

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Medicina Animale, Produzioni e Salute

Corso di Laurea Magistrale a ciclo unico in

MEDICINA VETERINARIA

**INFLUENZA DEI FATTORI AMBIENTALI SULLA
DINAMICA DEGLI ENDO-PARASSITI NELLA COLONIA
DI STAMBECCHI DELLA MARMOLADA**

Relatore

Dott. Rudi Cassini

Correlatore

Dott.ssa Paola Semenzato

Laureando

Fabio Sartore

Matricola n°1047775

ANNO ACCADEMICO 2016-2017

*“Poiché anche la Natura è conservatrice,
portiamo nel coccige quanto resta
di una coda scomparsa”.*

Primo Levi



RIASSUNTO

Le parassitosi broncopolmonari e gastrointestinali dello stambecco alpino (*Capra Ibex*) sono state indagate da diversi autori. Solo in pochi però hanno esaminato i risultati ottenuti mettendoli in relazione con i parametri climatici e ambientali. Questo tipo di indagine è stato svolto da molti altri autori su diverse specie animali, sia selvatiche ma soprattutto domestiche. I risultati ottenuti hanno evidenziato che la variabilità delle prevalenze e delle abbondanze di diversi generi parassitari, può essere condizionata da diversi parametri climatici ed ambientali quali la temperatura, le precipitazioni, l'umidità relativa, l'esposizione al sole, il periodo del campionamento (mesi e stagioni) e, in minor misura, la vegetazione.

L'obiettivo di questa tesi è stato quello di individuare delle possibili correlazioni tra alcuni di questi parametri e le parassitosi dello stambecco alpino in termini di prevalenza ed abbondanza. Questo è stato possibile nel contesto di un'indagine multidisciplinare finalizzata ad indagare gli aspetti ecologici e demografici della colonia di stambecchi della Marmolada.

In totale sono stati raccolti 418 campioni di feci di stambecco dal 2013 al 2016, in un periodo compreso generalmente tra giugno e novembre. In seguito, sono state svolte delle analisi copromicroscopiche per identificare la prevalenza e l'abbondanza dei parassiti gastrointestinali. Gli stessi parametri sono stati indagati per i parassiti broncopolmonari tramite una versione innovativa della tecnica di Baermann, con la quale è stato possibile ottenere una stima quantitativa dell'emissione delle larve di primo stadio.

I parassiti individuati e le relative prevalenze ottenute sono stati: coccidi (100%), strongili gastrointestinali (98,6%) escluso il gruppo *Marshallagia/Nematodirus* (71,8%), cestodi (18,9%), *Trichuris* (2,6%) e *Capillaria* (0,5%). Per quanto riguarda gli strongili broncopolmonari sono stati individuati: *Muellerius* (71,1%), *Protostrongylus* (11,5%), *Neostrongylus* (2,6%) e *Cystocaulus* (0,5%).

Solamente dalle analisi relative a *Muellerius* sono emerse delle correlazioni significative con la temperatura, l'NDVI e il numero di giorni con copertura nevosa.

Nessun fattore climatico ed ambientale considerato in questa tesi è quindi risultato influenzare in modo evidente la dinamica dei parassiti nella colonia esaminata. Lo studio ha comunque contribuito a fornire informazioni utili riguardanti lo stretto rapporto che intercorre tra ambiente, parassita e ospite e a monitorare il livello d'infestazione di questi animali, i quali costituiscono un importante patrimonio faunistico per l'ecosistema delle Dolomiti.

ABSTRACT

Although gastrointestinal and bronchopulmonary parasites of free-ranging Alpine Ibex (*Capra ibex*) have been studied by many researchers, only few of these studies have examined the influence that climatic and environmental factors could have on parasites. Instead, this relationship has been analysed on many other wild animal species, but especially on domestic ones, by other researchers. The results of these studies show that in many cases parasites' prevalence and abundance can be influenced by climatic and environmental factors such as temperature, rainfall, relative humidity, sunlight exposure, sampling period (months and seasons) and, with the least influence, vegetation.

The aim of this thesis was to find a correlation between environmental parameters and parasites' abundance and prevalence in free-ranging Alpine Ibex. This study has been realised thanks to a multidisciplinary survey on the Marmolada's colony of Alpine Ibexes.

For this study 418 Alpine Ibex faecal samples were collected from 2013 to 2016, from June to November. They have been analysed through coprological examination to detect prevalence and abundance of gastrointestinal parasites. As for bronchopulmonary parasites, prevalence and abundance have been detected through a new version of the Baermann method that allows to approximately quantify the number of L1 in a given sample.

The detected parasites' genus and prevalence are as follows: coccidia (100%), gastrointestinal strongylids (98,6%) except for *Marshallagia/Nematodirus* group whose prevalence is 71,8%, cestoda (18,9%), *Trichuris* (2,6%) and *Capillaria* (0,5%). As to bronchopulmonary parasites, the following groups have been detected: *Muellerius* (71,1%), *Protostrongylus* (11,5%), *Neostrongylus* (2,6%) and *Cystocaulus* (0,5%).

Analyses have shown that *Muellerius* is the only group whose abundance is influenced by temperature, NDVI and number of days with snow cover.

Therefore, this study has not found any correlations between parasites abundance and climatic and environmental factors, except for *Muellerius*. Nevertheless, this work has provided more information about the relationship among the host, the environment and the parasite and it has allowed to monitor infection on the Dolomites' Alpine Ibexes.

Sommario

PARTE GENERALE	9
1 Introduzione	11
1.1 Lo stambecco	11
1.1.1 Biologia della specie	11
1.1.2 Cenni storici della colonia oggetto dello studio	13
1.2 Clima e habitat del massiccio della Marmolada.....	14
1.3 I parassiti dello stambecco	15
1.3.1 I nematodi.....	15
1.3.2 I cestodi	20
1.3.3 I coccidi.....	21
1.4 Interazioni ambiente-parassiti	21
1.4.1 Fattori climatici	21
1.4.2 Fattori ambientali	24
1.4.3 Altri fattori.....	25
PARTE SPERIMENTALE	27
2 Obiettivo della tesi	29
3 Materiali e metodi	31
3.1 Area di studio	31
3.2 Campionamento	32
3.3 Analisi di laboratorio.....	33
3.3.1 Parassiti gastrointestinali.....	33
3.3.2 Parassiti broncopolmonari.....	34
3.4 Raccolta dati ambientali	35
3.5 Analisi statistica	36
4 Risultati	39
4.1 Ambiente.....	39
4.1.1 Anno 2013.....	40
4.1.2 Anno 2014.....	42
4.1.3 Anno 2015.....	43
4.1.4 Anno 2016.....	45
4.2 Parassiti	46

4.2.1	Coccidi.....	48
4.2.2	SGI	49
4.2.3	Marshallagia/Nematodirus	50
4.2.4	Cestodi.....	51
4.2.5	Muellerius.....	53
4.2.6	Protostrongylus.....	55
5	Discussione.....	57
5.1	Parassiti gastrointestinali.....	57
5.1.1	Coccidi.....	57
5.1.2	SGI	57
5.1.3	Marshallagia/Nematodirus	58
5.1.4	Cestodi.....	59
5.2	Parassiti broncopolmonari.....	59
5.2.1	Muellerius.....	59
5.2.2	Protostrongylus.....	60
6	Conclusioni.....	63
7	Bibliografia.....	65
8	Sitografia	73
9	Ringraziamenti	75

PARTE GENERALE

1 Introduzione

1.1 Lo stambecco

1.1.1 Biologia della specie

Tassonomia dello stambecco alpino:

Phylum: cordati

Classe : mammiferi

Superordine: ungulati

Ordine : artiodattili

Sottordine : ruminanti

Famiglia : bovidi

Sottofamiglia : caprine

Tribù : caprini

Genere : *Capra*

Specie : *Capra ibex*

Sottospecie : *Capra ibex ibex, Linnaeus 1758*

Lo stambecco, la cui morfologia ricorda quella di una capra domestica, possiede una robusta costituzione fisica e l'altezza al garrese varia dai 70 ai 92 cm. Il peso alla nascita generalmente si aggira tra i 2 e i 3,5 Kg in entrambi i sessi, mentre già a 18 mesi di età i maschi superano spesso i 20 kg, fatto che non avviene quasi mai tra gli esemplari del sesso opposto. Il peso massimo viene raggiunto con la piena maturità sessuale, la quale avviene verso i 7 anni per i maschi e i 4 anni per le femmine e corrisponde rispettivamente a 90-100 e 40-50 kg, salvo eccezioni che possono superare questi valori medi.

