

PARCO NAZIONALE DELLE FORESTE CASENTINESI MONTE FALTERONA, CAMPIGNA
STUDIO PER L'INDIVIDUAZIONE DI UNA METODOLOGIA MULTIDISCIPLINARE DI RICERCA
POPOLAZIONISTICA SUL GATTO SELVATICO (*Felis silvestris silvestris*).

Rapporto di fine lavoro

Dott. Edoardo Velli

Il presente rapporto si riferisce ai risultati dell'attività di ricerca svolta dal dott. Edoardo Velli all'interno del Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi tra novembre 2012 e giugno 2013 nell'ambito del dottorato di ricerca presso l'università di Roma Tre.

Il seguente rapporto è da intendersi integrante con quello prodotto nel 2012 dal titolo "SPERIMENTAZIONE DEL METODO DI MONITORAGGIO PER IL GATTO SELVATICO CON L'UTILIZZO DI ESCHE OLFATTIVA PER LA RACCOLTA DI PELO E FECI" relativo alle fasi di test preliminari.

OBIETTIVI

A fronte delle problematiche gestionali che caratterizzano la specie in esame che comprendono le difficoltà nell'attuazione di un protocollo di monitoraggio finalizzata alla caratterizzazione demografica della popolazione e la minaccia di ibridazione e introgressione genica tra la sottospecie selvatica e domestica lo studio si è posto i seguenti obiettivi:

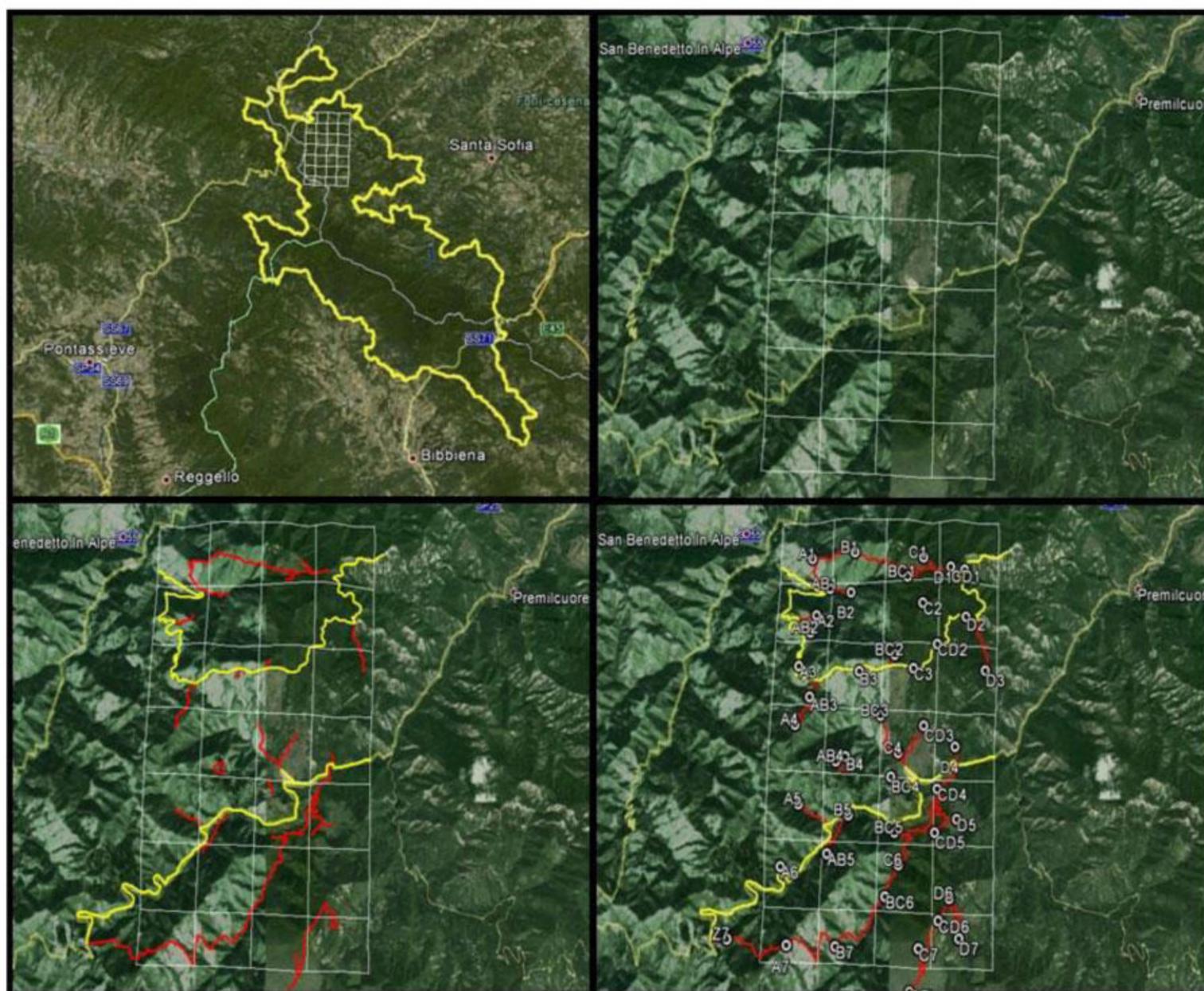
- Definire i principali parametri demografici (numero minimo, abbondanza, densità) all'interno dell'area di studio elaborando una metodologia quanto più standardizzata e multidisciplinare per la raccolta di campioni non invasivi, integrando le diverse metodologie conosciute per lo studio della specie:
 - o Video - fototrappolaggio
 - o Raccolta di depositi fecali lungo transetti
 - o Utilizzo di hair-trap marcate con valeriana (*Valeriana officinalis*)
 - o Raccolta opportunistica di dati (snowtracking, peli su filo spinato etc..)
- Definire lo stato di salute genetico della popolazione in esame utilizzando diversi marcatori molecolari per una migliore interpretazione dei dati:
 - o 12 loci microsatelliti
 - o Una sequenza della subunità 5 del gene NADH deidrogenasi (ND5) del mtDNA
 - o Due marcatori sul cromosoma Y (SMCY-7 STR e uno SNP sul gene SRY).

MATERIALI E METODI

Il campionamento si è svolto dal 19 Novembre 2012 al 24 Giugno 2013, con alcune interruzioni nel periodo Gennaio-Febbraio dovute alle prolungate precipitazioni nevose.

In base ai risultati ottenuti dalla precedente sessione di prova è stata definita un'area sulla quale concentrare lo sforzo di campionamento.

L'area target, posta tra S. Benedetto in Alpe, Premilcuore e Fiumicello ha un'estensione di 28 Km² suddivisa in una griglia topografica di 1x1 km.



Hair-traps

Sono stati posizionati un totale di 46 paletti di pino grezzo di dimensioni 4x4x60 cm, piantati a terra per circa 20 cm approssimativamente al centro e ai vertici di ogni quadrato della griglia e comunque in modo casuale e sistematico. Ogni paletto è stato georeferenziato e siglato.

