

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELL'INSUBRIA

Dipartimento di Scienza e Alta Tecnologia
Corso di Laurea Magistrale in Scienze Ambientali



**Influenza di frammentazione e qualità dell'habitat sulle
interazioni ospite-parassita nello scoiattolo comune europeo
(*Sciurus vulgaris*)**

Relatore: Dott. Adriano Martinoli
Correlatori: Dott. Lucas Wauters
Dott. Nicola Ferrari

Tesi di laurea di:
Francesca Santicchia
Matr. 709094

Anno Accademico 2013-2014

"Ecology has the distinction of being peculiarly confronted with uniqueness: millions of different species, countless billions of genetically distinct individuals, all living and interacting in a varied and ever-changing world. The challenge of ecology is to develop an understanding of very basic and apparent problems, in a way that recognizes this uniqueness and complexity..."

Bengon M., Townsend C. R and Harper J. L.
Ecology: From Individuals to Ecosystems

INDICE

Riassunto	1
1. Introduzione	3
2. Lo scoiattolo comune	5
2.1 SISTEMATICA	5
2.1 MORFOLOGIA	6
2.2 DISTRIBUZIONE	7
2.3 ECOLOGIA E COMPORTAMENTO	8
2.4.1 Habitat e ritmi di attività	8
2.4.2 Alimentazione	8
2.4.3 Riproduzione e dinamica di popolazione	9
2.4.4 Organizzazione sociale e uso dello spazio	10
2.5 STATO E CONSERVAZIONE	11
3. Parassiti	13
3.1 INTERAZIONI ECOLOGICHE	13
3.2 MACROPARASSITI	14
3.3 IL CASO DELLO SCOIATTOLO COMUNE	14
3.1.1 Endoparassiti: Nematodi	15
3.3.2 <i>Trypanoxyuris (Rodentoxyuris) sciuri</i>	15
3.3.3 Ectoparassiti	18
4. Aree di studio	19
4.1 RACCOLTA CARCASSE	19
4.2 AREE DI CATTURA	20
4.2.1 Aree di pianura	20
4.2.2 Aree di montagna	22
5. Materiali e Metodi	24
5.1 INDAGINI SU CARCASSE	24
5.1.1 Filtrazione	24
5.1.2 Conteggio degli elminti	25

5.2 INDAGINI SU SOGGETTI CATTURATI	26
5.2.1 <i>Pre-baiting</i> con <i>hair tube</i>	26
5.2.2 Tecnica di cattura-marcatura-ricattura	26
5.3 ANALISI COPROLOGICA	29
5.3.1 Analisi quantitativa (McMaster)	29
5.3.2 Analisi qualitativa (Flottazione)	30
5.4 ANALISI DEI DATI	31
5.4.1 Indagini su carcasse	31
5.4.2 Indagini su soggetti catturati	32
6. Risultati	33
6.1 INDAGINI SU CARCASSE	33
6.1.1 Endoparassiti: comunità elmintica	34
6.1.1.1 Distribuzione d'infezione di <i>T. sciuri</i>	34
6.1.2 Ectoparassiti	37
6.2 INDAGINI SU SOGGETTI CATTURATI	38
7. Discussione e Conclusioni	43
Ringraziamenti	47
Bibliografia	48

RIASSUNTO

Il fenomeno della frammentazione, a seguito dell'eccessiva antropizzazione o di cause naturali, porta alla suddivisione dell'habitat idoneo in *patch* isolate e immerse in una matrice sub-ottimale o completamente inidonea.

Questo meccanismo determina molteplici conseguenze per molte specie animali, tra le quali lo scoiattolo comune europeo (*Sciurus vulgaris*), roditore con stile di vita arboricolo.

Studi precedenti hanno evidenziato come la frammentazione causi una diminuzione del tasso di immigrazione di nuovi individui e, di conseguenza, porti a una riduzione della variabilità genetica all'interno delle singole popolazioni di scoiattolo nelle *patch*.

Questa tesi si fonda sull'ipotesi che la frammentazione comporti una probabile diminuzione della disponibilità di cibo, la quale potrebbe determinare un minor peso corporeo negli individui. Tale relazione si somma al fatto che la diversità genetica nei frammenti è minore e, insieme, entrambi i fattori potrebbero portare a una maggior suscettibilità alle infezioni parassitarie per gli scoiattoli di habitat frammentati, rispetto ai conspecifici residenti in habitat continui.

Lo scopo principale del lavoro è indagare la componente parassitaria dell'ipotesi precedente; per far ciò sono state eseguite delle analisi considerando due vie di indagine: una effettuata su carcasse di individui ritrovati morti (N=92) provenienti dal Nord Italia; l'altra condotta su animali catturati mediante *live trap* (336 catture di 200 individui) in 6 aree di studio, 3 di pianura e 3 di montagna.

Lo studio si è concentrato su *Trypanoxyuris* (*Rodentoxyuris*) *sciuri* parassita gastro-intestinale dominante dello scoiattolo comune europeo che si trasmette per autoinfestazione dell'ospite e con alcuni casi di trasmissione orizzontale tra scoiattoli. Gli ectoparassiti sono stati analizzati solamente per un sotto-campione di carcasse e relativamente alle pulci della famiglia Ceratophyllidae.

Le analisi sulle carcasse, svolte mediante filtrazione del pacchetto gastro-intestinale *post mortem* e conta dei nematodi, hanno evidenziato come l'abbondanza dell'elminta dominante sia più elevata in aree frammentate e di pianura, dove sono anche stati ritrovati gli individui con i pesi maggiori. Per quanto riguarda gli esemplari presenti in aree montane, è stato evidenziato che l'abbondanza del parassita aumenta con l'aumentare del peso corporeo dell'ospite, inoltre, le indagini su tali individui hanno evidenziato come, negli anni di minor disponibilità di cibo, ci sia un incremento numerico degli individui di *T. sciuri*.

Sono state condotte anche delle analisi relative alla presenza di pulci sulle carcasse (prevalenza 45%), dalle quali è stato rilevato che gli individui di scoiattolo comune di aree di pianura e con peso minore sono più frequentemente infestati da ectoparassiti rispetto agli scoiattoli con peso maggiore.

Le indagini effettuate sugli scoiattoli, catturati a vivo tramite tecnica di cattura-marcatura-ricattura e successivo *tape-test*, hanno evidenziato una prevalenza di *T. sciuri* del 64% nelle 6 aree studio. In particolare è risultata maggiore per gli individui maschi (71%) rispetto alle femmine (56%) e significativamente più alta per gli scoiattoli dell'area di studio nel Parco Pineta (80%) rispetto agli animali presenti nel parco urbano di Gallarate (48%), dove ricevono alimentazione supplementare dai frequentatori dell'area urbana.

Nelle due aree studio al limite altitudinale della distribuzione di *S. vulgaris*, le densità sono simili tra loro e più basse rispetto alle altre aree studio; inoltre, in questi due particolari habitat marginali, gli scoiattoli hanno minori dimensioni corporee e un minor peso corporeo. Nonostante la differenza tra le densità di popolazione di scoiattolo non è stato rilevato un effetto densità-dipendente sulla prevalenza del parassita.

Concludendo, l'abbondanza di *T. sciuri* sembra essere correlata con la frammentazione, la collocazione altitudinale (pianura-montagna) e la qualità dell'habitat (disponibilità di cibo), in particolare in relazione al comportamento degli scoiattoli.

Anche la prevalenza del parassita sembra non essere influenzata dalla densità, ma dal comportamento degli scoiattoli, che risulta diverso tra maschi e femmine, che presentano, peraltro, differenti cicli ormonali e sistemi immunitari diversi.

Per poter indagare con maggior dettaglio l'ipotesi di partenza, sono necessari ulteriori studi che consentano di approfondire la capacità di resistere alle infezioni parassitarie, ad esempio tramite analisi genetiche che permettono di definire i livelli di eterozigosità e che consentano di analizzare il diverso impatto delle infezioni, tramite tecniche di analisi dei metaboliti corticosteroidi fecali (FCM), indice di stress nell'animale con conseguente influenza sul sistema immunitario.

1. INTRODUZIONE

La distruzione e la trasformazione degli ambienti naturali, la loro riduzione in superficie e l'aumento dell'isolamento, sono tutte componenti del processo di frammentazione. Tale fenomeno avviene principalmente per cause antropiche e può influenzare la struttura e la dinamica di popolazione di specie sia animali che vegetali, arrivando ad alterare i parametri di comunità, i processi ecologici e le funzioni ecosistemiche (Verbeylen *et al.*, 2009). La frammentazione delle foreste grandi e continue in aree più piccole e più o meno isolate (*patch*) influisce sulla sopravvivenza, la distribuzione e la dinamica di popolazione di molte specie di mammiferi (Andrén, 1994, 1996).

Gli scoiattoli arboricoli sono un modello ideale per studiare gli effetti della frammentazione delle foreste; vivono, infatti, sia in foreste continue sia in piccole *patch* di boschi e lungo un gradiente di territorio con differenti proporzioni di habitat idoneo (Andrén, 1994; Matthysen *et al.*, 1995; Wauters, 1997a; Goheen *et al.*, 2003).

Il grado di frammentazione delle foreste, la grandezza, la qualità e la struttura delle *patch* rimanenti, influiscono sulla distribuzione e la densità di popolazione di scoiattolo comune (Andrén e Delin, 1994; Celada *et al.*, 1994; Wauters *et al.*, 1994a,b; Rodriguez e Andrén, 1999; Verbeylen *et al.*, 2003). Inoltre, la diversità genetica delle piccole popolazioni che vivono nei boschi frammentati è minore rispetto alle popolazioni residenti in grandi foreste continue, a causa della riduzione del tasso di immigrazione (Wauters *et al.*, 1994c; Trizio *et al.*, 2005).

La frammentazione degli habitat può influire anche sulla qualità dell'habitat stesso in termini di cambiamento della struttura e della dinamica delle specie vegetali, diminuendo così la disponibilità di risorse alimentari per erbivori e granivori. La quantità di cibo consumato dagli animali produce energia per la crescita, per il mantenimento di buone condizioni fisiche e per investire nella riproduzione (Robbins, 1993; Cuthill e Houston, 1997). In molti vertebrati avere un buon peso corporeo in relazione alle dimensioni è indice di buone condizioni per poter sopravvivere in periodi di mancanza di cibo o in condizioni climatiche estreme (Millar e Hickling, 1990), per riprodursi con successo e competere con conspecifici di peso e grandezza minori (Wauters e Dhondt 1989, 1995; Robbins, 1993; Cuthill e Houston, 1997).

La conservazione della biodiversità e la gestione delle popolazioni animali sono impossibili senza comprendere i fattori che governano le dinamiche di popolazione e le relazioni nelle comunità degli organismi *target*. I parassiti sono uno di questi fattori; possono influenzare

fortemente l'abbondanza e la composizione delle popolazioni ospite, tramite effetti sulla sopravvivenza e fecondità (Morand *et al.*, 2006a).

Lo scoiattolo comune, fino ad ora, è stato oggetto di pochi studi a livello parassitario (Romeo *et al.*, 2013), l'obiettivo di questa tesi è di indagare l'influenza della frammentazione e della qualità dell'habitat nelle interazioni ospite-parassita tra lo scoiattolo autoctono e i macroparassiti.

In particolare, si ipotizza che gli scoiattoli residenti in habitat frammentati e con minor disponibilità di cibo siano più parassitati rispetto ai loro conspecifici presenti in habitat più idonei.

Per poter testare tale ipotesi sono state prese in considerazione due vie di indagine: una relativa alle carcasse di animali ritrovati morti (*post mortem*); l'altra relativa agli animali catturati a vivo, tramite la tecnica di cattura-marcatura-ricattura.

Per i primi è stato possibile valutare le abbondanze di *Trypanoxyuris* (*Rodentoxyuris*) *sciuri*, elminta dominante dello scoiattolo comune; per i secondi, invece, sono state indagate le prevalenze di infezione da elminti gastro-intestinali a livello di popolazione.

2. LO SCOIATTOLO COMUNE (*Sciurus vulgaris*)

2.1 SISTEMATICA

Lo scoiattolo comune (*Sciurus vulgaris*) (Figura 1), unico scoiattolo arboricolo autoctono presente in Europa, è un mammifero appartenente all'ordine dei Roditori (Tabella 1).



Figura 1: Scoiattolo comune europeo (*Sciurus vulgaris* L.) (Eugenio Manghi, 2012).

Tabella 1: Inquadramento sistematico dello scoiattolo comune (*Sciurus vulgaris* L.).

Phylum	Chordata
Subphylum	Vertebrata
Classe	Mammalia
Ordine	Rodentia
Sottordine	Sciuromorpha
Famiglia	Sciuridae
Sottofamiglia	Sciurinae
Genere	<i>Sciurus</i> (Linnaeus 1758)
Specie	<i>Sciurus vulgaris</i> (Linnaeus 1758)
Sottospecie italiane	<i>Sciurus vulgaris fuscoater</i> (Altum 1876), sulle Alpi; <i>Sciurus vulgaris italicus</i> (Bonaparte 1838), sull'Appennino centrosettentrionale; <i>Sciurus vulgaris meridionalis</i> (Lucifero 1907), nelle regioni meridionali.

L'ordine dei Roditori, con più di 30 famiglie e circa 2200 specie, rappresenta il *taxon* più ampio dell'intera classe dei Mammiferi (Carleton e Musser, 2005) ed è un ordine cosmopolita e dall'ampio successo evolutivo che, grazie a cicli riproduttivi brevi delle specie e ad un'estrema adattabilità, è riuscito a colonizzare gli ambienti più disparati (Gurnell, 1987).

Il sottordine Sciuromorpha, al quale appartengono tutti gli scoiattoli, è costituito da sette famiglie; lo scoiattolo comune appartiene alla famiglia Sciuridae che comprende 51 generi (Gurnell, 1987). Al genere *Sciurus* sono ascritte in tutto 27 specie, ma fra queste, oltre allo scoiattolo comune, solo altre due sono presenti naturalmente nella regione paleartica: *S. anomalus* nel Caucaso e in Medioriente e *S. lis* in Giappone (Lurz *et al.*, 2005).

Un recente studio ha evidenziato, mediante analisi del DNA mitocondriale, la particolare posizione filogenetica della sottospecie *S. vulgaris meridionalis* che, rimasta a lungo isolata in Calabria alla fine del Pleistocene, costituisce un clade distinto rispetto a tutte le altre sottospecie europee (Grill *et al.*, 2009).

2.2 MORFOLOGIA

Lo scoiattolo comune presenta una morfologia facilmente riconoscibile con una lunghezza testa-corpo negli esemplari adulti variabile tra i 206 e i 250 mm e una coda tra i 150 e i 205 mm (Lurz *et al.*, 2005). Il peso corporeo è estremamente variabile, sia tra singoli individui che stagionalmente: in media un individuo adulto pesa 280-380 g (Wauters e Dhondt, 1989).

Anche il colore del pelo è molto variabile: il mantello dorsale dello scoiattolo comune presenta infatti un elevato polimorfismo ed il numero di fasi cromatiche e la loro frequenza relativa variano sia tra diverse sottospecie che all'interno della stessa sottospecie, in relazione alla distribuzione geografica ed alla tipologia di habitat (Voipio, 1969, 1970; Wiltschko, 1973; Wauters *et al.*, 2004a). In Europa sono presenti due forme cromatiche principali (rossa e scura) con un ampio *range* di forme intermedie, mentre la parte ventrale del mantello è sempre biancastra o color crema (Prigioni *et al.*, 2001; Wauters *et al.*, 2004a). La pelliccia è inoltre soggetta a due mute annuali, il mantello estivo è più rado e spesso anche più chiaro rispetto a quello invernale. Il pelo delle orecchie e della coda, invece, muta una sola volta l'anno, durante l'autunno, quando la coda si fa più folta e crescono i caratteristici ciuffi auricolari che tenderanno poi a sparire all'inizio della stagione estiva (Gurnell, 1994).

Non è presente alcun tipo di dimorfismo sessuale né nella taglia né nel colore; i sessi sono riconoscibili grazie alla diversa distanza tra l'apertura genitale e l'ano (adiacenti nelle femmine e

distanti circa 1 cm nei maschi) (Lurz *et al.*, 2005) (Figura 2 e 3) e, per le femmine, dalla presenza di capezzoli, non visibili negli individui che non si sono riprodotti e nei giovani.



Figura 2: Individuo maschio di *S. vulgaris*.



Figura 3: Individuo femmina di *S. vulgaris*.

