ambiente, sfruttando solitamente anelli o strade escursionistiche che passino in zone di rilevanza, in questo modo, chi crea questi percorsi cerca di monitorare nel modo più esaustivo possibile tutto il territorio d'interesse. (Ciucci, 1994). Per l'area di studio considerata sono stati percorsi 18 transetti, per quanto possibile, con decadenza di un mese.

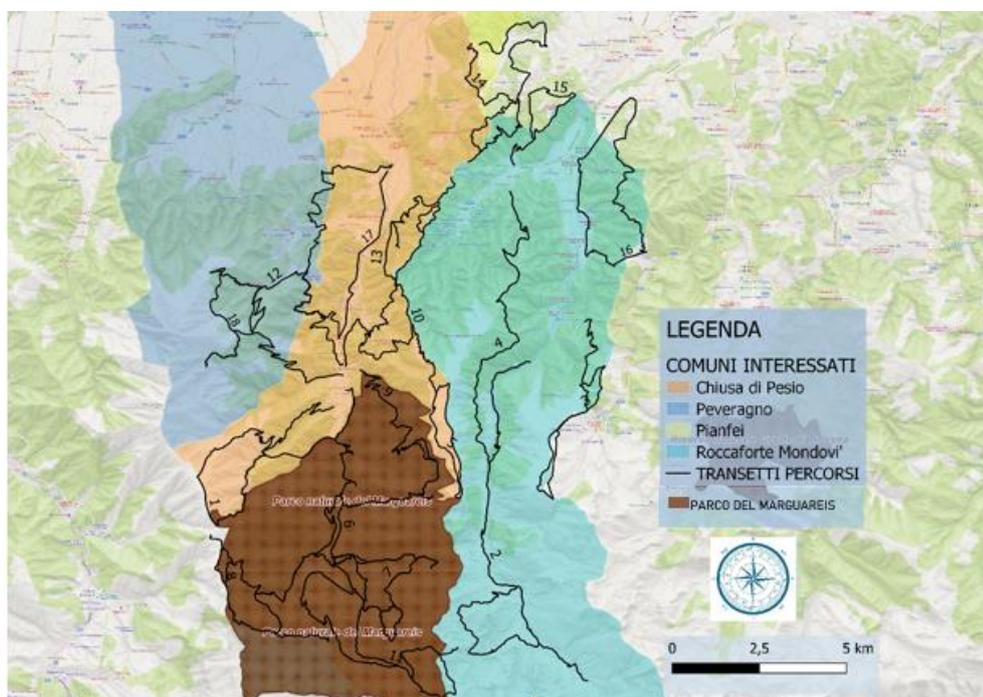


Figura 4: dettaglio dei transetti nell'area di studio

Quando invece arrivano le perturbazioni nevose, l'utilità dei transetti diventa secondaria al fatto che gli spostamenti dei lupi si possono vedere materialmente sul territorio grazie alle tracce che questi lasciano nella neve. Le

sessioni di ricerca delle tracce di lupo su neve, chiamate snow-tracking, sfruttano i percorsi prestabiliti solo fino a che non si incontrano delle impronte, se queste risultano di lupo (in base alle dimensioni, al numero, alla linearità e al luogo) vengono seguite fino a quando è possibile farlo.

3.2 RICONOSCIMENTO E RACCOLTA DEL CAMPIONE

Anche se l'identificazione certa può avvenire solamente grazie all'analisi genetica, gli escrementi di lupo possono essere riconosciuti sul campo, sulla base di alcune caratteristiche che, considerate simultaneamente, riducono la probabilità di errore, in particolare con escrementi di altri canidi (Asa et al. 1985; Akrim et al. 2018):

- le dimensioni e il diametro, non inferiore a circa 30mm
- la localizzazione sul territorio, segnali di deposizione per marcatura (ritrovamenti su cespugli o sassi o incroci di camminamenti)
- la frequenza di ritrovamento nei siti di deposizione, molte fatte da un mese all'altro sono state ritrovate negli stessi punti solitamente coincidenti agli incroci
- il contenuto (frammenti di ossa e pelo dell'animale mangiato)
- l'odore caratteristico
- la vicinanza ad altri segni di presenza (impronte su neve, predazione, altre fatte anche di altro animale...)

Le fatte vengono raccolte e conservate in sacchetti di plastica su cui viene annotato il codice identificativo; per ogni escremento viene compilata la relativa scheda dati dove vengono registrati, oltre il codice identificativo, i dati del luogo di raccolta, le coordinate, le caratteristiche fisiche della fatta, la data e il nome dell'operatore e le informazioni di marcatura (*Allegato 1*)

I sacchetti vengono conservati in freezer a -20°C fino alle analisi di laboratorio.

Dai campioni ritenuti idonei ai fini delle analisi genetiche, ovvero i campioni che rispondono a tutte le caratteristiche sopracitate, freschi, con matrice e possibilmente con uno strato di muco intestinale ancora presente (utile per l'estrazione del DNA), viene prelevata una porzione che viene conservata

separatamente in barattolini con il silica gel che permette al campione di non degradarsi.

Tutti i campionamenti su campo sono stati effettuati dalla sottoscritta, in collaborazione con altri tesisti e con il personale dell'Ente di Gestione delle Aree Protette delle Alpi Marittime. I campioni sono stati poi recuperati dai freezer, riordinati e poi analizzati in laboratorio.

3.3 LAVORAZIONE DEI CAMPIONI E RICONOSCIMENTO DEI PELI

L'analisi dei campioni è stata effettuata nel laboratorio della sede dell'Ente di gestione delle Aree protette delle Alpi Marittime ad Entracque, in provincia di Cuneo. Il lavoro si distingue in due fasi: la prima, che comprende la sterilizzazione e il lavaggio, permette di liberare peli, ossa e altri resti alimentari da quella che è la matrice della fatta, ovvero ciò che resta dei tessuti digeribili mangiati dal lupo, come muscoli e organi. I peli e le ossa a differenza dei tessuti molli non vengono intaccati dai processi digestivi e rimangono intatti (Shavandi et al. 2017). Può infatti capitare di trovare anche unghioni di ungulato, pezzi di cartilagine oppure ossa intere, soprattutto nelle specie preda più piccole, come vertebre o ossa degli arti (*Figura 5*). Tuttavia i resti ossei non sono sufficienti per l'identificazione delle specie ingerite; per l'analisi della dieta vengono usati i peli che presentano una struttura cellulare tipica per ogni specie e che nella maggior parte dei casi ci permette di risalire alla/e preda/e mangiata/e (Debrot, 1982). La seconda fase comprende il Blind test e le analisi macroscopiche e microscopiche dei peli derivanti dalla prima.

L'analisi dei campioni è stata effettuata eseguendo la procedura standard utilizzata e consigliata da Reynolds e Alebischer (1991). Di seguito vengono descritte nel dettaglio le varie fasi:

- **Sterilizzazione:** I campioni vengono estratti dai loro sacchetti e messi in pirottini di alluminio nominati in modo da tener traccia del codice identificativo del campione. Dato lo spazio presente nella stufa, la sterilizzazione viene fatta su diciotto campioni alla volta lasciandoli per sei ore a 90°C. Solo dopo queste tempistiche i campioni sono sicuri e possono essere lavati e maneggiati in quanto le fatte di lupo possono contenere le uova del parassita *Echinococcus granulosus*. Questa tenia presenta due stadi vitali il primo, negli ospiti intermedi quali i

ruminanti, sotto forma di cisti, il secondo come parassita sviluppato a livello intestinale dei canidi. Le uova possono però svilupparsi anche all'interno dell'uomo, creando quindi un rischio per la salute (Crai et al. 2015). Per questo le fatte di lupo vanno trattate come potenziali veicoli e sterilizzate prima di procedere con qualsiasi altro trattamento. Secondo il Dlg n°81/2008 *E. granulosus* è un agente biologico di gruppo 3, quindi con serio rischio individuale e limitato rischio collettivo, questo perché non è veicolato dall'aria, ma da contatti diretti con matrici contaminate. Per eliminarlo, si possono congelare i campioni per una settimana a -80°C o sfruttare la scarsa resistenza al calore delle uova (Eckert et al. 2001). Dato che il primo metodo risulta non applicabile, la procedura da noi eseguita prevede l'utilizzo di una stufa professionale.

- **Pesatura e Lavaggio:** per ogni campione viene effettuata la misurazione del peso mediante una bilancia con una precisione al centesimo di grammo e la stima del volume mediante cilindri graduati riempiti con un volume noto di acqua. Questo ci permette di capire quanto materiale utile otteniamo partendo dalle fatte. Spesso infatti si è osservato che le fatte ricche di matrice, quindi con un peso e un volume notevoli, non hanno restituito molto materiale utile per le analisi successive. Dopo le suddette misurazioni ogni campione viene opportunamente lavato sotto acqua corrente, utilizzando un setaccio per dividere i peli, le ossa e il resto del particolato dalla matrice. Per evitare di perdere eventuali componenti durante il risciacquo, al di sotto del setaccio viene posta una bacinella.
- **Essiccazione:** Dopo il lavaggio, i campioni sono stati fatti essiccare. Visto il quantitativo di campioni da trattare, si è utilizzato un essiccatore a maglie fini lasciato all'aria e al sole. Nelle giornate ottimali questo metodo ci ha permesso di asciugare 54 campioni contemporaneamente in una mattinata, rendendoli velocemente disponibili per la fase successiva di separazione e analisi delle componenti.
- **Quantificazione e analisi macroscopica:** per effettuare le analisi vere e proprie le varie componenti del campione vengono prima separate e quantificate mediante una tavoletta di quantificazione, ossia una griglia

graduata che permette la quantificazione ad occhio delle proporzioni in volume (*Figura 5*): grazie ai quadrati della griglia ogni categoria viene quantificata in percentuale. Successivamente i peli sono stati osservati e classificati per forma, colore, dimensioni, ondulazioni, bandeggio esterno e consistenza al tatto. In questa fase si cerca di identificare tutte le componenti macroscopiche, se possibile, sia vegetali come foglie e rami, che animali (ossa, peli e in alcuni casi insetti), che non alimentari (materiali che non presentano apporto nutritivo definiti “No food item”).

- **Analisi microscopiche:** il riconoscimento microscopico viene effettuato sui soli peli di guardia non del sottopelo (UH), che risulta facilmente confondibile tra le diverse specie, mediante microscopio ottico con gli ingrandimenti 10X e 40X. Utilizzando manuali di consultazione come l’atlante di riconoscimento di B.J. Teerink del 1991 e mediante il confronto con i vetrini dei peli raccolti nell’area di interesse è possibile giungere a identificare la specie di appartenenza dei peli ritrovati. L’analisi microscopica viene ripetuta 5 volte per ogni campione in modo da essere certi di aver trovato tutte le specie.



Figura 5: separazione, quantificazione e analisi dei resti macroscopici su tavoletta di quantificazione

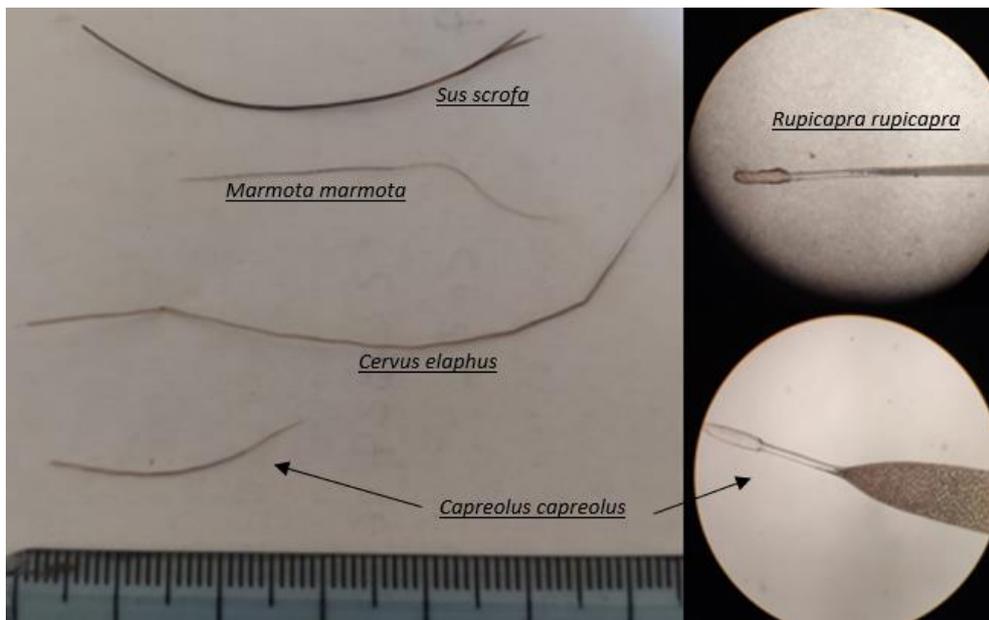


Figura 6: differenze macroscopiche e microscopiche dei peli



Figura 7: utilizzo del microscopio per il riconoscimento dei peli

Blind test: Prima di procedere con le analisi macroscopiche e microscopiche ho dovuto svolgere con successo il blind test, o test alla “cieca” ovvero una prova in cui si valuta l’accuratezza dell’operatore nel riconoscere i peli delle specie che si possono trovare nella dieta dei lupi. Consiste nel dover riconoscere 120 campioni di peli incogniti associandoli alla specie di appartenenza. L’errore ammesso è del 3% (Debrot, 1982; Teerink, 1991).

La preparazione al test è stata portata avanti da ottobre a dicembre 2021 usando manuali di riconoscimento come l'atlante di B.J. Teerink (1991) e mediante osservazioni dirette, macroscopiche e microscopiche, dei peli di una collezione di riferimento .

La preparazione permette di familiarizzare e conoscere le differenze morfologiche interspecifiche dei peli che servono poi al riconoscimento (*Figura 5 e 6*). Le principali caratteristiche macroscopiche prese in considerazione sono il colore (tinta unita, sfumata o presenza evidente di più colori come nella volpe), lo spessore (tipica la setola del cinghiale o l'ispessimento in punta della marmotta), la lunghezza (cervo e capriolo, altrimenti identici, mostrano lunghezze differenti), i bandeggi (tipico il bandeggio grigio/giallo del capriolo) e l'ondulazione (utile in fase di blind test, meno per l'analisi vera e propria in quanto raramente si ritrovano peli interi). Le caratteristiche microscopiche invece riguardano le cellule della medulla, di cui si considera: la presenza/assenza (nel cinghiale e nella maggior parte dei cuccioli di ungulato non ci sono cellule distinguibili), la dimensione (mediamente il cervo ha le cellule più grosse), la forma (possono essere tondeggianti come per gli ungulati selvatici, allungate come nei roditori o assumere forme più assottigliate, queste tipiche dei macromammiferi) e il numero (difficile da valutare, ma nei macromammiferi a volte si può vedere come la volpe abbia più cellule del lupo o del cane). A livello microscopico è inoltre possibile identificare la forma del bulbo e la presenza o meno della corteccia intorno al pelo (uno strato trasparente privo di cellule che circonda il pelo in parte o per tutta la sua lunghezza, permette il riconoscimento degli ungulati domestici da quelli selvatici).

3.4 ANALISI GENETICHE

Quando si analizzano gli escrementi si possono applicare tecniche genetiche, tra cui la scatologia molecolare. Queste tecniche ci permettono di capire se le fatte analizzate appartengono alla specie *Canis lupus*, di identificare gli individui sulla base del loro genotipo, quindi definirne il sesso e le parentele, ricostruendo i pedigree di ogni nucleo familiare (Schwartz et al. 2007). L'analisi genetica e in particolare l'identificazione dei vari genotipi, permette di seguirli nel tempo e capire con più precisione come viene utilizzato il territorio, soprattutto in presenza di più branchi limitrofi (Marucco et al. 2009).