Il paletto presentava un foro superiore, che veniva riempito con radice di *Valeriana officinalis*, e dei fori laterali per disperdere meglio l'odore. Inoltre, per incrementare il potere attrattivo, il paletto è stato spruzzato con macerato di Valeriana ed acqua in un primo periodo e, successivamente, con tintura madre pura di Valeriana. Affinché venisse trattenuto più pelo possibile il paletto è stato intagliato per creare una superficie irregolare e abrasiva e vi è stata applicata una striscia di nastro biadesivo. I paletti sono stati controllati ogni 7-10 giorni, con

possibili slittamenti dovuti alle abbondanti precipitazioni nevose tra Febbraio e Marzo. Oltre a verificare la presenza di campioni di pelo è necessario abradere il paletto con una spazzola di ferro, per eliminare eventuali residui del vecchio campione, sostituire il nastro biadesivo e rinnovare la radice e la tintura di valeriana.

Raccolta campioni fecali

La raccolta delle feci è stata effettuata durante le sessioni di controllo delle hair-traps, in modo da sfruttare un unico sforzo di campionamento. La rete di transetti, per un totale maggiore di 20 km, era costituita da strade forestali, sentieri segnati e piste da percorrersi a piedi.

La raccolta del campione genetico è stata effettuata seguendo le direttive ISPRA:

RACCOLTA: prelevare i peli (meglio 5 -un ciuffo) avendo cura, se possibile, di verificare la presenza di bulbi. Prelevare una porzione del deposito fecale tale che possa essere completamente sommerso dall'etanolo (circa 1x1x2 cm)

CONSERVAZIONE: porre il campione di pelo in una busta di carta sterile da tenere all'interno di buste contenenti sali di silica. Inserire il campione di feci in un contenitore sterile con etanolo al 96% in proporzioni 1:2.

Usare materiale sterile usa e getta; 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.

Fototrappolaggio

Sono state utilizzate 5 fototrappole Multipir-12 e 5 Multipir-12 HD dotate di sensore di scatto a infrarosso e due pir laterali di preparazione con 3 livelli di sensibilità. Nella prospettiva di registrare in primo luogo la risposta comportamentale dell'animale all'attrattivo e discernere i caratteri fenotipici individuali, le macchine sono state impostate in funzionalità "video". Per evitare possibili comportamento di "trap-avoiding" o "trap-happy" è stato scelto un flash a 940 nanometri invisibile anche all'occhio dell'animale. La durata dei video è stata impostata su 30 secondi, con un intervallo di 1 minuto tra un video e quello successivo. Ogni fototrappola è stata posizionata associata ad un singolo paletto, ad un'altezza di 60cm-1m di altezza e 1-2 metri di distanza dal paletto, per un periodo di circa 45 giorni. Dopodiché sono state spostate su altrettanti paletti per lo stesso periodo, in modo da avere un'intera e omogenea copertura dell'area di campionamento.

Le fototrappole sono state controllate ogni 7-10 giorni; in particolare si è provveduto alla sostituzione della SD card e delle batterie (se presentavano una carica inferiore ai 2/3 del totale).

Analisi di laboratorio

I campioni di feci e pelo sono stati trattati con il kit di estrazione della Quiagen Blood&Tissue “Colonnine”. Per una migliore digestione delle strutture cheratinose del pelo è stato aggiunto del Ditiotreitolo (DTT).

Le operazioni di amplificazione e sequenziamento sono state effettuate utilizzando i protocolli standard di ISPRA utilizzando primer specifici *Felis silvestris* (FCA8, FCA23, FCA26, FCA43, FCA45, FCA58, FCA77, FCA88, FCA96, FCA126, FCA132, FCA149) per la genotipizzazione con microsatelliti e il sequenziamento del DNA mitocondriale (regione NADH deidrogenasi subunità 5 primer F2B – R3B) e SRY.

Analisi statistiche

Per le analisi di affidabilità del genotipo si è utilizzato il software statistico RELIOTYPE in cui è stata scelta una soglia di significatività $> 95\%$ per giudicare affidabile un genotipo.

Per calcolare il genotipo di consenso e il tasso di errore si è utilizzato il software GIMLET che identifica il genotipo definitivo utilizzando il criterio della soglia pari a 2 (Regola di Taberlet). Il software GENALEX è stato utilizzato per determinare genotype matching e la probabilità di identità dei genotipi (nel nostro caso PID_{sib} in quanto lavorando su un territorio di dimensioni ridotte la probabilità di imbattersi in consanguinei è maggiore, pertanto occorre usare regole più rigide per evitare il cosiddetto “effetto ombra”. Nel nostro studio, tenendo in considerazione una popolazione di 300 individui (scelta arbitraria basata su un’ipotesi di numerosità di popolazione nell’Appennino settentrionale), è stata scelta una soglia per tale parametro di PID_{sib} $< 0,003$.

L’assegnazione alla popolazione di gatto selvatico o a quella domestica e l’identificazione degli eventuali ibridi è stata eseguita utilizzando un modello statistico bayesiano nel software STRUCTURE.

In linea con la bibliografia si è convenuto che la soglia di q per l’assegnazione del campione ad una delle due popolazioni (K_w o K_d) fosse fissata a 0,80.