2.3 DISTRIBUZIONE

Lo scoiattolo comune occupa tutti gli habitat idonei della Regione Palearctica, distribuendosi attraverso l'Eurasia, dalla penisola iberica e le isole britanniche ad Ovest, all'isola giapponese di Hokkaido a Est. Si ritrova in molti ambienti dalle condizioni differenti, dalle foreste boreali o subalpine di conifere, alle foreste temperate di latifoglie decidue, fino alle foreste di clima mediterraneo (Lurz *et al.*, 2005).

In Italia è diffuso sulle Alpi e sugli Appennini, principalmente tra i 250 m e i 2000 m s.l.m. In montagna, le foreste continue di conifere rappresentano l'habitat elettivo per lo scoiattolo comune (Wauters *et al.*, 2008). In pianura, al contrario, la specie risente dell'eccessiva antropizzazione, dimostrando tuttavia di potersi adattare ad habitat frammentati, stabilendosi nelle *patch* ancora idonee circondate da matrice inidonea.

Negli habitat frammentati, infatti, lo scoiattolo comune riporta la stessa organizzazione sociale di base che adotta negli habitat continui. Tuttavia, l'uso dello spazio è influenzato dalla grandezza e dalla struttura dei frammenti disponibili e dalla loro connettività (Wauters e Dhondt, 1992; Wauters *et al.*, 1994a).

2.4 ECOLOGIA E COMPORTAMENTO

2.4.1 Habitat e ritmi di attività

Lo scoiattolo comune popola qualunque habitat forestale, sia di latifoglie che di conifere, ma mostra una particolare predilezione per i boschi maturi e plurispecifici, dove la disponibilità alimentare è maggiore e la produzione di semi risulta meglio distribuita durante l'anno (Gurnell, 1987). Contrariamente ad altri roditori è un animale attivo tutto l'anno, anche se i suoi ritmi di attività sono fortemente connessi con la durata del fotoperiodo e con la temperatura e presentano quindi una elevata variabilità stagionale. Durante la stagione calda il *pattern* di attività presenta infatti due picchi, uno nella prima mattinata ed uno a metà pomeriggio, mentre in inverno i ritmi si riducono notevolmente e il momento di massima attività coincide con le ore centrali della giornata, quando la temperatura è più mite (Wauters e Dhondt, 1987; Wauters *et al.*, 1992). Si tratta, inoltre, di un animale la cui attività è esclusivamente diurna, iniziando con le prime luci dell'alba e terminando al tramonto o comunque quando le condizioni climatiche sono sfavorevoli (in caso di pioggia, neve o temperature estreme). Quando non è attivo si rifugia in nidi di forma sferica del diametro di circa 30 cm che vengono costruiti alla biforcazione dei rami, utilizzando rametti per la parte esterna e materiali morbidi come muschio, foglie ed erba per imbottire la cavità interna (12-16 cm di diametro) (Lurz *et al.*, 2005).

2.4.2 Alimentazione

La fonte alimentare primaria dello scoiattolo comune è sicuramente costituita dai semi, sia di conifere che di latifoglie (Figura 4), ma la dieta può essere integrata con cibi secondari come funghi epigei o ipogeï, bacche, uova di uccelli e invertebrati (Gurnell, 1994).



Figura 4: Pigne e semi di conifere e latifoglie.

Nei periodi di ridotta disponibilità alimentare vengono poi sfruttati alimenti a minor contenuto energetico come gemme e germogli, fiori, licheni e corteccia (Wauters e Dhondt, 1987; Gurnell, 1994). Durante l'autunno lo scoiattolo comune ha l'abitudine di conservare delle riserve di cibo in vista della stagione invernale: i semi provvisti di guscio (come faggiole, nocciole o pinoli) vengono nascosti in dispense scavate alla base degli alberi (Wauters *et al.*, 1995a). In relazione a questo suo comportamento, lo scoiattolo comune svolge un'azione molto importante nella dispersione dei semi, contribuendo in modo significativo al rinnovamento naturale del bosco (Gurnell, 1987; Wauters e Casale, 1996). In autunno, in particolare, si nutre di funghi ipogei, le cui spore vengono poi disperse tramite le feci (Bertolino *et al.*, 2004).

In generale lo scoiattolo comune impiega in media il 60-80% del proprio tempo per la ricerca del cibo e l'alimentazione, ma questa percentuale è variabile in funzione della distribuzione spaziale delle risorse e del loro contenuto energetico: il tempo dedicato al foraggiamento è ad esempio maggiore nelle foreste di conifere che in quelle di latifoglie (Wauters *et al.*, 1992). La distribuzione e la disponibilità delle risorse alimentari sono inoltre fattori determinanti nel controllare la taglia dell'animale e quindi determinarne il successo riproduttivo, i rapporti sociali e la sopravvivenza (Wauters *et al.*, 2007a).

2.4.3 Riproduzione e dinamica di popolazione

Lo scoiattolo comune è caratterizzato da un sistema sessuale di tipo poliginico, in cui il corteggiamento consiste nell'inseguimento della femmina in estro da parte di più maschi che possono rincorrerla per più di un'ora (Lurz *et al.*, 2005). Il maschio che guida l'inseguimento è quello socialmente dominante e nella maggior parte dei casi sarà l'unico a portare a termine l'accoppiamento, anche se a volte le femmine possono accoppiarsi con maschi subordinati o con più di un maschio (Wauters *et al.*, 1990). La stagione riproduttiva è piuttosto lunga e, dove le condizioni climatiche sono meno rigide, può durare da dicembre fino a settembre inoltrato (Lurz *et al.*, 2005). Le femmine possono quindi portare a termine due cucciolate all'anno (la prima in primavera e la seconda alla fine dell'estate), ma solo se le condizioni ambientali lo consentono. Per entrare in estro esse devono infatti superare una certa soglia di peso e quando le risorse alimentari sono troppo scarse la riproduzione primaverile può essere rimandata o addirittura non verificarsi (Wauters e Dhondt, 1989; Wauters e Lens, 1995; Wauters *et al.* 2008).

La filopatria nello scoiattolo comune è piuttosto rara: tendenzialmente i giovani, dopo lo

svezzamento, si disperdono alla ricerca di un territorio libero in cui stabilirsi (Wauters e Dhondt, 1993; 1995; Wauters *et al.*, 1994b). La maturità sessuale viene raggiunta intorno all'anno di età, mentre l'aspettativa media di vita in natura è di circa 3-4 anni, con un massimo di 7 (Wauters e Dhondt, 1995). Oltre all'età, le cause di morte più comuni sono l'inedia, la presenza di parassiti (soprattutto in animali già debilitati), il freddo eccessivo e la predazione da parte di volpi, mustelidi o rapaci, in particolare l'astore (*Accipiter gentilis*) (Lurz *et al.*, 2005).

2.4.4 Organizzazione sociale e uso dello spazio

Lo scoiattolo comune è un animale solitario per la maggior parte del tempo anche se nei periodi più freddi più esemplari, tendenzialmente imparentati, possono utilizzare contemporaneamente lo stesso nido (Wauters e Dhondt, 1990). Lo *status* sociale di un animale ne condiziona la sopravvivenza, il successo riproduttivo e l'uso dello spazio: è stato dimostrato che i maschi dominanti hanno in media *home range* più vasti rispetto ai loro subordinati (Wauters e Dhondt, 1992), mentre le femmine dominanti sono quelle che detengono i territori di qualità migliore e che porteranno più facilmente a termine la riproduzione (Wauters e Dhondt, 1989, 1995).

L'uso dello spazio è diverso nei due sessi: gli *home range* e le *core-area* maschili sono di norma più estesi (circa il doppio) rispetto a quelli delle femmine e fortemente sovrapposti a questi (Wauters e Dhondt, 1992; Wauters *et al.*, 2001a). Questo avviene perché, in un sistema sessuale di tipo poliginico, avere un *home range* ampio rappresenta per i maschi un vantaggio, in quanto permette loro di entrare in contatto con più femmine durante la stagione riproduttiva e ne aumenta le probabilità di accoppiamento (Wauters *et al.*, 1990).

L'organizzazione sociale, il grado di territorialità e l'uso dello spazio da parte dello scoiattolo comune possono però variare nel tempo e nello spazio in funzione della disponibilità trofica: gli scoiattoli, infatti, tendono ad ampliare i propri *home range* per sopperire ad una diminuzione nella disponibilità alimentare, con un conseguente aumento delle aree di sovrapposizione con altri individui (Wauters *et al.*, 2005a).

2.5 STATO E CONSERVAZIONE

A livello globale, lo scoiattolo comune è una specie ampiamente diffusa nella maggior parte del suo areale; è classificato nella categoria “*Least Concern*” della IUCN *Red List*, tuttavia, a livello locale, sembra essere in declino in molte zone dell'area distributiva.

Le principali minacce alla sopravvivenza dello scoiattolo comune in Europa sono costituite dalla perdita e dalla frammentazione dell'habitat (Celada *et al.*, 1994; Wauters *et al.*, 1994a; 1994c) e dalla competizione con lo scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*), specie alloctona nord-americana introdotta ripetutamente in Gran Bretagna e Irlanda dalla fine del XIX secolo e in Nord Italia a partire dal 1948, prima in Piemonte e Liguria, più tardi anche in Lombardia e dal 2003 in Umbria (Perugia) (Gurnell, 1987, 1996; Gurnell e Pepper, 1993; Bertolino e Genovesi, 2003; Martinoli *et al.*, 2010). Nelle aree di simpatria delle due specie si assiste ad una progressiva contrazione delle popolazioni di scoiattolo comune. Questa situazione in Gran Bretagna ha portato alla scomparsa della specie nativa da gran parte dell'isola (Gurnell, 1987; Gurnell e Pepper, 1993; Wauters *et al.*, 1997b).

Attualmente la maggiore popolazione della specie alloctona in Italia è quella insediata in Piemonte, tra le province di Torino e Cuneo, dove purtroppo determina l'estinzione dello scoiattolo comune in gran parte dell'area di presenza (Genovesi e Bertolino, 2001; Bertolino e Genovesi, 2003); sono inoltre presenti nuclei non in continuità in territorio lombardo, tra cui quello nella Valle del Ticino (Tattoni *et al.*, 2005; Bertolino *et al.*, 2014).

Lo scoiattolo grigio risulta avvantaggiato nella competizione per le risorse trofiche, in particolar modo nelle foreste di latifoglie, suo habitat originario a cui questa specie sembra essere meglio adattata. Lo scoiattolo alloctono, infatti, riesce a raggiungere densità molto più elevate rispetto allo scoiattolo comune, probabilmente a causa della capacità di digerire meglio le ghiande e quindi sfruttare meglio le risorse trofiche offerte dal genere *Quercus* (Gurnell, 1996; Kenward e Holm, 1993; Wauters *et al.*, 2001b). Inoltre, avendo abitudini più spiccatamente terricole, lo scoiattolo grigio sfrutta le dispense scavate dallo scoiattolo nativo, privandolo di una risorsa fondamentale per il superamento dei mesi invernali (Wauters *et al.*, 2002a; 2005b). In foreste di conifere, invece, lo scoiattolo comune potrebbe risultare avvantaggiato dalle dimensioni inferiori che gli conferiscono una maggiore mobilità e rendono più facile il consumo dei semi, piccoli e difficili da estrarre (Kenward *et al.*, 1998).

Un'altra causa del declino dello scoiattolo comune potrebbe essere la trasmissione interspecifica di un virus (SQPV, *Squirrel Pox Virus*) di cui lo scoiattolo grigio è portatore sano (Sainsbury *et*

al., 2000; Rushton *et al.*, 2000; Tompkins *et al.*, 2002).

Attraverso un approccio modellistico è stata simulata l'espansione dello scoiattolo grigio in Italia ed è stato dimostrato come la popolazione italiana, se non controllata, sia in grado di raggiungere la Svizzera entro 20 anni circa (Tattoni *et al.*, 2006).

Secondo recenti simulazioni, nel caso peggiore, i nuclei esistenti in Liguria (Genova Nervi) saranno i responsabili della colonizzazione dell'Appennino entro 50-60 anni; la popolazione piemontese, inoltre, potrebbe arrivare a colonizzare la Francia in soli 30-40 anni, sfruttando il corridoio ecologico costituito dalle foreste continue tra il Piemonte e la Francia (Bertolino *et al.*, 2008).

Infine è da segnalare la recente introduzione in Italia di altre quattro specie di *Sciuridae*: lo scoiattolo variabile o scoiattolo di Finlayson (*Callosciurus finlaysonii*) proveniente dal sud-est asiatico e presente con due popolazioni (ad Aquiterme e Maratea), lo scoiattolo di Pallas (*Callosciurus erythraeus*) anch'esso proveniente dal sud-est asiatico e introdotto in nord Italia nei pressi di Luino (VA) e il tamia siberiano (*Eutamias sibiricus*), di cui sono presenti almeno tre popolazioni (a Roma, Verona e Belluno) e sono state registrate alcune segnalazioni in varie regioni del nord Italia e nel Lazio (Bertolino e Genovesi, 2005).

3. PARASSITI

3.1 INTERAZIONI ECOLOGICHE

I piccoli mammiferi sono un'importante componente della dieta di tanti predatori e contribuiscono ai servizi ecosistemici, in particolare alla dispersione e germinazione di semi e spore; inoltre, molti di loro, sono specie chiave (*keystone species*). Da un altro punto di vista molti piccoli mammiferi sono dannosi per le colture agricole e sono responsabili dell'enorme perdita di raccolto in numerosi paesi; inoltre, sono ospiti di numerose specie parassite e serbatoio di malattie pericolose per uomini e animali.

L'ecologia studia i rapporti e le interazioni tra gli organismi e con l'ambiente, in tal senso, per i piccoli mammiferi, sono stati studiati gli effetti sulle colture agricole, i rapporti con i predatori e i rapporti di competizione con altre specie; tuttavia, poco è stato indagato sui rapporti tra organismi parassiti nonostante questi possano influire sull'abbondanza e la composizione delle popolazioni e comunità di piccoli mammiferi (Morand *et al.*, 2006a). I parassiti possono essere classificati in due gruppi principali in base alle relazioni ecologiche che instaurano con i loro ospiti (Anderson e May, 1979): microparassiti, generalmente identificati nei virus, batteri e protozoi, e macroparassiti, generalmente identificati nei parassiti metazoi quali elminti e artropodi.

I microparassiti sono piccoli e intracellulari, si moltiplicano direttamente all'interno del loro ospite dove si ritrovano spesso in numero elevato. È difficile e inadeguato stimarne precisamente il numero, inoltre, a livello di interazione con l'ospite, essi sono in grado di sviluppare una risposta immunitaria protettiva, in questo senso la popolazione ospite verrà distinta in soggetti recettivi, infetti ed immuni e, per questa ragione, si studia il numero degli ospiti infetti.

I macroparassiti hanno per lo più cicli biologici più complicati che comprendono una fase del loro ciclo esterno all'ospite, crescono ma non si moltiplicano nell'ospite e producono stadi infettivi specializzati che sono rilasciati per infettare altri animali. Solitamente è possibile contare e stimare il numero e, in virtù del loro ciclo complesso che richiede mute ed un corredo antigenico articolato, essi non danno origine ad una risposta immunitaria protettiva, ma piuttosto autolimitante il numero dei parassiti infettanti. Inoltre, l'impatto patogeno dei macroparassiti risulta proporzionale al loro numero, pertanto in questo caso determinarne il numero all'interno dell'ospite (intensità di infezione) risulterà di maggior importanza rispetto al numero di ospiti

infetti.

3.2 MACROPARASSITI

I macroparassiti possono essere suddivisi a seconda del ciclo di vita: diretto, da ospite a ospite e indiretto, ovvero attraverso uno o più ospiti intermedi o di un vettore.

Un vettore è un animale che trasporta un parassita da un ospite ad un altro, alcuni di questi non hanno altro ruolo; tuttavia, altri vettori fungono da ospiti intermedi dove il parassita cresce e si moltiplica.

I macroparassiti si suddividono ulteriormente in ectoparassiti che infettano la cute ed endoparassiti che infettano il soma degli ospiti (cestodi, nematodi, trematodi e acantocefali) (Morand *et al.*, 2006a).

La diversità macroparassitaria dei piccoli mammiferi si suddivide in quattro maggiori *Phyla*: i *Rhabditophorea* (cestodi e trematodi), i *Syndermata* (acantocefali), i Nematodi (*Nematoda*) e gli Artropodi (*Arthropoda*) (pulci, zecche, pidocchi, acari e mosche).

Per quanto riguarda, inoltre, lo spettro d'infezione si evidenzia che alcune specie parassitarie sono specifiche per un determinato ospite, inoltre hanno la capacità di regolarne le popolazioni, nonostante l'effetto sub-letale che causa diminuzioni nella sopravvivenza e nella fecondità (Morand *et al.*, 2006a).

La diversità di parassiti nelle comunità di ospiti, inoltre, è influenzata da fattori ambientali, ecologici ed evolutivi sia dell'ospite che del parassita (Poulin, 1997, 2004).