Il mantello non presenta dimorfismo sessuale e subisce delle variazioni stagionali in due momenti dell'anno, primavera ed autunno. Tra i mesi di maggio e giugno avviene una vera e propria muta con la quale viene perso il folto pelo invernale, detto "borra", per lasciare posto al più leggero mantello estivo, chiamato "giarra", il quale possiede una colorazione marrone chiaro o beige. Nei mesi di ottobre e novembre invece non avviene una reale muta, ma si ha solamente la crescita aggiuntiva della borra, la quale va a conferire al mantello una colorazione più intensa di quella estiva, caratterizzata da un marrone molto scuro. Durante questi cambiamenti il pelo della zona perineale e della zona toracico-addominale mantiene invariato il suo colore biancastro.



Figura 1.1: Femmine con capretti



Figura 1.2: Maschi

In quanto appartenenti alla famiglia dei bovidi, anche gli stambecchi possiedono delle corna. Queste sono strutture formate da un astuccio corneo, ciascuno ricoprente uno dei due processi cornuali originanti entrambi dall'osso frontale. Esse rappresentano in questa specie il principale carattere di dimorfismo sessuale: nel maschio infatti si hanno corna molto più imponenti rispetto a quelle della femmina e possono rispettivamente raggiungere una lunghezza pari a 90-100 cm e 20-30 cm nell'età adulta. Già nei capretti tra i 2 ed i 3 mesi d'età, in particolar modo negli esemplari di sesso maschile, si possono notare due piccoli abbozzi cornuali di circa 2 cm, difficilmente osservabili da lontano. Nel corso degli anni, le corna crescono continuamente, inizialmente di 7-9 cm/anno e, dopo il raggiungimento della piena maturità sessuale, di 1-4 cm/anno. Nell'arco dei 12 mesi la crescita delle corna non è omogenea, infatti nel periodo invernale si blocca quasi completamente per poi riprendere in primavera. Questa pausa invernale fa sì che si formino dei solchi circonfenziali, detti "anelli di crescita", particolarmente evidenti nella regione posteriore delle corna. Il numero di anelli di crescita corrisponde all'età dell'animale. Particolarmente evidenti nei maschi ma molto meno nelle femmine, sono dei nodi situati nella parte anteriore dell'astuccio corneo, molto spesso presenti a coppie tra due anelli di crescita, ma assenti nel segmento apicale. Altra caratteristica dello stambecco riguarda gli unghioni i quali, al contrario del camoscio, non sono collegati dalla plica interdigitale. L'assenza di questa membrana permette una maggiore indipendenza dei due unghioni, la quale conferisce all'animale un appoggio più stabile adatto ad affrontare gli aspri terreni rocciosi.

Le dinamiche sociali invece si basano principalmente sul comportamento sessuale della specie. Il periodo degli amori degli stambecchi si colloca tra fine novembre e metà gennaio mentre i parti si concentrano principalmente a giugno, in seguito ad una gravidanza di 168 ± 3 giorni. Durante l'estate i maschi e le femmine accompagnate dai capretti e dai giovani maschi vivono in gruppi separati, più o meno numerosi a seconda della densità di popolazione che caratterizza quell'area. Con l'inizio del periodo degli amori, i maschi iniziano a disperdersi e si uniscono ai gruppi di

femmine, con le quali si accoppieranno solamente i maschi di rango più elevato. Da fine gennaio a inizio primavera i maschi, gradualmente, si allontanano dalle femmine per tornare a formare i gruppi precedenti i mesi invernali. Infine le femmine gravide, tra fine maggio e inizio luglio, si separano dal gruppo e si isolano nelle zone più impervie e meno accessibili per partorire, per poi riunirsi poco tempo dopo alle loro iniziali compagne assieme ai nuovi nati.

1.1.2 Cenni storici della colonia oggetto dello studio

Data la sua ridotta distanza critica di fuga, lo stambecco ha sempre costituito una facile preda per i cacciatori. Questo bovide veniva cacciato per l'abbondante quantità di carne che forniva la sua carcassa, per l'imponente trofeo e per le proprietà curative che la tradizione popolare aveva attribuito a diverse parti del suo corpo. Dal XVI secolo, con l'introduzione delle armi da fuoco, la sua numerosità calò drasticamente fino quasi all'estinzione sulle Alpi. L'ultimo nucleo, costituito da poco meno di un centinaio di individui, fu quello del massiccio del Gran Paradiso, in Val d'Aosta. Questo gruppo venne preservato grazie a Re Vittorio Emanuele II, il quale emanò, il 21 settembre 1821, i primi decreti volti a impedire la scomparsa di questo animale. Nel 1836, venne istituita la Riserva Reale di Caccia del Gran Paradiso, successivamente convertita nel primo parco nazionale d'Italia, grazie alla quale la popolazione di stambecchi poté continuare a crescere fino a raggiungere i 4000 esemplari all'inizio del XX secolo. Fu proprio da qui che negli anni successivi vennero prelevati gli individui utilizzati per i vari progetti di ripopolamento dello stambecco sulle Alpi italiane. Infatti, nel 1978, 3 maschi e 3 femmine provenienti dal Parco Nazionale del Gran Paradiso, vennero reintrodotti nell'habitat della Marmolada, seguiti l'estate successiva da altri 4 esemplari. Il progetto ebbe successo, in quanto la neo-colonia aumentò fino a superare i 400 individui stimati. Questo incremento durò fino all'inverno tra il 2003 e il 2004, periodo in cui un'epidemia di rogna sarcoptica, probabilmente originata dal camoscio (Menzano et al., 2007), provocò un rapido decremento della popolazione. Negli anni seguenti, per rinforzare la colonia, sono state effettuate delle reintroduzioni di esemplari maschi, rispettivamente di 9 soggetti nel 2006 e 5 nel 2007 (Scillitani et al., 2013). Negli anni seguenti, si è riscontrato un tasso di crescita costante della colonia, pari al 6%. Nel 2016, la colonia si stimava essere composta da circa 250 esemplari (Ramanzin, non pubblicato).

1.2 Clima e habitat del massiccio della Marmolada

Lo stambecco è un animale adattatosi alla vita ad alta quota. Nel periodo estivo infatti occupa le aree tra i 2300 ed i 3200 m s.l.m., sopra il limitare del bosco. A queste altitudini si trovano gli ultimi spazi erbosi i quali, con l'aumentare dell'altitudine, si fanno sempre più rarefatti mentre prendono il sopravvento ghiaioni e ripidi pendii rocciosi. A queste altitudini è presente un clima meno umido e più fresco che viene tollerato molto bene da questa specie.