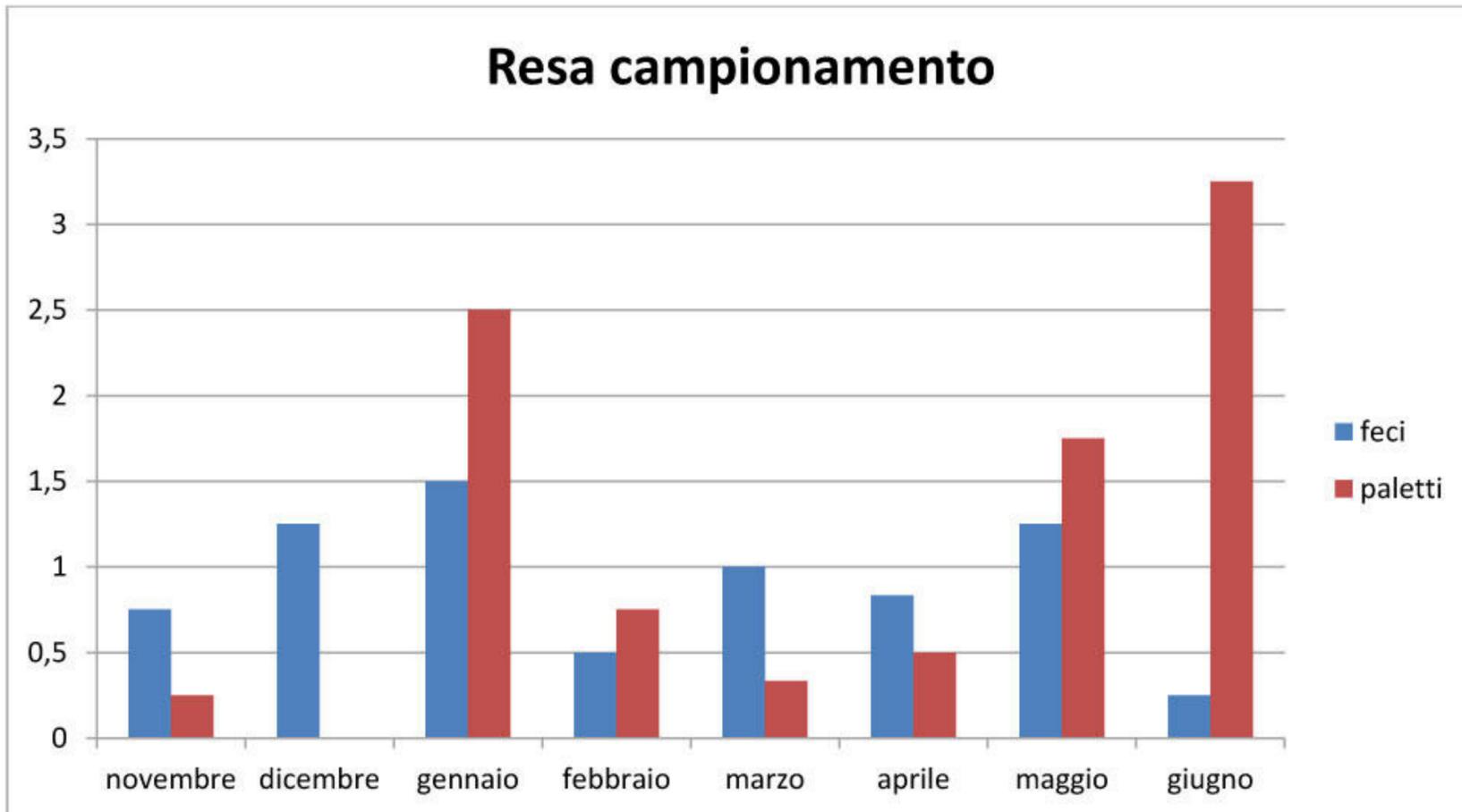
Per quanto concerne le analisi relative ad abbondanza e densità ci si è serviti del software MARK, selezionando il modello per “Closure Capture” e un algoritmo che tenesse conto dei bias per eterogeneità della risposta individuale, temporale e dell’eventuale errore di riconoscimento (errore visivo o di genotipizzazione).

Per le analisi comportamentali di relazione con altre specie ci si è serviti di un test Chi quadro.

RISULTATI

Genetica

L'attività di campionamento, svolta nel periodo 19 novembre- 24 giugno, ha portato alla raccolta di un totale di 64 campioni biologici (30 feci e 34 campioni di pelo). E' stata calcolata una media di 18,8 campioni rilevati ogni 10 giorni di campionamento, con dei picchi a gennaio e giugno.



E' stata effettuata una prima analisi di screening per discriminare i campioni appartenenti alla specie *Felis silvestris* da quelli derivanti da specie non target sequenziando una porzione della regione di controllo del mtDNA e sottoponendo il risultato ad un'analisi su BLAST.

Il 24% dei campioni raccolti risulta appartenere a specie diverse dal gatto selvatico. La maggior parte dei campioni di origine non desiderata è stata ottenuta dal campionamento tricologico (87,5%). Inoltre più del 30% di questi campioni appartenevano a mustelidi, confermando i dati di fototrappolaggio che vedono questa famiglia piuttosto attiva nei confronti dei paletti trattati.

Dei 50 campioni passati allo screening iniziale (specie target e campioni non genotipizzati) solamente 8 (16%) hanno prodotto genotipi microsatelliti affidabili e 15 (30%) genotipi mitocondriali.

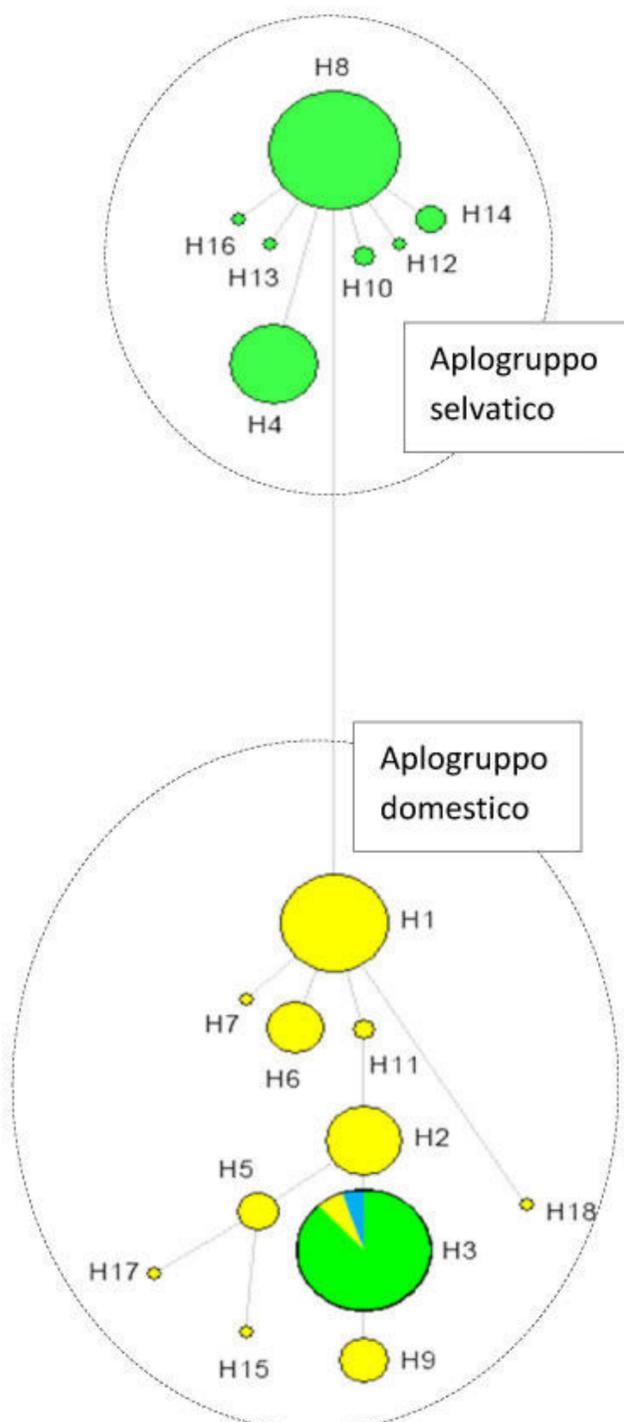
tot campioni	sp non target	mtDNA	STR	Non genotipizzati
66	16	15	8	30

Numerosità assoluta dei risultati di genotipizzazione. La somma dei campioni genotipizzati al DNA mitocondriale e STR risulta più grande dell'atteso poichè alcuni campioni sono stati genotipizzati sia al mtDNA che ai loci STR.