Si è osservata, infatti, una relazione positiva tra la ricchezza di parassiti in un ospite e il numero delle specie a lui filogeneticamente vicine che vivono nella stessa area (Krasnov *et al.*, 2006; Pisanu *et al.*, 2009); di conseguenza, la trasmissione di parassiti da ospite a ospite e la loro diversità saranno maggiori in specie che vivono in simpatria con loro congeneri.

3.3 IL CASO DELLO SCOIATTOLO COMUNE

Dopo aver analizzato il contesto che determina le interazioni ospite-parassita, indaghiamo nello specifico il caso dello scoiattolo comune (*S. vulgaris*). Lo scoiattolo comune risulta essere l'unico scoiattolo arboricolo nel suo areale (Lurz *et al.*, 2005), questo può porlo al riparo da infezioni, dunque si può ipotizzare una fauna parassitaria composta da poche specie. Infatti, alcuni studi hanno dimostrato che *S. vulgaris* risulta essere poco parassitato (Feliu *et al.*, 1994) e dispone di

una comunità macroparassitaria povera, con solo 3 specie dominanti (prevalenza > 5%): un nematode gastro-intestinale e due artropodi (Romeo *et al.*, 2013).

3.3.1 Endoparassiti: Nematodi

I nematodi riportano un'alta diversità in termini di numero di specie, ma anche di ciclo di vita e modalità di infezione.

I nematodi raramente uccidono il loro ospite, sono parassiti sub-letali e determinano un impatto sulla sua riproduzione, la sopravvivenza e dunque, potenzialmente, sulla dinamica di popolazione.

Nei piccoli mammiferi sono presenti sette ordini di nematodi: *Rhabditida*, *Strongylida*, *Panagrolaimida*, *Ascaridida*, *Oxyurida*, *Spirurida* e *Trichurida* (Morand *et al.*, 2006b in: Morand *et al.*, 2006c).

La descrizione verterà ora sulla specie di nematode dominante dello scoiattolo comune e sulle specie di ectoparassiti indagate in questa tesi.

3.3.2 *Trypanoxyuris (Rodentoxyuris) sciuri*

Tabella 2: Inquadramento sistematico di *T. (R.) sciuri*.

Phylum	<i>Nematoda</i>
Classe	<i>Chromadorea</i>
Ordine	<i>Oxyurida</i>
Famiglia	<i>Oxyuridae</i>
Genere	<i>Trypanoxyuris (Rodentoxyuris)</i> (Cameron, 1932)
Specie	<i>Trypanoxyuris (Rodentoxyuris) sciuri</i> (Cameron, 1932)

Il nematode dominante tra gli elminti parassiti dello scoiattolo comune è *Trypanoxyuris (Rodentoxyuris) sciuri*, questo parassita fa parte della famiglia degli ossiuridi (Tabella 2), nella quale la riproduzione avviene per partenogenesi: il maschio aploide deriva da partenogenesi parziale di uova non fecondate, le femmine, al contrario, sono diploidi e si sviluppano da uova fecondate (Adamson, 1989).

La storia filogenetica di *T. (R.) sciuri* inizia da uno scambio di ospite dai *Platyrrhini* (primati del

sud America) agli *Sciurini*, avvenuto alla fine del Terziario quando si ristabilì la connessione tra nord e sud America, dove i primati erano rimasti isolati fino ad allora.

Da quel momento è iniziata un'evoluzione parallela e la dispersione nell'Oloartico di *Rodentoxyurus* con la specie *Sciurus*.

In Asia, al contrario, *S. vulgaris* è parassitato da un genere diverso di elminta (*Syphabulea*), il quale si estende dal sud-est asiatico al nord America e in Spagna (Hugot e Feliu, 1990).

Nella zona oloartica di distribuzione, *Syphabulea* parassita i generi *Sciurus*, *Sciurotamias*, *Tamiasciurus* e *Glaucomys* (Hugot, 1988) e si contrappone a *Rodentoxyuris* negli Sciuridi e separa la sua distribuzione in due aree disconnesse, spiegando così la comparsa di nuove specie di *Rodentoxyuris* nella zona est del Paleartico (Hugot, 1999).

Gli individui adulti si distinguono per la forma caudale: allungata e con una spicola nei maschi (250 μm), tranciata nelle femmine, le quali sono di maggiori dimensioni (650 μm). Inoltre, in entrambi i sessi, nella forma adulta, sono presenti due ali ai lati della testa e risultano ben visibili gli organi interni (Hugot, 1984) (Figura 5).



Figura 5: Forma adulta di ossiuride con organi interni visibili.

La forma larvale risulta di dimensioni molto minori rispetto alla forma adulta e si caratterizza per la mancanza degli organi sessuali e per la poca definizione degli organi interni, non ancora del tutto sviluppati; i giovani compiono due mute all'interno del tratto gastro-intestinale dell'ospite.

Le femmine gravide si riconoscono per la presenza di uova visibili nella zona addominale-caudale (Hugot, 1984), per depositare le uova migrano verso l'ano ed esplodono rilasciandole attorno all'apertura perianale; lo scoiattolo comune, tramite attività di *grooming* si autoinfesta determinando così un ciclo di vita del parassita completamente interno, senza stadi a vita libera (Figura 6).

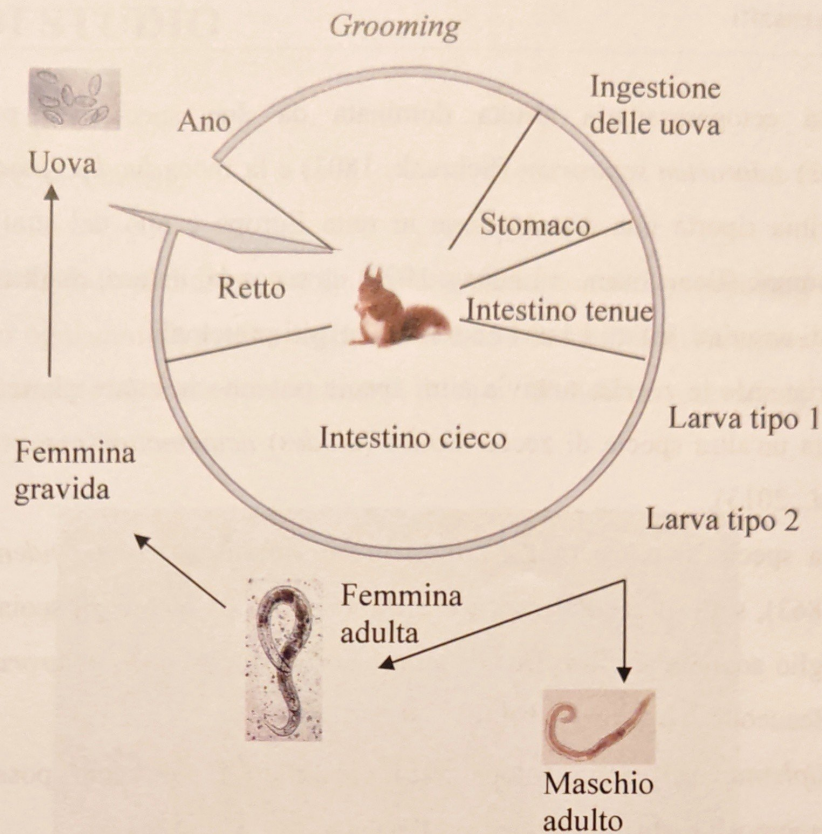


Figura 6: Ciclo biologico *T. sciuri*.

Le uova si riconoscono per la forma a chicco di riso ($58 \times 27 \mu\text{m}$) e per un solco che le attraversa per tutta la lunghezza, questa morfologia tipica delle uova permette la facile determinazione della presenza della specie utilizzando il *tape-test* (visione esterna) (Figura 7).

Utilizzando, invece, altre tecniche come l'analisi coprologica non è possibile distinguere il solco longitudinale, ma si osserva l'interno dell'uovo (Figura 8).

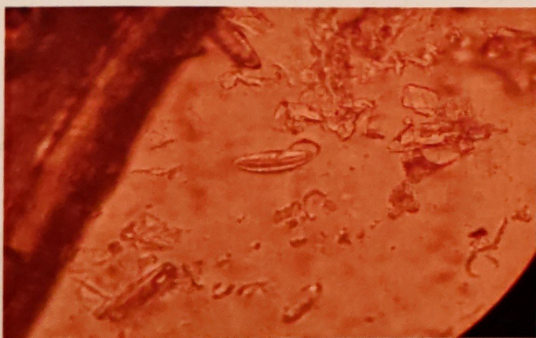


Figura 7: Uovo di ossiuride con solco longitudinale. **Figura 8:** Dettaglio interno di uovo di ossiuride.

3.3.3 Ectoparassiti

La comunità ectoparassitaria risulta dominata da due specie: la pulce *Ceratophyllus (Monopsyllus) sciurorum sciurorum* (Schrank, 1803) e la zecca *Ixodes (Ixodes) ricinus* (Linneo, 1758); la prima riporta una distribuzione in tutta Europa e uno dei suoi ospiti primari è lo scoiattolo comune (Beaucournu e Launay, 1990), la seconda, invece, risulta presente solo in casi di presenza di ungulati, infatti i cervi ne sono gli ospiti principali.

Per quanto riguarda le zecche tuttavia altre specie possono infettare gli scoiattoli ed in Italia è stata ritrovata un'altra specie di zecca *Ixodes (Ixodes) acuminatus* (con prevalenza del 6,5 %) (Romeo *et al.*, 2013).

Una seconda specie di pulce molto importante è *Tarsopsylla octocimdentata octocimdentata* (Kolenati, 1863), sottospecie Palearctica che infetta principalmente gli scoiattoli comuni. Questa specie è meglio adattata ai climi freddi, infatti, sostituisce *C. (M.) sciurorum* alle alte altitudini nelle Alpi (Beaucournu e Launay, 1990).

Le pulci (*Siphonaptera*) sono ectoparassiti ematofagi i cui ospiti possono essere roditori, insettivori, lagomorfi o altri piccoli mammiferi.

Solitamente alternano periodi di vita sul corpo dell'ospite e periodi all'interno delle tane o dei nidi; le larve non parassitano l'ospite e si sviluppano nel nido nutrendosi di detriti.

Gli adulti hanno la capacità di muoversi nel pelo denso dell'ospite e di sopportare l'attività anti-parassitaria di *grooming*, inoltre riescono a saltare e muoversi sui substrati (nidi e tane) (Kim, 2006 in: Morand *et al.*, 2006c).

Le zecche fungono da vettori per la trasmissione di diversi patogeni ematofagi e sono al secondo posto, dopo le zanzare, per importanza nella salute pubblica (Hoogstraal, 1985; Sonenshine *et al.*, 2002; Goodman *et al.*, 2005). In particolare sono vettori di patogeni di zoonosi che utilizzano i piccoli mammiferi come serbatoi o amplificatori dell'infezione.

Le zecche si possono ritrovare a vari stadi di sviluppo, da larva, a ninfa ad adulto e possono avere un ciclo di vita su più ospiti; alcune, come *I. ricinus*, parassitano fino a 3 ospiti durante le loro fasi di sviluppo (Duren, 2006 in: Morand *et al.*, 2006c).

Nell'emisfero nord molte zecche vettori, si nutrono nel loro stadio larvale sui piccoli mammiferi, in particolare le zecche del genere *Ixodes* sono generaliste, dunque possono nutrirsi su molti ospiti differenti diventando così un vettore per molti microparassiti come virus, batteri e protozoi (Perez-Eid C., 2007; Pisanu *et al.*, 2010).

4. AREE DI STUDIO

4.1 RACCOLTA CARCASSE

Sono stati raccolti 92 individui di scoiattolo comune ritrovati morti, provenienti da diverse zone del nord Italia. Per ogni animale è stata registrata la data e la località di ritrovamento. In base alla località di ritrovamento è stato determinato il tipo di habitat prevalente e il grado di frammentazione (Figura 9).



Figura 9: Localizzazione geografica dei punti di ritrovamento delle carcasse.

Sono state determinate due tipologie generali di habitat, sulla base della quota: (1) habitat di pianura o bassa collina; (2) habitat di montagna. Il primo corrisponde a boschi con prevalenza di latifoglie decidue o boschi misti di conifere-latifoglie, il secondo, invece, a boschi misti di conifere.

Per poter definire se le carcasse provenissero da zone frammentate o non frammentate è stata presa in considerazione la presenza di aree boschive nei pressi del punto di ritrovamento.

Tali aree sono state definite frammentate quando le dimensioni delle *patch* delle foreste limitrofe erano inferiori a 50-100 ha, al contrario, quando le dimensioni delle foreste erano superiori a 200 ha, sono state considerate come aree continue non frammentate.

Tra le carcasse analizzate in questa tesi, nessuna è risultata provenire da aree di grandezza compresa tra 100 e 200 ha, ciò ha permesso di definire nettamente la differenza fra aree frammentate e continue.

4.2 AREE DI CATTURA

Per poter studiare gli effetti di tipologia dell'habitat e di variazione nella densità dell'ospite sulla presenza dei macroparassiti, il monitoraggio è stato eseguito in 6 aree di studio, 3 di pianura e 3 di montagna, con tipologie forestali ed estensioni diverse (Figura 10).



Figura 10: Localizzazione geografica delle 6 aree di studio.

4.2.1 Aree di pianura

Parco Pineta (37 ha)

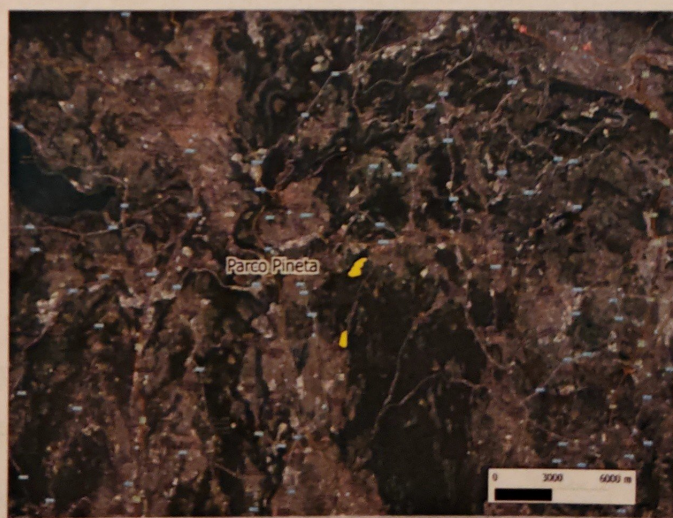


Figura 11: Area di studio di Parco Pineta.

Parco Naturale e Regionale che si estende su un'area di oltre 4800 ha, di cui 3700 ha di boschi, includendo 15 comuni dislocati tra le province di Varese e di Como.

All'interno del Parco sono state selezionate due aree di studio: Villa Caproni nel Comune di Venegono Superiore (VA) e una zona boschiva adiacente al Comune di Binago (CO) (Figura 11). L'area forestale di Binago è costituita da un bosco misto di latifoglie con presenza di castagno (*Castanea sativa*), farnia (*Quercus robur*), rovere (*Quercus petraea*), carpino bianco (*Carpinus betulus*) e robinia (*Robinia pseudoacacia*) con presenza limitata di pino silvestre (*Pinus sylvestris*) e betulla (*Betula pendula*). Nel sottobosco c'è una buona presenza di nocciolo (*Corylus avellana*). Il parco di Villa Caproni, invece, è caratterizzato dalla presenza di diverse specie arboree di grandi dimensioni tra le quali diverse specie alloctone, e di impianti di abete rosso (*Picea abies*). Le specie di interesse per lo scoiattolo comune sono le querce (*Quercus* sp.), il faggio (*Fagus sylvatica*) e il tasso (*Taxus baccata*).

Adda nord (52,6 ha)



Figura 12: Area di studio Adda nord.

Le aree selezionate lungo l'asta del fiume Adda sono: Villa Castelbarco nei pressi del Comune di Trezzo sull'Adda (MI) e un'area boschiva nel Comune di Calusco d'Adda (BG) (Figura 12).

Entrambe dominate da bosco misto di latifoglie con presenza di farnia (*Quercus robur*), e carpino bianco con individui sparsi di olmo (*Ulmus minor*): Villa Castelbarco presenta un bosco più maturo, con presenza di castagno, nell'area di Calusco d'Adda, invece, vi è una forte presenza di robinia e un sottobosco ben sviluppato con presenza di nocciolo.

Gallarate (16,9 ha)



Figura 13: Area di studio Gallarate.

