

SPERIMENTAZIONE DEL METODO DI MONITORAGGIO PER IL GATTO SELVATICO CON L'UTILIZZO DI ESCE OLFATTIVA PER LA RACCOLTA DI PELO E FECI

Risultati test preliminare

OBIETTIVI

L'obiettivo della sperimentazione è quello di verificare se il metodo sia in grado di raccogliere campioni di pelo o feci della specie target in quantità e qualità tali da permettere la genotipizzazione degli individui e le seguenti analisi ecologiche e spaziali.

MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata condotta nella zona centro settentrionale del parco tra i comuni di Santa Sofia e Premilcuore. Le zone di studio sono state scelte con criterio opportunistico basandosi su dati di presenza pregressi, in special modo derivati da fototrappolaggio. Le zone di studio sono poi state trattate in maniera sistematiche. Il lavoro è stato svolto dal 15 marzo al 6 luglio 2012.

Sono stati utilizzati 36 paletti di pino grezzo di sezione quadrata di 5 cm di lato e di altezza pari a 60 cm, con un lato appuntito. A tali paletti sono stati effettuati dei tagli per rendere la superficie più irregolare e ruvida per migliorare l'imbibimento della soluzione di valeriana e il trappolamento dei peli. A circa un terzo a partire dall'alto è stata poi applicata una striscia di nastro bi-adesivo per aumentare l'efficacia di trattenimento.

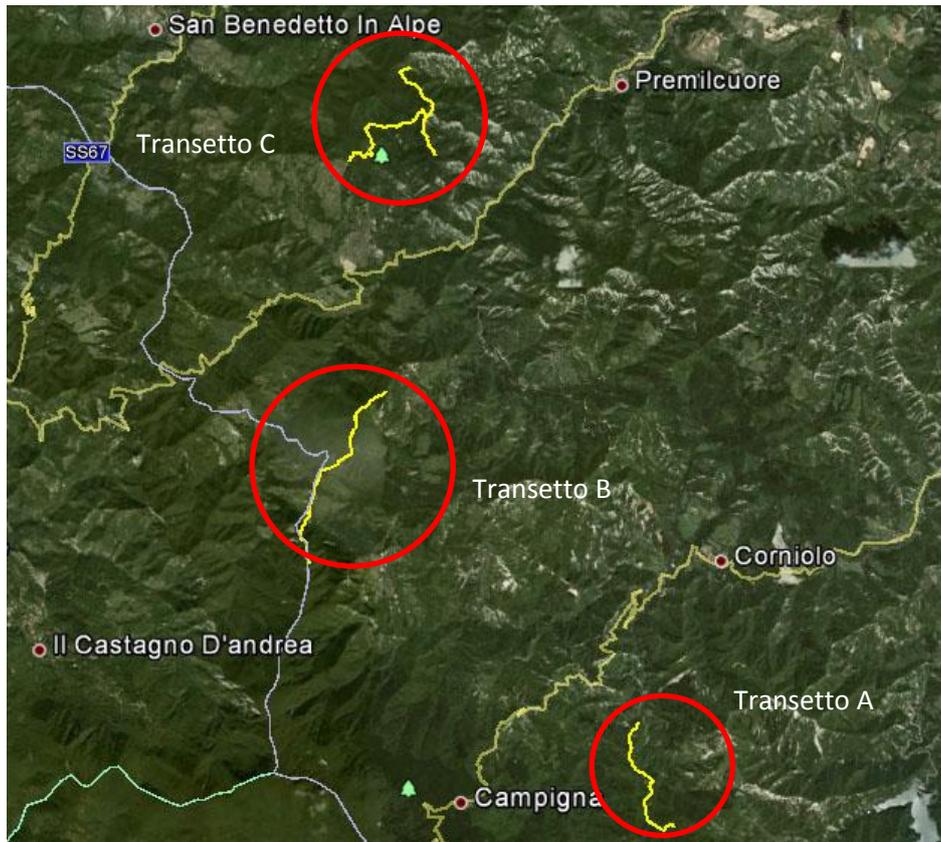
Come attrattore si è inizialmente optato per la tintura madre di valeriana e Catnip applicate a spruzzi e gocce sul paletto. Nella seconda settimana è stato sperimentato un attrattore a base feromonale in dotazione al parco. A fronte delle quantità richieste e dei costi si è quindi optato per una mistura cremosa fatta in casa a base di polvere di radice di valeriana e acqua, applicata poi con un pennello (metodo utilizzato anche da altre equipe), che è risultata essere più duratura, abbondante ed economica.



Il protocollo è consistito nel posizionamento sistematico dei 36 paletti divisi in 3 transetti (transetto A: 2,47 Km; Transetto B: 3,52 Km; transetto C 4,32 Km) con 12 paletti ciascuno. Questi sono stati posti ogni 250 metri circa seguendo una disposizione a dente di sega facendo in modo che un paletto fosse piantato sul sentiero, quello successivo, dopo 250m di percorso, deviato ortogonalmente di circa 20-50m a destra, quello successivo con lo stesso criterio sulla sinistra e così via:



In questo modo si è creata una zona buffer che tenesse in considerazione anche zone limitrofe al sentiero, qualora l'animale non utilizzasse le vie più evidenti.



Transetto A



Transetto B



Transetto C

Le trappole sono state posizionate seguendo le seguenti prescrizioni:

- Almeno a 200m da abitazioni occupate
- Almeno 15 - 20m da strade
- Almeno 100m di distanza tra i paletti
- In zona boscata a distanza di almeno 50 dal margine se possibile o in alternativa:
 - o 5-25m entro i margini della vegetazione possibilmente in zona di ecotono oppure
 - o Preferire in ordine: incolti, pascoli, campi coltivati

- Priorità di esposizione Sud, Ovest, Est, Nord, prediligere piccoli dossi.
- Posizione accessibile ma non troppo soggetta a transito camminatori

facoltativamente:

- Se presente vicino ad un corso d'acqua
- Se presente vicino a grosse rocce

Ogni paletto è stato georeferenziato e siglato con un ID. I controlli sono stati effettuati ogni 7-10 gg, avendo cura di sostituire ogni volta lo scotch, abraderne il vecchio attrattore con una spazzola di ferro e applicare nuovamente l'essenza fresca. In caso di rinvenimento di pelo, questo è stato raccolto con pizette sterilizzate sul posto con fuoco e quindi conservato in boccette con etanolo al 96% e refrigerate quanto prima in freezer a -20° (protocollo ISPRA). Inoltre lungo i sentieri si è provveduto a raccogliere, seguendo analoghe procedure e georeferenziando il punto, anche eventuali tracce fecali. Il tutto è stato registrato in un database digitale



Sono stati inoltre registrate le informazioni ecologiche di stazione come la tipologia di bosco, la copertura arborea ed arbustiva espressi in classi di abbondanza percentuali in un raggio di circa 25m dal paletto.

A metà maggio sono state piazzate tre fototrappole presso le postazioni C1, C4 e C12.

Le analisi genetiche sono state condotte utilizzando il protocollo ISPRA per l'uso di microsatelliti. Sono stati analizzati 12 loci utilizzando primers marcati. L'estrazione del DNA è stata effettuata utilizzando il kit Quiagen Tissue&Blood e l'amplificazione è avvenuta usando la tecnica della PCR. In seguito il prodotto è stato caricato su sequenziatore automatico a polimero (ABI 3130) per la corsa elettroforetica. In seguito gli elettroferogrammi prodotti sono stati corretti (GENEMAPPER) e i genotipi risultanti sono stati analizzati con software statistici per saggiarne l'affidabilità (Reliotype), per verificare l'esistenza di individui già campionati (Gimlet) e per assegnare con test Bayesiano il campione alla sottospecie corretta o al gruppo ibrido (STRUCTURE)

RISULTATI

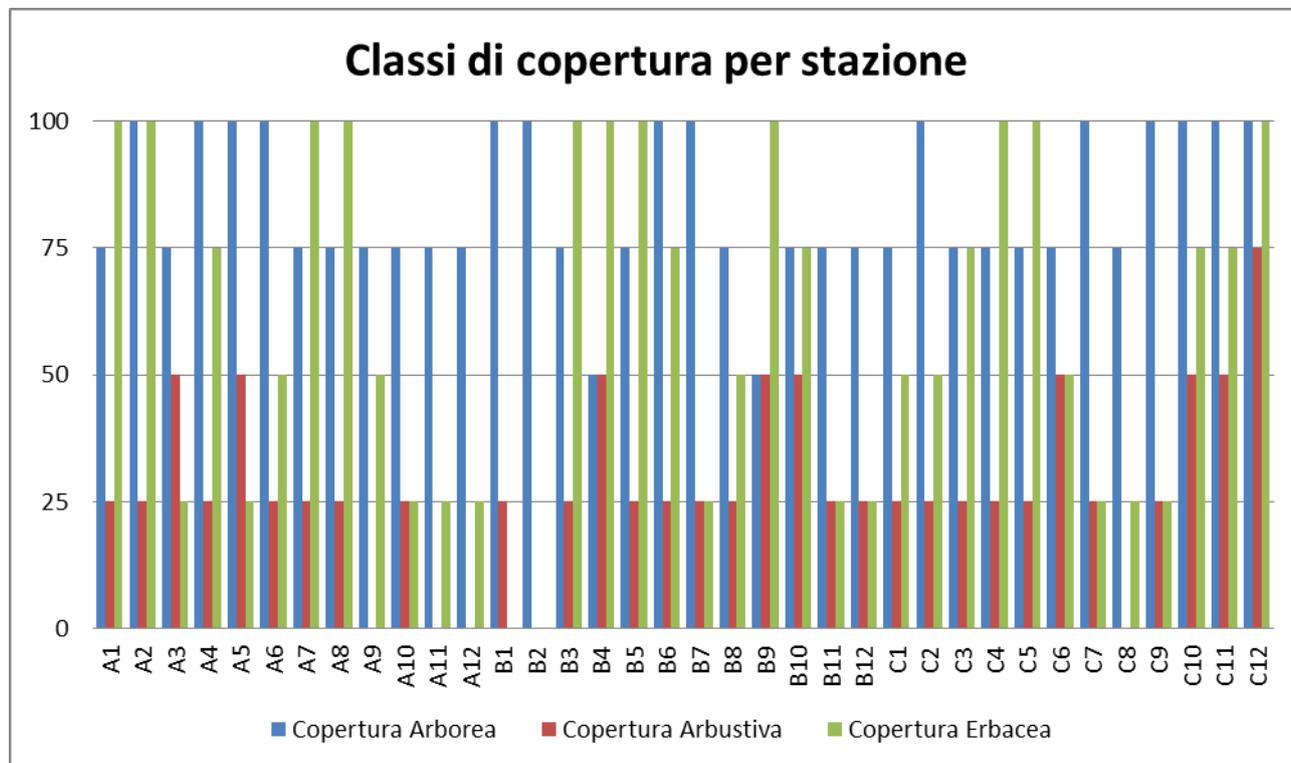
Il campionamento ha portato al rinvenimento di 21 campioni di pelo di cui solo 4 riconducibili al genere *Felis* sulla base di analisi macro e microscopiche. Nessun campione ha superato le analisi di genotipizzazione. Inoltre sono stati rinvenuti 7 campioni fecali, di cui 2 genotipizzati con successo quali *Felis silvestris silvestris* (FSI1716 e FSI1726).

Il fototrappolaggio ha portato alla foto (presso il paletto C12) di un individuo ascrivibile alla specie *Felis silvestris* (Figura)ma che, come anche ipotizzato dal Prof. Bernardino Ragni, non sembra appartenere alla sottospecie selvatica Europea, ma potrebbe al limite trattarsi di un possibile ibrido. L'animale in questione non ha lasciato tracce né fecali né di pelo, pertanto non è stata possibile l'identificazione genetica.

Inoltre durante i transetti sono stati rinvenute alcune tracce e delle raspature su tronco lungo il transetto C.



Le caratteristiche ecologiche delle stazioni sono state descritte, in modo generale, stimando un indice di copertura percentuale arborea, arbustiva ed erbacea (0-25-57-75-100%), identificando la prevalenza vegetale che caratterizzava il bosco in un raggio di circa 20 metri dal paletto. La copertura media arborea è stata del 83,3% (D.S. 14,6), quella arbustiva del 28,4% (D.S. 17,1) e quella erbacea del 59% (D.S. 33,9)



Le stazioni positive alla presenza della specie (sia per quanto concerne il rinvenimento di pelo e di foto) ovvero B1, B4, C9, eC12 presentano una prevalenza a faggio, con una copertura arborea variabile e con una copertura arbustiva medio bassa

Di seguito è riportata una tabella relativa all'efficienza del metodo.