Tramite il software GENALEX si è ricavato che gli 8 campioni genotipizzati sono riferibili a 6 individui diversi. Inserendo i campioni nel database ISPRA e analizzando il tutto con lo stesso programma risulta che nessuno di questi animali era stato campionato in precedenti campagne di studio.

I campioni risultano tutti appartenere ad individui della popolazione di gatto selvatico con una probabilità $q_w > 0,80$.

campioni	qd	qw
1	0,020	0,980
2	0,019	0,981
3	0,074	0,926
4	0,121	0,879
5	0,034	0,966
6	0,016	0,984
7	0,010	0,990
8	0,008	0,992



Dall'analisi filogenetica della sequenza mitocondriale di una porzione della subunità 5 della NADH deidrogenasi (ND5) si è in grado di capire se un individuo appartiene ad una linea materna della sottospecie selvatica (*Felis silvestris silvestris*) o ad una domestica (*Felis silvestris catus*).

I campioni da noi studiati sono stati inseriti in un'analisi di median joining network con i campioni italiani del database ISPRA (n=307) precedentemente tipizzata a 35 loci STR. Dalla Figura a lato sono ben riconoscibili due principali aplogruppi ("selvatico" e "domestico"). In particolare nell'aplogruppo selvatico sono stati individuati due aplotipi più frequenti che corrispondono alle due principali popolazioni in cui è suddiviso il gatto selvatico in Italia: la popolazione centro Italiana (H8) e quella nordorientale/balcanica (H4). Nell'aplogruppo domestico risultano un numero di aplotipi maggiore (come prevedibile) ma anche un'interessante anomalia. Se l'aplogruppo selvatico non include nessun individuo assegnato come domestico dalle analisi bayesiane degli STR, nell'aplotipo H3, caratterizzato dalle mutazioni tipicamente domestiche, abbiamo una maggiore frequenza di campioni assegnati come selvatici con valori di q_w molto alti. A seguito di ciò sono state fatte due ipotesi: nel

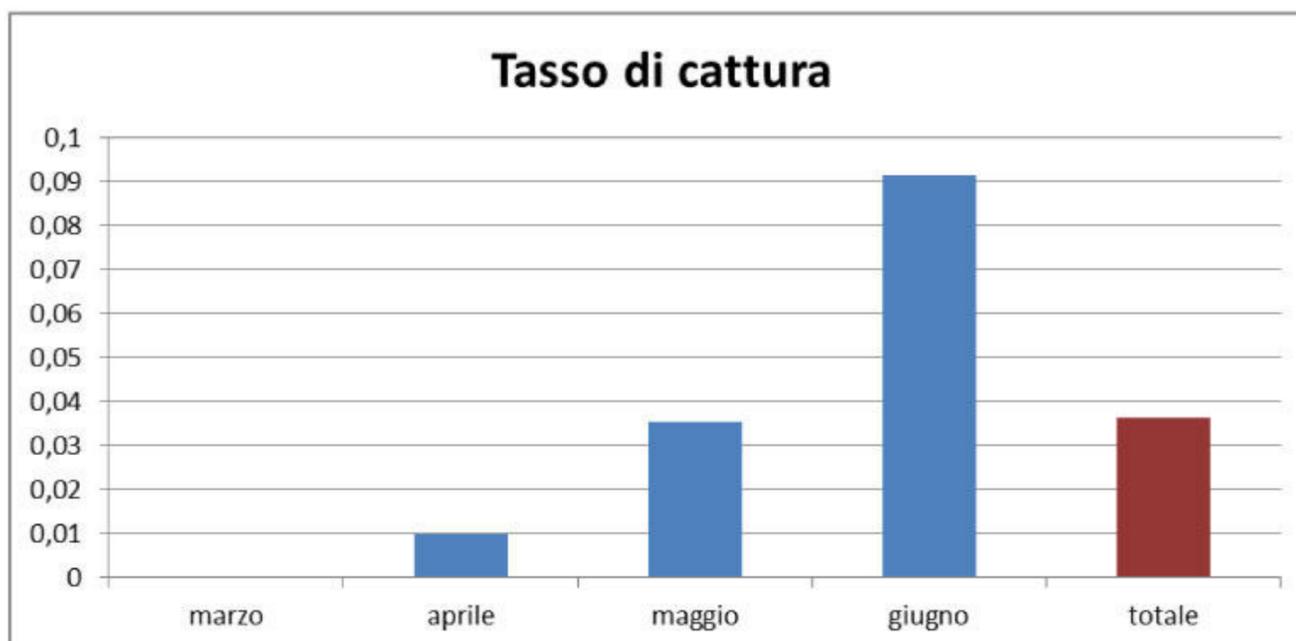
primo caso potrebbe essere avvenuto in passato un evento di introgressione al seguito del quale è avvenuta la condivisione di questo aplotipo con la popolazione selvatica poi re-isolatasi; alternativamente è possibile che gli aplotipi siano ancestralmente condivisi. Saranno necessari ulteriori studi per approfondire l'interpretazione di questo dato. Tutti gli aplotipi selvatici sono risultati appartenere all'aplotipo centro italiano H8. L'aplotipo H1, tipico degli individui domestici, è stato riscontrato in un unico individuo da noi genotipizzato (identificato in due diversi campioni), il quale presenta dalle analisi STR un $q_w=0,92$ che risulta essere il più basso tra i campioni da noi raccolti. La posizione di questi due campioni, rinvenuti non lontano da un insediamento umano, fa ipotizzare la presenza di possibili ibridi, probabilmente non di prima generazione (F1). Tre individui, uno dei quali ripreso dalle video catture e con un fenotipo inequivocabilmente selvatico, caratterizzati da un genotipo nucleare pienamente selvatico, sono risultati appartenere all'aplotipo H3, confermando ancora una volta la vocazione "selvatica" di questo aplotipo.

Aplotipo	N campioni
H8	7
H1	2
H3	4

Le analisi effettuate sul microsatellite SMCY-7 e sul singolo polimorfismo presente nel gene SNY (capitolo 5.2.7) sono in linea con i risultati ricavati dalle analisi del DNA mitocondriale e nucleare, confermando che tutti gli individui maschi appartengono ad una linea paterna della sottospecie selvatica.

Fototrappolaggio

L'attività di fototrappolaggio, svolta dal 18 marzo al 24 giugno, ha prodotto 36 video-catture di *Felis silvestris* spp. . Per quanto riguarda il tasso di cattura, esso è stato calcolato come il numero di catture sul totale di giorni trappola. In termini generali la resa è stata di 3,6 catture ogni 100 giorni trappola. Il grafico (Grafico 6.7) mostra nel corso dei mesi un incremento pressoché lineare, con la massima resa nel mese di giugno.