Le aree situate nel Comune di Gallarate (VA) (Figura 13) si caratterizzano per essere completamente immerse in una matrice antropizzata, una è un parco comunale (Parco Bassetti) a bosco misto con presenza di latifoglie e aghifoglie tipiche di vegetazione da parco urbano e l'altra è un parco privato. Le due aree sono collegate fra loro da corridoi ecologici costituiti dai giardini delle ville presenti, con vegetazione mista.

La vegetazione è caratterizzata da faggio, quercia, tiglio (*Tilia* sp.), tasso e alcune specie appartenenti al genere *Prunus*.

4.2.2 Aree di montagna

Fraele (54 ha)



Figura 14: Area di studio Fraele.

Area di montagna situata in Alta Valtellina nel Parco Nazionale dello Stelvio in Val Fraele nei pressi della località San Giacomo di Fraele tra 1940-1970 m s.l.m., adiacente ai laghi artificiali di Cancano (Figura 14).

La vegetazione è composta quasi interamente da pino mugo (*Pinus mugo*) specie arborea pioniera, il sottobosco presenta principalmente erica (*Erica herbacea*), mirtillo nero (*Vaccinium myrtillus*), mirtillo rosso (*Vaccinium vitis-idaea*) e ginepro (*Juniperus communis*).

Valfurva (78 ha) e Bormio 2000 (93 ha)



Figura 15: Aree di studio Bormio 2000 e Valfurva.

Aree di montagna situate in Alta Valtellina nel Parco Nazionale dello Stelvio, la prima sul versante orografico sinistro della Valfurva, l'altra nei pressi della località di Bormio 2000 nel Comune di Bormio (SO) (Figura 15). Entrambe dominate da boschi subalpini di conifere, ad altitudine compresa tra 1400-2100 m s.l.m. (*timberline*, limite superiore della foresta) (Wauters *et al.*, 2007a).

L'area di Valfurva è dominata da abete rosso (*Picea abies*) (88,9%) con presenza di cembro (*Pinus cembra*) (6,2%) e larice (*Larix decidua*) (1,9%) (Wauters *et al.*, 2008).

L'area di Bormio 2000 è dominata da cembro (73,2%) con presenza di larice (17,8%), abete rosso (8,0%) (Wauters *et al.*, 2008) e sottobosco di rododendro (*Rhododendron ferrugineum*) e mirtillo nero.

5. MATERIALI E METODI

5.1 INDAGINI SU CARCASSE

La raccolta di animali ritrovati morti per incidenti stradali o altre cause, permette, tramite successiva dissezione, di indagare la fauna parassitaria dello scoiattolo comune, di prelevare campioni per analisi virologiche, genetiche e di rilevare eventuali problemi di carattere sanitario. Le carcasse raccolte vengono conservate in sacchetti di plastica a una temperatura di -20°C per poter essere esaminate successivamente.

Prima di procedere con la dissezione, gli animali vengono scongelati a temperatura ambiente per una notte, dopodiché vengono effettuati i rilievi.

Per ogni individuo sono stati rilevati i seguenti parametri: sesso, condizioni riproduttive, colore del pelo, peso e lunghezza del piede posteriore.

In seguito, al fine di rilevare l'eventuale presenza di ectoparassiti è stato spazzolato il pelo degli esemplari analizzati; gli ectoparassiti così individuati sono stati raccolti e conservati in etanolo al 70%; sono stati infine prelevati i seguenti campioni:

- occhi, che vengono posti in soluzione di formalina al 10% per successiva determinazione dell'età;
- milza, che viene divisa in due campioni e conservata in provette *eppendorf* alla temperatura di -20°C per future ricerche sulla presenza di virus;
- palpebre, rene e fegato, i quali vengono mantenuti a secco in provette a -20°C per ricerche su *Squirrelpox virus*, Adenovirus ed eventuali altri agenti virali;
- polmone, che viene conservato in etanolo al 70% per future ricerche su presenza di parassiti;
- pacchetto intestinale dallo stomaco al retto inclusi per le analisi parassitologiche, che occorre mantenere in sacchetti di plastica a -20°C se l'analisi si esegue solo in un secondo momento.

5.1.1 Filtrazione

Sul pacchetto gastrointestinale per eseguire l'esame sugli endoparassiti si procede con la filtrazione, metodo che permette di indagare la distribuzione dei parassiti all'interno del tratto gastro-intestinale.

Si separa lo stomaco dall'intestino tenue, poi si apre l'intestino e si lava con acqua all'interno di una bacinella, dopodiché la sospensione con il contenuto intestinale viene raccolta e la stessa procedura si ripete separatamente per l'intestino tenue, cieco e colon-retto.

Successivamente, si filtra il contenuto di ogni tratto tramite getto d'acqua per rimuovere le parti più grossolane (due filtri, uno a maglia di 0,4 mm e l'altro più piccolo sottostante a maglia di 0,03 mm) e si effettua un'indagine allo stereomicroscopio per il conteggio degli elminti.

Nel caso in cui il conteggio non possa essere effettuato immediatamente, occorre aggiungere formalina (2 ml per 100 ml), conservare a 4°C e completare l'analisi entro una settimana.

5.1.2 Conteggio degli elminti

Dopo aver filtrato ogni tratto del pacchetto intestinale e averlo posto in appositi contenitori, si procede all'analisi del contenuto allo stereomicroscopio.

Si versano pochi ml di contenuto liquido in una piastra con griglia, si osserva ogni sezione della piastra contando il numero di individui e il sesso delle specie determinate.

Per la specie dominante *T. (R.) sciuri*, inoltre, si rileva anche la condizione di sviluppo secondo la Tabella 3.

All'occorrenza si prelevano gli elminti e si conservano in lattofenolo o etanolo al 70% per poterli determinare successivamente.

Tabella 3: Sesso e condizioni di sviluppo di *T. (R.) sciuri*.

Categoria	Caratteristiche
♀	Femmine
♀ _G	Femmine gravide
♂	Maschi
L ₂	Larva più sviluppata ma non ancora visibili caratteri sessuali
L ₁	Larva poco sviluppata (solo presenza-assenza)

L'operazione è ripetuta fino ad esaurimento del contenuto liquido di ogni tratto intestinale considerato, se necessario sono diluiti con acqua per una miglior osservazione.

5.2 INDAGINI SU SOGGETTI CATTURATI

Durante lo studio sono state effettuate delle sessioni di cattura della durata di 3-6 giorni variabili a seconda del periodo e delle condizioni ambientali, condotte nelle seguenti stagioni: primavera, estate-autunno e inverno.

5.2.1 *Pre-baiting con hair tube*

Per consentire agli animali di abituarsi alla presenza delle esche e quindi aumentare il successo delle catture (Wauters *et al*, 2008), nel periodo antecedente ogni sessione di cattura è stata svolta attività di *pre-baiting* con l'ausilio di *hair tube*. (Figura 16).



Figura 16: *Hair tube*.

In corrispondenza di ogni punto-trappola è collocato un *hair tube*, che viene innescato con nocciole e noci, almeno 1-2 volte prima di ogni sessione di cattura.

Gli *hair tube* sono tubi in PVC (lunghezza: 25-30 cm; diametro: 6-8 cm) fissati orizzontalmente al ramo di un albero con del filo metallico, ad un'altezza tale da impedire o comunque limitare l'accesso da parte di altre specie di roditori con abitudini terricole ed evitare interferenza o disturbo e danneggiamento da parte di altre specie terrestri.

5.2.2 Tecnica di cattura-marcatura-ricattura

La tecnica di cattura-marcatura-ricattura si rivela efficace per monitorare le densità della specie di studio, i processi demografici in atto nella popolazione (natalità, mortalità, riproduzione, immigrazione ed emigrazione) e per raccogliere campioni per le analisi genetiche e

parassitologiche, ottenere dati riguardanti l'uso dell'habitat, le variabili biometriche e lo stato di salute degli animali.

Per le catture si utilizzano dalle 20 alle 25 trappole a vivo modello "Tomahawk" (tipo 200, 201 e 205; Tomahawk *live trap* Co., Wisconsin, USA) (Figura 17), fornite di rete sul fondo per trattenere i campioni di feci e posizionate sul terreno alla base di un albero.



Figura 17: *Live trap* posizionata alla base di un albero.

La distanza tra le trappole varia dai 50 ai 150 metri, a seconda delle condizioni locali nelle diverse aree di studio. Le trappole sono innescate con nocciole e noci e controllate ad intervalli di circa 4 ore, per un totale di due controlli al giorno. Il primo controllo si effettua nella tarda mattinata in modo sia da dare agli animali il tempo di visitare le trappole, sia per limitare il disturbo durante le prime ore della giornata, periodo in cui l'attività dello scoiattolo è più intensa (Wauters e Dhondt, 1987; Wauters, 2000). L'ultimo controllo, invece, si esegue poco prima del tramonto, non essendovi più alcun rischio di ingresso di individui successivo al controllo. Ovviamente, essendo lo scoiattolo comune particolarmente sensibile alle basse temperature, in caso di pioggia o condizioni meteorologiche avverse, le trappole sono disattivate.

Una volta catturati, gli animali si trasferiscono prima in una sacca ad imbuto per il rilievo del peso (effettuato ad ogni cattura mediante bilancia "Pesola spring" con margine di errore di ± 5 g) e si manipolano lasciando uscire solo la testa dalla sacca per leggere la targhetta identificativa.

Se si tratta di un caso di prima cattura, l'esemplare si marca su un orecchio mediante targhetta metallica numerata (tipo 1003 S *National Band and Co.*, USA) (Figura 18), mentre dall'altro orecchio si preleva, tramite l'utilizzo di un *punch* per biopsie del diametro di 3 mm, un campione di tessuto per consentire future analisi genetiche.

Successivamente, gli individui catturati si fanno uscire completamente dalla sacca per rilevare sesso, colore del pelo dell'animale (rosso, intermedio o scuro) e misurare la lunghezza del piede posteriore destro (Figura 19).



Figura 18: Posizionamento di *tag* auricolare.



Figura 19: Misura del piede posteriore.

Si raccolgono, inoltre, eventuali ectoparassiti conservati in provette *eppendorf* con aggiunta di etanolo 70% e si effettua un *tape-test* per poter rilevare presenza-assenza di uova di *T. (R.) sciuri* attorno all'ano dell'animale (Figura 20).



Figura 20: *Tape-test*.

Il *tape-test* si esegue appoggiando del nastro adesivo trasparente sull'ano dell'animale, ripetendo il passaggio in due punti diversi del nastro e attaccando il nastro a un vetrino per le successive analisi al microscopio (100x).

Si raccoglie, infine, un campione di feci (alcuni *pellets*), conservato in provette *eppendorf* (a secco), per le successive analisi coprologiche. Oltre al peso corporeo, vengono raccolte una serie di informazioni in corrispondenza di ogni cattura dello stesso esemplare: data e numero della trappola, fase di muta (mantello estivo o invernale, discriminato sulla base della presenza-assenza dei ciuffi auricolari) e controllo delle condizioni riproduttive, rilevate in base all'osservazione degli organi genitali secondo le categorie indicate in Tabella 4.

Tabella 4: Sesso e condizioni riproduttive di *S. vulgaris*.

Sesso	Categoria	Caratteristiche
Maschi	TA 0	testicoli addominali, scroto non presente
	TA 1	testicoli addominali, scroto piccolo ma visibile
	TA 2	testicoli addominali, scroto ben visibile
	TSS 3	testicoli semi-scrotali
	TS 4	testicoli scrotali, scroto grande
Femmine	NO	non in estro, vulva piccola
	O/PO	in estro o post-estro, vulva allargata con sutura ben visibile, eventualmente embrioni nell' addome
	NL	<i>not-lactating</i> , capezzoli piccoli spesso non visibili
	LACT	<i>lactating</i> , capezzoli grandi e gonfi con latte presente
	PL	<i>post-lactating</i> , capezzoli ancora visibili, ma secchi e senza latte

5.3 ANALISI COPROLOGICA

I campioni di feci precedentemente raccolti si analizzano per rilevare la presenza-assenza (analisi qualitativa) ed effettuare il conteggio (analisi quantitativa) degli endoparassiti.

5.3.1 Analisi quantitativa (McMaster)

Questa analisi è stata effettuata solamente per campioni di feci > 0,4 g.

Per cominciare, si pesano i *pellets* e si mettono in un mortaio con aggiunta di soluzione salina satura di NaCl (1200 g/L) in proporzione fissa (10 ml per grammo).

Dopo, si stemperano delicatamente le feci in un mortaio con la soluzione salina, poi si filtra la sospensione ottenuta, in un contenitore con tappo, tramite un colino e un imbuto (Figura 21).



Figura 21: Filtrazione della sospensione.

Si agita delicatamente il campione, per omogeneizzare; immediatamente dopo l'agitatura si riempiono entrambe le camere di un vetrino McMaster, utilizzando la stessa pipetta di plastica (Figura 22).



Figura 22: Riempimento vetrino McMaster.

Dopodiché, utilizzando un microscopio ottico, si contano le uova contenute nelle camere del vetrino.

Il volume della camera McMaster è 0,3 ml, per ottenere il valore di EPG (*Eggs Per Gram*) si moltiplica il numero totale delle uova contate per il fattore di diluizione (per esempio con 10 ml/grammo il fattore di diluizione = 33).

Infine, si utilizza il liquido rimanente per l'analisi qualitativa effettuata tramite flottazione.

5.3.2 Analisi qualitativa (Flottazione)

Questa analisi è stata effettuata per campioni fecali di < 0,4 g.

La preparazione del liquido è identica a quella descritta per l'analisi quantitativa; tuttavia il liquido ottenuto dalla rottura dei *pellets* si inserisce direttamente in provette, precedentemente posizionate su un porta provette (Figura 23).



Figura 23: Riempimento delle provette per la flottazione.

In seguito, si aggiunge soluzione salina finché il liquido raggiunge il bordo della provetta, formando un menisco convesso. Dopo aver atteso 15-30 minuti, per permettere alle uova di raggiungere la superficie, si procede con la preparazione del vetrino.

Per far aderire le uova, si appoggia un copri-vetrino sulla superficie del liquido e si ripone su un vetrino per procedere all'osservazione al microscopio ottico (100x).

5.4 ANALISI DEI DATI

5.4.1 Indagini su carcasse

La prima analisi è stata effettuata per indagare la variazione del peso corporeo degli animali rinvenuti morti tramite modello lineare generalizzato, GLM (*Generalised Linear Model*), testando l'effetto di tipo di habitat, frammentazione, sesso e interazioni a due vie tra loro.

Per quanto riguarda gli elminti gastro-intestinali è stato applicato un modello GLM solo sul nematode dominante, utilizzando come variabile dipendente Log il numero di *T. sciuri* + 1. Come variabili indipendenti e fattori sono stati usati: peso, sesso, stagione, tipo di habitat, frammentazione e interazioni a due vie tra loro. Dopo avere effettuato la trasformazione logaritmica, la distribuzione della variabile dipendente non si scostava da una distribuzione normale (*Shapiro-Wilk's test* $W=0,98$; $p > 0,05$).

Per le abbondanze di *T. sciuri* relative a carcasse provenienti da aree di montagna sono state effettuate delle analisi relazionandole all'abbondanza dei semi di abete rosso (*Picea abies*); relativamente a tale specie si osserva un trend di produzione di pigne sincrono ad ampia scala (Mencuccini *et al.*, 1995; Koenig e Knops, 1998). Per poter determinare l'abbondanza di cibo in termini di produzione annuale di pigne della specie arborea dominante, è stato effettuato un censimento nel mese di agosto di ogni anno in esame (secondo la metodica illustrata in Wauters *et al.*, 2008; Salmaso *et al.*, 2009). La quantità di pigne stimata in agosto dell'anno (t) è considerata come la misura di abbondanza di risorsa alimentare relativa al periodo: agosto anno (t) – luglio anno ($t+1$) e determina la stima di risorsa alimentare disponibile per gli esemplari di scoiattolo comune ritrovati in quel periodo. I risultati di apposite indagini hanno permesso di valutare la produzione annuale e definire 3 categorie: fallimento-poca produzione di pigne (< 10 pigne/albero), media-buona produzione (10 – 250 pigne/albero), pasciona (> 250 pigne/albero). L'indagine è stata condotta tramite GLM mettendo in relazione l'abbondanza di *T. sciuri* (Log (abbondanza + 1)) con la variabile categorica di produzione di pigne dell'anno di ritrovamento

della carcassa; successivamente sono stati aggiunti i fattori frammentazione, sesso, stagione, peso e interazioni a due vie tra loro.

Relativamente agli ectoparassiti sono state condotte delle analisi solamente considerando la presenza-assenza di pulci (famiglia Ceratophyllidae), tramite regressione logistica, considerando come variabile dipendente binaria la presenza di pulci (1 = presente sulla carcassa; 0 = assente sulla carcassa). In particolare, è stato testato l'effetto delle seguenti variabili: peso, sesso, stagione, Log *T. sciuri*, tipo di habitat, frammentazione e interazioni a due vie tra loro.