Durante i mesi invernali, questi ungulati si spostano ad altitudini minori, generalmente tra i 1600 ed i 2800 m s.l.m., occupando tendenzialmente le zone a sud/sud-ovest dove il manto nevoso è meno spesso e permette di accedere con minore difficoltà alle scarse risorse alimentari che ricopre. Le zone a più bassa quota sono maggiormente frequentate ad inizio primavera, quando lo sciogliersi delle nevi espone i ricchi e rinnovati pascoli. Queste aree sono caratterizzate dalla presenza di alberi come larici, abeti ed occasionali latifoglie, come ad esempio l'ontano verde. Salendo di quota questa vegetazione tende a sciamare per lasciare posto a pini mughi, piccole aree di pascolo, cardi ed altre specie erbose (*Sesleria varia*, *Carex sempervirens*, *Nardus stricta*, *Carex firma*).

Il massiccio della Marmolada, facente parte del gruppo delle Dolomiti, è caratterizzato da un tipico clima alpino, con inverni rigidi ed estati miti e piovose. Ad un'altezza di 2000m s.l.m., le temperature medie invernali variano dai -8°C come minima ai -2°C di massima, mentre in estate si aggirano tra i 7°C ed i 15°C. Nell'arco dei 12 mesi si hanno valori al di sopra dello 0 generalmente tra maggio e novembre, sebbene questo range possa subire delle variazioni di anno in anno. Con l'avanzare dell'estate, le temperature raggiungono i massimi livelli verso la metà di luglio mantenendosi discretamente elevate fino a inizio ottobre. Da novembre i valori diurni scendono al di sotto dello 0, raggiungendo le minime stagionali a febbraio inoltrato. Infine, con l'avanzare dei mesi primaverili, le temperature tornano gradualmente a salire.

Per quanto riguarda la pluviometria si ha una netta prevalenza delle precipitazioni nel periodo estivo dove si concentra quasi il 50% delle piogge annuali, raggiungendo mediamente i 420 mm tra Giugno e Settembre. La piovosità minima invece si raggiunge in inverno con 125 mm per una media annuale totale di 1050mm.

1.3 I parassiti dello stambecco

1.3.1 I nematodi

La classe dei nematodi, detti anche “vermi tondi”, nome derivante dal tipico aspetto tondeggiante della sezione trasversale del loro corpo, comprende elminti dalla forma tubulare assottigliata ai poli terminali, in particolar modo a livello della coda. L'intera struttura è ricoperta da una cuticola prodotta dall'ipoderma immediatamente sottostante ad essa, seguito a sua volta dalle cellule muscolari le quali consentono il movimento del parassita.

Lungo il suo decorso, la cuticola presenta diverse modificazioni strutturali. La più importante è la borsa copulatoria, presente nella porzione terminale del maschio. Questa formazione, utilizzata per avvolgere la femmina durante la copula, costituisce una delle principali caratteristiche per l'identificazione tassonomica di molti nematodi.

Per la maggior parte della sua lunghezza, il fascio muscolare è attraversato in quattro punti dall'ipoderma, il quale si invagina verso la cavità celomatica per avvolgere lateralmente i due canali escretori e dorsalmente e ventralmente i due cordoni nervosi. I canali escretori assieme al poro escretore, situato nella parte ventrale della zona esofagea, nel quale confluiscono dopo essersi uniti, vanno a formare l'apparato escretore.

L'apparato riproduttore delle femmine adulte è formato da ovaio, ovidutto, utero, vagina e vulva, attraverso la quale il maschio inserisce i suoi spicola, strutture chitinee utilizzate durante la copula. Il seme maschile viene prodotto dall'unico testicolo presente e veicolato tramite un dotto deferente alla cloaca, dalla quale viene intromesso nell'utero della femmina.

I nematodi possiedono un apparato digerente composto da un'apertura buccale, più o meno grande a seconda della specie, un faringe, un esofago ed un intestino, il quale termina con un'apertura anale nelle femmine ed in una cloaca nei maschi. L'esofago costituisce uno dei principali caratteri utilizzati per classificare questi parassiti. La sua morfologia infatti può essere di 6 tipi:

- filariforme, dalla forma semplice e lineare;
- a bulbo, dall'aspetto globoso nella parte caudale;
- a doppio bulbo, avente un rigonfiamento aggiuntivo rispetto alla morfologia precedente;
- rabditiforme, avente un restringimento nella porzione centrale;
- muscolo-ghiandolare, composto da una porzione muscolare cranialmente e ghiandolare caudalmente;
- tricuroide, filiforme passante attraverso un'unica colonna di cellule.

Il ciclo vitale di questi parassiti può essere diretto o indiretto a seconda della specie. La maggior parte di essi producono delle uova che vengono eliminate nell'ambiente con le feci. L'infestazione dell'ospite definitivo può avvenire tramite diverse modalità:

- ingestione di uova larvate;
- ingestione di larve di stadio L₃;
- penetrazione attiva delle larve L₃ tramite la cute dell'ospite definitivo;
- ingestione di ospiti intermedi veicolanti larve maturate al loro interno fino allo stadio L₃;

Una volta raggiunto l'interno dell'ospite, i parassiti possono compiere o meno una migrazione per raggiungere l'organo bersaglio dove maturare a parassiti adulti.

Due fenomeni che si possono verificare nel corso del ciclo vitale sono l'ipobiosi e l'aumentata emissione di uova in prossimità ed immediatamente dopo il parto, chiamata anche "aumento post-partum" o "aumento primaverile". Con il termine "ipobiosi" si va ad indicare un arresto dello sviluppo delle larve all'interno dell'ospite definitivo. Questo meccanismo si avvia in presenza di condizioni ambientali, interne o esterne all'ospite definitivo, sfavorevoli, come ad esempio l'inizio dell'inverno o la buona immunocompetenza di un individuo adulto in salute. Così facendo, il parassita risparmia energia evitando di produrre uova, le quali sopravviverebbero con difficoltà nell'ambiente esterno in presenza di rigide condizioni climatiche. Non è ancora chiaro cosa scateni l'interruzione dell'ipobiosi. Nel caso in cui tutte le larve interrompano contemporaneamente l'ipobiosi (meccanismo non ancora noto) e mutino allo stadio adulto, la sintomatologia diventa manifesta e l'emissione di uova aumenta improvvisamente. L'aumento post-partum invece, consiste in un'aumentata emissione di uova nell'ambiente in seguito al calo delle difese immunitarie che si verifica in prossimità e dopo il parto. Questa temporanea vulnerabilità immunitaria è dovuta all'effetto immunosoppressivo della prolattina, ormone stimolante la produzione di latte che aumenta poco prima del parto. Tale deficit immunitario può favorire la maturazione di larve in ipobiosi e aumentare temporaneamente la fertilità degli adulti già presenti nell'ospite con un conseguente aumento nell'emissione di uova.

Tra i parassiti infestanti l'apparato digerente ricordiamo in particolare:

- strongili gastro-intestinali: gruppo di parassiti aventi, per la maggior parte, il medesimo ciclo vitale diretto. Le uova di questi parassiti non permettono di identificarne i generi d'appartenenza, in quanto aventi tutte una morfologia tra loro sovrapponibile. Le uova emesse con le feci schiudono nell'ambiente esterno. Da queste escono le larve di primo stadio, le quali maturano nell'ambiente fino allo stadio di L₃, la fase infestante. Questa può penetrare attivamente la cute (es. genere *Strongyloides*) e migrare fino all'organo bersaglio oppure può essere ingerita direttamente dall'ospite definitivo. Gli organi ospitanti gli adulti possono essere abomaso, intestino tenue o intestino crasso e variano a seconda della specie. Generalmente questi parassiti si vanno a localizzare a livello submucosale, a volte formando dei noduli biancastri visibili ad occhio nudo. L'epitelio dell'organo colpito può diventare ipotrofico fino alla eventuale formazione di ulcere abomasali o atrofia dei villi intestinali. A queste lesioni seguono dispersione proteica e malassorbimento dei nutrienti

con conseguente dimagrimento, diarrea, inappetenza, minor accrescimento e morte nei casi più estremi.