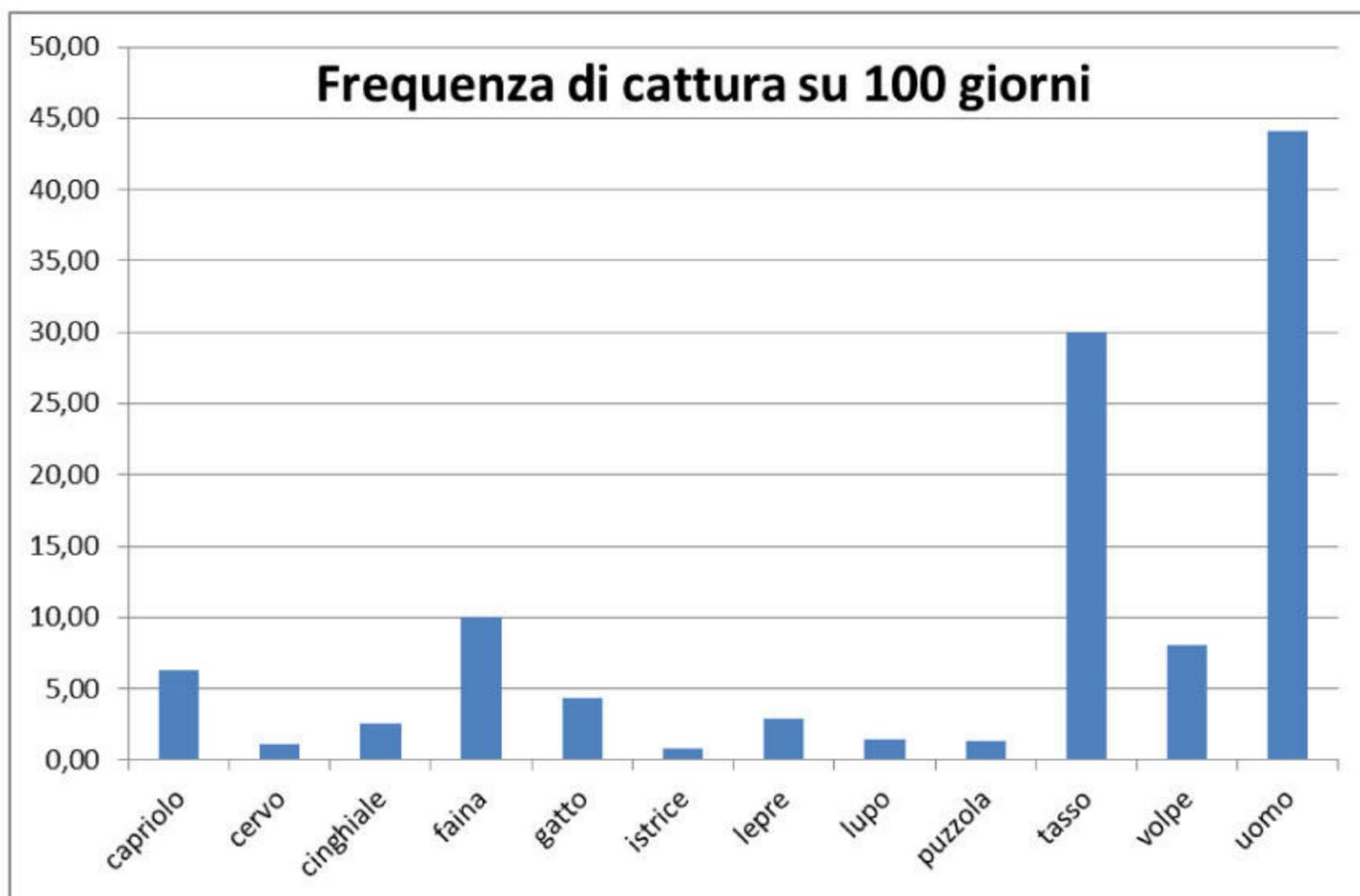


Sulla base della colorazione, del sesso, delle proporzioni e della zona di ritrovamento è stato effettuato un riconoscimento individuale da parte di tre operatori indipendenti che ha portato all'identificazione di almeno 8 individui di cui 5 gatti selvatici, 1 probabile ibrido incinta e 2 gatti domestici.



Video catture di gatto selvatico, esempi di immagini sulla cui base viene effettuato il riconoscimento individuale.

Utilizzando il fototrappolaggio, ovviamente, oltre ad informazioni sulla specie target, si riescono a ricavare anche informazioni riguardanti le altre specie presenti nell'area di studio.



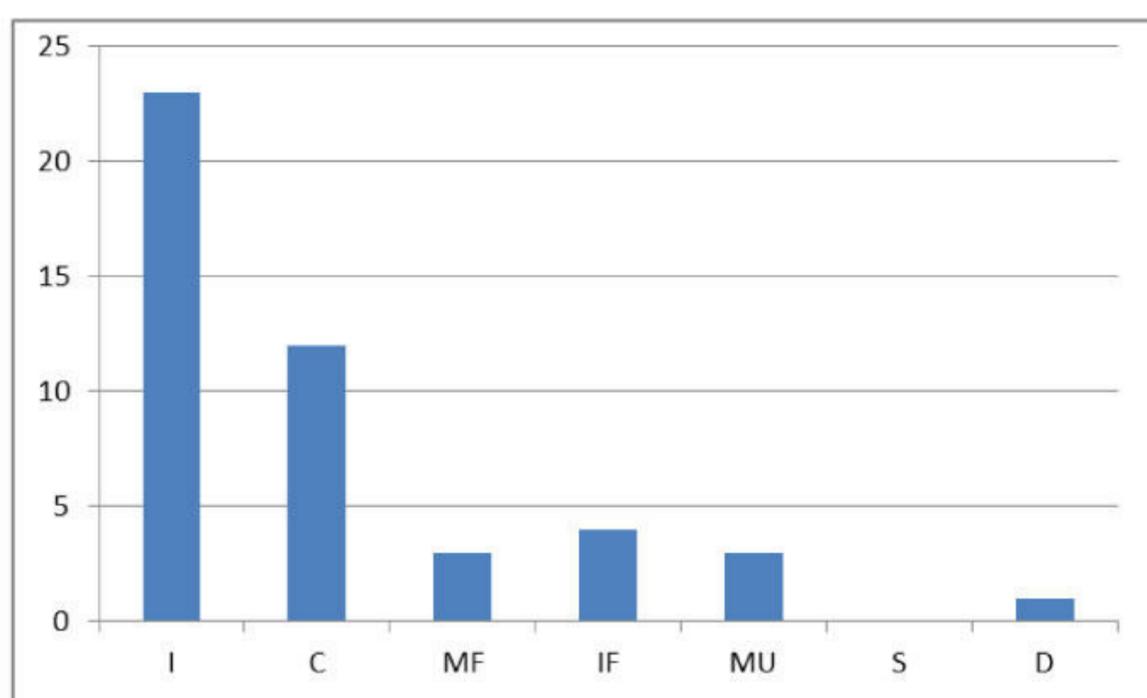
Sulla base dei dati di fototrappolaggio è stato possibile ricavare un buon numero di informazioni riguardanti l'etologia dell'animale. In questo studio in particolare abbiamo analizzato l'attività giornaliera del gatto selvatico, il suo comportamento nei confronti del paletto attrattivo e le reazioni dovute al passaggio di altre specie.