I risultati, se non indicato diversamente, sono riportati come media $\pm$ errore standard (SE).

5.4.2 Indagini su soggetti catturati

Per gli individui catturati, sono state fatte delle analisi per verificare le differenze nelle dimensioni corporee tra aree di studio e sessi.

Per la variabile lunghezza del piede è stata fatta una analisi della varianza (ANOVA) a due vie tenendo conto dei fattori area, sesso e l'interazioni tra loro. Se un fattore con più di due livelli risultava significativo, è stato eseguito un *Tukey test* sugli scarti quadratici medi (DLSM, *Differences of Least Square Means*) per poter interpretare il risultato.

Per analizzare l'effetto sul peso invece è stato fatto un GLMM (*Generalised Linear Mixed Model*) tenendo conto del fatto che singoli individui sono stati pesati diverse volte e dunque usando ID (identificativo del singolo animale) come *random factor*, e fattori: area, sesso e interazioni a due vie tra area*sesso e stagione*sesso.

Basandosi su studi pregressi sulla dinamica di popolazione dello scoiattolo comune, per ogni sessione di cattura e in ogni area di studio è stata stimata la densità utilizzando il metodo del MNA (*Minumum Number Alive*) (Wauters e Lens, 1995; Wauters *et al.*, 1994a, 2004b, 2008).

Per indagare la prevalenza di endoparassiti relativa alle aree di studio è stata effettuata una regressione logistica (variabile dipendente: presenza uova *T. sciuri* = 1, assenza = 0) tenendo conto delle variabili peso dell'ospite, area, sesso, stagione e interazioni a due vie tra area*sesso e con ID come *random factor*. Non sono state prese in considerazione le interazioni con il fattore stagione perchè non tutte le ripetizioni delle catture sono state effettuate nelle medesime stagioni.

Le analisi statistiche sono state condotte tramite utilizzo di: “R: a language and environment for statistical computing” (R core Team, 2013).

6. RISULTATI

6.1 INDAGINI SU CARCASSE

Sono state analizzate 92 carcasse di individui ritrovati morti, di cui 52 maschi e 40 femmine.

I pesi medi degli individui sono riportati in Tabella 5 suddivisi per sesso, tipo di habitat e frammentazione.

Tabella 5: Pesì medi ($\pm$ SE) delle carcasse suddivise per sesso, tipo di habitat e frammentazione; grandezza del campione tra parentesi.

	PIANURA		MONTAGNA		Totali
	Frammentato	Non-frammentato	Frammentato	Non-frammentato	
♂	(12) 300 $\pm$ 5	(6) 318 $\pm$ 12	(4) 302 $\pm$ 21	(27) 292 $\pm$ 5	(49) 289 $\pm$ 4
♀	(12) 324 $\pm$ 11	(1) 309	(3) 287 $\pm$ 13	(19) 299 $\pm$ 6	(35) 307 $\pm$ 5
Totali	(24) 312 $\pm$ 6	(7) 316 $\pm$ 10	(7) 296 $\pm$ 13	(46) 295 $\pm$ 4	
	(31) 313 $\pm$ 5		(53) 295 $\pm$ 4		

Le carcasse rinvenute in pianura pesavano mediamente 18 g in più rispetto a quelle ritrovate in montagna (Tabella 5, $F_{1,77} = 3,98$; $p = 0,046$, Tabella 6), mentre non risultavano differenze in peso tra animali provenienti da boschi frammentati e non frammentati e tra i sessi (per tutti $p > 0,2$).

Tabella 6: GLM con peso delle carcasse come variabile dipendente e sesso, tipo di habitat e frammentazione e le loro interazioni come fattori.

Variabili	F	g.l.	p
Tipo di habitat (pianura/montagna)	3,98	1, 77	0,04
Habitat framm./non framm.	0,54	1, 77	0,46
Sesso	1,43	1, 77	0,23
Tipo di habitat*Habitat f/n	0,55	1, 77	0,46
Tipo di habitat*Sesso	1,00	1, 77	0,32
Habitat f/n f*Sesso	0,05	1, 77	0,83

6.1.1 Endoparassiti: comunità elmintica

Lo scoiattolo comune presenta una ricchezza di specie di elminti gastro-intestinali molto povera, tra 0 e 2 specie, in media $1,04 \pm 0,03$ specie/ospite. La specie più comune è *T. (R.) sciuri* con prevalenza del 97% (89 su 92 scoiattoli); altre specie sono state trovate con prevalenze $< 5\%$.

Rispetto alle specie subordinate, tre individui (prevalenza 3%) provengono da aree di pianura frammentate in simpatria con individui di scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*) e riportano presenza di *Strongyloides robustus*, elminta specifico dello scoiattolo alloctono.

Infine, solo un individuo (prevalenza 1%), proveniente da aree non frammentate di montagna, riporta un caso di *Trichostrongylus retortaeformis*, mentre in 4 animali sono stati ritrovati larve della famiglia Strongylidae.

6.1.1.1 Distribuzione d'infezione di *T. sciuri*

L'abbondanza media di *T. (R.) sciuri* è di 460 ± 99 elminti/ospite, con una variazione da 0 o 1 fino a 5227 elminti/ospite (Tabella 7). In media, gli scoiattoli provenienti da boschi frammentati riportano abbondanze di parassiti più alte ($n = 37$, media $\pm$ SE = 774 ± 199) rispetto agli individui di boschi continui ($n = 55$, 249 ± 89) (effetto frammentazione $F_{1,88} = 4,77$; $p = 0,031$; frammentazione* tipo di habitat $F_{1,88} = 0,05$; $p = 0,82$) (Figura 24). Gli individui provenienti da habitat di pianura, inoltre, riportano un'abbondanza di parassiti maggiore rispetto agli scoiattoli di habitat di montagna (effetto del tipo di habitat $F_{1,88} = 5,47$; $p = 0,022$) (Tabella 7 e Figura 25).

Tabella 7: Abbondanze medie ($\pm$ SE) di *T. sciuri* nelle carcasse, suddivise per sesso, tipo di habitat e frammentazione; grandezza del campione tra parentesi.

	PIANURA		MONTAGNA		Totali
	Frammentato	Non-frammentato	Frammentato	Non-frammentato	
♂	(13) 604 ± 125	(7) 221 ± 126	(4) 1353 ± 1292	(28) 252 ± 158	(52) 420 ± 133
♀	(17) 892 ± 316	(1) 1491	(3) 76 ± 33	(19) 190 ± 87	(40) 513 ± 151
Totali	(30) 767 ± 186	(8) 380 ± 193	(7) 805 ± 737	(47) 227 ± 100	
	(38) 686 ± 154		(54) 302 ± 127		

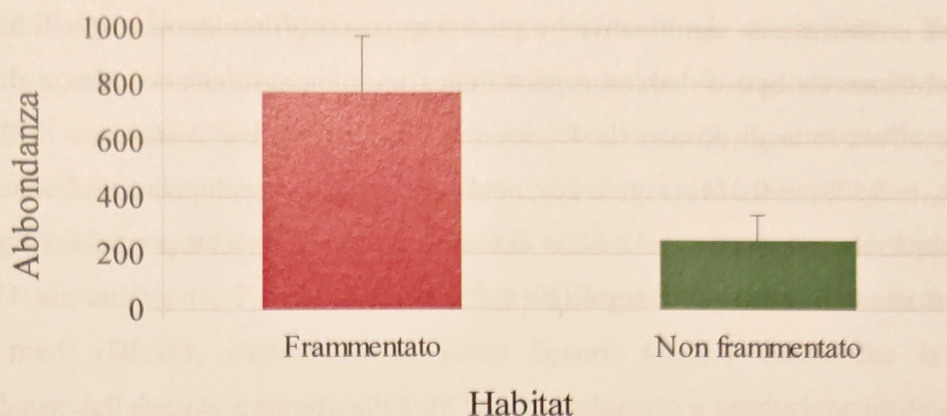


Figura 24: Abbondanza media (+ SE) di *T. sciuri* in relazione alla frammentazione.

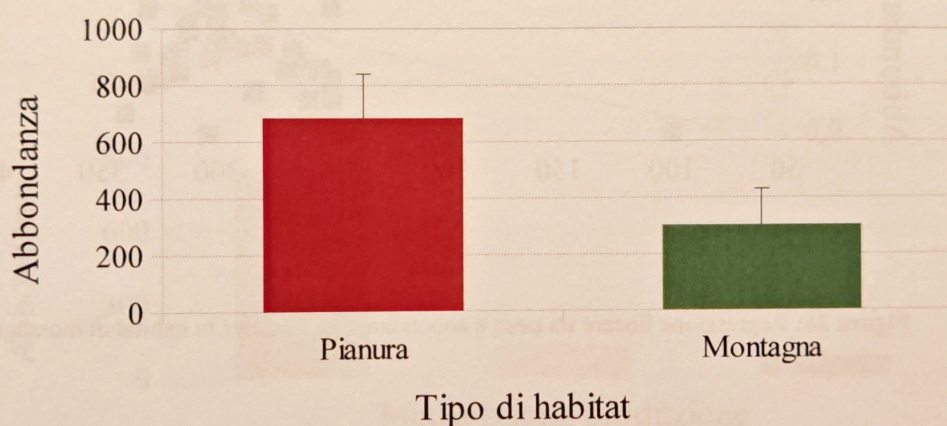


Figura 25: Abbondanza media (+ SE) di *T. sciuri* in relazione al tipo di habitat.

Il modello finale relativo all'effetto delle caratteristiche dell'ospite e le variabili ambientali sull'abbondanza del parassita, con solo le variabili significative, è riportato in Tabella 8.

Tabella 8: GLM relativo all'abbondanza di *T. sciuri* in relazione a frammentazione, tipo di habitat, peso e interazione tra gli ultimi due.

Variabili	F	g.l.	p
Habitat framm./non framm.	4,41	1, 87	0,039
Tipo di habitat	9,19	1, 87	0,003
Peso	2,08	1, 87	0,15
Tipo di habitat*peso	6,75	1, 87	0,011

Anche in questo modello gli effetti di tipo di habitat e di frammentazione sono significativi. Inoltre c'è un'interazione significativa tra peso corporeo degli scoiattoli e tipo di habitat (Tabella 8). L'interazione tra tipo di habitat e peso indica un aumento dell'abbondanza del parassita in relazione all'aumento di peso nelle foreste montane di conifere ($estimates \pm SE = 0,0071 \pm 0,0028$; $t_{87} = 2,52$; $p = 0,014$) (Figura 26); nei boschi di latifoglie di pianura, al contrario, non vi è la medesima relazione ($estimates \pm SE = -0,0020 \pm 0,0021$; $t_{87} = 0,98$, $p = 0,33$) (Figura 27). Non è stato trovato un effetto di sesso ($p > 0,05$).

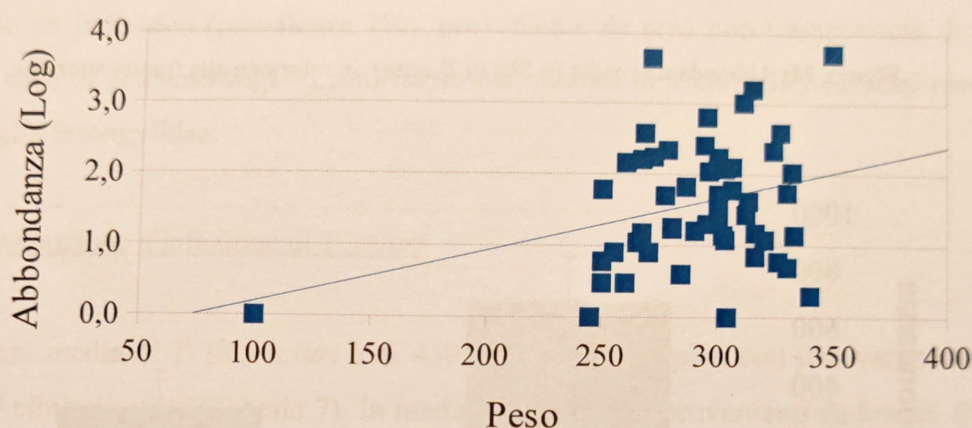


Figura 26: Regressione lineare tra peso e abbondanza di *T. sciuri* in habitat di montagna.

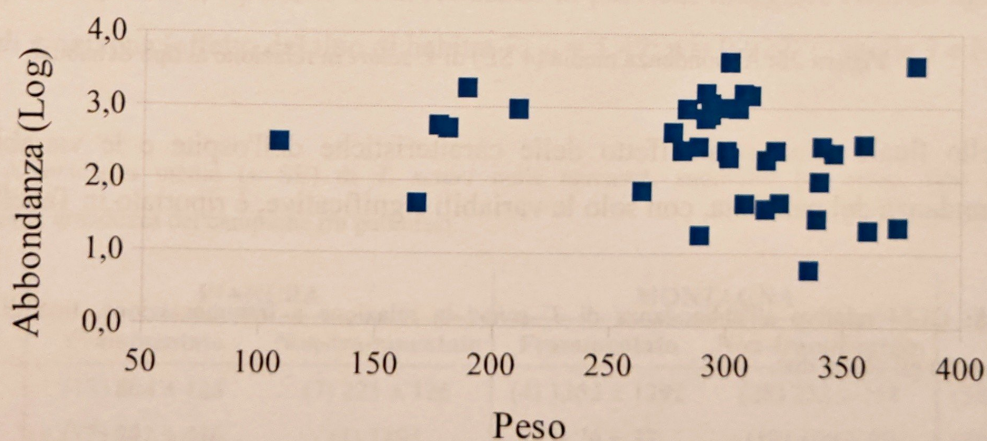


Figura 27: Relazione tra peso e abbondanza di *T. sciuri* in habitat di pianura.

Per gli esemplari provenienti da habitat di montagna è stata eseguita un'analisi supplementare relazionando l'abbondanza dell'elminta gastro-intestinale con la disponibilità delle risorse alimentari. In queste foreste di conifere, gli scoiattoli riportano un'abbondanza di *T. (R.) sciuri* maggiore negli anni successivi al fallimento o poca produzione di pigne di abete rosso (*Picea abies*), specie arborea dominante ($n = 15$, media $\pm$ SE = 849 ± 445 elminti/ospite), rispetto agli anni di media-buona produzione ($n = 10$, 129 ± 106 elminti/ospite) o agli anni di pasciona ($n = 29$, 79 ± 21 elminti/ospite; $F_{2, 50} = 4,33$; $p = 0,019$) (Figura 28). La differenza tra gli scarti quadratici medi (DLSM, *Differences of Least Square Means*) indica che la differenza nell'abbondanza dell'elminta è significativa tra bassa produzione e produzione media-buona ($p = 0,34$) e tra bassa produzione e pasciona ($p = 0,007$), ma non tra produzione media-buona e pasciona ($p = 0,96$).

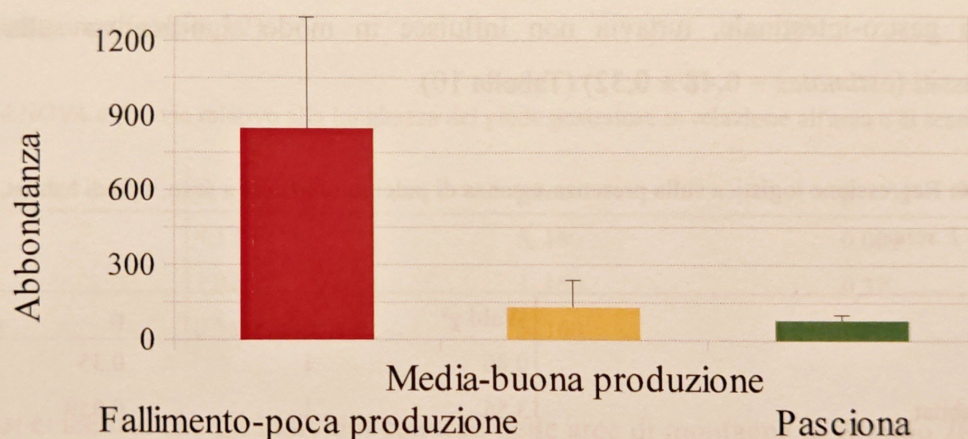


Figura 28: Abbondanza media (+ SE) di *T. sciuri* in relazione alla produzione di pigne di abete rosso.

6.1.2 Ectoparassiti

L'analisi relativa alle pulci è stata condotta esaminando presenza-assenza invece dell'abbondanza a causa della possibile riduzione numerica di ectoparassiti precedente alla raccolta della carcassa (Romeo *et al.*, 2013). Le carcasse sulle quali sono state trovate pulci sono 38 su 84 (prevalenza 45%). Non è presente effetto di sesso dell'ospite, stagione o frammentazione dell'habitat sulla prevalenza ($p > 0,2$) (Tabella 9).