Le analisi genetiche sono state condotte nell'ambito del LIFE WolfAlps EU dal National Genomics Center for Wildlife and Fish Conservation (University of Montana, Missoula; www.fs.fed.us/research/genomics-center/). La descrizione dei metodi applicati dal laboratorio di genetica è descritta nel dettaglio in Marucco et al. (2009). In questa tesi vengono trattati i risultati ottenuti dall'analisi genetica dei campioni raccolti nell'inverno 2020/21, eseguite nell'ambito del monitoraggio nazionale del lupo.

3.5 GRANDEZZA E RAPPRESENTATIVITA' DEL CAMPIONE RACCOLTO

Per stabilire la grandezza del campione e la sua rappresentatività rispetto alla popolazione totale di fatte, è stata stimata la percentuale di escrementi raccolti negli anni di studio rispetto alla popolazione totale di escrementi potenzialmente presenti sul territorio.

Per calcolare il numero di fatte potenzialmente presenti nell'area di studio, per i periodi considerati è stata usata la formula:

$$N = n^{\circ} \text{ di lupi} \times n^{\circ} \text{ di fatte/ al giorno} \times n^{\circ} \text{ giorni di campionamento}$$

Dove il primo fattore indica il numero minimo certo di lupi presenti nell'area a fine estate e fine inverno, dato che si può stimare attraverso i risultati della genetica in combinazione con altri dati sul campo (e.g. fototrappole e dati di snow-tracking). Il secondo fattore si chiama *tasso di defecazione*, ovvero quante fatte vengono deposte dai lupi in un giorno. Questo parametro deriva dalla bibliografia, in particolare dagli studi di *feeding trials* che mostrano come, in cattività, il tasso equivalga a 4 fatte al giorno (Floyd et al., 1978). Considerando che gli animali selvatici tendono ad alimentarsi meno frequentemente e con meno regolarità rispetto ai lupi in cattività, il tasso utilizzato in questo calcolo è di 2 fatte al giorno così da mantenere una coerenza con gli studi precedenti (Lancia et al. 1996). Infine, l'ultimo fattore è dato dai giorni di campionamento.

La percentuale che risulta dal rapporto tra numero di fatte calcolato e numero di fatte raccolte deve essere superiore al 5% per avere un campione rappresentativo (Marucco et al. 2008).

3.6 METODI DI QUANTIFICAZIONE

Per quantificare l'importanza relativa delle diverse categorie alimentari nella dieta, esistono diverse metodologie. Numerosi autori (Corbett, 1989; Ciucci et al. 1996) mettono in evidenza come i diversi metodi di quantificazione per la dieta dei carnivori generalisti, quali il lupo, risultino comparabili e che quindi tutti forniscano informazioni utili, corrette e particolarmente importanti se concordi (Klare et al. 2011).

Per migliorare l'interpretazione finale dei risultati è consigliato il confronto tra più tecniche in modo da interpretare i risultati sulla base delle informazioni portate da ciascun metodo (Ciucci et al. 1996). I metodi usati nel presente studio sono:

FREQUENZA DELLE OCCORRENZE: usata per i primi lavori sul campo in differenti studi sulla dieta dei carnivori, è un metodo semplice che riporta la frequenza relativa di ogni categoria rispetto al totale, ossia la percentuale di ogni specie presente nella dieta relazionata al totale dei campioni raccolti. Le frequenze relative possono essere calcolate dividendo le occorrenze di una determinata specie per il numero totale delle fatte raccolte (Reynolds et Aebischer, 1991; Ciucci et al. 1996), oppure usando come denominatore il numero totale di tutte le occorrenze riscontrate, (Lockie, 1959; Marquard-Petersen, 1998). Per questa analisi si è scelto di utilizzare quest'ultimo metodo che risulta più preciso.

CALCOLO DELLA BIOMASSA INGERITA: questo metodo prevede di stimare la biomassa effettivamente ingerita dal lupo (in kg). Questo è possibile grazie alla relazione nota tra biomassa della preda ed escremento prodotto come illustrato nei modelli di regressione lineare di Floyd, Weaver e Ciucci. Nella nostra analisi la biomassa ingerita è stata calcolata utilizzando la relazione di Ciucci et al. 2001, per continuità con i lavori precedenti e perché risulta specifica per le prede italiane, ed ha la seguente forma:

$$y = (0,011 x) + 0,274$$

dove:

y = kg di biomassa ingerita per ogni fatta

x = peso medio della preda

0,011 = tasso di incremento

0,274 = punto di intersezione della retta di regressione con l'asse y.

I due valori costanti della retta di regressione, 0.011 e 0.274, vengono dalla bibliografia e vengono scelti in base alle prede da analizzare (Goszczyński et al. 1974; Floyd et al. 1978; Ciucci et al. 2001). In questo caso i valori di Ciucci et al. (2001) sono specifici per le prede Alpine.

Per i pesi medi sono stati usati i valori trovati in “The New Encyclopedia of Mammals” Macdonald D. (2001) riportati in *Tabella1*.

Dato che non è possibile risalire al sesso della preda mangiata mediante analisi di peli e ossa, per ciascuna specie-preda è stato scelto il valore medio tra il peso del maschio e quello della femmina. La categoria micromammiferi contiene tutte quelle specie appartenenti alla classe R.I.L. (Roditori-Insettivori-lagomorfi) che non siano marmotta. Nei mustelidi sono considerati solo martora e faina in quanto il tasso non è mai stato documentato nelle feci. Per quanto riguarda gli ungulati indeterminati, visto che i peli in questione erano sicuramente di ungulato, si è fatta una media tra le specie possibili.

SPECIE	PESO IN KG
camoscio	30
capriolo	27
Cervo	150
cinghiale	90
Capra	32,5
cavallo	150
mucca	260
pecora	30,5
micromammiferi	1
marmotta	5
Lupo	30
Volpe	8
mustelidi	5
ungulati indeterminati	90

Tabella1: pesi medi considerati per le specie preda

Per calcolare le percentuali di biomassa ingerita, bisogna prima trovare quante fatte contengono la specie considerata. Con l'ausilio della tavoletta di quantificazione, si stima la percentuale con cui compare ciascun tipo di pelo

rispetto al volume totale, in modo da rapportare le varie specie a 1 (es cinghiale: 0,40; camoscio: 0,60). La stima è effettuata rispetto al volume totale di tutte le categorie alimentari dotate di valore nutrizionale e presenti >3%. Vegetazione, non food item, frutta, invertebrati ecc. sono quindi stati esclusi, inoltre vengono esclusi anche i resti ossei ogni volta che non è possibile riconoscere a quale specie appartengono. Questa stima restituisce degli 1 ogni volta che la fatta contiene i peli di una sola specie e delle proporzioni (come da esempio sopracitato) ogni volta che il campione presenta peli di specie diverse. Queste stime vanno sommate per ogni specie e moltiplicate con il valore di Y calcolato con l'equazione di Ciuci et al. (2001), il risultato finale viene trasformato poi in percentuale relativa rispetto alle altre specie riscontrate nella dieta.

3.7 CONFRONTI STATISTICI

I risultati ottenuti dai metodi sopra elencati per ogni campione preso in considerazione (annuale, stagionale o per branco) sono stati poi confrontati tra loro per verificare la significatività statistica delle eventuali differenze riscontrate.

Basandoci sul lavoro di Frascati (2008), per i confronti statistici in questa tesi abbiamo usato l'indice di correlazione R per ranghi di Spearman e il test esatto di Fisher, entrambi valutati attraverso il p-value. I test sono stati eseguiti tramite R-studio (Versione 1.3.1093).

Il primo è una misura statistica non parametrica di correlazione che stima il grado di relazione tra due variabili e l'unico assunto richiesto è che siano ordinabili e, se possibile, continue. Ci permette di comprendere se esiste una differenza significativa tra i valori di frequenza calcolati con il metodo delle occorrenze e con il metodo della biomassa. Viene usato al posto del t-Student, perché quest'ultimo prevede dei campioni più grandi con $N > 20$. Questo test mette in relazione i ranghi delle frequenze e il risultato che porta è un numero sempre compreso tra -1 (che indica una perfetta relazione negativa tra i ranghi) e + 1 (che indica una perfetta relazione positiva tra i ranghi). Un valore di 0 indica che non è presente alcuna relazione. Pertanto, più l'indice è vicino a zero, più la relazione sarà debole, più si avvicina a -1 oppure a + 1 più la

relazione sarà forte. A questo numero deve essere associato il p-value per verificare la significatività del test.

Il test esatto di Fischer invece è un test non parametrico ed è stato usato per analizzare le differenze della dieta tra stagioni e tra i branchi presenti nell'area di studio nell'anno di campionamento 2020/21 e per le analisi sul comportamento di marcatura. Permette di verificare se i dati di due campioni riassunti in una tabella di contingenza abbiano la stessa suddivisione. In pratica ci restituisce la probabilità che le differenze riscontrate siano dovute al caso e non ad una reale differenza. Viene usato al posto del più comune test chi quadro normalmente utilizzato per un numero di campioni più grandi e con classi da analizzare sempre >5 .

3.8 LA VALUTAZIONE DELLA PRECISIONE DEI RISULTATI DELLA DIETA

Per ottenere gli errori standard (ES) e relativi intervalli di confidenza da associare ai valori ottenuti dall'analisi della dieta, che forniscono una stima della precisione della analisi stessa, è stata utilizzata la tecnica del Bootstrapping che ci permette di simulare una distribuzione campionaria per ogni nostro dato e quindi poi di calcolare media, mediana, varianza ed errori. In particolare, utilizzando il supporto online Statkey – Lock5, per ogni frequenza di occorrenza sono stati estratti dal campione 2000 sottocampioni con re-immissione, in modo da simularne la distribuzione. Di norma l'errore standard è facilmente calcolabile quando si parla di una media di più misurazioni, nel nostro caso i dati di frequenza non derivano da una serie di misurazioni e non sono delle medie bensì sono dati singoli; per questo motivo è stato necessario usare una tecnica di ricampionamento con re-immissione (Manly, 1998). Per valutare la precisione del campionamento è stato quindi calcolato l'errore standard e l'intervallo di confidenza al 95% (Manly, 1998).

3.9 SUDDIVISIONE DEL CAMPIONE PER L'ANALISI DELLA DIETA

Ai fini dell'analisi della dieta, il campione è stato suddiviso secondo l'anno di campionamento, la stagione e l'appartenenza ad un branco. Abbiamo quindi la distinzione tra i campioni dell'inverno 2020, recuperati dai campionamenti precedenti alla mia attività di campo svolti dal personale dell'Ente, i campioni

dell'inverno 2021 raccolti sui transetti e lungo le tracce di neve e i campioni dell'estate 2022 raccolti unicamente sui transetti.

Per le divisioni annuali e stagionali vengono valutate le differenze tra i metodi di quantificazione e poi le differenze relative alla dieta tra i due inverni e l'inverno 2021 e l'estate 2022. Sui campioni del 2020, grazie all'analisi dei risultati dei test genetici, si può fare una divisione tra branchi su cui vengono valutate le differenze della dieta solo con il metodo delle occorrenze.

3.10 ANALISI DEL COMPORTAMENTO DI MARCATURA

La valutazione del comportamento di marcatura è stata svolta solo per i campioni dell'inverno 2020/21 di cui si hanno i risultati della genetica da cui è stato possibile capire se la fatta appartiene ad un individuo riproduttore, detto alpha, o un altro membro del branco. Per verificare se esiste un pattern di marcatura differente in base allo status gerarchico, è stata indagata la relazione tra la deposizione delle fatte da parte dei diversi individui del branco con la vicinanza a determinati punti marcabili. Sono stati considerati come punti marcabili gli incroci tra strade e sentieri (non con i camminamenti animali in quanto non rilevabili su mappa) e le creste. Mediante il programma di georeferenziazione QGIS (versione 3.16), per ogni fatta vengono creati tre buffer da 10, 20 e 40 metri rispettivamente e attraverso la mappa satellitare viene segnalata la presenza di creste ed incroci e la loro posizione rispetto ai buffer. Questo ci permette di associare ad ogni fatta una distanza da un punto marcabile da correlare poi con il rango dell'animale. Questo ha permesso di verificare, se gli individui riproduttori presentano una maggior percentuale di deposizione vicino ad incroci e creste rispetto ai giovani o se non si evidenziano differenze.

4. RISULTATI

4.1. CAMPIONAMENTO ED EFFICIENZA DEI TRANSETTI

Nel corso del 2021/22 sono stati percorsi 18 transetti della lunghezza media di 13 Km, per un totale di 2102.02 km, sui quali sono state raccolte 552 fatte su un totale di 582 confermando che la maggior parte dei dati deriva dal campionamento sistematico. Le fatte non ritrovate lungo transetto sono state raccolte vicino a carcasse o su tragitti non coincidenti ai transetti spesso percorsi per le sessioni di snow-tracking. In particolare, lungo le tracce su neve abbiamo trovato il 7% dei nostri campioni, contro il 14% ritrovato su traccia del campionamento dell'inverno 2020/21. Questa differenza è legata alle condizioni climatiche dell'inverno 2021/22 che è stato caratterizzato da poche precipitazioni nevose, questo ha portato ad un numero inferiore di tracce rinvenute, purtroppo spesso non continuative a causa dello scioglimento troppo rapido della neve in bassa quota e l'impossibilità di muoversi sulla neve a quote più alte a causa delle sue condizioni poco favorevoli.

Per quanto riguarda i campioni raccolti durante l'anno di studio, abbiamo i dati utili per verificare l'efficienza dei transetti: in Tabella2 vengono riportati i Km ed i campioni per transetto e totali, riordinati secondo il valore dell'efficienza calcolato come N. di fatte che sono state ritrovate per ogni transetto in relazione ai Km totali percorsi del transetto considerato. I transetti che risultano con la più alta efficienza di campionamento sono l'1, il 4 e il 7 che rispettivamente interessano la zona compresa tra Valle Pesio e Val Vermenagna in sinistra orografica del Pesio, la Bassa valle Ellero e l'alta Valle Pesio.