L'animale risulta essere attivo soprattutto dal tramonto all'alba, con alcune eccezioni di pochi video registrati nelle ore centrali della giornata. Questi risultati, come ci si aspettava, sono in linea con i dati sull'etologia della specie e confermano un'attività principalmente notturna dell'animale.

La risposta dell'animale all'attrattivo è mediata geneticamente, per questo motivo non tutti gli individui mostrano la stessa reazione nei confronti del paletto trattato. A tal proposito è stato impostato un etogramma in cui sono stati definiti i pattern comportamentali osservati

INDIFFERENZA (I)	L'animale si mostra totalmente indifferente nei confronti del paletto.
CURIOSITA' (C)	L'animale si accorge del paletto, vi si dirige ed eventualmente lo annusa.
MARCATURA FACCIALE (MF)	L'animale marca il paletto solamente strofinando il muso.
MARCATURA URINARIA (MU)	L'animale effettua una marcatura urinaria sul paletto o nelle immediate vicinanze.
INTERAZIONE FORTE (IF)	In questo comportamento è compresa la marcatura facciale, quella urinaria ed un intenso e prolungato "rubbing" da parte dell'animale.
SPAVENTO (S)	L'animale avverte la presenza del paletto e fugge via spaventato.
DIFFIDENZA (D)	L'animale avverte la presenza del paletto mostrandosi diffidente, tende ad avvicinarsi lentamente annusando ma poi si allontana.

Osserviamo dal grafico che nella metà dei casi (50%) il comportamento verso il paletto è "indifferenza", seguito da "curiosità" (26%). L' "interazione forte" avviene solo nel 9% dei casi. L'individuo non si mostra comunque mai "spaventato" e quasi mai "diffidente" (2%) nei confronti del paletto attrattivo. In generale, grazie al riconoscimento individuale è possibile stabilire che solamente 3 individui mostrano una reazione nei confronti della tintura di valeriana. Questo dimostra che, essendo la risposta alla valeriana mediata geneticamente nel gatto, i risultati ottenibili utilizzando questo metodo sono molto variabili e dipendono dagli stessi individui, rendendo appunto il metodo non totalmente affidabile se applicato da solo.



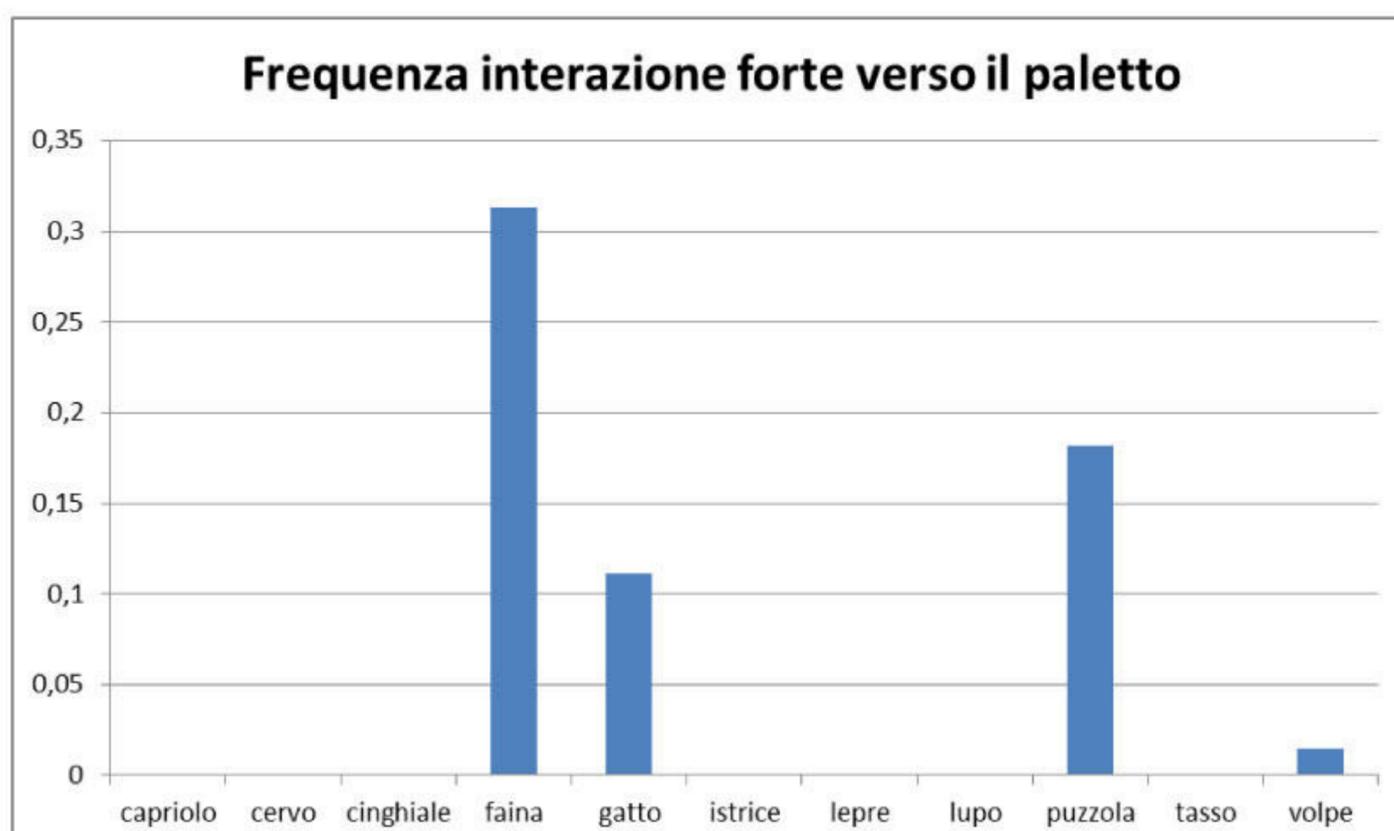
Per verificare se è presente una relazione tra la presenza del gatto selvatico e il passaggio nelle ore precedenti e successive di altre specie è stato effettuato un test del chi quadro su tabelle di contingenza in cui sono elencati i valori di presenza/assenza del gatto con le altre specie di interesse . Le specie tenute in considerazione per questa analisi sono state : faina, tasso, cinghiale, volpe, lupo, gatto domestico.