Tabella 9: Prevalenze di pulci sulle carcasse in relazione al tipo di habitat e frammentazione.

Tipo di habitat/frammentazione	Frammentato	Non frammentato	Entrambi
Montagna	4/7 (57%)	19/40 (48%)	23/47 (49%)
Pianura	12/29 (41%)	3/8 (38%)	15/37 (41%)
Entrambi	16/36 (44%)	22/48 (46%)	

Nel modello selezionato l'unico fattore significativo è l'interazione tra tipo di habitat e peso corporeo dell'ospite (Tabella 10). La presenza di pulci non è correlata con il peso degli scoiattoli in habitat di foreste di conifere di montagna ($estimates = 0,0062 \pm 0,0084$; $\chi^2 = 0,55$; $p = 0,46$); negli habitat di pianura, invece, la probabilità di essere infestati aumenta per gli scoiattoli con peso minore ($estimates = -0,017 \pm 0,008$; $\chi^2 = 4,83$; $p = 0,028$).

Nel modello è stata presa in considerazione anche l'eventuale influenza dell'abbondanza del parassita gastro-intestinale, tuttavia non influisce in modo significativo sulla presenza di ectoparassiti ($estimates = 0,48 \pm 0,32$) (Tabella 10).

Tabella 10: Regressione logistica sulla presenza-assenza di pulci in relazione a peso, tipo di habitat, interazioni tra i due e Log *T. sciuri*.

Variabili	Wald χ^2	g.l.	p
Peso	0,86	1	0,35
Tipo di habitat	3,56	1	0,059
Peso*Tipo di habitat	4,10	1	0,043
Log <i>T. sciuri</i>	2,11	1	0,15

6.2 INDAGINI SU SOGGETTI CATTURATI

Lo studio realizzato tramite la tecnica di cattura-marcatura-ricattura è stato condotto su 200 animali diversi con 336 catture nelle sei aree di studio.

Per verificare l'eventuale presenza di dimorfismo sessuale e/o una selezione diversa sulla dimensione corporea in relazione alla qualità dell'habitat (Wauters *et al.*, 2007), è stata indagata l'eventuale differenza tra la lunghezza del piede posteriore (FL, *Foot Length*) e il peso corporeo (BM, *Body Mass*) nelle aree di studio e nei sessi (Tabella 11).

Tabella 11: Valori medi della lunghezza del piede posteriore (FL) e del peso (BM) per sesso e area di studio.

	♂		♀		Totali	
	FL ± SE	BM ± SE	FL ± SE	BM ± SE	FL ± SE	BM ± SE
Adda	(20) 58,8 ± 0,23	(38) 316 ± 5	(15) 59 ± 0,41	(29) 318 ± 6	(35) 58,8 ± 0,21	(67) 317 ± 4
Gallarate	(4) 58,8 ± 0,52	(5) 306 ± 8	(8) 58,2 ± 0,48	(21) 319 ± 11	(12) 58,4 ± 0,36	(26) 316 ± 9
PIN	(7) 58,8 ± 0,43	(15) 306 ± 6	(9) 58,7 ± 0,55	(21) 327 ± 8	(16) 58,8 ± 0,35	(36) 319 ± 6
BOR	(19) 57,9 ± 0,21	(35) 292 ± 6	(13) 57,2 ± 0,57	(22) 276 ± 11	(32) 57,6 ± 0,27	(57) 286 ± 6
FRA	(9) 57,2 ± 0,25	(17) 271 ± 5	(5) 57,7 ± 0,77	(13) 289 ± 13	(14) 57,4 ± 0,31	(30) 279 ± 6
VAL	(32) 58,5 ± 0,20	(65) 307 ± 3	(31) 58,1 ± 0,34	(55) 301 ± 5	(63) 58,3 ± 0,19	(120) 304 ± 3

Le dimensioni corporee (FL) sono diverse tra le aree di studio, mentre non ci sono differenze tra maschi e femmine (Tabella 12).

Tabella 12: ANOVA a due vie relativo alla lunghezza del piede posteriore in relazione all'area e al sesso.

	F	g.l.	p
Area	4,12	5, 160	0,002
Sesso	1,02	1, 160	0,32
Area*Sesso	0,58	5, 160	0,72

Il *Tukey test* evidenzia che gli individui catturati nelle aree di montagna di Bormio 2000 e Fraele hanno dimensioni corporee minori rispetto ad individui catturati nell'area Adda (DLSM, $p < 0,05$); mentre non c'è differenza tra le altre aree (DLSM, $p > 0,05$) (Figura 29).

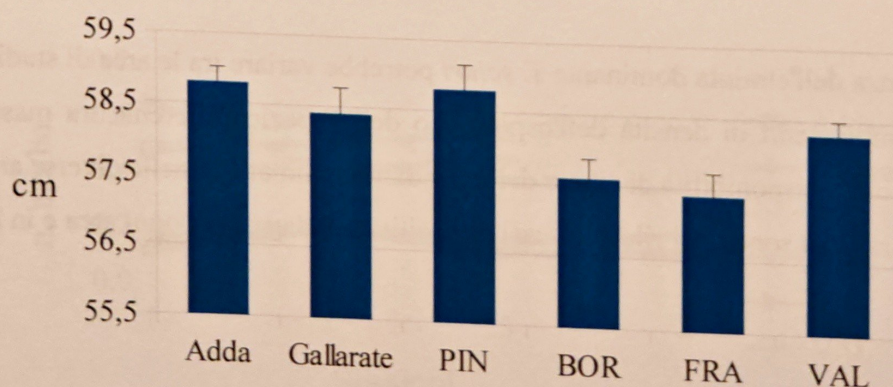


Figura 29: Valori medi (+ SE) di lunghezza del piede posteriore nelle 6 aree.

Tabella 13: GLM relativo al peso in relazione alle variabili: area, sesso, stagione e interazioni.

	F	g.l.	p
Area	10,29	5, 320	<0,0001
Sesso	0,61	1, 320	0,44
Stagione	1,34	2, 320	0,26
Sesso*Area	2,07	5, 320	0,07
Sesso*Stagione	1,03	2, 320	0,36

Anche il modello con peso come variabile dipendente riporta una significatività per il fattore area (Tabella 13). Il *Tukey test* indica che gli scoiattoli di Bormio2000 e Fraele pesano meno degli animali catturati nelle altre 4 aree di studio (DLSM, tutte le $p < 0,05$), mentre non ci sono differenze nel peso tra scoiattoli di Valfurva e delle tre aree di pianura (tutte le $p > 0,05$) (Tabella 11 e Figura 30).

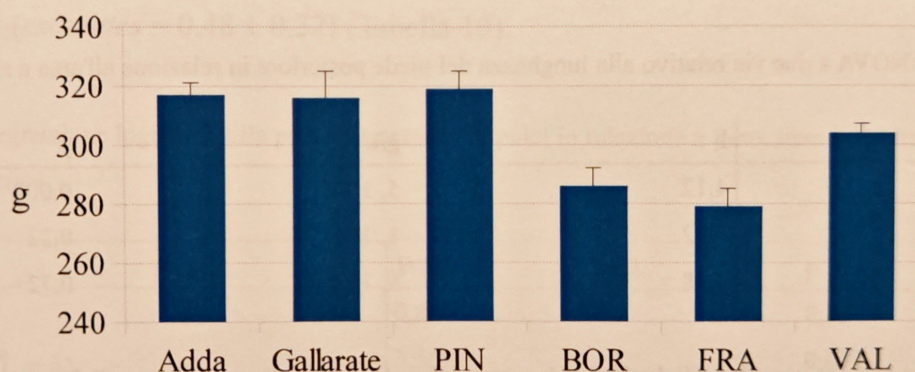


Figura 30: Valori medi dei pesi (+ SE) nelle sei aree di studio.

La prevalenza dell'elminta dominante *T. sciuri* potrebbe variare tra le aree di studio e tra i sessi in base ai cambiamenti di densità dell'ospite, uso dello spazio differente tra maschi e femmine, variazione della disponibilità di cibo e delle condizioni climatiche nelle diverse aree.

Per queste ragioni sono stati rilevati i casi di positività indagati per ogni area e in base al sesso.

Tabella 14: Prevalenze di *T. sciuri* rispetto alle aree e al sesso (N indica il numero di animali del campione, n indica il numero di individui positivi e p la prevalenza).

	♂			♀		
	N	n	p	N	n	p
Adda	38	26	68%	29	21	72%
Gallarate	5	2	40%	18	9	50%
PIN	15	14	93%	20	14	70%
BOR	35	22	63%	22	9	41%
FRA	17	11	65%	13	7	54%
VAL	65	49	75%	55	28	51%
Totali	175	124	71%	157	88	56%

Il modello utilizzato è una regressione logistica con selezione *stepwise backward*, i fattori significativi sono area ($\chi^2 = 11,69$; g.l. = 5; $p < 0,05$) e sesso ($\chi^2 = 8,12$; g.l. = 1; $p < 0,01$). Effettuando un confronto a coppie l'unica differenza significativa è risultata riguardo all'area con le prevalenze più basse (Gallarate) contro l'area con le prevalenze più alte (Parco Pineta). Per quanto riguarda l'effetto del fattore sesso i maschi (71%) hanno una prevalenza maggiore rispetto alle femmine (56%) (Tabella 14).

Le densità di popolazione di scoiattolo comune sono state calcolate e messe in relazione con la prevalenza di *T. sciuri*. Le sessioni di cattura sono 4 per le aree di montagna, relative a 2 stagioni all'anno (primavera-autunno); mentre, per le aree di pianura, le sessioni sono state ripetute per 3 stagioni all'anno (primavera-autunno-inverno).

Come evidenziato in Figura 31, le densità di popolazione nelle due aree marginali sono minori rispetto a quelle registrate nell'altra popolazione di montagna e in pianura (Tabella 15).

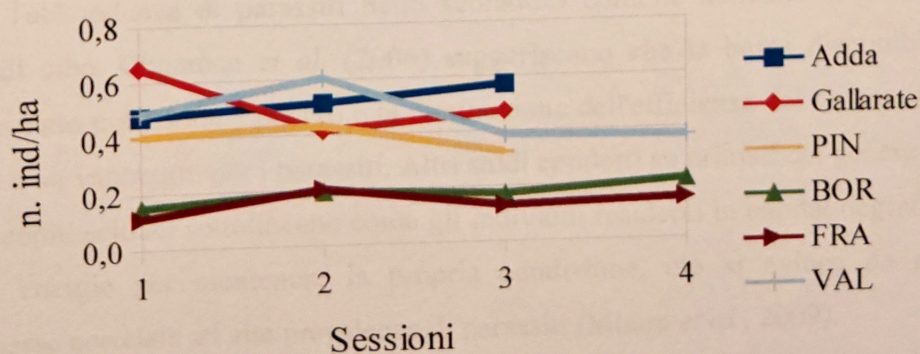


Figura 31: Andamento delle densità di popolazione nelle aree di studio per le sessioni di cattura.

Tabella 15: Densità di popolazione (numero di individui/ha) suddivisa tra le 6 aree studio e le sessioni di cattura.

	Adda	Gallarate	PIN	BOR	FRA	VAL
Sessione 1	0,48	0,65	0,41	0,15	0,11	0,49
Sessione 2	0,51	0,41	0,43	0,19	0,20	0,60
Sessione 3	0,57	0,47	0,32	0,17	0,13	0,39
Sessione 4	-	-	-	0,22	0,15	0,37

La correlazione tra densità di popolazione di scoiattolo e prevalenza del parassita non è significativa ($r = 0,10$; $n = 21$; $p = 0,66$) (Figura 32). Eliminando l'area atipica di Gallarate la correlazione rimane non significativa ($r = 0,32$; $n = 18$; $p = 0,19$).

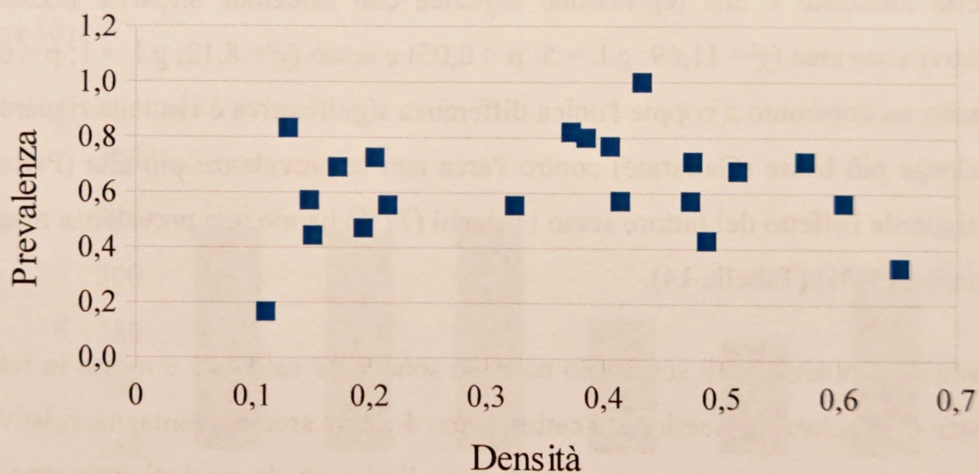


Figura 32: Correlazione tra densità e prevalenza di *T. sciuri*.

7. DISCUSSIONE e CONCLUSIONI

Sebbene molti studi abbiano esaminato le relazioni tra frammentazione dell'habitat e i processi demografici e genetici in popolazioni animali, pochi hanno studiato se e/o come la frammentazione influisca sulle interazioni ospite-parassita.

Il nostro studio dimostra che l'abbondanza del parassita gastro-intestinale dominante dello scoiattolo comune è maggiore in habitat frammentati rispetto a foreste continue e in boschi misti di pianura rispetto alle foreste montane di conifere. In habitat di montagna, inoltre, le stime di variazione della disponibilità di risorsa alimentare tra i vari anni suggeriscono che, in anni di bassa produzione alimentare, gli scoiattoli sono più parassitati rispetto ad anni con maggior abbondanza di cibo.

La maggior parte degli studi precedenti ha analizzato la prevalenza o la ricchezza di macroparassiti; visto che la prevalenza nel nostro caso è pari al 97%, la variabilità di infezione è da ricercare attraverso il conteggio degli elminti, infatti l'abbondanza è risultato essere il parametro più importante per quantificare un eventuale impatto. Ci sono comunque esempi, principalmente su primati in foreste tropicali, che utilizzano la prevalenza e/o ricchezza di specie di parassiti, dove sono stati indagati sia gli effetti di frammentazione, sia di cambiamenti nella disponibilità delle risorse alimentari (Chapman *et al.*, 2006; Gillespie e Chapman, 2006; Mbora *et al.*, 2009).

In popolazioni di primati, appartenenti al genere *Colobus* (famiglia Cercopithecidae), la diminuzione della disponibilità di cibo, causata dallo sfruttamento antropico delle foreste, ha effetti diretti sul declino delle popolazioni e, indiretti, sull'aumento delle infezioni parassitarie (Chapman *et al.*, 2006). Questo studio concorda con i risultati ottenuti dal presente studio, i quali indicano che l'abbondanza di parassiti nello scoiattolo comune aumenta negli anni di poca disponibilità di cibo. Chapman *et al.* (2006) suggeriscono che la bassa disponibilità di cibo determina uno stato nutrizionale povero e la diminuzione dell'efficienza del sistema immunitario la quale porta a un vantaggio per i parassiti. Altri studi condotti su primati del genere *Cercocebus* (famiglia Cercopithecidae) sottolineano come gli individui residenti in habitat degradati debbano investire più energie per mantenere la propria condizione, ciò si evince da *performance* riproduttive basse correlate ad alte prevalenze di parassiti (Mbora *et al.*, 2009).

In certi casi, relativi a studi effettuati su primati, roditori e marsupiali, la frammentazione causa un incremento della densità di popolazione dell'ospite nelle *patch* isolate, nelle quali aumentano i

contatti tra individui: questo comporta un maggior rischio di infezioni parassitarie (Gillespie e Chapman, 2006; Mbori e McPeck, 2009; Püttker *et al.*, 2008).

Nel nostro studio non è stato riscontrato un andamento densità-dipendente, infatti le popolazioni di scoiattolo comune residenti in aree frammentate tendono ad avere densità più basse rispetto a popolazioni di aree continue di analoga qualità dell'habitat (Wauters *et al.*, 1994a; Verbeylen *et al.*, 2003, 2009). Inoltre, molti ossiuridi sono caratterizzati da una strategia di trasmissione verticale attraverso la popolazione (Anderson, 2000). In particolare il parassita gastro-intestinale dominante, *Trypanoxyuris (Rodentoxyuris) sciuri* (Romeo *et al.*, 2013) ha un ciclo diretto senza stadi a vita libera, si trasmette per autoinfestazione e, come altri ossiuridi parassiti dei roditori, sembra non essere influenzato dalle densità di popolazione dell'ospite (Pisanu *et al.*, 2002).