- *Marshallagia/Nematodirus*: sono due generi di nematodi, entrambi appartenenti alla superfamiglia Trichostrongyloidea, che producono uova difficilmente distinguibili tra loro in quanto aventi morfologia molto simile. Entrambe sono di grosse dimensioni (150-250 x 65-110 μm) e di forma ellissoidale, ma le uova di *Nematodirus* contengono generalmente un numero inferiore di blastomeri rispetto a quelle di *Marshallagia*. Entrambi i generi hanno un ciclo vitale diretto e la larva di terzo stadio rappresenta la fase infestante. Questa, una volta ingerita dall'ospite definitivo, raggiunge lo stadio adulto nel piccolo intestino e nell'abomaso, rispettivamente per *Nematodirus* e *Marshallagia*. Quest'ultima generalmente non causa sintomatologie evidenti. Al contrario, *Nematodirus* può provocare diarrea dall'aspetto giallo-verdastro in seguito alla distruzione dei villi intestinali. Questa sintomatologia, specialmente nei soggetti più giovani, nel lungo periodo può essere seguita da disidratazione ed inappetenza.
- *Trichuris spp.* : appartenenti alla superfamiglia Trichuroidea, vengono anche chiamati "vermi a frusta" per la particolare morfologia degli adulti. Infatti questi ultimi, con lunghezza di circa 4-7 cm, hanno la parte posteriore del corpo più grossa rispetto alla filiforme porzione anteriore. Il ciclo è diretto e l'ospite definitivo si infesta ingerendo dall'ambiente le uova già larvate. Queste ultime possiedono una forma ellittica (70 x 35 μm) con due bottoni alle estremità allineati sull'asse maggiore di ciascun uovo. Le L₁ escono dalle uova, penetrano nelle ghiandole della mucosa intestinale di digiuno, cieco e colon e qui mutano fino alla fase adulta. Generalmente non danno una sintomatologia manifesta e, nelle rare occasioni in cui ci sia un'infestazione massiva, possono causare lesioni ulcerative prevalentemente a livello ciecale.
- *Capillaria spp.* : parassiti appartenenti alla superfamiglia Trichuroidea i quali, raggiunto lo stadio adulto, si vanno a localizzare a livello intestinale. Compie un ciclo diretto avente come elemento infestante le uova contenenti la larva di primo stadio. Dalle uova ingerite dall'ospite definitivo fuoriescono le L₁, le quali mutano fino alla forma adulta. Le femmine, dopo l'accoppiamento, producono uova di forma ellittica (45-50 x 22-25 μm) con due tappi ai poli non allineati lungo l'asse maggiore dell'uovo. Non causa sintomi evidenti se non con infestazioni massive e spesso compaiono prima dell'eliminazione delle uova.

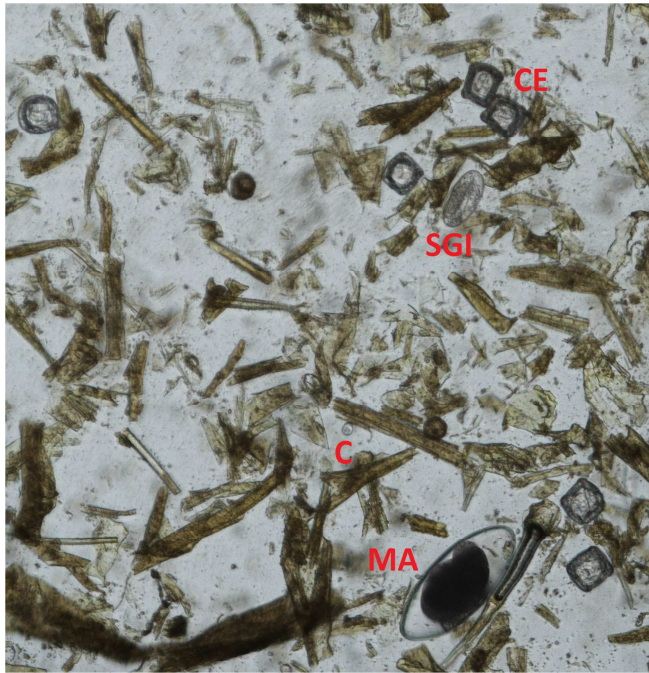


Figura 1.3: Uova di strongili gastrointestinali (SGI), cestodi (CE), *Marshallagia/Nematodirus* (MA) e oocisti di coccidi (C).



Figura 1.4: Uovo di *Trichuris* (T) e oocisti di coccidi (C).



Figura 1.5: Uovo di *Capillaria*.

Tra i nematodi bronco-polmonari sono stati segnalati nello stambecco i seguenti generi, tutti appartenenti alla superfamiglia Metastrongyloidea:

- *Muellerius spp.*: parassita a ciclo indiretto avente come ospite intermedio molluschi terrestri (chiocchie e lumache). Le dimensioni degli adulti vanno da 1 a 3 cm circa. Le larve L₁ si identificano grazie alla coda a fiamma, simile ad una “S” accompagnata da una spicola. La velocità di sviluppo da L₁ a L₃ è dimostrato dipendere anche dalla specie dell’ospite intermedio infestato (Panuska et al., 2006; Solomon et al., 1996). I nematodi appartenenti a questo genere possiedono una buona resistenza nei confronti dei climi più rigidi (Broeckx e Gawor, 2001). Generalmente non provoca sintomi evidenti nell’ospite definitivo, ma con infestazioni massive può provocare tosse e dispnea. Inoltre può predisporre a polmoniti batteriche secondarie. Le lesioni anatomo-patologiche consistono in noduli necrotici di piccole dimensioni dispersi nel parenchima polmonare, contenenti più o meno elementi parassitari a seconda delle dimensioni.
- *Protostrongylus spp.*: parassita avente un ciclo indiretto e come ospiti intermedi dei gasteropodi terrestri di diverse specie. Gli adulti, maschi e femmine rispettivamente, possono raggiungere dimensioni di 4,5 e 6,5 cm di lunghezza. Le larve di stadio L₁ possiedono una coda breve e leggermente ondulata, ma priva di spicole. Alcuni autori (Manfredi et al., 1996) hanno dimostrato però che queste larve possiedono una morfologia sovrapponibile a quelle appartenenti al genere *Spiculocaulus*, tali da risultare indistinguibili all’esame microscopico. Raramente provoca polmoniti o sintomi evidenti mentre invece causa spesso irritazione ed infiammazione mucosale dei bronchi nei quali si localizza.

Viene spesso diagnosticato solo alla necropsia con l'individuazione di piccole aree di polmonite lobulare.

- *Cystocaulus spp.*: parassita a ciclo indiretto avente come ospiti intermedi dei gasteropodi terrestri. Maschi e femmine adulte hanno, rispettivamente, dimensioni pari a 4-5 e 9 cm circa. Le larve di primo stadio possiedono una coda ondulata caratterizzata dalla presenza di tre spine, due dorsali e una ventrale. La sintomatologia e le lesioni anatomico-patologiche sono sovrapponibili a quelle provocate da *Protostrongylus spp.*
- *Neostrogylus spp.*: parassita i cui adulti possiedono dimensioni ridotte rispetto ai precedenti, corrispondenti a 5-8 mm per i maschi e 13-15 mm per le femmine. Anche quest'ultimo nematode svolge un ciclo vitale indiretto e il suo ospite intermedio si identifica in diverse specie di chioccioline terrestri. Sintomi e lesioni anatomico-patologiche sono sovrapponibili a quelle dei metastrongylidi precedentemente descritti.