I risultati mostrano significatività nei confronti di faina ($\chi^2=20,76$; $p=5,19E-06$) e volpe ($\chi^2=8,29$; $p=3,97E-03$). Dal confronto tra valori attesi e osservati della tabella sottostante si deduce l'interazione temporale tra le due specie rafforza la frequenza di campionamento delle stesse.

	CATTURE GATTO			
	OSSERVATI		ATTESI	
	Si	No	Si	No
faina presente	9	59	2,38	65,62
faina assente	20	740	26,62	733,38
volpe presente	7	68	2,63	72,37
volpe assente	22	731	26,37	726,63

Per confermare che la presenza del gatto fosse realmente influenzata dalle suddette specie e non da alcuni fattori ambientali, è stato effettuato un test del chi quadro per verificare l'influenza della pioggia sul passaggio del gatto, il quale ha prodotto un p-value non significativo. Oltre al semplice passaggio del gatto è stato preso in considerazione anche lo strofinamento al paletto in relazione alla pioggia, il test del chi quadro mostra un p-value non significativo.

Per quanto riguarda le reazioni delle altre specie video-catturate nei confronti del paletto trattato di valeriana, abbiamo preso in considerazione la frequenza dell'evento di "interazione forte". Osserviamo dal grafico che le uniche specie a mostrare questo tipo di comportamento sono faina, gatto, puzzola e volpe.

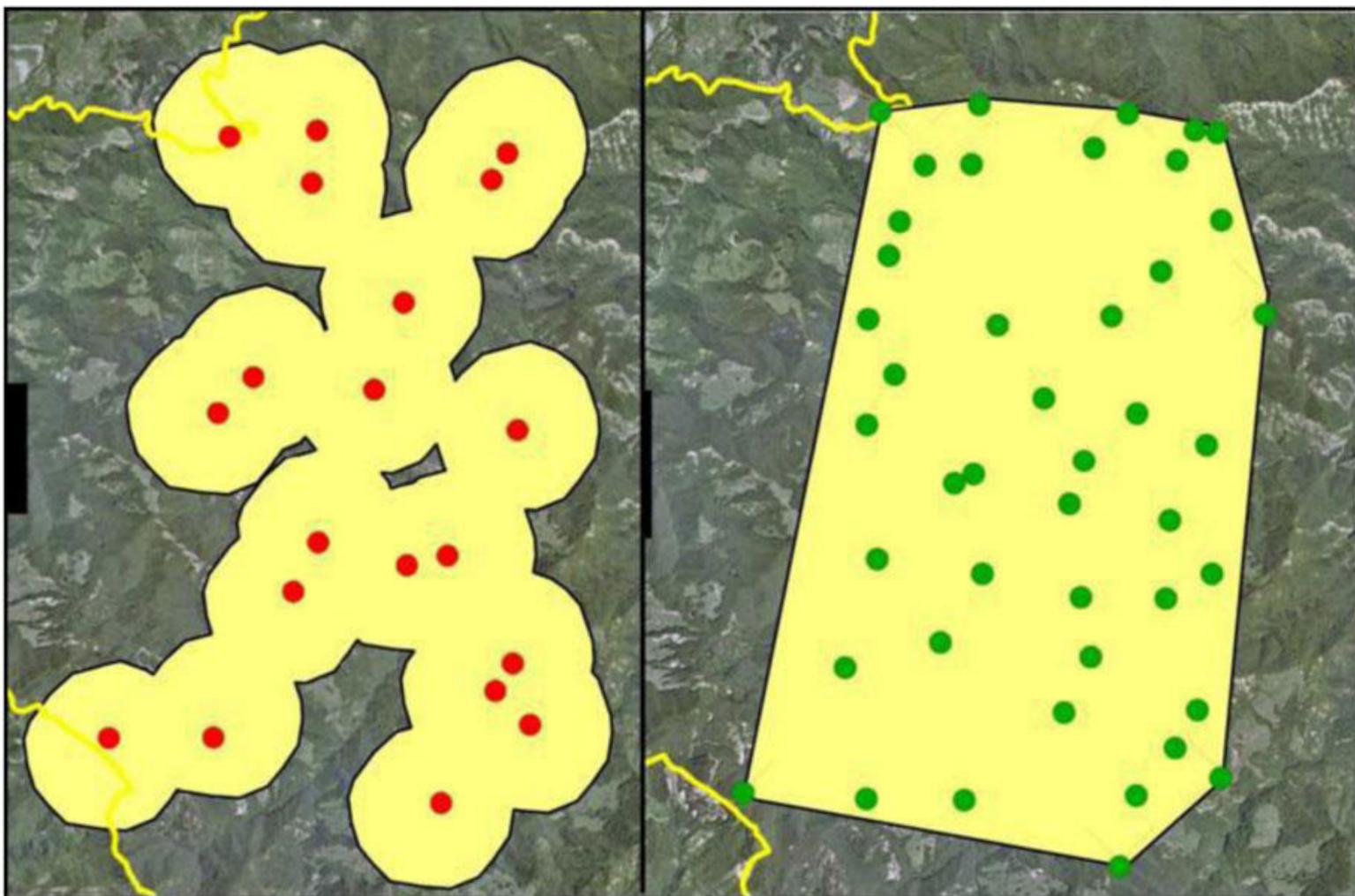


Parametri di popolazione

Per stimare l'abbondanza e la densità della popolazione di gatto selvatico nell'area di studio sono stati effettuati due test di cattura ricattura. Considerando la durata del campionamento e la bassa mobilità dell'animale la popolazione è stata considerata come chiusa. In base all'identificazione mediante genotipo è stata stimata un'abbondanza $A=7,38\pm 2,86$. Considerando un'area pari al minimo poligono convesso che racchiudeva tutte i punti più esterni di campionamento, si è provveduto a calcolare la densità $D=0,33\pm 0,13$ individui/km².

Il riconoscimento fotografico individuale ha portato, utilizzando gli stessi parametri, ad una stima di abbondanza $A=7,33\pm 3,32$. Nel considerare un'area pari alla somma delle aree di "buffer" intorno alle singole fototrappole pari al minimo home-range riscontrato in bibliografia (in modo da minimizzare il rischio di lasciare delle zone in cui animali dall'home-range ridotto potessero essere sottostimati) si è calcolata una densità $D=0,27\pm 0,12$ individui/km².