In questo studio, come sopra descritto, l'abbondanza di ossiuridi è più alta nelle aree frammentate, questo potrebbe essere causato dalla ridotta variabilità genetica e dalla maggior sovrapposizione degli *home range* degli individui che frequentano aree frammentate, rispetto a quelli che vivono in aree con boschi continui (Wauters e Dhondt, 1992; Verbeylen *et al.*, 2009). Quest'ultima potrebbe incrementare le interazioni tra gli animali, aumentando, ipoteticamente, i tassi di trasmissione tra individui oltre ai livelli di stress e, di conseguenza, la suscettibilità alle infezioni parassitarie (Pedersen e Greives, 2008).

Inoltre, è stata rilevata una maggiore abbondanza di *T. sciuri* in habitat di pianura rispetto alle aree montane. Questa differenza non è spiegabile come una variazione nelle condizioni corporee degli animali dato che gli scoiattoli di aree planiziali pesavano in media circa 20 g di più di quelli di zone montane.

I risultati ottenuti dalle indagini realizzate su animali catturati dimostrano che le densità delle popolazioni in pianura tendono ad essere più elevate rispetto alle aree montane di habitat marginale al limite altitudinale della distribuzione della specie ospite. Studi precedenti hanno dimostrato come, in boschi di latifoglie miste, le densità di scoiattoli e la sovrapposizione degli *home range* tendono ad essere più elevati che in foreste di conifere (Wauters e Dhondt, 1992; Lurz *et al.*, 2000; Wauters *et al.*, 2004, 2008; Romeo *et al.*, 2010; Rodrigues *et al.*, 2010) e le interazioni potrebbero essere più frequenti. Dunque, la più alta abbondanza del parassita in boschi di latifoglie di pianura potrebbe essere correlata ad un aumento di contatto, favorendo la trasmissione orizzontale e incrementando lo stress.

Il parassita gastro-intestinale *T. sciuri*, inoltre, non sembra avere un effetto negativo sul peso degli scoiattoli, infatti gli animali più pesanti e con abbondanze d'infezione maggiori sono quelli

di habitat di pianura; infine, nelle aree di montagna, risulta un effetto positivo di aumento dell'abbondanza parassitaria con l'aumento del peso. Questi ultimi risultati portano a ipotizzare che l'infezione parassitaria sia legata al comportamento dell'animale e dunque sia frequenza-dipendente, visto che gli individui con peso maggiore tendono ad essere dominanti e, almeno nei maschi, a usare *home range* più grandi (Wauters e Dhondt, 1989, 1992). Per esempio, la frequenza di trasmissione orizzontale di *T. sciuri* potrebbe aumentare durante l'accoppiamento (tra Gennaio e Maggio, Wauters e Dhondt, 1989; Wauters *et al.*, 1990) o tra contatti madre e figlio e tra individui all'interno del nido, quando questo viene utilizzato ripetutamente (Wauters e Dhondt, 1990; Lurz *et al.*, 2005).

Un dato molto interessante è riportato dalle analisi effettuate sulle carcasse di scoiattolo comune provenienti da aree di simpatria con lo scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*), le quali hanno evidenziato alcuni casi di presenza del nematode *Strongyloides robustus*, elminta tipico dello scoiattolo alloctono nord americano, presente con prevalenze alte nelle popolazioni di scoiattolo grigio in Italia (Romeo *et al.*, 2014). Si tratta del primo caso in Europa dove si osserva la presenza di *Strongyloides robustus* negli scoiattoli comuni che vivono in simpatria con popolazioni alloctone di scoiattolo grigio (Romeo *et al.*, 2013).

Le invasioni biologiche possono essere la causa di trasmissione parassitaria, per esempio tramite il fenomeno dello *spillover* (Romeo *et al.*, 2013, 2014) il quale determina la trasmissione di agenti infettivi da una popolazione serbatoio ad un'altra che vive in simpatria (Daszak *et al.*, 2000).

Il rilascio dell'agente infettivo alla specie nativa può avere effetti molto più dannosi rispetto a quelli suscitati nella specie originaria, questo determina un vantaggio competitivo per la specie alloctona (*Parasite Mediated Competition*, Prenter *et al.*, 2004). Lo scoiattolo comune, proprio a causa della povera fauna parassitaria che lo occupa, è probabilmente particolarmente sensibile al fenomeno dello *spillover* (Tompkins e Poulin, 2006; Pisanu *et al.*, 2007; Romeo *et al.*, 2013).

Per quanto riguarda gli ectoparassiti è probabile che ci sia un effetto sulle condizioni degli animali (Neuhaus, 2003). In habitat di pianura, infatti, risulta un aumento della prevalenza in animali di peso minore; tuttavia servono altri studi sperimentali che indaghino se la causa primaria è relativa al peso o se quest'ultimo è la conseguenza dell'infestazione da ectoparassiti.

Per quanto riguarda gli animali vivi abbiamo seguito popolazioni di aree ad altitudini diverse e non risulta un chiaro *pattern* di presenza di *T. sciuri*. L'unico effetto sulla prevalenza è stato ritrovato tra l'area di Parco Pineta (con la prevalenza più alta) e un parco cittadino nel comune di Gallarate con basse densità di scoiattoli e alimentazione supplementare.

Il monitoraggio delle 6 popolazioni ha rilevato che gli animali sono di taglia e peso minore nei due habitat marginali al limite altitudinale (Romeo *et al.*, 2010; Rodrigues *et al.*, 2010), tuttavia non è stata rilevata una maggior prevalenza del parassita gastro-intestinale.

A livello di sesso, infine, le analisi riportano una maggior prevalenza di *T. sciuri* nei maschi; tale fenomeno si riscontra in numerose specie di mammiferi a causa della diversità ormonale e di sistema immunitario tra i sessi (Poulin, 1996; Schalk e Forbes, 1997; Ferrari *et al.*, 2007, 2010).

Per gli individui maschi di scoiattolo comune, in particolare, la sovrapposizione e la grandezza degli *home range*, sono maggiori durante il periodo di accoppiamento (Wauters *et al.*, 1990; Di Pierro *et al.*, 2008; Romeo *et al.*, 2010), questo potrebbe essere la ragione della maggior prevalenza di individui maschi parassitati.

I nostri risultati non sono esaustivi per spiegare i meccanismi che hanno generato i *pattern* nell'abbondanza di parassiti. Servirebbero ulteriori indagini sulla variabilità genetica degli scoiattoli in habitat differenti (pianura-montagna) e caratterizzati da diverso grado di frammentazione, oltre a indagini finalizzate a misurare il livello di stress utilizzando metodi non invasivi come la stima dei FCM (*Fecal Corticosteroid Metabolites*) nelle feci. Tali studi permetterebbero di testare l'ipotesi genetica che suggerisce, relativamente alla coevoluzione ospite-parassita, un vantaggio degli individui con maggior livello di eterozigotà (Meyer-Lucht e Sommer, 2005) e l'ipotesi secondo la quale lo stress sia il fattore determinante del *pattern* osservato, infatti alti livelli di stress influiscono sull'efficienza del sistema immunitario determinando una più alta suscettibilità alle infezioni (Pedersen e Greives, 2008).

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano per il contributo e la collaborazione le Regioni Lombardia e Piemonte; la Provincia di Sondrio, Settore Risorse Ambientali, Servizio Caccia e Pesca; la Provincia Autonoma di Trento, Servizio Foreste e Fauna, Ufficio Faunistico; la Provincia di Varese, Settore Politiche per l'Agricoltura e Gestione Faunistica – Commercio; il Parco Nazionale dello Stelvio, settore lombardo; il Parco Regionale Adda Nord, Ufficio Risorse Naturali; il Parco Regionale e Naturale della Pineta di Appiano Gentile e Tradate; il personale degli Enti di Gestione di: Aree Protette delle Alpi Cozie, Aree Protette del Po Cuneese, Aree Protette del Po e della Collina Torinese, Aree Protette dell'Area Metropolitana di Torino, Parco Naturale delle Alpi Marittime e Parco Naturale del Marguareis; il Museo Civico di Storia Naturale del Comune di Carmagnola (TO); il Comune di Gallarate (VA); Villa Castelbarco (MI).

In particolare, le analisi realizzate su soggetti rinvenuti morti sono state condotte con la collaborazione del Dott. Nicola Ferrari e Dott.ssa Claudia Romeo, Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Milano. Infine, si ringrazia per l'aiuto e il supporto lo staff dell'Unità di Analisi e Gestione delle Risorse Naturali – *Guido Tosi Research Group*, Dipartimento di Scienze Teoriche e Applicate, Università degli Studi dell'Insubria e il Dott. Sandro Bertolino, Università degli Studi di Torino.

BIBLIOGRAFIA

- Adamson M.L. (1989). Evolutionary biology of the *Oxyurida* (Nematoda): Biofacies of a haplodiploid taxon. *Adv Parasitol* 28:175–228.
- Anderson R.M. e May R.M. (1979). Population biology of infectious diseases: Part I. *Nature* 280:361–367.
- Anderson R. C. (2000). Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission, 2nd edn. CABI Publishing, Wallingford.
- Andrén H. (1994). Effects of habitat fragmentation on birds and mammals in landscapes with different proportions of suitable habitat: a review. *Oikos* 71: 355-363.
- Andrén H. e Delin A (1994). Habitat selection in the Eurasian red squirrel, *Sciurus vulgaris*, in relation to forest fragmentation. *Oikos* 70: 43-48.
- Andrén H. (1996). Population responses to habitat fragmentation: statistical power and the random sample hypothesis. *Oikos* 76: 235-242.
- Beaucournu J-C. e Launay H. (1990). Les puces de France et du bassin méditerranéen occidental. Faune de France 76. Fédération Française des Sociétés de Sciences Naturelles, Paris.
- Bertolino S. e Genovesi P. (2003). Spread and attempted eradication of the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) in Italy, and consequences for the red squirrel (*Sciurus vulgaris*) in Eurasia. *Biological Conservation* 109, 351-358.
- Bertolino S., Vizzini A., Wauters L. A. e Tosi G. (2004). Consumption of hypogeous and epigeous fungi by the red squirrel (*Sciurus vulgaris*) in subalpine conifer forests. *Forest Ecology and Management*. Vol 202, 1-3, pp. 227-333.
- Bertolino S. e Genovesi P. (2005). The application of the European strategy on invasive alien species: an example with introduced squirrels. *Histrix: the Italian Journal of Mammalogy*.
- Bertolino S., Lurz P. W. W., Sanderson R. e Rushton S. P. (2008). Predicting the spread of the American grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) in Europe: A call for a co-ordinated European approach. *Biological Conservation* 141: 2564-2575.
- Bertolino S., Cordero di Montezemolo N., Preatoni D. G., Wauters L. A. e Martinoli A. (2014). A grey future for Europe: *Sciurus carolinensis* is replacing native red squirrels in Italy. *Biological Invasions* 16: 53-62.

- Bosch S. e Lurz P.W.W. (2012). The Eurasian Red Squirrel. Westarp Wissenschaften, Hohenwarsleben.
- Celada C., Bogliani G., Gariboldi A. e Maracci A. (1994). Occupancy of isolated woodlots by the red squirrel *Sciurus vulgaris* L. in Italy. *Biological Conservation* vol 6, issue 2, pp. 177-183.
- Carleton M.D. e Musser G.G. (2005). Order *Rodentia*. In: Wilson D.E. e Reeder D.M., *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed), Johns Hopkins University Press: 745-751.
- Chapman C. A., Wasserman M. D., Gillespie T. R., Speirs M. L., Lawes M. J., Saj T. L. e Ziegler T. E. (2006). Do Food Availability, Parasitism, and Stress Have Synergistic Effects on Red Colobus Populations Living in Forest Fragments? *American Journal of Physical Anthropology* 131, no. 4, pp: 525-34.
- Cuthill, I. C. e Houston, A. I. (1997). Managing time and energy. In: Krebs, J. R. and Davies, N. (eds), *Behaviour ecology: an evolutionary approach*. Blackwell, pp. 97-120.
- Daszak P., Cunningham A.A. e Hyatt A.D. (2000). Emerging Infectious Diseases of Wildlife Threats to Biodiversity and Human Health. *Science*.
- Di Pierro E., Molinari A., Tosi G. e Wauters L. A. (2008). Exclusive core areas and intrasexual territoriality in Eurasian red squirrels (*Sciurus vulgaris*) revealed by incremental cluster polygon analysis. *Ecol Res* 23:529-542.
- Duren L. A. (2006). Taxonomy, host associations, life cycles and vectorial importance of ticks parasitizing small mammals. In: Morand S, Krasnov B. R. e Poulin R. (eds) *Micromammals and macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*. Springer, Tokyo, pp 91-102.
- Feliu C., Torres J., Miquel J. e Casanova J. C. (1994). The helminth faunas of rodents of the Iberian Peninsula in relation to continental rodents: the case of *Sciurus vulgaris* Linnaeus, 1758 (Sciuridae). *Res Rev Parasitol* 54:125-127.
- Ferrari N., Rosà R., Pugliese A e Hudson P.J. (2007). The role of sex in parasite dynamics: model simulations on transmission of *Heligmosomoides polygyrus* in populations of yellow-necked mice, *Apodemus flavicollis*. *Int J Parasitol* 37:341-349.
- Ferrari N., Rosà R., Lanfranchi P. e Ruckstuhl K.E. (2010). Effect of sexual segregation on host-parasite interaction: model simulation for abomasal parasite dynamics in alpine ibex (*Capra ibex*). *Int J Parasitol* 40:1285-1293.
- Genovesi P. e Bertolino S. (2001). Linee guida per il controllo dello Scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*) in Italia. Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica. Quaderni di conservazione della natura.

Gillespie T.R., Chapman C.A. e Greiner E.C. (2005). Effects of logging on gastrointestinal parasite infections and infection risk in African primates. *J Appl Ecol* 42:699–707.

Gillespie T.R. e Chapman C.A. (2006). Prediction of parasite infection dynamics in primate metapopulations based on attributes of forest fragmentation. *Conserv Biol* 20:441–448.

Goheen J.R., Swihart R.K., Gehring T.M. e Miller M.S. (2003). Forces structuring tree squirrel communities in landscapes fragmented by agriculture: species differences in perceptions of forest connectivity and carrying capacity. *Oikos* 102: 95-103.

Goodman J.L., Dennis D.T. e Sonenshine D.E. (eds) (2005). Tick-borne diseases of humans. *Am Soc Microbiol Press*, Washington.

Grill A., Amori G., Aloise G., Lisi L., Tosi G., Wauters L. A. e Randi E. (2009). Molecular phylogeography of Eurasian *Sciurus vulgaris*: refuge within refugia? *Molecular Ecology* 18, 2687-2699.

Gurnell J. (1987). The Natural History of Squirrels. London: Helm.

Gurnell J. e Pepper H. (1993). A Critical Look at Conserving the British Red Squirrel *Sciurus vulgaris*. Mammal Review.

Gurnell J. (1994). The Red Squirrel. Mammal Society.

Gurnell J. (1996). The Effects of Food Availability and Winter Weather on the Dynamics of a Grey Squirrel Population in Southern England. *Journal of Applied Ecology*, pp 325-338.

Hoogstraal H. (1985). Argasid and nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Adv Parasitol* 24:135–238.

Hugot J-P. (1984). Sur le genre *Trypanoxyuris* (Oxyuridae, Nematoda) I. Parasites de Sciuriés: sous-genre *Rodentoxyris*. *Bull Mus Nat Hist Nat* 6: 711-720.

Hugot J-P. (1988). Les nematodes *Syphaciinae* parasites de Rongeurs et de Lagomorphes. Taxonomie. Zoogeographie. Evolution. *Memories du Museum national d' Histoire Naturelle*, Paris, Serie A, Zoologie 141:1-153.

Hugot J-P. e Feliu C. (1990). Description de *Syphabulea mascomai* n. sp. et analyse du genre *Syphabulea*. *Syst Parasitol* 17:219–230.

Hugot J-P. (1999). Primates and their pinworm parasites: Cameron hypothesis revisited. *Syst Biol* 48:523–546.