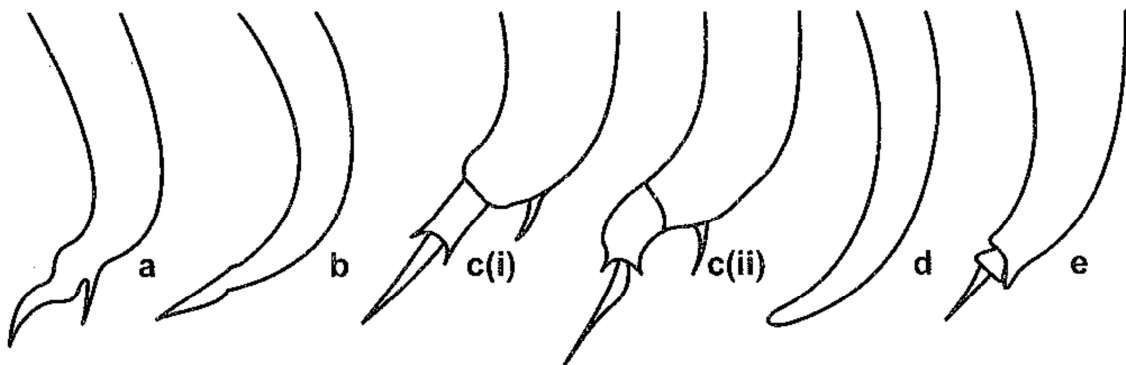


Figura 1.6: Disegno schematico della morfologia delle di L1 appartenenti rispettivamente ai generi: "a" *Muellerius*, "b" *Protostrongylus*, "c (i)" e "c (ii)" *Cystocaulus*, "d" *Dictyocaulus*, "e" *Neostrogylus* (VAN WYK, 2004).



Figura 1.7: Morfologia della coda delle L1 appartenenti al genere *Muellerius*.



Figura 1.8: Morfologia della coda delle L1 appartenenti al genere *Protostrongylus*.

1.3.2 I cestodi

Sono parassiti aventi un corpo nastriforme, segmentato e dalla lunghezza variabile a seconda della specie (da pochi millimetri a qualche metro). Le strutture che compongono ciascun adulto sono testa (detta "scolice"), collo e proglottidi. Lo scolice costituisce la parte apicale del parassita, possiede quattro ventose e può essere definito "armato" o "inerme" a seconda della presenza o meno di uncini chitinosi, il quale scopo è quello di migliorare l'ancoraggio alla parete intestinale dell'ospite definitivo. Un breve collo connette la testa alla strobila, una struttura i quali segmenti sono costituiti dalle proglottidi. Ciascuna di queste unità contiene al suo interno gli organi sessuali di entrambi i sessi, quali testicoli, ovaio, utero, ghiandole vitelline e poro genitale che si apre a lato della proglottide. Dato l'ermafroditismo di questi parassiti, questi ultimi si possono riprodurre sia per autofecondazione che per fecondazione crociata. La maturazione delle nuove proglottidi, formatesi alla base del collo, avviene lungo la strobila e, procedendo in senso cranio-caudale, si trovano proglottidi immature, mature ed infine gravide. Le uova di cestode infestante i ruminanti hanno una forma quadrangolare o triangolare. Esse sono costituite da un guscio esterno (che frequentemente scompare già in utero) e da una robusta membrana interna chiamata embrioforo, la quale avvolge la larva esacanta, detta anche oncosfera.

I nutrienti vengono assorbiti dagli adulti tramite il tegumento esterno, mentre l'apparato escretore è costituito da numerose cellule a fiamma che sboccano nell'ultimo segmento tramite dei canalicoli efferenti. Il sistema nervoso è formato da due gangli situati nello scolice, dai quali si diramano due cordoni nervosi che decorrono ai lati di tutto lo strobilo.

I cestodi infestanti i ruminanti svolgono un ciclo vitale indiretto, avente come ospiti intermedi alcuni acari appartenenti alla famiglia oribatidae. Dopo la fecondazione, le proglottidi gravide si separano dalla strobila e vengono espulse dall'ospite definitivo con le feci. Nell'ambiente esterno si liberano le uova, le quali vengono successivamente ingerite dall'ospite intermedio. All'interno di esso viene digerito l'embrioforo e la larva esacanta migra fino a raggiungere la cavità celomatica dell'artropode. In questa sede l'oncosfera muta a cisticercoide, forma di metacestode caratterizzato da un unico scolice avvolto in una piccola e solida ciste. L'ospite intermedio contenente il cisticercoide, viene successivamente ingerito dall'ospite definitivo. Durante i processi digestivi si libera il metacestode, il quale scolice si ancora alla parete intestinale. Da qui si viene a formare un nuovo cestode adulto.

Negli esemplari più giovani è possibile riscontrare diminuito accrescimento e diarrea, specialmente in corso d'infestazioni massive, mentre invece non sono evidenziabili particolari lesioni macroscopiche nei soggetti adulti.

1.3.3 I coccidi

Sono parassiti unicellulari che si vanno a localizzare all'interno degli enterociti. Gli erbivori possono essere infestati solamente da coccidi appartenenti al genere *Eimeria*, le quali oocisti contengono quattro sporocisti contenenti ciascuno due sporozoi. Le oocisti sporulate presenti nell'ambiente vengono ingerite dall'ospite e, una volta che raggiungono l'intestino, rilasciano gli sporozoi. Qui inizia la fase di riproduzione asessuale, chiamata schizogonia. Gli sporozoi penetrano all'interno degli enterociti dove mutano fino a diventare, in un primo momento, trofozoiti e successivamente schizonti. Questi, una volta maturi, si rompono assieme all'enterocita liberando i merozoiti che contenevano al loro interno. Ciascun merozoita penetra all'interno di un nuovo enterocita nel quale inizierà una seconda fase schizogonica. Ciascuna specie di *Eimeria*, ripete questa fase per un numero definito di volte e, maggiori sono le riproduzioni asessuali, maggiore è il danno e maggiore è la sintomatologia. Completati questi cicli, inizia la fase di riproduzione sessuata, in cui i merozoiti formano i gameti femminili, detti macrogametociti, e i gameti maschili, detti microgametociti. Questi gameti iniziali mutano rispettivamente a macrogameti (monocellulari) e microgameti (pluricellulari flagellati). Ciascun gamete femminile viene fecondato da un unico gamete maschile; dalla fusione dei due nuclei origina lo zigote. Lo zigote, circondato da una parete cistica, va a costituire l'oocisti immatura, la quale viene espulsa nell'ambiente esterno tramite le feci, dove diventa oocisti sporulata.

I sintomi sono manifesti specialmente nei giovani con la comparsa di diarrea che, nei casi più gravi, diventa profusa ed emorragica. Questo si ha in conseguenza della distruzione degli enterociti e dei villi intestinali, specialmente a livello di intestino tenue. Le lesioni anatomico-patologiche si manifestano con edema ed emorragie a livello enterico.

1.4 Interazioni ambiente-parassiti

1.4.1 Fattori climatici

La sopravvivenza dei parassiti broncopolmonari e gastrointestinali è influenzata dalle caratteristiche ambientali e, in particolar modo, dalle condizioni climatiche delle aree in cui vivono i loro ospiti intermedi e definitivi.