COD transetto	Lunghezza del transetto in Km	Km percorsi (considerando le repliche di percorrenza) TOT	fatte totali	fatte/Km
17	17,4	85,8	4	0,05
14	17,73	104,46	7	0,07
10	10,54	132,16	16	0,12
3	13,63	93,52	12	0,13
16	14,6	126	18	0,14
13	11,01	55,81	8	0,14
6	11,25	157,85	26	0,16
9	13,59	112,77	19	0,17
11	18,24	121,8	28	0,23
8	15,25	109,21	27	0,25
18	12,6	99	28	0,28
15	6,84	34,83	10	0,29
5	11,08	76,7	23	0,30
2	20,12	265,26	96	0,36
12	14,55	159,29	59	0,37
7	13,16	192,79	76	0,39
1	16,36	105,63	55	0,52
4	11,61	69,21	40	0,58
TOTALI		2102,09Km	552	

Tabella2: efficienza dei transetti

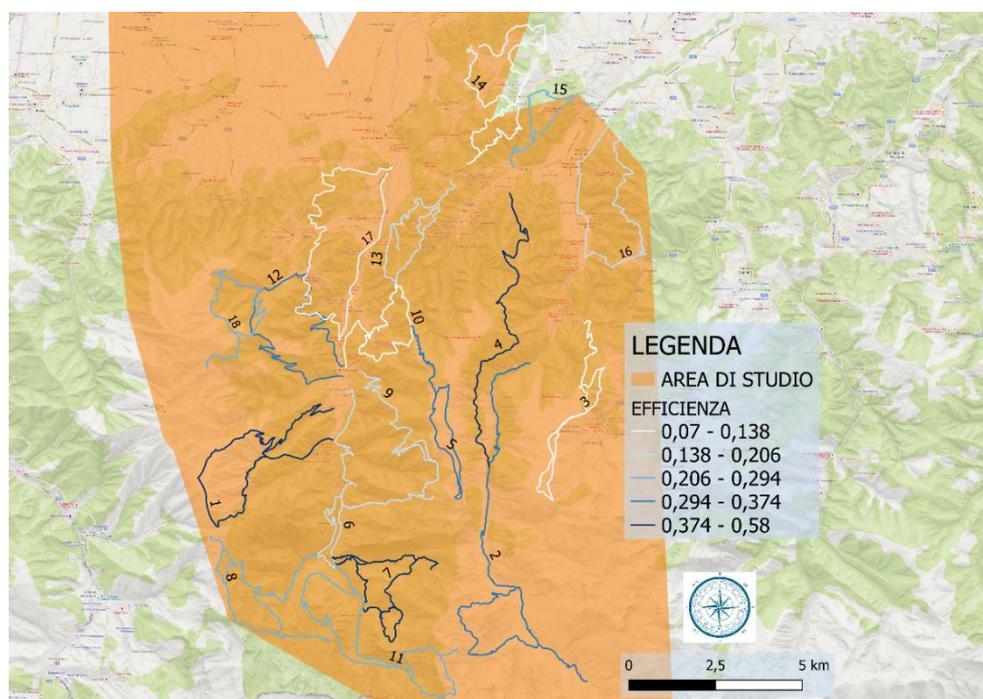


Figura 8: efficienza dei transetti

Descrizione del campione

Il campione totale usato per la presente analisi è costituito da 699 escrementi distribuiti sull'area di studio come in Figura 9 e ripartiti come segue:

- Campione 2020/21: 117 fatte relative all'inverno 2020/21 conservate in freezer e raccolte tra il 6 ottobre 2020 e il 22 aprile 2021 dal personale dell'Ente Parco. 15 di queste sono state analizzate solo per la genetica, 19 sia per la genetica che per la dieta e 83 solo per la dieta. Per l'analisi dell'ecologia alimentare abbiamo quindi 102 fatte totali.
- Campione invernale 2021/22: 463 fatte per l'inverno 2021/22 raccolte tra il 6 ottobre 2021 e il 24 aprile 2022
- Campione estivo 2021/22: 119 fatte per l'estate 2022 raccolte tra il 2 maggio 2022 e il 27 settembre del 2022.
- Il campione 2020/21 viene inoltre suddiviso in base ai risultati genetici secondo criteri territoriali per l'analisi della dieta nei branchi e criteri individuali per l'analisi del comportamento di marcatura. In particolare, per la dieta dei branchi si considerano solo le 19 fatte analizzate sia geneticamente che per l'ecologia trofica e si suddividono su base territoriale. Vengono quindi divise tra il branco della Valle Pesio e il branco della Val Vermenagna. Invece per il comportamento di marcatura vengono usati tutti e 34 i campioni che hanno restituito un risultato per l'analisi genetica e divisi tra individui riproduttori e giovani.

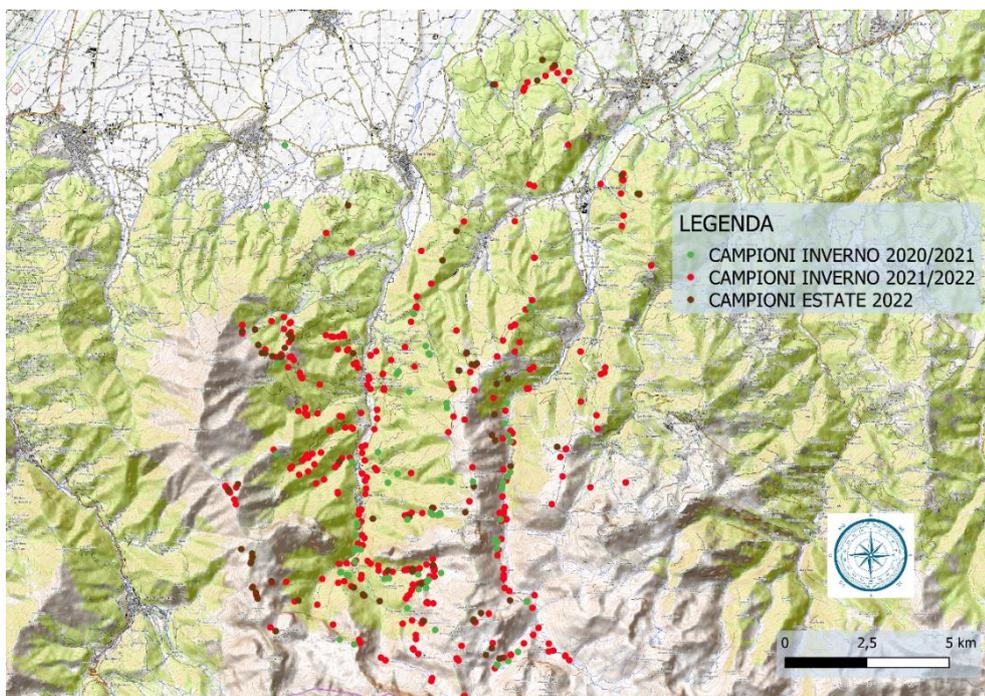


Figura 9: distribuzione dei campioni in base al periodo di raccolta

Grandezza e rappresentatività del campione

I tre campioni considerati per l'analisi della dieta su base annuale e stagionale risultano rappresentativi della popolazione campionaria, perché presentano numeri percentuali superiori al 5% del numero ipotetico di fatte calcolato per l'area di studio (*Tabella 3*) permettono quindi di condurre analisi statisticamente significative:

PERIODO CAMPIONAMENTO	SCAT TOTALI	NUMERO DI LUPI CONSIDERATO	NUMERO GIORNALIERO FATTE	GIORNI DI CAMPIONAMENTO	NUMERO IPOTETICO SCAT	% SCAT
INVERNO 20/21	102	6	2	100	1200	8,5%
INVERNO 21/22	463	8	2	172	2752	16,8%
ESTATE 2022	119	8	2	106	1696	7,0%

Tabella 3: calcolo della rappresentatività

Per quanto riguarda i 19 campioni usati per l'analisi della dieta dei branchi, abbiamo 14 fatte per la Valle Pesio e 5 per la Val Vermenagna, rifacendo i calcoli della rappresentatività per questo campione otteniamo percentuali al di sotto del 2%, non sufficienti per garantire un'alta significatività statistica.

4.2 RISULTATI DELLE ANALISI GENETICHE

Dei campioni raccolti nell'inverno 2020/21, il Centro di Referenza Grandi Carnivori ne ha ritenuti idonei 65 per le analisi genetiche. Questi sono stati inviati al laboratorio di genetica del National Genomics Center del USFWS. Grazie al DNA nucleare è stato possibile ricostruire completamente il genotipo su 14 loci microsatellite di 34 campioni, i dettagli dei risultati si trovano in Marucco et al. (2022) Ad ogni genotipo è stato attribuito un codice composto da una sigla identificativa dell'area di provenienza (in questo caso CN per la provincia di Cuneo), il sesso dell'individuo a cui il campione appartiene e un numero progressivo di genotipo. Grazie a questi dati è stato possibile identificare i diversi individui e i gradi di parentela: sono stati così identificati due branchi con due coppie di lupi Alpha (e.g. i genitori) **CN-M471** e **CN-F368** e **CN-M245** con **CN-F246** e i loro relativi figli **CN-F470**, **CN-F472** e **CN-M473** per la prima coppia e **CN-F473**, **CN-F475**, **CN-F480** e **CN-M544** per la seconda coppia. Con l'utilizzo del programma di georeferenziazione QGIS sono stati visualizzati sull'area di studio permettendo così di identificare i rispettivi territori: la prima coppia con i tre figli gravitano tra la valle Pesio e la vall'Ellero (branco di Chiusa Pesio) e la seconda coppia con i quattro figli tra la Valle Pesio e Val Vermenagna. Il confine dei branchi sembra coincidere con l'alveo del fiume Pesio (*Figura 10*).

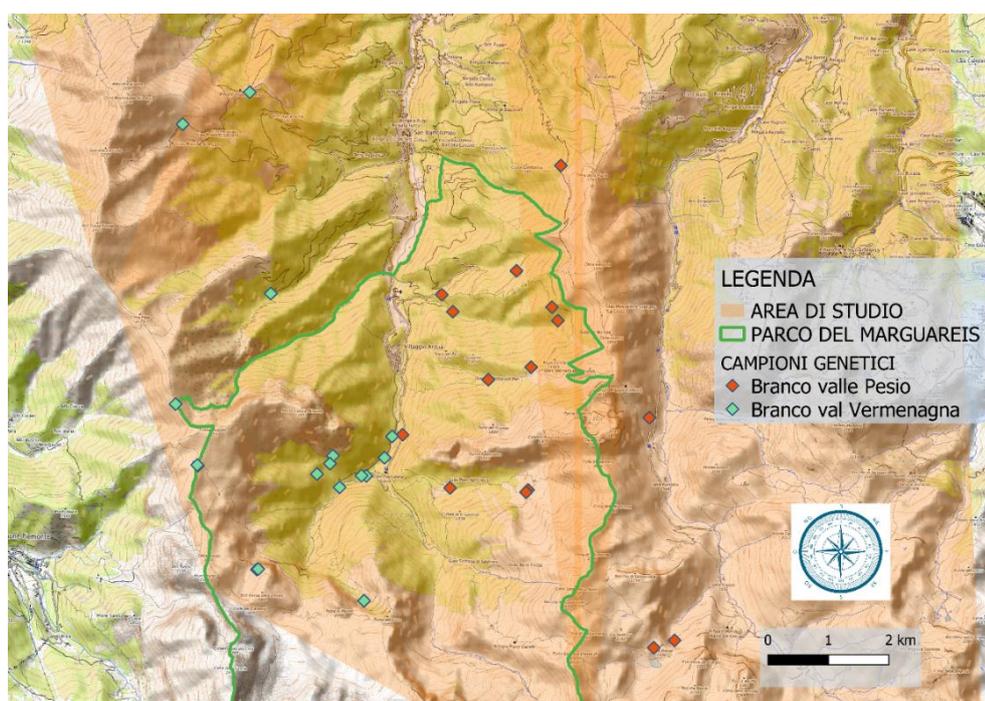


Figura 10: risultati dell'analisi genetica e distinzione dei due branchi

4.3 ANALISI DELLA DIETA

Descrizione dei campioni per macro-categorie

Su 699 fatte raccolte, 684 hanno subito il processo di analisi per la dieta. Su questi sono stati trovati:

- Peli, su questi si è concentrata l'analisi della specie perché identificabili
- Ossa, solo in pochi casi è stato possibile comprenderne l'appartenenza quindi per i calcoli non sono state utilizzate
- Vegetazione, come vedremo nel paragrafo successivo, sono state trovate foglie di monocotiledone, ma anche di dicotiledone (castagno, quercia e faggio, prevalentemente), rami e aghi di conifera. Molto probabilmente queste ultime categorie sono state raccolte dagli operatori, mentre le monocotiledoni, quindi erba, potrebbero essere state effettivamente ingerite (infatti spesso si trovano proprio all'interno della matrice, in questi casi sono state segnalate e sono i vegetali di cui si parla nel capitolo sottostante). Visto che però è difficile capire se effettivamente sono state mangiate o raccolte, visto che sono presenti in traccia e che non hanno apporto nutritivo, non vengono considerate nei calcoli successivi
- Frutta, anche questa trovata in traccia, non viene considerata nei calcoli
- *No food item*, questi sono tutte quelle cose che evidentemente sono state ingerite per sbaglio e che non hanno nessun apporto nutritivo. Sui nostri campioni ne abbiamo trovati di tre tipi: un pezzo di guanto da lavoro, pezzi di carta scottex con gusci d'uova e pezzi di plastica
- Altro: sassi e insetti, in particolare coleotteri, nuovamente si presume siano stati raccolti dagli operatori

In particolare, sulle 102 fatte dell'inverno 2020/21, una era costituita completamente da frutta (torsoli di mela), due presentavano tracce di materiale vegetale (foglie di monocotiledone non identificata) e 20 campioni presentavano doppia occorrenza ovvero il 19.6%. Considerando quanto detto prima, ovvero che le categorie "vegetazione", "frutta", "non food item" e "altro" sono prive di apporto nutritivo o presenti in traccia, le tre occorrenze identificate sulle nostre 102 fatte, vengono eliminate dal conteggio totale che risulta quindi di 119 occorrenze che viene usato nei calcoli successivi.

Per quanto riguarda invece il gruppo di campioni raccolti durante l'anno di tesi, possiamo dire che su 582 campioni, 47 presentavano doppia occorrenza (8.1%), 7 presentavano insieme ai peli semi e esocarpi di bacche (1.2%) e 5 resti di vegetali nuovamente appartenenti alle monocotiledoni (0.9%). Queste categorie non sono state prese in considerazione, quindi non vengono conteggiate nel totale delle occorrenze che per l'inverno 2021/22 è di 498 e per l'estate è di 119.

Scelta del metodo di quantificazione

Osservando i grafici sottostanti in cui vengono mostrati i risultati dell'analisi per ogni campione con i due metodi di quantificazione utilizzati, si può notare che mostrano percentuali diverse (Grafici 1,2 e 3), tuttavia se noi andiamo ad assegnare i ranghi e calcoliamo il coefficiente di correlazione di Spearman, quello che otteniamo sono tre valori molto vicino ad 1 (Tabella 4), questo indica una forte correlazione per tutti e tre i periodi. I valori di p-value <0.01 sono indice di una significatività statistica (Tabella 4). Queste evidenze permettono di dire che frequenza delle occorrenze e della biomassa, per tutti e tre i campioni di analisi, sono concordi nell'attribuire l'ordine d'importanza alle diverse categorie alimentari.

	ρ_s	p-value
Inverno 2020/21	0,97	<0,01
Inverno 2021/22	0,86	<0,01
Estate 2022	0,96	<0,01

Tabella 4: coefficiente di correlazione tra ranghi di Spearman e relativi p-value

Sulla base di questi risultati e per dare continuità con lo storico dei dati, abbiamo preferito scegliere il metodo delle occorrenze per continuare le analisi della dieta, dato che il metodo risulta il più utilizzato in letteratura.

SPECIE	RISULTATI PRELIMINARI ED ERRORI STANDARD							
	Inverno 2020/2021							
	METODO OCCORRENZE				METODO DELLA BIOMASSA			
	n	f%	ES%	rango	YtotKg	f%	ES%	rango
cinghiale	48	40,3	4,5	2	48,8	52,9	5,2	1
capriolo	52	43,7	4,5	1	26,2	28,4	4,8	2
cervo	0	0	0	11	0	0	0	11
camoscio	7	5,9	2,1	3	3,8	4,1	2,1	5
capra	1	0,8	0,8	7	0,6	0,6	1,1	7
mucca	2	1,7	1,2	6	4,1	4,4	2,1	4
cavallo	0	0	0	11	0	0	0,0	11
pecora	0	0	0	11	0	0	0	11
marmotta	0	0	0	11	0	0	0	11
micromammiferi	0	0	0	11	0	0	0	11
volpe	0	0	0	11	0	0	0	11
lupo	3	2,5	1,5	5	1,3	1,3	1,1	6
mustelidi	0	0	0	11	0	0	0	11
indeterminati	6	5,0	2,0	4	7,6	8,2	2,8	3
TOTALI	119	100%			92,31	100%		

Tabella 5: confronto tra i due metodi per l'inverno 20/21. n indica le occorrenze, f la frequenza e YtotKG, i kg ingeriti per quella specie preda

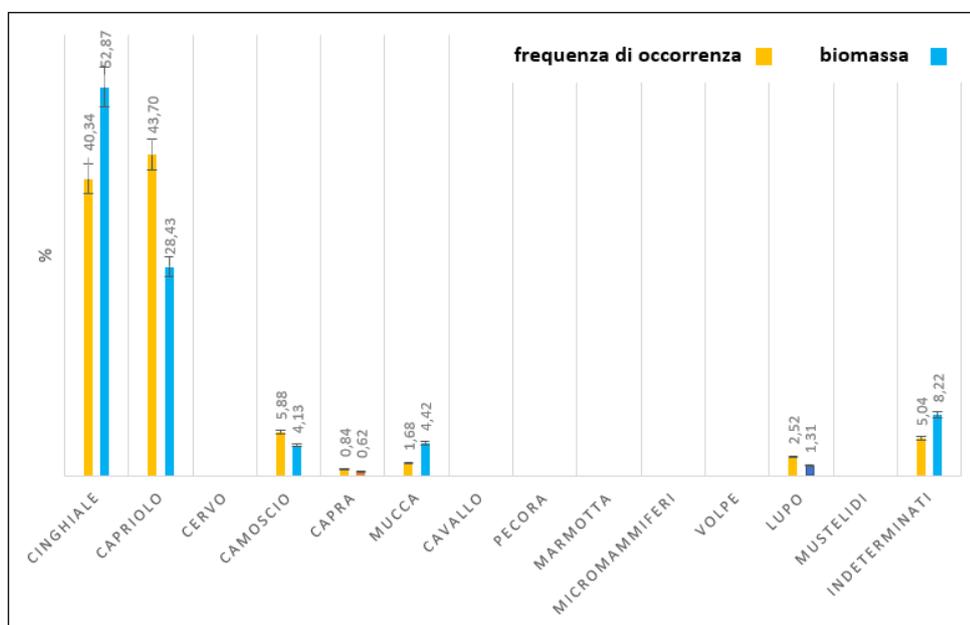


Grafico 1: confronto tra i due metodi inverno 20/21, sulle ascisse le specie preda, sulle ordinate le frequenze percentuali

SPECIE	RISULTATI PRELIMINARI ED ERRORI STANDARD							
	Inverno 2021/2022							
	METODO OCCORRENZE				METODO DELLA BIOMASSA			
	n	f%	ES%	rango	YtotKg	f%	ES%	rango
cinghiale	186	37,3	2,1	1	210,8	52,5	2,5	1
capriolo	178	35,7	2,1	2	90,3	22,5	2,1	2
cervo	14	2,8	0,7	7	26,74	6,65	1,2	3
camoscio	29	5,8	1,1	4	16,01	4,0	1,0	6
capra	30	6,0	1,1	3	18,6	4,6	1,1	5
mucca	1	0,2	0,2	12,5	1,6	0,4	0,4	9
cavallo	0	0	0	14	0	0	0,0	14
pecora	6	1,2	0,3	9	3,35	0,83	0,4	8
marmotta	21	4,2	0,9	5	10,28	2,56	0,8	7
micromammiferi	11	2,2	0,7	8	0,57	0,14	0,2	12
volpe	1	0,2	0,2	12,5	0,36	0,09	0,1	13
lupo	2	0,4	0,2	10	0,6	0,2	0,2	11
mustelidi	2	0,4	0,2	11	0,66	0,16	0,2	10
indeterminati	17	3,4	0,8	6	22,1	5,5	1,1	4
TOTALI	498	100%			401,94	100%		

Tabella 6: confronto tra i due metodi per l'inverno 21/22. n indica le occorrenze, f la frequenza e YtotKG, i kg ingeriti per quella specie preda

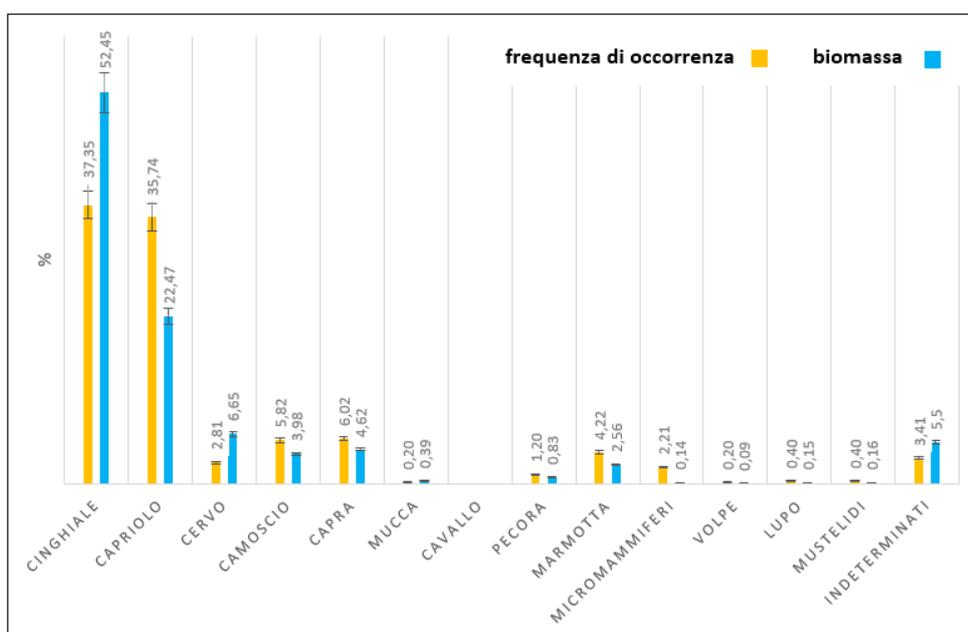


Grafico 2: confronto tra i due metodi inverno 21/22, sulle ascisse le specie preda, sulle ordinate le frequenze percentuali

SPECIE	RISULTATI PRELIMINARI ED ERRORI STANDARD							
	Estate 2022							
	METODO OCCORRENZE				METODO DELLA BIOMASSA			
	n	f%	ES%	rango	YtotKg	f%	ES%	rango
cinghiale	25	21,0	3,7	2	48,8	52,9	5,2	1
capriolo	49	41,2	4,5	1	26,2	28,4	4,8	2
cervo	4	3,4	1,6	6	0	0	0	11
camoscio	10	8,4	2,6	4	3,8	4,1	2,1	5
capra	5	4,2	1,8	5	0,6	0,6	1,1	7
mucca	0	0	0	12	4,1	4,4	2,1	4
cavallo	0	0	0	12	0	0	0,0	11
pecora	2	1,7	1,2	8	0	0	0	11
marmotta	19	16,0	3,2	3	0	0	0	11
micromammiferi	0	0	0	12	0	0	0	11
volpe	1	0,8	0,8	9	0	0	0	11
lupo	0	0	0	12	1,3	1,3	1,1	6
mustelidi	0	0	0	12	0	0	0	11
indeterminati	4	3,4	1,6	7	7,6	8,2	2,8	3
TOTALI	119	100%			92,31	100%		

Tabella 7: confronto tra i due metodi per l'estate. n indica le occorrenze, f la frequenza e YtotKG, i kg ingeriti per quella specie preda

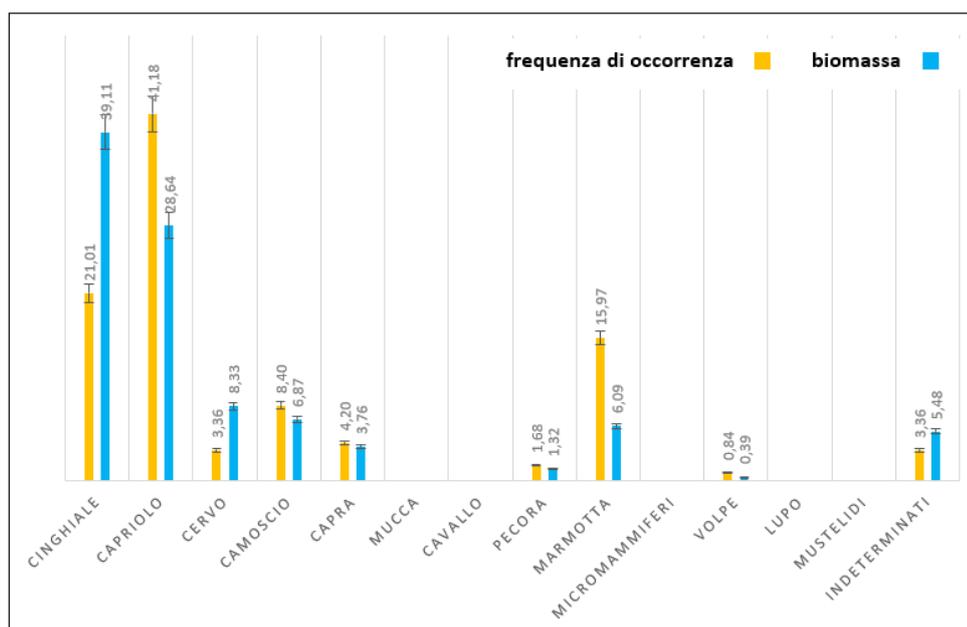


Grafico 3: confronto tra i due metodi estate 2022, sulle ascisse le specie preda, sulle ordinate le frequenze percentuali

Differenze annuali e stagionali

Considerando tutti e tre i periodi di campionamento nel loro insieme sono state riscontrate 13 categorie diverse, senza contare frutta, vegetali e “i non food item” che non rientrano nell’analisi (Grafico 1,2 e 3 sopra). Confrontando i tre periodi distinti non tutte le categorie sono state trovate contemporaneamente e la stagione più diversificata dal punto di vista trofico risulta l’inverno 2021/22. Dai Grafici 1,2 e 3:

Nell’inverno 2020/21 le categorie alimentari riscontrate sono state 7 ovvero il 53.8% delle totali. Una categoria (“capra”) ha presentato una frequenza <1, tutte le altre invece sono state al di sopra. La categoria più abbondante è “capriolo” con una frequenza di 43.7 ± 4.5 % ES, seguita da “cinghiale” 40.3 ± 4.5 % ES. Al terzo posto troviamo la categoria “camoscio” con una frequenza di 5.9 ± 2.1 % ES. I domestici sono rappresentati da “capra” 0.8 ± 0.8 % ES e “mucca” 1.7 ± 1.2 % ES. Tre fatte contenevano peli di lupo, ovvero il 2.5 ± 2.0 %, ma in tutti e tre i campioni, questi peli erano in traccia rispetto ad erba e/o frammenti irricognoscibili di osso quindi probabilmente erano riconducibili a “self-grooming”.

Nell’inverno 2021/22 le categorie alimentari riscontrate sono state 13 ovvero tutte quelle possibili. Quattro categorie (“mucca”, “volpe”, “lupo”, “mustelidi”) hanno presentato una frequenza <1, tutte le altre invece sono state al di sopra. La categoria più abbondante è “cinghiale” con una frequenza di 37.3 ± 2.1 % ES, seguita da “capriolo” 35.7 ± 2.1 % ES. A differenza dell’inverno precedente, qui riscontriamo la categoria “cervo” con frequenza 2.8 ± 0.7 % ES. I domestici sono rappresentati da “capra” 6.0 ± 1.1 % ES, “mucca” 0.2 ± 0.2 % ES e “pecora” 1.2 ± 0.3 % ES. 32 fatte contenevano peli appartenenti alla classe R.I.L., in particolare abbiamo riscontrato “marmotta” con una frequenza di 4.2 ± 0.9 % ES e “micromammiferi” con il 2.2 ± 0.7 % ES. La macrocategoria dei macromammiferi è rappresentata da tracce di tutte e tre le specie.

Nell’estate 2022 le categorie alimentari riscontrate sono state 9 ovvero il 69.2% delle totali. Una categoria (“volpe”) ha presentato una frequenza <1, tutte le altre invece sono state al di sopra. La categoria più abbondante è “capriolo” con una frequenza di 41.2 ± 4.5 % ES, seguita da “cinghiale” 21.0 ± 3.7 % ES.

Al terzo posto troviamo la categoria “*marmotta*” con una frequenza di 16.0 ± 3.2 % ES. Anche qui la categoria “*cervo*” è intorno al 3% (3.4 ± 1.6 % ES), mentre la categoria “*camoscio*” aumenta a 8.4 ± 2.6 % ES. I domestici sono rappresentati da “*capra*” 4.2 ± 1.8 % ES e “*pecora*” 1.7 ± 1.2 % ES. Di nuovo la macrocategoria dei macromammiferi è rappresentata da tracce, ma in questo caso di una sola specie, la volpe (0.8 ± 0.8 % ES).

In tutti e tre i campioni analizzati, le due specie più frequenti nella dieta risultano sempre il capriolo (media: 40.2 ± 3.7 % ES) e il cinghiale (media: 32.9 ± 3.4 % ES): Nel confronto tra gli inverni 2020/21 e 2021/22 le due specie non mostrano differenze statistiche significative. Si registra solamente un calo di occorrenze nel campione 2021/22 ed in particolare nel periodo estivo della specie cinghiale che infatti passa da una media invernale di 38.8 ± 3.3 % ES), ad una frequenza di 21.0 ± 3.7 % ES estiva. La frequenza del capriolo rimane invece pressappoco simile nei tre periodi (DS= 4.1, $p > 0,05$), anche se risulta più bassa nel secondo inverno.

La categoria “*cervo*” compare nella dieta solo per l’anno di campionamento 2021/22, con una frequenza intorno al 3% (DS= 0.4), senza differenze tra inverno ed estate.

Per quanto riguarda il “*camoscio*” si riscontra una crescita nell’estate del 2.6% rispetto alla media invernale, mentre mostra valori costanti per i due inverni (5.9% e 5.8% , DS=0)

Gli ungulati domestici sono rappresentati dalle categorie “*capra*”, “*pecora*”, “*mucca*” e compaiono nei tre campioni con il 2.5 %, 7.43% e 5.88% rispettivamente nell’inverno 2020/21, inverno 2021/22 ed estate 2021/22, con una media totale invernale di 5.0 ± 0.6 % ES e di 5.9 ± 1.5 % ES per l’estate. Il valore più alto di frequenza si è ottenuto nell’inverno 2021-2022 e la deviazione standard per i tre periodi è di 2.5.

La categoria R.I.L. è rappresentata dalla “*marmotta*” e dai “*micromammiferi*” è la categoria che presenta il più alto incremento dall’inverno 2020 all’estate 2022 dovuta soprattutto alla maggior frequenza di occorrenza di campioni contenenti “*marmotta*”. Infatti, mentre i “*micromammiferi*” sono presenti solo nell’inverno 2021/22 con una frequenza di 2.2 ± 0.7 % ES, la “*marmotta*” passa da 0% del primo inverno a 16.0 ± 3.2 % ES dell’estate.

La categoria dei “*macromammiferi*”, contenente, “*volpe*”, “*lupo*”, e “*mustelidi*” in tutte e tre le stagioni risulta avere le percentuali più basse, sempre <3% e in decrescita dall’inverno 2020-2021 all’estate 2022. Gli andamenti qui descritti sono stati riassunti nei Grafici 4 e 5.

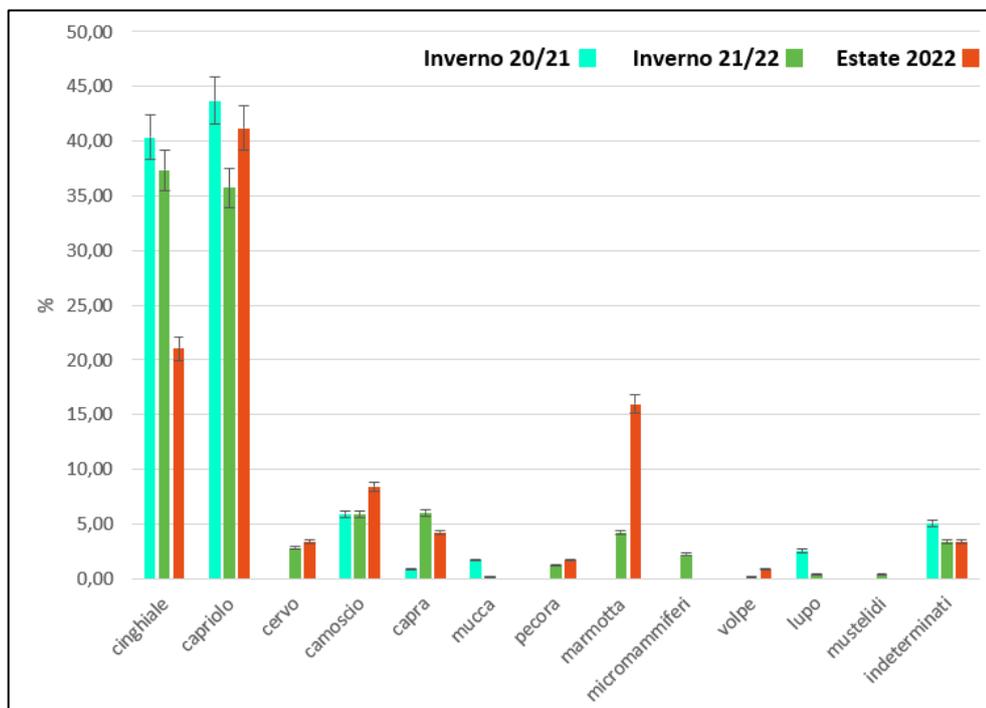


Grafico 4: specie a confronto per tutti e tre i periodi di campionamento considerando la frequenza delle occorrenze

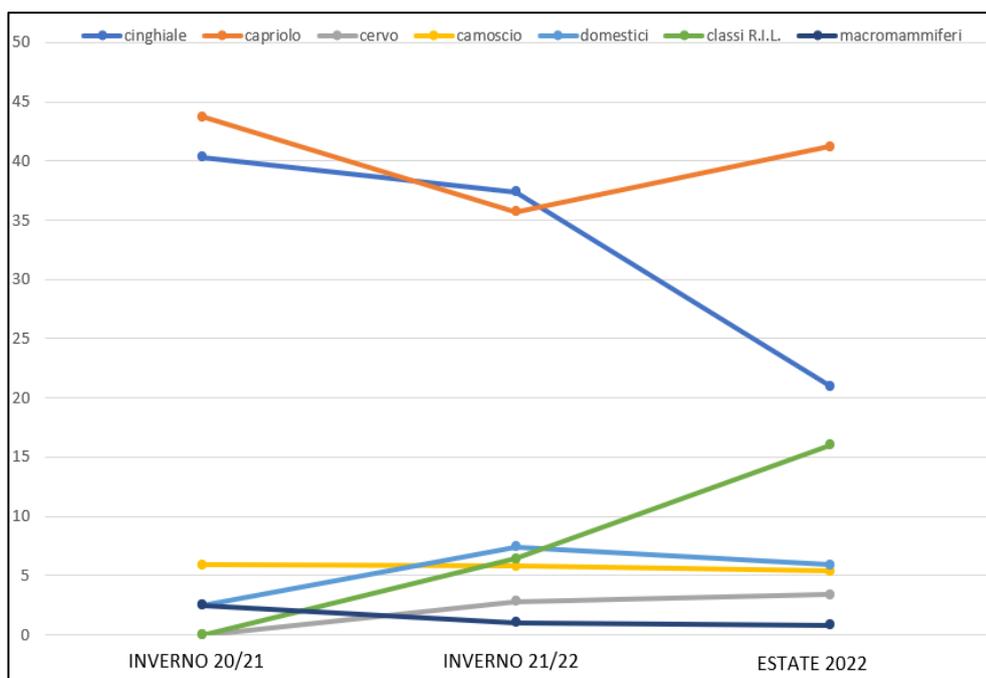


Grafico 5: andamenti delle specie preda nei tre periodi

Per poter mostrare una visione globale dei tre periodi, le categorie sono state accorpate in 5 gruppi, su cui si possono fare ulteriori considerazioni: gli ungulati selvatici costituiscono la maggior parte della dieta del lupo nell'area di studio con una media dei tre periodi del 78.7% delle occorrenze. Gli ungulati domestici risultano soltanto per il 4.7%, altre categorie di mammiferi al 4.9% e gli indeterminati, dovuti all'impossibilità dell'operatore di distinguere la specie d'appartenenza dei resti nelle fatte, del 3.7% (*Tabella 8*).

Categorie di occorrenza	Periodi campionati a confronto					
	inverno20/21		inverno21/22		Estate 2022	
	<i>n</i>	<i>f%</i>	<i>n</i>	<i>f%</i>	<i>n</i>	<i>f%</i>
Ungulati selvatici	107	89,92	407	81,73	88	73,95
Ungulati domestici	3	2,52	37	7,43	7	5,88
classi R.I.L.	0	0	32	6,43	19	15,97
macro-mammiferi	3	2,52	5	1,00	1	0,84
indeterminati	6	5,04	17	3,41	4	3,36

Tabella 8: % di occorrenza per le categorie accorpate, la classe R.I.L. accorpa i dati dei micromammiferi e della marmotta, i macromammiferi invece sono rappresentati dai mustelidi e dai canidi

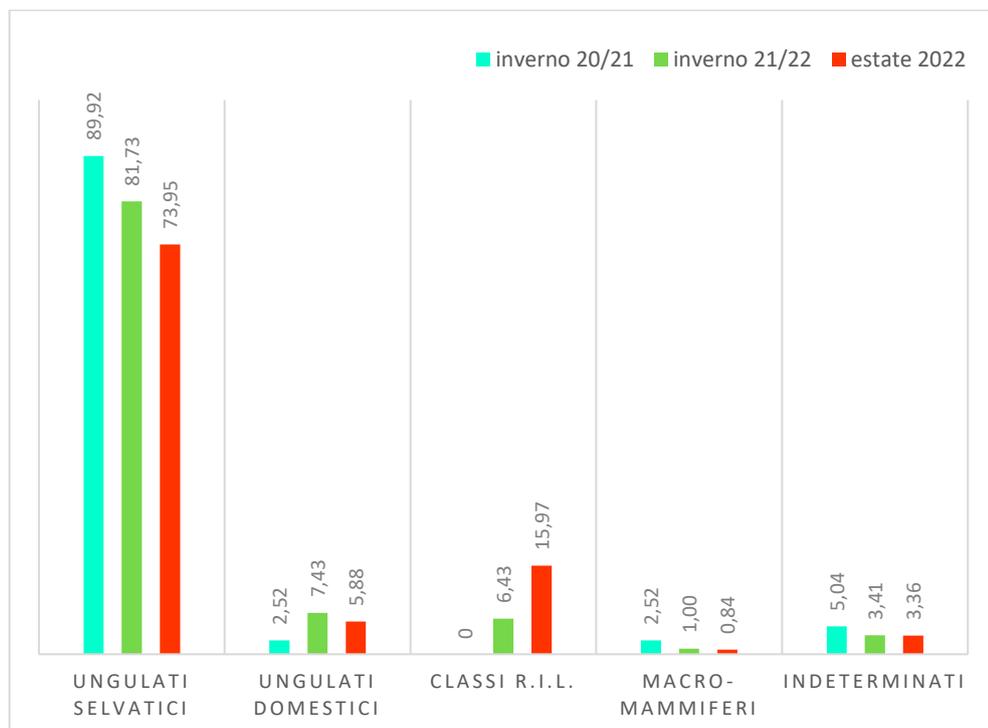


Grafico 6: sulle ascisse le categorie accorpate a confronto, sulle ordinate le % di occorrenza

Le cinque categorie usate per descrivere in modo globale i dati, vengono anche usate per fare i confronti valutati con il test esatto di Fisher. Queste cinque categorie sono state usate anche per il test, perché permettono di dividere il campione in modo equo senza dover accorpare quantità che si sarebbero perse nel calcolo. Scegliere per esempio di usare le categorie “cinghiale” e “capriolo” divise dagli altri ungulati selvatici, avrebbe comportato un accorpamento troppo generico tra i dati della “classe R.I.L” e quella dei “macromammiferi”. Quello che si può osservare dalla *Tabella 9* è che abbiamo una significativa differenza tra i due inverni, una differenza altamente significativa tra l’estate 2022 e l’inverno 2020/21 e che non c’è differenza tra l’estate e l’inverno 2021/2022.

P-VALUE CON 5 CATEGORIE		
	inverno2021/22	estate 2022
inverno2020/21	0,03	<0,001
estate 2022	0,2	

Tabella 9: valori di p-value per il test esatto di Fisher

Differenze alimentari tra i branchi

Le differenze della dieta dei due branchi è stata indagata solo per l’inverno 2020/21 considerando le analisi solo delle fatte di cui si hanno dati genetici.

SPECIE	FREQUENZE D'OCCORRENZA, CONFRONTO TRA I DUE BRANCHI							
	branco della Val Pesio				branco della Val Vermenagna			
	n	f%	ES%	rango	n	f%	ES%	rango
cinghiale	6	42,9	0,1	1	1	20	0,2	2
capriolo	5	35,7	0,1	2	4	80	0,2	1
camoscio	1	7,1	0,07	4	0	0	0	4
capra	1	7,1	0,07	4	0	0	0	4
indeterminati	1	7,1	0,07	4	0	0	0	4
TOTALI	14	100%			5	100%		

Tabella 10: differenze delle frequenze di occorrenza nelle specie preda, confronto tra i due branchi

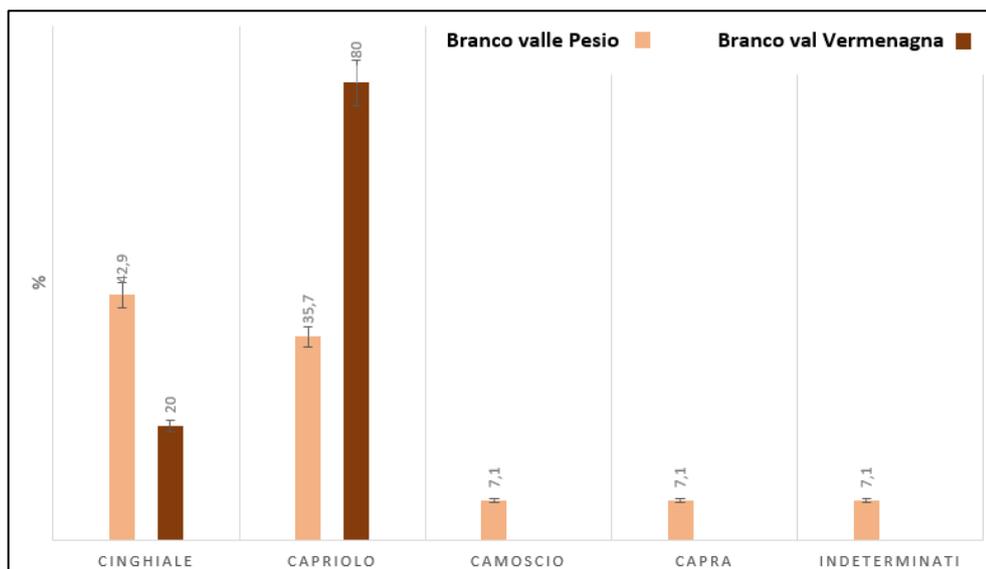


Grafico 7: confronto della dieta sulle fatte analizzate per la genetica

La dieta tra i due branchi differisce in modo statisticamente significativo (p-value << 0.001) anche se, come precedentemente specificato, è da considerare che il numero esiguo di campioni analizzati, soprattutto per la Val Vermenagna rende i risultati puramente indicativi. Dai risultati emerge che nel branco della Valle pesio le due specie più frequenti sono cinghiale e a seguire il capriolo. Mentre nel branco della Val Vermenagna è il capriolo la specie nettamente più comune con l'80% delle occorrenze.

Per provare ad aumentare il campione, attraverso QGIS (versione 3.16), abbiamo separato tutte le fatte raccolte per la dieta nel 2020/21 in due gruppi usando come separatore l'alveo del fiume che abbiamo detto prima essere il confine tra i due branchi (*Figura 9*). In questo modo possiamo avere qualche campione in più per eseguire le analisi. Il problema è che di questi dati non abbiamo la certezza genetica, facciamo solo affidamento al comportamento territoriale dei branchi e al fatto che di norma evitano di uscire dai loro reciproci territori (Bassi et al. 2015).

Anche considerando il campione sulla base della separazione territoriale, che ha permesso di aumentare un minimo il numero di fatte da attribuire ai due branchi (81 per la Valle Pesio e 17 per la Val Vermenagna) le differenze rimangono invariate (*Tabella 11*)

La dimensione e la selezione del campione per questa analisi rimane comunque un problema, anche usando tutte le fatte 2020/21 suddivise territorialmente: la Val Vermenagna presenta comunque un numero basso di campioni e arriva ad una percentuale di 1.4%, ancora troppo bassa per ricavarci uno studio statisticamente solido.

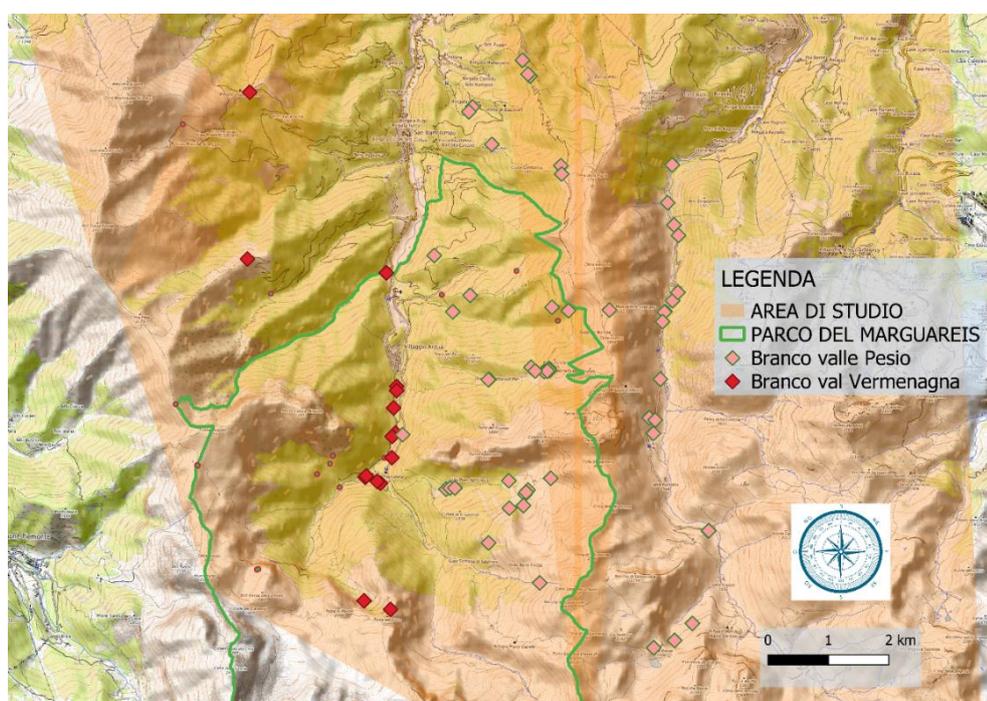


Figura 11: campioni raccolti per la dieta separati nei due rami di ipotetica appartenenza

SPECIE	FREQUENZE D'OCCORRENZA, CONFRONTO TRA I DUE BRANCHI							
	branco della Val Pesio				branco della Val Vermenagna			
	n	f%	ES%	rango	n	f%	ES%	rango
cinghiale	36	44,4	0,06	1	3	17,6	0,09	2
capriolo	29	35,8	0,05	2	13	76,5	0,1	1
camoscio	5	6,2	0,03	4,5	1	5,9	0,07	3
altro	5	6,2	0,03	4,5	0	0	0	4,5
indeterminati	6	7,4	0,03	3	0	0	0	4,5
TOTALI	81	100%			17	100%		

Tabella 11: differenze delle frequenze di occorrenza nelle specie preda ricalcolate, confronto tra i due rami

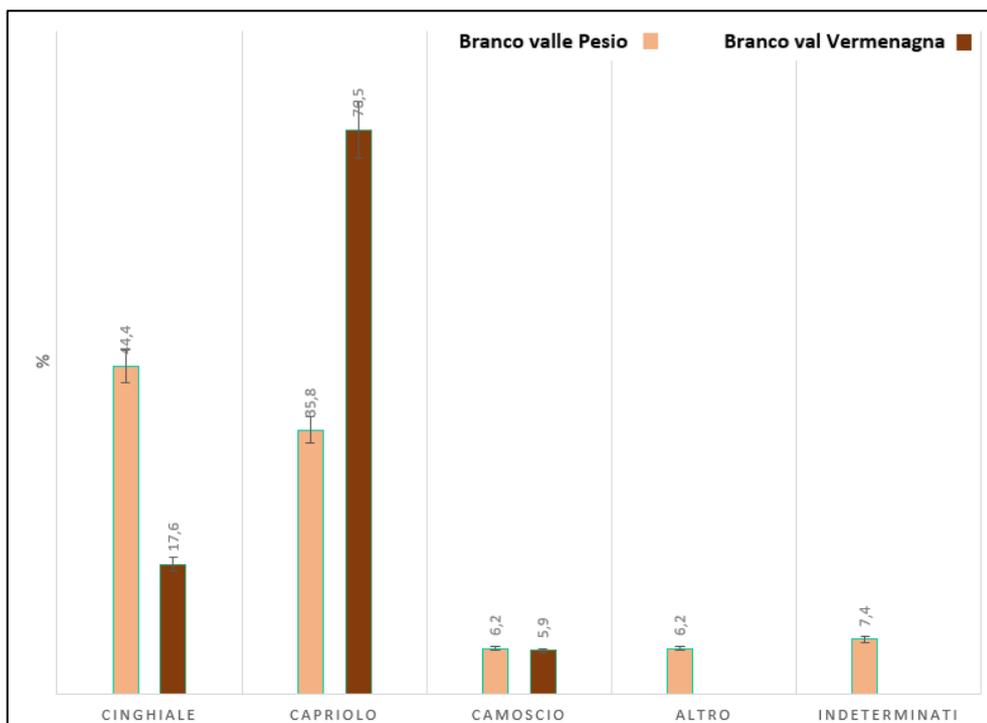


Grafico 8: confronto della dieta sulle fatte suddivise, ipoteticamente, tra i branchi

4.4. COMPORTAMENTO DI MARCATURA

Dall'analisi sul comportamento di marcatura dei campioni considerati (*Grafico 9*), emerge che tra gli individui alpha (e.g. i genitori), 7 fatte (ovvero il 47.1%) rientrano nei 20m di distanza da incroci o creste, mentre per i giovani abbiamo una frequenza del 29.4%. Le fatte degli alpha mostrano più spesso una vicinanza ai punti marcabili ma le differenze non risultano statisticamente significative (p-value = 0.6) neanche accorpendo le distanze in due sole classi, maggiore o minore di 40 metri (p-value di 0.4).

Non viene quindi dimostrata alcuna significativa differenza tra individui dominanti e giovani nel comportamento di marcatura.

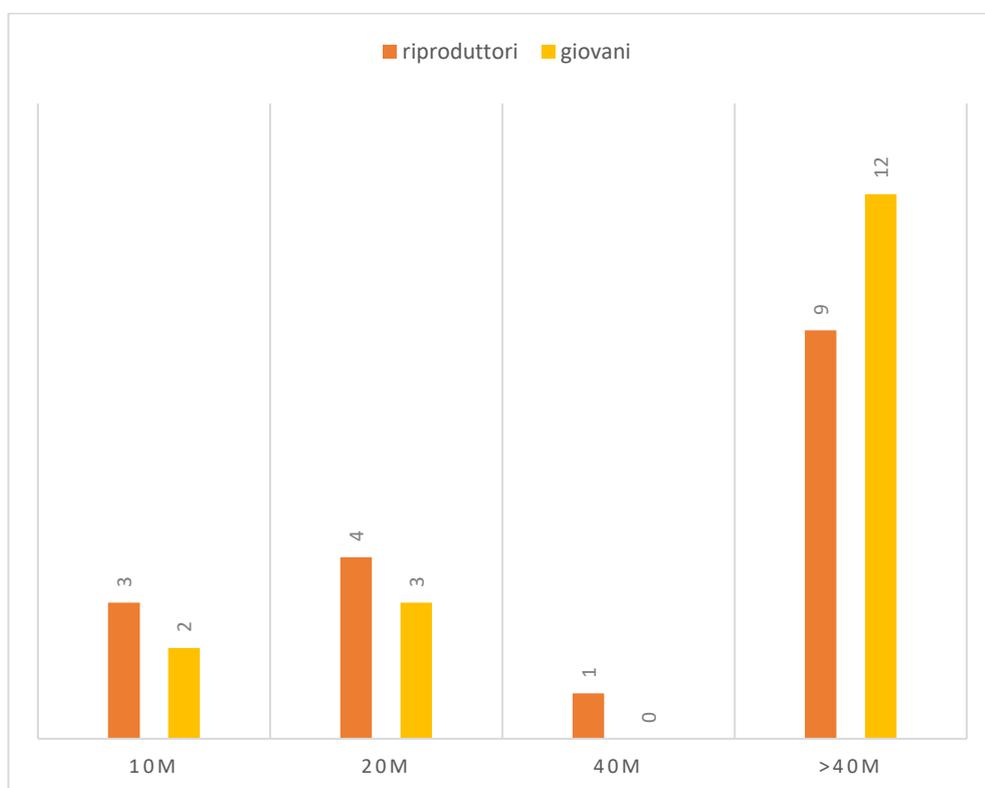


Grafico 9: confronto del numero di fatte deposte dagli individui Alpha, rispetto ai giovani, in relazione ai buffer di distanza dagli incroci

5. DISCUSSIONE

5.1 L'ECOLOGIA ALIMENTARE DEL LUPO NELLE ALPI MARITTIME

Nell'area di studio da noi considerata sono stati svolti, negli anni, diversi studi sull'ecologia alimentare del lupo (Marucco et al. 2005; Ciampichini, 2005; Marucco et al. 2007; Marucco et al. 2008; Regine, 2008; Rizzuto, 2011). Quello che risulta da questi lavori, è la predominanza delle prede selvatiche sia nelle stagioni invernali che in quelle estive con una maggior presenza di ungulati selvatici rispetto ad altri mammiferi.

La dieta può essere analizzata utilizzando diversi metodi di quantificazione (Floyd, 1978; Scott e Schackleton, 1980; Corbett, 1989; Weaver, 1993; Huggard, 1993; Ciucci et al. 1996; Livaitis et al. 2000; Spaulding et al. 2000). Nel presente lavoro, come prima analisi esplorativa, sono stati utilizzati il metodo della frequenza delle occorrenze e il calcolo della biomassa: il primo, infatti, risulta essere il più frequentemente utilizzato, fondamentale per una comparazione fra studi diversi; i risultati forniti dal secondo, invece, vengono generalmente considerati un'approssimazione migliore della dieta come apporto nutritivo, tenendo in considerazione la taglia degli animali consumati (Klare et al., 2011).

A seguito del confronto tra i due metodi, come suggerito da Ciucci et al. (2001), si è poi scelto di continuare le analisi successive con il metodo della frequenza relativa delle occorrenze. Essendo una metodologia molto utilizzata (Scott & Schackleton, 1980; Reynolds & Aebischer 1991; Ciucci et al. 1996), uno dei suoi vantaggi è di avere linearità con gli studi condotti in passato ed in altre aree di studio. Essa non fornisce però informazioni sull'importanza relativa di ogni categoria alimentare dal punto di vista nutrizionale (biomassa ingerita). Tende infatti a sovrastimare l'importanza di quelle categorie alimentari che possono comparire frequentemente nelle feci ma dallo scarso valore nutritivo (insetti, semi, ...) e ad attribuire la stessa importanza a categorie alimentari di dimensioni molto diverse tra loro. Questi limiti sono però minimizzati nel caso in cui la dieta sia rappresentata soprattutto da categorie alimentari di alto valore nutritivo e strutturalmente simili (Voight, 1976; Ciucci, 1994) come gli ungulati selvatici, condizione che si verifica nel nostro caso considerando l'abbondanza riscontrata di questa macrocategoria in questo lavoro e nei precedenti. Questo metodo inoltre può indurre in un bias

per quanto riguarda la stima di alcune classi di specie come ad esempio quelle costituite da peli più lunghi del diametro della valvola pilorica dello stomaco del lupo, i quali possono rimanere “intrappolati” e risultare poi diluiti in diverse fatte. Per questo motivo, come nel lavoro di Ciucci et al. (1996), nell’analisi non sono state considerate le categorie alimentari le cui proporzioni fossero inferiori al 3%. Il metodo di stima della biomassa è quello in cui, partendo dal volume dei resti indigesti di una fatta, si arriva a calcolare la biomassa effettivamente ingerita dal lupo (Floyd et al., 1978). Con esperimenti di alimentazione di lupi in cattività (feeding trials) si crea un’equazione, basata sul modello della regressione lineare, che relaziona il peso di ciascuna specie-preda alla quantità di resti indigesti nelle fatte. Anche questo metodo è spesso usato in bibliografia, ma con alcuni diversi accorgimenti riguardanti l’equazione che viene calcolata in base alle specie preda più comuni dell’area dove si svolge lo studio. I modelli classici di Floyd et al. (1978) e Weaver (1993) sono basati su prede nordamericane; il lavoro di Ruhe et al. (2003) è stato effettuato utilizzando specie-preda europee le quali, però, non comprendono tutte le potenziali prede presenti nella nostra area di studio. Per questo si è preferito scegliere il modello di Ciucci et al. (2001), perché ritenuto essere più preciso per i dati a nostra disposizione, essendo calibrato su prede italiane. Anche questo metodo però presenta dei limiti: se da una parte il metodo delle occorrenze attribuisce la medesima importanza nella dieta a due specie che occorrono lo stesso numero di volte, anche se esse sono di dimensioni molto diverse, il metodo di stima della biomassa assume che la preda di cui si va a stimare la biomassa sia stata consumata completamente, cosa che non sempre avviene e, in questo caso, non si sa quanta parte dell’animale sia stata effettivamente mangiata (Corbett, 1989). Entrambi i metodi presentano quindi dei vantaggi e usarli contemporaneamente, fornisce un maggior numero di informazioni utili ad interpretare i risultati e permette di dare una maggior solidità al lavoro svolto, anche perché la concordanza dei due metodi nell’attribuire l’importanza delle specie preda nella dieta, avvalorava il fatto che il nostro lavoro conferma nuovamente la prevalenza degli ungulati selvatici nella dieta dei branchi come per gli studi passati. Non si è ritenuto opportuno usare ulteriori metodi di analisi della dieta oltre ai due citati, quali il metodo del volume cumulativo o le stime di biomassa di Floyd o di Weaver,

poiché altri lavori hanno già dimostrato che questi metodi conducono a risultati tra loro equivalenti (Ciucci et al. 1996; Marucco, 2001).

Le differenze tra aree, branchi e stagioni sono di particolare interesse per comprendere al meglio l'ecologia alimentare della specie. Fattori come la riproduzione, l'uso del territorio o le dinamiche interne a una popolazione di prede seguono trend stagionali e quindi probabilmente anche l'utilizzo e la selezione della preda da parte del lupo risultano influenzate dalla stagionalità (Pole, 2004). Altri fattori importanti sono l'altezza del manto nevoso (Huggard, 1993; Jedrzejewski et al. 2002), il numero di lupi nel branco (Hayes, 2000), la disponibilità di prede alternative (Dale et al. 1994). Nel nostro caso specifico non vengono evidenziate differenze statistiche tra l'inverno 2021/22 e l'estate 2022, questo forse dovuto nuovamente alle condizioni climatiche e alla poca durata del manto nevoso, le due stagioni non sono differite molto almeno sotto questo aspetto. Vengono invece evidenziate differenze più significative tra il primo inverno (2020/21) e l'estate, forse legate alla riduzione dell'uso della specie cinghiale e la differenza molto elevata della categoria "Classi R.I.L." (Roditori, Insettivori, lagomorfi) assente nel primo inverno e presente nell'estate (aumento dovuto prevalentemente al rilevamento nella dieta della marmotta). Viene poi evidenziata una differenza significativa anche tra i due inverni, probabilmente legata all'aumento delle percentuali dei domestici del secondo inverno e nuovamente alla presenza della classe R.I.L. solo nell'inverno 2021/22.

Negli studi passati le differenze stagionali erano anche dovute all'aumento estivo del camoscio, oltre che degli ungulati domestici che aumentano durante questo periodo per via degli alpeggi in quota, in questo lavoro invece il camoscio rimane costante e le predazioni su domestico sono veramente molto ridotte in generale e presentano un apice nel secondo inverno e una diminuzione durante l'estate. Questo dato potrebbe essere indice di un miglioramento nei risultati ottenuti dai sistemi di prevenzione usati dagli allevatori in quota, ma questo aspetto andrebbe meglio approfondito con ulteriori analisi. Per quanto riguarda il camoscio risulta effettivamente un leggero aumento estivo, ma non è comparabile con quello che si verificava negli studi passati. Il camoscio presenta basse percentuali invernali in quanto essendo animale alpino di quota è ben adattato alla neve (Poule, 1997), quindi

più difficile da predare, inoltre in inverno il suo areale non coincide con quello dei lupi che tendono a scendere a quote più basse (Kunkel, 1997). La costanza stagionale riscontrata nel nostro lavoro potrebbe essere associata nuovamente alle condizioni climatiche invernali meno rigide: meno precipitazioni nevose e minor permanenza al suolo anche in quota, potrebbero aver permesso ai lupi di sfruttare il camoscio per archi temporali più lunghi portando ad ottenere percentuali molto simili tra le stagioni. In generale le specie più rappresentate nell'analisi della dieta sono capriolo e cinghiale, in accordo con quanto emerso negli studi precedenti. Negli anni passati, le due prede presentavano valori più alti negli inverni e si alternavano nell'abbondanza tra prima e seconda specie più usata a seconda della stagione considerata. Ciò potrebbe essere spiegato con le differenze climatiche tra le stagioni e gli anni: molti studi evidenziano come alti manti nevosi mettano più in difficoltà il capriolo rispetto al cinghiale (Huggard, 1993c; Jedrzejewski et al. 2002) quindi inverni più nevosi erano caratterizzati da un aumento significativo del capriolo (Ciampichini, 2005). Nel nostro caso, anche se le due specie presentano differenze minime, riscontriamo che effettivamente il capriolo presenta numeri maggiori nell'inverno 2020/21 rispetto all'inverno 2021/2022 in generale e rispetto al cinghiale, mentre nel secondo inverno le due specie presentano percentuali simili. Da un punto di vista climatico, in effetti, il primo inverno è stato più ricco di precipitazioni nevose rispetto al secondo e il fatto che le due specie presentino numeri comunque paragonabili potrebbe essere dovuto al fatto che entrambi gli inverni siano risultati meno abbondanti rispetto a quelli degli anni passati. In ogni caso non è possibile stabilire una relazione di causa effetto con solo due anni di dati e sarebbe interessante approfondire questo aspetto analizzando le differenze riscontrate nella dieta con le precipitazioni nevose in più anni.