- Kenward R. E. e Holm J. L. (1993).** On the Replacement of the Red Squirrel in Britain. A Phytotoxic Explanation. *Proc. R. Soc. Lond. B*, vol 251, no. 1332, 187-194.
- Kenward R.E., Hodder K.H., Rose R.J., Walls C.A., Parish T., Holm J.L., Morris P.A., Walls S.S. e Doyle F.I. (1998).** Comparative demography of red squirrels (*Sciurus vulgaris*) and grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) in deciduous and conifer woodland. *Journal of Zoology*, 244: 7-21.
- Kim K. C.** Blood-sucking lice (Anoplura) of small mammals: True parasites. (2006) In: Morand S, Krasnov B. R. e Poulin R. (eds) *Micromammals and macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*. Springer, Tokyo, pp 141-160.
- Koenig W.D. e Knops J.M.H. (1998).** Scale of mast-seeding and tree-ring growth. *Nature* 396, 225-226.
- Krasnov B.R., Poulin R. e Morand S. (2006).** Patterns of macroparasite diversity in small mammals. In: Morand S., Krasnov B.R., Poulin R. (eds) *Micromammals and macroparasites. From evolutionary ecology to management*. Springer, Tokyo, pp 197-231.
- Lurz P. W. W., Gurnell J. e Magris L. (2005).** *Sciurus vulgaris*. *Mammalian Species*, no. 769, pp 1-10.
- Martinoli A., Bertolino S., Preatoni D. G., Balduzzi A., Marsan A., Genovesi P., Tosi G. e Wauters L. A. (2010).** Headcount 2010: the multiplication of the grey squirrel populations introduced to Italy. *Hystrix Ital. J. Mammal.*
- Matthysen E., Lens L., Van Dongen S., Verheyen G., Wauters L.A., Adriaensen F. e Dhondt A.A. (1995).** Diverse effects of forest fragmentation on a number of animal species. *Belgian Journal of Zoology* 125: 175-183.
- Mbora D. N. M. e McPeck M. A. (2009).** Host Density and Human Activities Mediate Increased Parasite Prevalence and Richness in Primates Threatened by Habitat Loss and Fragmentation. *Journal of Animal Ecology* 78, no. 1, pp: 210-18.
- Mbora D. N. M., Wiczowski J. e Munene E. (2009).** Links between Habitat Degradation, and Social Group Size, Ranging, Fecundity, and Parasite Prevalence in the Tana River Mangabey (*Cercocebus galeritus*). *American Journal of Physical Anthropology* 140, no. 3, pp: 562-71.
- Mencuccini M., Piussi P. e Zanzi Sulli A. (1995).** Thirty years of seed production in a subalpine Norway spruce forest: patterns of temporal and spatial variation. *Forest Ecology and Management* 76, 109-125.
- Meyer-Lucht Y. e Sommer S. (2005).** MHC diversity and the association to nematode parasitism in the yellow necked mouse (*Apodemus flavicollis*). *Mol Ecol* 14:2233-2243.

- Millar, J. S. e Hickling, G. J. (1990). Fasting endurance and the evolution of mammalian body size. *Funct. Ecol.* 4: 512.
- Morand S, Krasnov B. R., Poulin R. e Dengen A. A. (2006a). Micromammals and macroparasites: Who is who and how they interact? In: Morand S, Krasnov B. R. e Poulin R. (eds) *Micromammals and macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*. Springer, Tokyo, pp 3-9.
- Morand S., Bouamer S. e Hugot J-P. (2006b). Nematodes. In: Morand S, Krasnov B. R. e Poulin R. (eds) *Micromammals and macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*. Springer, Tokyo, pp 63-79.
- Morand S, Krasnov B. R. e Poulin R. (2006c). *Micromammals and macroparasites. From Evolutionary Ecology to Management*. Springer, Tokyo.
- Neuhaus P. (2003). Parasite removal and its impact on litter size and body condition in Columbian ground squirrels (*Spermophilus columbianus*). *Proc. R. Soc. Lond. B (Suppl.)* 270, S213-S215.
- Pedersen A.B. e Greives T. J. (2008). The interaction of parasites and resources cause crashes in a wild mouse population. *Journal of Animal Ecology*, 77, 370-377.
- Perez-Eid, C., (2007). Les tiques: identification, biologie, importance medicale et veterinaire. Lavoisier, Paris.
- Pisanu B., Chapuis J.-L., Durette-Desset M.-C. e Morand, S. (2002). Epizootiology of *Syphacia obvelata* from a Domestic Mouse Population on the Subantarctic Kerguelen Archipelago. *Journal of Parasitology*, 88, 645-649.
- Pisanu B., Jerusalem C., Huchery C., Marmet J. e Chapuis J-L. (2007). Helminth fauna of the Siberian chipmunk, *Tamias sibiricus* Laxmann (*Rodentia, Sciuridae*) introduced in suburban French forests. *Parasitol Res* 100:1375-1379.
- Pisanu B., Lebailleux L. e Chapuis J-L. (2009). Why do Siberian chipmunks *Tamias sibiricus* (*Sciuridae*) introduced in French forests acquired so few intestinal helminth species from native sympatric Murids? *Parasitol Res* 104:709-714.
- Pisanu B., Marsot M., Marmet J., Chapuis J.-L., Réale D. e Vourc'h G. (2010). Introduced Siberian chipmunks are more heavily infested by ixodid ticks than are native bank voles in a suburban forest in France. *International Journal for Parasitology* 40: 1277-1283.
- Poulin R. (1996). Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being male? *Am Nat* 147:287-295.
- Poulin R. (1997). Species richness of parasite assemblages: evolution and patterns. *Annu Rev Ecol Syst* 28:341-358.

Poulin R. (2004). Macroecological patterns of species richness in parasite assemblages. *Basic Appl Ecol* 5:423–434.

Prenter J., MacNeil C., Dick J. T. A. e Dunn A. M. (2004). Roles of Parasites in Animal Invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 19, no. 7, pp: 385–90.

Prigioni C., Cantini M. e Zilio A., (2001). Atlante dei Mammiferi della Lombardia. Regione Lombardia e Università di Pavia.

Püttker T., Meyer-Lucht Y. e Sommer S. (2008). Effects of Fragmentation on Parasite Burden (nematodes) of Generalist and Specialist Small Mammal Species in Secondary Forest Fragments of the Coastal Atlantic Forest, Brazil. *Ecological Research* 23, no. 1, pp: 207–15.

R Core Team (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Robbins C. T. (1993). Wildlife feeding and nutrition. Academic Press.

Rodrigues D., Wauters L. A., Romeo C., Mari V., Preatoni D., Mathias M. da L., Tosi G. e Martinoli A. (2010). Living on the Edge: Can Eurasian Red Squirrel (*Sciurus vulgaris*) Persist in Extreme High-elevation Habitats?. *Artic, Antartic and Alpine Research*, Vol 42, no. 1, pp 106-112.

Rodriguez A. e Andrén H. (1999). A comparison of Eurasian red squirrel distribution in different fragmented landscapes. *Journal of Applied Ecology* 36: 649-662.

Romeo C., Wauters L. A., Preatoni D., Tosi G. e Martinoli A. (2010.) Living on the edge: space use of Eurasian red squirrels in marginal highelevation habitat. *Acta Oecol* 36:604–610.

Romeo C., Pisanu B., Ferrari N., Basset F., Tillon L., Wauters L. A., Martinoli A., Saino N. e Chapuis J-L. (2013). Macroparasite community of the Eurasian red squirrel (*Sciurus vulgaris*): poor species richness and diversity. *Parasitological Research* 112:3527-3536.

Romeo C., Wauters L. A., Ferrari N., Lanfranchi P., Martinoli A., Pisanu B., Preatoni D. G. e Saino N. (2014). Macroparasite fauna of alien grey squirrels (*Sciurus Carolinensis*): Composition, variability and implications for native species. *PLoS ONE* 9, no. 2: e88002. doi:10.1371/journal.pone.0088002.

Rushton S. P., Lurz P. W. W., Gurnell J. e Fuller R. (2000). Modelling the spatial dynamics of parapoxvirus disease in red and grey squirrels: a possible cause of the decline in the red squirrel in the UK?. *Journal of Applied Ecology*.

- Sainsbury A. W., Nettleton P. e Gurnell J. (2000). Grey squirrels have high seroprevalence to a parapoxvirus associated with deaths in red squirrels. *Animal Conservation*.
- Salmaso F., Molinari A., Di Pierro E., Ghisla A., Martinoli A., Preatoni D., Cerabolini B., Tosi G., Bertolino S. e Wauters L.A. (2009). Estimating and comparing food availability for tree-seed predators in typical pulsed resource systems: alpine conifer forests. *Plant Biosystems* 143: 258–267.
- Schalk G. e Forbes M.R. (1997). Male biases in parasitism of mammals: effects of study type, host age and parasite taxon. *Oikos* 78:67–74.
- Sonenshine D.E., Lane R.S. e Nicholson W.L. (2002). Ticks (*Ixodida*). In: Mullen G, Durden L. (eds) Medical and veterinary entomology. In: Durden L. A. (eds) Micromammals and macroparasites. Acad Press, San Diego, pp 517–558.
- Tattoni C., Preatoni D., Martinoli A., Bertolino S. e Wauters L.A. (2005). Application of modelling techniques to manage a population of grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) in Lombardy, northern Italy, and analysis of parameters estimates used in simulations. *Hystrix: Italian Journal of Mammalogy*, 16 (2): 99-112.
- Tattoni C., Preatoni D. G., Lurz P. W. W., Rushton S. P., Tosi G., Bertolino S., Martinoli A. e Wauters L. A. (2006). Modelling the expansion of a grey squirrel population: implication for squirrel control. *Biological Invasions* 8: 1605-1619.
- Tompkins D. M., Sainsbury A. W., Nettleton P., Buxton D. e Gurnell J. (2002). Parapoxvirus causes a deleterious disease in red squirrels associated with UK population declines. *Proc. R. Soc. Lond. B*, vol 269, no. 1490, 529-533.
- Tompkins D.M. e Poulin R. (2006). Parasites and biological invasions. In: Aleen R. B., Lee W. G. (eds) *Biological Invasions in New Zealand*. Springer, Berlin, pp 67–82.
- Trizio I., Crestanello B., Galbusera P., Wauters L. A., Tosi G., Matthysen E. e Hauffe H.C. (2005). Geographical distance and physical barriers shape the genetic structure of Eurasian red squirrels in the Italian Alps. *Molecular Ecology* 14: 469-481.
- Verbeylen G., De Bruyn L. e Mattysen E. (2003). Patch occupancy, population density and dynamics in a fragmented red squirrel *Sciurus vulgaris* population. *Ecography* 26:118-128.
- Verbeylen G., Wauters L. A., De Bruyn L. e Matthysen E. (2009). Woodland fragmentation affects space use of Eurasian red squirrels. *Acta Oecol* 35:94–103.
- Voipio P. (1969). Some ecological aspects of polymorphism in the red squirrel *Sciurus vulgaris* L. in northern Europe. *Oikos*.

Voipio P. (1970). Polymorphism and regional differentiation in the red squirrel (*Sciurus vulgaris* L.). *Annales Zoologici Fennici* 7: 210-215.

Wauters L. A. e Dhondt A. A. (1987). Activity budget foraging behaviour of the Red Squirrel (*Sciurus vulgaris* Linnaeus, 1758) in a coniferous habitat. *Sonderdruck aus Z. f. Saugetierkunde* Bd. 52, H. 6, S. 341-353.

Wauters L.A. e Dhondt A.A. (1989). Body weight, longevity and reproductive success in red squirrels (*Sciurus vulgaris*). *Journal of Animal Ecology*, 58: 637-651.

Wauters L.A., Dhondt A.A. e De Vos R. (1990). Factors affecting male mating success in red squirrels (*Sciurus vulgaris*). *Ethology, Ecology & Evolution*, 2: 195-204.

Wauters L. A. e Dhondt A. A. (1992). Spacing behaviour of Red Squirrel, *Sciurus vulgaris*: variation between habitats and the sexes. *Animal Behaviour* 43, 2, 297-311.

Wauters L. A. e Dhondt A. A. (1993). Immigration pattern and success in red squirrels. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 33: 159-167.

Wauters L. A., Casale P. e Dhondt A. A. (1994a). Space Use and Dispersal of Red Squirrel in Fragmented Habitats. *Oikos*, pp 140-146.

Wauters L. A., Matthysen E. e Dhondt A. A. (1994b). Survival and lifetime reproductive success in dispersing red squirrel. *Behavioural Ecology and Sociobiology* 34: 197-201.

Wauters L. A., Hutchinson Y., Parkin D. T. e Dhondt A. A. (1994c). The effect of habitat fragmentation on Demography and the loss of Genetic Variation in Red Squirrel. *Proceedings: Biological Sciences*, Vol. 255, No. 1343. pp. 107-111.

Wauters L. A. e Dhondt A. A. (1995). Lifetime Reproductive Success and Its Correlates in Female Eurasian Red Squirrels. *Oikos*.

Wauters L. A. e Lens L. (1995). Effects of Food Availability and Density on Red Squirrel (*Sciurus Vulgaris*) Reproduction. *Ecology* 76(8), pp. 2460-2469.

Wauters L.A., Suhonen J. e Dhondt A.A. (1995a). Fitness consequences of hoarding behaviour in the Eurasian red squirrel. *Proceedings of the Royal Society: Biological Sciences*, 262: 277-281.

Wauters L.A., Lens L. e Dhondt A.A. (1995b). Variation in territory fidelity and territory shifts among red squirrel, *Sciurus vulgaris*, females. *Animal Behaviour* 49: 187-193.

Wauters L. A. e Casale P. (1996). Long-term scatterhoarding by Eurasian red squirrel (*Sciurus vulgaris*). *Journal of Zoology*.

Wauters L.A. (1997a). The ecology of red squirrels (*Sciurus vulgaris*) in fragmented habitats: a review. In: Gurnell J., Lurz P.W.W. (Eds.), *The Conservation of Red Squirrels, Sciurus vulgaris L.* PTES, London, pp. 5-12.

Wauters L. A., Somers L. e Dhondt A. A. (1997b). Settlement behaviour and population dynamics of reintroduced red squirrels *Sciurus vulgaris* in a park in Antwerp, Belgium. *Biological Conservation* 88: 101-107.

Wauters L. A. (2000). Squirrels-Medium-Sized Granivores in Woodland Habitats. Activity Patterns in Small Mammals, *Ecological Studies*, vol 141, pp 131-143.

Wauters L. A., Gurnell J., Preatoni D. e Tosi G. (2001a). Effects of spatial variation in food availability on spacing behaviour and demography of Eurasian red squirrels. *Ecography* 24: 525-538.

Wauters L. A., Gurnell J., Martinoli A. e Tosi G. (2001b). Does interspecific competition with introduced grey squirrels affect foraging and food choice of Eurasian red squirrels?. *Animal Behaviour*, 61, 1079-1091.

Wauters L.A., Tosi G. e Gurnell J. (2002a). Interspecific competition in tree squirrels: do introduced grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) deplete tree seeds hoarded by red squirrels (*S. vulgaris*)? *Behavioural Ecology and Sociobiology*, 51: 360-367.

Wauters L.A., Zaninetti M., Tosi G. e Bertolino S. (2004a). Is coat-colour polymorphism in Eurasian red squirrels (*Sciurus vulgaris* L.) adaptive? *Mammalia*, 68: 37-48.

Wauters L. A., Matthysen E., Adriaensen F. e Tosi G. (2004b). Within-sex density dependence and population dynamics of red squirrels *Sciurus vulgaris*. *Journal of Animal Ecology* 73, 11-25.

Wauters L. A., Bertolino S., Adamo M., Van Dongen S. e Tosi G. (2005a). Food shortage disrupts social organization: the case of red squirrels in conifer forests. *Evolutionary Ecology* 19: 375-404.

Wauters L.A., Tosi G. e Gurnell J. (2005b). A review of the competitive effects of alien grey squirrels on behaviour, activity and habitat use of red squirrel in mixed, deciduous woodland in Italy. *Hystrix: the Italian Journal of Mammalogy*, 16: 27-40.

Wauters L. A., Vermeulen M., Van Dongen S., Bertolino S., Molinari A., Tosi G. e Matthysen E. (2007a). Effects of spatio-temporal variation in food supply on red squirrel *Sciurus vulgaris* body size and body mass and its consequences for some fitness components. *Ecography* 30: 51-65.

Wauters L. A., Preatoni D. G., Molinari A. e Tosi G. (2007b). Radio-tracking squirrels: Performance of home range density and linkage estimators with small range and sample size. *Ecological modelling* 202, 333-344.

Wauters L. A., Githiru M., Bertolino S., Molinari A., Tosi G. e Lens L. (2008). Demography of alpine red squirrel populations in relation to fluctuations in seed crop size. *Ecography* 31: 104-114.

Witafsky H. (1973). Die geographische Variation morphologischer Merkmale bei *Sciurus vulgaris* L., 1758. Universitaet zu Koeln.