La temperatura ambientale è uno dei parametri maggiormente preso in considerazione negli studi di abbondanza e prevalenza dei parassiti. Questo fattore può essere più o meno favorevole alla sopravvivenza delle forme parassitarie a vita libera, in quanto ne può condizionare lo sviluppo e la

vitalità. La sporulazione delle oocisti di alcune specie di *Eimeria* e lo sviluppo dei primi stadi larvali di alcuni strongili gastrointestinali in alcuni esemplari di zebre, gazzelle e antilopi della Namibia, risulta avvenire più rapidamente in periodi caratterizzati da temperature medio-alte (Turner e Getz, 2010). Inoltre, lo sviluppo degli strongili gastrointestinali è condizionato anche dall'escursione termica, infatti maggiori variazioni di temperatura compromettono l'avanzare del ciclo vitale di alcune uova ai successivi stadi larvali (Leathwick, 2013). Alcuni autori hanno individuato una correlazione tra l'aumento di temperatura e la prevalenza dei parassiti nell'ambiente. Questa correlazione può essere positiva, come è risultato per *Eimeria* in capre dell'isola di Gran Canaria (Ruiz et al., 2006) o negativa come nel caso di *Neostrongylus* e *Muellerius* in pecore della Spagna nord-occidentale (Diez-Baños et al., 1994). Alcune specie di *Eimeria* (*E. alabamensis*, *E. zuernii*, *E. ellipsoidalis*), in bovini al pascolo in Estonia, producono oocisti in grado di resistere alle basse temperature (-18°C) per periodi anche superiori a 30 giorni, trascorsi i quali riescono ad attuare il normale processo di sporulazione (Lassen et al., 2014). Studi di resistenza alla temperatura sono stati condotti anche su strongili gastrointestinali e broncopolmonari. Lo studio condotto da Walker et al. (2007) su alcune pecore della Nuova Zelanda dimostra i livelli di resistenza di L₃ appartenenti al genere *Ostertagia*, le quali riescono a sopravvivere diverse settimane con temperature comprese tra i -50 e i +35°C. Contrariamente ad alcuni strongili gastrointestinali (Kumba et al., 2003; Zajac, 2006), le uova di *M. marshalli* in un gruppo di renne in Norvegia, possiedono una buona resistenza al congelamento fino anche a 28 mesi (Carlsson et al., 2013). Anche le fasi larvali ambientali di *M. marshalli*, come anche quelle appartenenti al genere *Teladorsagia*, possiedono una discreta resistenza alle basse temperature, seppure inferiore rispetto a quella delle uova (Carlsson et al., 2013; Zajac, 2006). Per quanto riguarda le L₁ di *Muellerius*, è stato dimostrato in Polonia che, all'interno di feci di capre adulte, riescono a resistere più a lungo a -18°C anziché a +3 o +20°C, per un periodo pari anche a 75 giorni (Broecka e Gawor, 2001).

Il secondo fattore ambientale da prendere in considerazione sono le precipitazioni. Queste possono influenzare positivamente o negativamente la prevalenza di più parassiti in una determinata area. Per alcuni parassiti si evidenzia una correlazione positiva tra la loro prevalenza e le precipitazioni verificatesi in un dato periodo, come ad esempio riportato per *Cystocaulus* in capre e pecore della Bulgaria meridionale (Georgiev, 2003), *Neostrongylus* in pecore della Spagna nord-occidentale (Diez-Baños et al., 1994) e per *Strongyloides* ed alcune specie di *Eimeria* in gazzelle in Namibia (Turner et al., 2012). Al contrario per *Marshallagia*, in capre e pecore in Algeria (Meradi et al., 2011), ed altre specie di *Eimeria* si riscontra la correlazione opposta (Turner et al., 2012). Non è chiaro invece se le precipitazioni influenzino o meno la prevalenza di *Muellerius* in quanto sono stati ottenuti risultati contrastanti in due studi condotti su piccoli ruminanti della Bulgaria meridionale (Georgiev, 2003) e della Spagna nord-occidentale (Diez-Baños et al., 1994).

Un altro fattore che può influenzare la prevalenza dei parassiti nell'ambiente è l'umidità relativa. Alcuni studi condotti su pecore della Spagna nord-occidentale (Diez-Baños et al., 1994) e su esemplari di *Capra Pyrenaica* in Spagna, nella Sierra Nevada (Alasaad et al., 2009), mettono in evidenza la correlazione positiva individuata tra la prevalenza delle larve di primo stadio appartenenti ai generi *Dictyocaulus*, *Neostrogylus* e *Muellerius* e l'umidità relativa. L'aumento di questo parametro inoltre favorisce la sporulazione delle oocisti del genere *Eimeria* individuate in zebre, gazzelle e antilopi in Namibia (Turner e Getz, 2010). Invece, secondo lo studio condotto da Ruiz et al. nel 2006 su capre dell'Isola di Gran Canaria, anche se con influenza minore rispetto ad altri fattori, l'aumento dell'umidità relativa è correlato ad una diminuzione dei valori di OPG di *Eimeria*.

Data la difficoltà di associazione di ciascun parametro alla sua eventuale influenza esercitata sulle forme parassitarie a vita libera, molti autori considerano la stagionalità come fattore condizionante la prevalenza e l'abbondanza dei parassiti. La stagionalità infatti va ad accorparsi in un unico fattore la temperatura ambientale, le precipitazioni e l'umidità relativa. Per quanto riguarda la prevalenza degli strongili broncopolmonari, diversi studi ne evidenziano un andamento stagionale. In inverno si ha un aumento nell'emissione di larve di primo stadio di *Neostrogylus*, *Muellerius* e *Protostrongylus* ed un calo delle stesse in estate sia in pecore della Spagna nord-occidentale (Diez-Baños et al., 1994) che in esemplari di bighorn bianco, sulle Mackenzie mountains in Canada (Jenkins et al., 2006). Lo studio eseguito da Arnett et al. (1993) su una colonia di bighorn nel Montana (USA), mette in evidenza che l'emissione di L₁ di *Protostrongylus* durante l'inverno aumenta nei capretti, ma diminuisce negli esemplari adulti. Inoltre, alcune prove di laboratorio eseguite su L1 di *Protostrongylus* ipotizzano che una parte di queste ultime (20-60%) possano superare l'inverno all'interno delle feci così da poter infestare gli ospiti intermedi all'inizio della primavera (Jenkins et al., 2006). Analogamente agli strongili broncopolmonari, anche i parassiti appartenenti al genere *Marshallagia*, in renne in Norvegia (Carlsson et al., 2012), stambecchi in Svizzera (Zaffaroni, 1999; Marreros et al., 2012) ed altri ruminanti selvatici alpini (Zaffaroni et al., 2003), subiscono l'influenza della stagionalità con l'aumento della loro prevalenza in inverno e calo della stessa in estate. In quest'ultimo periodo invece è dimostrato da alcuni studi eseguiti sullo stambecco in Svizzera e sul capriolo in Francia, come la prevalenza degli altri strongili gastrointestinali aumenta per poi subire un calo tra settembre e novembre, in particolar modo se l'estate precedente è stata calda e secca (Zaffaroni, 1999; Body et al., 2011). In particolar modo, lo studio condotto nel 2012 da Carlsson et al. su un gruppo di renne in Norvegia, dimostra che i parassiti appartenenti al genere *Ostertagia* vengono trasmessi principalmente in estate ma non in inverno. Paragonando invece le cariche parassitarie registrate nel corso di diversi inverni, queste risultano essere maggiori durante gli inverni più rigidi sia negli stambecchi in svizzera (Zaffaroni, 1999) che nelle alci nella Norvegia meridionale (Milner et al., 2013). Generalmente, i livelli maggiori di abbondanza relativi sia agli strongili gastrointestinali che ai coccidi del genere *Eimeria*,

riscontrati in capre del Sud Africa e della Namibia ed in bovini dell'Estonia, si riscontrano nel periodo estivo-autunnale, quindi con temperature medio-alte (Kumba et al., 2003; Gwaze et al., 2009; Lassen et al., 2013). Alcuni autori hanno messo in evidenza che anche per i coccidi del genere *Eimeria*, in capre sull'isola di Gran Canaria (Ruiz et al., 2006) e bovini in Estonia (Lassen et al., 2014), si ha un aumento di prevalenza ed abbondanza in estate, in particolar modo nelle zone meno esposte ai raggi solari. Sebbene i parassiti appartenenti a questo genere resistano bene ai vari fattori climatici, questa resistenza varia a seconda della specie di *Eimeria* considerata (Svensson et al., 1997).