	Km	giorni trapp	n camp tot	staz pos x felis	n/100 NT pelo	n/100NT felis
Transetto A	2,47	1224	5	0	0,3	0
Transetto B	3,52	1320	12	3	0,7	0,2
Transetto C	4,32	1239	4	1	0,3	0,08
Totale	10,31	3783	21	4	0,4	0,11
Feci		24	7	2	29,2	8,3

L'efficienza risulta bassa, ma in linea con i risultati di altri lavori Europei (Stayer 2012; Weber, 2010) fatta eccezione che per la qualità di genotipizzazione del pelo che risulta nulla. Inoltre parte del risultato in definitiva scarso dal punto di vista della raccolta e genotipizzazione del pelo, come anche confermatomi dal confronto con altri ricercatori Tedeschi, potrebbe risiedere nel periodo di campionamento (marzo-luglio) che risulta essere molto poco idoneo (cause organizzative derivate dai tempi di inizio del dottorato e dalle

forti nevicate di febbraio mi hanno costretto ad agire in questo periodo) e in parte nell'utilizzo di scotch la cui colla potrebbe aver compromesso il DNA presente nei bulbi.

PROPOSTA DI PROTOCOLLO PER IL CAMPIONAMENTO 2012-2013

In seguito ai risultati ottenuti, al confronto con altri ricercatori e alle esigenze di studio, sono arrivato a modificare il protocollo come segue:

il campionamento verrà effettuato nel periodo novembre-maggio. La zona di studio verrà concentrata nella porzione settentrionale del parco dove sono state rinvenute il maggior numero di segni.



L'area target avrà un'estensione di 28 Km² suddiviso in una griglia 1x1. I paletti verranno posizionati al centro e ai vertici di ciascuna cella (fatta eccezione che per i vertici esterni) in modo che ogni stazione disti circa 500 dalle quattro che la circondano. Questo buffer è basato sulla superficie minima occupata dalla specie riscontrata in bibliografia (Anile et al.2007) e permette di coprire in maniera completa l'area di studio.

I paletti avranno dimensioni di 4x4x60 cm con un foro sull'estremità superiore centrale profondo circa 15cm e del diametro di 2cm riempito di radice in polvere di *Valeriana officinalis*. Ai lati saranno effettuati altri piccoli fori per migliorare la dispersione dell'odore e numerose scanalature e schegge per trattenere il pelo. Saranno piantati per circa 30cm nel terreno.

Si sta cercando di reperire il materiale per un totale di almeno 10 fototrappole che verranno posizionate presso alcune stazioni e spostate ogni 2 mesi presso altre per avere anche documentazione fotografica al fine di effettuare confronti anche tra metodi diversi.

Le stazioni saranno siglate e georeferenziate e controllate ogni 7-10 gg. In caso di nevicate superiori a 30 cm (o comunque in caso di impossibilità logistica) la sessione viene slittata di un settimana.

RACCOLTA CCAMPIONI

RACCOLTA: prelevare i peli (meglio 5 -un ciuffo) avendo cura, se possibile, di verificare la presenza di bulbi.

CONSERVAZIONE: porre in contenitore da 2 ml (o superiori) contenenti etanolo 95% (non denaturato), avendo cura di rispettare il rapporto di 1:2 con l'alcool (1 di campione e 2 di alcool) e quindi refrigerare se possibile.

Usare materiale sterile usa e getta (guanti di lattice, pinze.); sterilizzare con il fuoco gli strumenti eventualmente da riutilizzare.

Verificare che il campione prelevato rimanga all'interno del contenitore, non debordi, che sia ben immerso nella soluzione conservante e che il contenitore sia ermeticamente chiuso.

Etichettare le provette tramite scrittura a matita o vernice e non con inchiostri degradabili

Una volta effettuato il controllo spazzolare energicamente il paletto con la spazzola di ferro e riapplicare l'attrattore se la quantità è diminuita