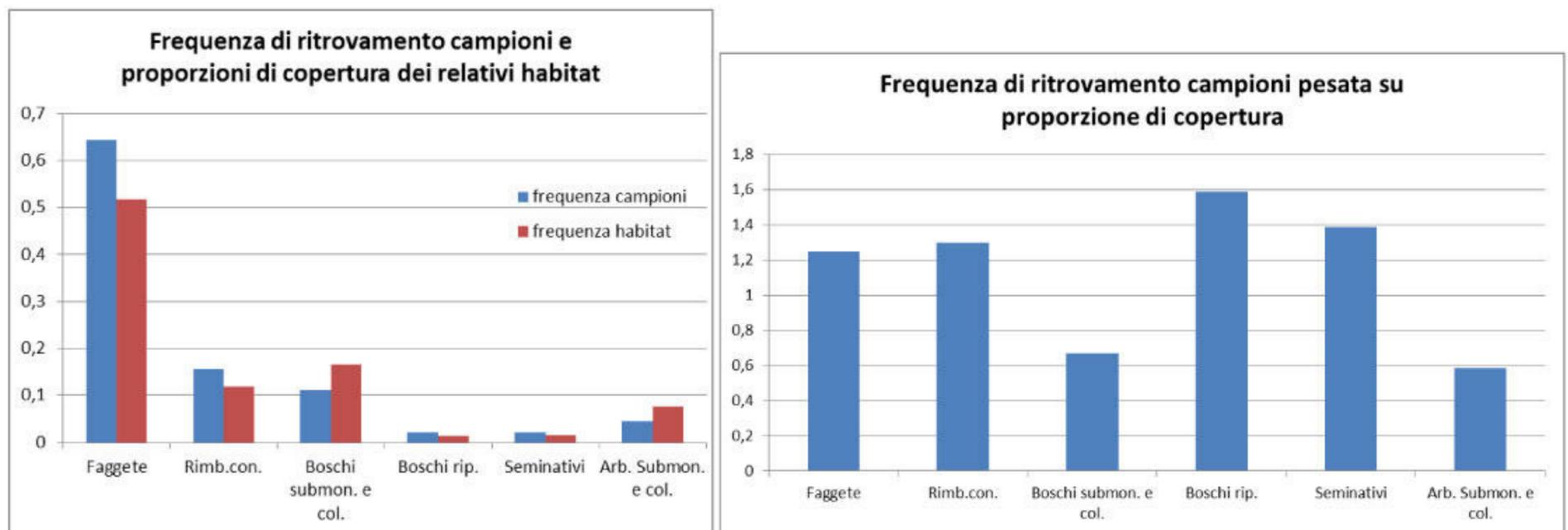
I risultati provenienti dalle due diverse stime sono pienamente comparabili ed in linea con studi precedenti effettuati sia in Appennino che in Sicilia che riportano dati tra 0,2 e 0,3.



Aree considerate per il calcolo della densità, rispettivamente la somma delle aree di buffer intorno alle fototrappole e il minimo poligono convesso che racchiude tutti i paletti.

Utilizzando la cartografia digitale di uso del suolo messa a disposizione dal Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi è stato possibile, tramite il software Qgis, creare una mappa multilivello con la georeferenziazione dei campioni di gatto selvatico (di qualsiasi tipologia) raccolti per osservare la loro distribuzione in relazione alle varie categorie di uso del suolo.

Si può osservare che la maggioranza dei campioni (64%) è stata raccolta in zone costituite da faggete ma notiamo anche che le faggete sono l'habitat a frequenza più elevata nell'area di studio, da sole rappresentano più del 50% dell'area. Il resto dei campioni sono stati trovati principalmente in rimboschimenti di conifere (15%) e in boschi submontani e collinari (11%). Per dare una diversa lettura dei risultati è stata pesata la frequenza di ritrovamento dei campioni in base alla proporzione di copertura dell'habitat. Ora osserviamo infatti che la frequenza di ritrovamento in faggeta è diminuita notevolmente e risulta avere un trend in linea con ritrovamenti in altre tipologie di uso del suolo come i rimboschimenti di conifere, i boschi ripariali e i seminativi. Cala la frequenza di ritrovamento in boschi submontani e collinari; il valore più basso si ha per gli arbusteti submontani e collinari.



CONCLUSIONI

I risultati ottenuti ci permettono di affermare che la presenza di una popolazione stabile è ormai accertata, confermando un'espansione dell'areale verso nord. Considerando che la capacità di dispersione media della specie risulta piuttosto bassa (circa 6 km, MacDonald & Loveridge, 2010) il dato riveste una particolare importanza nel comprendere le dinamiche di espansione della popolazione e conferma ancora una volta l'importanza della dorsale Appenninica quale corridoio ecologico per gran parte delle specie della Penisola.

Per quanto riguarda lo stato di salute genetica della popolazione, la possibile presenza di individui ibridi evidenziata dai risultati genetici e fotografici, soprattutto in quelle zone del Parco con presenza di insediamenti rurali, in cui la presenza di gatti domestici vaganti è alta, potrebbe portare ad un aggravamento del problema. Per cercare di limitare possibili eventi di introgressione, risulterebbe quindi opportuno programmare campagne di sterilizzazione dei gatti domestici/vaganti, principalmente in quelle zone dove è accertata la presenza della sottospecie selvatica.

In quanto alla ricerca di una metodologia standardizzata che integrasse i più comuni metodi di campionamento utilizzati finora, possiamo confermare che l'integrazione multidisciplinare delle diverse tecniche di campionamento è risultata efficiente, portando ad una maggiore comprensione dell'ecologia della specie, pur mantenendo un unico sforzo di campionamento. Questo metodo potrebbe essere replicato in diverse altre aree

del Parco e in altre zone d'Italia in cui la presenza del gatto selvatico sia in dubbio (arco alpino occidentale ad esempio) per continuare a testare la bontà del metodo in differenti contesti ecologici.

In un'ottica critica le difficoltà maggiori sono risultate la discriminazione individuale tramite immagini. Questo perché le macchine utilizzate presentano un buon rapporto qualità prezzo con una buona resa nell'osservare i comportamenti delle varie specie. La modalità video tuttavia risulta di qualità inferiore se confrontata con quella fotografica ai fini del riconoscimento individuale. Per questo unico scopo si raccomandano fototrappole a flash vivo che possano catturare i dettagli del manto più peculiari. La genetica non invasiva, come già ribadito, utilizzando campioni in cui spesso il DNA risulta essere frammentato e degradato, ha una bassa efficienza. D'altra parte le informazioni derivante da queste analisi sono di primaria importanza per la determinazione della salute genetica della specie e quindi per la programmazione relativa ad azioni di conservazioni.

CALCOLO DEI COSTI

Questa tipologia di monitoraggio è caratterizzata da un'alta multidisciplinarietà che implica diversi strumenti e quindi ad alta tecnologia e know-how.

Per quanto concerne la risorsa umana la relazione ad un territorio come quello preso in esame si rendono necessarie almeno due squadre preferibilmente composte da due persone (per ragioni di sicurezza e per una migliore efficienza operativa) di cui almeno una ben formata sul territorio, sulla tipologia di campioni da raccogliere e sulle metodologie di campionamento attuate. Tali squadre dovranno lavorare per almeno due giornate (ogni 7-10 gg, in condizioni anche disagiate (vento - nebbia - neve).

Occorre coprire gli spostamenti di diversi chilometri su mezzi adeguati anche strade forestali.

Si necessitano di alloggiamenti per la notte preferibilmente vicini alle zone di studio.

Per quanto concerne il materiale di campo i costi approssimativi sono riassunti nella seguente tabella: