



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato di Ricerca in "Biologia Ambientale e Biodiversità"

STEBICEF

AGR/11

“LA BECCACCIA IN ITALIA: APPROFONDIMENTI SUL RUOLO  
DELL’ITALIA NELLA STRATEGIA MIGRATORIA E DI  
SVERNAMENTO PER LA SPECIE”

IL DOTTORE

**Arianna Aradis**

IL COORDINATORE

**Prof. Marco Arculeo**

IL TUTOR

**Prof. Bruno Massa**

CICLO XXV

ANNO CONSEGUIMENTO TITOLO 2015

"The aim of science is not to open the door to infinite wisdom, but to set a limit to infinite error"

"Scopo della scienza non è quello di aprire le porte all'infinito sapere, ma quello di ergere muri alla dilagante ignoranza"

— Bertolt Brecht, *Life of Galileo*

*Dedico questo lavoro:*

*ai miei genitori che hanno appoggiato sempre le mie scelte e i percorsi, a volti tortuosi, intrapresi nei progetti di ricerca e di vita;*

*a mia sorella per essere sempre presente in ogni circostanza e per cercare costantemente di farmi capire che la vita è piena di sfumature colorate;*

*a mio nipote Pavel a cui spero di aver trasmesso la curiosità scientifica, l'amore e il rispetto per la natura;*

*a Jack, il mio amico peloso la cui presenza è stata indispensabile per farmi allontanare dal computer e fare lunghe passeggiate nel verde.*

## SOMMARIO

Prefazione.....	4
Introduzione generale.....	5
La beccaccia .....	7
La beccaccia in Italia.....	13
Status e minacce .....	15
Metodologia generale.....	18
Cattura e inanellamento.....	19
Marcaggio con radio satellitari .....	20
Analisi genetica per il riconoscimento del sesso .....	22
<b>Capitolo 1</b> Fenologia dello svernamento .....	25
Introduzione .....	26
Metodi .....	27
Risultati .....	28
Discussione.....	35
<b>Capitolo 2</b> Origine della popolazione.....	37
Introduzione.....	38
Metodi .....	39
Risultati .....	39
Discussione .....	60
<b>Capitolo 3</b> Movimenti e Migrazione: Indagine Satellitare .....	61
Introduzione .....	62
Metodi .....	65
Risultati.....	67
Discussioni .....	74
<b>Capitolo 4</b> Biometria e sessaggio.....	76
Introduzione.....	77
Metodi .....	80
Risultati .....	81
Sex Determination of Eurasian Woodcock ( <i>Scolopax rusticola</i> ) a molecular and morphological approach 84	
<b>Capitolo 5</b> L'alimentazione nel periodo invernale .....	100
Introduzione .....	100
Risultati e Discussioni .....	103
<b>Capitolo 6</b> La beccaccia e il saturnismo.....	105

_____ Introduzione .....	106
_____ Meat of game birds hunted with lead ammunition: a major risk for consumers	108
<b>Capitolo 7</b> Il ruolo ecologico della beccaccia nel trasporto dei Lieviti .....	127
_____ Introduzione .....	128
_____ Materiali e metodi .....	129
_____ Risultati .....	132
_____ Discussione .....	135
<b>Capitolo 8</b> Conclusioni .....	146
Ringraziamenti .....	153
Bibliografia.....	155

## PREFAZIONE

*Questa ricerca nasce dal desiderio di apportare nuove informazioni sulla beccaccia, un limicolo di elevato interesse gestionale e conservazionistico. Nell'ottica che tutte le specie devono essere tutelate e monitorate, è importante che significative azioni siano realizzate per preservare e monitorare le popolazioni di uccelli che apparentemente sembrano godere di uno status "stabile" nel tempo. Un monitoraggio a livello europeo con protocolli standardizzati di raccolta dati dovrebbe essere sviluppato, soprattutto, per quelle specie, come la beccaccia, che risentono di un elevato impatto venatorio e per cui gli effetti della caccia sommati al degrado e alla distruzione degli habitat potrebbero portare a un cambiamento improvviso e negativo del loro stato di conservazione. L'Europa, attraverso un protocollo comune, dovrebbe monitorare le popolazioni di beccaccia sul territorio e raccogliere informazioni fondamentali per identificare le aree di riproduzione e le rotte di migrazione utilizzate per gli spostamenti tra i diversi paesi. In attesa che venga definito un protocollo europeo, confido che questa ricerca possa apportare un piccolo contributo alla conoscenza della popolazione di beccaccia in Italia, delle aree di riproduzione degli svernanti sul nostro territorio e delle rotte di migrazioni da e verso l'Italia.*

## INTRODUZIONE GENERALE

La beccaccia, *Scolopax rusticola*, è una specie molto apprezzata come selvaggina e ha un notevole interesse in ambito venatorio. Nei Paesi europei, con l'esclusione di Olanda, Belgio (Fiandra), Slovenia e nei cantoni svizzeri tedeschi, la beccaccia viene cacciata durante la migrazione autunnale, nei quartieri di svernamento e in molti Paesi dell'est e dell'ex Urss anche in primavera (Lutz & Jensen 2006). Di conseguenza, la specie è sottoposta a prelievo venatorio 9 mesi su 12. L'inverno è la stagione in cui la caccia è svolta con maggiore intensità e per un lungo periodo quando le popolazioni sono concentrate nelle aree di svernamento. Nel periodo invernale, l'attività venatoria si somma ai fattori ambientali che agiscono sulla popolazione e che possono incidere in maniera negativa sul tasso di sopravvivenza. Condizioni climatiche avverse, ad esempio, possono rappresentare una minaccia importante per questa specie. Tavecchia et al. (2002) hanno evidenziato una correlazione tra le precipitazioni, le temperature e la sopravvivenza di questa specie. Intensi e prolungati periodi di gelo sembrano essere la causa di un aumento della mortalità per la difficoltà a reperire risorse alimentari a causa del suolo gelato (Gossmann & Ferrand 2000). Inoltre, le rigide condizioni climatiche rendono le beccacce più sensibili alla predazione e alla pressione venatoria (Tavecchia et al. 2002). In Francia e in Spagna durante inverni molto freddi è prevista l'interruzione o la sospensione temporanea dell'attività venatoria.

Le popolazioni di beccaccia che svernano in Europa sono sottoposte, dunque, a molti fattori limitanti e i meccanismi con cui questi agiscono sulla specie sono per lo più sconosciuti. Il trend delle popolazioni, attualmente considerato stabile, subisce a livello locale delle fluttuazioni che in alcune aree tendono al negativo, le cui cause sono da ricercare proprio negli effetti additivi di diversi fattori tra cui l'ininterrotto prelievo venatorio e la riduzione di habitat idonei.

I maggiori cambiamenti ambientali che incidono negativamente sulla specie sono dovuti alla frammentazione di zone boschive e alla perdita di vaste aree aperte nella regione Palearctica, soprattutto, nell'area balcanica. I cambiamenti nelle politiche agricole e nelle pratiche di allevamento, avvenuti su scala europea, inoltre sono responsabili del declino di molte popolazioni di specie legate ai più tradizionali paesaggi agricoli (Robinson & Sutherland 2002; Kleijn & Sutherland 2003). Nell'Unione Europea, tra il 1975 e il 1995, il 12% delle praterie naturali e dei pascoli

è scomparso in 9 Paesi (Poiret 2003).

La trasformazione delle aree aperte è critica; dagli anni '50 la conversione delle praterie in colture ha subito un'accelerazione ed una diffusione geografica enorme, assottigliando e riducendo drasticamente gran parte delle praterie naturali, habitat vitale per la beccaccia. L'impovertimento della comunità ecologica e la perdita di biodiversità degli habitat, rappresentano fattori di minaccia molto seri per la sopravvivenza della specie.

Ulteriori cause che possono incidere sul tasso di mortalità della specie sono: l'avvelenamento da piombo (saturnismo), la presenza di metalli pesanti con effetto negativo sulla riproduzione e sulla sopravvivenza, l'accumulo di tossine e altre sostanze nocive immesse dall'uomo nell'ambiente come pesticidi e fitofarmaci i cui effetti sono molto poco approfonditi.

L'identificazione delle aree frequentate nei diversi momenti del ciclo vitale di una specie e lo studio dei fattori limitanti, comprese le minacce sopracitate, è cruciale per specie con trend controverso o in netto declino. Tuttavia, la salvaguardia di queste aree, da sola, non è sufficiente a garantire la protezione di una specie migratrice. L'individuazione delle rotte di migrazione e delle aree di sosta durante la migrazione sono elementi fondamentali per garantire la conservazione di una specie (Berthold & Terrill 1991). Lo studio delle flyways o rotte di migrazione “...*the biological systems of migration paths that directly link sites and ecosystems in different countries and continents*” (Boere & Stroud 2006) è indispensabile se si vogliono comprendere gli elementi chiave per la salvaguardia di specie con aree vitali in zone molto distanti tra loro.

Le tecniche utilizzate per studiare le flyways o rotte di migrazione sono diverse e molto spesso la loro efficacia è potenziata dall'uso sinergico tra queste. La cattura e il marcaggio con anelli (l'inanellamento) ha un ruolo di estrema importanza e permette attraverso la ricattura di individui marcati di tracciare le potenziali rotte di migrazione. Attraverso questa tecnica, inoltre, si ottengono informazioni uniche sulle popolazioni: dati biometrici, indici demografici, tassi di sopravvivenza e mortalità solo per citarne alcuni. Recenti sviluppi nella tecnologia hanno permesso, in sinergia con l'inanellamento, di analizzare con maggiore dettaglio le connessioni tra i quartieri di riproduzione e quelli di svernamento. L'efficacia di queste tecniche dipende dall'abilità di tracciare gli individui o le popolazioni durante il loro intero ciclo biologico (Rubenstein et al. 2002). Tra queste nuove tecniche, l'utilizzo di

radiotrasmittenti satellitari per specie di medie dimensioni sta progredendo rapidamente e permette di seguire gli spostamenti degli individui per lunghe distanze.

I dati biometrici raccolti durante l'attività di inanellamento contribuiscono a dare risposte a questioni teoriche e pratiche della ecologia degli uccelli (Morgan 2004); ad esempio, consentono di approfondire la biologia delle popolazioni tra cui la determinazione del sesso in specie monomorfe, le differenze tra popolazioni, la morfologia delle ali, le relazioni tra massa corporea e peso. Il rapporto nelle popolazioni tra i sessi e tra le classi di età sono parametri demografici fondamentali per la conoscenza di una specie e punti centrali di animati dibattiti che da decenni coinvolgono i biologi evuzionisti (Mayr 1939; Hardy 2002; Donald 2007). Il riconoscimento delle classi di sesso in specie monomorfe come la beccaccia è difficile se si utilizzano soltanto le informazioni ricavabili dall'analisi biometrica e l'unico modo certo ad oggi rimane l'analisi genetica.

## LA BECCACCIA

La beccaccia eurasiatica (*Scolopax rusticola*, Linnaeus 1758) appartiene al genere *Scolopax* che include 8 specie morfologicamente molto simili, 7 delle quali fino a non molto tempo fa erano ritenute sottospecie di *rusticola* (Tabella 1). Ad eccezione delle specie *rusticola* e *minor*, tutte le altre presentano un areale ristretto e talvolta puntiforme: *Scolopax saturata* è presente nelle isole indonesiane; *Scolopax rochussenii* nelle isole Molucche; *Scolopax bukidnonensis* nelle isole Filippine; *Scolopax mira* nelle isole del Sud del Giappone; *Scolopax celebensis* nel Nord est e centro dell'isola Sulawesi; *Scolopax rosenbergii* nella Nuova Guinea; *Scolopax minor* si estende dal Canada agli Stati Uniti fino al Golfo del Messico; *Scolopax rusticola* ha una distribuzione paleartica (Figura 1) ed in Europa è presente in tutti i Paesi con eccezione dell'Islanda. L'area di riproduzione in senso stretto comprende Norvegia, Finlandia, Svezia, Danimarca, Paesi Baltici, Russia, Bielorussia, Paesi Bassi,, Polonia, Germania, Repubblica Ceca, Svizzera Austria Ucraina, Ungheria, Romania, Slovenia e Slovacchia. Le aree di svernamento della popolazione europea comprendono i paesi che si affacciano sul mediterraneo: Italia, Grecia Turchia e nord Africa e nelle regioni costiere del Mar Nero, Turchia e Crimea. Francia, Inghilterra e



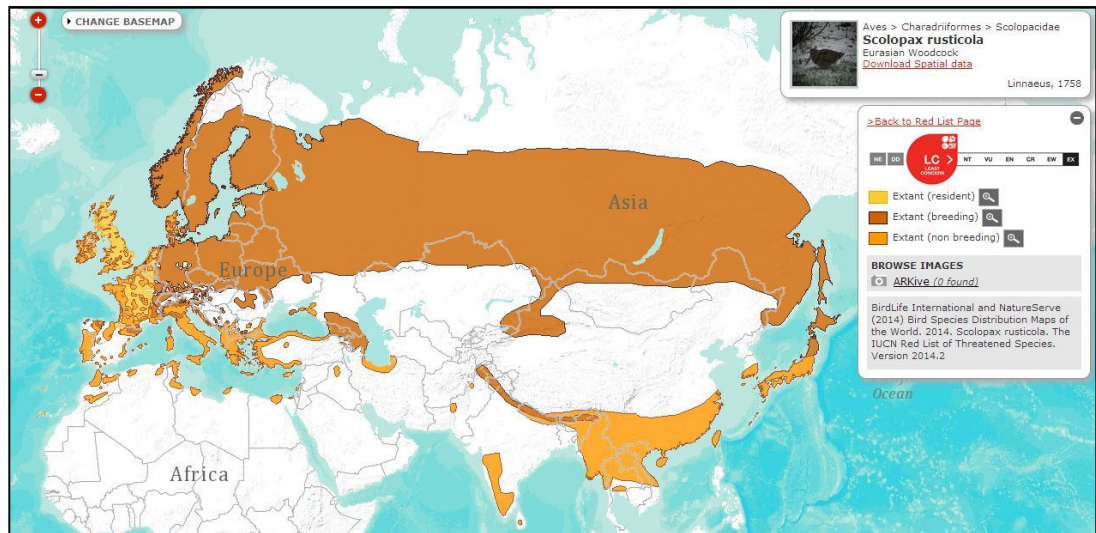


Figura 1. Distribuzione della beccaccia *Scolopax rusticola* nel Paleartico (da BirdLife International and NatureServe (2014).

nord della Spagna presentano aree di sovrapposizione tra la popolazione residente e svernante. Nelle isole Azzorre, Canarie e a Madera la popolazione è sedentaria e considerata separata dalle altre (Cramp & Simmons 1983; Ferrand & Gossmann 2009; Wetland International 2002). La beccaccia ha un corpo piuttosto tozzo e rotondo (33–35 cm), il becco lungo (6.5–8 cm) e le ali arrotondate (apertura alare 56–60 cm). Il piumaggio presenta un colore simile al sottobosco con cui si mimetizza perfettamente con un marrone rossiccio come colore dominante e un misto di tinte brune, rosse, grigie, nere e bianche. La testa presenta delle strisce orizzontali scure da cui gli occhi sporgono in posizione laterale permettendo una visione di 360°. Gli adulti e i giovani presentano un piumaggio differente in quanto gli adulti compiono una muta completa subito dopo la riproduzione. Nei quartieri di svernamento gli adulti (Euring code 4,6) sono quindi riconoscibili per il piumaggio nuovo, con le ali che presentano un colore e una tessitura uniforme con le punte delle primarie non usurate e ben definite.

Tabella 1. Tratta da Wetlands International. 2006. *Waterbird Population Estimates – Fourth Edition*. Wetlands International, Wageningen, The Netherlands.

English name	Subspecies and Population	Breeding range	Wintering, or core non-breeding range	Africa	Europe	Asia	Oceania	Neotrop	NAmer	Estimate	Source	Trend	Source	I% level	Notes
Eurasian Woodcock <i>Scolopax rusticola</i>	Europe (Bre)	N, E, C and parts of W Europe to Turkey & Caucasus	W & S Europe, N Africa	X	X					10,000,000-25,000,000	T8 B29	STA	F3 S43	20.000	For populations over 2 million birds, Ramsar Convention criterion 5 (20,000 or more waterbirds) applies.
Ryukyu Woodcock, Amami Woodcock <i>Scolopax mira</i>	Ryuku Is	Central Ryukyu Islands				X				2,500-10,000	B30	DEC	B30	60	C11: Estimate deduced from restricted habitat and range of distribution.
Javan Woodcock <i>Scolopax saturata</i>	Sumatra & Java	Mountains of N & SC Sumatra & W Java				X									Listed under the English names Dusky Woodcock and Rufous Woodcock in WPE3.
New Guinea Woodcock <i>Scolopax rosenbergii</i>	New Guinea	Mountains of New Guinea					X								Treated as a subspecies of <i>S. saturata</i> in WPE3.
Sulawesi Woodcock <i>Scolopax celebensis</i>		NE & C Sulawesi				X									
Bukidnon Woodcock <i>Scolopax bukidnonensis</i>	Philippines	Philippines (Central & N Luzon + parts of Mindanao)				X									Discovered in 1993 (K17).
Moluccan Woodcock <i>Scolopax rochusenii</i>	N Moluccas	N Moluccas (Obi & Bacan Is)				X				2,500-10,000	B30	DEC	B30	60	
American Woodcock <i>Scolopax minor</i>	Atlantic North America (bre)	SE Canada, NE & Atlantic USA	S Atlantic States SE USA						X			DEC	K15		Total, both populations, 4,000,000 (M42).

B29 BirdLife International (2004). Birds in Europe, population estimates, trends and conservation status. Cambridge, UK: BirdLife; F3 Ferrand, Y. & Gossmann, F. 2001. Elements for a Woodcock (*Scolopax rusticola*) management plan. Game and Wildlife Science 18(1):115-139; T8 Thorup, O. (comp) 2006. Breeding Waders in Europe 2000. International Wader Studies 14. International Wader Study Group, UK.

S43 Stroud, D.A., Davidson, N.C., West, R., Scott, D.A., Haanstra, L., Thorup, O., Ganter, B. & Delany, S. (compilers) on behalf of the International Wader Study Group 2004. The status of migratory wader populations in Africa and Western Eurasia in the 1990s. International Wader Studies 15: 259pp. B30 BirdLife International (2005) Threatened birds of the world 2005. Species factsheets available at [www.birdlife.org](http://www.birdlife.org)

I giovani (Euring code 4, 6) compiono una muta post-giovanile a circa due mesi dalla nascita. Questa muta dura un mese e interessa tutte le penne ad eccezione delle primarie, secondarie, terziarie, le grandi copritrici delle primarie e le copritrici del sottoala (Clausager 1973; Ferrand & Gossman 2009). La muta è sospesa per la migrazione post-nuziale la cui tempistica varia e dipende dalla località di nascita. Durante l'inverno, i giovani mantengono il loro piumaggio senza mutare altre penne ad eccezione di casi in cui vi è una sostituzione delle penne della coda (Ferrand & Gossman 2009). I sessi non presentano caratteristiche morfologiche caratterizzanti. La stagione riproduttiva inizia a febbraio-marzo per terminare circa 6 mesi più tardi (Cramp & Simmons 1983) nei paesi più settentrionali e orientali dell'areale di distribuzione. In questi ultimi, il periodo di nidificazione non comincia prima di aprile, cioè, quando i terreni sono completamente liberi dal ghiaccio.

In Francia, la media della deposizione del primo uovo è a marzo (Ferrand & Gossman 2009), mentre in Gran Bretagna e Irlanda nidifica da marzo a luglio; in Germania e Danimarca ad aprile; in Svezia e Finlandia a maggio (Perttunen 1980; Wilson 1983). L'habitat di riproduzione è la foresta mista o caducifoglia non troppo frammentata e con una buona copertura vegetale. Durante tutta la stagione riproduttiva, i maschi eseguono delle "parate nuziali" per attirare le femmine. Queste parate sono caratterizzate da movimenti rituali eseguiti con un lento battito d'ali e un movimento laterale della testa con il becco portato a 45 gradi rispetto al corpo. In seguito, viene eseguito un volo particolare compiendo delle spirali sempre più alte per poi tornare a terra con un volo quasi diritto. Spesso i maschi, a seconda della presenza di eventuali competitori vicini, si alzano in volo con un battito veloce percorrendo dei tracciati più o meno regolari. Durante questi voli vengono emesse numerose vocalizzazioni simili ad un "crrr-crrr".

I maschi iniziano a riprodursi dal secondo anno di età, mentre le femmine possono accoppiarsi fin dal primo anno di età. Non esistono legami di coppia e un maschio può accoppiarsi con diverse femmine (poligenia) (Hirons 1981).

Il nido consiste in una leggera depressione di 12-15 cm di diametro riempito da poche foglie ammassate senza struttura, di solito collocato in vicinanza di aree

umide, alla cui disposizione provvede solo la femmina. Queste non mostrano aggressività nei confronti di altre femmine, anzi, è stata notata una notevole tolleranza e la presenza di diversi nidi collocati vicino. La nidiata è costituita in media da 4 uova e la cova inizia con la deposizione dell'ultimo uovo. L'incubazione è di tre settimane e la schiusa è sincrona. I pulcini, precoci e nidifughi, sono allevati dalla sola femmina per almeno 15 giorni.

La cattura delle prede avviene principalmente con il sistema del "probing", ossia inserendo e estraendo velocemente nel terreno il becco come una "sonda". La presenza nel becco di numerose cellule sensoriali raggruppate nei corpuscoli di Herbst, organi tattili che recepiscono i cambi di pressione e le più leggere vibrazioni del suolo, permette alla beccaccia di individuare le prede e catturarle.

La dieta consiste per la maggior parte di invertebrati dove la preda principale è rappresentata da lombrichi (Lumbricidae). Tra le prede troviamo insetti, soprattutto, allo stadio larvale tra cui Carabidae, Scarabaeidae, Geotrupidae, Histeridae, Silphidae, Staphylinidae, Elateridae, Tenebrionidae, Curculionidae, Cicindelidae, Dystiscidae, Hydrophilidae, Heteroceridae, Dryopidae, Bibionidae, Tabanidae, Tipulidae, Asilidae, Therevidae, Limoniidae, Ortotteri e Dermapteri, ma anche Miriapodi (millepiedi), Aracnidi (ragni) e Polmonata (lumache). Nella dieta è presente inoltre una parte vegetale costituita da semi di *Ranunculus*, *Atriplex*, *Polygonum*, *Rumex*, *Alania*, *Lathyrus*, *Euphorbia*, *Carex*, *Eriophorum*, *Juncus*, e *Sparganium*; e frutti di *Vaccinium*, *Sambucus*, *Sorbus*, e *Rubus* (Cramp & Simmons 1983).

La specie è tipicamente solitaria e la meno sociale tra i Caradridi, mostrando un comportamento "gregale" in situazioni particolari ad esempio durante lo svernamento quando trovano terreni ricchi di cibo. Non è mai stato osservato un comportamento strettamente territoriale e le uniche interazioni aggressive avvengono durante l'attività di display nella stagione riproduttiva, dove i maschi mostrano una forte attività vocale di risposta ad altri maschi, seguita da voli difensivi al di sopra dell'area utilizzata per le parate. A differenza di altri limicoli, la specie è legata ad ambienti boscosi piuttosto che palustri. La migrazione è individuale anche

se sono state notate beccacce spostarsi in gruppi di 5 -6 individui (Snow & Perrins 1998). La modalità con cui avvengono questi spostamenti, principalmente notturni, è “a salti” (leap-frog migration) intervallando il volo con brevi soste in aree adatte alla sosta e al foraggiamento (Alerstam & Hendenstrom 1998).

La fedeltà ai siti di svernamento è stata confermata da diverse ricerche e solo le avversità climatiche improvvise spingono gli individui alla ricerca di nuove zone (Hoodless & Coulson 1994; Hoodless 2002). Il ritmo dell'attività della specie cambia durante lo svernamento. A causa della durata della notte più lunga del giorno, la specie diviene “notturna”. Di giorno rimane nei boschi riducendo la propria attività, mentre di notte subito dopo il tramonto, si sposta nelle aree aperte dove si alimenta. In recenti studi effettuati con l'ausilio della radiotelemetria terrestre, è stato osservato che non tutte le beccacce mostrano questo comportamento ma il ritorno nelle aree aperte è caratteristico di una parte della popolazione con individui che non si spostano nei prati durante le ore notturne ma rimangono nel bosco (Duriez *et al.* 2005; Aradis *et al.* 2006)

Durante lo svernamento, la beccaccia è molto sensibile ai cambi climatici e dei fronti gelidi possono causare delle massicce perdite, soprattutto, tra i giovani (Robin *et al.* 1999). La migrazione prenuziale dipende da svariati fattori tra cui eventi meteo climatici e la zona di origine delle popolazioni. In Francia e in Inghilterra, i primi spostamenti di ritorno verso i quartieri di riproduzione sono tra febbraio e marzo (Hoodless 2002; Ferrand & Gossman 2011).

In Norvegia i primi fronti migratori si osservano durante la prima settimana di marzo; in Danimarca durante l'ultima settimana di marzo, mentre in Svezia e Finlandia a fine marzo e inizio aprile; in Russia, soprattutto la Russia Europea, il mese di aprile è indicato come il mese in cui sono registrate le presenze massime; nelle parti più orientali della Russia i mesi di arrivo e inizio delle parate nuziali sono indicate a maggio (Ferrand & Gossmann 1995, 2011; Fokin *et al.* 2004; Saari 2006).

## LA BECCACCIA IN ITALIA

Le informazioni raccolte per questa specie, se si fa riferimento alla letteratura scientifica, sono scarse (Sorace *et al.* 1999; Spanò 1997, 2001, 2014; Aradis *et al.* 2006). La specie è considerata svernante e nidificante parziale (Brichetti & Massa 1989). La penisola italiana è posta ai limiti meridionali dell'areale di nidificazione. Di conseguenza il numero di coppie segnalate in periodo riproduttivo sono sempre di meno se ci si sposta verso la parte meridionale della penisola (Meschini & Frugis 1993; Spanò 2001). Le zone dove sono stati segnalati individui nidificanti sono collocate nelle regioni più settentrionali, quasi esclusivamente nel settore Alpino. Il numero stimato di coppie non supera il centinaio ripartite nelle Alpi e negli Appennini, a quote comprese tra 500-1100 m s.l.m (Brichetti & Fracasso 2004; Spina & Volponi 2008). Tuttavia, non si hanno stime recenti e il numero di coppie segnalate in periodo riproduttivo è sempre più esiguo quasi nullo verso la parte meridionale della penisola. I dati storici indicavano una popolazione, del nord e centro Italia, stimata di 150 coppie con piccoli nuclei riproduttivi in Toscana che si aggiravano attorno alle 42 coppie nidificanti (Rotondi 1962). Spanò (1993) riporta che, per le segnalazioni note, le aree maggiormente idonee alla presenza di individui riproduttivi sono distribuite lungo tutto l'arco alpino con limiti di distribuzione che comprendevano anche una porzione dell'Appennino settentrionale e con segnalazioni fino alle province di Modena e Bologna e rari casi nella pianura padana. Sempre Spanò (1993) riporta per la Calabria due segnalazioni di nidificazione accertata nel 1951 per la provincia di Cosenza e nel 1974 in provincia di Catanzaro. Castellani (1997) riporta un una segnalazione di nidificazione più recente ad Ascoli Piceno del 1997 con una nidata di 4 uova. Analizzando le informazioni contenute nella piattaforma Ornithò che racchiude i dati di osservazione di birdwatching dal 1950 al 2014 i dati interessanti per la specie nei mesi da giugno a settembre sono molto sporadiche relative soltanto ad avvistamenti di sicura nidificazione in Alto Adige in provincia di Bolzano e segnalazioni in Trentino, Toscana ed Emilia Romagna.

La penisola italiana si caratterizza per il ruolo importante che ha nello svenamento e

nella migrazione autunnale della specie con contingenti numerosi che percorrono o sostano nelle varie regioni. I dati storici indicano un fronte di migrazione ampio con individui provenienti da aree di nidificazione diverse che svernano in differenti settori della nostra penisola (Garavini 1978). Spanò (2001) avanza una ipotesi sulle rotte seguite dalle beccacce che sorvolano la penisola, in parte basandosi sui pochi dati che erano a disposizione in merito alla questione e in parte citando Garavini (1978 in Spanò 2001). Secondo questa ipotesi, le beccacce arriverebbero in Italia su un fronte ampio seguendo poi una direzione di passo sud-ovest. Gli individui giunti in Italia settentrionale continuerebbero il loro viaggio lungo la penisola, ma molte di esse passerebbero in Francia e Spagna, forse fino al nord Africa; altre raggiungerebbero la Corsica e la Sardegna attraverso l'arcipelago toscano. Infine alcune sorvolerebbero bracci di mare più ampi, e, dopo aver toccato le isole che si trovano tra il Golfo di Napoli e la Sicilia Nord-Occidentale, si dirigerebbero verso il nord d'Africa. Da recenti ricerche la popolazione del centro Italia potrebbe avere un asse di migrazione che passa per i Balcani e si spinge fino al nord della Russia (Aradis et al. 2001). La presenza della beccaccia in Italia è molto rilevante nel corso delle fasi di migrazione e di svernamento, quando si stimano 50.000-100.000 individui ampiamente distribuiti lungo la penisola. Le aree di origine degli individui di beccaccia svernanti in Italia non sono ancora ben definite. Burlando et al. (1997) hanno ipotizzato che la variabilità genetica presente in individui provenienti dalla Scozia, Svezia, Turchia e Italia possa derivare da ceppi genetici con scarsi scambi genetici e quindi con aree di origine diverse. Uno studio simile effettuato solo con individui prelevati in Toscana, durante l'inverno, ha ipotizzato che gli esemplari analizzati provenissero da una unica popolazione (Memoli & Paffetti 2007).

In un recente lavoro di sequenziamento del DNA mitocondriale (gene mitocondriale citocromo b; Trucchi *et al.* 2011) e degli isotopi presenti nelle penne, è stato evidenziato che le popolazioni di beccacce che svernano in Italia appartengono a due aplogruppi tra loro distanti e ben differenziati. I due aplotipi non hanno mostrato un chiaro pattern filogeografico, confermando che questa specie nelle diverse aree di svernamento italiane non mantiene la struttura delle popolazioni originarie ma,

spesso, individui provenienti da una diversa aree di origine frequentano le stesse rimesse invernali. I campioni dalla Sardegna e dalla Sicilia, tuttavia, si ripartiscono tutti in un aplogruppo unico (Figura 2; Trucchi *et al.* 2011). Le distanze genetiche trovate negli individui svernanti non è certo che possano essere attribuite unicamente alla provenienza da diverse aree di origine, ma questa distanza genica potrebbe anche essere il prodotto di popolazioni inizialmente isolate che in epoche recenti sono venute in contatto nei quartieri di riproduzione. Ulteriori indagini a livello filogeografico e di sequenziamento del DNA con confronti effettuati tra individui riproduttori e svernanti potrebbero chiarire queste informazioni.

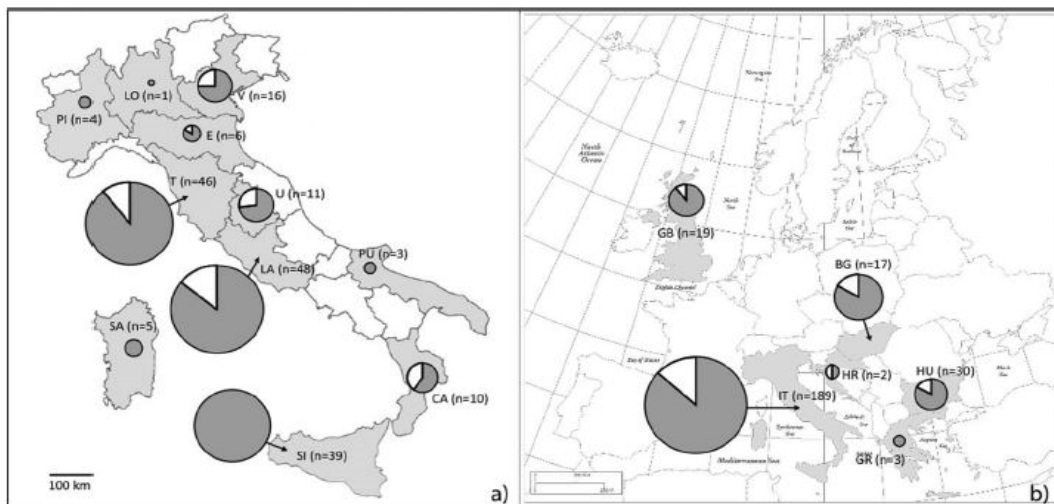


Figura 2. Aree geografiche e campioni assegnati ad un determinato aplotipo per mezzo del Cyt-b gene. Le dimensioni del diametro sono in relazione al campione analizzato (da Trucchi *et al.* 2011).

## STATUS E MINACCE

Lo status della beccaccia in Europa non è chiaramente definito per le difficoltà nell'effettuare censimenti a causa della elusività della specie e per la vastità delle aree interessate. La specie è protetta e tutelata dalle seguenti leggi internazionali:

Direttiva 147/CEE: allegato II/1 e III/2;



Convenzione di Berna: Allegato III per la Conservazione della vita selvatica e dei suoi biotopi in Europa. Convenzione di Bonn: Allegato II; L.157/92: Legge sulla tutela della fauna selvatica e sulla disciplina della caccia.

In Italia, nella “Nuova Lista Rossa degli uccelli nidificanti in Italia” (Peronace et al. 2011), la beccaccia è considerata “DD” ossia una specie per cui non vi sono sufficienti informazioni per indicare un trend. Nella lista rossa precedente (Calvario et al. 2009) era considerata "come in pericolo".

La popolazione europea (riproduttori e non riproduttori) attualmente viene stimata tra 10 e 26 milioni di individui (Wetland International 2006). Birdlife International (2004) stima la popolazione europea di riproduttori, tra 460.000 e 1.500.000 di coppie, mentre includendo la Russia e gli stati dell'ex URSS e adiacenti, tra 1.800.000 – 6.600.000 coppie.

La beccaccia è considerata SPEC 3. Con tale sigla, acronimo del termine “Species of European Conservation Concern” si intende una specie il cui stato di conservazione non è favorevole, ma la cui distribuzione non è concentrata in Europa (Unfavourable conservation status in Europe, not concentrated in Europe; e tra quelle a probabile rischio di calo demografico causato dalla perdita di habitat idonei (Fadat 1986, 1997; Gossmann et al. 1986).

La specie è indicata in diminuzione in alcune aree europee, ma la situazione è abbastanza contrastante. Trend negativi sono noti per Russia, Croazia, Lussemburgo, Gran Bretagna, Svizzera, mentre in altri appare in aumento Svezia, Estonia, Austria, Finlandia (Birdlife International 2004; Saari 2006). Per la Russia, tuttavia, sono state rilevate fluttuazioni nel numero dei riproduttori piuttosto che decrementi con tendenze a trend negativi (Fokin et al. 2004).

In passato è stata considerata come “vulnerabile in inverno” a causa della forte pressione venatoria a cui è sottoposta (Tucker & Heath 1994; Heat et al. 2000). Tra il 1930 e il 1970, il numero degli effettivi ha avuto un picco di presenze causato da cambi climatici e da un probabile spostamento delle popolazioni da est a ovest. Nello stesso periodo, la popolazione delle Azzorre e di Madeira ha subito una diminuzione. Dal 1970 in poi, in diversi paesi sono state evidenziati dei trend negativi ad es: la

popolazione della Francia ha subito un calo dovuto essenzialmente alla forte pressione venatoria nei quartieri riproduttivi e di svernamento. Di recente è stata valutata di nuovo come “stabile” (Aebischer & Baines 2008; Ferrand & Gossmann 2008; Wetland International 2006). Il degrado e la modificazione dei principali habitat frequentati dalla specie sono tra i principali fattori limitanti per la sopravvivenza di questo limicolo. La conversione delle praterie in colture ha avuto una accelerazione e una diffusione tale da portare alla perdita di gran parte delle praterie naturali. La frammentazione e i cambiamenti nella gestione delle foreste sono da valutare con molta attenzione tra gli eventuali fattori che influenzano la sopravvivenza e il successo riproduttivo della specie. La trasformazione dei boschi con approcci gestionali non indirizzati al mantenimento della biodiversità e con preferenze per le essenze arboree di veloce crescita, come ad esempio le conifere, provoca un impoverimento dei suoli e la conseguente scomparsa della macrofauna. Questa perdita di biodiversità del sottobosco e del suolo causa l’allontanamento delle beccacce da queste aree dove prima trovavano riparo e fonti alimentari. Ogni anno in Europa vengono abbattuti durante l’attività venatoria circa 3.700.000 individui di cui 1.500.000 solo in Italia nell’attività venatoria. Le uniche misure di conservazione per la specie riguardano le limitazioni alla caccia che sono state effettuate in Europa e nei paesi dell’Ex USSR. In Europa è stata vietata la caccia alla croule in Primavera per ottemperare alla Direttiva 147/CEE (Direttiva Uccelli). In Russia e nei paesi dell’ex URSS la pratica della caccia alla croule è stata limitata permettendola solo in alcune aree e per un periodo di tempo limitato.

## METODOLOGIA GENERALE

La presente ricerca ha lo scopo di apportare nuovi dati della fenologia delle popolazioni di beccaccia che sostano durante i mesi invernali in Italia o che utilizzano la nostra penisola come area di migrazione e di sosta per raggiungere altri paesi.

Fonte principale delle analisi è il database nazionale di inanellamento delle catture e ricatture della specie messo a disposizione dal Centro Nazionale di Inanellamento (ISPRA).

Lo studio degli individui catturati, marcati con anello alfanumerico unico e rilasciati, dopo aver raccolto importanti dati biometrici, permette di ottenere informazioni della fenologia della specie sul territorio italiano nei mesi post-riproduttivi; di studiare i trend delle popolazioni per un lungo arco di tempo (1950-2012) e di analizzare importanti fattori demografici (sex-ratio/age ratio) (Cap. 1); le ricatture di individui permettono di tracciare gli spostamenti, di delineare le probabili rotte di migrazione (*flyways*) e di identificare le area di nidificazione e origine delle popolazioni che svernano in Italia (Cap. 2)

In sinergia con i dati di inanellamento è stata utilizzata la radiotelemetria satellitare per approfondire alcuni aspetti specifici delle tempistiche con cui la specie affronta il ritorno verso i quartieri di riproduzione (Cap. 3).

Tre approfondimenti che si discostano leggermente dal tema centrale di questo lavoro hanno meritato una particolare attenzione visto le scarse informazioni per la specie: l'identificazione di variabili morfologiche per il riconoscimento del sesso in individui catturati durante l' inanellamento (Cap. 4); approfondimento sull'alimentazione in inverno(Cap.5); il problema dell'avvelenamento da piombo o saturnismo nella specie e l'impatto che questo potrebbe avere sia sulla popolazione di beccaccia sia su quella dei consumatori abituali di questo limicolo come fonte di alimentazione (Cap.6); il ruolo ecologico della specie per il trasporto di lieviti alimentari (Cap.7).

## CATTURA E INANELLAMENTO

Per la cattura degli individui è stato utilizzato un metodo ampiamente sperimentato in America per lo studio della Beccaccia americana, *Scolopax minor*, e di altri limicoli (Bub 1991).

Glasgow (1958) riporta che questa tecnica era nota ai cacciatori già nel 15° secolo in Europa, Africa e Asia e che era considerata una tra le tecniche più efficaci sul campo. Il metodo consiste nel percorrere a piedi le aree selezionate, durante le ore notturne, da un operatore, singolo o in coppia, munito di un faro a fascio stretto e di un retino (maglia 2x2cm) fissato ad un manico, alla ricerca degli individui. Una volta individuato un esemplare, si procede all'abbagliamento dell'individuo e alla sua cattura.

Le dimensioni del retino e del manico cambiano in funzione del numero di operatori presenti sul campo: se l'operatore è singolo il retino utilizzato ha un diametro di 100cm e il manico è lungo 3.50m, mentre se è in coppia il diametro è di 160cm e il manico lungo 7.50m. Tutte le operazioni di cattura sono condotte, nel più assoluto silenzio, da personale esperto al fine di limitare lo stress dell'animale al minimo. Le uscite si sono svolte settimanalmente per un tempo variabile da 1 a 5 ore durante tutto il periodo ottobre – marzo. Una volta catturato, l'individuo è immediatamente sistemato in un sacchetto di cotone. Successivamente, gli individui sono marcati con un anello metallico dell'Istituto Superiore per la Protezione e Ricerca Ambientale, serie H, con diametro di 6 mm.

I seguenti dati biometrici sono stati raccolti: età (analisi dello stato di muta dell'ala codificata da schemi EURING; Clausager 1973), corda massima; nona primaria (9P); I primaria o prima primaria ridotta; becco dall'attaccatura piume alla punta\*; testa + becco\*; nalospi dal bordo prossimale della narice alla punta\*; tarso\*; tarso + dito; coda e peso (\*=misure effettuate con il calibro a 0.1 mm). Gli individui sono stati pesati con una bilancia elettronica (Sartorius electronic balance precision:  $\pm 0.1$  g).

## MARCAGGIO CON RADIO SATELLITARI

A supporto dell'attività di inanellamento, nel corso degli ultimi decenni è stata ampiamente sperimentata e perfezionata la radiotelemetria terrestre e satellitare, soprattutto per il monitoraggio costante di specie difficili da ricattare. Queste tecniche permettono di monitorare gli spostamenti degli animali a distanza e di localizzarli, senza arrecare disturbo ed interferire in alcun modo con le loro attività (Kenward 2001; Fuller et al. 2005).

La beccaccia, a causa della sua natura schiva e elusiva, è di sicuro tra le specie per le quali la telemetria terrestre fornisce informazioni della massima rilevanza per la comprensione della sua biologia. Diverse ricerche hanno utilizzato tale metodo per studiare l'ecologia della specie in Europa e rispondere a diversi quesiti (Wilson 1983; Hirons & Bickford-Smith 1983; Hoodless & Coulson 1994; Duriez 2003; Aradis et al. 2006). Tuttavia, i limiti dovuti alla durata della batteria delle radio terrestri non permettono di continuare a tracciare gli spostamenti durante la migrazione di ritorno verso i quartieri di nidificazione. Recenti sviluppi nella costruzione delle radio satellitari hanno prodotto radio del peso di circa 10g che possono essere utilizzate anche sulla beccaccia al limite del peso consentito per questi animali (<5% del peso corporeo; MacAuley et al. 1993).

In Europa la tecnica è stata utilizzata dagli inglesi e dagli spagnoli (Guzman 2013; Powell 2011). Le beccacce sono state catturate con la tecnica descritta nel paragrafo precedente, misurate biometricamente, pesate e inanellate. A ciascun individuo è stato prelevato un campione ematico e una penna per il successivo sessaggio.

Le radio utilizzate (Microwave MODELLO PTT-100 9.5 gram Solar) sono state programmate in modo da ottimizzare la ricarica viste le dimensioni dei pannelli con un tempo di emissione di 10 ore e 48 ore di ricarica. Il segnale è registrato e trasmesso dal satellite ogni due giorni.

Le radio sono state montate con uno zainetto speciale per non causare problemi agli

individui date le peculiarità del becco che potrebbe incastrarsi con i lacci nelle normali attività di pulizia e sistemazione del piumaggio (Figura 3).

Lo zainetto è stato fatto passare prima nella testa e poi nel becco e la radio incollata al centro delle scapole sulle piume.



Figura 3. Beccaccia con radio satellitare Microwave MODELLO PTT-100 9.5 e radio satellitare (foto sito Microwave Telemetry , INC.)

## ANALISI GENETICA PER IL RICONOSCIMENTO DEL SESSO

La *sex ratio* in questa specie è valutata esclusivamente sulla popolazione sottoposta a prelievo venatorio e l'appartenenza ad una determinata classe di sesso viene fatta tramite la dissezione degli individui abbattuti.

Pochi sono gli studi che hanno considerato la raccolta di sangue o di penne per individuare geneticamente il sesso nella specie e il protocollo attuati in questi lavori prevede un lungo processo. In questo studio, le analisi genetiche per la determinazione del sesso sono state fatte utilizzando la PCR diretta, mirata a sequenziare il gene CHD-linked (chromodomain helicase DNA binding protein gene) su ognuno dei due cromosomi sessuali W- and Z- (Ellegren 1996; Griffiths et al. 1996, Fridolfsson & Ellegren 1998, Vučićević 2012). Il sesso negli uccelli viene identificato per la differenza tra l'eterogamia ZW delle femmine e l'omogamia dei maschi (Griffiths et al. 1998; Griffiths 2000; Ellegren 2000; Dubiec & Zagalska-Neubauer 2006). Il DNA è stato estratto da penne e da campioni ematici.

L'estrazione del DNA dalle piume necessita di uno step iniziale di lisi della cheratina. La PCR è stata eseguita in un volume finale di 20 µl, contenente 20 ng di DNA, 0.2 mM dNTP, 0.5 µM di ciascun Primer (CHD2550F and CHD2718R), 0.2 µl of Phire Hot-Start II DNA Polymerase (Thermo Scientific) and 1x di soluzione buffer. Le condizioni di reazione sono state: iniziale denaturazione a 98°C per 20 sec seguito da 40 cicli composti da denaturazione a 98°C per 10 s, raffreddamento a 50°C per 10 s, riscaldamento di nuovo a 72°C per 15 s, and un riscaldamento finale a 72°C per 2 min. I prodotti della PCR sono stati separati con corsa elettroforetica con un voltaggio di 5V/cm, su gel di Agarosio colorato con GelRed (Biotium). I gel sono stati analizzati sotto luce ultravioletta.

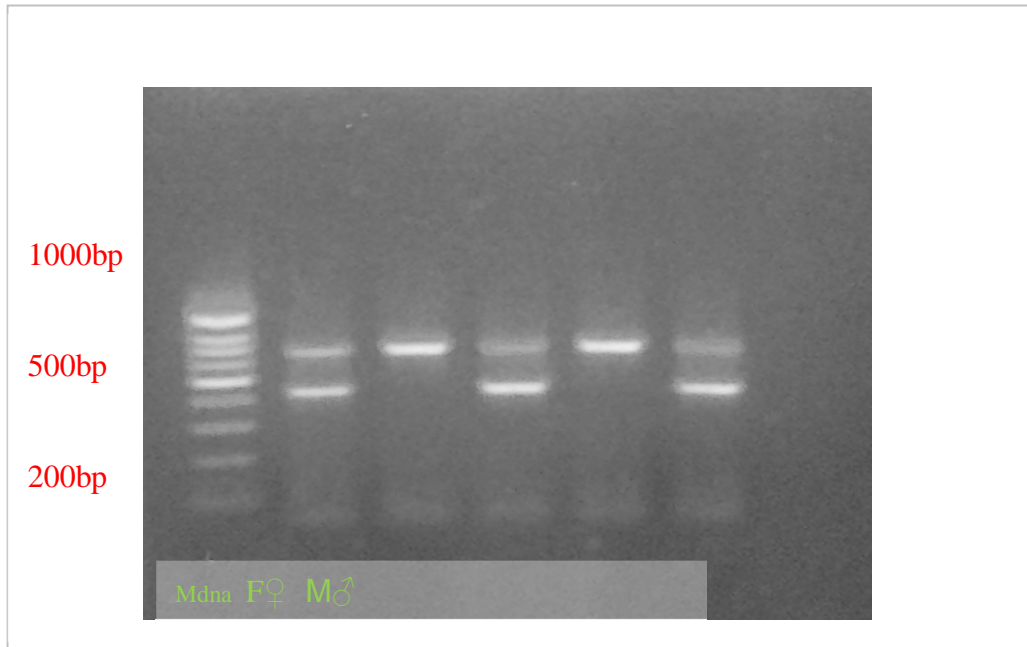


Figura 4. Elettroforesi su gel di agarosio dei frammenti di CHD1 amplificati tramite PCR con i primers (CHD2550F e CHD2718R). (M, DNA marker O'GeneRuler 100-bp plus, Fermentas, Burlington, USA).

### Lieviti

La presenza di colture di lieviti e muffe è stata studiata seguendo la procedura descritta da Cafarchia et al. (2006). Ad ogni individuo (n=450) sono stati effettuati dei tamponi faringei e cloacali successivamente strisciati su due diversi substrati: Wallerstein Laboratory (WL) nutrient agar (Oxoid, Milano, Italia) addizionato con cloramfenicolo (0,5 g/l) e bifenile (1 g/l); malt extract (ME) agar (Oxoid) addizionato con cloramfenicolo (0,5 g/l). Le piastre ottenute sono state incubate per 2-4 giorni a  $28 \pm 2$  °C. Tutte le analisi sono state eseguite in doppio e le colture realizzate su ME agar.



Per le analisi filogenetiche si sono utilizzate le regioni genomiche ITS1-5.8S-ITS2 e il dominio variabile D1/D2 del gene 26S rRNA. Gli allineamenti multipli delle sequenze genotipiche sono stati effettuati con l'utilizzo del programma ClustalW (BioEdit V7.0.9) (Thompson et al. 1997).

Gli alberi filogenetici sono stati ottenuti con tre diversi metodi: (i) inferenza Bayesiana, con MrBayes software 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003); (ii) "maximum-likelihood statistical method" di massima verosimiglianza (Saitou & Nei 1987) con 1000 iterazioni bootstrap e (iii) metodo "neighbor-joining" basato su "1000 bootstrap replications" (Felsenstein 1985). Gli ultimi due metodi sono stati impiegati utilizzando il software MEGA v5.10 (Tamura et al. 2011).

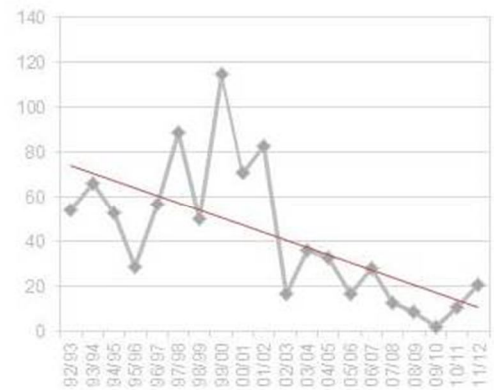
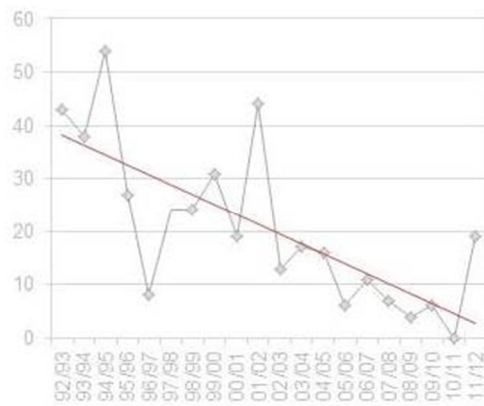
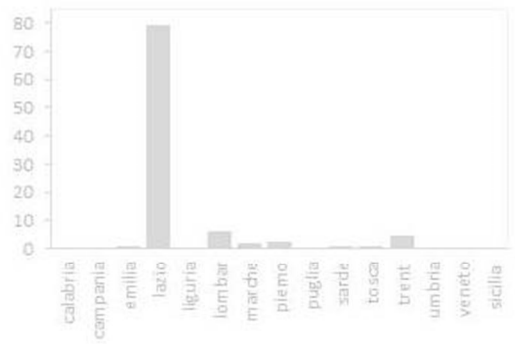
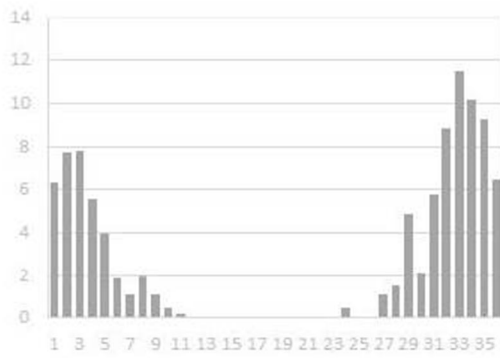
### **Alimentazione**

E' stato analizzato un campione di 127 beccacce proveniente da individui abbattuti durante l'attività venatoria in Sicilia e da individui provenienti dalla Crimea durante i mesi di novembre e dicembre.

Gli individui sono stati misurati, pesati e divisi in classi di età.

Ad ogni esemplare è stato prelevato lo stomaco e conservato a temperatura ambiente in Eppendorf contenente alcool al 70%. Il contenuto stomacale è stato analizzato attraverso analisi microscopica con l'ausilio di microscopio WILD mod. M5.

## CAPITOLO 1 FENOLOGIA DELLO SVERNAMENTO



## INTRODUZIONE

Gli spostamenti post-nuziali della beccaccia avvengono con tempistiche diverse a seconda della latitudine in cui sono situate le aree riproduttive. Come molte altre specie, le popolazioni di beccaccia che si trovano a latitudini più settentrionali tendono a lasciare le aree di riproduzione in autunno in ordine opposto a quello di arrivo in primavera: ossia gli ultimi ad arrivare saranno anche i primi a iniziare la migrazione.

Questa modalità temporale degli spostamenti è legata alla mancanza di risorse trofiche legata dell'abbassamento delle temperature e in gran parte dalle prime ondate di freddo (del Hoyo et al. 1996; Newton 2008). Le popolazioni più settentrionali quindi inizieranno la migrazione autunnale anticipando le popolazioni dell'Europa centrale.

In Russia, la migrazione post-nuziale inizia a fine settembre e inizio ottobre (Svazas 1990, Saari 2006, Fokin et al. 2009, Ferrand & Gossman 1995, 2009), anche se alcuni autori anticipano questo periodo a fine agosto (Zinov'yev 1980), concentrandosi nei mesi di ottobre e la prima settimana di novembre (Maties & Munteanu 1980, Meran 2000).

In Finlandia, Svezia e Scandinavia la migrazione inizia la prima settimana di Ottobre, mentre in Danimarca, Scozia, Inghilterra e in Irlanda i primi arrivi sono registrati dalle seconda settimana di ottobre a inizio novembre (Hoodless 2002; Ferrand & Gossman 2011)

Il picco di presenze in altri paesi centro europei si colloca tra metà ottobre e metà novembre. In Marocco e in Tunisia, è spostato di circa un mese con le presenze massime a fine novembre inizio dicembre (Wadsack 1981, 1991).

In questo capitolo è stata approfondita la fenologia della migrazione post-riproduttiva e dello svernamento in Italia.

## METODI

L'analisi è basata sui dati di inanellamento presenti nel database nazionale CNI-ISPRA e contiene i record della specie dal 1950 al 2012.

Gli individui sono stati divisi in classi di età (EURING code) e per un sotto campione del centro Italia in classi di sesso per approfondire eventuali differenze nella fenologia dello svernamento tra maschi e femmine. Per analizzare le presenze in Italia della specie e valutare eventuali trend nel corso degli anni sono stati utilizzati i dati provenienti dall'unica stazione di cattura per la specie presso la Tenuta di Castelporziano (Roma), dove il monitoraggio negli anni è stato costante.

In questa stazione attiva dal 1993, le catture delle beccacce sono svolte regolarmente con due uscite settimanali da ottobre a marzo. Le analisi dei trend delle presenze per classi di età sono state studiate per gli anni dal 1993 al 2007, periodo in cui il monitoraggio seguiva uno schema costante e le uscite settimanali erano standardizzate. Per le regioni Trentino e Lombardia sono state analizzate le catture dal 1997 al 2011.

Per analizzare se nell'arco temporale che va dal 1993 al 2012 la data media di arrivo degli individui (centro Italia), è cambiata il campione è stato analizzato in due parti.

La prima analisi ha interessato tutto il campione degli individui catturati diviso in classi di età (escluse le auto-ricatture dello stesso anno) per il periodo 1993-2007 con l'esclusione della stagione 1996/1997 in cui a causa di condizioni meteo particolari dovute alla forte pioggia e ai conseguenti allagamenti dei prati pascol, le uscite non sono state regolari.

La seconda analisi riguarda gli anni 2001-2006, in cui si è proceduto al sessaggio degli individui tramite caratterizzazione genetica, e pertanto è stato possibile analizzare il campione per classi di età e sesso. La data di arrivo per ciascuna stagione è stata calcolata come data media di arrivo per il periodo 15 settembre-15 dicembre. Le date sono state trasformate in julian date (giorni giuliani).

Sono stati costruiti 7 modelli in cui le variabili analizzate sono : data media di arrivo, età, sesso e anno di campionamento. Per valutare i diversi modelli e confrontarli si è

utilizzato il criterio d'informazione di Akaike (in inglese Akaike's information criterion, indicato come AIC), che una misura della qualità della stima di un modello statistico tenendo conto sia della bontà di adattamento che della complessità del modello.

I dati di cattura e ricattura sono stati studiati cartograficamente utilizzando ArcMap™10 software.

## RISULTATI

In totale sono stati analizzati 1789 dati di beccacce che provengono da catture e ricatture di individui inanellati in Italia, inanellati e ripresi in Italia e all'estero (ITA-ITA e ITA-EST), e individui inanellati all'estero e ripresi in Italia (EST-ITA) (Tabella 2).

Le circostanze di ricattura in Italia sono dovute in gran parte l'abbattimento durante l'attività venatoria tranne una percentuale (7% n=1789) che è stata ricatturata durante l'attività di inanellamento.

Dall'analisi dei dati storici si evidenzia il numero esiguo di individui catturati in Italia fino al 1992.

Tabella 2. Dati presenti nel database italiano di inanellamento della beccaccia per il periodo 1950-2012.

<b>Totale records</b>	<b>1789</b>
<b>Italia</b> - Individui inanellati in Italia	1482
<b>Italia - Italia</b> individui catturati e ricatturati sul territorio italiano	209
<b>Italia - Estero</b> Catturati in Italia e ricatturati estero	55
<b>Estero - Italia</b> Catturati all'estero e ricatturati in Italia	141

Il 78% (n=1482) delle catture sul territorio italiano è rappresentato da individui presi presso la stazione storica della Tenuta di Castelporziano (Lazio - Italia centrale; Figura 5).

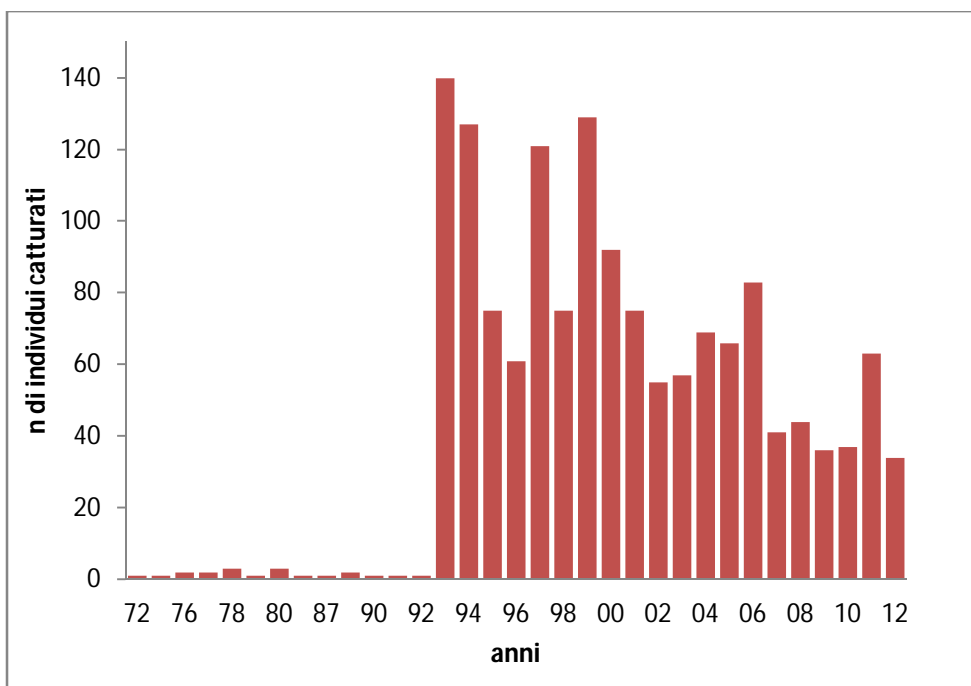


Figura 5. Trend storico dell'inanellamento in Italia della beccaccia (1972-2012; n = 1482).

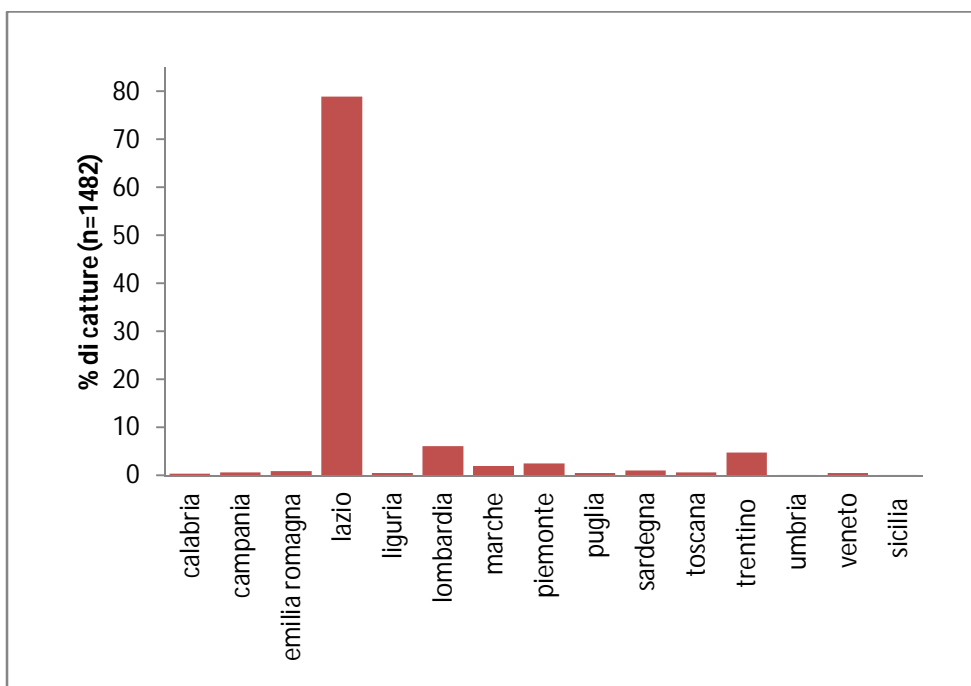


Figura 6. Inanellamenti di beccaccia in Italia per regione dal 1972 al 2012.

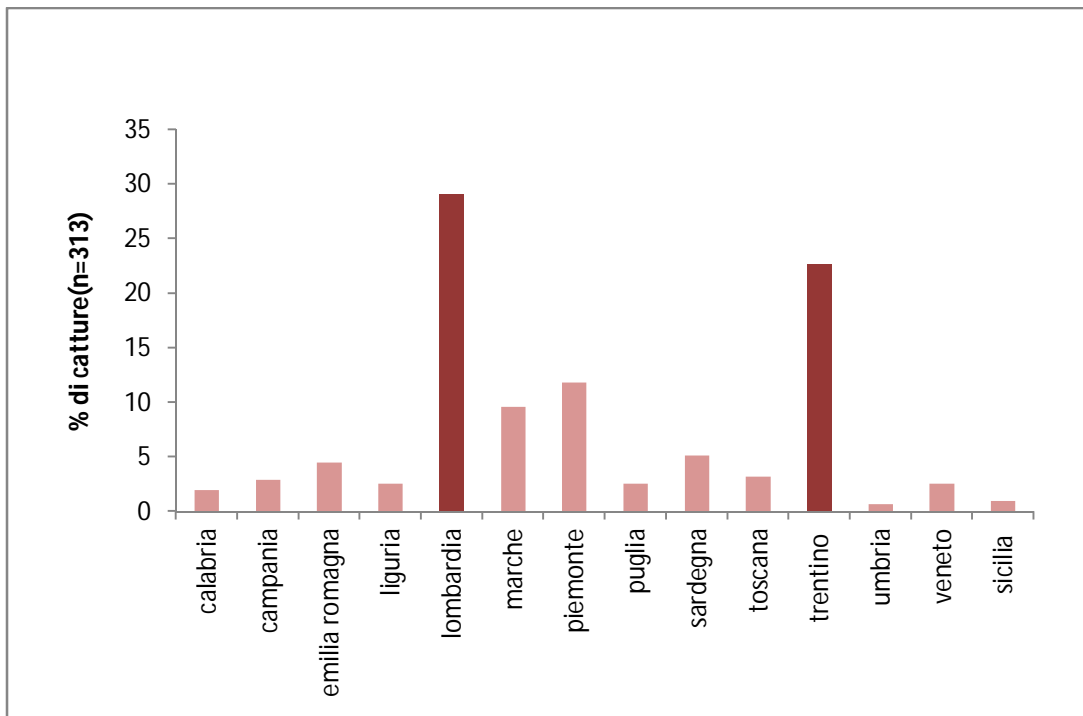


Figura 7. Percentuali di cattura-inanellamento di beccaccia nelle regioni italiane escluso il Lazio.

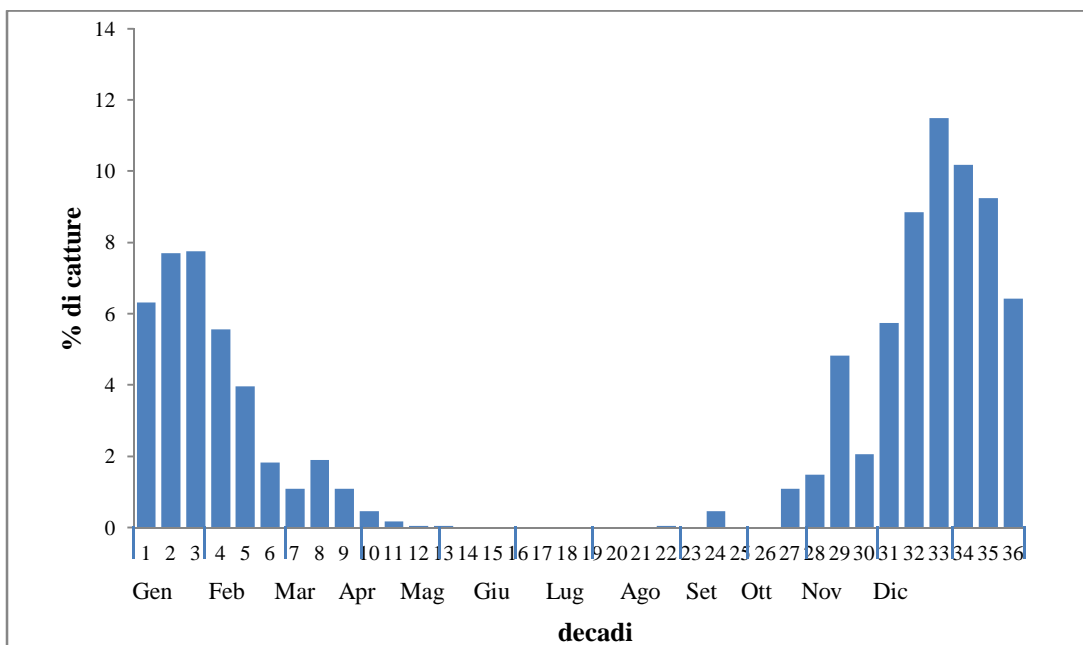


Figura 8. Fenologia delle catture di beccaccia per decadi in Italia (n=1482; periodo 1950-2012).

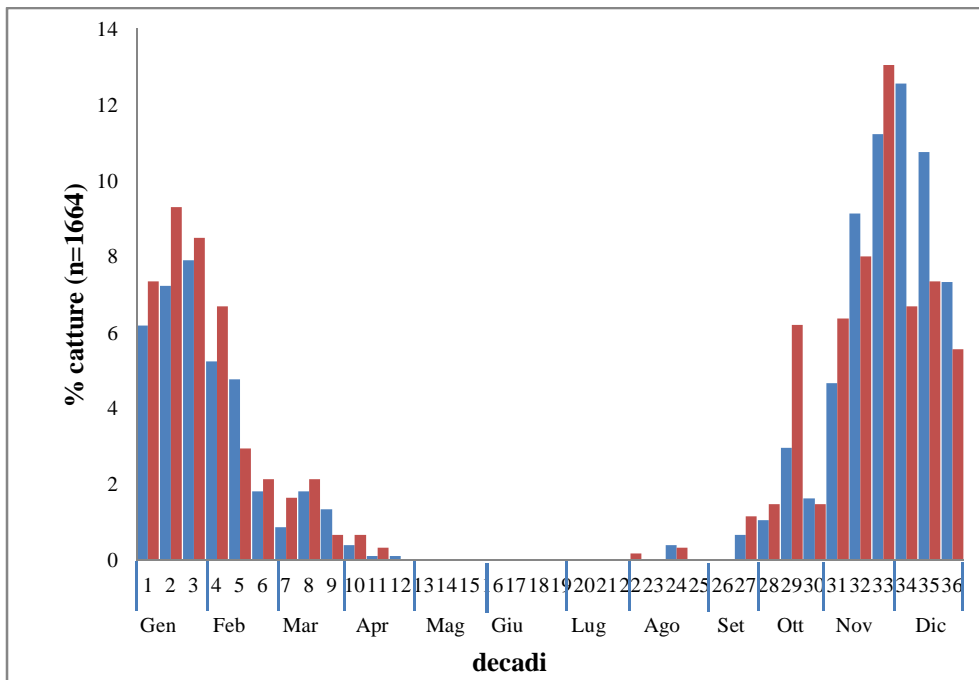


Figura 9. Percentuale di presenze (catture/ricatture) per decade per classe d'età (rosso= adulti; blu=giovani).

Nella stazione storica di Castelporziano (Roma), dal 1993 al 2013 sono state catturate 1350 beccacce, di cui 138 autoricatture. Dal 1993 al 2007, sono state catturate ed inanellate in media 69 beccacce in ogni stagione di cattura (SD = 42, range 11–146), con una media di 47 giovani (SD= 30, n= 852) e 22.5 adulti (SD = 15, n = 405).

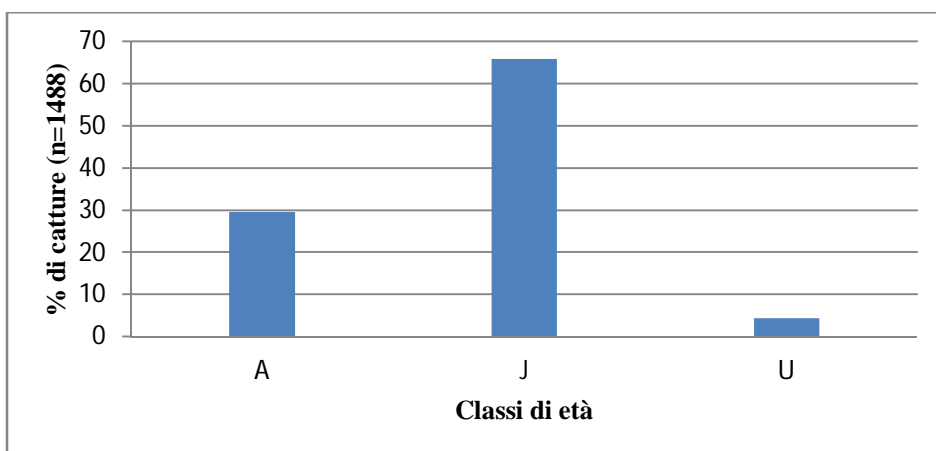


Figura 10. Percentuale di catture diviso in classi di età (A=Adulti; J=Giovani; U=Non identificato)



L'analisi del trend nelle catture totali (Adulti e Giovani) mostra un decremento nel tempo ( $F_{1,13}=5.36$   $p<0.03$ ). Nel modello di regressione applicato sia l'intercetta, sia il coefficiente di regressione  $b$  sono significativi. Tuttavia il multiple R-squared è molto basso, solo del 29%. Questo valore indica che si deve osservare con cautela il dato di diminuzione delle presenze nell'area. Applicando lo stesso modello ai gruppi di adulti e giovani, per gli adulti si evidenzia un trend decrescente significativo, ma con valori del modello fittato che devono essere tenuti in considerazione (multiple R-squared=0.43), mentre per i giovani non si evidenzia alcun trend ( $F_{1,13}=2.12$   $p=0.16$ ). Non è stata rilevata alcuna correlazione tra gli adulti e i giovani per stagione di cattura (R Pearson=0.46  $P<0.07$ ). L'analisi per decade non ha evidenziato alcuna significatività nella presenza tra giovani e adulti sul territorio (Figura 9). La data media di arrivo è in relazione con l'anno più che con l'appartenenza a una determinata classe di età o sesso (Tabella 3). Nel sottocampione sessato, la sex ratio negli anni (2001-2006) è rimasta stabile e non è stata evidenziata nessuna differenza nelle due classi di età (sex ratio giovani X-squared = 1.1128,  $df = 3$ ,  $p\text{-value} = 0.774$ ; sex ratio adulti X-squared = 0.0655,  $df = 3$ ,  $p\text{-value} = 0.9956$ ).

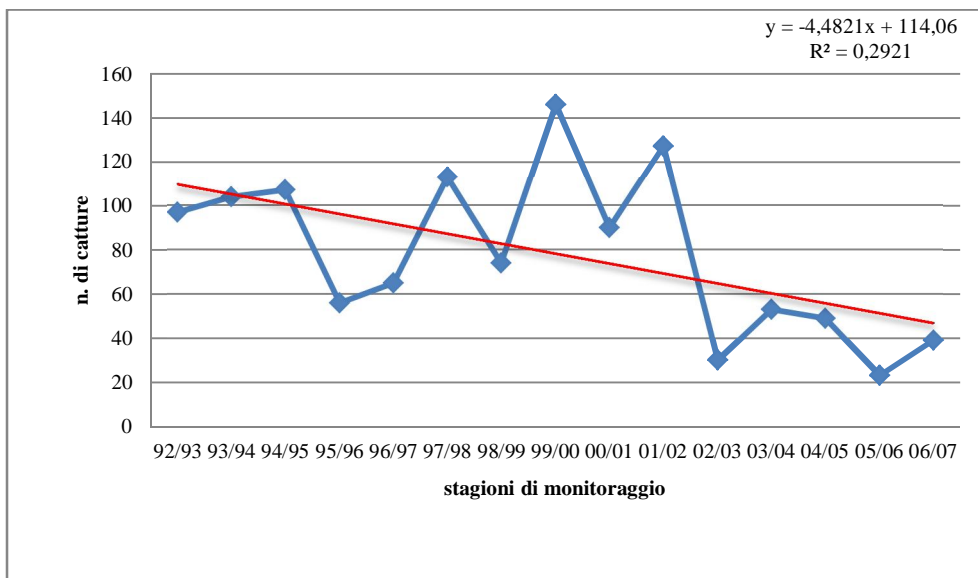


Figura 11. Andamento delle catture (n=1173) periodo 1992/1993 al 2006/2007 (centro Italia).

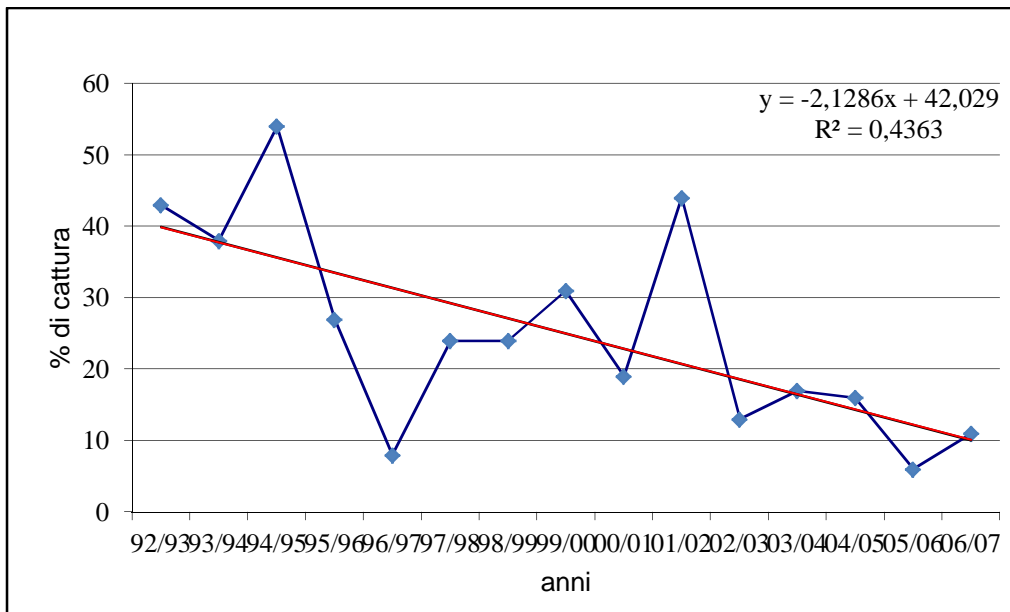


Figura 12 Andamento delle catture degli Adulti (n=375) periodo 1992/1993 al 2006/2007 (centro Italia).

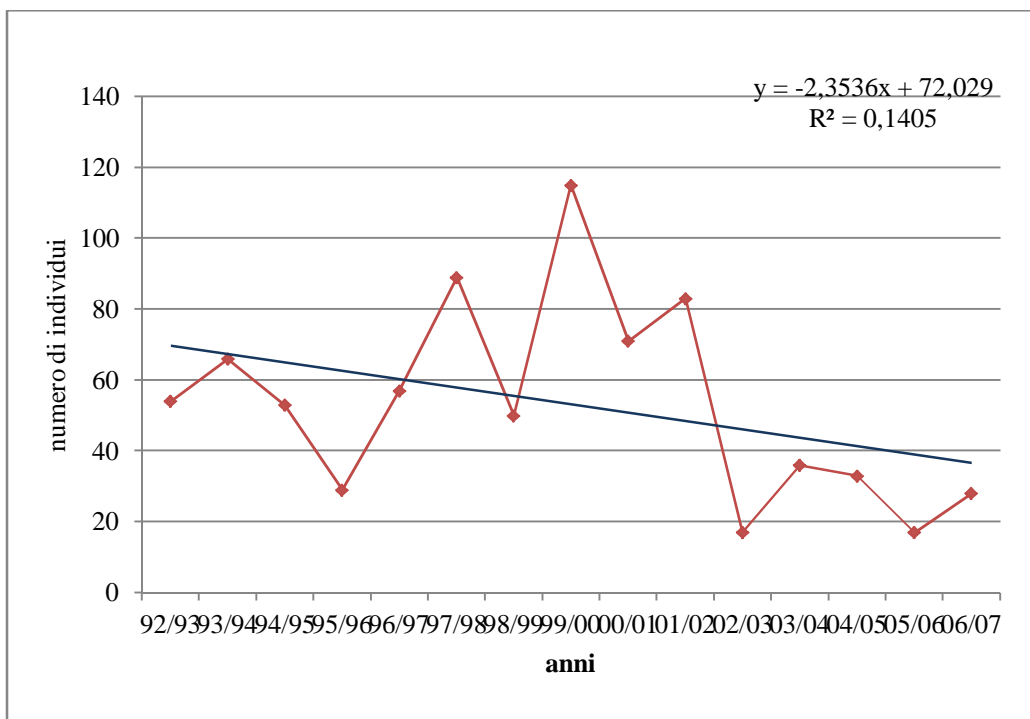


Figura 13. Andamento delle catture dei Giovani (n=798) in Italia periodo 1992/1993 al 2006/2007 (centro Italia).

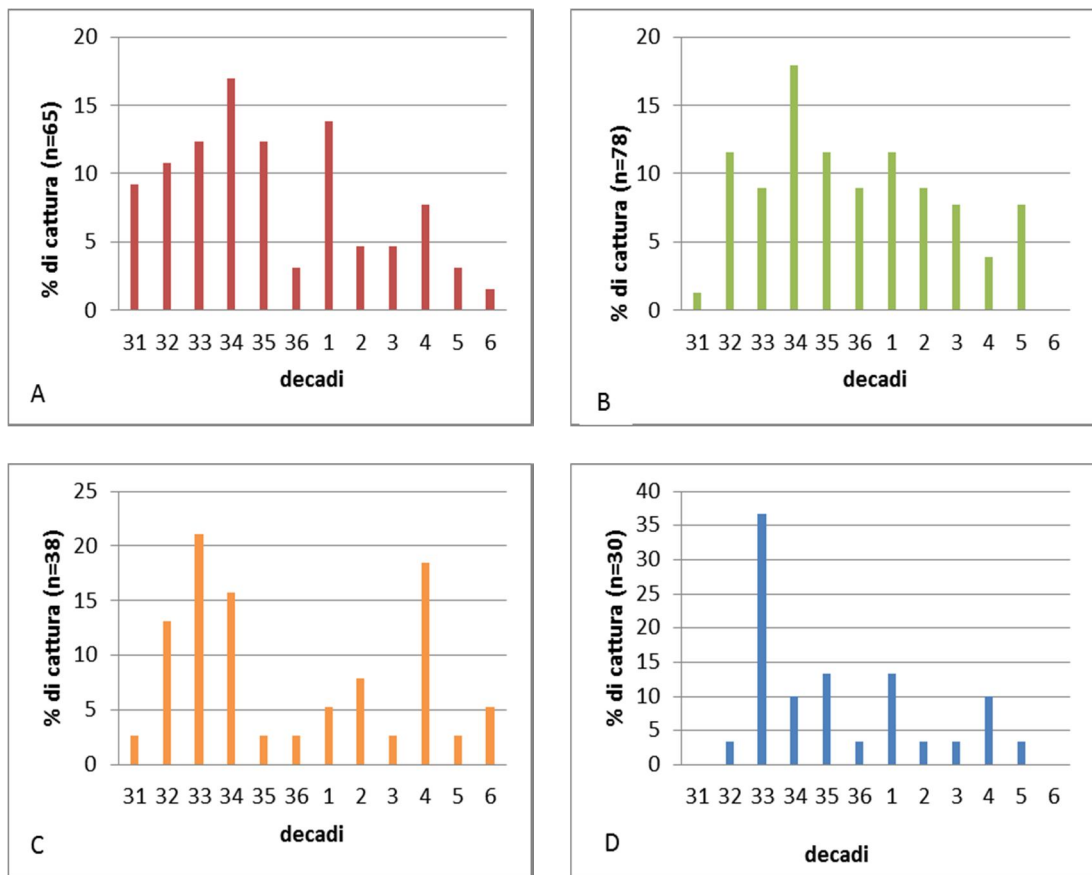


Figura 14. Percentuali di cattura per classi di sesso ed età di individui catturati dal 2001 al 2006 in centro Italia (A=Giovani -Femmina; B=Giovane-Maschio; C=Adulto-Femmina; D=Adulto-Maschio)

Negli adulti il numero di maschi e femmine è rimasto costante nel tempo ( $X\text{-squared} = 0.5089$ ,  $df = 3$ ,  $p\text{-value} = 0.9169$ ) con una sex ratio spostata verso le femmine.

Nei giovani il numero di maschi e femmine è risultato statisticamente diverso nelle stagioni in esame ( $X\text{-squared} = 11.06$ ,  $df = 3$ ,  $p\text{-value} = 0.01138$ ) e la sex ratio è risultata per alcuni anni spostata a favore dei maschi soprattutto nel 2001 e 2002 e nella stagione 2003/2004 ( $X\text{-squared} = 109.13$ ,  $df = 3$ ,  $p\text{-value} < 2.2e-16$ ).

In totale le due classi di sesso negli anni considerati hanno mostrato delle leggere differenze numeriche nelle varie stagioni ( $X\text{-squared} = 8.10$ ,  $df = 3$ ,  $p\text{-value} = 0.04$ ).

In particolare negli anni 2001 e 2002 i maschi sono stati il 59.1% del totale (classi di età accorpate) e nel 2004/2005 il 54.1%.

Tabella 3. Modelli a confronto per lo studio della data di arrivo (julian date) tra classi di età e sesso.

modello	N	K	LOGLIK	AIC	AIC.C	DELTA.AIC.C	WEIGHT.C
M5(JULIAN~Anno)	103	5	-3.744.230	7.588.459	7.594.645	0.0000000	0.301
M3(JULIAN~ETA+Anno)	103	6	-3.736.791	7.593.582	7.602.332	0.7686994	0.205
M6(JULIAN~SEX)	103	3	-3.775.524	7.611.049	7.613.473	18.828.251	0.117
M4(JULIAN~SEX+Anno)	103	6	-3.744.177	7.608.353	7.617.103	22.458.422	0.098
M8(JULIAN~1)	103	2	-3.788.092	7.616.183	7.617.383	22.738.554	0.096
M2(JULIAN~ETA+SEX)	103	4	-3.770.486	7.620.971	7.625.053	30.408.149	0.066
M1(JULIAN~ETA+SEX+Anno)	103	7	-3.736.547	7.613.093	7.624.883	30.237.729	0.066
M7(JULIAN~ETA)	103	3	-3.783.775	7.627.550	7.629.975	35.329.739	0.051

## DISCUSSIONE

La fenologia delle catture di beccaccia su tutto il territorio italiano dipende dall'andamento della presenza della specie nella stazione storica di Castelporziano, in quanto gran parte dei dati fenologici provengono da questo sito storico.

Le catture di beccaccia nelle altre regioni italiane sono eventi occasionali durante le attività di inanellamento con reti mist-nets e per la regione Sicilia da un piccolo progetto pilota che venne effettuato nel biennio 1979-1981 (Massa B. com. pers).

Le informazioni sulla specie per il nord Italia sono aumentate per la presenza nel periodo di passo autunnale di una rete di monitoraggio formata da diverse stazioni di inanellamento, dislocate nei valichi e in punti strategici per la migrazione. Tale rete di raccolta dati è parte integrante del Progetto Alpi e ha l'obiettivo di descrivere la migrazione post riproduttiva attraverso il settore italiano della catena alpina.

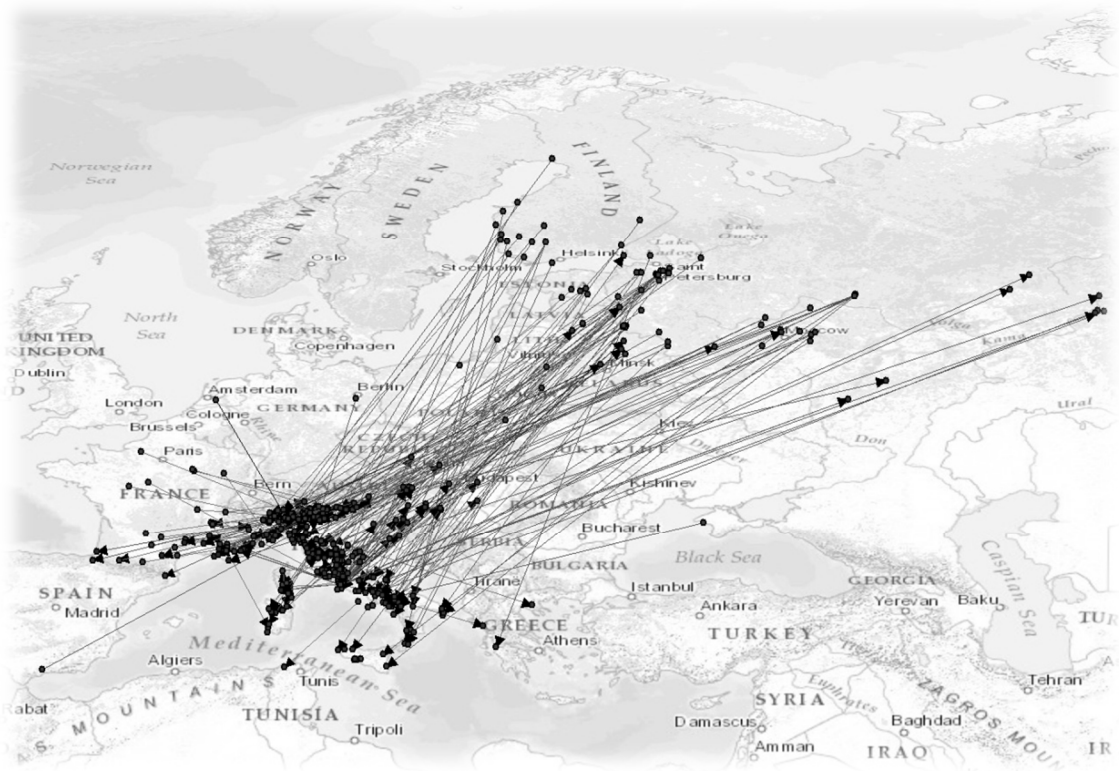
L'area del centro Italia, è interessata da due ondate di presenze: una prima ondata di individui dalla seconda metà di novembre alla prima settimana di dicembre che frequentano l'area nel periodo centrale di svernamento seguita da una diminuzione numerica delle presenze a fine dicembre; la seconda ondata con un leggero picco nella seconda settimana di gennaio dovuto all'arrivo di un altro contingente di individui costituiti da beccacce che compiono degli spostamenti locali attratti dalle temperature miti dell'area costiera o da individui che iniziano a spostarsi verso i quartieri di nidificazione.

Gli individui catturati nelle decadi 22 e 24 (mese di Agosto) in nord Italia indicano molto probabilmente giovani e adulti della popolazione italiana nidificante di cui si hanno poche informazioni e che risulta rara e molto localizzata.

La Figura 7 evidenzia un picco di individui nelle ultime decadi di novembre e inizio dicembre per poi diminuire a fine dicembre e riprendere con numeri più elevati, ma di minore entità a gennaio.

Nella Francia meridionale (Fadat 1995) ha effettuato interessanti rilevamenti: fino alla prima settimana di novembre migrano solo femmine fino a metà dicembre in maggioranza femmine dopo la metà di dicembre a migrare sono in maggioranza i maschi. Devort (1977) afferma che a gennaio si raggiunge una parità di presenze nei sessi. Clausager (1974) in Danimarca nota una lieve tendenza ad anticipare nelle femmine giovani ma non una diversa significatività nel complesso della popolazione. Quest'ultimo dato è simile a quanto trovato per la stazione storica di inanellamento in Italia con una non significatività nelle presenze tra classi di sesso ma una correlazione maggiore con l'anno di campionamento. Per avere un quadro completo in Italia sarebbe necessario aumentare il campione sessato in diverse regioni e soprattutto nelle aree a nord che sono percorse dai primi flussi di migrazione verso le aree di svernamento.

## CAPITOLO 2 ORIGINE DELLA POPOLAZIONE



## INTRODUZIONE

Nei mesi autunnali, l'Europa centro meridionale viene percorsa da milioni di beccacce che hanno nidificato nel nord dell'Europa e nelle regioni più orientali dell'ex Urss.

Le aree raggiunte dalla beccaccia nel periodo post-riproduzione sono ampiamente distribuite in tutta l'Europa centro meridionale e nel nord dell'Africa. In alcuni paesi, come la Francia e l'Inghilterra, la popolazione residente aumenta notevolmente nel periodo invernale con l'arrivo dei contingenti migratori. L'Inghilterra viene raggiunta da fronti migratori autunnali che provengono da popolazioni che nidificano nei paesi baltici e nella parte settentrionale dell'Europa che compiono una migrazione mantenendo un asse settentrionale lungo le coste della Svezia (Hoodless & Coulson 1994).

Ferrand (2009) afferma che per questa specie vale la regola generale che i primi individui che raggiungono i quartieri non riproduttivi sono quelli che nidificano più a nord e da studi in Francia i primi ad arrivare sono individui giovani e femmine (Ferrand 2009).

L'Italia è raggiunta da diverse popolazioni la cui origine è da confermare e approfondire (Aradis et al. 2006; Trucchi et al. 2011). Forse per l'Italia è più opportuno parlare di diverse aree di origini visto che sia da dati di inanellamento che da ipotesi avanzate da analisi filogeografiche gli individui che svernano sul territorio italiano appartengono a diverse popolazioni che originano da aree geografiche anche lontane tra loro. Una parte di queste popolazioni migratrici si stabilisce nelle regioni italiane per tutto il periodo invernale, mentre un'altra parte utilizza la penisola come flyways verso altre aree dell'Europa meridionale.

## **METODI**

I dati di cattura-ricattura per l'Italia sono in totale 219 da cui sono state estratte le catture dirette (n=82). Per le catture dirette si intendono quegli individui inanellati e ripresi nella stessa stagione di svernamento o durante il viaggio di ritorno verso i quartieri di nidificazione nella primavera della stessa stagione.

Le mappe sono state fatte con ArcGIS 10. Le linee uniscono le località di cattura e quelle di ricattura e non indicano una direzionalità di spostamento tranne che nelle ricatture dirette.

## **RISULTATI**

L'analisi della catture sul territorio italiano evidenzia lo spostamento dei fronti migratori che nei primi mesi autunnali (settembre e ottobre) investono le regioni dell'arco alpino. Le catture in questi mesi avvengono in Veneto, Lombardia e Trentino. In queste regioni confluiscono individui che utilizzano queste zone per passare dall'Italia al sud della Francia e dirigersi a nord della Spagna.

Sempre in queste aree sembrano confluire anche gli individui che sverneranno nelle isole maggiori e in centro Italia percorrendo l'appennino.

Dalla mappa di distribuzione delle catture-ricatture si osserva come queste siano caratterizzate da spostamenti brevi rispetto ai siti di cattura tranne in alcuni casi che riguardano individui inanellati in Lombardia e ripresi in Sicilia, Sardegna, Lazio e Calabria.



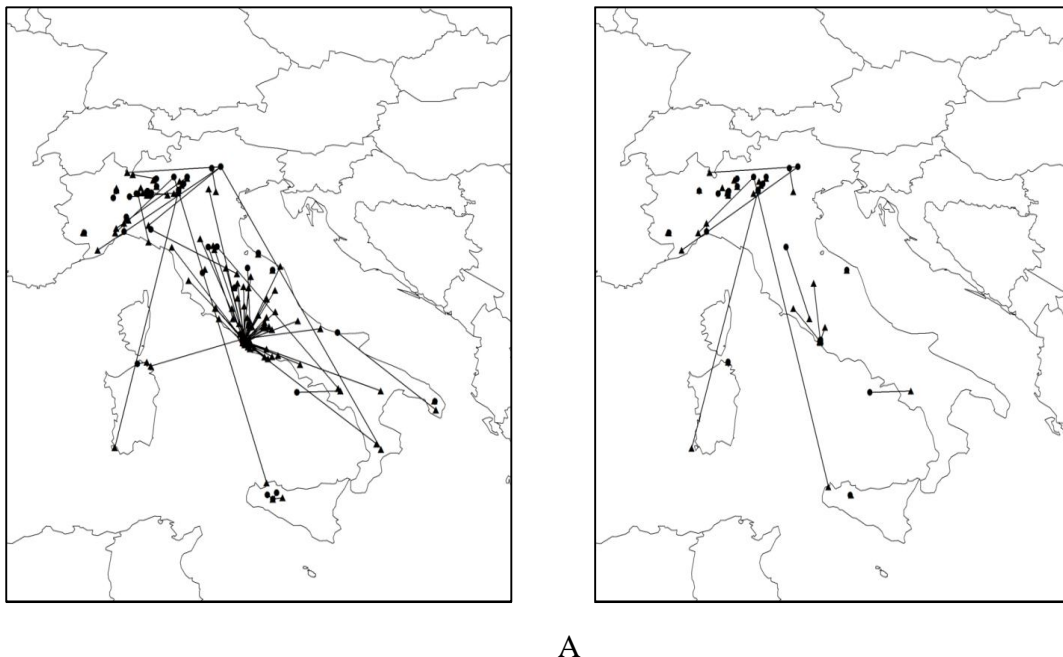


Figura 15. A. Individui inanellati in Italia e ricatturati in Italia (n=219). B. Individui inanellati in Italia e ricatturati entro lo stesso periodo invernale (n=82).

Le ricatture dirette nei mesi autunnali indicano delle rotte di migrazione attendibili; entrambe le ricatture nelle isole maggiori indicano dei movimenti che, se sommati a quelli delle ricatture estero-Italia, denotano la presenza di individui in transito del nord Europa probabilmente dai paesi fennoscandinavi e non dalle aree baltiche o russe come si rileva per il centro Italia.

Dalle ricatture dirette estere degli individui inanellati in Italia durante la migrazione di ritorno verso i quartieri di riproduzione, si osserva un asse sud-ovest /nord est, mentre per il nord Italia durante la migrazione di ritorno ai quartieri di svernamento autunnale si ha un passaggio di individui su di un asse est-ovest con direzione Francia del sud e nord della Spagna (Figure 16b).

La popolazione svernante in Centro Italia (Figura 16b) raggiunge le distanze maggiori tra i siti di nidificazione e quelli di svernamento (3600 km).

Nel mese di settembre le poche ricatture sono rappresentate da individui provenienti da paesi diversi e dalla cui origine non si può trarre alcuna conclusione su eventuali flussi di inizio stagione migratoria. A ottobre le ricatture sono rappresentate da individui inanellati in Francia nella stagioni precedenti. Il 35% delle ricatture

francesi (n=60) è rappresentato da individui catturati in Francia a novembre e ripresi in Italia a ottobre nell'anno successivo.



Figura 16a. Ricatture estere di individui inanellati in Italia (n=55).

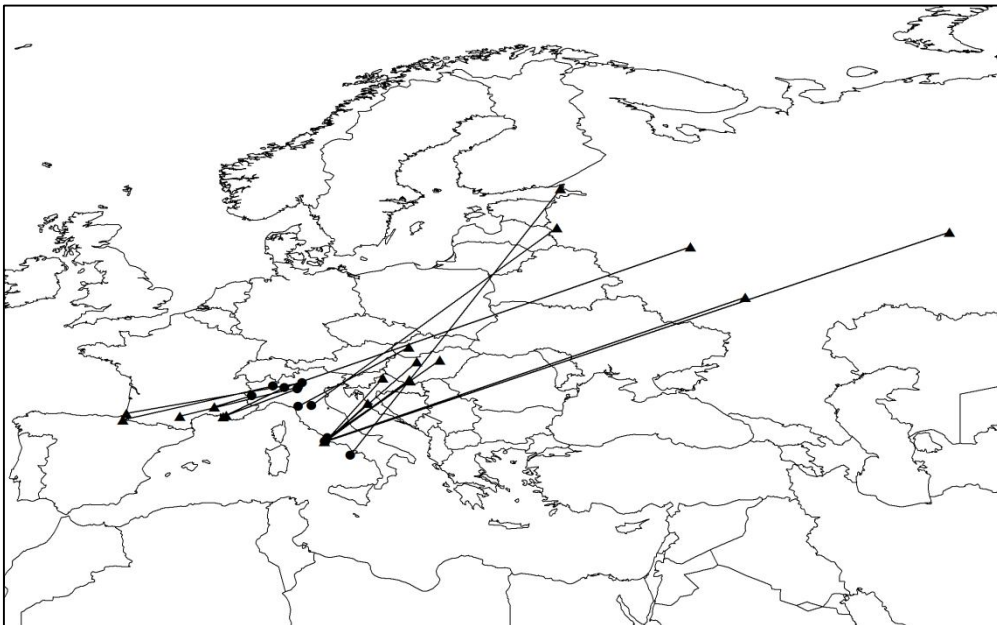


Figura 16b. Ricatture estere di individui inanellati in Italia nel periodo di migrazione autunnale e primaverile dello stesso anno (n=38).

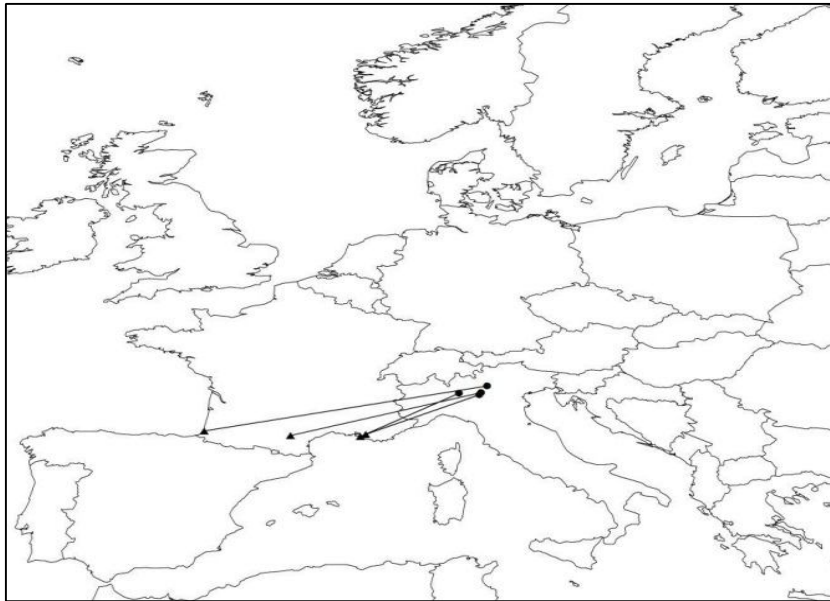


Figura 17. Ricatture estere di individui inanellati in Italia nel periodo di migrazione autunnale dello stesso anno (n=4).

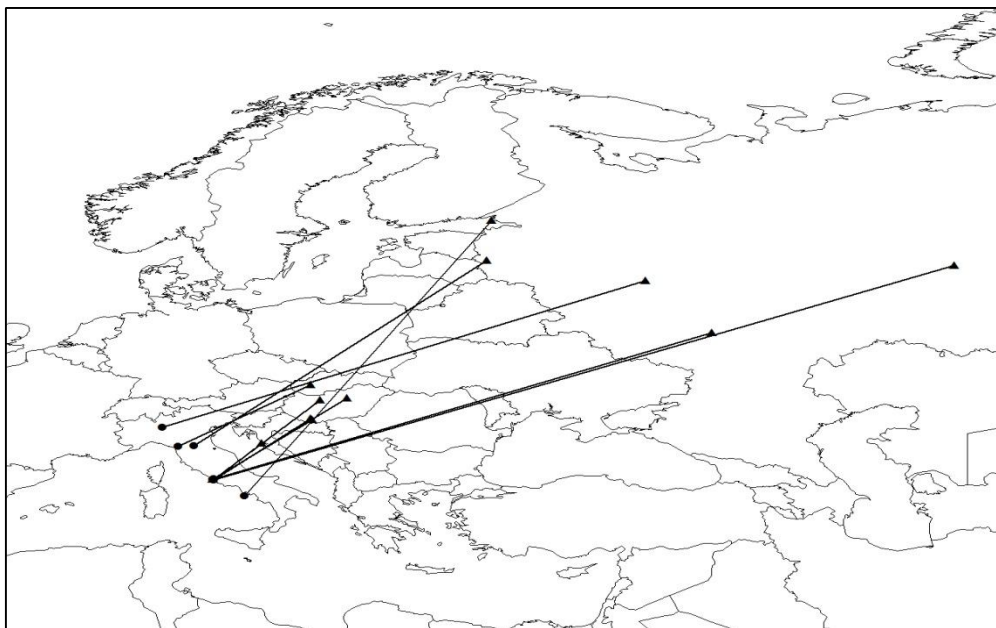


Figura 18. Ricatture estere di individui inanellati in Italia nel periodo di migrazione primaverile dello stesso anno (n=12).

Gli spostamenti rilevati nelle ricatture Italia- Italia, a inizio autunno, sono probabilmente legati alle ricatture di individui che appartengono a gruppi di beccacce

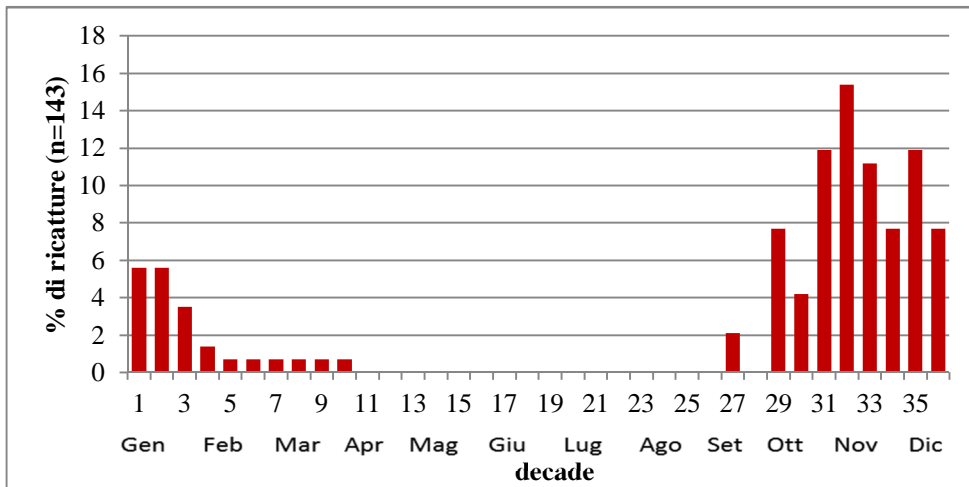


Figura 19. Ricatture estere in Italia divise per decadi dei diversi mesi periodo 1950-2012.

che si si dirigono verso il sud della Francia. A novembre, le ricatture russe e finlandesi sono in numero maggiore rispetto ai mesi precedenti con le ricatture russe e bielorusse che rappresentano il 46 % delle ricatture del mese (n=58). A dicembre le presenze di individui ricatturati diminuiscono leggermente e oltre a individui catturati in Russia le altre provengono dalle aree baltiche (Finlandia, Lituania, Estonia, Svezia). La situazione dei contingenti migratori è piuttosto complessa nella penisola italiana, soprattutto se si fa riferimento alla regola generale nota per la specie ossia che le popolazioni che svernano più a nord sarebbero quelle che si muovono prima e che arrivano prima nell'area di svernamento. Dalle ricatture estere in Italia il quadro non sembra così semplice. A dicembre abbiamo una presenza di individui provenienti da regioni a latitudini maggiori mentre ad ottobre vediamo che sono presenti individui inanellati in regioni meno settentrionali. Tuttavia si deve tener conto che è possibile confermare o meno le teorie dell'arrivo precoce degli individui più nordici studiando le ricatture dei pulli inanellati nei diversi stadi ripresi nella loro prima migrazione. Le ricatture di individui inanellati da pulli e ripresi nella stessa stagione non sono numerose (n=20), il 60 % di queste sono state inanellate in Finlandia e riprese in Italia tra la seconda e terza decade di novembre e la prima e seconda decade di dicembre.

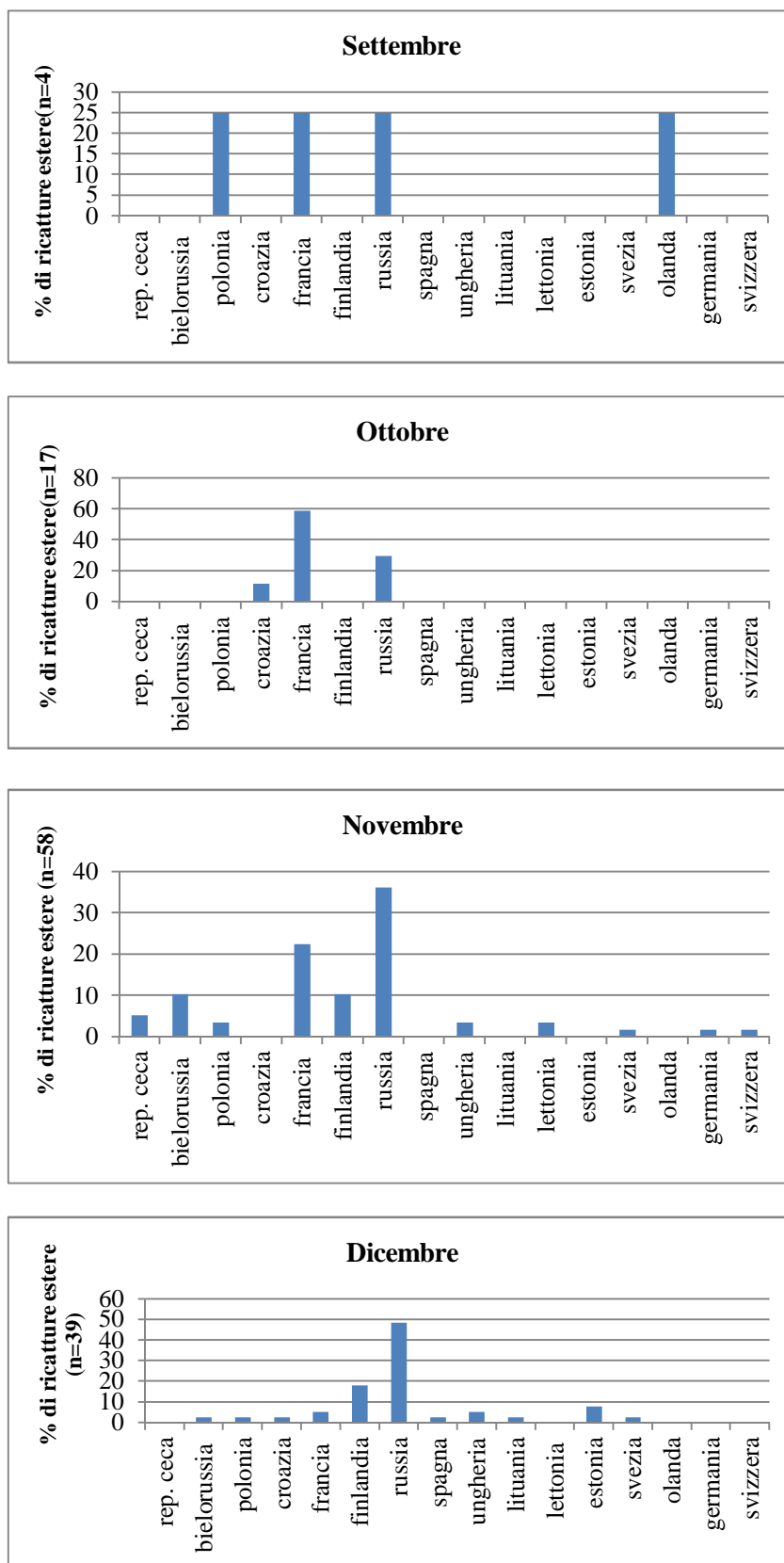


Figura 20. Analisi delle ricatture estere in Italia per mese e area di origine.

## SPAGNA



Figura 21. Individui inanellati in Spagna e ricatturati in Italia (n=1) e inanellati in Italia e ripresi in Spagna (n=2).

Le catture tra Spagna e Italia sono molto basse e soltanto una delle tre ricatture è diretta ossia effettuata nello stessa stagione. La rotta seguita da questo individuo evidenzia uno spostamento da nord-est verso ovest, verso il nord della penisola iberica al confine della Francia durante la migrazione autunnale ottobre - novembre. L'individuo fu catturato il 12 ottobre 2007 e ripreso il 29 dicembre dello stesso anno. L'Italia sembra non interessata da flussi migratori che coinvolgono individui che svernano in Spagna. Da uno studio recente (Guzman et al. 2011), il nord della penisola iberica è raggiunto da contingenti finlandesi e svedesi, il sud e l' ovest da individui provenienti dall'Ucraina e dalla Polonia mentre l' est da individui della Russia occidentale. Questi contingenti si sposterebbero in Europa centrale per raggiungere la Spagna dalla Francia.

## FRANCIA

Dallo studio delle catture e ricatture si osserva come il nord Italia nei mesi di ottobre e novembre sia interessato da un fronte di migrazione di beccacce che svernano nel sud della Francia. Le ricatture di individui francesi non dirette ma avvenute negli anni successivi alla stagione di cattura fanno ipotizzare che i contingenti che attraversano l'Italia si distribuiscono anche in aree più settentrionali della Francia seguendo le condizioni meteo idonee. Particolare rilievo hanno alcune ricatture che indicano degli spostamenti particolari dal nord di alcuni individui. Individui catturati in centro Italia durante l'inverno sono state poi abbattute in Francia. In alcuni anni le beccacce francesi potrebbero essere state costrette ad intraprendere una rotta migratoria più spostata a sud e quindi le ricatture avvenute in Italia potrebbero essere il risultato di movimenti secondari che ha spostato i fronti migratori verso latitudini più meridionali. La Corsica rappresenta una situazione diversa con scambi di individui dalla Sardegna e direzione di migrazione lungo rotte che attraversano il centro Italia.

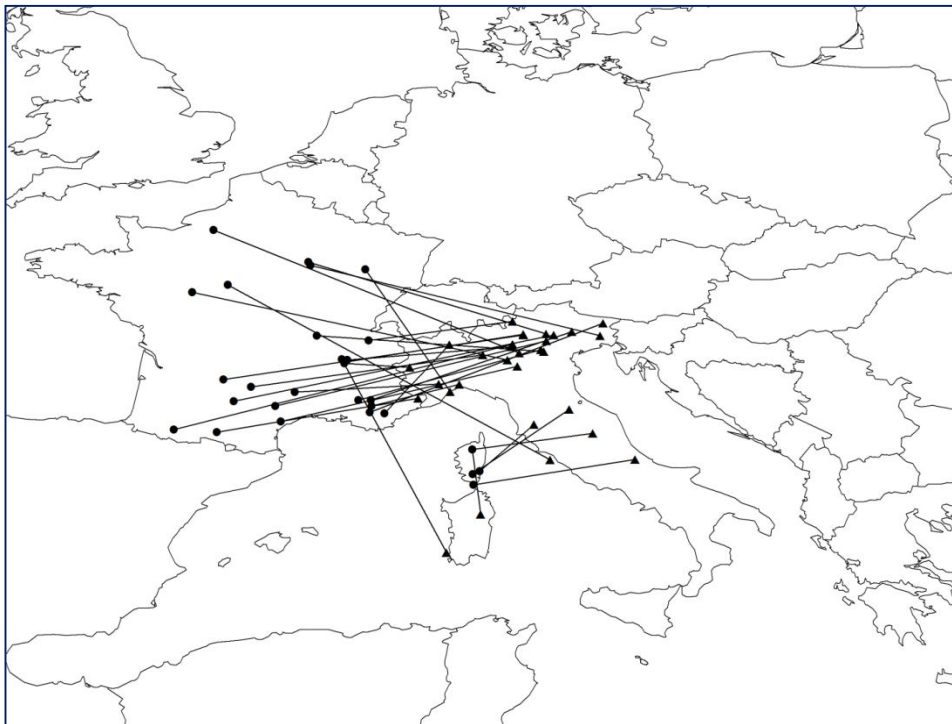


Figura 22. Individui inanellati in Francia e ricatturati in Italia (n=30).

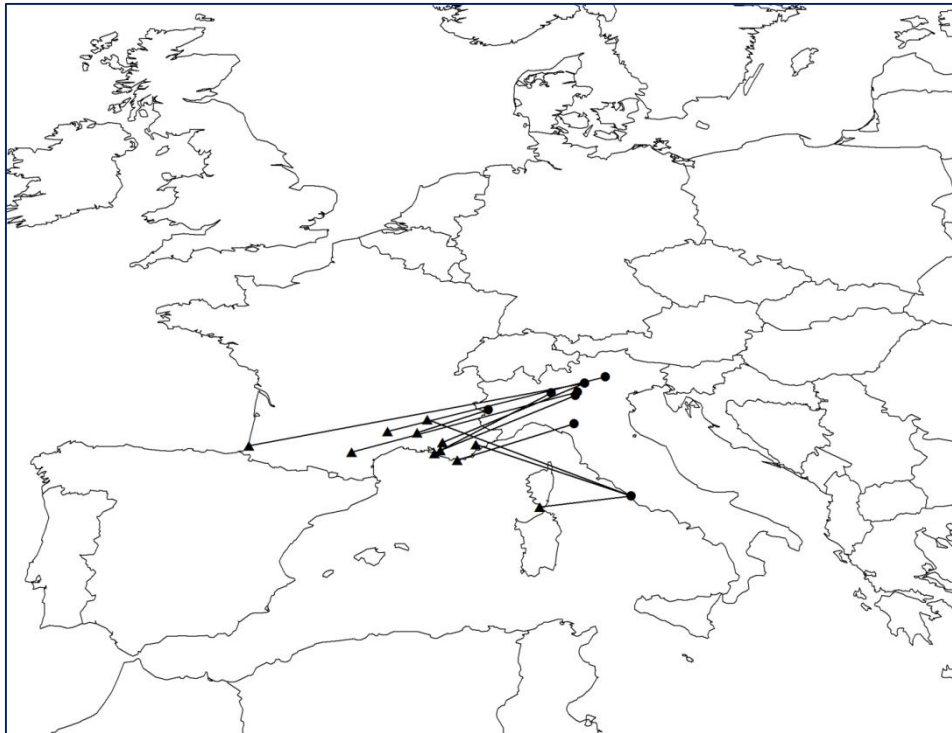


Figura 23. Ricatture di individui inanellati in Italia e ripresi Francia (n=11).

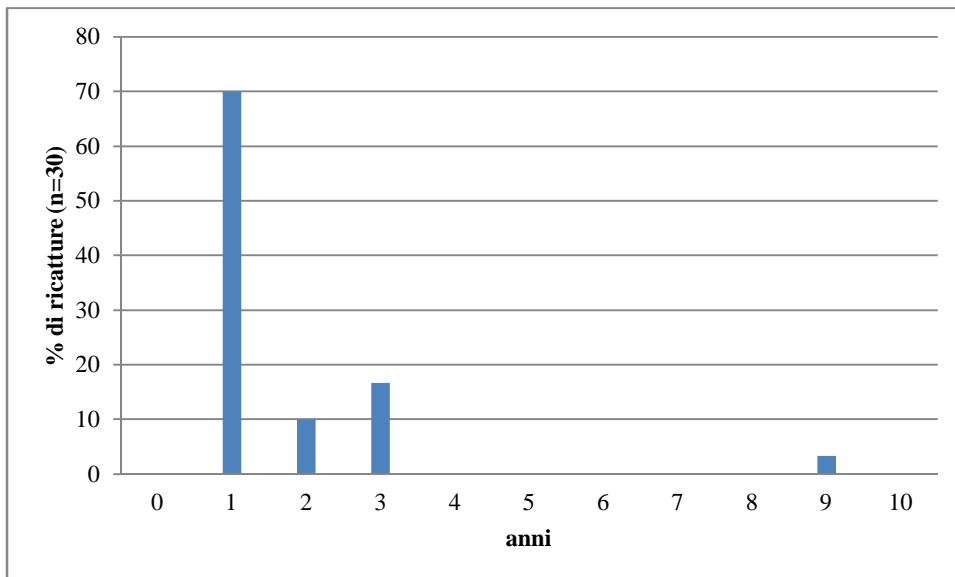


Figura 24. Tempo trascorso tra l'inanellamento in Francia e la cattura in Italia.



## OLANDA

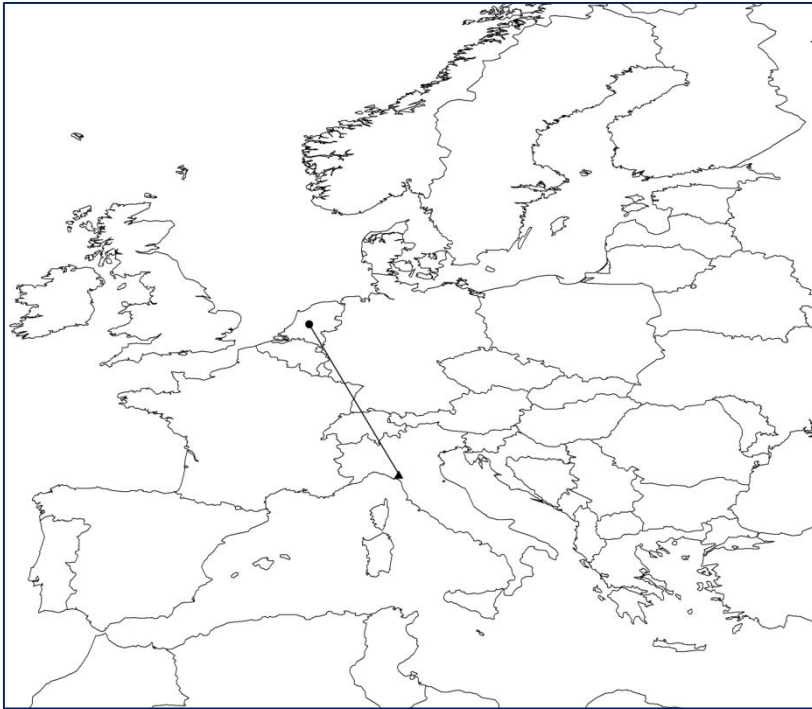


Figura 25. Ricatture di individui inanellati in Olanda (n=1).

## SVIZZERA



Figura 26. Ricatture di individui inanellati in Svizzera (n=1).

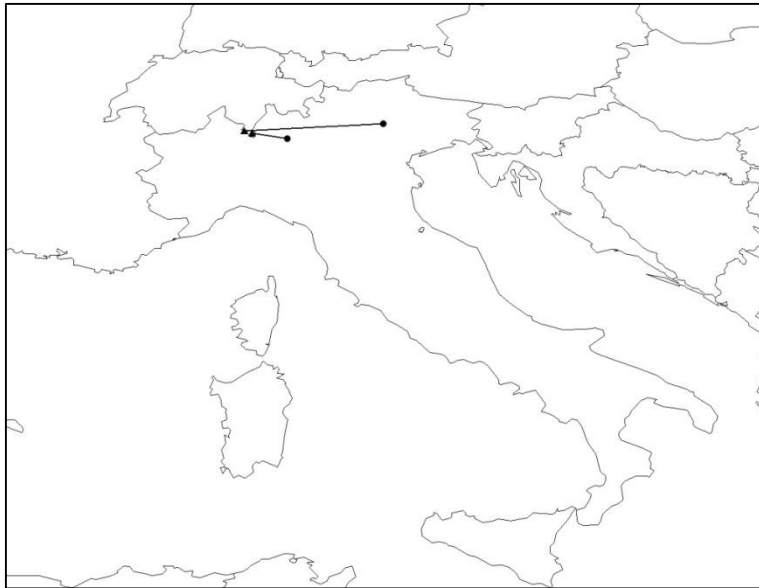


Figura 27 Ricatture di individui inanellati in Italia(n=2) e ripresi in Svizzera.

#### **GERMANIA**



Figura 28. Ricatture di individui inanellati in Germania (n=1).

## POLONIA



Figura 29. Ricatture di individui inanellati in Polonia (n=1).

Tre ricatture di individui giovani inanellati a settembre in Polonia e ripresi a novembre e dicembre in Italia sono dirette. Dalla distribuzione lungo la penisola delle ricatture si osserva come gli individui che arrivano dalla Polonia si distribuiscono in maniera differente tra di loro non convergendo in un sito specifico di svernamento.

Le beccacce che transitano in Polonia potrebbero provenire da aree più a nord e attraversare il paese in punti dove più popolazioni si riuniscono per poi svernare in aree diverse.

## REPUBBLICA CECA



Figura 30. Ricatture di individui inanellati in Italia e ripresi nella Repubblica Ceca (n=1).

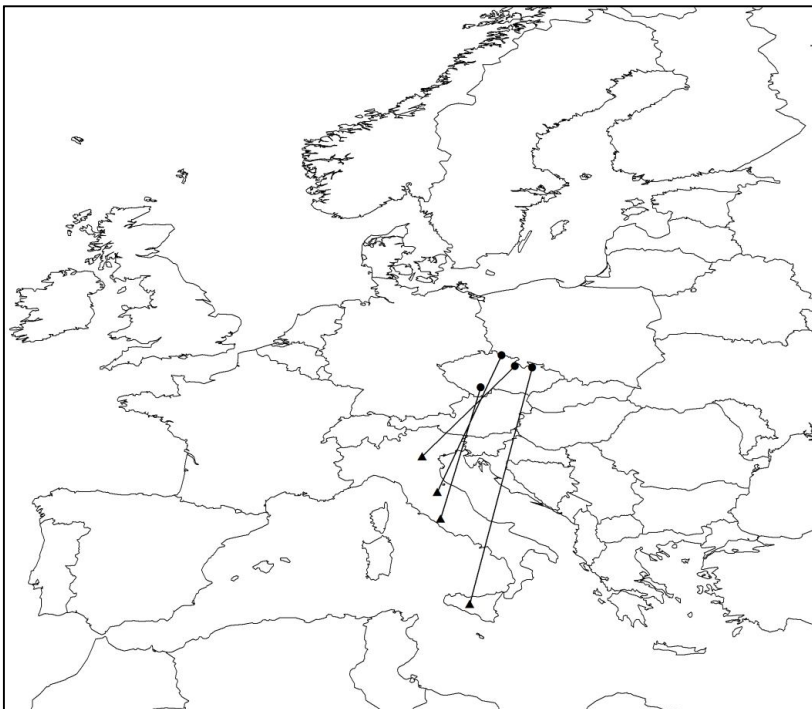


Figura 31. Ricatture di individui inanellati nella Repubblica Ceca (n=4).

## CROAZIA



Figura 32. Ricatture di individui inanellati in Croazia (n=1).



Figura 33. Ricatture di individui inanellati in Italia e ripresi in Croazia (n=7).

## AUSTRIA



Figura 34. Ricatture di individui inanellati in Italia e ripresi in Austria (n=3).

## UNGHERIA



Figura 35. Ricatture di individui inanellati in Ungheria (n=4) e ripresi in Italia e individui inanellati in Italia e ripresi in Ungheria (n=7).

## BIELORUSSIA



Figura 36. Ricatture di individui inanellati in Bielorussia (n=4) e ripresi in Italia e inanellati in Italia e ripresi in Bielorussia (n=3).

## RUSSIA



Figura 37. Ricatture di individui inanellati in Russia (n=57).



Figura 38. Ricatture di individui inanellati in Italia e ripresi In Russia (n=10).

Le ricatture russe in Italia mostrano come i contingenti svernanti lungo la nostra penisola afferiscono soprattutto alla Russia nord occidentale e ad aree della Russia orientale al confine con i monti Urali. L'Italia è un'area di sosta importante per queste popolazioni che si distribuiscono lungo la penisola e sulle isole maggiori.

Le traiettorie che possono dedursi dalle ricatture dirette delineano degli spostamenti in rotte diverse per gli individui che svernano in nord Italia da quelli che svernano in centro Italia.

La maggior parte di questi ultimi attraversa le regioni centrali Umbria e Marche per attraversare poi il breve tratto di mare dell'Adriatico e spostarsi nelle regioni balcaniche. Da qui le ricatture ungheresi mostrano come quest'ultimo stato sia importante come flyways per i contingenti svernanti russi così come la Polonia e la Bielorussia.



## FINLANDIA

Le ricatture di individui inanellati in Finlandia e ripresi in Italia sono costituite essenzialmente da beccacce inanellate come pulcini nel primo anno di spostamento (Fig.39). Le traiettorie indicano delle rotte parallele con individui che si distribuiscono lungo tutta la penisola italiana. Queste flyways sono, pur considerando eventuali stop over, dati dalla modalità di migrazione della specie, corrispondenti a reali rotte di migrazione provenendo dall'unione di punti tra catture dirette nella stessa stagione. L'89% delle ricatture è rappresentato infatti da catture dirette. Non si hanno dati di beccacce catturate in Italia e riprese in Finlandia.



Figura 39. Ricatture di individui inanellati in Finlandia (n=18).

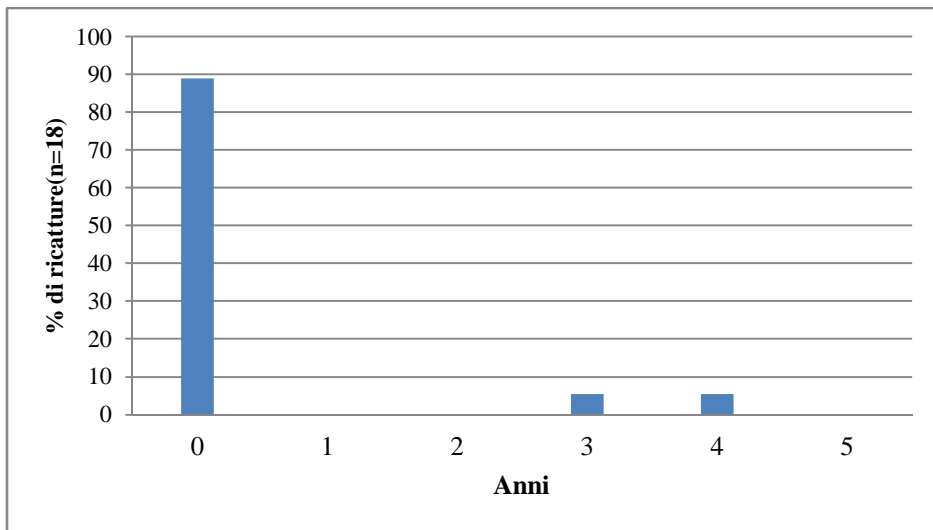


Figura 40. Tempo trascorso tra l'inanellamento in Finlandia e la cattura in Italia.

## ESTONIA

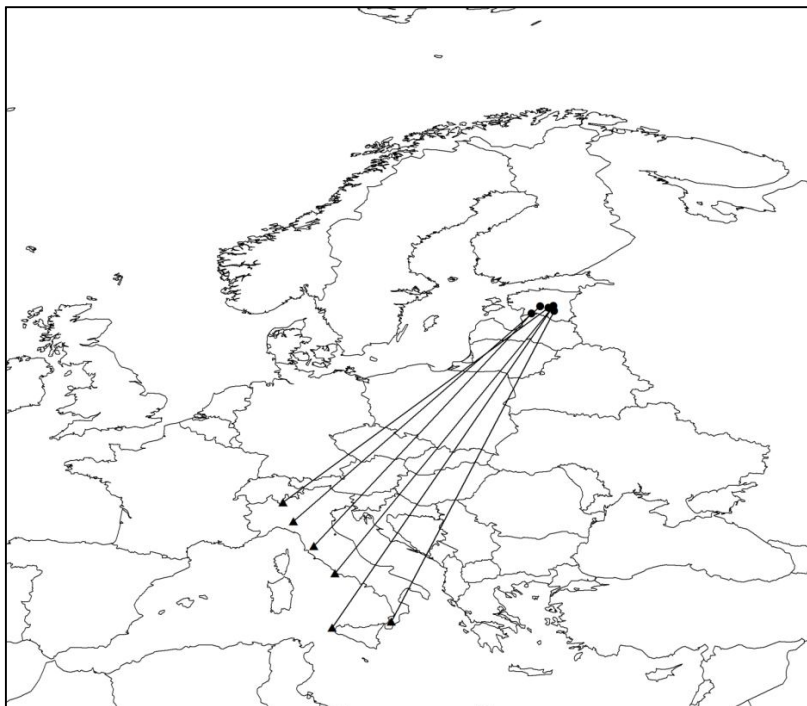


Figura 41. Ricatture di individui inanellati in Estonia (n=6).

Tra le sei ricatture di individui inanellati in Estonia e riprese in Italia tre sono ricatture dirette di *pullus* nati nei mesi di giugno e agosto e ripresi nei mesi di dicembre e gennaio della stessa stagione.

## LETTONIA



Figura 42. Ricatture di individui inanellati in Lettonia ( $n=2$ ) e ricatture di individui inanellati in Italia ( $n=1$ ) e ripresi in Lettonia

## LITUANIA



Figura 43. Ricatture di individui inanellati in Lituania ( $n=1$ ) e ricatture di individui inanellati in Italia ( $n=1$ ) e ripresi in Lituania.

## SVEZIA



Figura 44. Ricatture di individui inanellati in Svezia (n=3).

## UCRAINA



Figura 45. Ricatture di individui inanellati in Ucraina (n=1).

## DISCUSSIONE

Le popolazioni di beccaccia svernante in Italia provengono principalmente da tre aree di origine con due principali rotte di migrazione. La prima area è rappresentata dai paesi che si affacciano nell'area baltica: Finlandia, Estonia, Lettonia, Lituania. La seconda area è rappresentata dai territori della Russia nord-occidentale. La terza è rappresentata dai territori nella Russia orientale in aree che arrivano fino ai Monti Urali. Le flyways utilizzate coinvolgono il passaggio di zone nella Bielorussia, Polonia, Austria, Croazia, Romania, Ungheria.

Gli individui inanellati da pulcino nei paesi esteri dell'area fennoscandinava e russa e poi ricatturati in Italia indicano questa ipotesi come molto attendibile (Figura 40).

L'Italia peninsulare sembra raggiunta a ventaglio da diverse popolazioni risalenti a queste tre aree di origine confermando le informazioni filogeografiche per la specie. Le isole maggiori indicano una specificità nelle aree di origine; le ricatture estere in Sardegna indicano una presenza di individui fennoscandinavi. Mentre la Sicilia sembra interessata da individui di origine russa ed estoni.

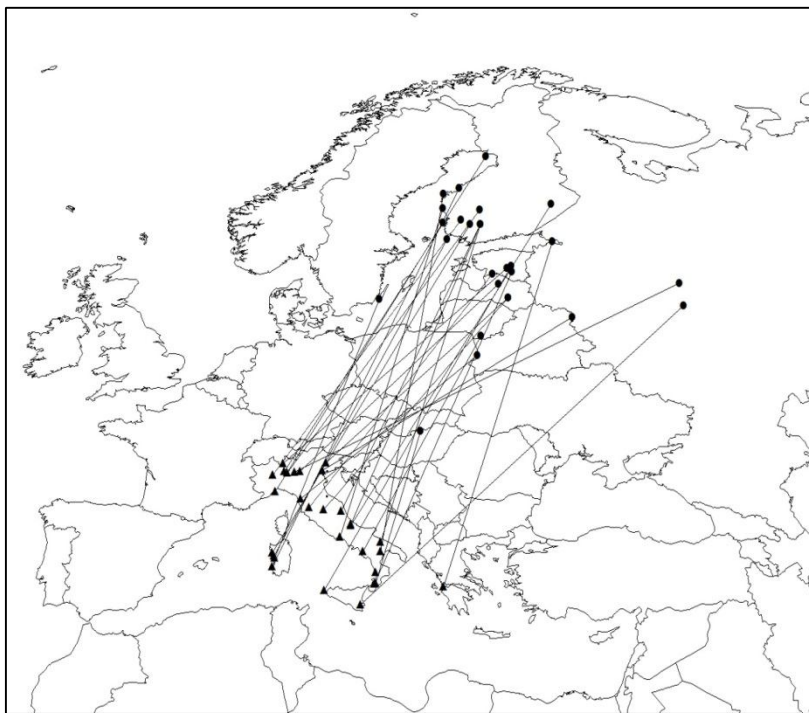


Figura 46. Ricatture di individui esteri inanellati come pulli (n=29).

### CAPITOLO 3 MOVIMENTI E MIGRAZIONE: INDAGINE SATELLITARE



*“A FLYWAY IS the entire range of a migratory bird species (or groups of related species or distinct populations of a single species) through which it moves on an annual basis from the breeding grounds to non-breeding areas, including intermediate resting and feeding places as well as the area within which the birds migrate”. Gerard C. Boere & David A. Stroud 2006.*

## INTRODUZIONE

La maggior parte delle popolazioni presenti in Europa compie migrazioni stagionali tra siti di riproduzione e siti di svernamento (Ferrand & Gossmann 2005). Soltanto alcune popolazioni di beccacce presenti in Irlanda, Gran Bretagna e Francia sono sedentarie (Ferrand 1994; Hoodless & Coulson 1994; Ferrand & Gossmann 2000).

La beccaccia migra generalmente sola, a volte in coppia, raramente in gruppi di sei o più individui (Cramp & Simmons 1983). Gli spostamenti migratori avvengono in un periodo di tempo piuttosto lungo, circa un mese e mezzo, e dalle informazioni raccolte finora sembra con un fronte ampio, senza precisi corridoi migratori, fatta eccezione per le zone di passo in montagna (Ferrand & Gossmann 2005).

La migrazione autunnale verso i quartieri di svernamento ha inizio generalmente in ottobre e novembre, ma comincia prima (fine settembre-primi di ottobre) nelle aree più settentrionali e orientali d'Europa, come Finlandia e Russia.

In linea di massima, l'areale di svernamento in Europa copre il territorio ad occidente e a sud dell'isoterma di gennaio di 2,5°C. Sebbene alcune popolazioni di beccacce svernano in Danimarca, Olanda e Germania dell'Ovest, la maggioranza delle beccacce migra verso l'Europa occidentale e meridionale, arrivando anche in Nord Africa. Le popolazioni dell'Asia Minore orientale si spingono fino in Giappone (Cramp & Simmons 1983).

Il numero di individui presenti in Gran Bretagna durante il periodo invernale è stimato intorno a 800.000, di cui solo 64.000 circa sono presenti durante tutto l'anno (Hoodless & Coulson 1994).

Peterson *et al.* (1961 in Puzovic 1994) definiscono l'ex Jugoslavia il limite nord dell'area di svernamento di questa specie. In tale regione oltre che nel periodo di riproduzione e migrazione, gli avvistamenti di beccacce si verificano anche durante l'inverno. Sporadiche a nord, dove tuttavia aumentano quando si verificano inverni miti, sono molto numerose e costantemente presenti nelle regioni più a sud. I quartieri di svernamento più importanti sono quelli delle isole dell'Adriatico e le zone costiere, specialmente in Montenegro (Puzovic 1994).

Le strategie migratorie si differenziano a seconda delle zone di origine delle beccacce. Quelle provenienti dalle regioni più settentrionali e più orientali dell'area di riproduzione trascorrono l'inverno nelle regioni più meridionali e più occidentali dell'area di svernamento. Beccacce provenienti dalla Finlandia arrivano a svernare nelle Isole Britanniche, in Grecia e Nord Africa (Ferrand & Gossmann 2005).

Gli studi sulle rotte migratorie si basano su ricatture, avvistamenti o ritrovamenti di individui in passato già catturati, marcati e rilasciati.

Per quanto riguarda la beccaccia, le ricatture di soggetti inanellati in Svezia e Finlandia durante la stagione riproduttiva, mostrano una prevalenza di movimenti migratori autunnali verso le regioni dell'ovest e del sud dell'Europa (Danimarca e Germania, Paesi Bassi, Isole Britanniche, Francia, Penisola Iberica, Italia ed ex-Jugoslavia, Grecia e Turchia, fino ad Algeria e Tunisia) (Cramp & Simmons 1983).

Lo studio delle distanze genetiche tra beccacce catturate in Spagna, Italia e Svezia potrebbe avvalorare tale ricostruzione (Burlando et al. 1997).

Dalla Russia arrivano conferme di una generale rotta di migrazione verso sud-ovest, perché molti degli individui inanellati sono risultati svernare in Francia e nelle Isole Britanniche (Kuzyakin 1994; Gossmann et al. 2000; Iljinsky *et al.* 2000).

Allo stesso modo, le popolazioni di beccacce che migrano attraverso i Balcani sembrano provenire dal nord-est dell'Europa (Puzovic 1994).

Le distanze percorse dagli individui migratori possono essere davvero notevoli: il valore medio per gli individui ricatturati in Finlandia è di 2300 km, in Svezia 1565 km, in Norvegia 1350 km (Cramp & Simmons 1983). Una beccaccia proveniente dalla Russia è stata ricatturata in Algeria dopo che aveva percorso una distanza di 3263 km (Iljinsky *et al.* 2000).

Per quanto riguarda l'Italia, Spanò (2001) avanza una ipotesi sulle rotte seguite dalle beccacce che sorvolano la penisola, in parte basandosi sui pochi dati a disposizione in merito alla questione e in parte citando Garavini (1978 in Spanò 2001).

Le beccacce arriverebbero in Italia sempre su un fronte ampio seguendo poi una direzione di passo sud-ovest. Gli individui giunti in Italia settentrionale continuerebbero il loro viaggio lungo la penisola, ma molte di esse passerebbero in



Francia e Spagna, forse fino al nord Africa; altre raggiungerebbero la Corsica e la Sardegna attraverso l'arcipelago toscano. Infine alcune sorvolerebbero bracci di mare più ampi, e, dopo aver toccato le isole che si trovano tra il Golfo di Napoli e la Sicilia Nord-Occidentale, si dirigerebbero verso il nord d'Africa.

La migrazione primaverile di ritorno verso le aree di riproduzione, è ben correlata con l'aumento delle temperature primaverili, in modo che l'insediamento nei siti di nidificazione si verifichi quando il disgelo del suolo è ormai avvenuto e l'accessibilità alle risorse alimentari è adeguata (Cramp & Simmons 1983; Duriez 2003).

Gli spostamenti verso i quartieri di riproduzione, a seconda delle zone di svernamento, cominciano dalla metà di gennaio. I più lontani siti di riproduzione sono raggiunti alla fine di marzo in Finlandia e all'inizio di maggio in Russia (Ferrand & Gossmann 2005).

In Italia la beccaccia è considerata nidificante parziale (Brichetti & Massa 1997). La penisola italiana infatti si trova al margine meridionale dell'areale di nidificazione, il cui limite arriva grosso modo a livello della Toscana (Spanò 2001).

Le beccacce mostrano una grande fedeltà inter-annuale sia per i luoghi di nidificazione, sia per i quartieri di svernamento (Gossmann *et al.* 1988). Lo evidenziano le ricatture in loco di 7 individui nel periodo invernale nella Tenuta Presidenziale di Castelporziano: 4 dopo un anno, 1 dopo due anni e 2 dopo tre anni (Sorace *et al.* 1999).

Anche la fedeltà intra-annuale al luogo scelto per lo svernamento è elevata (Gossmann *et al.* 1988). Nel caso in cui durante l'inverno si verificano intensi e prolungati periodi di gelo, alcuni individui si allontanano, per la difficoltà di alimentarsi in presenza di un suolo gelato, e percorrono anche considerevoli distanze, verso aree con temperature più moderate (soprattutto verso ovest e sud) (Gossmann & Ferrand 2000).

L'identificazione delle rotte migratorie e dei siti di sosta, incluse le aree di riproduzione, di svernamento e di sosta temporanee, è cruciale per una corretta gestione delle specie migratrici (Berthold & Terrill, 1991). L'inanellamento è

utilizzato per ottenere informazioni sulle rotte di migrazione, le aree di distribuzione e la fedeltà ai siti di svernamento e nidificazione di molte specie. Tuttavia con questo metodo raramente è possibile avere informazioni in tempo reale. L'utilizzo di nuove metodologie per tracciare gli spostamenti degli animali in sinergia con l'inanellamento permette di ottenere quelle informazioni necessarie alla individuazione delle aree utilizzate dagli animali durante il loro ciclo biologico. Tra queste, la radiotelemetria satellitare è una tecnica molto efficace per seguire le rotte e gli spostamenti degli uccelli.

I nuovi modelli di radiosatellitari di dimensioni ridotte e di peso congruo con i limiti consigliati per non superare i valori critici per la sopravvivenza degli animali (<5% peso corporeo da MacAuley *et al.* 1993) permettono di poter seguire gli spostamenti di specie delle dimensioni della beccaccia.

Poche sono le informazioni su quali tipi di habitat sono utilizzati durante la migrazione e come i cambiamenti in queste aree possano influenzare sulla sopravvivenza dei migratori stessi (Moore & Woodrey 1993).

Attraverso lo studio delle localizzazioni, dei tracciati seguiti dagli individui e dall'analisi dell'habitat delle aree di sosta è possibile comprendere molti aspetti della fenologia della migrazione tra cui importanti aspetti legati ad esempio alle richieste energetiche in questa fase del ciclo biologico e come rispondano all'esposizione dei molti fattori ambientali di stress.

## METODI

Nelle stagioni 2012/2013 e 2013/2014 sono state messe 7 radio satellitari su individui catturati presso la stazione della Tenuta Presidenziale di Castelporziano (Roma) e presso la stazione di Colfiorito (Perugia). Le beccacce sono state catturate con la tecnica del dazzling (abbagliamento) che consiste nell'illuminare gli individui nei campi con un potente fascio luminoso e di catturarli con un retino particolare (vedi pag. Metodologia generale).

Ogni individuo è stato posto in un sacchetto e subito dopo sono state raccolte le

misure biometriche, il peso e apposto un anello di riconoscimento alfanumerico (INFS serie H). A ciascun individuo è stata prelevata una timoniera e una goccia di sangue per il successivo saggio.

Le radio utilizzate (Microwave MODELLO PTT-100 9.5 gram Solar) sono state settate in modo tale da ottimizzare la ricarica viste le dimensioni dei pannelli con un tempo di emissione di 10 ore e 48 ore di ricarica. Il segnale è registrato e trasmesso dal satellite ogni due giorni.

Le radio sono state montate con uno zainetto speciale per non causare problemi agli individui date le peculiarità del becco che potrebbe incastrarsi con i lacci nelle normali attività di pulizia e sistemazione del piumaggio.

Nel 2012/2013 gli individui sono stati marcati in due diverse sessioni di cattura una in data 10/02/2013 e l'altra in data 27/02/2012, mentre nel 2013/2014 nei giorni 26 e 27 Febbraio 2014.

Le radio appena agganciato il satellite hanno emesso regolarmente i segnali nei primi giorni di attività. Successivamente ci sono stati diversi "manca dati" dovuti alla non corretta ricarica della radio o al passaggio e sosta in aree dove la ricezione e la copertura satellitare non era sufficiente.

Le beccacce sono state tracciate attraverso i satelliti Argos (CLS, Ramonville Saint-Agne, France), che stimano la localizzazione delle trasmissioni e calcolano un errore di distribuzione per ciascun punto (LC). Per le analisi degli spostamenti e per l'Home range sono stati utilizzati punti con LC di tipo 3,2,1. Questi punti hanno rispettivamente errori di 150m(LC3), 350m(LC2) e 1000m(LC1). Dei sette individui marcati soltanto due hanno emesso per più di 3 mesi.

Per gli individui con numero di localizzazioni di tipo (LC3,2,1) sufficienti è stato calcolato l'home range con il metodo del minimo poligono convesso (Kenward 1987, in Harris et al. 1990) e la core area con il metodo dell'ellissi (Van Winkle 1975). Le analisi dell'home range sono state effettuate

con i programmi Biotas<sup>tm</sup> vers. 2. 0 a 3. 8 e Ranges 8 Demo v. 2. 16.

## RISULTATI

### ID 321

Dopo un giorno dalla cattura, la beccaccia 321 ha raggiunto i boschi limitrofi ai campi dove era stata presa (Figura 47). Questo ha confermato informazioni già acquisite con la radiotelemetria terrestre sulla estrema fedeltà ai siti di svernamento. Dopo tre giorni la radio ha smesso di inviare segnali al satellite. Il problema delle radio satellitari con pannelli solari è che necessitano di parecchie ore di luce per ricaricarsi e se non si raggiunge la corretta ricarica la radio non ha abbastanza energia per inviare i segnali.

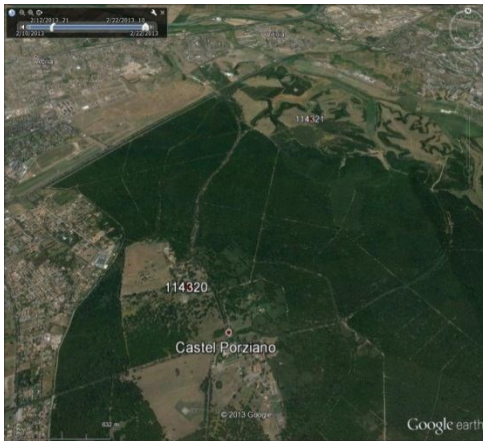


Figura 47. Localizzazione della 321 dopo un giorno dalla cattura.

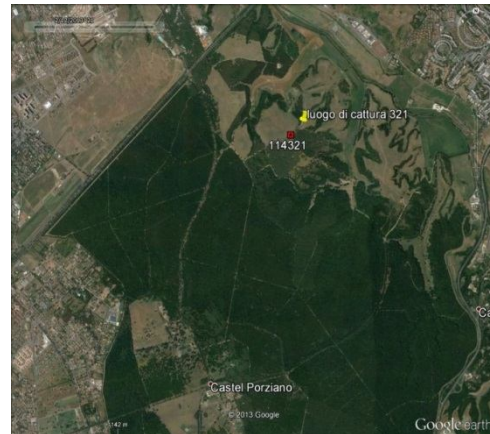


Figura 48. Localizzazione della 321 dopo 46 giorni di inattività.

Il 28/03/2013 dopo 46 giorni di inattività la radio ha rimesso i segnali nei pressi dell'area di cattura (Figura 48). In data 31/03/2013, la beccaccia ha iniziato la sua migrazione verso nord effettuando degli spostamenti a tappe (Figura 49). In data 31 marzo si è spostata seguendo una rotta NE rispetto alla località di cattura coprendo una distanza di 47 km. Dopo due giorni si è spostata di circa 97 km dal primo sito di sosta arrivando in Umbria. In data 5 Aprile si trovava in Slovenia dopo aver percorso 361km. E' rimasta in questo sito con un solo spostamento di circa 7km nord est per 5 giorni in un ambiente prettamente boschivo. Il 19 aprile ha effettuato uno spostamento di 161.43 km lungo una traiettoria N-E. Passando il confine Slovenia – Ungheria, il 22 aprile dopo aver percorso 343 km si trovava in Slovacchia. Dopo 2

giorni ha raggiunto la Bielorussia ed è rimasta per tre giorni nel territorio di Oblast' di Smolensk e Oblast' di Kalenga. Il 29 aprile si è spostata di 314 km nel territorio di Oblast di Mosca per poi arrivare a Oblast' di Niznij Novgorod ad una distanza di 370km. Il 02 maggio il segnale è stato captato a Udmurtia a 557 km dal sito precedente in un'area che distava circa 2.24 km da un fiume. Il viaggio è proseguito e il 04 maggio ha raggiunto il territorio di O'Perm 73° NE dall'ultima localizzazione effettuando un totale di 2470 km dall'area di svernamento. E' rimasta in questa area fino al 17 maggio per circa 10 giorni. Il 19 maggio si è spostata di circa 60km a nord ovest a circa 18 km da O'Perm per rimanere in questa zona fino al 09 settembre giorno in cui è cessata la ricezione dei segnali. In totale sono state ricevute dal 17 aprile al 09 settembre un totale di 223 localizzazioni di cui il 29.14% di tipo LC 1-2-3 , 6.27% di tipo LC(O) e il 64.5 di tipo LC A-B. L'home range stimato è di 12.5 ha (MPC) e le localizzazioni seppur in numero non hanno permesso di analizzare in dettaglio le dimensioni nei diversi momenti della giornata.

L'esemplare è rimasto molto fedele ad una determinata particella di bosco per circa tre mesi esibendo lo stesso comportamento attuato dalla specie in inverno.

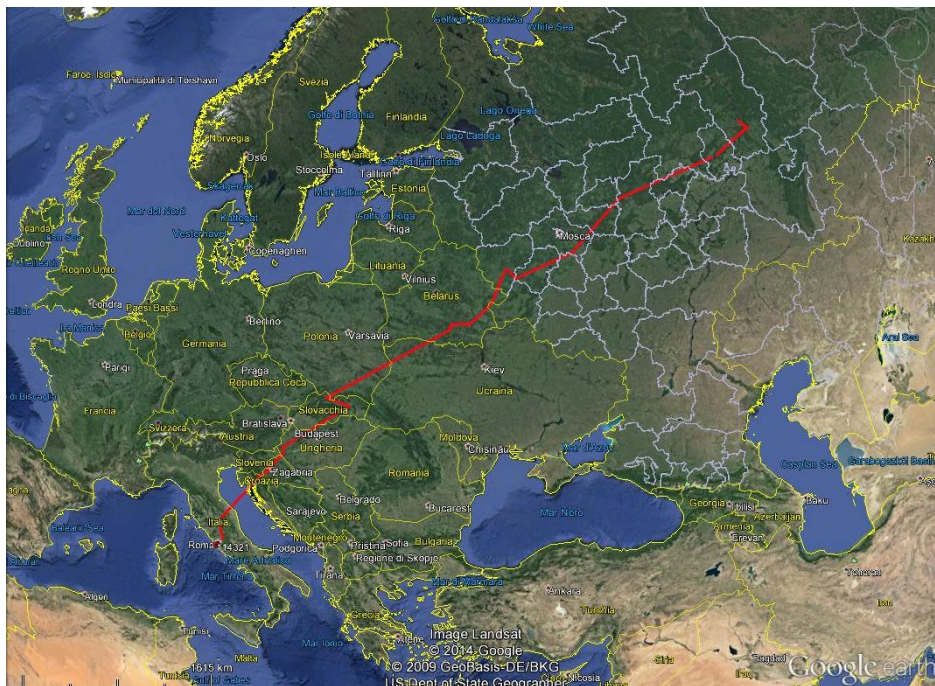


Figura 49. ID 321 Percorso di spostamento tra area di svernamento e area di riproduzione.



Figura 50. Localizzazioni individuo 321. A punti delle localizzazioni di tipo LC1-3. B punti con sovrapposizione Home range MPC al 95 %.

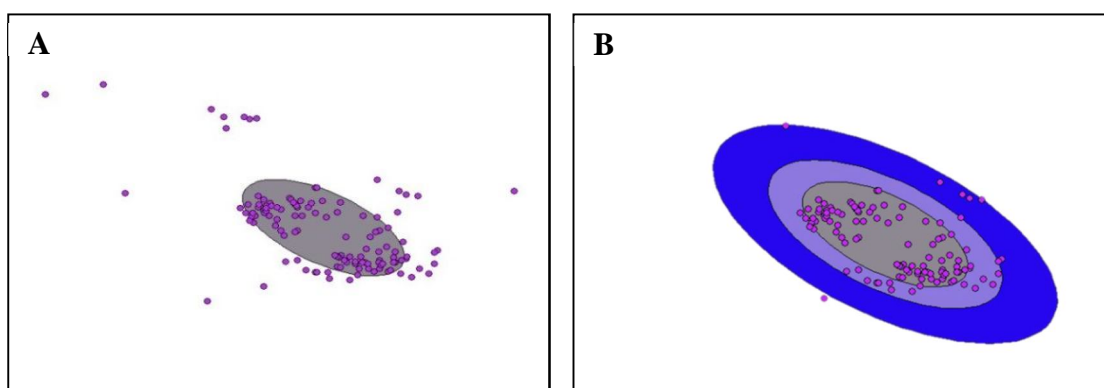


Figura 51. Individuo 321 A Home range calcolato con ellisse al 50 % . B Home range calcolato con ellisse al 95%

## ID 320

La beccaccia 320 dal giorno di cattura ha emesso regolarmente i segnali dall'area di Castelporziano rimanendo nelle aree boscate nei pressi dell'area di cattura. Dal 28/03/2013 la radio non ha inviato segnali al satellite. In data 02/04/2013 (5:40h) il segnale della radio è stato registrato e l'individuo si trovava a circa 16 km da Parma in Emilia Romagna (Figura 52 e Figura 53). Dal giorno 04/04/2013 la radio non ha più emesso segnali.

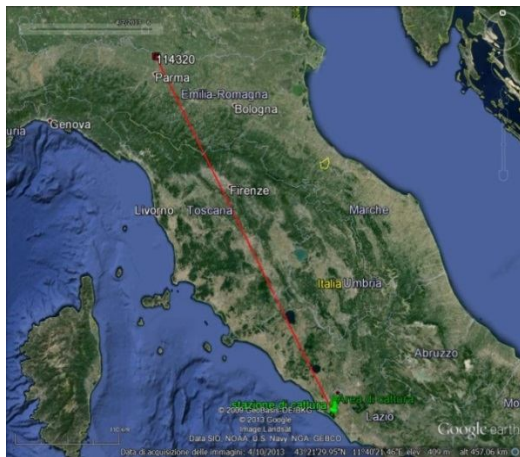


Figura 52. Spostamento della ID 320 dall'area di cattura verso nord.

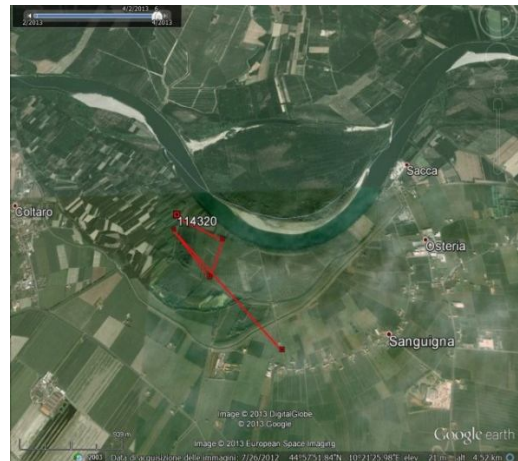


Figura 53. Dettaglio dell'area di sosta nei pressi di Parma della beccaccia ID320.

### ID 318-319

I due individui sono stati rilasciati in data 27/02/2013.

#### ID 318

La 318 ha iniziato la sua migrazione di ritorno il 13 Aprile. Si è fermata per 5 giorni a 60 km da Roma e poi ha ripreso il suo viaggio mantenendo una direzione nord est, spostandosi in Umbria a pochi chilometri da Perugia per poi muoversi verso le Marche in direzione Macerata.

In questa area ha sostato diversi giorni spostandosi anche verso l'interno per poi riprendere il viaggio in direzione Balcani in data 10/05/2013. Qui ha sostato per pochi giorni tra la Bosnia-Erzegovina e la Croazia. In data 19/05/2013 era a circa 60 km da Belgrado. I segnali si sono interrotti per poi essere di nuovo registrati nelle date 15 e 22/06/2013 in una area boscata della Romania (Figure 54 - 55). Da quella data non si sono più ricevuti segnali.

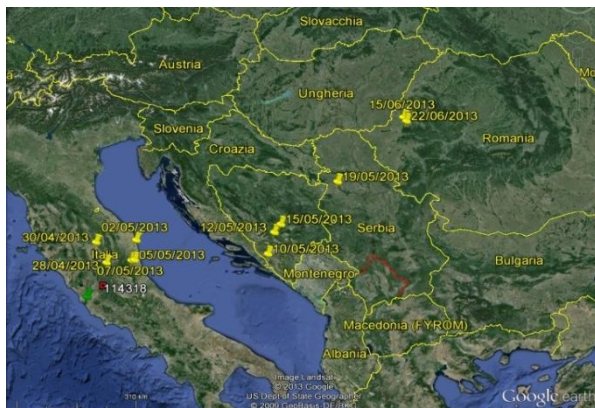


Figura 54. Percorso della 318 dall'area di cattura (Roma) verso i quartieri di riproduzione.

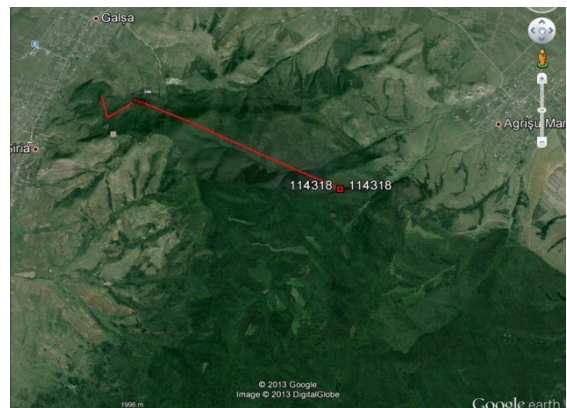


Figura 55. Localizzazioni della 318 in data 22/06/2013.

### **ID 319**

La 319 ha iniziato a spostarsi dall'area di svernamento in data 23/04/2013. In data 05/05/2013 si trovava a pochi chilometri da Gubbio per poi spostarsi verso est in direzione di Ancona in una area del Parco Naturale del Conero (Figura 56). Da qui ha passato il Mar Adriatico e in data 13/05/2013 ha raggiunto la Croazia. Da questa data non si hanno più localizzazioni.

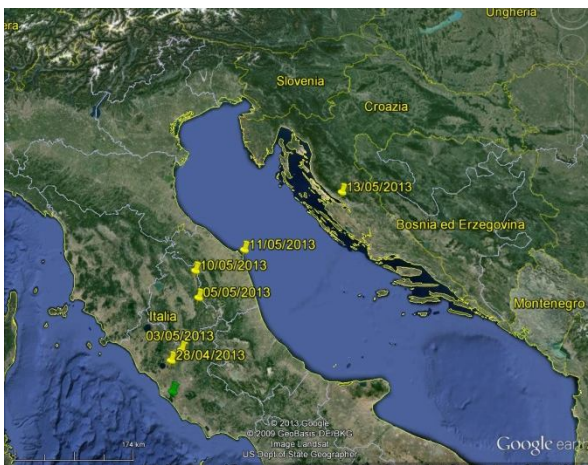


Figura 56. Percorso della beccaccia ID 319 dall'area di cattura (verde) verso i quartieri di nidificazione.

### **ID 328, 327, 897**

I tre individui sono stati rilasciati in data 26 e 27 febbraio 2014 in Umbria. I primi due in zona Colfiorito, la 897 invece in località Fraccano (Città di Castello - Perugia).



Figura 57. Siti di rilascio degli individui in Umbria (A= ID 238, 237;B=897).



### **ID 897**

La 897 dopo essersi spostata di circa 6 km dall'area di cattura, ha emesso il segnale in maniera irregolare per 20 giorni per poi interrompere l'emissione del segnale. Le ultime informazioni risalgono al 20/03/2014. Le localizzazioni ricevute non sono sufficienti per poter fare altre inferenze sull'uso del habitat, core area, home range.

### **ID 237**

La 237 dopo essere rimasta per 28 giorni nell'area di cattura in data 31 marzo si trovava al confine con la Germania che ha raggiunto il 1 Aprile. Dal 3 Aprile non si hanno più localizzazioni.

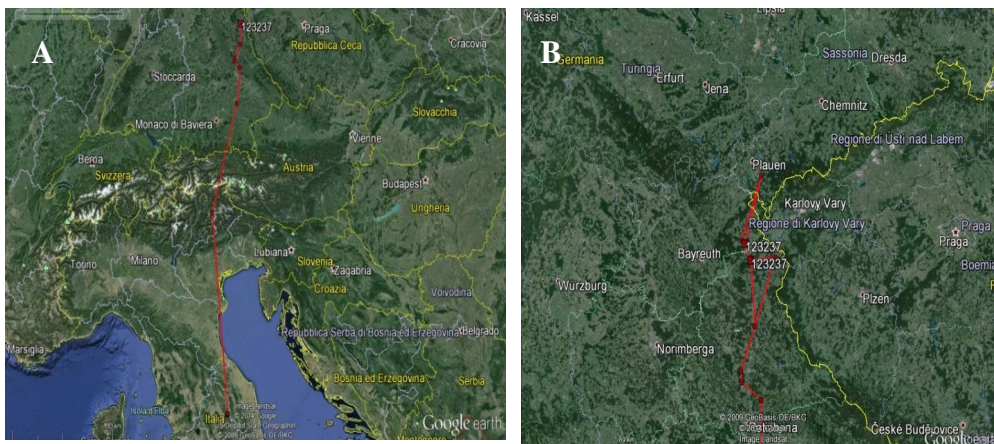


Figura 58. ID 237 A .Percorso di spostamento dall'area di cattura all'area fino in Germania.  
B=Località di sosta in Germania

### **ID 238**

Dopo circa 28 giorni dalla cattura la 238 ha iniziato il suo viaggio verso i quartieri di riproduzione. In data 2 aprile si trovava in Ungheria per poi essere localizzata dopo due giorni in Bielorussia.

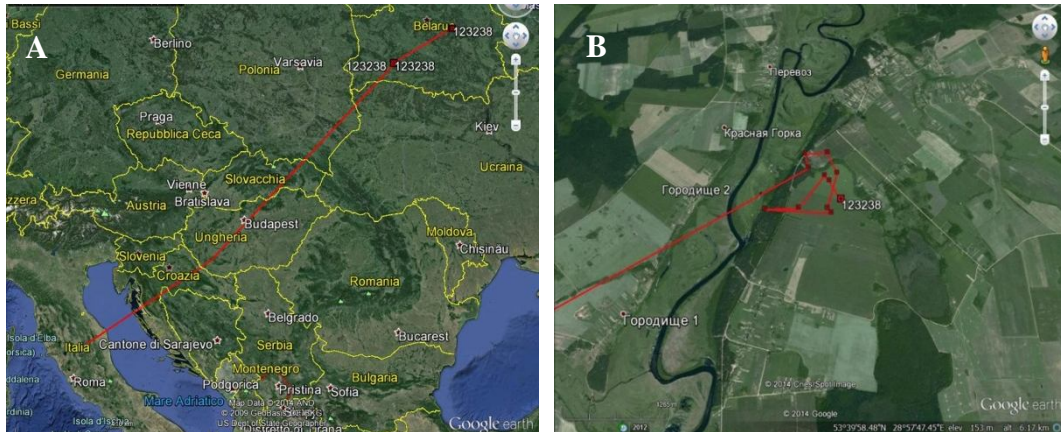


Figura 59. Primi spostamenti e sosta verso i quartieri di riproduzione. B particolare dell'area di sosta in Bielorussia

Ha sostato per 7 giorni in Bielorussia per poi proseguire in Russia verso Mosca oltrepassando la capitale di circa 320 km e fermandosi nel distretto di O'blast di Ivanovo in data 13 aprile. E' rimasta in questo distretto per 5 giorni poi spostarsi a SUD di circa 40 km nel distretto O'blast di Vladimir.

Dopo 22 giorni in data 22 maggio si è spostata di nuovo a circa 25 km sud dove è rimasta fino al 26 maggio per poi muovere verso sud di 80 km. Il segnale è poi scomparso per poi tornare ad essere ricevuto il 15 giugno sempre presso il distretto di O'blast di Vladimir in cui è rimasta emettendo segnali regolari fino al 21 luglio data in cui i segnali si sono interrotti per poi essere di nuovo registrati il 13 agosto sempre nella stessa zona per poi interrompersi in data 25 Agosto.

Il 29 Ottobre 2014 il segnale è stato registrato in Polonia indicando che la beccaccia stava tornando verso le aree di svernamento e che aveva percorso una parte del viaggio di ritorno verso i quartieri di svernamento.

Il 17 novembre aveva raggiunto di nuovo la stessa località di cattura dell'anno precedente in Umbria effettuando complessivamente un viaggio di 4870 km.

In totale si sono avute 277 localizzazioni di cui 29.3% di tipo LC (1,2,3), 2.8% di tipo LC (0), 67.50% di tipo LC (A,B,Z)



Figura 60. Percorso dall'area di cattura all'area di riproduzione ;B=sito nell'area di O'Blast di Vladimir con localizzazioni in data 15 giugno 2014

## DISCUSSIONI

Delle sette radio satellitari soltanto due hanno emesso per un periodo di tempo sufficiente a seguire gli individui nel periodo che va dallo svernamento alla riproduzione.

Le rotte tracciate dalle localizzazioni hanno convalidato flyways che si ipotizzavano attraverso le ricatture di individui inanellati.

In particolare si conferma che il centro Italia è raggiunto da individui provenienti da aree di riproduzione diversa che percorrono corridoi migratori differenti.

Parte degli individui radiomarcati hanno raggiunto le Marche nello specifico il promontorio del Parco del Conero utilizzando questa zona per una breve sosta prima di affrontare il passaggio del mar Adriatico e raggiungere i paesi balcanici.

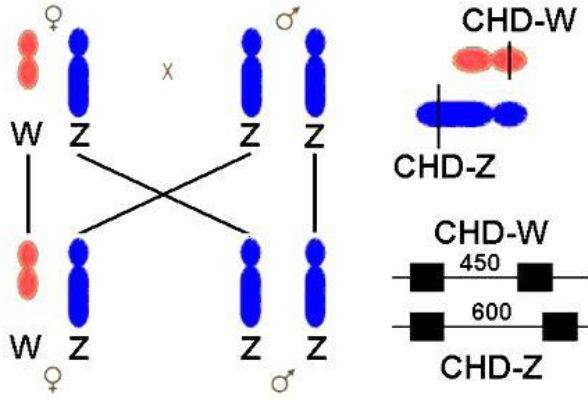
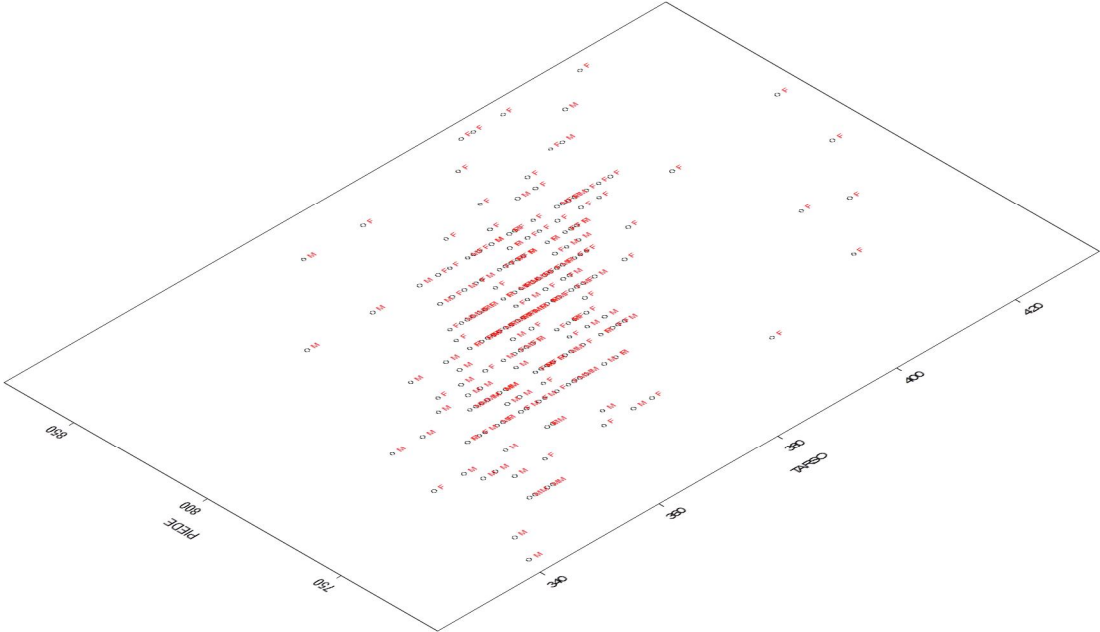
Due dei 7 individui hanno invece percorso la dorsale appenninica con direzione nord ovest e una è riuscita ad arrivare in Germania.

La migrazione degli individui è stata intervallata da diverse soste più o meno lunghe con un minimo di 5 ad un massimo di 20 giorni.

Il periodo più lungo di sosta è spostato verso la fine del tratto di migrazione quando gli individui sembrano aver raggiunto aree non molto distanti dai siti dove si riprodurranno.

I siti di sosta dove le beccacce hanno interrotto la loro migrazione di ritorno interessano aree negli stati della Croazia, Romania, Ungheria, Slovenia e Slovacchia. La Bielorussia si è mostrata una area molto importante per la sosta e il transito delle beccacce dirette verso la Russia orientale. Un unico individuo ha permesso di poter definire con maggiore precisione lo spazio utilizzato durante il periodo di nidificazione. L' *home range* delimitato è di 12ha in linea con quanto trovato durante il periodo di nidificazione da Hoodless & Coulson (1994). Le informazioni raccolte con la radiotelemetria satellitare sono di elevato valore scientifico. Tuttavia ancora molti sono i limiti legati all'efficienza della strumentazione. Le radio delle dimensioni utilizzate devono ancora essere migliorate dal punto di vista della ricarica e tarate in modo da poter affrontare le caratteristiche peculiari di specie come la beccaccia passa gran parte del ciclo biologico in aree densamente boscate.

**CAPITOLO 4 BIOMETRIA E SESSAGGIO**



*Figura di Steven M. Carr*

## INTRODUZIONE

Le misure morfometriche relative agli uccelli vennero dettagliate da Baldwin nel 1932 (Baldwin 1932) e nei decenni successivi ebbero un ruolo fondamentale nello studio delle popolazioni e nella comprensione di diversi quesiti biologici legati allo studio delle specie e sottospecie.

In passato gran parte delle ricerche morfometriche venne condotta nelle collezioni museali dove la presenza di un numero elevato di esemplari, provenienti da aree geografiche diverse, permetteva di approfondire molte tematiche biologiche (Jenni & Winkler 1989; Winker 1993, 1996).

Il peso corporeo fu una delle misure maggiormente esaminata nelle prime analisi biometriche per studiare la presenza di variazioni giornaliere e stagionali tra gli individui e nelle diverse fasi del ciclo biologico.

Il riconoscimento di differenze nelle misure biometriche di individui della stessa specie, ma provenienti da popolazioni diverse, ha permesso la scoperta delle sottospecie (Hernandez et al. 2011) e attraverso una attenta ricerca delle differenze biometriche tra popolazioni è possibile rispondere a numerose questioni di biologia applicata e teorica (Morgan 2004).

Un passo successivo in queste analisi è stato quello di utilizzare le misure biometriche per dividere gli individui in classi di sesso. Molte specie sono apparentemente monomorfiche e lo studio delle differenze morfometriche era, in passato, l'unico modo per ricercare eventuali caratteri che permettessero il riconoscimento del sesso negli individui.

La possibilità di distinguere i maschi dalle femmine e il calcolo che ne segue del rapporto numerico dei sessi all'interno di una popolazione è indispensabile per capire i meccanismi con cui queste rispondono a determinate sollecitazioni ambientali.

La stima della sex ratio soprattutto tra gli adulti può dare delle indicazioni di come gli individui all'interno delle popolazioni possono influenzare la stessa sopravvivenza della specie.

Charles Darwin (1871) fu il primo naturalista a riconoscere che la sex-ratio (rapporto

tra maschi e femmine adulte) in natura se sbilanciato verso una delle classi può avere ripercussioni sulle popolazioni.

Nel 1933, uno dei primi studi condotti sull'argomento confermava quanto dedotto da Darwin, affermando come in alcune specie di anatidi fosse rilevabile un "pericoloso" sbilanciamento tra classi di sesso e che l'eccessivo numero di maschi potesse essere correlato al declino delle popolazioni o ai cambiamenti ambientali. Nel 1939, Ernst Mayr dopo un'attenta revisione sull'argomento concluse che, in molte popolazioni, i maschi sono numericamente superiori alle femmine per una percentuale di circa il 10–20% (Mayr 1939) e che la variazione di questo rapporto è legato a diversi fattori fisiologici e comportamentali.

Pur con queste evidenze, il principio generale per la stabilità evolutiva erroneamente ascritto a Fisher nel lavoro *The Genetical Theory of Natural Selection* (Fisher 1930), ma che riprende concetti espressi da Darwin nel *The Descent of Man and Selection in Relation to Sex* del 1871 (Edwards 1998), fu accettato dalla maggior parte degli studiosi e ha portato a un generale disinteresse verso lo studio del rapporto tra i sessi. Questo principio afferma che nelle popolazioni la ratio dei sessi è pari tranne in poche eccezioni.

Successivamente altre ricerche hanno dimostrato come in alcune popolazioni il rapporto tra maschi e femmine adulti ASR (*Adult Sex Ratio*) è sbilanciato verso i maschi (McIlhenny 1940; Payevsky 1993).

Donald (2007) enfatizza l'importanza di questo parametro e la stretta relazione con la demografia, il comportamento e la sopravvivenza di una popolazione. Nel suo lavoro di revisione sulla sex ratio negli adulti sottolinea come numerosi studi abbiano dimostrato lo stretto legame tra ASR e il trend di una popolazione (Nadal et al. 1996, Wilkinson et al. 2002) o la qualità ambientale (Fretwell & Calver 1970, Butler & Merton 1992, Zanette 2001, Johnson et al. 2006).

L'ASR può quindi essere considerato come un valido indicatore sia dell'andamento di una popolazione sia dello status di conservazione di una specie; la variazione di questo rapporto può essere molto importante per indirizzare scelte gestionali.

La conoscenza dell'ASR può aiutare a chiarire le variazioni osservate in alcuni

parametri comportamentali e ambientali per maschi e femmine di specie migratrici a lungo raggio, come ad esempio, la data di arrivo nei quartieri riproduttivi (Kokko et al. 2006).

Il riconoscimento del rapporto maschi e femmine, inoltre è indispensabile per "pesare" i censimenti effettuati con metodi che tendono ad avere errori di sovrastima di una classe di sesso rispetto ad un'altra. Spesso i conteggi per alcune popolazioni sono effettuati censendo i maschi territoriali di una specie e questo potrebbe portare ad un errore sistematico di sovrastima o sottostima della reale dimensione della popolazione se ad esempio in quel momento la ASR è spostata a favore della classe di sesso che risponde a quel particolare censimento (Newson et al. 2005; Amrhein et al. 2007).

Si deve evidenziare che per le inferenze della struttura e dinamica di popolazione la *sex ratio*, come la *age ratio*, deve essere calcolata nelle aree di riproduzione.

Tuttavia, l'analisi di questi rapporti può dare delle indicazioni per chiarire molti aspetti che caratterizzano la fenologia dello svernamento nelle classi di età e sesso. Ad esempio, in molte specie di uccelli le femmine svernano in aree più lontane dalle aree di riproduzione e numerose ipotesi sono state formulate (Cristol et al. 1999; Nebel et al. 2002; Catry et al. 2005; Hedd et al. 2014).

Nello specifico in alcuni limicoli è stata osservata una presenza di femmine più marcata in aree a latitudini più meridionali (Nebel 2005). La divisione per aree di individui di classi di sesso diverse è relativamente comune e avviene a scale temporali e spaziali variabili (Catry et al. 2005).

In Italia, lo studio della *sex ratio* della beccaccia è fatta analizzando gli esemplari abbattuti durante l'attività venatoria. Questo è suscettibile di un errore di campionamento abbastanza evidente in quanto una classe di sesso potrebbe essere più suscettibile alla tipologia di caccia effettuata.

Le analisi biometriche sulla beccaccia sono state effettuate principalmente su individui morti abbattuti durante l'attività venatoria o su individui provenienti da collezioni museali. Entrambi questi campioni possono presentare delle variazioni biometriche con errori dovuti alla contrazione nei tessuti per effetto del



disseccamento o del congelamento.

In questo capitolo si analizzeranno le misure biometriche prese su beccacce vive e su un sotto campione sessato geneticamente si procederà ad una analisi discriminante per individuare le misure biometriche che possono essere utilizzate per separare i maschi dalle femmine sul campo.

## METODI

Gli individui sono stati divisi in classi di età (codifica EURING) seguendo il metodo di Clausanger (1973). Le misure biometriche raccolte (vedi metodologia generale) sono state confrontate tra classi di età per tutto il campione, mentre per un sotto campione (periodo 2001-2005) successivamente sessato geneticamente si è proceduto a fare dei confronti sia per classe di età che sesso (vedi metodologia generale).

Per il campione totale diviso in classi di età, la normalità dei dati e la varianza delle medie sono state analizzate con il test F di Fisher e il t di Student e per dati che si discostavano da questa sono stati utilizzati test non parametrici (test di Wilcoxon, test di Kolmogorov-Smirnov, test di Levene e il test di Ansari-Bradley test).

Le variabili morfometriche sono state analizzate per controllare se vi fosse una correlazione tra queste (test R di Pearson) al fine di poter scegliere quelle con una correlazione bassa per rispettare gli assunti statistici per le analisi successive.

Nel sotto campione sessato per individuare quali misure biometriche possono essere utili nella identificazione del sesso ed escludere che non vi sia confusione con individui appartenenti a classi di età diversa si è proceduto ad una ANOVA fattoriale a due vie con il sesso, l'età e l' interazione tra i due fattori, come variabili esplicative.

Utilizzando le misure biometriche risultate significativamente diverse tra maschi e femmine e scegliendo quelle non correlate e con una alta significatività, è stata applicata una analisi discriminante con una procedura *forward stepwise* correlata ai valori del Wilk's Lambda Statistic. Il tasso di successo di classificazione è stato aggiustato con la procedura *jackknifed cross-validation* al fine di evitare la

multicollinearità (Dechaume-Moncharmont et al. 2011).

Nello studio delle classi di sesso la deviazione dalla parità è stata testata con il G-test. Le misure sono indicate con media +/- la deviazione standard e le differenze sono state considerate significative quando  $P < 0.05$ .

Tutte le analisi sono state effettuate con il software R vers. 3.05 (R Development Core Team 2013).

## RISULTATI

Sono stati analizzati 1146 individui, di cui 323 Adulti e 823 Giovani (Tabella 4).

Nel campione totale, gli Adulti e i Giovani (n=1328) differiscono tra loro (Tabella 5), con gli adulti che presentano le misure dell'ala più grande ( $x=318\pm26.6$  adulti,  $x=311.9\pm24.2$  giovani;  $t=3.57$   $P<0.001$ ), la corda massima maggiore ( $x=205\pm5.4$  adulti,  $x=203.1\pm5$  giovani;  $t=5.41$   $P<0.001$ ) la nona primaria più lunga ( $x=134.4\pm3.9$  adulti,  $x=133.5\pm3.8$  giovani;  $t=2.5$   $P<0.01$ ); un peso maggiore ( $x=318\pm26.6$  adulti,  $x=311.9\pm24.2$  giovani;  $t=3.57$   $P<0.001$ ) e la prima primaria più lunga ( $x=22.9\pm1.7$  adulti,  $x=22.1\pm1.9$ ;  $W=22925$   $P<0.001$ ).

Tabella 4. Variabili biometriche analizzate tra classi di età nella stazione storica di Castelporziano.

	Adulti	SD	N	Giovani	SD	N
PESO (g)	318.1	26.7	322	311.9	24.3	818
ALA_1 (mm)	205.0	5.5	300	203.2	5.0	794
ALA_2 (mm)	134.4	3.9	166	133.5	3.8	604
BECCO_1 (mm)	74.7	3.2	300	74.5	3.3	793
BECCO_2 (mm)	112.3	3.8	298	112.1	3.7	791
BECCO_3 (mm)	63.3	2.9	278	63.4	3.1	766
TARSO (mm)	37.9	1.5	279	37.8	1.5	770
CODA (mm)	81.8	3.5	211	80.3	3.7	580
PIEDE (mm)	80.2	2.7	299	79.9	2.7	789
P_P (mm)	22.5	2.0	33	22.7	1.9	466

Ala\_1 Corda massima; ALA\_2 Nona primaria; BECCO\_1 misura del becco dalle piume all'apice; BECCO\_2 lunghezza della testa più becco; BECCO\_3 Naloppi misurato dallo scalino esterno; P\_P undicesima primaria.

Tabella 5. Differenze biometriche tra Adulti e Giovani dell'intero campione.

	N	Adulti	Giovani	t	P-value	Sign.
PESO (g)	322	318±26.6	311.9±24.2	3.57	<0.001	***
ALA_1 (mm)	300	205±5.4	203.1±5	5.41	<0.001	***
ALA_2 (mm)	166	134.4±3.9	133.5±3.8	2.5	<0.01	**
BECCO_1 (mm)	300	74.7±3.2	74.4±3.2	1.2	0.213	
BECCO_2 (mm)	298	112.3±3.7	112.1±3.6	0.7	0.4	
BECCO_3 (mm)	278	63.3±2.8	63.4±3.0	-0.2191	0.82	
TARSO (mm)	279	37.8±1.4	37.7±1.4	W = 100879.5*	0.13	
PIEDE (mm)	299	80.2±2.6	79.9±2.6	1.58	0.11	
P_P (mm)	33	22.9±1.7	22.1±1.9	W= 22925	<0.001	***

\*Test di Wilcoxon

#### ANALISI DESCRITTIVE PER CLASSE D'ETA' E SESSO

Sono state sessate 259 beccacce di cui 125 maschi e 138 femmine. Le analisi di correlazione per le misure biometriche negli adulti e giovani sessati (Tab.5 e Tab. 6 adulti; Tab.7 e Tab.8 giovani) evidenziano che le variabili ALA\_1 e ALA\_2, le tre variabili BECCO\_1, BECCO\_2 e BECCO\_3, le variabili TARSO e PIEDE risultano altamente correlate in entrambe le classi di età.

Sono evidenziati in rosso i coefficienti di correlazione significativamente diversi da zero ed elevati (di almeno 0.7)

Tabella 6. Matrice di correlazione delle misure biometriche degli Adulti

	PESO	ALA_1	ALA_2	BECCO_1	BECCO_2	BECCO_3	TARSO	PIEDE	P_P
PESO	1.00	0.37	0.29	0.25	0.18	0.25	0.35	0.25	0.8
ALA_1	0.37	1.00	0.84	0.20	0.15	0.14	0.27	0.28	0.5
ALA_2	0.29	<b>0.84</b>	1.00	0.11	0.03	0.04	0.12	0.13	0.7
BECCO_1	0.25	0.20	0.11	1.00	0.74	0.90	0.47	0.34	0.9
BECCO_2	0.18	0.15	0.03	<b>0.74</b>	1.00	0.72	0.46	0.33	0.7
BECCO_3	0.25	0.14	0.04	<b>0.90</b>	<b>0.72</b>	1.00	0.44	0.29	0.6
TARSO	0.35	0.27	0.12	0.47	0.46	0.44	1.00	0.75	0.16
PIEDE	0.25	0.28	0.13	0.34	0.33	0.29	<b>0.75</b>	1.00	0.5
P_P	0.18	0.45	0.37	0.09	0.07	0.06	0.16	0.15	1.0

Tabella 7. Matrice di correlazione delle misure biometriche dei Giovani

	PESO	ALA_1	ALA_2	BECCO_1	BECCO_2	BECCO_3	TARSO	PIEDE	P_P
PESO	1.00	0.39	0.29	0.23	0.15	0.21	0.30	0.17	0.18
ALA_1	0.39	1.00	0.82	0.18	0.12	0.10	0.16	0.19	0.43
ALA_2	0.29	<b>0.82</b>	1.00	0.08	0.02	0.00	0.03	0.02	0.36
BECCO_1	0.23	0.18	0.08	1.00	0.76	0.91	0.45	0.27	0.15
BECCO_2	0.15	0.12	0.02	<b>0.76</b>	1.00	0.74	0.48	0.34	0.11
BECCO_3	0.21	0.10	0.00	<b>0.91</b>	<b>0.74</b>	1.00	0.43	0.22	0.12
TARSO	0.30	0.16	0.03	0.45	0.48	0.43	1.00	0.75	0.15
PIEDE	0.17	0.19	0.02	0.27	0.34	0.22	<b>0.75</b>	1.00	0.18
P_P	0.18	0.43	0.36	0.15	0.11	0.12	0.15	0.18	1.00

Nell'articolo che segue sono state approfondite le analisi sul campione sessato e sulla discriminata per il riconoscimento del sesso nella beccaccia.

**SEX DETERMINATION OF EURASIAN WOODCOCK (*SCOLOPAX RUSTICOLA*) A  
MOLECULAR AND MORPHOLOGICAL APPROACH**

ARIANNA ARADIS<sup>1,\*</sup>, GIUSEPPE LANDUCCI<sup>2</sup>,  
MARCELLO TAGLIAVIA<sup>3</sup>, MASSIMILIANO BULTRINI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Department of Agricultural and Forestry Science, Applied Zoology Lab., University of Palermo, V.le Scienze 13, 90128 Palermo, Italy

<sup>2</sup> Tenuta Presidenziale di Castelporziano, Via Pontina 690, 00128, Roma, Italy

<sup>3</sup> Department of Agricultural and Forestry Science, Applied Zoology Lab.,  
V.le Scienze 13, 90128, Palermo, Italy

<sup>4</sup> Ispra - Institute for Environmental Protection and Research, Via Vitaliano Brancati 48, 00166, Roma, Italy

<sup>1</sup> Corresponding author; E-mail: aradis.arianna@gmail.com

*Article submitted to Ardea Journal*

**Abstract**—We used molecular sexing and morphological analysis to characterize sexual size dimorphism (SSD) in Eurasian Woodcock (*Scolopax rusticola*) wintering in central Italy. We analyzed SSD in 259 individuals (125 males and 134 females) sexed molecularly based on size differences in CHD-linked sequences from W- and Z- chromosomes. Females were significantly larger than males in bill measurements, tarsus and length of tarsus plus middle toe, while males had longer wing chord and ninth primary length. A discriminant function analysis was applied to a set of morphometric traits to study whether parameters of body size may be used to reliably sex individuals of this species in the field. We formed two equations, one for adults, which was 78.7% accurate, and one for juveniles, which was 76.6% accurate. Discriminant analysis showed that the length of the ninth primary, tarsus and nail length was the most useful trait in sexing adult Eurasian Woodcock. Wing chord, nail length and tarsus were helpful in sexing juvenile birds.

Combining the results of DNA molecular sexing and several biometrics, would enable the development of easier sexing techniques. Our results will aid future

studies looking at gender differences in the field.

**Key Words.**—biometrics, CHD2550F and CHD2718R, discriminant function analysis, field measurements, *Scolopax rusticola*, gender determination, sexual dimorphism

Suggested running title: SEX DETERMINATION OF *Scolopax rusticola*

Many birds are monomorphic or show little dimorphism between sexes. The shorebirds (Charadriiformes: suborders Charadrii and Scolopaci) display a considerable degree of size and plumage dimorphism that almost encompasses the range of variation found in the Class Aves (Jehl & Murray 1986). They include species with normal dimorphism as males being the larger sex, others with slight sexual size differences, while others have a reverse dimorphism with females being the larger sex (Jehl & Murray 1986; Szekely *et al.* 2004).

The Eurasian Woodcock (*Scolopax rusticola*) is a wader with a wide breeding range in central, northern and eastern forests of Europe and winters primarily in France, Britain, Ireland, northern Spain, Italy and areas fringing the Mediterranean (Cramp & Simmons 1983, Piersma 1996). Similar to other Charadrii waders, the Eurasian Woodcock displays sexual monomorphism in plumage and size with slight differences between the sexes (Clausager 1973 Cramp & Simmons 1983, Ferrand & Gossman 2009).

Several studies have attempted to identify biometrics that could be used to distinguish males and females (MacCabe & Brackbill 1973, Stronach *et al.* 1974, Rockford & Wilson 1982). Those previous studies focused on differences between morphological measurements taken from museum skins or birds shot during the hunting season neither of which is ideal for field situations. Measurements from museum specimens could be imprecise due to shrinkage or sex mislabeling of the specimens (Summer 1976, Lee & Griffiths 2003, Wilson & McCracken 2008). In addition, some measurements from specimens are not repeatable on live birds (e.g.

body length).

Differences in biometric measurements to infer gender have been investigated using various statistical analyses such as linear models, principal component analysis and discriminant function analysis ( Remisiewicz & Wennerberg 2006, Schroeder *et al.* 2008, Brady *et al.* 2009). The discriminant function analysis is the most popular of these statistical methods and its use has increased in recent decades (Dechaume-Moncharmont *et al.* 2011). Effectiveness of discriminant functions must be estimated before choosing the best-suited morphological variables to sex individuals.

Currently verification of sex is easily done through molecular techniques using feathers or a small drop of blood as the source of DNA. Various methods have been proposed for sexing of non-ratite birds (Griffiths *et al.* 1998, Fridolfson & Ellegren 1999), and molecular sexing of Eurasian Woodcock has been reported by Vali (2002) and Vučićević *et al.* (2012).

There is, to our knowledge, no available biometric work to assess sex determination on live birds from the wintering Woodcock population in Europe and our data from captured and released birds is especially relevant. In this study, we investigated whether several morphometric measurements taken during ringing activity were useful in sexing Woodcock caught during the wintering period in central Italy, focusing on those measurements that are easy to collect in the field.

## METHODS

Woodcocks were captured as part of a long term study to monitor the wintering ecology of the species in central Italy, ongoing since 1993. The study area is inside the Presidential Estate of Castelporziano, a protected area of approximately 6000 ha located 20km south of Rome (41°44'N-12°24'E). The vegetation consists of broad-leaf forest dominated by Holm Oak *Quercus ilex*, Turkey Oak *Q. cerri*, Pedunculate Oak *Q. robur*, Cork Oak *Q. suber* and Hungarian Oak *Q. farnetto*, as well as Mediterranean scrub, Stone pine *Pinus pinea*, large grazing areas and fields cultivated for growing oats.

During the 1994-2012 ringing seasons, between October and February, we caught

1290 Woodcock, including 878 juveniles and 412 adults.

Woodcock were caught in grazed areas and other open areas using night-lighting methods modified from Glasgow (1958). Captured birds were fitted with aluminum leg bands and classified as adults (more than one calendar year old) or juveniles (hatched the preceding summer) according to plumage characteristics and moult status (Clausager 1973; Ferrand & Gossman 2009). The following body size measurements were recorded: wing chord length (WING; maximum flattened chord), primary 9th (P9), reduced primary or outermost primary length (RP), head plus bill length (HEAD-L; from the tip of the bill to the back of the skull), bill length (BILL1; from the tip of the bill to the feathering), nalospi (BILL2; length of bill from the tip to the proximal edge of the nostrils), tarsus length (TARSUS from the rear of the tibia to the last completed scale), tarsus + toe length (TT; tarsus plus mid-toe length without nail  $\pm 1$  mm), tail (TAIL; length of the central pair of rectrices) and weight. Wing was measured to the nearest 1 mm with a zero-stop ruler and other linear measurements to the nearest 0.1 mm with a Vernier caliper. The P9 and the RP were measured with a wing rule where the end but was replaced by a small vertical blunt pin. The tail was measured with a square ended flat ruler. Birds were weighed using a Sartorius electronic balance (precision:  $\pm 0.1$  g). All measurements were taken by the same ringer (GL) to avoid bias between data collectors.

During 2005-2007, we collected blood and feathers sample from 259 Woodcock. A small drop of blood (0.1ml) was obtained from the leg vein and absorbed on a filter paper. Blood spot specimens were dried over an open nonabsorbent surface at 15–22°C and then stored in low gas-permeable zip-closure bags at room temperature until they were analyzed.

Molecular sexing of birds was performed by direct-PCR, targeting CHD-linked (chromodomain helicase DNA binding protein gene) sequences from Z- and W-chromosomes (Fridolfsson & Ellegren, 1998, Vučićević 2012). PCR were carried out in a final volume of 20  $\mu$ l, containing 20 ng DNA, 0.2 mM dNTP, 0.5  $\mu$ M of each primer (CHD2550F and CHD2718R), 0.2  $\mu$ l of Phire Hot-Start II DNA Polymerase (Thermo Scientific) and 1x reaction buffer. Reaction conditions were: initial



denaturation at 98°C for 20 sec followed by 40 cycles composed of denaturation at 98°C for 10 s, annealing at 50°C for 10 s, extension at 72°C for 15 s, and a final extension at 72°C for 2 min. PCR products were fractionated by electrophoresis, with a voltage gradient of 5V/cm, onto agarose gel pre-stained with GelRed (Biotium). Gels were visualized under UV light.

Dimorphism index (DI) was calculated for each morphometric character following Weidinger and Franeker (1998):  $SSD \% = 100 * [(male\ mean\ size / female\ mean\ size) - 1]$ . For all variables, coefficients of variation ( $CV = (SD/mean) \times 100$ ) were calculated for each sex to indicate the degree of variability of each measurement (Sokal & Rohlf 1995). We used Pearson correlations to examine relationships among the morphometric characters. We examined data for assumptions of normality and homogeneity of variance, using Kolmogorov-Smirnov and Levene test respectively. Because adult birds might differ from juveniles in measurements, a two-way factorial ANOVA was run on class age with age and sex as independent factors and with interaction term  $sex \times age$ . Inter-sexual differences in morphological traits were tested with a two-sample *t*-test in each age class.

Forward stepwise discriminant analyses was performed on biometrics to obtain combinations of characteristics (discriminant functions), that best distinguished the sexes, by using their discriminatory power according to the Wilks' Lambda statistic (Field 2005).

The variables entered into the stepwise procedure were those with high significance for intersexual differences and low correlation in order to minimize multicollinearity effects. The assumption of homogeneity of the variance-covariance matrices was checked with Box's M test.

Following Sikora & Dubiek (2007), the cut-off point used for classifying cases was obtained as the weighted average of the values at the group centroids. If the discriminant score was above the cut-off point the case was classified as male and if below as female.

As suggested by Dechaume-Moncharmont et al. (2011), the classification success rate was assessed with a jackknifed cross-validation procedure in which each case is

classified using a discriminant function based on all cases except the given case.

Some variables were not included in the analysis: weight because this measure can vary greatly according to several factors and tail length for the high rate of missing data. Deviation of the sex-ratio from parity was tested with the G-test.

Unless otherwise stated, metrics are reported as mean  $\pm$  1 SD, and differences were considered statistically significant at  $P < 0.05$ .

All statistical analyses were carried out using the R software (R Development Core Team 2011).

## RESULTS

Of the 259 birds that were sexed by DNA analysis, 125 were identified as males and 134 as females. The sample analyzed with molecular methods showed the expected pattern of two bands in females and one band in males. The set of 2550F/2718R primers (Fridolfsson and Ellegren 1999) proved to be successful in sex identification of European Woodcock.

The sex-ratio was not different from parity in either age group ( $G_{1,91} = 2.82$ ,  $P=0.093$  for adults;  $G_{1,168} = 0.292$ ,  $P=0.589$  for juveniles).

Adult Eurasian Woodcock differed from juvenile birds in WING ( $F_{1,255}=5.31$   $P<0.05$ ;  $\bar{x}=204.5\pm 5.5$ mm for adults and  $\bar{x}=203.2\pm 5$  mm for juveniles), 9P ( $F_{1,254}=3.98$   $P<0.01$ ;  $\bar{x}=134.3\pm 4$  mm for adults and  $\bar{x}=133.6\pm 4.1$  mm for juveniles) and RP ( $F_{1,245} = 9.59$ ,  $P<0.05$ ;  $\bar{x}=23.3\pm 1.9$  mm for adults and  $\bar{x}=22.1\pm 1.9$  mm for juveniles), so adult and juvenile birds were treated separately in all further analyses (Table 1).

Morphological measurements from the molecularly sexed Woodcock revealed intersexual differences in seven measurements in both age classes (Tables 2 and 3). There were no differences in weight and RP, which were excluded from further analysis as being unlikely to contribute to sex recognition.

Weight and RP showed the highest within-sex variation in both age groups.

The degree of sexual dimorphism differed among variables, BILL2 was the most dimorphic variable in adults and TARSUS in juveniles.

The variables with sexually dimorphic traits were highly correlated: WING and P9 ( $r = 0.82$  juveniles;  $r = 0.86$  adults), BILL1 and HEAD-L ( $r = 0.76$  juveniles;  $r = 0.68$  adults), BILL1 and BILL2 ( $r = 0.91$  juveniles;  $r = 0.87$  adults), TARSUS and TT ( $r = 0.75$  juveniles;  $r = 0.74$  adults).

For adult birds, the discriminant analysis selected BILL2 (Wilks' Lambda: 0.87,  $P < 0.001$ ), P9 (Wilks' Lambda: 0.72,  $P < 0.001$ ), TARSUS (Wilks' Lambda: 0.68,  $P < 0.001$ ) and produced the following equation:

$Z_a = 0.02251524 * P9 - 0.02522944 * BILL2 - 0.03901201 * TARSUS$ . The cut-off point was  $Z_a = -0.2701418$  (Fig. 1A). If  $Z \leq -0.2701418$  the bird is a female ;  $Z > -0.2701418$  then it is a male.

This equation accurately assigned sex to 78.7% of the adult Woodcocks (79.6% of the females, 77.1% of the males; Fig.1A) whose sex was determined by PCR. Jack-knifed cross-validation produced the same classification success rate (95% CI: 68.4% – 86.3%).

For juveniles, BILL2 (Wilks' Lambda: 0.74,  $P < 0.001$ ), TARSUS (Wilks' Lambda: 0.84,  $P < 0.001$ ), WING (Wilks' Lambda: 0.76,  $P < 0.001$ ), contributed to the sexing procedures and produced the following equation:

$Z_j = 0.01331001 * WING - 0.01238357 * BILL2 - 0.05974008 * TARSUS$ .

The cut-off point was  $Z = -3.305091$  (Fig. 1B). If  $Z \leq -3.305091$  the bird is a female ;  $Z > -3.305091$  then it is a male.

This equation accurately assigned sex to 76.0% of the juveniles Woodcocks (78.8% of the females, 73.6% of the males; Fig.1B) whose sex was determined by PCR. Jack-knifed cross-validation classified 70.7% of the juveniles (95% CI: 63.0% – 77.3%).

## DISCUSSION

Our equations correctly sexed 78.7 % of adults (79.6% of females and 77.1% of males) and 76% of juveniles(78.8% females and 73.6% males). We found that in adults the best discriminant variables in the Eurasian Woodcock wintering in central Italy were ninth primary, nalospi and tarsus length while in juveniles were wing

chord, nalospi and tarsus.

Our results improved the percentage of adults correctly sexed by discriminant analysis in this species. The measure of nalospi could be a more precise discriminant among bill measurements to separate females. When in our equation we evaluated the performance of the bill measure (from the tip of the bill to the feathering), including ninth primary and tarsus length as discriminatory variables, the proportion of birds of known sex that were classified correctly was lower (75.3%) and consistent with the percentage found in previous study (Stronach *et al.* 1974, Rochford & Wilson 1980, Hoodless 1994, Fadat 1995).

The length of the ninth primary feather (P9) has never previously been used to distinguish females from males in this species. Fadat (1995) found that the first longest primary (P10) is longer on males than in females of 2.5 mm in both age groups nonetheless with an high range of variation. In the American Woodcock *Scolopax minor*, females and males are separated on the basis of differences in the width of the first three primaries (Martin 1964, Artmann & Schroeder 1976) and the maximum wing chord measurement.

In autumn and winter, adult have just moulted their large feathers (primaries, secondaries, tertials and rectrices) (Ferrand & Gossman 2009) and the study of primaries remiges as predictor of sex deserves more examination in this age class.

In juveniles this measure could be less helpful because their feathers are more worn because they don't moult their primaries during the first year (Ferrand & Gossman 2009).

In the breeding period, Hoodless (1994) produced a discriminant equation with 94% of cases sexed on the basis of the three measurements bill, tail and weight. During the breeding season, the weight is a reliable measure to insert in a discriminant analysis because females are heavier prior to egg laying and after incubation (Hoodless 1994). However, outside this season, the weight is not a suitable variable because it fluctuates depending on season, prey availability, migration molt strategy (Fadat 1995; Gossmann & Ferrand 1998).

In our sample, we did not find any differences in weight between males and females

in either age class as reported in a previous study (Fadat 1995).

From our experience, tail length is not an easy trait to measure on live woodcock. The main capture technique used with this species in winter (dazzling ) can cause accidental loss of some rectrices preventing accurate measurement of the tail. The morphological characters used to sex Eurasian Woodcock in the past have to be revised with a view to their utility for sexing birds during ringing activities. The differences between age group and the season in which the measures are taken have to be stressed.

A potential problem with the discriminant function equations for sexing birds is the variation among the different bird-ringers in taking measurements. It is important to take standard measurements so that results are comparable among studies and data can be replicated by other workers as advised by Winker (1998).

The discriminant analysis as an alternative to molecular techniques provides an efficient tool for sexing species in the hand. The effective use of this equation is when the accuracy rates of correctly assigned sex is high.

For example, Sikora & Dubiek (2007) in Jack Snipe *Lymnocyptes minimus*, found a discriminant function, based on four morphological traits, reliable to sexing of 99% of individuals. De Marchi et al. (2012) produced a discriminant function that correctly classified 97.4% of Crab Plovers *Dromas ardeola* providing an efficient tool for sexing this species in the hand. Such high successes in sex identification may support this approach when DNA analysis is not be possible and non-invasive sampling is required.

Identifying morphological characteristics to improve the percentage of the Eurasian Woodcock sexed in the field during ringing activity could improve understanding of demographic issues and also yield valuable insights into their management and conservation.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank M.W. Miller, C. Brakes and A. Hoodless for their helpful comments. We thank Bruno Massa for technical support and comments on an earlier draft of the manuscript. The experiments, and in particular sampling methodologies and laboratory analyses, comply with current laws of the Countries where they were performed.

## REFERENCES

- Artmann J.W. & Schroeder L.D. 1976. A technique for sexing woodcock by wing measurement. *Journal of Wildlife Management* 40: 572-574.
- Brady R.S., Paruk J.D. & Kern A.J. 2009. Sexing adult Northern Shrikes using DNA, morphometrics, and plumage. *Journal of Field Ornithology* 80: 198-205.
- Clausager I. 1973. Age and sex determination of the Woodcock, *Scolopax rusticola*. *Danish Revue of Game Biology*: 1-18.
- Cramp S. & Simmons K. E. L. 1983. *Handbook of the Birds of Europe, the Middle East and North America: The Birds of the Western Palearctic. Waders to Gulls. Volume 3.* Oxford University Press, Oxford, U.K.
- Dechaume-Moncharmont F.X., Monceau K. & Cezilly F. 2011. Sexing Birds Using Discriminant Function Analysis: A Critical Appraisal. *The Auk* 128: 78-86.
- Del Hoyo J., Elliott A. & Sargatal J. 1996. *Handbook of the Birds of the World, vol. 3: Hoatzin to Auks.* Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
- De Marchi G., Fasola M., Chiozzi G., Bellati A. & Galeotti P. 2012. Sex Discrimination of Crab Plovers (*Dromas ardeola*) by Morphometric Traits. *Waterbirds* 35(2): 332-337.
- Fadat C. 1995. *La Bécasse des bois en hiver. Ecologie, Chasse, Gestion.* Clermont-l'Hérault, France, Maury presse.
- Ferrand Y. & Gossmann F. 2009. Ageing and sexing series 5: Ageing and sexing the Eurasian Woodcock *Scolopax rusticola*. *Wader Study Group Bulletin* 116: 75-79.
- Fridolfsson A.K. & Ellegren H. 1999. A simple and universal method for molecular sexing of non-ratite birds. *Journal Avian Biology* 30: 116-121.

- Glasgow L. 1958. The night-time capture of Woodcock and others birds for banding. Ring 14: 10-11.
- Gossmann F. & Ferrand Y. 1998. Impact of the 1996/1997 cold spell on woodcock in France based on ring recoveries. *In*: Kalchreuter, H. (ed), Proceedings of the fifth European woodcock and snipe workshop. Wetland International Global series n°4: 37-39.
- Griffiths R., Double M.C., Orr K. & Dawson R.J.G. 1998. A DNA test to sex most birds. *Molecular Ecology* 7: 1071-1075.
- Jehl J.R. Jr & Murray B.G. Jr. 1986. The evolution of normal and reverse sexual size dimorphism in shorebirds and other birds. *In* R. F. Johnston, ed. *Current Ornithology*. Vol.3, pp.1–86, Springer, New York.
- Hoodless A.N. 1994. Aspects of the ecology of the European woodcock (*Scolopax rusticola*), PhD thesis, Durham University. Available at Durham E-Theses Online: <http://etheses.dur.ac.uk/5519/>
- Lee P.L.M. & Griffiths R. 2003. Sexing errors among museum skins of a sexually monomorphic bird, the Moorhen *Gallinula chloropus*. *Ibis* 145: 695-698.
- McCracken K. G., Paton D. C. & Afton A. D. 2000. Sexual size dimorphism of the Musk Duck. *Wilson Bulletin* 112: 457–466.
- MacCabe R.A. & Brackbill M. 1973. Problems in determining sex and age of European Woodcock. *In*: Proceeding of the Xth International Congress of Game Biologists: 619-637.
- Martin F.W. 1964. Woodcock age and sex determination from wings. *Journal of Wildlife Management* 28: 287-293.
- Piersma T. 1996. Family Scolopacidae. Pages 444-487 *in* Handbook of the Birds of the World vol. 3: Hoatzin to Auks (J. del Hoyo, A. Elliot and J. Sargatal, eds). Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
- R Development Core Team. 2013. R: a language and environment for statistical computing v. 3.1.0. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org/>, accessed 12 november 2013.
- Remisiewicz M. & Wennerberg L. 2006. Differential migration strategies of the

- Wood Sandpiper (*Tringa glareola*): Genetic analyses reveal sex differences in morphology and spring migration phenology. *Ornis Fennica* 83: 1-10.
- Rochford J.M. & Wilson H.J. 1982. Value of biometric data in the determination of age and sex in the woodcock (*Scolopax rusticola*). U.S. Fish and Wildlife Service. Research Report 14: 158-167.
- Schroeder J., Lourenço P.M., Van der Velde M., Hooijmeijer J.C.E.W., Both C. & Piersma T. 2008. Sexual dimorphism in plumage and size in Black-tailed Godwits *Limosa limosa limosa*. *Ardea* 96: 25-37.
- Sikora A. & Dubiec A. 2007. Sex identification of Jack Snipe *Lymnocyptes minimus* by discriminant analysis of morphometric measurements. *Ardea* 95(1): 125–133.
- Sokal R. R. & Rohlf F. J. 1995. *Biometry*. 3rd edition. W. H. Freeman and Company, New York.
- Stronach B., Harrington D. & Wilhsnes N. 1974. An analysis of Irish Woodcock data. In: Proceedings of the Fifth American Woodcock Workshop Athens, GA.
- Summers R.W. 1976. The value of bill lengths of museum specimens in biometric studies. *Wader Study Group Bulletin* 17: 10-11.
- Svensson L. 1992. Identification guide to European Passerines. Stockholm.
- Székely T., Reynolds J.D. & Figuerola J. 2000. Sexual size dimorphism in shorebirds, gulls, and alcids: the influence of sexual and natural selection. *Evolution* 54: 1404-1413.
- Tabachnick B. G., & Fidell. S. 1996. *Using multivariate statistics*. (3rd ed.). New York: Harper Collins College Publishers
- Väli Ü. & Elts J. 2002. Molecular sexing of Eurasian Woodcock *Scolopax rusticola*. *Wader Study Group Bulletin* 98: 48.
- Vučičević M., Stevanović J., Vučićević I., Pantelić A., Đelić N., Resanović R. & Stanimirović Z. 2012. Sex determination in game birds management. *In* : International symposium on hunting, “Modern aspects of sustainable management of game population” Zemun-Belgrade: 91-94.
- Weidinger K. & Franeker J.A. van. 1998. Applicability of external measurements for



sexing of the Cape Petrel *Daption capense* at within-pair, within-population and between-population scales. *J. Zool. Lond.* 245: 473–482.

Wilson R. E. & McCracken K.G. 2008. Specimen Shrinkage in Cinnamon Teal. *The Wilson Journal of Ornithology* 120: 390-392.

Winker K. 1998. Suggestions for measuring external characters of birds. *Ornitologia neotropical* 9: 23-30.

Table 1. Two-way ANOVA (sex, age) in Eurasian Woodcock in central Italy \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ ; ns: not significant.

	df	Sex		Age		Sex x Age	
		F	P	F	P	F	P
WEIGHT	1,252	0.01	ns	0.40	ns	1.13	ns
WING	1,255	11.41	***	5.31	*	0.03	ns
RP	1,245	0.05	ns	9.59	**	0.81	ns
9P	1,254	18.43	***	3.98	*	0.33	ns
HEAD-L	1,252	16.46	***	0.28	ns	1.00	ns
BILL1	1,255	21.49	***	0.21	ns	0.29	ns
BILL2	1,254	24.75	***	2.44	ns	0.00	ns
TARSUS	1,254	28.74	***	0.63	ns	1.28	ns
TT	1,255	15.30	***	1.48	ns	0.80	ns

Table 2. Male and female body measurements<sup>(a)</sup> (mean  $\pm$  SD), range (min-max), coefficients of variation (CV) and sexual size dimorphism (SSD) of adult Eurasian Woodcocks wintering in central Italy. All measurements are given in mm, except weight in g. The difference in the measurements between the sexes was tested with a *t*-test.

	Females ( <i>n</i> =54)		Males ( <i>n</i> =37)		<i>P</i>	CV(%)	SSD%
	Mean( $\pm$ SD)	Range	Mean( $\pm$ SD)	Range			
WEIGHT	317 $\pm$ 31.1	230.6 – 386.6	314 $\pm$ 26.7	220.3 – 366.9	0.4898	9	1.38
WING	203.5 $\pm$ 4.9	192.0 – 215.0	204.2 $\pm$ 5.4	194.0 – 220.0	0.041952	3	1.16
RP	23.2 $\pm$ 1.8	18.0 – 27.0	22.5 $\pm$ 2	17.5 – 26.5	0.4888	8	1.23
9P	133.3 $\pm$ 3.8	126.0 – 144.0	134.5 $\pm$ 4.2	128.0 – 145.0	0.0037	3	1.92
HEAD-L	112.5 $\pm$ 3	107.1 – 119.2	111 $\pm$ 3.5	105.8 – 117.7	0.0366	3	1.17
BILL1	75.4 $\pm$ 3.0	69.5 – 82.2	73.7 $\pm$ 3.2	66.7 – 79.0	0.0061	4	2.21
BILL2	63.8 $\pm$ 2.7	58.2 – 71.0	62.5 $\pm$ 3.1	56.7 – 66.4	0.0007	3	2.88
TARSUS	38.1 $\pm$ 1.2	34.3 – 41.7	37.1 $\pm$ 1.3	34.3 – 39.7	0.0101	3	1.88
TT	80.8 $\pm$ 2.4	75.0 – 87.0	79.1 $\pm$ 2.6	73.0 – 86.0	0.0594	3	1.24

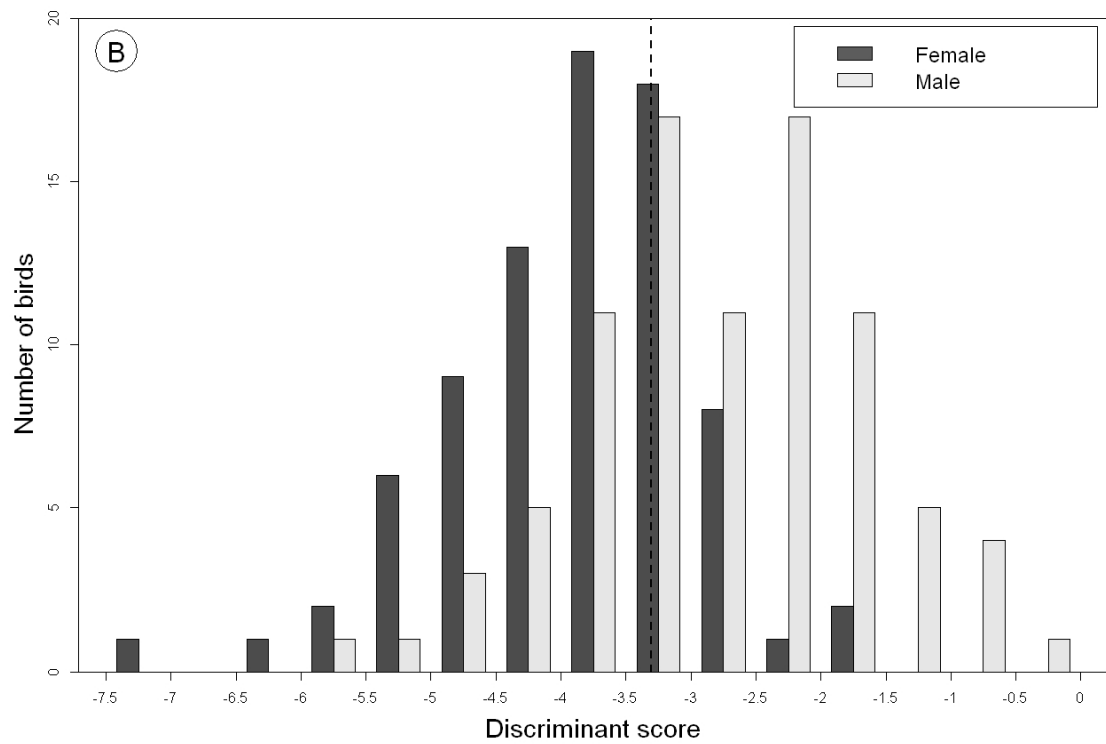
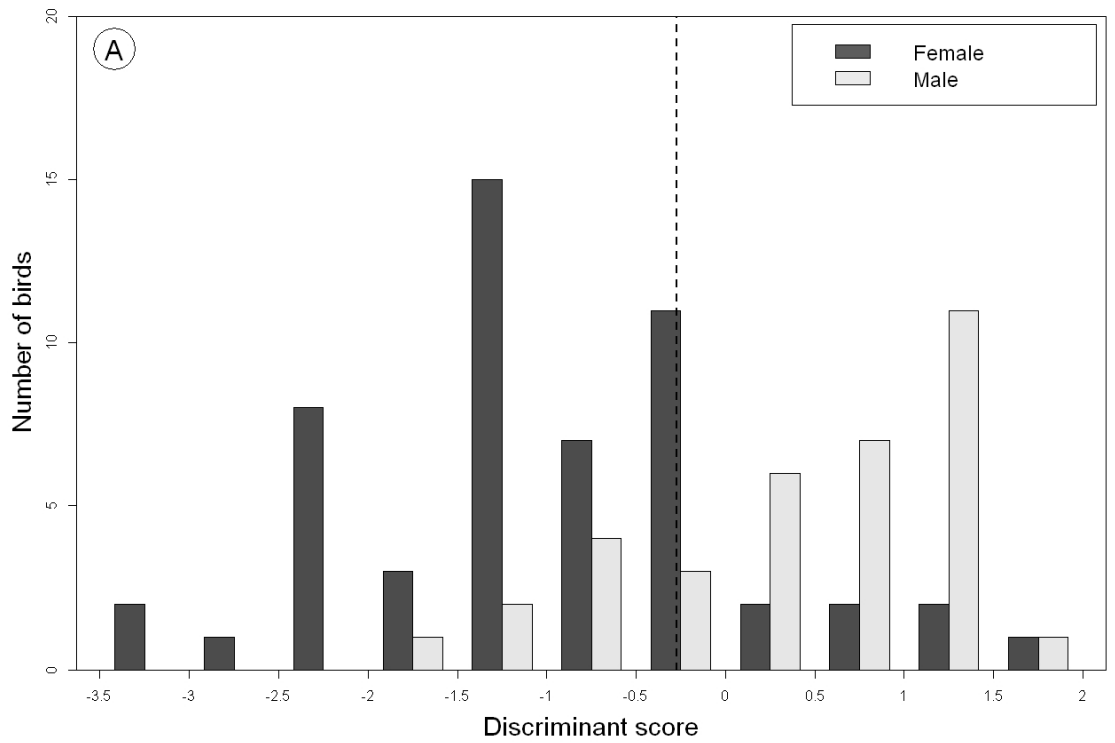
(a) WING: maximum flattened chord; 9P: ninth primary; RP: reduced primary; HEAD-L: head plus bill length; BILL1: bill length from the tip of the bill to the feathering; BILL2: nalospi, length of bill from the tip to the proximal edge of the nostrils; TARSUS: tarsus length; TT: tarsus plus mid-toe length without nail.

Table 3. Male and female body measurements<sup>(a)</sup> (mean  $\pm$  SD), range(min-max), coefficients of variation (CV) and sexual size dimorphism (SSD) of juveniles Eurasian Woodcocks wintering in central Italy. Presentation as in Table 2.

	Females ( <i>n</i> =80)		Males ( <i>n</i> =88)		<i>P</i>	CV(%)	% SSD
	Mean( $\pm$ SD)	Range	Mean( $\pm$ SD)	Range			
WEIGHT	310 $\pm$ 28.2	209.7 – 375.0	314 $\pm$ 26.7	252.2 – 370.5	0.4078	9	1.14
WING	202 $\pm$ 4.3	190.0 – 214.5	204.2 $\pm$ 5.4	187.0 – 220.0	0.0046	2	1.06
RP	22.6 $\pm$ 1.8	18.0 – 28.5	22.5 $\pm$ 2	16.5 – 27.0	0.7651	8	0.74
9P	132.6 $\pm$ 3.7	121.5 – 142.5	134.5 $\pm$ 4.2	119.0 – 146.5	0.0016	3	1.43
HEAD-L	113.2 $\pm$ 3.4	103.0 – 120.1	111.0 $\pm$ 3.5	100.0 – 119.5	0.0000	3	1.93
BILL1	75.8 $\pm$ 3.3	65.5 – 82.4	73.7 $\pm$ 3.2	65.4 – 81.5	0.0000	5	2.77
BILL2	64.4 $\pm$ 3	54.2 – 71.2	62.5 $\pm$ 3.1	55.5 – 73.0	0.0000	5	2.93
TARSUS	38.2 $\pm$ 1.3	35.3 – 43.0	37.1 $\pm$ 1.3	34.1 – 41.0	0.0000	4	2.88
TT	80.7 $\pm$ 2.5	75.0 – 87.0	79.1 $\pm$ 2.6	72.0 – 86.0	0.0000	3	1.98

(a) WING: maximum flattened chord; 9P:ninth primary; RP: reduced primary; HEAD-L: head plus bill length; BILL1: bill length from the tip of the bill to the feathering; BILL2: nalospi, length of bill from the tip to the proximal edge of the nostrils; TARSUS: tarsus length; TT: tarsus plus mid-toe length without nail.

Figure 1. Distribution of male and female Eurasian Woodcock based on discriminant scores. The dotted line represents the cut-off score. (A) Adults, Juveniles (B).



## CAPITOLO 5 L'ALIMENTAZIONE NEL PERIODO INVERNALE

### INTRODUZIONE

La beccaccia si nutre principalmente di materiale organico cercato attivamente nei suoli umidi e nelle pozze, ma anche raccolto sulla superficie del terreno, nella lettiera e dagli escrementi, perfino in decomposizione, degli animali (Cramp & Simmons 1983).

La dieta include un'ampia gamma di invertebrati tra cui soprattutto lombrichi e insetti, adulti ed eventualmente larve, in particolare Coleotteri, ma anche Lepidotteri, Imenotteri, Ditteri, Dermatteri e Ortotteri. Altre possibili prede sono chilopodi, crostacei, ragni, lumache, sanguisughe e nemertini.

Generalmente la componente vegetale costituisce solo una piccola parte della dieta e consiste per lo più in semi di *Ranunculus*, *Atriplex*, *Polygonum*, *Rumex*, *Alania*, *Lathyrus*, *Euphorbia*, *Carex*, *Eriophorum*, *Juncus* e *Sparganium*, frutti di *Vaccinium*, *Sambucus*, *Sorbus* e *Rubus*, chicchi di *Avena* e di *Zea*, foglie e radici di varie graminacee, germogli e aghi di *Picea*.

L'ampio spettro trofico, alla quale questa specie fa ricorso, dimostra che non è specializzata per un determinato tipo di nutrimento e che è in grado di adattarsi ai vari biotopi incontrati, divenendo parte integrante delle rispettive catene alimentari (Kiss *et al.* 1988).

La conoscenza del regime alimentare della beccaccia attraverso una osservazione diretta è resa difficile dalla sua riservatezza, dal modo di prelevare il cibo direttamente all'interno del suolo, dalla mancanza di un gozzo e dalla difficoltà di risalire attraverso le feci al tipo di alimentazione a causa dei diversi tempi di digestione degli alimenti ingeriti (Granval 1987).

Pertanto lo studio del regime alimentare è generalmente condotto attraverso l'analisi dei contenuti stomacali. Kiss *et al.* (1988), in Romania, avendo riscontrato materiale vegetale nei contenuti stomacali raccolti nel periodo autunnale, invernale e primaverile, hanno potuto dimostrare che la beccaccia utilizza regolarmente questo

tipo di nutrimento. La quantità di materiale vegetale ritrovato, in proporzione al materiale animale, è risultata maggiore durante la primavera.

Il regime alimentare di questa specie presenta variazioni sia stagionali che geografiche, legate alla diversa presenza e abbondanza di prede (Cramp & Simmons 1983; Hoodless 1994). Miriapodi e larve di Elateridi caratterizzano i contenuti stomacali analizzati nell'area mediterranea, Dermatteri e larve di Ditteri quelli analizzati nell'ovest della Francia (Granval 1988).

Poiché la punta del becco non entra nel campo visivo della beccaccia, è probabile che la ricerca di prede sia guidata principalmente da stimoli chimici e tattili, recepiti grazie alle numerose cellule sensoriali presenti all'estremità del becco stesso (Martin 1994).

Durante la stagione riproduttiva le beccacce si nutrono di giorno nel bosco, mentre in autunno e in inverno si alimentano di notte nei campi (Cramp & Simmons 1983; Ferrand & Gossmann 1988; Granval 1988; Hoodless 1994). Si ritiene che questo si verifichi perché, in inverno, gli invertebrati risultano relativamente più accessibili nei campi (Hoodless 1994).

Durante il periodo invernale i lombrichi rappresentano il principale alimento della beccaccia, sono infatti presenti nel 98,6% dei contenuti stomacali analizzati e rappresentano il 53% delle prede catturate in giornata e l'87,7% dell'energia apportata dall'insieme delle prede (Granval 1988).

In Francia, infatti, gli individui si nutrono di una quantità maggiore di lombrichi rispetto a quelli che svernano in molte aree mediterranee, dove le prede più frequenti sono rappresentate da larve di insetti, soprattutto elateridi, e di miriapodi (centopiedi e millepiedi) (Granval 1988).

Tra le altre prede troviamo insetti, soprattutto allo stadio larvale, tra cui: Carabidae, Scarabaeidae, Geotrupidae, Histeridae, Silphidae, Staphylinidae, Elateridae, Tenebrionidae, Curculionidae, Cicindelidae, Dystiscidae, Hydrophilidae, Heteroceridae, Dryopidae, Bibionidae, Tabanidae, Tipulidae, Asilidae, Therevidae, Limoniidae, Ortotteri e Dermatteri, ma anche Miriapodi (millepiedi), Aracnidi (ragni) e Polmonata (lumache). Nella dieta è presente anche una parte vegetale

costituita da semi di *Ranunculus*, *Atriplex*, *Polygonum*, *Rumex*, *Alania*, *Lathyrus*, *Euphorbia*, *Carex*, *Eriophorum*, *Juncus* e *Sparganium*; frutti di *Vaccinium*, *Sambucus*, *Sorbus*, e *Rubus* (Cramp & Simmons 1983).

La presenza nel becco di numerose cellule sensoriali raggruppate nei cosiddetti corpuscoli di Herbst, organi tattili che recepiscono i cambi di pressione e le più leggere vibrazioni del suolo, permette alla beccaccia di individuare facilmente le prede attraverso la tecnica del “probing”, ossia inserendo ed estraendo velocemente il becco nel terreno ed utilizzandolo come una vera e propria “sonda”.

## **METODI**

E' stato analizzato un campione di 127 beccacce proveniente da individui abbattuti durante l'attività venatoria in Sicilia e da individui provenienti dalla Crimea durante i mesi di novembre e dicembre. Gli individui sono stati misurati, pesati e divisi in classi di età.

Ad ogni esemplare è stato prelevato lo stomaco e conservato a temperatura ambiente in Eppendorf contenente alcool al 70%. Il contenuto stomacale è stato analizzato attraverso analisi microscopica con l'ausilio di microscopio WILD mod. M5.

Il riconoscimento è avvenuto a livello di per l'evidente difficoltà nel riconoscimento delle specie con parti non diagnostiche.

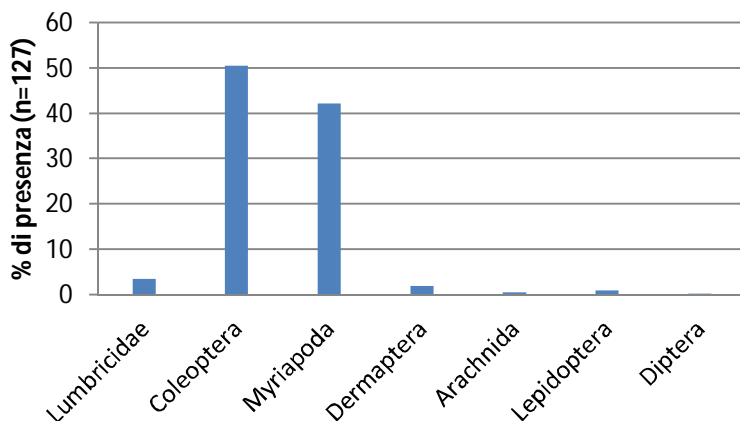


Figura 61. Frequenza percentuale delle prede dei contenuti stomacali delle beccacce crimee e siciliane (n=127).

### RISULTATI E DISCUSSIONI

La maggior parte delle prede è formata da coleotteri sia in forma adulta sia larvale. In particolare, i coleotteri identificati appartengono alle famiglie Hysteridae, Tenebrionidae, Carabidae, Curculionidae. Nella Figura 62 sono mostrate le relative percentuali per famiglia di Coleotteri presenti negli stomaci. I tenebrionidi sono presenti in forma adulta e larvale, ma quest'ultima in piccola percentuale (6.6%).

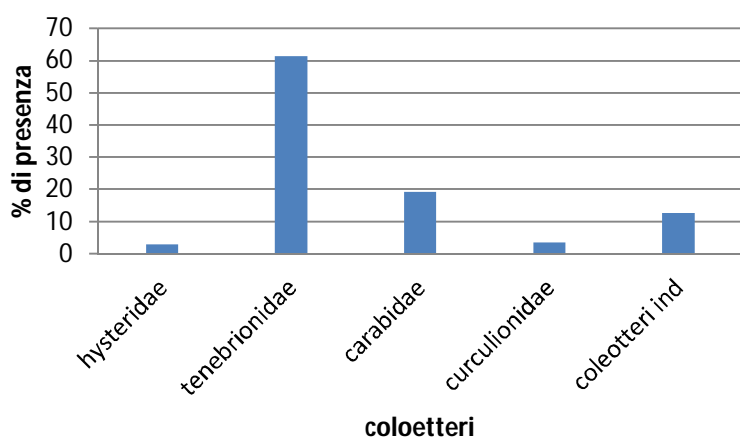


Figura 62. Percentuale delle famiglie di Coleotteri nei contenuti stomacali delle beccacce crimee e siciliane.



Non è stata evidenziata alcuna differenza tra classi di età con una distribuzione non significativa della frequenza delle prede.

Gli stomaci si presentavano non particolarmente pieni e in alcuni sono state ritrovate soltanto fibre vegetali e piccole pietruzze. La scarsa presenza di lombrichi accertata in questi campioni conferma alcuni studi effettuati in area mediterranea dove a differenze di ricerche svolte in Francia, dove il lombrico è rappresentato in elevata percentuale, le prede sono rappresentate da altra macrofauna del suolo con una presenza importante di insetti sia in forma adulta che larvale.

Nel campione creneo e anche in quello siciliano si è osservata la stessa frequenza di prede con una percentuale importante di coleotteri e miriapodi.

Considerando il periodo di cattura di questi esemplari ottobre e novembre si può dedurre che potrebbe trattarsi di individui appena arrivati nelle aree dove sono stati prelevati e che non abbiano avuto tempo di nutrirsi in modo più sostanzioso.

Fadat (1995) in Francia ha trovato che i coleotteri sono l'elemento dominante degli stomaci prelevati nelle diverse regioni e che i lombrichi sono in quantità inferiore nelle aree sud occidentali, mentre la percentuale sale nelle aree mediterranee. I miriapodi sono considerati prede comuni soprattutto per le regioni dell'est-.

Inoltre afferma che i coleotteri sono in quantità maggiore negli stomaci studiati in Francia in primavera mentre in inverno i lombrichi aumentano di percentuale.

Sterbetz & Kiss (1974) trovarono per le aree dell'est (Romania e Ungheria) durante l'autunno e l'inverno che la beccaccia si nutre nei primi strati del suolo e sotto la lettiera e in primavera cerca le prede a profondità maggiore.

Quello che emerge da questi studi è che la beccaccia si adatta alle caratteristiche microclimatiche che caratterizzano l'area frequentata e che queste incidono sulle prede disponibili.

## CAPITOLO 6 LA BECCACCIA E IL SATURNISMO



*Radiografia di beccacce, i puntini più chiari sono pallini da caccia.*

## INTRODUZIONE

Il piombo è un elemento tossico i cui effetti sulla salute umana sono ampiamente conosciuti (Landrigan and Todd 1994). Negli ultimi anni, le informazioni disponibili hanno evidenziato le conseguenze avverse che possono insorgere in organismi esposti al Piombo anche in quantità ridotte. Studi epidemiologici hanno rivelato che una esposizione bassa al Piombo (<10 µg/dL nel circolo sanguigno) è estremamente pericolosa per i feti e i bambini impedendo un normale sviluppo del sistema nervoso e causando danni permanenti delle funzioni cognitive e comportamentali (Canfield et al. 2003; CDC 2005; Lanphear 2005; Chandramouli et al. 2009). Negli adulti il Piombo causa problemi alla memoria e altri sintomi psichiatrici (Weisskopf et al. 2007). Inoltre, anche esposizioni basse a questo metallo provocano pressioni sistoliche elevate, innalzamenti dei rischi di attacchi cardiaci, cancro e nefropatie (Schober et al. 2006; EFSA CONTAM 2010; Huang et al. 2013).

La fonte principale di ingestione del piombo è l'alimentazione. EFSA (2012), ha dichiarato che il livello di questo metallo nelle fonti alimentari è sceso, ma che il consumo di alcuni cibi può essere di grande rischio. La carne della selvaggina abbattuta con munizioni al Piombo è tra le categorie di cibo ad alto rischio. Nel cinghiale, ad esempio, è stato valutato un contenuto di Piombo di circa 100 volte superiore alla normale carne di suino.

I tessuti molli dei mammiferi abbattuti durante la caccia spesso trattengono un alto numero di frammenti fino a oltre 45 cm dal foro di entrata del proiettile. Questi frammenti sono di dimensione talmente ridotte che sono difficilmente rilevabili e quindi rimossi durante il trattamento delle carni prima del consumo (Hunt et al. 2006; Tsuji et al. 2009; Hunt et al. 2009; Grund et al. 2010; Knott et al. 2010; Lindboe et al. 2012).

La contaminazione delle carni è anche maggiore negli uccelli a causa del tipo di caccia utilizzata con cartucce contenenti pallini in numero elevato al posto di un singolo proiettile. I pallini utilizzati per la caccia alla specie sono di dimensioni ridotte e spesso impossibili da togliere durante la normale pulizia delle carni. Inoltre

tendono a frammentarsi rendendo impossibile la loro eliminazione e rimanendo nei tessuti sotto forma di particelle e pezzi minuscoli (Scheuhammer et al. 1998; Mateo et al. 2011; Andreotti & Borghesi 2013).

In Europa ci sono circa 7 milioni di cacciatori senza includere la Russia e la Turchia. Quindi si può assumere che approssimativamente diverse decine di milioni di europei che corrispondono al 2-4% dell'intera popolazione mangia più o meno regolarmente carne di selvaggina. La cifra stimata di uccelli sparati ogni anno si aggira sui 101 milioni di individui (Hirschfeld & Heyd 2005). Per valutare il rischio per la salute dei consumatori di selvaggina è importante conoscere la quantità e le caratteristiche del Piombo presente nelle carni delle specie più cacciate. In questo lavoro abbiamo focalizzato l'attenzione sulla contaminazione da piombo nella beccaccia Euroasiatica.

**MEAT OF GAME BIRDS HUNTED WITH LEAD AMMUNITION: A MAJOR RISK FOR  
CONSUMERS**

Alessandro Andreotti<sup>a</sup>\*, Fabrizio Borghesi<sup>b</sup>, Arianna Aradis<sup>c</sup>

<sup>a</sup>ISPRA, Institute for Environmental Protection and Research  
Via Ca' Fornacetta 9, 40064, Ozzano Emilia, Italy,  
alessandro.andreotti@isprambiente.it

<sup>b</sup>Bologna University, Biological, Geological and Environmental Sciences  
Department (BiGeA), Operative Unit of Ravenna, Via Sant'Alberto, 163, 48123  
Ravenna, Italy, fabrizio.b@racine.ra.it

<sup>c</sup>Department of Agricultural and Forestry Science, Applied Zoology Lab., University  
of Palermo  
V.le Scienze 13, 90128 Palermo, Italy, [arianna.aradis@unipa.it](mailto:arianna.aradis@unipa.it)

\*Submitted to *Food Additives & Contaminants: Part A*

**Abstract**

Wild meat often retains metallic particles originating from the ammunition fired by hunters. Since bullets and shotgun pellets are traditionally lead (Pb)-based, the consumption of game meat may entail the ingestion of Pb embedded in tissues. To assess the related risks to human health, detailed information is needed on the number, dimension and spatial distribution of Pb particles embedded in popular quarry species. We X-rayed 59 shot carcasses of Eurasian woodcock (*Scolopax rusticola*), a medium sized bird intensively hunted all across its range. Ammunition residues were found in 57 of the 59 woodcock (96.6%).

Radiographs revealed 215 whole pellets and 125 fragmentation centres in 51 (mean=3.64) and in 48 birds (mean=2.14) respectively. Most fragmentation centres (75.7%) contained tiny particles (<1mm). The overall estimated Pb load ranged from

47 to 85 mg/100g wet weight (mean 65 mg/100g), most of which (84.6%) was embedded in edible parts.

We found the quantity of Pb embedded in woodcock is higher than previously recorded, presumably related to the hunting methods adopted by Italian hunters. These results should be borne in mind when assessing Pb contamination levels in game meat from different countries.

The quantity and characteristics of ammunition residues found in our study confirm that game meat consumers are exposed to a significant Pb assumption. Initiatives should be promoted to reduce the risk of Pb poisoning on regular game meat consumers.

### **Keywords**

Lead ammunition, X-ray analysis, Eurasian woodcock, embedded shotgun pellets, health risk

### **Introduction**

Lead (Pb) is a toxic element whose effects on human health are well known (Landrigan and Todd 1994). In the last decades we have become aware that adverse consequences to organisms may arise even at very low doses, when clinical symptoms are not evident. Many epidemiological studies revealed that low Pb exposures (<10 µg/dL in the bloodstream) are especially detrimental to foetuses and children, hampering the development of the nervous system and causing permanent negative effects on cognitive function and behaviour (Canfield et al. 2003; CDC 2005; Lanphear 2005; Chandramouli et al. 2009). In adults, Pb affects information processing and short-term verbal memory, causing psychiatric symptoms and impairment of manual dexterity (Weisskopf et al. 2007). Furthermore, relatively low exposures among adults have been associated with elevated systolic blood pressure, increased risk of myocardial and stroke mortality, cancer and nephropathies (Schober et al. 2006; EFSA CONTAM 2010; Huang et al. 2013).

These findings prompted international health authorities to reject a safe threshold for

Pb exposure as inappropriate and to advocate strongly for reduced intake of Pb as far as possible especially for the most sensitive categories (infants, children and pregnant women) (EFSA CONTAM, 2010; JECFA, 2010).

Since ingestion is considered the major source of exposure to Pb in developed countries, the intake of Pb for the population of Europe was estimated by analyzing Pb contamination in all food categories (EFSA 2012). According to EFSA (2012), Pb levels in food have decreased recently, but the consumption of some food categories may remain a cause of concern. Particularly high concentrations were recorded in wild boar and pheasant meat. The EFSA food category “boar (wild pig)” meat gave a mean of 1,143  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 100 fold higher than “pork/piglet” meat (mean value 11  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Furthermore, some boar samples peaked at 232,000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Similarly, “pheasant” meat reached Pb concentrations 28 fold higher than “chickens” meat (344  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , versus 12  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Similar differences between game and domestic animals were found in the UK (Pain et al. 2010).

These results are presumably due to the use of Pb ammunition for hunting game animals. High Pb values have been frequently found both in venison and game birds shot by hunters and intended for human consumption (Tsuji et al. 1999; Johansen et al. 2004; Cornatzer et al. 2009; Pain et al. 2010). Soft tissues of large mammals often retain a high number of fragments up to more than 45 cm away from the wound channel, as a result of the frangibility of the various kinds of rifle bullet. In most cases fragments are too small and are hardly ever detected or removed during food preparation (Hunt et al. 2006; Tsuji et al. 2009; Hunt et al. 2009; Grund et al. 2010; Knott et al. 2010; Lindboe et al. 2012).

Contamination is even higher in birds, because they are generally killed by several small gunshot pellets instead of a single bullet. Normally, pellets are so small that it is difficult to remove them from the flesh even if they remain whole. Furthermore they do tend to fragment, creating a large amount of microscopic splinters and particles (Scheuhammer et al. 1998; Mateo et al. 2011; Andreotti and Borghesi 2013).

The typical practices employed to prepare game meat for consumption (dressing,

marinating and cooking in wine, vinegar or in other acidic conditions) facilitate the bioavailability of Pb residues, transforming metallic Pb into organic compounds (Mateo et al. 2007; Hunt et al. 2009; Mateo et al. 2011). Several studies have revealed a significant association between Pb blood levels and wild game consumption in human populations, not only in arctic regions where wild game is a significant part of the diet (Johansen et al. 2001; Hanning et al. 2003; Bjerregaard et al. 2004) but also at mid latitude regions (Iqbal et al. 2009). Such evidence has encouraged researchers and several national authorities for health and food safety to assess the risk of Pb poisoning through the consumption of game meat. The results of these assessments concluded that the risks posed by Pb ammunition on human health are not negligible and appropriate measures are needed to minimize those risks (AESAN 2012; Green and Pain 2012; VKM 2013).

In Europe, a rough estimation of the human population exposed to Pb through the consumption of game meat can be obtained through analysis of the number of hunters and their relatives. According to the European Federation of Associations for Hunting and Conservation, in Europe there are 7 million hunters, without including Russia and Turkey. Therefore, it can be assumed that several tens of millions of Europeans, corresponding to approximately 2-4% of the whole population, more or less regularly eat game meat. The amount of birds shot annually in Europe is estimated to be 101 million (Hirschfeld and Heyd 2005).

To assess the risk to the health of wild meat consumers it is important to know the quantity and characteristics of the Pb embedded in the flesh of the most popular quarry species. In this study we focused on Pb contamination in the Eurasian woodcock (*Scolopax rusticola*), a medium sized bird intensively hunted across its range. According to Annex II/A of the EU Directive 2009/147/CE, the woodcock can be hunted in all the States within the Union borders. Furthermore, the species is intensively shot in the Balkans and in the European countries of the former USSR, both by resident and foreign hunters. Given the popularity of woodcock hunting in Europe, the consumption of its meat is widespread and considerable, but unfortunately only rough estimates are available on the number of birds annually



killed on the continent. Ferrand and Grossmann (2009a) proposed an approximate figure of 3-4 million individuals, while Hirschfeld and Heyd (2005) suggested a minimum of 2,730,125 woodcock shot per year in the EC, Switzerland and Norway. Information on Pb embedded in the European woodcock can be of wider interest in a risk assessment perspective, because this species can be considered representative of other game birds of the same size or structure.

## **Materials and methods**

We examined a sample of 59 individuals selected from a stock of 485 woodcock shot by Italian hunters during a hunting trip in Ukraine in October 2011 and seized by the Italian Custom Agency because they were imported without complying to sanitary regulations. No bird was expressly killed for this study. The birds were frozen whole and stored at  $-20^{\circ}$  C. On analysis the woodcock were thawed, aged by plumage and moult status (Ferrand and Gossmann 2009b) and weighed to the nearest gram with a Pesola spring balance. Our sample of 28 juveniles and 31 adults was selected with their body weights nearest to the average weight of the whole seized stock. We considered both age and weight because 1) old birds may have embedded pellets remaining from healed wounds in previous hunting seasons (Falk et al. 2006; Newth et al. 2011) and 2) weight is a reliable measure of body mass, that in turn affects the number of embedded pellets (Pain et al. 2010). The mean weight of the whole stock does not differ from those of the two subsets (whole stock: mean = 313.8 g, SD = 30.1, n = 403; juveniles: mean = 304.0 g, SD = 15.4, n = 28; adults: mean = 304.0 g, SD = 19.8, n = 31).

We X-rayed the birds with digital radiography equipment (Kodak DirectView CR 800). Metal particles are easy to distinguish from bone and grit because they are clearly more radio-opaque (Knott et al. 2010). Radiographs were examined at full size to detect whole pellets and large fragments. Micro fragments were counted by zooming in to 150%. We considered as “large” those fragments exceeding 0.5 mm in

diameter (Hunt et al. 2006).

Following Andreotti and Borghesi (2013), we subdivided the body of each bird into seven sectors so that the anatomical parts normally consumed by humans could be easily considered separately (Figure 1). We regarded Sectors 3, 4, 5 and 6 as edible, i.e. those most commonly eaten by humans.

We counted the number of whole shot pellets, single macro fragments and clusters of radiodense particles (fragmentation centres - f.c.) embedded in each body sector. The fragments were scored as follows: 0 = none visible; 1 = 1-2 macro fragments; 2 = 2-4 micro fragments; and 3 = >4 fragments.

We tested whether the number of pellets and fragments observed in the body varied among age classes and body sectors with a chi-square test of independence performed using the R software (R Core Team 2013).

To evaluate the quantity of the embedded Pb we multiplied the number of whole pellets by the mean size of the pellets more used by woodcock hunters (Table 3). In these calculations we did not consider fragments, given their negligible mass (Andreotti and Borghesi 2013).

## **Results**

Ammunition residues were found in 57 of the 59 carcasses (96.6%). We observed only whole pellets or fragments in 9 (15.8%) and 6 (10.5%) carcasses respectively, while in 42 carcasses (73.7%) we found both. Pellets and fragments were embedded in all body sectors (Table 1a,b), but with significant differences in frequency (pellets: chi-square value = 77.17, df = 6,  $P < 0.001$ ; fragments: chi-square value = 79.9, df = 6,  $P < 0.001$ ). In the anatomical regions most commonly eaten by humans, we found Pb residues in 47 carcasses (79.7%). No significant difference was detected between age classes in frequencies of whole shot and fragments (pellets: chi-square value = 10.34, df = 6,  $P = 0.11$ ; fragments: chi-square value = 7.68, df = 6,  $P = 0.26$ ).

***Shot gun pellets*** - Radiographs revealed 215 pellets in 51 woodcock (mean = 3.64,

SD = 3.97, range = 0-17,  $n = 59$ ). Most of the pellets (60.9%) were located in Sectors 3 and 4 while only a small fraction (7%) was found in the distal parts of the wings and legs (Sector 2 and 7; Table 1a,b). In the edible sectors, we counted 182 pieces of shot, corresponding to 84.6% of the total amount (mean = 3.08, SD = 3.64, range = 0-17,  $n = 59$ ). In 3 adults we detected pellets of different size.

**Fragments** - A minimum of 125 f.c. were detected in 48 woodcock (mean = 2.14, SD = 2.28, range = 0-10,  $n = 59$ ). F.c. were concentrated (74.4%) in the head, neck, wings and the pectoral girdle (Table 1b). In the edible sectors, we estimated 44 f.c., representing 35.2% of the detected f.c. (mean = 0.75, SD = 1.32, range = 0-6,  $n = 59$ ). In most cases, the fragments were assigned to Class 2 (52.1%) or Class 3 (23.6%), revealing a prevalence of small tiny particles (Table 2a,b).

**Pb mass** - Italian hunters generally use relatively small sized pellets, normally corresponding to No. 8-10 (Italian pellet size scale) to shoot woodcock. On the basis of the mean weight of these pellets (Table 3) we obtained an estimate of the Pb burden embedded in woodcock, ranging from 47 to 85 mg/100g wet weight (mean 65 mg/100g).

## **Discussion**

Our study revealed that the majority of the X-rayed carcasses contained visible particles of metallic Pb deriving from spent ammunition. In comparison with data collected in previous studies on different bird species, woodcock had a higher rate of embedded whole pellets per unit of body mass (Table 4). Moreover the frequency of pellets counted in our study is relatively high when compared to the figures reported by Pain et al. (2010) for the Eurasian woodcock hunted in the UK. The authors X-rayed oven-ready carcasses (without feathers, viscera and heads) and recorded numbers of pellets and large radio-dense fragments. They found a mean of 1 pellet per woodcock, a low value with respect to the mean of 3.1 detected in our study considering edible sectors only.

These discrepancies in pellet frequency may be due to different hunting methods adopted with regard to the target species and traditional hunting practices. The low shot resistance of woodcock leads many hunters to prefer cartridges with numerous pellets of smaller size than those used to shoot game birds with a similar body mass. In addition, the hunting technique may influence the firing distance, which affects the spread pattern of projectiles hitting the prey.

For example, in the UK woodcock are often flushed towards the guns by a line of "beaters" walking through the wood, while Italian hunters prefer to walk behind a pointing dog, shooting the woodcock at a shorter distance over the dog's point (Spanò and Fadat 2014). Hence, the quantity of Pb embedded in quarry bird species appears to be related not only to the species, but also to the hunting technique. These results should be borne in mind when assessing Pb contamination levels in game meat from different countries.

The concomitant presence of pellets of different size embedded in 3 adults might be explained by either the use of cartridges loaded with mixed grains or the existence of old wounds originating in previous hunting seasons. We did not find a higher frequency of whole pellets in adults when compared to juveniles, as found in long-lived species such as sea ducks and geese (Falk et al. 2006; Newth et al. 2011; Holm and Madsen 2013). This result might be influenced by two factors: i) woodcock have little or no resilience to the shot and hardly ever survive when injured; ii) adults are more cautious than juveniles and flush earlier when stalked leading to them being shot at longer distances by a wider pellet spread. This latter factor is relevant in assessing the Pb load in woodcock meals because juveniles are generally far more abundant than adults in hunting bags (more than 65% juveniles in France, Boidot and Aourousseau 2013; 81.1% juveniles in our sample).

If we compare data on fragments recorded in starlings in a study carried out with a similar methodology (Andreotti and Borghesi 2013), we observe a higher density of f.c in woodcock (0.72 f.c. *per* 100 g of body weight, *vs.* 0.60 in starlings), even if the fragmentation rate of pellets, calculated as the ratio f.c./whole pellets, appears to be slightly lower in woodcock than in starlings (0.58 *vs.* 0.64). The difference in the

fragmentation rate might be related to a higher frequency of pellets that have passed through the starlings leaving Pb particles in the tissues, but have not remained in the carcass due to the smaller body mass of this species. Fragment distribution in woodcock differs significantly from starlings when considering all body sectors (chi-square value = 27.7 df = 6 P < 0.0001), but there is no difference when taking into account the edible parts only (chi-square value = 0.4 df = 3 P = 0.9).

The level of Pb contamination in woodcock meat found in our study is comparable to those reported for other game birds (Table 4) and is much higher than in venison examined by X-ray. As far as we know, there is only one estimate of the total mass of bullet fragments left in carcasses of deer (Knott et al. 2010). This corresponds to 1.6 mg/100g wet weight, 40-fold lower than the estimates of Pb embedded in woodcock. Pb concentrations determined through chemical analysis confirm a higher burden of Pb in birds than in ungulates, but these differences are less significant. For example, in partridges values have been found 2-8 fold higher than in red deer or wild boar (Mateo et al. 2011; Sevillano et al. 2011). This discrepancy can be explained considering that in birds there is a relatively higher amount of large Pb particles (essentially whole pellets) that are generally removed before performing chemical analyses.

Our findings corroborate earlier evidence that game bird meat derived from animals shot by traditional Pb ammunition retains a considerable quantity of metallic Pb in the form of both large particles (i.e. macro fragments and whole pellets) and tiny fragments. Even when substantial pieces of Pb are removed from game meat and the bioavailability of the metallic Pb is low, the presence of Pb is still significant, especially where tiny fragments are spread widely. Chemical analyses have found high levels of Pb contamination in game tissues samples of quarry species where Pb particles were detected by X-ray (Tsuji et al. 1999; Johansen et al. 2001; Tsuji et al. 2009; Pain et al. 2010; Mateo et al. 2011). Furthermore embedded Pb can be easily absorbed through the intestine by game meat consumers, given the amount of tiny fragments, easily attacked by the gastric acid, and the leaching processes during cooking treatments (Mateo et al. 2007; Hunt et al. 2009; Mateo et al. 2011). Hence,

regular woodcock meat consumers are exposed to real health risks.

Hunters are not usually woodcock specialists, killing both ungulates and small game during the same hunting season. This implies that people consuming woodcock often eat other game birds, small mammals and ungulates. It has been found that frequent consumption of big game meat alone is enough to expose the hunter population to the risk of Pb poisoning (Sevillano Morales et al. 2011; Lindboe et al. 2012). Consumption of contaminated woodcock meat will increase the intake of Pb in game consumers already exposed to the risk of Pb poisoning. In Italy, more than 230,000 ungulates are estimated to be shot annually, producing 6,828.7 tons of game meat (Ramanzin et al. 2010), in addition to at least 17 million birds (Hirschfeld and Heyd 2005) and an unknown number of hares and rabbits. Since the use of lead ammunition is banned exclusively in wetlands of Special Protection Areas, only a negligible fraction of game birds are killed with lead-free shot. This means that the 750,000 licensed hunters in Italy and their relatives consume approximately tens of millions of meals derived from ungulates and no less than 5 million meals from game birds. These figures surely necessitate a thorough and quantitative analysis of the potential risks to human health from the consumption of game shot with lead ammunition, especially focused on consumers with a higher than average exposure.

The high frequency of Pb pieces and, in particular, of tiny fragments recorded in this study confirms that precautions during the preparation for consumption of shot game birds are not enough to guarantee Pb-free meat. The removal of whole pellets before cooking is not easily achieved, given their small size and abundance, and does not prevent the ingestion of a significant quantity of the smallest particles. Additionally, Pb residues are almost uniformly distributed in game bird carcasses, making removal more difficult. It is a different case to ungulates, where fragments of ammunition are concentrated in a radial zone around the wound channel, allowing a small concentrated area of carcass to be removed and disposed of. The distribution of Pb in bird carcasses makes it impossible to define handling procedures which reduce the risk for game bird consumers. The use of Pb-free pellets is the only effective solution to avoid the consumption of Pb when eating shot small game. It could also reduce the

Pb pollution in the environment. Positive effects have been observed in wildlife and ecosystems, where lead ammunition has been banned (Mateo et al. 2014).

## **Conclusions**

Our study reveals that woodcock killed using traditional Italian hunting techniques retain a considerable amount of embedded particles of metallic Pb higher than in most other quarry species.

As a consequence, levels of meat contamination are substantial, in terms of both Pb mass and the number of fragments and whole pellets. Furthermore, the high presence of many tiny fragments makes impossible to remove them from tissues when preparing game meat for consumption. Then the handling procedures are impractical to define to reduce the risk for game bird consumers.

Since the positive correlation observed in several studies between the presence of Pb fragments detected through radiographies and Pb tissue contamination detected by chemical analysis, our results confirm the significant risk to human health associated with the consumption of woodcock shot with Pb ammunition using Italian hunting methods. Therefore, a risk assessment is recommended. Furthermore, to reduce the hazard of Pb poisoning on regular game meat consumers, actions should be promoted to raise awareness of the risks among exposed groups (hunters, gamekeeper, etc.). A mandatory Pb-free certification mark could be used to provide a guarantee of safety for game meat consumers. At the same time, the adoption of a ban for the use of lead ammunition in both aquatic and terrestrial ecosystems is strongly recommended.

## **Acknowledgements**

We thank Paolo Vigo, and Livia Zamboni for supporting us in taking the radiographs, and Riccardo Santolini, Milena Libretto, Giancarlo Passaglini, and AUSL Rimini for allowing us the acquisition of the carcasses. We thank also Mark W. Miller and Craig Brakes for their helpful comments. The study was funded by the Italian Ministry for the Environment and the Protection of the Land and the Sea.

## References

- AESAN. 2012. Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) in relation to the risk associated with the presence of lead in wild game meat in Spain. *Revista del Comité Científico de la AESAN* 15: 131-159.
- Andreotti A, Borghesi F. 2013. Embedded lead shot in European starlings *Sturnus vulgaris*: an underestimated hazard for humans and birds of prey. *Eur J Wildl Res.* 59:705-712.
- Bjerregaard P, Johansen P, Mulvad G, Pedersen HS, Hansen JC. 2004. Lead sources in human diet in Greenland. *Environ Health Perspect.* 112 (15): 1496-1498.
- Boidot J-P, Aourousseau G. 2013. Evaluation of the 2012-2013 Woodcock hunting season in France. *IW/IUCN\_WSSG Newsletter* 39: 29-30.
- Canfield RL, Henderson CR, Cory-Slechta DA, Cox C, Jusko TA, Lanphear BP. 2003. Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 µg per deciliter. *New Engl J Med.* 348:1517-1526.
- CDC Centers for Disease Control and Prevention. 2005. Preventing Lead Poisoning in Young Children. U.S. Department of Health and Human Services - CDC, Atlanta.
- Chandramouli K, Steer CD, Ellis M, Emond AM. 2009. Effects of early childhood lead exposure on academic performance and behaviour of school age children. *Arch Dis Child.* 94: 844-848.
- Cornatzer WE, Fogarty EF, Cornatzer EW. 2009. Qualitative and quantitative detection of lead bullet fragments in random venison packages donated to the community action food centers of North Dakota, 2007. In: Watson R. T., Fuller M., Pokras M., W.G. Hunt (Eds), *Ingestion of lead from spent ammunition: implications for wildlife and humans* (pp 154-156). The Peregrine Fund, Boise, Idaho.
- EFSA CONTAM. 2010. Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA J.* 1570: 1-147.
- EFSA. 2012. Lead dietary exposure in the European population. *EFSA J.* 10 (7): 2831.
- Falk K, Merkel F, Kampp K, Jamieson SE. 2006. Embedded lead shot and infliction rates in common eiders *Somateria mollissima* and king eiders *S. spectabilis* wintering



in southwest Greenland. *Wild Biology* 12 (3): 313-321.

Ferrand Y, Gossmann F. 2009a. La Bécasse des bois. Histoire naturelle. Effect de Lisière, Saint-Lucien.

Ferrand Y, Gossmann F. 2009b. Ageing and sexing series 5: Ageing and sexing the Eurasian Woodcock *Scolopax rusticola*. *Wader Study Group Bull.* 113 (2):75-79.

Green RE, Pain DJ. 2012. Potential health risks to adults and children in the UK from exposure to dietary lead in gamebirds shot with lead ammunition. *Food Chem Toxicol.* 50:4180-4190.

Grund MD, Cornicelli L, Carlson LT, Butler EA. 2010. Bullet fragmentation and lead deposition in white-tailed deer and domestic sheep. *Human-Wildlife Interactions* 4: 257-265.

Hanning RM, Sandhu R, MacMillan A, Moss L, Tsuji LJS, Nieboer E. 2003. Impact on blood Pb levels of maternal and early infant feeding practices of First Nation Cree in the Mushkegowuk Territory of northern Ontario, Canada. *J Environ Monitor.* 5: 241-245.

Hirschfeld A, Heyd A. 2005. Mortality of migratory birds caused by hunting in Europe: bag statistics and proposals for the conservation of birds and animal welfare. *Berichte zum Vogelschutz* 42: 47-74.

Holm TE, Madsen J. 2013. Incidence of embedded shotgun pellets and inferred hunting kill amongst Russian/Baltic barnacle geese *Branta leucopsis*. *Eur J Wildl Res.* 59 (1): 77-80. doi 10.1007/s10344-012-0649-8

Huang WH, Lin JL, Lin-Tan DT, Hsu CW, Chen KH, Yen TH. 2013. Environmental lead exposure accelerates progressive diabetic nephropathy in Type II diabetic patients. *Biomed Res Int.* Article ID 742545, 9 pages, doi:10.1155/2013/742545

Hunt WG, Burnham W, Parish CN, Burnham KK, Mutch B, Oaks JL. 2006. Bullet fragments in deer remains: implications for lead exposure in avian scavengers. *Wildl Soc Bull.* 34 (1): 167-170.

Hunt WG, Watson RT, Oaks JL, Parish CN, Burnham KK, Tucker RL et al. 2009. Lead bullet fragments in venison from rifle-killed deer: potential for human dietary exposure. *PLoS One*, 4 (4), e5330. doi:10.1371/journal.- phone.00053330

Iqbal S, Blumenthal W, Kennedy C, Yip FY, Pickard S, Flanders WD et al. 2009. Hunting with lead: Association between blood lead levels and wild game consumption. *Environ Res.* 109: 952-959.

JECFA. 2010. Food and Agriculture Organization of the United Nations Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 73<sup>rd</sup> meeting, Geneva, 8–17 June 2010. Summary and conclusions. Available at: [www.who.int/foodsafety/publications/chem/summary73.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/summary73.pdf). Downloaded on 20/06/2014

Johansen P, Asmund G, Riget F. 2001. Lead contamination of seabirds harvested with lead shot implications to human diet in Greenland. *Environ Pollut.* 112: 501-504.

Johansen P, Asmund G, Riget F. 2004. High human exposure to lead through consumption of birds hunted with lead shot. *Environ Pollut.* 127: 125-129.

Knott J, Gilbert J, Hoccom DG, Green RE. 2010. Implications for wildlife and humans of dietary exposure to lead from fragments of lead rifle bullets in deer shot in the UK. *Sci Total Environ.* 409: 95-99.

Landrigan J, Todd AC. 1994. Lead Poisoning. *Western J Med.* 161:153-159.

Lanphear BP, Hornung R, Khoury J, Yolton K, Baghurst P, Bellinger DC, et al. 2005. Low level environmental exposure and children's intellectual function: an international pooled analysis. *Environ Health Persp.* 113: 894-899.

Lindboe M, Henrichsen EN, Høgåsen HR, Bernhoft A. 2012. Lead concentration in meat from lead-killed moose and predicted human exposure using Monte Carlo simulation. *Food Addit Contam.* 7: 1052-1057.

Mateo R, Rodríguez-de la Cruz M, Vidal D, Reglero M, Camarero P. 2007. Transfer of lead from shot pellets to game meat during cooking. *Sci Total Environ.* 372 (2-3): 480-485.

Mateo R, Baos AR, Vidal D, Camarero PR, Martínez-Haro M, Taggart MA. 2011. Bioaccessibility of Pb from ammunition in game meat is affected by cooking treatment. *PLoS ONE* 6, e15892. <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0015892>

Mateo R, Vallverdú-Coll N, López-Antia A, Taggart MA, Martínez-Haro M, Guitart R, Ortiz-Santaliestra ME. 2014. Reducing Pb poisoning in birds and Pb exposure in game meat consumers: The dual benefit of effective Pb shot regulation. *Environ Int.*

63: 163-168.

Menke A, Muntner P, Batuman V, Silbergald EK, Guallar E. 2006. Blood lead below 0.48  $\mu\text{mol/L}$  (10  $\mu\text{g/dl}$ ) and mortality among US adults. *Circulation* 114: 1388-1394.

Newth JL, Brown MJ, Rees EC. 2011. Incidence of embedded shotgun pellets in Bewick's swans *Cygnus columbianus bewickii* and Whooper swans *Cygnus cygnus* wintering in the UK. *Biol Conserv.* 144: 1630-1637.

Pain DJ, Cromie RL, Newth J, Brown MJ, Crutcher E, Hardman P et al. 2010. Potential hazard to human health from exposure to fragments of lead bullets and shot in the tissues of game animals. *PLoS ONE* 5 (4), e10315. doi:10.1371/journal.pone.0010315

Ramanzin M, Amici A, Casoli C, Esposito L, Lupi P, Marsico G et al. 2010. Meat from wild ungulates: ensuring quality and hygiene of an increasing resource. *Ital J Anim Sci.* 9: 318-331.

R Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>

Scheuhammer AM, Perrault JA, Routhier E, Braune BM, Campbell GD. 1998. Elevated lead concentrations in edible portions of game birds harvested with lead shot. *Environ Pollut.* 102 (2-3): 251-257.

Schober SE, Mirel Lisa B, Graubard BI, Brody DJ, Flegal K M. 2006. Blood lead levels and death from all causes, cardiovascular disease, and cancer: results from the NHANES III mortality study. *Environ Health Persp.* 114: 1538-1541. doi:10.1289/ehp.9123

Sevillano Morales JS, Moreno Rojas R, Pérez-Rodríguez F, Arenas Casas A, Amaro López MA 2011. Risk Assessment of the lead intake by consumption of red deer and wild boar meat in Southern Spain. *Food Addit Contam.* 28 (8): 1021-1033.

Spanò S, Fadat C. 2014. *La Beccaccia*. Il Piviere Ed., Gavi (Italy).

Tsuji LJS, Nieboer E, Karagatzides JD, Hanning RM, Katapatuk B. 1999. Lead Shot Contamination in Edible Portions of Game Birds and Its Dietary Implications. *Ecosys Health.* 5 (3): 183-192.

Tsuji LJS, Wainman BC, Jayasinghe RK, Van Spronsen EP, Liberda EN. 2009. Determining tissue-lead levels in large game mammals harvested with lead bullets: human health concerns. *Bull Environ Contam Toxicol.* 82 (4), 435-439.

VKM. 2013. Risk assessment of lead exposure from cervid meat in Norwegian consumers and in hunting dogs. Opinion of the panel on contaminants of the Norwegian scientific committee for food safety. Final document 11-505. <http://www.english.vkm.no/dav/bfbc0b16e9.pdf>. Downloaded on 20/06/2014.

Weisskopf MG, Proctor SP, Wright RO, Schwartz J, Spiro A, Sparrow D, Nie H, Hu H. 2007. Cumulative Lead Exposure and Cognitive Performance Among Elderly Men. *Epidemiology* 18: 59-66. doi: 10.1097/01.ede.0000248237.35363.29



Figure 1. X-ray photograph of a Eurasian Woodcock, showing the body sectors where the position of each shot pellet and fragment was annotated. 1 head and neck, 2 wings, 3 humerus and pectoral girdle, 4 thorax, 5 abdomen, 6 femur and tibiotarsus, 7 tarsus and metatarsus. A whole pellet is visible in Sector 3.

Table 1(a). Number of pellets in different body sectors (1-7) of juveniles and adults of Eurasian woodcock shot during hunting activity.

	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>c</sup>	4 <sup>d</sup>	5 <sup>e</sup>	6 <sup>f</sup>	7 <sup>g</sup>	TOT	Mean	SD
Adults (n=31)	9	9	27	29	22	5	1	102	3.29	3.54
Juveniles (n=28)	9	3	33	42	13	11	2	113	4.04	4.43
TOT	18	12	60	71	35	16	3	215	3.64	3.97

<sup>a</sup>head neck; <sup>b</sup>wings; <sup>c</sup>humerus pectoral girdle; <sup>d</sup>thorax; <sup>e</sup>abdomen; <sup>f</sup>femur tibiotarsus; <sup>g</sup>tarsus metatarsus

Table 1(b). Number of fragmentation centres in different body sectors of juveniles and adults of Eurasian woodcock shot during hunting activity.

	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>c</sup>	4 <sup>d</sup>	5 <sup>e</sup>	6 <sup>f</sup>	7 <sup>g</sup>	TOT	Mean	SD
Adults (n=31)	15	22	9	1	2	5	5	59	1.90	1.99
Juveniles (n=28)	6	26	15	3	1	8	7	66	2.36	2.54
TOT	21	48	24	4	3	13	12	125	2.14	2.27

<sup>a</sup>head neck; <sup>b</sup>wings; <sup>c</sup>humerus pectoral girdle; <sup>d</sup>thorax; <sup>e</sup>abdomen; <sup>f</sup>femur tibiotarsus; <sup>g</sup>tarsus metatarsus

Table 2(a). Distribution of different fragment classes in adults of Eurasian woodcock shot during hunting activity (score 0 = none visible; score 1 = 1-2 macro fragments; score 2 = 2-4 micro fragments; score 3 = > 4 fragments).

	<b>1<sup>a</sup></b>	<b>2<sup>b</sup></b>	<b>3<sup>c</sup></b>	<b>4<sup>d</sup></b>	<b>5<sup>e</sup></b>	<b>6<sup>f</sup></b>	<b>7<sup>g</sup></b>	<b>TOT</b>
<b>score 1</b>	1	2	1	0	1	0	3	<b>8</b>
<b>score 2</b>	13	13	2	1	1	4	2	<b>36</b>
<b>score 3</b>	1	7	6	0	0	1	0	<b>15</b>
<b>TOT</b>	<b>15</b>	<b>22</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>59</b>

<sup>a</sup>head neck; <sup>b</sup>wings; <sup>c</sup>humerus pectoral girdle; <sup>d</sup>thorax; <sup>e</sup>abdomen; <sup>f</sup>femur tibiotarsus; <sup>g</sup>tarsus metatarsus

Table 2(b). Distribution of different fragment classes in juveniles of Eurasian woodcock shot during hunting activity (score 0 = none visible; score 1 = 1-2 macro fragments; score 2 = 2-4 micro fragments; score 3 = > 4 fragments).

	<b>1<sup>a</sup></b>	<b>2<sup>b</sup></b>	<b>3<sup>c</sup></b>	<b>4<sup>d</sup></b>	<b>5<sup>e</sup></b>	<b>6<sup>f</sup></b>	<b>7<sup>g</sup></b>	<b>TOT</b>
<b>score 1</b>	0	4	2	1	1	1	1	<b>10</b>
<b>score 2</b>	3	9	6	2	0	3	3	<b>26</b>
<b>score 3</b>	3	13	7	0	0	4	3	<b>30</b>
<b>TOT</b>	<b>6</b>	<b>26</b>	<b>15</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>8</b>	<b>7</b>	<b>66</b>

<sup>a</sup>head neck; <sup>b</sup>wings; <sup>c</sup>humerus pectoral girdle; <sup>d</sup>thorax; <sup>e</sup>abdomen; <sup>f</sup>femur tibiotarsus; <sup>g</sup>tarsus metatarsus

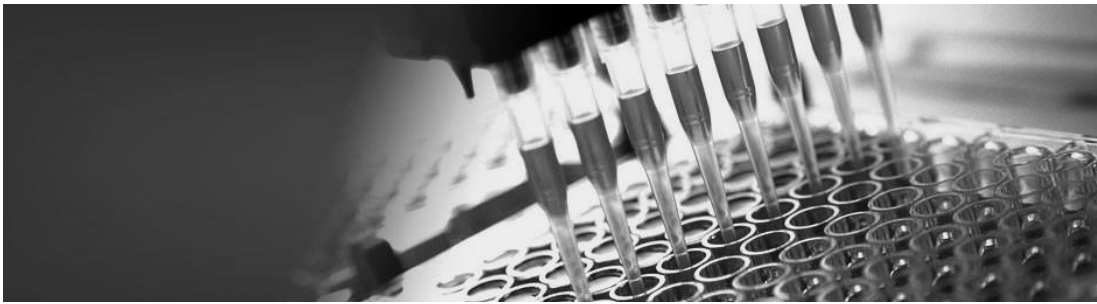
Table 3. Dimension and mean weight of pellets normally used by Italian hunters to shoot woodcock.

<b>pellet number</b>	<b>Φ (mm)</b>	<b>mean weight (g)</b>
<b>8</b>	2.3	0.070
<b>9</b>	2.1	0.053
<b>10</b>	1.9	0.039

Table 4. Rate of embedded shot pellets, expressed as number of whole shot per 100 g of body weight, in bird species of different size.

<b>Species</b>	<b>n</b>	<b>Body weight (g)</b>	<b>Shot rate</b>	<b>pellet</b>	<b>References</b>
<b>European starling</b>	196	70	0.93		Andreotti and Borghesi 2013
<b>Eurasian woodcock</b>	59	300	1.21		this study
<b>Red-legged partridge</b>	64	500	0.73		Mateo et al. 2011
<b>Thick-billed murre</b>	50	900	0.41		Johansen et al. 2001
<b>Common eider</b>	25	2000	0.52		Johansen et al. 2004

**CAPITOLO 7 IL RUOLO ECOLOGICO DELLA BECCACCIA  
NEL TRASPORTO DEI LIEVITI**



*Foto: mechatronik.steinmeyer.com*



## INTRODUZIONE

L'ecologia microbica associata agli uccelli ha rappresentato l'oggetto di diverse lavori in campo microbiologico (Maul et al. 2005). Negli ultimi anni l'interesse verso queste tematiche è aumentato, lo scopo è quello di valutare lo stato di salute e/o il rischio di malattie degli uccelli (Silvanose et al. 2001), e soprattutto approfondire la conoscenza sulle infezioni umane veicolate dalla fauna selvatica (Tsiodras et al. 2008). È stato dimostrato che l'avifauna, può essere vettore, anche a lunga distanza, di microrganismi patogeni trasmissibili all'uomo (Nuttall 1997). Particolare attenzione è stata rivolta alla diffusione di batteri attraverso i migratori mentre pochi studi sono stati incentrati sulla diffusione di lieviti e muffe (Cafarchia et al. 2006; Jansson et al. 2008).

Poiché questi animali fungono da vettori di microrganismi, l'analisi della microflora trasportata può essere importante per valutare la diversità microbica degli habitat frequentati nei loro spostamenti.

Francesca et al. (2010) hanno recentemente effettuato delle ricerche sulla diffusione di lieviti enologici in aree di vigneti utilizzando popolazioni sedentarie di merli (*Turdus merula*) come indicatori. Gli stessi autori hanno esaminato uccelli migratori senza però riscontrare la presenza di lieviti interessanti.

Ad oggi non è presente nessun dato sulla persistenza (temporale) di un lievito presente nella faringe o nella cloaca di un uccello e quindi nessun dato è disponibile sulla "durata" della diffusione ambientale dei funghi ad opera di uccelli.

Il presente lavoro ha avuto lo scopo di isolare, identificare e caratterizzare lieviti trasportati da uccelli migratori per ottenere nuove informazioni sull'ecologia blastomicetica, fornire ulteriori informazioni sul reale rapporto fra lieviti autoctoni e relativa sorgente d'isolamento ad oggi non indagate.

### **MATERIALI E METODI**

Sono stati analizzati 450 individui provenienti da uno stock di beccacce sequestrate e destinate alla distruzione. Da ciascun esemplare è stato prelevato un tampone faringeo e cloacale (per la procedura vedi Cafarchia et al. 2006) per la rilevazione della presenza di colture di lieviti e muffe. I tamponi faringei e cloacali sono stati successivamente strisciati su due diversi substrati: Wallerstein Laboratory (WL) nutrient agar (Oxoid, Milano, Italia) addizionati con cloramfenicolo (0,5 g/l) e bifenile (1 g/l); malt extract (ME) agar (Oxoid) addizionato con cloramfenicolo (0,5 g/l). Le piastre così ottenute sono state incubate per 2-4 giorni a  $28 \pm 2$  °C. Tutte le analisi sono state eseguite in doppio.

Da ciascuna piastra d'isolamento sono stati prelevati 5 colture di lieviti ottenendo così un totale di 247 isolati microbici. Tutti gli isolati sono stati purificati e sottoposti ad un'indagine molecolare per la attribuzione della specie.

Tutte le colture isolate sono state successivamente purificate su ME agar.

Gli isolati blastomicetici sono stati identificati attraverso metodiche genotipiche. Il DNA delle cellule è stato estratto impiegando il kit InstaGene Matrix (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). Per ottenere una prima differenziazione dei lieviti, gli isolati sono stati sottoposti ad una restrizione per via enzimatica del gene 5.8S-ITS

rRNA per valutarne i relativi polimorfismi (restriction fragment length polymorphism -RFLP- analysis). La regione oggetto della restrizione è stata amplificata impiegando la coppia di primer ITS1/ITS4 (Esteve-Zarzosó et al. 1999) mediante l'utilizzo di un termocicizzatore T1 (Biometra, Göttingen, Germania). Gli ampliconi così ottenuti sono stati fatti digerire con le seguenti endonucleasi di restrizione: *CfoI*, *HaeIII* e *HinfI* (MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Germania) e mantenuti a 37 °C per circa 8 ore. Tutti gli isolati ascrivibili al genere *Hanseniaspora* sono stati ulteriormente digeriti con l'enzima di restrizione *DdeI* (MBI Fermentas). I prodotti di amplificazione ITS sono stati caricati su un gel di agarosio a due diverse concentrazioni: 1.5 e 3% (p/v) realizzati in tampone 1 × TBE (89 mM Tris-borato, 2 mM EDTA, pH 8). Il gel è stato addizionato di SYBER safe DNA gel stain (Invitrogen, Milano, Italia), visualizzato attraverso un transilluminatore UV e la relativa immagine è stata acquisita attraverso Gel Doc 1000 Video Gel Documentation System (BioRad, Richmond, USA). Per la quantificazione delle masse molecolari è stato impiegato come riferimento il marcatore 1kb Plus Ladder 50 pb (Invitrogen).

Con lo scopo di confermare il raggruppamento ottenuto con la tecnica RFLP-ITS, un isolato per ciascun gruppo è stato ulteriormente digerito con altri enzimi e analizzato mediante sequenziamento dei domini variabili D1/D2 del gene 26S rRNA.

Le regioni genomiche ITS1-5.8S-ITS2 e il dominio variabile D1/D2 del gene 26S rRNA sono stati utilizzati per le analisi filogenetiche. Gli allineamenti multipli delle sequenze genotipiche sono stati effettuati con l'utilizzo del programma ClustalW (BioEdit V 7.0.9) (Thompson et al. 1997).

Tutte le sequenze che hanno mostrato un'identità inferiore al 99%, rispetto alla sequenze appartenente al ceppo tipo della specie di riferimento, sono state ulteriormente analizzate. Gli alberi filogenetici sono stati ottenuti utilizzando tre diversi metodi: (i) inferenza Bayesiana, con MrBayes software 3.1.2 (Ronquist & Huelsenbeck 2003); (ii) “maximum-likelihood statistical method” di massima verosimiglianza (Saitou & Nei, 1987) con 1000 iterazioni bootstrap e (iii) metodo “neighbor-joining” basato su “1000 bootstrap replications” (Felsenstein 1985). Gli ultimi due metodi sono stati impiegati utilizzando il software MEGA v5.10 (Tamura et al. 2011). L'ottimizzazione dei parametri statistici impiegati nei modelli analisi filogenetica per la costruzione degli alberi filogenetici sono stati calcolati con “modeltest” del software MEGA v5.10 (Tamura et al. 2011).

La morfologia della colonia su terreno solido agarizzato e la morfologia cellulare al microscopio ottico della nuova specie sono stati esaminati dopo la crescita dei sette isolati su terreno agarizzato al 5% di estratto di malto e sul terreno glucose yeast peptone; l'incubazione delle colture è stata effettuata a 25 ° C per 3 e 7 giorni (Kurtzman et al., 2011). La presenza di ife o pseudo-ife è stata esaminata dopo 7 giorni di crescita su piastre agarizzate allestite secondo il metodo “Dalmau” sul terreno Bacto agar (Difco Laboratories) (Kurtzman et al. 2011). La formazione di ascospore è stata testata utilizzando sei differenti terreni di crescita incubati a 15, 20 e 25 °C (de Garcia et al., 2010): terreno “CMA”, terreno “PDA”, terreno “AC”, Gorodkova agar, terreno di Starkey modificato con etanolo e terreno “GSA” come riportato da de Garcia et al. (2010). Le colture sono state analizzate ad intervalli regolari di 3 giorni per un periodo pari 2 mesi. Tutti gli isolati sono stati sottoposti al

test della sporulazione coltivando le colture in modo separatamente, in coppia e miscelando fra loro tutti gli isolati. Il test di fermentazione del glucosio è stato effettuato in mezzo colturale liquido e l'assimilazione dei composti del carbonio e dell'azoto è stata effettuata in micro-piastre (Robert et al. 1997; Robert 2003; Kurtzman et al. 2011). Tutti gli isolati sono stati sottoposti ad altri numerosi test, come di seguito riportati: crescita a 37 ° C, in presenza di 50% di glucosio, di 0,1% e 0,01% di cicloeximide, di NaCl 10%, di 16% NaCl, di Tween 40, di Tween 60, di Tween 80, di 10% NaCl e 5% di glucosio, di 2-cheto-D-gluconato, in assenza di vitamine, in assenza di amminoacidi. Inoltre le medesime colture sono state sottoposte ai test di degradazione dell'amido, della liquefazione di gelatina e alla test del blu di diazonio (Kurtzman et al. 2011). Per valutare una potenziale capacità da parte degli isolati a tollerare le condizioni che caratterizzano il tratto digestivo delle beccacce, tutti gli isolati sono stati sottoposti al test di crescita in terreno colturale liquido alla temperatura di 40 e 42 °C così come già riportato da Francesca et al., 2013. Il processo di identificazione genotipica è stato concluso mediante il sequenziamento della regione genomica D1/D2 del gene 26S rRNA. In tal senso, circa 3 isolati per ciascuno gruppo RFLP sono stati selezionati e sottoposti ad identificazione.

## **RISULTATI**

Il 42 % (circa) degli uccelli (pari a 52 campioni) è risultato positivo alla presenza di lieviti. Gli isolati, previa estrazione del DNA e analisi 5.8S-RFLP, sono stati

raggruppati in 8 gruppi (Tabelle 8). Ad eccezione del gruppo V, tutti i profili di restrizione relativi ai restanti gruppi (da I a VIII), sono risultati del tutto paragonabili a quelli già riportati in letteratura scientifica (Francesca et al. 2012). Tale risultato ha consentito un'identificazione preliminare delle specie come riportato in Tabella 8.

Mediante la tecnica 5.8S-RFLP si sono individuate un totale di 6 diverse specie blastomicetiche corrispondenti a: *Aureobasidium pullulans* (gruppo I), *Rhodotorula mucilaginosa* (gruppo II), *Candida glabrata* (gruppo III), *Candida krusei* (gruppo IV), *Issatchenkia terricola* (gruppo VI), *Pichia membranifaciens* (gruppo I) e *Saccharomyces cerevisiae* (gruppo VII). Tutti gli isolati ascrivibili al gruppo V sono stati identificati soltanto a livello di genere in quanto la percentuale di omologia fra le sequenze D1/D2 del gene 26S rRNA e quelle presenti in banca dati GenBank, è risultata inferiore al 96 % con *Candida corydali* ([KC798422.1](#)).

Le specie maggiormente riscontrate fra tutti gli isolati sono risultate *Aureobasidium pullulans* e *Candida glabrata* che hanno rappresentato, rispettivamente, il 32 e 27 % del totale degli isolati.

#### DESCRIZIONE FILOGENETICA RELATIVA ALLA PROPOSTA DELLA NUOVA SPECIE CANDIDA SP. NOV.

Sono stati caratterizzate filogeneticamente un totale di 7 colture blastomicetiche (BC-4, BC-4-2, BC-4-3, BC-4-4, BC-4-5, BC-4-6 e BC-4-7) isolate da due diversi individui di beccaccia eurasiatica (*Scolopax rusticola*). Tali isolati hanno mostrato sequenze D1/D2 identiche fra loro e tutti ascritti al genere *Candida*; non è stato possibile l'attribuzione della specie in quanto il confronto fra le sequenze D1/D2 dei

nostri isolati e quelle presenti in banca dati non ha superato il valore di omologia pari al 96 % con la specie *Candida corydali*. Nella Figura 63 sono rappresentati i risultati ottenuti mediante le analisi filogenetiche condotte con tutti e tre i metodi (inferenza Bayesiana, “maximum-likelihood statistical method” e “neighbor-joining method”) di costruzione degli alberi filogenetici.

Le analisi hanno dimostrato che gli isolati appartengono al “clade” *Candida* e che le specie filogeneticamente più vicine risultavano essere, rispettivamente *Candida verbasci*, *Candida corydali*, *Candida morakotiae*, *Candida chauliodes* e *Candida sakaeoensis* (Figura 64). Fra le sequenze D1/D2 dei nostri isolati e quella del ceppo tipo *Candida verbasci* sono state rilevate almeno 3 sostituzioni nucleotidiche individuate nella porzione centrale della suddetta regione genomica. Gli isolati sono stati raggruppati in unico sotto-clade di *Candida* sp. che è risultato separato dalle restanti specie. La separazione è stata sostenuta da alti valori di bootstrap, il che suggerisce che i sette isolati rappresentano una nuova specie ascrivibile al genere *Candida*.

L’analisi filogenetica è stata approfondita eseguendo la comparazione delle sequenze 5.8S-ITS dei nostri isolati con quelle delle specie filogeneticamente più vicine selezionate sulla base dei risultati ottenuti dall’analisi dei domini variabili D1/D2. I sette isolati sono stati riuniti in un unico clade e, al tempo stesso, separati dalle altre specie di *Candida*. Tale separazione è risultata sostenuta da alti valori di bootstraps e il numero di sostituzioni nucleotidiche che ha differenziato i nostri isolati dal ceppo tipo di *C. verbasci* è risultato significativamente superiore a tre.

I sette isolati ascrivibili filogeneticamente alla nuova specie di *Candida*, sono stati caratterizzati anche da un punto di fenotipico per validare e supportare la proposta di descrizione della nuova specie *Candida scolopacis* sp. nov.

Le colture blastomicetiche hanno mostrato una morfologia della colonia su agar di colore beige, con consistenza butirrosa e prive di elevazione; il margine è risultato regolare e non è stata rilevata la presenza di ife e/o pseudo-ife. Le cellule sono risultate di morfologia sferoidale o ellissoidale, in singole o in coppia con una gemmazione multilaterale. Non è stata rilevata alcuna capacità di sporulazione da parte dei setti isolati blastomicetici.

Oltre alle suddette analisi morfologiche, sono stati condotti un totale di 78 test fenotipici i cui risultati sono riportati in Tabella 9. Al fine di facilitare il confronto fra i sette isolati e la specie *C. verbaschi* (ovvero la specie di *Candida* filogeneticamente più vicina), in Tabella 9, sono riportati soltanto i risultati dei test che hanno chiaramente differenziato, da un punto di vista fenotipico, gli isolati dal ceppo tipo di *C. verbaschi*. In modo interessante, a differenza di *C. verbaschi* tutti gli isolati hanno mostrato intensa capacità di sviluppo alla temperatura sia di 37, 40 e 42 °C.

## DISCUSSIONE

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare la diffusione ambientale di lieviti, tra cui anche quelli di interesse tecnologico, attraverso i migratori nel caso specifico la beccaccia eurasiatica. I lieviti sono stati isolati dalla faringe e dalla cloaca e, attraverso un approccio sia fenotipico che molecolare sono stati identificati lieviti a livello di specie. Sono stati individuati alcune specie di lieviti *I. terricola*, *P.*



*membranifaciens*, *A. pullulans* e *R. mucillaginosa* legate comunemente all'ambiente enologico e tecnologico in campo alimentare. Inoltre sono stati isolati lieviti presuntivamente ascrivibili alla specie *S.cerevisiae* che rappresenta il lievito di maggiore interesse sia in termini tecnologici che filogenetici. Sulla base delle nostre conoscenze, questa ricerca, ad oggi, rappresenta il secondo studio effettuato sulla diffusione di lieviti d'interesse tecnologico veicolati dai migratori e fornisce nuove ed importanti informazioni sull'ecologia di tali microrganismi.

Molti studi sono stati condotti su lieviti isolati da diverse parti del corpo e/o feci degli uccelli, ma esclusivamente in ambito medico (Mancianti et al., 2001; Ramirez et al., 1976; Refai et al., 1983). Recentemente, sono stati riscontrati numerosi funghi, patogeni per l'uomo, nella cloaca degli uccelli migratori (Cafarchia et al. 2006a; Hubalek et al. 2004) e in quelle dei rapaci (Cafarchia et al. 2006b), confermando così che tali animali potrebbero essere dei potenziali vettori di microrganismi.

Ad oggi, in un solo lavoro pubblicato da Francesca et al. (2010) sono stati campionati uccelli per l'isolamento di lieviti vinari. È stato osservato che tali lieviti possono essere trasportati da uccelli (sedentari) frequentatori del vigneto durante le loro attività di alimentazione, ma nessuna coltura blastomicetica tecnologicamente interessante è stata riscontrata in uccelli migratori.

Numerose ricerche hanno indagato sull'origine dei lieviti vinari dimostrando che gli insetti (*Drosophila* spp., *Apis* spp. e *Vespa* spp.) possono essere vettori di microrganismi, tra cui i lieviti (Lachance et al. 1994). In passato, l'unica relazione, tra l'altro indiretta, fra lieviti enologici e uccelli è stata ipotizzata da Mortimer et al.

(1999) che ha definito gli uccelli come una delle possibili cause di rottura degli acini d'uva e della successiva contaminazione batterica ad opera degli insetti.

Questi studi hanno dimostrato che i lieviti vinari possono essere diffusi nell'ambiente viticolo da diversi fattori, ma non è stata mai considerata la possibilità che tali microrganismi potrebbero essere trasportati al di fuori delle zone vitate, anche a lunghe distanze, attraverso gli uccelli migratori.

L'ipotesi di una naturale diffusione ambientale è stata confermata dall'isolamento di tale specie dagli essudati di querce nell'America settentrionale (Naumov et al. 1998), un habitat molto lontano da fattori antropici e non correlabile all'ambiente vitivinicolo.

In base a quanto affermato da Mortimer & Polsinelli (1999), *S. cerevisiae* non può essere ritenuto un contaminante microbiologico aereo. Contrariamente alle spore di moltissime muffe, tale specie non è veicolata dal vento e necessita di un vettore per poter raggiungere e contaminare le varie parti dell'ambiente viticolo. Infatti, le cellule di *S. cerevisiae* sono raramente isolate da grappoli d'uva integri ma più frequentemente da uve danneggiate (Vaughan-Martini & Martini 1995; Martini et al. 1996) suggerendo ancora una volta che gli insetti, soprattutto api e drosofile, possono essere vettori di tale microrganismo (Stevic, 1962). Recentemente, secondo una dichiarazione di Loureiro & Malfeito-Ferreira (2007), i ceppi di *S. cerevisiae* possono essere veicolati anche da uccelli che frequentano i vigneti.

Pochi isolati di questa specie sono stati rilevati nei migratori (*Scolopax rusticola*) e valutati sotto il profilo umano-infettivo (Cafarchia et al. 2006a) o in termini di diffusione ambientale (Francesca et al. 2012).

Il presente lavoro di ricerca è stato basato anche sulla descrizione di una nuova specie di lievito appartenente al genere *Candida*, proposto come *Candida Scolopacis sp., nov* con lo scopo ultimo di supportare l'ipotesi di un adattamento specifico fra lieviti e uccelli migratori sulla base di caratteri tanto genotipici quanto fenotipici. I risultati della presente ricerca, sono chiaramente in linea con quanto dimostrato da Francesca et al. (2013, 2014) che hanno evidenziato una correlazione fra la presenza di nuove specie di lieviti termotolleranti e gli uccelli migratori. I sette isolati di lievito sottoposti a caratterizzazione genotipica e fenotipica sono risultati chiaramente ascrivibili ad una nuova specie termo-tollerante. È logico supporre che i lieviti identificati nella cloaca di uccelli migratori siano stati prima ingeriti e poi siano sopravvissuti alle condizioni del transito gastrico, e resistere così alla temperatura corporea elevata di circa 42 ° C. Non a caso, la maggioranza dei ceppi ascrivibili alle due nuove specie di lievito, *Wickeramomyces siviae* e *Phaffomyces usticensis*, isolate da uccelli migratori durante gli studi di Francesca et al. (2013, 2014) hanno mostrato chiare caratteristiche di resistenza alle alte temperature, a differenza di quanto riportato per le specie di lievito filogeneticamente ad esse correlate.

La specie *W. sylviae* è stata isolata esclusivamente nella cloaca di diversi uccelli migratori catturati in due anni diversi e in due differenti traiettorie migratorie, uno nel mese di ottobre 2012 (migrazione degli uccelli dal Nord Europa all'Africa) e l'altro in aprile 2013 (migrazione degli uccelli dall'Africa verso il Nord Europa) (Francesca et al. 2013, 2014). Pertanto *W. sylviae* potrebbe essere ritenuta una specie

adattato alle condizioni fisiologiche del tratto intestinale degli uccelli, così come gli uccelli migratori potrebbe rappresentare un vettore distanza di questa specie.

In conclusione, il presente lavoro fornisce ulteriori spunti di riflessione sulla diversità blastomicetica associata agli uccelli migratori così come supporta l'ipotesi dell'adattamento dei lieviti presenti nella cloaca dei migratori. Ulteriori analisi di beccacce da sottoporre a campionamento in anni diversi e siti differenti dovrebbero consentire una conoscenza più approfondita della diversità dei lieviti trasportati da tale specie. Inoltre, specifici esperimenti sulla persistenza dei lieviti nella cloaca delle beccacce potrebbero fornire ulteriori informazioni sull'adattamento lievito alle condizioni del tratto intestinale di tali vettori.

Tabella 8. Identificazione genotipica dei lieviti isolati dalla cloaca delle beccacce.

R.P.	5.8S-ITS PCR	Frammenti di restrizione			Specie (% identità) <sup>a</sup>
		<i>CfoI</i>	<i>HaeIII</i>	<i>HinfI</i>	
I	580	260+160+80	440+150	240+180+140	<i>Aureobasidium pullulans</i> (100)
II	530	285+255	438+91	277+261	<i>Candida albicans</i> (99)
III	880	380+160+140	650+220	350+260+55	<i>Candida glabrata</i> (99)
IV	480	105+90+75+56	480	265+220	<i>Candida inconspicua</i> (99)
V	700	325+300	510+70	280+255+95	<i>Candida sp.</i>
VI	650	350+300	520+90	280+235+140	<i>Issatchenkia terricola</i> (99)
VII	530	290+245	360+125	269+180+85	<i>Rhodotorula mucillaginosa</i> (99)
VIII	480	240+220	380+115	404	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (99)

Tutti i valori in tabella relativi al gene 5.8S-ITS e ai frammenti di restrizione sono espressi in paia di basi.

<sup>a</sup> in base ai risultati ottenuti dalla ricerca delle sequenze D1/D2 del gene 26S rRNA nella banca dati NCBI database;

Tabella 9. Caratteristiche fenotipiche dei sette isolati ascrivibili alla nuova specie *Candida scolopaci* sp. nov. alla specie *C. verbasci*, filogeneticamente correlata.

Crescita in/a:	Nuovi isolati							<i>C. verbasci</i>
	BC-4	BC-4-2	BC-4-3	BC-4-4	BC-4-5	BC-4-6	BC-4-7	
YNB	+	+	+	+	+	+	+	
YM	+	+	+	+	+	+	+	
Crescita in presenza di:								
D-Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-
Trealose	+	-	w	+	+	+	+	-
D-Glucose	+	-	w	w	w	+	+	+
D-Galactose	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Sorbose	-	-	-	-	-	-	-	
D-Glucosamine	-	-	-	-	-	-	-	w
D-Ribose	-	-	-	-	-	-	-	
D-Xylose	-	-	-	w	-	-	w	+
L-Arabinose	-	-	+	-	-	-	+	
D-Arabinose	-	-	-	-	-	-	-	
L-Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	
Sucrose	+	w	w	-	-	w	+	+
Maltose	+	w	+	+	+	+	+	+
$\alpha,\alpha$ -Trehalose	-	-	-	+	-	-	-	
Methyl $\alpha$ -D-Glucoside	-	-	-	+	-	-	-	
Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	w
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	
Lactose	-	-	-	-	-	-	-	
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	w
Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	w
Inulin	-	-	-	-	-	-	-	
Starch	-	-	-	-	-	-	-	
Glycerol	w	-	w	w	w	+	w	w
Erythritol	w	-	+	w	-	-	-	
Ribitol	-	w	-	-	-	-	w	-
Xylitol	-	w	-	-	-	-	-	-
L-Arabinitol	-	-	-	-	-	-	-	
D-Glucitol	-	-	-	-	-	-	-	
D-Mannitol	w	-	w	w	w	+	-	+
Galactitol	-	-	-	-	-	-	-	
myo-Inositol	-	-	-	-	-	-	-	w
D-Glucono-1,5-lactone	+	+	+	+	+	+	-	
2-Keto-D-Gluconate	+	w	+	+	+	+	+	
5-Keto-D-Gluconate	-	-	-	-	-	-	-	
D-Gluconate	+	w	w	+	+	+	+	
D-Glucuronate	-	-	-	-	-	-	-	
D-Galacturonate	-	-	-	-	-	-	-	

DL-Lactate	-	-	-	-	-	-	-	
Succinate	-	-	-	-	-	-	-	+
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	w
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	w
Ethanol	-	-	-	-	-	w	-	+
L-tartaric acid	-	-	-	-	-	-	-	
D-tartaric acid	-	-	-	-	-	-	-	
m-tartaric acid	-	-	-	-	-	-	w	
Saccharic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Mucic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Protocatechuic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Vanillic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Ferulic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Veratric acid	-	-	-	-	-	-	-	
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	-	-	-	-	-	-	-	
<i>m</i> -Hydroxybenzoic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Gallic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Salicylic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Gentisic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Catechol	-	-	-	-	-	-	-	
Phenol	-	-	-	-	-	-	-	
L-malic acid	-	-	-	-	-	-	-	
Cycloheximide 0,1%	-	-	-	-	-	-	-	
Cycloheximide 0,01%	-	-	-	-	-	-	-	
Vitamin free	+	+	+	+	+	+	+	
Amino Acid free	+	+	+	+	+	+	+	
Hexadecane	-	-	-	-	-	-	-	
N-Acetil-D-glucosamide	+	+	+	+	+	+	+	
10% NaCl	+	-	+	+	+	+	+	
16% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	
Tween 40	w	-	-	w	w	w	w	
Tween 60	-	-	-	-	-	-	-	
Tween 80	-	-	-	-	-	-	-	
37°C	+	+	+	+	+	+	+	-
40°C	+	+	+	+	+	+	+	-
42°C	-	w	+	+	+	+	+	-

Tabella 10. Caratteristiche fenotipiche dei sette isolati ascrivibili alla nuova specie *Candida scolopacis* sp. nov. alla specie *C. verbasci*, filogeneticamente correlata.

	Nuovi isolati							C. verbasci
	L4A	L4A2	L4A3	L4A4	L4A5	L4A6	L4A7	
Fermentation of trealose	+	-	w	+	+	+	+	-
Assimilation of compounds								
D-Glucose	+	-	w	w	w	+	+	+
D-Glucosamine	-	-	-	-	-	-	-	w
D-Xylose	-	-	-	w	-	-	w	+
Sucrose	+	w	w	-	-	w	+	+
Cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	w
Raffinose	-	-	-	-	-	-	-	w
Melezitose	-	-	-	-	-	-	-	w
Glycerol	w	-	w	w	w	+	w	w
Ribitol	-	w	-	-	-	-	w	-
Xylitol	-	w	-	-	-	-	-	-
D-Mannitol	w	-	w	w	w	+	-	+
myo-Inositol	-	-	-	-	-	-	-	w
Succinate	-	-	-	-	-	-	-	+
Citrate	-	-	-	-	-	-	-	w
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	w
Ethanol	-	-	-	-	-	w	-	+
Growth at								
37°C	+	+	+	+	+	+	+	-
40°C	+	+	+	+	+	+	+	-
42°C	-	w	+	+	+	+	+	-



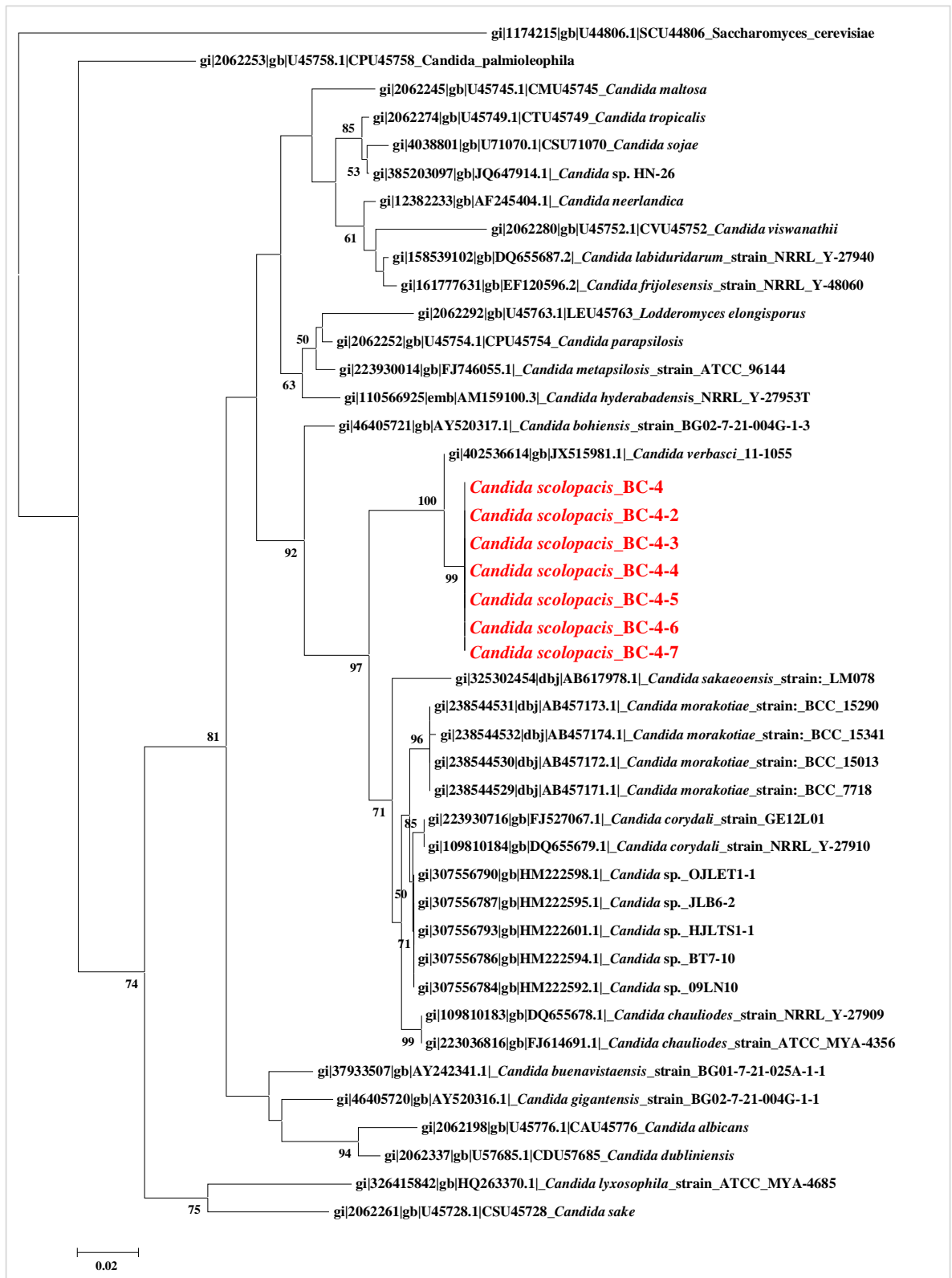


Figura 61. Albero filogenetico ottenuto mediante analisi delle sequenze dei domini variabili D1/D2 del gene 26S rRNA e costruito utilizzando il metodo “Neighbour-joining tree”.

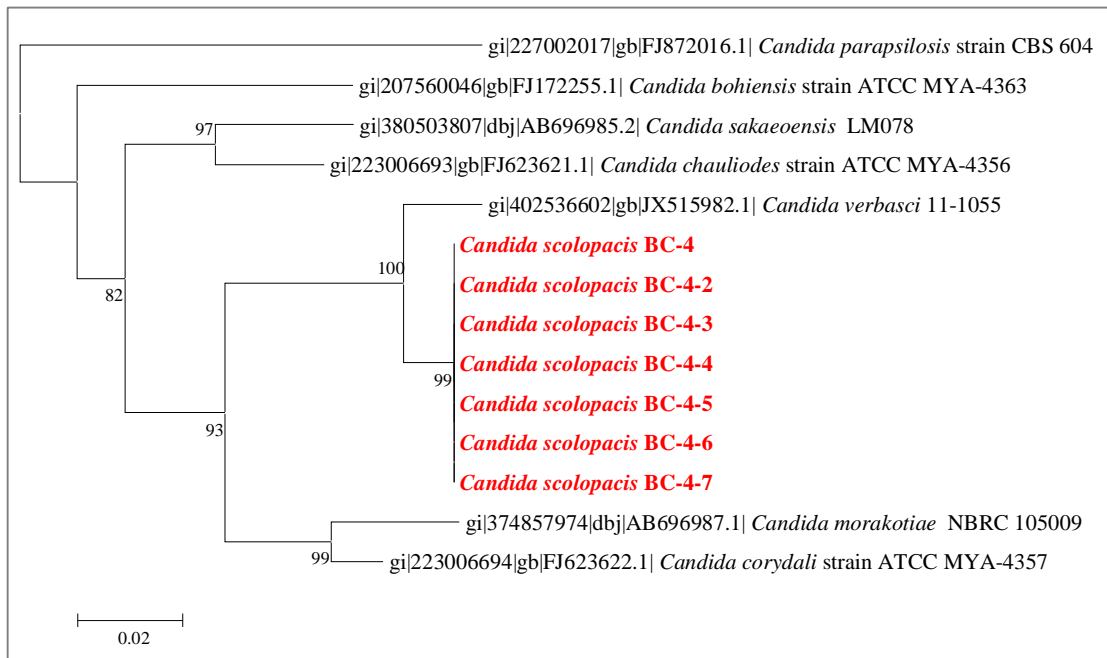


Figura 62. Albero filogenetico ottenuto mediante analisi delle sequenze della regione genomica 5.8S-ITS e costruito utilizzando il metodo “Neighbour-joining tree” .

## CAPITOLO 8

### CONCLUSIONI

*“Of increasing concern today is the fact that these migrations carry the shorebirds across international boundaries and thus through regions with varying conservation practices. Even in the most conservation-minded countries, land management rarely is tuned to the requirements of migrating shorebirds. Unfortunately, population sizes are determined not by the best but rather by the worst conditions that the birds encounter en route.”*

JP Myers 1983 - Conservation of migrating shorebirds: staging areas, geographic bottlenecks, and regional movements - American Birds, 37:23-25.

L'inanellamento della beccaccia ha permesso nell'arco di 50 anni di chiarire diversi aspetti della fenologia dello svernamento di questo limicolo in Italia. L'analisi delle catture e ricatture di uccelli marcati rimane un metodo di notevole importanza per la comprensione di molti aspetti di difficile interpretazione.

Dall'analisi del database in questo lavoro si è delineato un quadro più chiaro di come questo limicolo utilizzi il nostro territorio. L'Italia è percorsa in autunno da popolazioni di beccacce che provengono da diverse aree di origine. Una parte di questi individui rimarranno durante l'inverno nelle nostre regioni mentre altri si sposteranno verso la Francia meridionale per poi a seconda di condizioni meteo più o meno favorevoli risalire verso zone più a nord.

La maggior parte degli individui ritorna fedelmente ai siti di svernamento degli anni precedenti. Questo dato è confermato dalle numerose ricatture che si hanno nei siti di

inanelamento storici. Nella stazione di Castelporziano il tasso di ricattura è del 10.1 % con individui ricatturati anche dopo 11 anni e ripresi più volte nel corso degli anni e dello stesso anno. Le popolazioni che arrivano in centro Italia ed in particolare nel Lazio, si osserva come non vi sia nessuna correlazione tra gli arrivi degli individui e l'afferenza a una determinata classe di età e sesso. La data di arrivo dei contingenti migratori, dai dati per cui è stato possibile dividere gli individui per classe di sesso e età, sembra più in relazione all'anno di campionamento che all'appartenenza ad una determinata classe. Nel 2001, tuttavia, le femmine hanno preceduto di due giorni l'arrivo dei maschi. Nell'area di studio storica (Lazio), il trend delle popolazione dal 1993 al 2007, ha subito un leggero calo, soprattutto, negli adulti, mentre nei giovani non si nota alcuna diminuzione e il numero sembra mantenersi stabile nel tempo. Il rapporto adulti /giovani è rimasto costante nel tempo con i giovani in numero superiore. Nel sotto campione sessato, la sex ratio negli anni 2001-2006 è rimasta stabile e non è stata evidenziata nessuna differenza nelle due classi di età. Questi dati sono di difficile confronto con dati bibliografici perché non si hanno lavori su individui vivi e la maggior parte della letteratura sulla specie proviene da individui abbattuti durante l'attività venatoria. I dati raccolti durante le stagioni di caccia risentono della possibilità che individui appartenenti ad una determinata categoria (sesso e età) possano essere più vulnerabili al tipo di caccia rendendo i dati viziati da campionamento. I giovani infatti sono presenti con una elevata percentuale nei carnieri e l'age ratio è sempre molto spostata verso quest'ultimi come anche il numero di femmine in alcune regioni.

Gli arrivi in Italia si cominciano a registrare in settembre con pochi esemplari. Dalle ricatture estere non si evince una particolare area di origine dei primi arrivi.

Il flusso migratorio verso l'Italia diventa più importante a ottobre e nella prima settimana di novembre soprattutto nelle regioni del nord Italia. Questi individui fanno parte del flusso migratorio che percorre l'Italia e che si fermerà nel sud della Francia e

nel nord della Spagna.

Le ricatture francesi in questo periodo sono in percentuale superiore rispetto ad altre aree di origine soprattutto vengono ricatturati individui inanellati l'anno precedente da giovani in Francia. I movimenti post riproduttivi che interessano l'Italia nei mesi di ottobre e novembre sono rappresentati da individui inanellati in Francia. Nei mesi successivi si assiste ad un picco massimo nella terza decade di novembre e nella prima di dicembre con arrivi di diversi contingenti russi e baltici. Questi ultimi in particolare le ricatture finlandesi sono in numero superiore a dicembre. Il flusso migratorio sembra diminuire a inizio gennaio con un nuovo aumento a metà gennaio. Le ricatture russe sono presenti in tutto il periodo di catture con percentuali sempre maggiori nella seconda decade di novembre. Gli individui catturati in Italia confermano il quadro degli spostamenti degli individui inanellati all'estero e ripresi in Italia.

I percorsi di individui catturati e ripresi nella stessa stagione hanno avvalorato l'ipotesi che l'Italia sia percorsa da flussi migratori diversi con individui che percorrono la catena alpina per sostarsi nel sud della Francia, la catena appenninica per raggiungere le aree più meridionali o spostamenti regione regione a seconda delle condizioni climatiche. La Sardegna sembra essere interessata da flussi locali di scambio individui provenienti dalla Corsica e da individui provenienti dal centro Italia.

Le ricatture estere di individui inanellati in Italia hanno permesso di delineare un quadro più dettagliato delle aree di origine delle popolazioni che svernano in centro Italia. Questi infatti provengono dalla Russia centrale e dal territorio di O' Perm.

La penisola italiana è quindi raggiunta da diversi fronti migratori che nidificano in aree diverse. Le ricatture estere hanno mostrato come individui della popolazione dei paesi baltici e della Russia nord occidentale (area di San Pietroburgo) si disperdano a raggio lungo la penisola italiana.

Individui inanellati in Finlandia raggiungono estremi della nostra penisola utilizzando il

massimo della dispersione. Quelli in aree più settentrionali si distribuiscono nelle aree italiane più a sud e viceversa. L'ipotesi che si evince dai dati di inanellamento sulle aree di origine degli individui che si disperdono in Italia durante lo svernamento è avvalorato anche dallo studio di filogeografia della popolazione svernante in Italia di Trucchi et al (2008).

In questo lavoro sono state analizzate le relazioni filogenetiche e il grado di diversità genetica di individui campionati in diverse regioni italiane, in Scozia, Croazia, Ungheria e Grecia. Utilizzando un marcatore molecolare (gene mitocondriale codificante per il Citocromo *b*) con una velocità di evoluzione adatta allo studio di popolazioni che occupano aree geografiche molto estese è emersa la presenza di due gruppi di aplotipi ben differenziati tra loro che potrebbero corrispondere a due differenti popolazioni provenienti da aree di nidificazione distinte. Attraverso l'analisi delle relazioni di discendenza tra aplotipi si può ipotizzare che, nel recente passato, le due popolazioni siano state caratterizzate da una simile espansione demografica. In entrambi i gruppi troviamo soggetti campionati in Italia, il che suggerisce che il nostro Paese rappresenti un'area di svernamento per beccacce di origine geografica diversa.

Delle sette radiosatellitari soltanto due hanno emesso per un periodo di tempo sufficiente a seguire gli individui nel periodo che va dallo svernamento alla riproduzione.

Le rotte tracciate dalle localizzazioni hanno convalidato flyways che si ipotizzavano attraverso le ricatture di individui inanellati.

In particolare si conferma che il centro Italia è raggiunto da individui provenienti da aree di riproduzione diversa che percorrono corridoi migratori differenti.

Parte degli individui radiomarcati hanno raggiunto le Marche nello specifico il promontorio del Parco del Conero utilizzando questa zona per una breve sosta prima di affrontare il passaggio del mar Adriatico e raggiungere i paesi balcanici.

Due dei 7 individui hanno invece percorso la dorsale appenninica con direzione nord ovest e una è riuscita ad arrivare in Germania.

La migrazione degli individui è stata intervallata da diverse soste più o meno lunghe con un minimo di 5 ad un massimo di 20 giorni.

Il periodo più lungo di sosta è spostato verso la fine del tratto di migrazione quando gli individui sembrano aver raggiunto aree non molto distanti dai siti dove si riprodurranno.

I siti di sosta dove le beccacce hanno interrotto la loro migrazione di ritorno interessano aree negli stati della Croazia, Romania, Ungheria, Slovenia e Slovacchia. La Bielorussia si è mostrata una area molto importante per la sosta e il transito delle beccacce dirette verso la Russia orientale. Le informazioni raccolte con la radiotelemetria satellitare sono di elevato valore scientifico. Tuttavia ancora molti sono i limiti legati all'efficienza della strumentazione. Le radio satellitari utilizzate devono ancora essere migliorate dal punto di vista della ricarica e tarate in modo da poter affrontare le caratteristiche peculiari di specie come la beccaccia che passa gran parte del ciclo biologico in aree densamente boscate. I dati di analisi delle rotte di migrazione in questa area del bacino mediterraneo vanno ad aggiungersi ai lavori recenti fatti sia dalla Spagna, dalla Francia e Inghilterra.

In un lavoro fatto in Spagna, si confermavano i due flussi migratori ipotizzati da Ferrand (2009) che in parte anche questo lavoro confermerebbe.

Tuttavia vi sono movimenti particolari di alcuni individui che devono essere esaminati con maggiore attenzione. In particolare gli individui ripresi in Grecia e inanellati in Italia indicano che vi è un flusso che passa per le regioni più meridionali della Russia e della Grecia. La mancanza di dati è di sicuro ascrivibile alla mancanza di stazioni di inanellamento lungo queste rotte e quindi a tutta una serie di carenze di informazioni.

Altri movimenti particolari sono gli individui presi in Olanda e nel nord della Francia e ricatturati in Italia.

Le analisi temporali indicano che il picco della migrazione post nuziale in Italia è

rappresentata dalle ultime decadi di novembre e la prima di Dicembre slittando di circa un mese quello che invece è noto per la Francia (Guzman et al. 2011).

Ulteriori confronti con le realtà degli altri paesi europei sono indispensabili per chiarire i movimenti post riproduttivi della specie ed evidenziare quelle aree di importanza strategica per la sopravvivenza delle popolazioni.

Queste indagini dovrebbero essere approfondite anche a livello di demografia della popolazione cercando di individuare cambiamenti all'interno delle classi di sesso e età. Per il sesso la ricerca genetica ha apportato un grande contributo tuttavia la possibilità di trovare delle caratteristiche morfologiche che potrebbero aiutare i ricercatori sul campo a identificare il sesso attraverso misure biometriche di facile misura potrebbe essere di enorme contributo a ulteriori ricerche in senso demografico.

In questo lavoro si è affrontato per la prima volta un'analisi accurata di misure biometriche prese su individui vivi.

E' stata trovata una equazione discriminante che permette di sessare correttamente il 78.7% adulti (79.6% di femmine e 77.1% di maschi) e il 76% dei giovani (78.8% femmine e 73.6% maschi). Le variabili fondamentali per questa equazione per gli individui che svernano in centro Italia sono la nona primaria, il becco dal nasello e il tarso negli adulti mentre per i giovani la corda massima, il becco dal nasello e il tarso hanno un potere discriminante superiore. La percentuale dei giovani è ancora troppo bassa per dividere i sessi e seppur quella degli adulti si avvicina all'80% bisogna ancora cercare di individuare quale tra queste misure e differenze alzerebbe il potere discriminante dell'equazione.

Approfondimenti sul ruolo ecologico di questa specie sono necessari alla comprensione di numerose questioni che non riguardano solo strettamente problematiche gestionali inerenti alla demografia della specie.

La fonte principale di ingestione del piombo è l'alimentazione. EFSA (2012), ha dichiarato che il livello di questo metallo nelle fonti alimentari è sceso, ma che il consumo di alcuni cibi può essere di grande rischio. La carne della selvaggina abbattuta con munizioni al Piombo è tra le categorie di cibo ad alto rischio. Nel cinghiale, ad esempio, è stato valutato un contenuto di Piombo di circa 100 volte superiore alla normale carne di suino.

In Europa ci sono circa 7 milioni di cacciatori senza includere la Russia e la Turchia. Quindi si può assumere che approssimativamente diverse decine di milioni di europei che corrispondono al 2-4% dell'intera popolazione mangia più o meno regolarmente



carne di selvaggina. La cifra stimata di uccelli sparati ogni anno si aggira sui 101 milioni di individui . Per valutare il rischio per la salute dei consumatori di selvaggina è importante conoscere la quantità e le caratteristiche del Piombo presente nelle carni delle specie più cacciate. In questo lavoro abbiamo focalizzato l'attenzione sulla contaminazione da piombo nella beccaccia Euroasiatica che risulta essere potenzialmente un veicolo importante di piombo soprattutto per i consumatori abituali di selvaggina.

Lo studio di una specie deve riguardare tutti i campi possibili di ricerca che possono apportare informazioni vitali a rendere chiaro il ruolo ecologico di questa all'interno dell'ecosistema. Ogni essere è profondamente interconnesso con altri come dimostrato nel ruolo di vettore passivo e attivo di diverse specie nel trasporto di lieviti e batteri.

Ogni progetto dovrebbe essere pertanto considerato in un'ottica che connetta diversi campi di studio affinché la visione dell'insieme sia il più possibile vicino a ciò che accade in natura.

## RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro non sarebbe stato possibile senza il supporto morale e logistico del prof. Bruno Massa sempre disponibile ad ascoltare e cercare di risolvere le difficoltà che sorgono quando un progetto ha così diversi campi di studio.

Ringrazio Marcello Tagliavia per avermi insegnato a lavorare in un laboratorio di genetica ed a usare micropipette, ampolline e strane sostanze varie ed è un bene per tutto il mondo che abbia scelto di dedicarmi alla ricerca sul campo.

Ringrazio il Dipartimento di Microbiologia in particolare Nicola Francesca per aver condiviso con me una parte di questa ricerca. Il prof. Tommaso Lamantia per aver contribuito al reperimento del materiale e così anche Leonardo Operaio, Paolo Lo Bue, Fiordilino, Saverio Masaracchia, I. Buscemi.

Tutti i dati di inanellamento sono stati messi a disposizione dal Centro Nazionale di Inanellamento-ISPRA. Ringrazio quindi il Responsabile Fernando Spina, lo staff che si occupa delle catture: Rosita Mantovani, Pierfrancesco Micheloni, Dario Piacentini, Davide Licheri e tutti gli inanellatori che catturano beccacce di notte in giro per l'Italia.

La parte sul Saturnismo è stata effettuata grazie alla collaborazione con Alessandro Andreotti sempre del CNI-ISPRA che studia da tempo questa problematica e che ringrazio per avermi coinvolto in un campo di ricerca di elevato interesse applicativo.

Le carte di analisi delle catture e ricatture sono state fatte grazie ai suggerimenti e alla disponibilità di Alberto Cardillo sempre pronto a rispondere alle mie richieste di aiuto.

Le radio satellitari provengono da fondi raccolti dal progetto nazionale beccaccia ISPRA i cui sponsor per l'acquisto dell'attrezzatura sono stati Atc Bari, Club della beccaccia, Regione Umbria. I fondi non sarebbero stati finalizzati all'acquisto senza il lavoro di Mariangela Selvatici dell'ISPRA di Bologna.

Ringrazio Giuseppe Landucci per aver contribuito più o meno direttamente a parti di questo progetto e per avermi insegnato le tecniche di campo per studiare questo limicolo.

Massimiliano Bultrini per il supporto di analisi statistica e Daniela Campobello per l'enorme disponibilità data per aiutarmi con la consegna moduli, dvd e tesi.

Un particolare grazie a chi è sempre fonte di ispirazione e di supporto Mark W. Miller, Criag Brakes, Fulvio Fraticelli e Alessandro Montemaggiori.

## BIBLIOGRAFIA

- Alerstam T., Hendenstrom A. 1998. The development of bird migration theory. *Journal of Avian Biology*, 29: 343-369.
- Alicata P., De Pietro R., Massa B., 2004. Il contributo delle Riserve Naturali alla conservazione della fauna in Sicilia. *Naturalista sicil.*, 28: 389-410.
- Amrhein V., Kunc H., Schmidt R. & Naguib M. 2007. Temporal patterns of territory settlement and detectability in mated and unmated Nightingales *Luscinia megarhynchos*. *Ibis* **149**: 237-244.
- Ángeles Hernández M., F. Campos, R.Martín, Santamaría T.S. 2011. Usefulness of Biometrics to Analyse Some Ecological Features of Birds. In *Biometrics - Unique and Diverse Applications in Nature, Science, and Technology* Edited by Midori Albert, ISBN 978-953-307-187-9, 206 pages, Publisher: InTech
- Aradis A., Landucci G., Ruda P., Taddei S. 2001. Monitoraggio della Beccaccia *Scolopax rusticola* svernante in un'area del centro Italia (1993-2000): fenologia e biometria. *Avocetta*, 25:44.
- Aradis A., Miller M.W., Landucci G., Ruda P., Taddei S., Spina F., 2008. Winter survival of Eurasian woodcock *Scolopax rusticola* in central Italy. *Wildl. Biol.*,14: 36-43.
- Aradis et al., 2006. La beccaccia (*Scolapax rusticola*) nella Tenuta Presidenziale di Costelporziano. Min. Politiche Agricole, Alimentari e Forestali - Istituto Nazionale Fauna Selvatica, X: 1-XX.
- Arillo A., Dani M.C., Lattes A., Risso A.M., Spanò S. 2000. Confronto fra lo studio delle popolazioni europee di Beccaccia (*Scolopax rusticola*), tramite l'analisi delle distanze genetiche e i risultati dell'inanellamento in relazione ai loro spostamenti. *La regina del bosco*, XXIII (47): 39-42.

- Baldwin S.; Oberholser, H.C. & Worley, L.G. (1931). *Measurements of birds*.  
Scientifics Publications Cleveland Museum Natural History, 2, 1-165, USA
- Bickford-Smith P. 1980. Wintering Woodcock Study in Cornwall. I.W.R.B(W.S.R.G.)  
Newsl, 6:43-46.
- BirdLife International 2004. The BirdLife checklist of the birds of the world, with  
conservation status and taxonomic sources. Version 5. Downloaded from  
<http://www.birdlife.info/im/species/checklist.zip>).
- BirdLife International 2004a. Birds in Europe: population estimates, trends and  
conservation status. Cambridge, UK: BirdLife International. (BirdLife Conservation  
Series N°12).
- Birdlife International, 2004b. Birds in the European Union: a status assessment.  
Wageningen, The Netherlands: BirdLife International.
- Boere G.C. & Stroud, D.A. 2006. The flyway concept: what it is and what it isn't.  
Waterbirds around the world. Eds. G.C. Boere, C.A. Galbraith and D.A. Stroud. The  
Stationery Office, Edinburgh, UK. pp. 40-47.
- Brichetti F., Fracasso G. 2004. Ornitologia italiana. Vol.2 - Tetraonidi - Scolapacidae.  
Alberto Perdisa Editore, Bologna.
- Brichetti P., Massa B. 1989. Aggiunte e rettifiche alla Check-list degli uccelli italiani.  
Riv.Ital.Orn., 61:3-9.
- Bub H. 1991. Bird trapping and bird banding: a Hand book for trapping methods all  
over the world. Cornell University Press.
- Burlando B., Arillo A., Spanò S., 1997. Amplificazione del DNA con primer arbitrari  
(RAPD) per la caratterizzazione genetica delle popolazioni di Beccaccia (*Scolopax  
rusticola*). Suppl. Ric. Biol. Selvaggina, XXVII: 941-949.
- Burt W.H. 1943. Territoriality and home range concept as applied to mammals. Journal  
of Mammalogy, 24:346-352.

- Butler D. & Merton, D. 1992. *The Black Robin*. Oxford: Oxford University Press.
- Cafarchia C., Camarda A. & Romito D. 2006a. Occurrence of yeasts in cloacae of migratory birds. *Mycopathologia*. 161: 229–234.
- Cafarchia C., Romito D. & Iatta R. 2006b. Role of birds of prey as carriers and spreaders of *Cryptococcus neoformans* and other zoonotic yeasts. *Med. Mycol.* 44: 485–492.
- Cafarchia C., Camarda A., Romito D., 2006. Occurrence of yeasts in cloacae of migratory birds. *Mycopathologia* 161.: 229–234.
- Castellani G., 1997. Notizie di nidificazioni di beccaccia nell'appennino centrale. *La regina del Bosco* 42 :39.
- Catry P., Phillips R.A. & Croxall, J.P. 2005 Sexual segregation in birds: patterns, processes and implications for conservation. In *Sexual segregation: ecology of the two sexes* (ed. K.E. Ruckstuhl & P.Neuhaus). Cambridge University Press.
- Clausager I. 1973. Age and sex determination of the Woodcock, *Scolopax rusticola*, in Denmark. *Danish Rev.Game Biol.*, 8:1-18.
- Cramp S., Simmons E.L 1983. *The birds of Western Palearctic*. Oxford University Press.
- Cristol D.A., Baker, M.B. & Carbone C. 1999 Differential migration revisited: latitudinal segregation by age and sex class. In *Current ornithology*, vol. 15 (ed. V. J. Nolan, E. D. Ketterson & C. F. Thompson), pp. 33–88. New York: Kluwer/Plenum.
- de Garcia V., Brizzio S., Libkind D., Rosa C.A. & van Broock M. 2010. *Wickerhamomyces patagonicus* sp. nov., an ascomycetous yeast species from Patagonia, Argentina. *Int J Syst Evol Microbiol*, 60: 1693–1696.
- Del Hoyo J., Elliott A. & Sargatal J. 1996. *Handbook of the Birds of the World*, vol. 3: Hoatzin to Auks. Lynx Edicions, Barcelona, Spain.
- Delaney S. & Scott D., 2002. *Waterbird Population Estimates*, Wageningen, The Netherlands, Third Edition, Wetlands International.
- Donald P.F. 2007. Adult sex ratios in wild bird populations. *Ibis*, 149: 671–692.

- Dubiec A. & Zagalska-Neubauer, M., 2006. Molecular Techniques for Sex Identification in Birds. *Biological Letters*, 43(1) :3–12.
- Duriez O., H. Fritz, S. Said, and Y. Ferrand. 2005. Wintering behaviour and spatial ecology of Eurasian woodcock *Scolopax rusticola* in western France. *Ibis*, 147: 519–532
- Edwards A. W. F. 1998. Natural Selection and the Sex Ratio: Fisher's Sources. *The American Naturalist*, 151(6): 564-569.
- Ellegren H. 1996. First gene on the avian W chromosome provides a tag for universal sexing of non-ratite birds. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B*, 263: 1635-1641.
- Ellegren H., 2000. Evolution of the Avian Sex Chromosomes and Their Role in Sex Determination. *Trends in Ecology & Evolution*, 15(5): 188–192.
- Esteve-Zarzoso B., Manzanares P., Ramon D., Querol A. 1998. The role of non-*Saccharomyces* yeasts in industrial winemaking. *International Microbiology*, 1: 143-148.
- Fadat C.H. 1986. Utilisation des tableaux de bécasses pour la gestion cynégétique de leurs populations. Proc 3rd Eur. Woodcock and Snipe Workshop, 96-108. P. Havet & G. Hirons eds. IWRB, Slimbridge England.
- Fadat C.H. 1997. Proposte per la gestione venatoria delle popolazioni di Beccaccia (*Scolopax rusticola*) in Europa. *Supp. Ric. Biol. Selvaggina*, 27:923-939.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39: 783–791.
- Ferrand Y., Gossmann F., 1995. *La Bécasse de bois*. Hatier, Paris, 164 pp.
- Ferrand Y. & Gossmann F., 2001. Elements for a Woodcock (*Scolopax rusticola*) management plan. *Game Wildl. Sci.*, 18: 115–139.
- Ferrand Y., Gossmann F. 2009. *La Bécasse de bois*. Hatier, Paris.

- Ferrand Y., P. Aubry, P. Landry & P. Priol. 2013. Responses of Eurasian woodcock *Scolopax rusticola* to simulated hunting disturbance. *Wildl. Biol.* 19: 19-29
- Fokin S., Zverev P., Romanov Y. & Kozlova M. 2009. Autumn migration and Woodcock ringing in Central Russia in 2009. *WI-WSSG Newsletter*, 35: 15-7.
- Francesca N., Carvalho C, Almeida PM, Sannino C, Settanni L, Sampaio JP & Moschetti G. 2013. *Wickerhamomyces sylviae* f.a., sp. nov., an ascomycetous yeast species isolated from migratory birds in Sicily, Italy. *Int J Syst Evol Microbiol*, 63: 4824–4830.
- Francesca N., Canale D.E., Settanni L. & Moschetti G. 2012. Dissemination of wine-related yeasts by migratory birds. *Environ Microbiol Rep*, 4: 105–112.
- Francesca N., Chiurazzi M., Romano R., Aponte M., Settanni L. & Moschetti G. 2010. Indigenous yeast communities in the environment of “Rovello Bianco” grape variety and their use in commercial white wine fermentation. *World J Microb Biotech*, 26: 337–351.
- Francesca N., Chiurazzi M., Romano R., Aponte M., Settanni L., Moschetti G. 2010. Indigenous yeast communities in the environment of "Rovello bianco" grape variety and their use in commercial white wine fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26 (2): 337-351.
- Fretwell S.D. & Calver, J.S. 1970. On territorial behavior and other factors influencing habitat distribution in birds II: Sex ratio variation in the Dickcissel (*Spiza americana* Gmel). *Acta Biotheor.*, 19: 37–44.
- Fridolfsson AK., Ellegren H. 2000. Molecular evolution of the avian CHD1 genes on the Z and W sex chromosomes. *Genetics*, 155:1903-1912
- Fuller M.R., Millsbaugh, J.J., Church, K.E., Kenward, R.E. 2005. Wildlife radiotelemetry. In Braun, C.E., ed. *Techniques for wildlife investigations and management*, pp.377-417. The Wildlife Society, Bethesda, USA.
- Garavini E. 1978. *Beccacce e beccacciai*. Editoriale Olimpia, Firenze 1978.



- Glasgow L. 1958. The night-time capture of Woodcock and others birds for banding. Ring, 14:10-11.
- Gossmann F., Ferrand Y., Loidon Y., Sardet G. 1986. Méthodes et résultats de baguages des bécasses des bois (*Scolopax rusticola*) en Bretagne. Proc.3rd European Woodcock and Snipe Workshop: 34-41. P. Havet & G. Hirons eds – IWRB, Slimbridge England.
- Granval P. 1988. Approche écologique de la gestion de l'espace rural:des besoins de la becasse des bois (*Scolopax rusticola* L.)à la qualitédes milieux.Thèse de doctorat E'cologie, Aménagement. Université de Rennes I:1-179.
- Griffiths R., Daan S., Dijkstra C. 1996. Sex identification in birds using two CHD genes. Proc. R. Soc. Lond. Ser. B 263:1251-1256.
- Griffiths R., 2000. Sex Identification in Birds. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 9(14):1–17. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055937X00800122> [Accessed November 11, 2012].
- Griffiths R., Double, M.C., Orr, K.,Dawson, R.J.G., 1998. A DNA Test to Sex Most Birds. Molecular Ecology, 7, pp.1071–1075.
- Guzmán J. L., Y.Ferrand & B. Arroyo. 2011. Origin and migration of woodcock *Scolopax rusticola* wintering in Spain. European Journal of Wildlife Research 57, 3 : 647-655.
- Hardy C.W., 2002. Sex Ratios: Concepts and Research Methods. (ed) Cambridge University press, pp. 414.
- Heat M., Borggreve C., Peet N. 2000. European bird populations: estimates and trends. Birdlife International, Cambridge, UK.
- Hedd A., Montevicchi W.A., Phillips R.A., Fifield D.A. 2014. Seasonal Sexual Segregation by Monomorphic Sooty Shearwaters *Puffinus griseus* Reflects Different

- Reproductive Roles during the Pre-Laying Period. PLoS ONE 9(1): e85572.  
doi:10.1371/journal.pone.0085572
- Hernández M.Á., F. Campos, R. Martín, T. Santamaría. 2011. Usefulness of Biometrics to Analyse Some Ecological Features of Birds. In D. M. Albert, ed. Biometrics Unique and Diverse Applications in Nature, Science, and Technology. pp. 1–22.
- Hirons G. 1981. Sex and discrimination in the Woodcock. *Game Cons. Ann. Rev.*, 12:67-72.
- Hirons G., Bickford-Smith P. 1983. The diet and behavior of Eurasian woodcock wintering in Cornwall. 2nd European Woodcock and Snipe Workshop, Fordingbridge, UK, International Waterfowl Research Bureau: 11-17.
- Hoodless A.N. 1994. Aspects of the ecology of the European woodcock (*Scolopax rusticola*), PhD thesis, Durham University. Available at Durham E-Theses Online: <http://etheses.dur.ac.uk/5519/>
- Hoodless A.N. 2002. Eurasian Woodcock *Scolopax rusticola*. In: The Migration Atlas: movements of the birds of Britain and Ireland. Wernham C.V., Toms M.P., Marchant J.H., Clarck J.A., Siriwardena G.M., Baillie S.R.T. & A.D.Poyser (eds) London:319-322.
- Hoodless A.N. & Coulson J.C., 1994. Survival rates and movements of British and Continental woodcocks *Scolopax rusticola* in the British Isles. *Bird Study*, 41: 48–86.
- Hubalek Z. 2004. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. *Journal of Wildlife Diseases*, 40: 639-659.
- IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.2. <[www.iucnredlist.org](http://www.iucnredlist.org)>.  
Downloaded on 19 August 2014.

- Jansson D.S., Brojer C., Mattsson R., Feinstein R., Morner T., Hard C. 2008. Mycotic proventriculitis in gray partridges (*Perdix perdix*) on two game bird farms. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 39 (3): 428–437.
- Johnson M.D., Sherry, T.W., Holmes, R.T. & Marra, P.P. 2006. Assessing habitat quality for a migratory songbird wintering in natural and agricultural habitats. *Conserv. Biol.* **20**: 1433–1444.
- Kenward R.E. 2001. *A Manual for Wildlife Radio Tagging*. London. Academic Press, 311 pp.
- Kleijn D. & Sutherland W.J. 2003. How effective are European agri-environment schemes in conserving and promoting biodiversity? *Journal of Applied Ecology*, 40: 947-969.
- Kokko H., Gunnarsson, T.G., Morrell, L.J. & Gill, J.A. 2006. Why do female migratory birds arrive later than males? *J. Anim. Ecol.*, 75:1293–1303.
- Kurtzman C.P., Fell J.W., Boekhout T. & Robert V. 2011. Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. *The Yeasts, a Taxonomic Study* (Kurtzman CP, Fell JW & Boekhout T, eds), pp. 87–110. Elsevier, Amsterdam.
- Lachance M. A., Gilbert D. G., Starmer W. T. (1994). Yeast communities associated with *Drosophila* species and related flies in eastern oak-pine forests: a comparison with western communities, *Journal of Industrial Microbiology*, 14: 484–494.
- Lo Valvo M., 1988. Alcuni risultati sulla biologia e biometria della Beccaccia (*Scolopax rusticola*) in Sicilia. *La Regina del bosco*, 23 (suppl.): 1-14.
- Loureiro V., Malfeito-Ferreira M. (2007). The ecology of contamination yeasts on wine grapes. In: *Proceedings of the international specialized symposium on yeasts ISSY26, Sorrento, Italy*, p.
- Lutz M. & Jensen F.P. 2006. European Union management plan for Woodcock *Scolopax rusticola*. 2007-2009. European Commission, unpublished report.

- Mancianti F., Tardoni S., Cecherelli R. 2001. Occurrence of yeasts in psittacines droppings from captive birds in Italy. *Mycopathologia*, 153:121-124.
- Martini A., Ciani M., Scorzetti G. (1996). Direct enumeration and isolation of wine yeasts from grape surfaces. *American Journal of Enology and Viticulture*, 47: 435-440.
- Maul J.D., Gandhi J.P., Farris J.L. (2005). Community-level physiological profiles of cloacal microbes in songbirds (Order: Passeriformes): Variation due to host species, host diet, and habitat. *Microbial Ecology*, 50: 19-28.
- Mayr E. 1939. The sex ratio in wild birds. *Am. Nat.*, 73: 156-179.
- McAuley D.G., Longcore J.R., Sepik F.G. 1993. Technique for research into Woodcocks: Experiences and Recommendations. U.S. Fish and Wildlife Service. Biological Report, 16:6-11.
- McIlhenny E.A. 1940. Sex ratio in wild birds. *Auk*, 57: 85-93.
- Memoli A. & Paffetti D. 2007. Indagini preliminari sulla variabilità genetica della Beccaccia (*Scolopax rusticola* L.). *L'Italia Forestale e Montana*, 62: 117-128.
- Meschini E., Frugis S. (Eds.). 1993. Atlante degli uccelli nidificanti in Italia. Suppl. Ric. Biol. Selvaggina, XX:1-344.
- Moore F. R. & M. S. Woodrey. 1993. Stopover habitat and its importance in the conservation of landbird migrants. In *Proceedings of the Annual Conference of the Southeast Association of Fish and Wildlife Agencies*, vol. 47, pp. 447-459.
- Morgan J.H. 2004. Remarks on the taking and recording of biometric measurements in birds ringing. *Ring*, 26: 71-78. ISSN 0035-5429
- Mortimer R.K. 2000. Evolution and variation of the yeast (*Saccharomyces*) genome. *Genome Research*. 10: 403-409.
- Mortimer R.K., Polsinelli M. 1999. On the origin of wine yeast. *Research in Microbiology*, 150:199-204.

- Myers JP. 1983. Conservation of migrating shorebirds: staging areas, geographic bottlenecks, and regional movements - *American Birds*, 37:23-25.
- Nadal J., Nadal, J. & Rodriguez-Teijeiro, J.D. 1996. Red-legged partridge *Alectoris rufa* age and sex ratios in declining populations in Huesca (Spain) applied to management. *Rev. Ecol-Terre Vie*, 51: 243-257.
- Naumov G. I. 1999. Genetic identification of biological species in the *Saccharomyces sensu stricto* complex. *Journal of Industrial Microbiology*, 17: 295-302.
- Nebel S., Lank, D. B., O'Hara, P. D., Fernández, G., Haase, B., Delgado, F. & Warnock S. E. 2002. Western Sandpipers (*Calidris mauri*) during the nonbreeding season: spatial segregation on a hemispheric scale. *The Auk*, 119(4): 922-928.
- Nebel S. 2005. Latitudinal clines in bill length and sex ratio in a migratory shorebird: a case of resource partitioning? *Acta Oecologica* 28: 33-38.
- Newson S.E., Woodburn, R.J.W., Noble, D.G., Baillie, S.R. & Gregory, R.D. 2005. Evaluating the Breeding Bird Survey for producing national population size and density estimates. *Bird Study*, 52:42-54.
- Newton I. 2008. *The migration ecology of birds*. Academic Press 2008 Oxford, UK.
- Nuttall P.A. 1997. Viruses, bacteria and fungi of birds. In: Clayton DH, Moore J, editors. *Host-parasite evolution*. Oxford, UK: University Press, pp. 271-302.
- Payevsky V.A. 1993. The sex structure of bird populations and its variation. *Zool. Zhu.* 72:85-97.
- Peronace V., Cecere J.G., Gustin M., Rondinini C., 2012. Lista Rossa 2011 degli Uccelli Nidificanti in Italia. *Avocetta*, 36: 11-58.
- Perttunen E. 1980. Migration, breeding, biology and hunting of the woodcock (*Scolopax rusticola*) in Finland. *W.S.R.G. Newsletter*, 6:10-13.
- Phillips R.A., Silk, J.R.D., Phalan, B., Catry, P., Croxall, J.P., 2004. Seasonal sexual segregation in two *Thalassarche* albatross species: competitive exclusion,

- reproductive role specialization or foraging niche divergence? Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci., 271: 1283-1291.
- Poiret M. 2003. Crop trends and environmental impacts. Eurostat: [http://europa.eu.int/comm/agriculture/envir/report/en/evo\\_cu\\_en/report.htm](http://europa.eu.int/comm/agriculture/envir/report/en/evo_cu_en/report.htm).
- Powell A. 2013. Origins and non-breeding ecology of Eurasian woodcock. DPhil. University of Oxford.
- Puzovic S. 1994. On the Woodcock in former Yugoslavia. IWRB Publication, 31, 35-41.
- Ramirez R., Robertstad G.W., Hutchison L.R., Chavez J. 1976. Mycotic flora in the lower digestive tract of feral pigeons (*Columba livia*) in El Paso, Texas area. Journal of Wildlife Diseases, 12: 83-85.
- Refai M., Taha M., Selim S.A., Elshabourii F., Yousseff H.H. 1983. Isolation of *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans* and other yeasts from pigeon droppings in Egypt. Sabouraudia, 21:163-165.
- Robert V., Refai M., Taha M., Selim S.A., Elshabourii F., Yousseff H.H. 1983. Isolation of *Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans* and other yeasts from pigeon droppings in Egypt. Sabouraudia, 21:163-165.
- Robert V., Evrard P. & Hennebert G.L. 1997. BCCM/Allev 2.00, an automated system for the identification of yeasts. Mycotaxon 64: 455-463.
- Robin J.P., Boos M., Gossmann F., Zorn T., Le Maho Y., Grocolas R. 1999. Cold spell sensitivity of the woodcock. IUGB XXIVth Congress, Thessaloniki: 259-266.
- Robinson R.A., Sutherland W.J. 2002. Post-war changes in arable farming and biodiversity in Great Britain. Journal of Applied Ecology 39: 157-176.
- Ronquist F. & Huelsenbeck J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 19:1572-1574.
- Rotondi M. 1962. Migratori alati. La Rotografica, Roma

- Rubenstein D.R. & Hobson K.A., 2004. From birds to butterflies: animal movement patterns and stable isotopes. *Trends in Ecology and Evolution*, 19: 256–263.
- Saari L. 2006. Spread of the Woodcock *Scolopax rusticola* to Finnish Lapland. *WI-WSSG Newsletter* 32: 22-28.
- Silvanose C.D., Bailey T.A., Naldo J.L., Howlett J.C. 2001. Bacterial flora of the conjunctiva and nasal cavity in normal and diseased captive bustards. *Avian Diseases*. 42: 447-451.
- Snow D.W. & C.M. Perrins. 1998. *The birds of the Western Palearctic*. Oxford University Press, Oxford.
- Sorace A., Landucci G., Ruda P., Carere C., 1999. Age classes, morphometrics and body mass of Woodcocks, *Scolopax rusticola*, wintering in Central Italy. *Vogelwarte*, 40: 57-62.
- Southwood T.R.E. 1966. *Ecological Methods*. Methuen, London, 391 pp.
- Spanò S. 1997. Stato delle conoscenze sulla biologia della Beccaccia, *Scolopax rusticola* nell'ottica di una corretta gestione della specie. *Supp.Ric.Biol.Selvaggina*, XXVII:909-922.
- Spanò S. 2001. *Il punto sulla beccaccia*. Ed. Olimpia, Firenze.
- Spina F., Volponi S. 2008. *Atlante della Migrazione degli Uccelli in Italia.1. non-Passeriformi*. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale (ISPRA). Tipografia CSR-Roma. 800 pp.
- Stevic S. 1962. The significance of bees (*Apis* sp.) and wasps (*Vespa* sp.) as carriers of yeast for the microflora of grapes and the quality of wine, *Arkhiv zav Poljoprivredne Nauke*, 50: 80-92.

- Sterbetz I. & Kiss J.B. 1974. Contribution à la détermination de la nourriture de la becasse (*Scolopax rusticola*) à la suite de l'analyse de cent estomachs. La Mordorée, 112:20-23.
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Steker G, Nei M & Kumar S (2011) MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Mol Biol Evol, 28: 2731–2739.
- Tavecchia G., Pradel R., Gossmann F., Bastat C., Ferrand Y., Lebreton J.D. 2002. Temporal variation in annual survival probability of the Eurasian Woodcock *Scolopax rusticola* wintering in France. Wildl.Biol., 8: 21-30.
- Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F. & Higgins D.G. 1997. The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res. 25: 4876–4882.
- Trucchi E., Allegrucci G., Riccarducci G., Aradis A., Spina F., Sbordoni V. 2011. A genetic characterization of European Woodcock (*Scolopax rusticola*, Charadriidae, Charadriiformes) overwintering in Italy. Italian Journal of Zoology, 78(2): 146–156.
- Tsiodras S., Kelesidis T., Kelesidis I., Bauchinger U., Falagas M.E. (2008). Human infections associated with wild birds. Journal of Infection, 56: 83-98.
- Tucker G.M., Heath M.F. 1994. Birds in Europe: their conservation status. Birdlife International, Cambridge, UK.
- Vaughan-Martini A., Martini A. 1995. Facts, myths and legends on the prime industrial microorganism. Journal of Industrial Microbiology, 14: 514-522.
- Wadsack J.A. 1981. The woodcock situation in Tunisia. Woodcock and Snipe Research Group Newsletter 7: 34-41.
- Wadsack J.A. 1991. Some notes on the woodcock season 1990/91 in Morocco. Woodcock and Snipe Research Group Newsletter 18:19.



- Wetland International 2002. Eurasian Woodcock. In: Waterbird population estimates, Wetlands International Global Series N°12, Wageningen, The Netherlands(eds): 164.
- Wetlands International 2012. Waterbird Population Estimates, Fifth Edition. Summary Report. Wetlands International, Wageningen, The Netherlands.
- Wilson J. 1979. Summary report on aspects of the breeding biology of the woodcock *Scolopax rusticola* in Ireland. In Proceedings of the 1 st European Woodcock & Snipe Workshop. Ebeltoft, Denmark, 24-26 April 1979. 7-12
- Wilson J. 1983. Wintering site fidelity of woodcock in Ireland. 2nd European Woodcock and Snipe Workshop, Fordingbridge, UK, International Waterfowl Research Bureau:18-27.
- Wilson K. & Hardy, I.C.W.2002. Statistical analysis of sex ratios: an introduction. In Hardy, I.C.W.(ed.). Sex Ratios: Concepts and Research Methods: 48–92. Cambridge: Cambridge University Press.
- Winker K. 1993. Specimen shrinkage in Tennessee Warblers and “Traill’s” Flycatchers. Journal of Field Ornithology, 64, 331-336, ISSN 0273-8570
- Winker K. 1996. Specimen shrinkage versus evolution: I'iwi morphology. Conservation Biology, 10, 657-658, ISSN 0888-8892
- Włodarczyk R., Minias P., Gogga P., Kaczmarek K., Remisiewicz M. & Janiszewski T., 2011. Sexing Common Snipe *Gallinago gallinago* in the field using biometric criteria. Wader Study Group Bull., 118(1): 10–13.
- Worton B.J. 1989. Kernel methods for estimating the utilization distribution in home range studies. Ecology, 70:164-168.
- Zanette L. 2001. Indicators of habitat quality and the reproductive output of a forest songbird in small and large fragments. J. Avian Biol., 32:38–46.

Zinov'yev V.I.1980. Birds of the forest zone of the European part of the USSR  
(Charadriiformes). Kalin State University. In Woodcock & Snipe Specialist group  
Newsletter 23, 2000: 26-32.