Contrariamente ai parassiti precedentemente citati, quelli appartenenti al genere *Trichuris*, in capriolo in Francia, non sembrano risentire delle influenze climatiche e ambientali, in quanto possiedono una parete spessa che fornisce loro un'adeguata protezione (Body et al., 2011).

Analogamente a *Trichuris*, nemmeno i cestodi in capre e pecore in Etiopia sembrano risentire di alcuna influenza stagionale. Inoltre nemmeno la specie, l'età o il sesso dell'ospite definitivo sembrano condizionarne l'emissione di uova nell'ambiente (Sissay et al., 2008). Un altro studio però, eseguito in pecore in Egitto, ha evidenziato una stagionalità nella prevalenza di cestodi (soprattutto appartenenti alla specie *Moniezia expansa*) con l'aumento tra settembre e gennaio e il calo in primavera/estate (Bashtar et al., 2011).

1.4.2 Fattori ambientali

Oltre al clima, anche l'ambiente influenza la prevalenza e l'abbondanza dei parassiti attraverso fattori come l'esposizione diretta al sole e la vegetazione presente.

L'esposizione diretta al sole sembra aumentare la mortalità degli elementi parassitari a vita libera. Uno studio condotto sui ruminanti domestici in Inghilterra (Rose et al., 2015) evidenzia una mortalità più alta delle L3 di *H. contortus*, *T. circumcincta* e *O. ostertagi* se colpite direttamente dai raggi UV sia in acqua che sul suolo. Per evitare l'esposizione diretta al sole, specialmente in determinati periodi dell'anno, le L3 degli strongili gastrointestinali possono migrare nel terreno dal quale poi riemergono in presenza di condizioni climatiche più favorevoli (Knapp-Lawitzke et al., 2016; Rose et al., 2015). Analogamente alle larve di strongili gastrointestinali, anche le oocisti di *E. bovis* vengono danneggiate se esposte al sole, in particolar modo nel periodo estivo, in quanto le alte temperature vanno a disidratare le oocisti ed i raggi UV ne danneggiano il DNA (Lassen et al., 2013).

Pochi studi invece sono stati eseguiti sull'influenza che il suolo e la vegetazione hanno sulle fasi ambientali dei parassiti. Per quanto riguarda gli strongili gastrointestinali, uno studio eseguito in laboratorio sull'adattabilità di *Cooperia oncophora* alle condizioni primaverili ed estive, mette in

evidenza che la maggior parte delle L3 si vanno a localizzare nel terreno anziché sul manto erboso, indipendentemente dalla temperatura e l'umidità relativa (Knapp-Lawitzke et al., 2006). Le analisi eseguite invece su alcuni campioni di terreni contaminati con oocisti di *E. bovis* in Estonia, mostrano che la positività al parassita è maggiore nei campioni invernali rispetto a quelli estivi, confermando quindi un'influenza stagionale sulla prevalenza di *Eimeria* spp. Invece, i parassiti broncopolmonari appartenenti al genere *Protostrongylus*, sono influenzati dalla vegetazione primaria che, combinata con l'altitudine, l'abbondanza di ospiti intermedi e le dimensioni del campione, ne vanno a giustificare buona parte della variabilità dell'intensità media (Georgiev et al., 2003).

1.4.3 Altri fattori

La prevalenza e l'abbondanza dei parassiti non sono condizionate unicamente dall'ambiente e dal clima ma anche da altri fattori legati all'ospite, tra i quali rivestono particolare importanza l'età e il sesso.

L'età dell'ospite definitivo è segnalato essere un parametro in grado di influenzare la prevalenza e l'abbondanza dei parassiti. Le maggiori infestazioni da parte di *Eimeria* spp. sono segnalate nei giovani di diverse specie animali (capre sull'isola di Gran Canaria, zebre, gazzelle e antilopi della Namibia) (Ruiz et al., 2006; Turner et al., 2010; Cizauskas et al., 2015). Gli strongili gastrointestinali invece infestano soprattutto gli individui adulti di più specie animali (alci della Norvegia meridionale, zebre, gazzelle e antilopi della Namibia) (Milner et al., 2013; Turner e Getz, 2010). In contrapposizione a questi però, gli studi condotti da altri autori, rispettivamente sul capriolo in Francia (Body et al., 2011) e sull'antilope alcina in Repubblica Ceca (Vadlejch et al., 2015), affermano che i livelli maggiori di strongili gastrointestinali si riscontrano nei piccoli e negli esemplari anziani. L'età di un animale inoltre, sembra poter influenzare, seppure indirettamente, la sopravvivenza delle larve di primo stadio di *Muellerius* nell'ambiente. Le L1 di questo parassita infatti riescono a sopravvivere al congelamento (T=-18°C) più a lungo all'interno di feci di capre adulte (fino a 75 giorni), mentre in feci di soggetti giovani solamente fino a 10 giorni dopo l'espulsione dall'ospite. Non sempre però l'età sembra essere influente, in quanto uno studio condotto su una colonia di stambecchi in Svizzera non evidenzia alcuna correlazione tra l'età dell'ospite definitivo e la prevalenza del parassita (Marreros et al., 2012). Indipendentemente dall'età dell'animale, secondo alcuni studi il grado di infestazione sembra essere inversamente proporzionale alla massa corporea dell'ospite definitivo (Body et al., 2011; Zaffaroni, 1999).

Un parametro riportato più volte in letteratura che condiziona la presenza e l'abbondanza dei parassiti nell'ospite definitivo è il sesso dell'ospite stesso. A parità di classe d'età, i maschi hanno

generalmente livelli d'infestazione maggiori rispetto alle femmine. Questo fatto è stato messo in evidenza per zebre, gazzelle, antilopi (Cizauskas et al., 2015), alci (Milner et al., 2013), caprioli (Body et al., 2011) e stambecchi (Marreros et al., 2012). Uno dei motivi per i quali si ha questa differenza tra i due sessi in età adulta è l'immunodepressione che si ha nei maschi durante la stagione riproduttiva. Lo stress accumulato in questo periodo provoca un innalzamento del livello ematico di glucocorticoidi con conseguente immunodepressione (Arnett et al., 1993; Duneau ed Ebert, 2012). Questo calo delle difese immunitarie è dimostrato avere una correlazione positiva col livello d'infestazione dell'ospite (Cizauskas et al., 2015).

PARTE SPERIMENTALE

2 Obiettivo della tesi

A partire dal 2006, la colonia di stambecchi del massiccio della Marmolada è stata studiata dal gruppo di ricerca del prof. Ramanzin del Dipartimento DAFNAE dell'Università di Padova per aspetti relativi alla dinamica della popolazione. In associazione a questo studio, dal 2013 al 2017, alcuni ricercatori dell'area di Parassitologia del Dipartimento MAPS della medesima Università hanno condotto una ricerca sanitaria su questa colonia, più precisamente mirata ad individuare gli endo-parassiti eventualmente presenti. Questa tesi è parte del lavoro conclusivo degli studi parassitologici coordinati dal Dipartimento MAPS sulla colonia di stambecchi del massiccio della Marmolada, il cui scopo è quello di identificare i parassiti broncopolmonari e gastrointestinali presenti nella colonia e di studiare le variazioni quali-quantitative che li caratterizzano nel tempo.