Per quanto riguarda l'aumento estivo della classe R.I.L.: le percentuali sono in accordo con quanto riscontrato in studi passati, ed è correlabile all'aumento di queste prede nella bella stagione, mentre durante l'inverno sono in letargo. È invece da notare l'incremento della specie marmotta i cui valori riscontrati nel presente studio sono maggiori rispetto a quelli evidenziati dai lavori precedenti. Anche questo fatto andrebbe analizzato ulteriormente comparandolo con uno studio di densità della popolazione della preda in questione per verificare se sia dovuto a differenze demografiche della specie preda o di un diverso

comportamento alimentare da parte del lupo. Da sottolineare che la marmotta e tutta la classe R.I.L. rimane comunque una categoria secondaria rispetto agli ungulati selvatici.

Per quanto riguarda invece il cervo, molti studi dimostrano che i lupi, in sistemi multi-preda presentano un alto utilizzo di questa specie (Jedrzejewski et al. 2002; Smietana, 2005). Nella nostra area di studio, i lavori passati dimostrano che è la preda più selezionata pur avendo percentuali inferiori rispetto ad altri ungulati selvatici (Marucco et al. 2008). Nel nostro caso, il cervo compare come specie preda solo nell'anno di tesi, sui campioni 2020/21 non ne è riscontrata la presenza nella dieta (ma questo potrebbe essere dovuto alla dimensione più ridotta del campione). Le sue percentuali rimangono invece costanti tra inverno ed estate 2021/22.

Per quanto riguarda l'analisi della dieta a livello dei singoli branchi, le diete nei due branchi sono risultate significativamente differenti: il branco della Valle Pesio ha percentuali più alte per il cinghiale e mostra un utilizzo dei domestici, mentre il branco della Val Vermenagna ha un utilizzo in percentuale più alto del capriolo e non presenta utilizzo di animali domestici. Negli studi condotti negli anni passati è evidente che branchi di aree diverse abbiano un'alimentazione diversa, che dipende anche con quali prede condividono il territorio. Queste differenze solitamente sono meno accentuate tra branchi limitrofi (Regine, 2008). I nostri risultati potrebbero essere dovuti al ridotto campione analizzato a tal scopo, soprattutto per quanto riguarda il branco della Val Vermenagna. Considerando le fatte 2020/21 raccolte per la dieta in base alla distribuzione territoriale calcolata sulla base della genetica, il campione risulta piccolo e non permette di ottenere un risultato statisticamente significativo che rifletta una reale differenza di alimentazione tra i due branchi. Sarà interessante indagarlo con studi futuri su un numero maggiore di campioni analizzati sia per la genetica che per la dieta.

5.2 IL COMPORTAMENTO DI MARCATURA, POSSIBILI SVILUPPI

Anche per questa analisi il campione risulta troppo piccolo per risultati significativi, in ogni caso queste prime analisi possono essere considerate uno studio pilota per eventuali analisi successive. Diversi studi hanno dimostrato che i lupi preferiscano alcuni siti rispetto ad altri per marcare il territorio (Barja

et al. 2004), questo per altro aiuta nel campionamento e nella ricerca delle fatte, perché si presta attenzione a tutti quei luoghi ritenuti altamente idonei come per l'appunto gli incroci, le creste e gli elementi marcabili. Tuttavia questo comportamento non dimostra se le fatte hanno davvero valenza di marcatura odorosa e quindi se vengono deposte in certi punti strategici solo dagli individui dominanti. Il nostro lavoro non sembrerebbe portare prove a sostegno di questa teoria, non evidenziando alcuna correlazione tra il rango dei lupi e la marcatura del territorio.

Ovviamente un'analisi fatta su un campione di dimensioni più grandi e con dati più precisi sulla marcatura potrebbe portare ad un risultato differente, magari indagando contemporaneamente la presenza e la quantità di feromoni nelle fatte ritrovate nei punti di marcatura si potrebbe condurre uno studio più completo. In ambito chimico, un'analisi di questo genere sfrutterebbe una gascromatografia associata ad una spettrometria di massa (Farine et al. 2012) per determinare il quantitativo di feromoni presenti nelle fatte da associare al rango e alla vicinanza ad un punto marcabile. Un'analisi condotta in questo modo metterebbe in relazione lo status degli animali, la presenza dei feromoni e la vicinanza ai punti marcabili e potrebbe dirci se c'è correlazione tra dominanza di un individuo, scelta del luogo di marcatura e secrezione delle molecole odorose.

6. CONCLUSIONI

- La dieta dei lupi delle Alpi Marittime, è basata principalmente sugli ungulati selvatici, quali capriolo e cinghiale. Altre prede sono i roditori come la marmotta (prevalentemente solo in estate) e in minima parte gli ungulati domestici, questo indica un'efficacia dei sistemi di prevenzione in atto.
- Vengono riscontrate minori differenze stagionali rispetto agli studi passati, forse associate a minori differenze climatiche tra i periodi considerati.
- L'analisi genetica mostra la presenza di due branchi per l'anno 2020/21 che presentano differenze statisticamente importanti nell'ecologia alimentare.
- L'analisi non dimostra alcuna correlazione tra il rango dei lupi e il sito di deposizione delle fatte quindi nessuna relazione tra deposizione in siti specifici e stato sociale degli individui.
- Sarebbe utile svolgere dei lavori ulteriori per associare o meno alle differenze stagionali gli andamenti climatici e condurre le analisi sulle differenze dell'ecologia alimentare tra branchi e delle marcature su un campione di dimensioni maggiori
- Viene dimostrato che, anche se la densità dei branchi di lupo è in aumento a scala locale rispetto agli studi passati, l'ecologia alimentare continua ad essere rappresentata da ungulati selvatici, mentre la proporzione rappresentata dagli ungulati domestici è minima, e addirittura diminuita rispetto a 10 anni fa.

7. BIBLIOGRAFIA

Akrim F., Mahmood T., Max T., Nadeem M. S., Qasim S., Andleeb S. (2018). Assessment of bias in morphological identification of carnivore scats confirmed with molecular scatology in north-eastern Himalayan region of Pakistan. *PeerJ* 6:e5262

Andersen L. W., Harms V., Caniglia R., Czarnomska S., Fabbri E., Jędrzejewska B., Kluth G., Madsen A., Nowak C., Pertoldi C., Randi E., Reinhardt I. & Vik Stronen A. (2015) Long-distance dispersal of a wolf, *Canis lupus*, in northwestern Europe, *Mamm Res* 60: 271 pp.

Asa, CS., Peterson, EK., Seal, US., Mech, LD. (1985) . Deposition of anal-sac secretions by captive wolves (*Canis lupus*). *Journal of Mammalogy*, 66: 89-93 pp.

Avanzinelli E., Perrone D., Menzano A., Bertotto P., Bionda R., Boiani M. V, Ferraro G., Martinelli L., Russo I., Friard O., Marucco F. (2022). Il lupo in regione Piemonte 2020/2021. Relazione tecnica dell'attività di monitoraggio nazionale nell'ambito del Piano di Azione del lupo ai sensi della Convenzione ISPRA MITE e nell'ambito del Progetto LIFE 18 NAT/IT/000972 WOLFALPS EU.

Barja I., de Miguel FJ., Bárcena F. (2004) The importance of crossroads in faecal marking behaviour of the wolves (*Canis lupus*). *Naturwissenschaften* (10): 489-92 pp.

Bassi E., Willis S. G., Passilongo D., Mattioli L., Apollonio M. (2015). Predicting the Spatial Distribution of Wolf (*Canis lupus*) Breeding Areas in a Mountainous Region of Central Italy. *PLoS ONE* 10 (6): e0124698.

Benson JF., Loveless KM., Rutledge LY., Patterson BR. (2017) Ungulate predation and ecological roles of wolves and coyotes in eastern North America. *Ecol Appl*; 27(3):718-733 pp.

Boitani L. (1992). Wolf research and conservation in Italy. *Biological Conservation* 61: 125-132 pp.

Briscoe BK., Lewis MA., Parrish SE. (2002) Home range formation in wolves due to scent marking. *Bull Math Biol*.;64(2):261-84 pp.

Brunetti R. Distribuzione storica del lupo in Piemonte, Valle d'Aosta e Canton Ticino (1984) *Riv. Piem. St. Nat.* 5:7-22 pp.

Caniglia R., Fabbri E., Greco C., Galaverni M., Randi E. (2010) Forensic DNA against wildlife poaching: identification of a serial wolf killing in Italy. *Forensic Sci Int Genet.* 4(5): 334-8 pp.

Caniglia R., Fabbri E., Galaverni M., Milanese P., Randi E. (2014). Noninvasive sampling and genetic variability, pack structure, and dynamics in an expanding wolf population. *Journal of Mammalogy*, 95(1): 41–59 pp.

Capitani C., Bertelli I., Varuzza P. (2004) Un'analisi comparativa della dieta del lupo (*Canis lupus*) in tre diversi ecosistemi italiani. *Mamm Biol* 69, 1–10 pp.

Carbyn L. N., Fritts S.H., & Seip D.R. editors. (1995) Ecology and conservation of wolves in a changing world. Canadian Circumpolar Institute, University of Alberta, Edmonton, Canada.

Ciampichini, C. (2006).- Ecologia alimentare del lupo sulle Alpi Liguri e Marittime. Tesi di laurea. Università degli studi di Roma “La Sapienza”.

Ciucci, P. (1994).- Movimenti, attività e risorse del lupo (*Canis lupus*) in due aree dell'Appennino centro-settentrionale. Tesi di dottorato. Università di Roma “La Sapienza”.

Ciucci, P., Boitani, L., Pelliccioni, E.R., Rocco, M., Guy, I., (1996) - A comparison of scat-analysis methods to assess the diet of the wolf, *Canis lupus*. *Wildlife Biology*, 2(1):37-48 pp.

Ciucci P., S. D'Alessio, S. Mattei, L. Boitani. 2001. Stima della biomassa consumata tramite analisi degli escrementi: calibrazione del modello sulle principali prede selvatiche del lupo in Italia. *Congresso Italiano di Teriologia* (3), San Remo, Italia

Corbett LK. (1989) - Assessing the diet of dingoes from feces: a comparison of 3 methods. *Journal of Wildlife Management*, 53(2): 343-346 pp.

Craig P., Mastin A., van Kesteren F., Boufana B. (2015) *Echinococcus granulosus*: Epidemiology and state-of-the-art of diagnostics in animals. *Vet Parasitol*;213(3-4):132-48 pp.

Dale, B.W., Adams, L.G. & Bowyer, R.T. (1994).- Functional response of wolves preying on barren-ground caribou in a multiple-prey ecosystem. *J. Anim. Ecol.* 63: 644-652 pp.

Dale, B.W., Adams L.D. & Bowyer R.T. (1995).- Winter wolf predation in a multiple ungulate prey system. In Carbyn L. N., Fritts S.H., & Seip D.R. editors. Ecology and conservation of wolves in a changing world. *Canadian Circumpolar Institute, University of Alberta, Edmonton, Canada pp.* 223-230 pp.

Debrot, S. (1982) - *Atlas des poils de mammifères d'Europe*. Institut de zoologie de l'Université de Neuchâtel.

- Di Francesco CE., Smoglica C., Paoletti B., Angelucci S., Innocenti M., Antonucci A., Di Domenico G., Marsilio F. (2019) Detection of selected pathogens in Apennine wolf (*Canis lupus italicus*) by a non-invasive GPS-based telemetry sampling of two packs from Majella National Park, Italy. *Eur J Wildl Res*;65(6):84
- Eckert J., Gemmell MA., Meslin F-X., Pawlowski ZS. (2001), Organization WH. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern.
- Ersmark E., Klütsch Cornelya F. C., Chan Yvonne L., Sinding Mikkel-Holger S., Fain Steven R., Illarionova Natalia A., Oskarsson M., Uhlén M., Zhang Ya-ping, Dalén L., Savolainen P. (2016). From the Past to the Present: Wolf Phylogeography and Demographic History Based on the Mitochondrial Control Region. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 4: 190-210 pp.
- Fabbri E., Miquel C., Lucchini V., Santini A., Caniglia R., Duchamp C., Weber J., Lequette B., Marucco F., Boitani L., Fumagalli L., Taberlet P., Randi E. (2007). From the Apennines to the Alps: colonization genetics of the naturally expanding Italian wolf (*Canis lupus*) population. *Molecular Ecology* 16: 1661-1671 pp.
- Farine JP, Ferveur JF, Everaerts C. (2012) Volatile *Drosophila* cuticular pheromones are affected by social but not sexual experience. *PLoS One*;7(7):e40396.
- Floyd TJ., Mech LD., Jordan PA. (1978) - Relating wolf scat content to prey consumed. *Journal of Wildlife Management*, 43: 528-532 pp.
- Frascati F. (2008) Formulario di Statistica con R
<http://www.fsf.org/licenses/licenses.html#FDL>
- Freschi P., Fascetti S., Riga F., Rizzardini G., Fortebraccio M., Ragni M., Paolino R., Cosentino C. (2022) Diet Selection by the Italian Hare (*Lepus corsicanus* de Winton, 1898) in Two Protected Coastal Areas of Latium. *Animals (Basel)*. 9;12(6):687.
- Freschi P., Fascetti S., Riga F., Rizzardini G., Musto M., Cosentino C. (2021) Feeding Preferences of the Italian Roe Deer (*Capreolus capreolus italicus* Festa, 1925) in a Coastal Mediterranean Environment. *Animals (Basel)*. 26;11(2):308 pp.
- Fox MW., Cohen JA. (1978) Canid communication. *Sebeok TA (ed) How animals communicate. Indiana University Press, Indiana, USA, 728–748 pp.*
- Gable T. D., Windels S. K., Bruggink J. G. (2017). The Problems with Pooling Poop: Confronting Sampling Method Biases in Wolf (*Canis lupus*) Diet Studies. *Canadian Journal of Zoology* 95(11).

Gese EM., Ruff RL. (1997) Scent-marking by coyotes, *Canis latrans*: the influence of social and ecological factors. *Anim Behav*; 54(5):1155-66

Goszczynski J. (1974) Studies on the food of foxes. *Acta theriologica* 19, 1-18 pp.

Guerriero, M. (2007).- Ecologia alimentare del lupo (*Canis lupus*) nelle Alpi sud-occidentali. Tesi di laurea. Università degli studi di Torino.

Guimarães NF., Álvares F., Ďurová J., Urban P., Bučko J., Il'ko T., Brndiar J., Štofík J., Pataky T., Barančková M., Kropil R., Smolko P. (2022) What drives wolf preference towards wild ungulates? Insights from a multi-prey system in the Slovak Carpathians. *PLoS One*;17(6):e0265386.

Harrington FH., Mech LD. (1983). Wolf pack spacing: Howling as a territory-independent spacing mechanism in a territorial population. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 12: 161-168

Hayes, R.D. & Harestad, A.S. (2000).- Wolf functional response and regulation of moose in the Yukon. *Can. J. Zool.* 78(1): 60-66 pp.

Hayes, R.D., Baer, A.M., Wotschikowsky, U. & Harestad, A.S. (2000).- Kill rate by wolves on moose in the Yukon. *Can. J. Zool.* 78(1): 49-59 pp.

Huggard, D. J. (1993b). Prey selectivity of wolves in Banff National Park. II. Age, sex, and condition of elk. *Canadian Journal of Zoology* 71: 140-147 pp.

Jedrzejewski, W., Schmidt, K., Theuerkauf, J., Jedrzejewska, B., Selva, N., Zu, K. & Szymura, L. (2002).- Kill rates and predation by wolves on ungulate populations in Białowieża primeval forest (Poland). *Ecology* 83(5): 1341-1356.

Khosravi R., Hemami M. R., Cushman S. A. (2018). Multispecies assessment of core areas and connectivity of desert carnivores in central Iran. *Diversity and Distributions* 24: 193-207 pp.

Klare U., Kamler J., Macdonald D. (2011) – A comparison and critique of different scat-analysis methods for determining carnivore diet. *Mammal Review* 41: 294-312 pp.

Kunkel, K.E. (1997). – Predation by wolves and other large carnivores in northwestern Montana and southeastern British Columbia. Page 272. *University of Montana, Missoula*.

Kunkel, K.E., Ruth, T.K., Pletscher, D.H. & Hornocker, M.G. (1999). – Winter prey selection by wolves and cougars in and near Glacier National Park, Montana. *Journal of Wildlife Management* 63: 901-910 pp.

La Morgia V. , Marucco F. , Aragno P., Salvatori V., Gervasi V., De Angelis D., Fabbri E., Caniglia R., Velli E., Avanzinelli E., Boiani M.V., Genovesi P., 2022. Stima della distribuzione e consistenza del lupo a scala nazionale 2020/21. Relazione tecnica realizzata nell’ambito della convenzione ISPRA-Ministero della Transizione Ecologica “Attività di monitoraggio nazionale nell’ambito del Piano di Azione del lupo”.

Lancia, RA., Nichols, JD. & Pollock, KH. (1996). – Estimating the Number of Animals in Wildlife Populations. In T. Bookhout, editor, *Research and management techniques for wildlife and habitats*, 215-253 pp. Washington, D. C.: *The Wildlife Society, Bethesda, Maryland*

Litvaitis J. A. (2000). Investigating food habits of terrestrial vertebrates. *Research Techniques in Animal Ecology: Controversies and Consequences* by Boitani L. and Fuller T.: 165-183 pp.

Llaneza L, García EJ, López-Bao JV. (2014). Intensity of territorial marking predicts wolf reproduction: implications for wolf monitoring. *PLoS One*; 9(3):e93015.

Lockie JD. (1959) The Estimation of the Food of Foxes. *The Journal of Wildlife Management* Vol. 23, 2 pp. 224-227 pp.

Litvaitis J. A. (2000). Investigating food habits of terrestrial vertebrates. *Research Techniques in Animal Ecology: Controversies and Consequences* by Boitani L. and Fuller T.: 165-183 pp.

Macdonald D. *The New Encyclopedia of Mammals* (2001) OUP Oxford

MacNulty DR., Tallian A., Stahler DR., Smith DW. (2014) Influence of group size on the success of wolves hunting bison. *PLoS One*;9(11):e112884.

Manly BF. (1998) - *Randomization, bootstrap and Monte Carlo methods in Biology*. 2nd edition. Chapman & Hall. London

Marti C. D. (1974). Feeding Ecology of Four Sympatric Owls. *The Condor* 76(1): 45-61 pp.

Martin JL., Chamaillé-Jammes S., Waller DM. (2020) Deer, wolves, and people: costs, benefits and challenges of living together. *Biol Rev Camb Philos Soc.* (3):782-801 pp.

Marquard- Petersen U. (1998) Food Habits of Arctic Wolves in Greenland. *Journal of Mammalogy* Vol. 79, 1, 236-244 pp.

Marras F. (2020) L'arrivo del lupo in pianura: ecologia alimentare del branco dell'Orba in provincia di Alessandria. Tesi di laurea. Università degli studi di Torino.

Marucco, F. (2001). Lo studio intensivo nelle Alpi Liguri. In "Il lupo in Piemonte: azioni per la conoscenza e la conservazione della specie, per la prevenzione dei danni al bestiame domestico e per l'attuazione di un regime di coesistenza stabile tra lupo ed attività economiche". Regione Piemonte, INTERREG II Italia-Francia, 1994-1999, Relazione finale (Torino, dicembre 2001).

Marucco F., Avanzinelli E., Gazzola A. (2005). Stato, distribuzione, e dieta della popolazione di lupo in Regione Piemonte. *Report 2005 - Progetto Lupo Regione Piemonte. Torino.*

Marucco F., Avanzinelli E., Bassano B., Bionda R., Bisi F., Calderola S., Chioso C., Fattori U., Pedrotti L., Righetti D., Rossi E., Tironi E., Truc F. and Pilgrim K., 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., Avanzinelli E., Boiani M. V., Menzano A., Perrone S., Dupont P., Bischof R., Milleret C., von Hardenberg A., Pilgrim K., Friard O., Bisi F., Bombieri G., Calderola S., Carolfi S., Chioso C., Fattori U., Ferrari P., Pedrotti L., Righetti D., Tomasella M., Truc F., Aragno P., La Morgia V., Genovesi P. (2022). La popolazione di lupo nelle regioni alpine Italiane 2020-2021. Relazione tecnica dell'Attività di monitoraggio nazionale nell'ambito del Piano di Azione del lupo ai sensi della Convenzione ISPRAMITE e nell'ambito del Progetto LIFE 18 NAT/IT/000972 WOLFALPS EU.

Marucco F., Avanzinelli E., Orlando L., Dal masso S., Tropini A. (2007) Stato, distribuzione, e dieta della popolazione di lupo in Regione Piemonte. *Report 2007 - Progetto Lupo Regione Piemonte. Torino.*

Marucco F., McIntire EJB. (2010). Predicting spatio-temporal recolonization of large carnivore populations and livestock depredation risk: wolves in the Italian Alps. *Journal of applied ecology*, 47: 789-798 pp.

Marucco F., Pletscher D. H., Boitani L. (2008). Accuracy of scat sampling for carnivore diet analysis: wolves in the alps as a case study. *Journal of Mammalogy*, 89(3), 665-673 pp.

Marucco F., Pletscher D. H., Boitani L., Schwartz M. K., Pilgrim K. L., Lebreton J. D. (2009). Wolf survival and population trend using non-invasive capture-recapture techniques in the Western Alps. *Journal of Applied Ecology*, 46, 1003-1010 pp.

Mech L. D., Boitani L. (2003). Wolf social ecology. Wolves: Behavior, Ecology, and Conservation, Chicago & London: University of Chicago Press.

Mech L. D., Boitani L. (2003). Ecosystem effects of wolves. *Wolves: Behavior, ecology and conservation*: 158–160 pp.

Meriggi, A. Brangi, L. Schenone, D. Signorelli & P. Milanese (2011) Cambiamenti nella dieta del lupo (*Canis lupus*) in Italia in relazione all'aumento dell'abbondanza di ungulati selvatici. *Ethology Ecology & Evolution*, 23:3 , 195-210 pp.

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 pp.

Meriggi A., Brangi A., Schenone L., Signorelli D., Milanese P. (2011). Changes of wolf (*Canis lupus*) diet in Italy in relation to the increase of wild ungulate abundance. *Ethology Ecology & Evolution* 23: 195–210 pp.

Metz MC., Smith DW., Vucetich JA., Stahler DR., Peterson RO. (2012) Seasonal patterns of predation for gray wolves in the multi-prey system of Yellowstone National Park. *J Anim Ecol.* 81(3):553-63 pp.

Muñoz-Pedrerros A., Yáñez J., Norambuena HV., Zúñiga A. (2018) Diet, dietary selectivity and density of South American grey fox, *Lycalopex griseus*, in Central Chile. *Integr Zool*;13(1):46-57 pp.

Nerini M. (2012). A review of gray whale feeding ecology. *The Gray Whale: Eschrichtius Robustus a cura di Mary Lou Jones, Steven L. Swartz, Stephen Leatherwood*: 4423-448 pp.

Page HM., Schamel J., Emery KA., Schooler NK., Dugan JE., Guglielmino A., Schroeder DM., Palmstrom L., Hubbard DM., Miller RJ. (2021) Diet of a threatened endemic fox reveals variation in sandy beach resource use on California Channel Islands. *PLoS One*; 16(10):e0258919.

Peters RP., Mech LD. (1975) Scent-marking in wolves. *Am Sci* 63:628–637 pp.

Pilgrim K., C. Engkjer C., Schwartz M. (2018) Genetic Analysis Summary and Preliminary Population Genetic Evaluation of Wolves (*Canis lupus*) in the Italian Alps in 2014-2018. In: Marucco et al. (2018). Lo Status della popolazione di lupo sulle Alpi Italiane e Slovene 2014-2018 Relazione tecnica, Progetto LIFE 12 NAT/IT/00080 WOLFALPS – Azione A4 e D1.

Pole, A.P., Gordon, I.L., Gormann, M.L. & MacAskill, M. (2004).- Prey selection by African wild dogs (*Lycan pictus*) in southern Zimbabwe. *J. Zool., Lond.* 262: 207-215 pp.

Promberger C., Schröder W. (1993). Wolves in Europe: Status and perspectives. Munich Wildlife Society, Ettal, Germany.

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".

Reynolds JC., Aebischer NJ. (1991). Comparison and quantification of carnivore diet by faecal analysis: a critique, with recommendations, based on a study of the fox *Vulpes vulpes*. *Mammal Review* 21:97–122 pp.

Ruhe, F., I. Buschmann, A. Wameling. 2003. Two models for assessing the prey mass of European ungulates from wolf scats. *Acta Theriologica*, 48 (4): 527-537 pp.

Sand H., Eklund A., Zimmermann B., Wikenros C., Wabakken P. (2016) Prey Selection of Scandinavian Wolves: Single Large or Several Small? *PLoS One*. 28;11(12):e0168062

Schwartz, M.K., Luikart, G. and Waples, R.S., 2007. Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *Trends in ecology & evolution*, 22(1), pp.25-33.

Scott B. M. V., Shackleton D. M. (1980). Food habits of two Vancouver Island wolf packs: a preliminary study. *Canadian Journal of Zoology* 58: 1203-1207 pp.

Selva P. (2017) ECOLOGIA ALIMENTARE DEL LUPO (*Canis lupus*) IN LESSINIA: un confronto fra transetti e siti di rendezvous. Tesi la laurea. Università degli studi di Padova.

Sin T., Gazzola A., Chiriac S., Rîşnoveanu G. (2019) Wolf diet and prey selection in the South-Eastern Carpathian Mountains, Romania. *PLoS One*;14(11):e0225424.

Shavandi A., Silva TH., Bekhit AA., Bekhit AEA. (2017) Keratin: dissolution, extraction and biomedical application. *Biomater Sci* ;5(9):1699-1735 pp.

Smietana, W. (2005).- Selectivity of wolf population on red deer in the Bieszczady Mountains, Poland. *Acta Theriologica* 50: 231-237 pp.

Spaulding, R., Krausman, P.R. & Ballard, W.B. (2000).- Observer bias and analysis of gray wolf diets from scats. *Wild. Soc. Bull.* 28(4): 947-950 pp.

Steenweg R., Gillingham M. P., Parker K. L., Heard D. C. (2015). Considering sampling approaches when determining carnivore diets: the importance of where, how, and when scats are collected. *Mammal Research Institute, Polish Academy of Sciences, Białowieża, Poland*

Taberlet, P., Gielly, L., Bouvet, J. (1996). Etude génétique sur les loups du Mercantour. Rapport pour la Direction de la Nature et des Paysages Ministère de l'Environnement.

Teerink, B.J. (1991) - Hair of West European Mammals. Cambridge University Press.

Voigt, D.R., Kolenosky, G.B. & Pilmott, D.H. (1976).- Changes in summer foods of wolves in central Ontario. *J. Wildl. Manage.* 40(4): 663-668 pp.

Wallace J. B., Merritt R. W. (1980). Filter-Feeding Ecology of Aquatic Insects. *Annual Review of Entomology* 25: 103-132 pp.

Weaver J. L. (1993). Refining the Equation for Interpreting Prey Occurrence in Gray Wolf Scats. *The Journal of Wildlife Management* 57(3): 534-538 pp.

Woolpy, J. H. (1968). The social organization of wolf. *Nat. His.* 77: 44-55 pp.

ALLEGATI

Allegato 1: scheda escremento



SCHEDA EScremento

CODICE EScremento: E _____ DATA ____ / ____ / ____ <input type="checkbox"/> CAMPIONAMENTO OPPORTUNISTICO <input type="checkbox"/> CAMPIONAMENTO SISTEMATICO : <input type="checkbox"/> Codice Transetto _____ Se campionata lungo la traccia di lupo: <input type="checkbox"/> Codice Snow-Tracking: T _____	STIMA DI DEPOSIZIONE <input type="checkbox"/> fresca <input type="checkbox"/> vecchia <input type="checkbox"/> con matrice <input type="checkbox"/> senza matrice (solo pelo/ossa)	TIPO DI PRELIEVO <input type="checkbox"/> raccolto <input type="checkbox"/> non raccolto <input type="checkbox"/> campione per analisi genetica
---	--	--

LOCALITÀ _____ **PROVINCIA** _____

Coordinate del punto e Sistema di coordinate		
Coordinata EST (E): _____	Coordinata NORD (N): _____	Proiezione - Datum <input type="checkbox"/> UTM 32N – WGS84 <input type="checkbox"/> UTM 32N – ED50 <input type="checkbox"/> GAUSS BOAGA W – ROMA 1940 <input type="checkbox"/> altro: _____

Comportamento di marcatura			
LUOGO <input type="checkbox"/> strada asfaltata <input type="checkbox"/> strada sterrata <input type="checkbox"/> sentiero <input type="checkbox"/> camminamento animale <input type="checkbox"/> fuori sentiero	SUBSTRATO <input type="checkbox"/> terreno/neve <input type="checkbox"/> cespuglio <input type="checkbox"/> sasso <input type="checkbox"/> base albero <input type="checkbox"/> sopra altro escremento <input type="checkbox"/> altro: _____	Distanza da: INCROCIO <input type="checkbox"/> <1 m <input type="checkbox"/> 1-10 m <input type="checkbox"/> 10-40 m <input type="checkbox"/> >40 m CRESTA/PASSO <input type="checkbox"/> <1 m <input type="checkbox"/> 1-10 m <input type="checkbox"/> 10-40 m <input type="checkbox"/> >40 m	Distanza da: CARCASSA <input type="checkbox"/> <1 m <input type="checkbox"/> 1-10 m <input type="checkbox"/> 10-40 m <input type="checkbox"/> >40 m Specie: _____ Codice Carcassa: _____
POSIZIONE su strada <input type="checkbox"/> centrale <input type="checkbox"/> laterale <input type="checkbox"/> versante esposto <input type="checkbox"/> versante protetto			

NOTE _____

RILEVATORE _____