In particolar modo, questa tesi si pone i seguenti obiettivi:

- identificare i parassiti broncopolmonari e gastrointestinali presenti negli stambecchi della colonia oggetto di studio;
- identificare variazioni di abbondanza e prevalenza, nel corso del tempo, dei parassiti individuati;
- individuare, tramite la letteratura, i principali fattori climatico-ambientali potenzialmente condizionanti la presenza quali-quantitativa di un parassita in una determinata popolazione ed in una determinata area geografica;
- descrivere le eventuali influenze esercitate dai fattori climatico-ambientali sulla prevalenza e sull'abbondanza di ciascun gruppo parassitario individuato.

3 Materiali e metodi

3.1 Area di studio

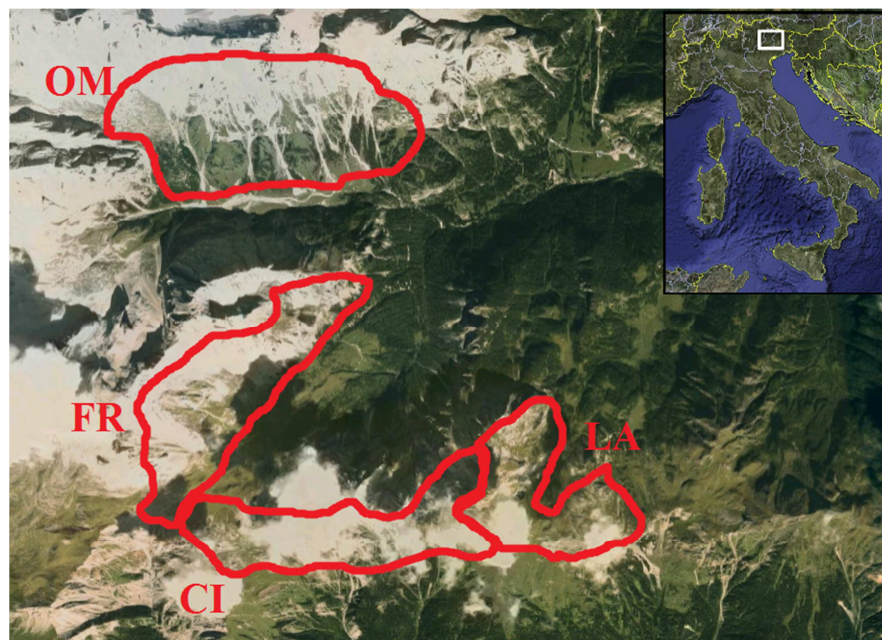


Figura 3.1: Immagine satellitare dell'area di studio (OM=Val d'Ombretta; FR=Franzèdas; CI= Cime d'Auta; LA= Lago dei Negher)

L'area di studio corrisponde al massiccio della Marmolada, situato nelle Dolomiti, Alpi nord-orientali. Questa catena montuosa si estende per oltre 150 Km² tra la provincia di Belluno (Veneto) e la provincia autonoma di Trento (Trentino Alto-Adige).

L'intera area è suddivisa in 8 sub-unità costituite da catene e sottogruppi. Più precisamente, procedendo da sud-ovest verso nord-est, si riconoscono:

- sottogruppo della Vallaccia;
- sottogruppo del Monzoni;
- catena della Cima dell'Uomo;
- catena delle Cime dell'Auta;
- sottogruppo Collac/Buffaure;
- sottogruppo Ombretta/Ombrettola;
- massiccio della Marmolada;
- catena del Padon.

Alcune tra le vette più alte della Marmolada sono: Punta Penia, la più alta delle Dolomiti (3343 m s.l.m.), Punta Rocca (3250 m s.l.m.), Cima dell'Uomo (3010 m s.l.m.) e Monte Serauta (3009 m s.l.m.). I confini geografici di questo complesso montuoso sono costituiti a sud dalla valle di San

Pellegrino, a ovest dalla val di Fassa, a est dal corso del Cordevole ed infine a nord dal passo Pordoi. Il versante settentrionale, inoltre, è occupato da un ghiacciaio che, sebbene la sua estensione si stia riducendo col tempo, resta ancora il più vasto ghiacciaio delle Dolomiti. Per lo stambecco queste strutture idrogeologiche rappresentano dei limiti fisici quasi insuperabili, in quanto sono nettamente al di fuori dalla sua normale area di frequentazione. La colonia di stambecchi della Marmolada è quindi effettivamente isolata da altre colonie di stambecco eventualmente presenti nelle zone limitrofe.

In quest'area, oltre allo stambecco, sono presenti anche altri ruminanti selvatici. Il camoscio (*Rupicapra rupicapra*) condivide la stessa area di pascolo dello stambecco, la quale è invece frequentata solo marginalmente dal cervo (*Cervus elaphus*), dal capriolo (*Capreolus capreolus*) e dal muflone (*Ovis musimon gmelini*).

In questa zona, l'attività venatoria è permessa verso tutti questi erbivori ma non verso lo stambecco (43/92/CEE; LEGGE 157/92, art. 30).

Nel territorio di questo ruminante selvatico non sono presenti predatori, eccezion fatta per l'aquila reale (*Aquila chrysaetos*) che, talvolta, può predare i capretti. Sporadicamente è stato avvistato anche l'orso bruno (*Ursus arctos*).

Questi pascoli non sono frequentati solamente da animali selvatici ma, specialmente nel periodo estivo, anche da ruminanti domestici quali capre, nella zona di Forca Rossa, pecore in prossimità di Cime d'Auta e bovini nelle valli di Franzedas e Ombretta.

La zona della Marmolada è molto frequentata sia in estate che in inverno per attività sportive e ricreative come l'escursionismo, l'alpinismo, lo sci e lo sci-alpinismo.

3.2 Campionamento

La zona sottoposta a campionamento è stata suddivisa in 4 aree principali (Fig. 3.1): Franzedas (FR), Cime dell'Auta (CI), Val d'Ombretta (OM) e Lago dei Negher (LA). Queste aree sono frequentate da 3 gruppi di animali, i quali vanno a formare la colonia oggetto di studio. Un gruppo frequenta entrambe le zone di Franzedas e Cime dell'Auta, mentre i due gruppi rimanenti sono localizzati rispettivamente in Val d'Ombretta e al Lago dei Negher. Quest'ultima zona è frequentata unicamente da esemplari maschi adulti e sub-adulti, mentre nelle altre si trovano femmine adulte, alcune con piccoli al seguito, alcuni yearlings e sporadici maschi sub-adulti.



Figura 3.2: Feci di stambecco adulto

Tutte le zone sono state campionate mensilmente dal 2013 al 2016, a parte qualche eccezione dovuta al mancato contatto visivo con gli animali. In particolare i campionamenti sono stati eseguiti da luglio a novembre 2013, da luglio ad ottobre 2014, da giugno a novembre 2015 ed infine da giugno a ottobre 2016.

Le uscite in campo prevedevano l'avvistamento degli animali tramite l'uso di

binocolo e cannocchiale. Questi venivano avvicinati a sufficienza per poter osservare l'emissione delle feci, le quali poi venivano raccolte in sacchetti di plastica o apposite provette e conservati a +4°C fino al ritorno al laboratorio di analisi.

In totale sono stati raccolti 418 campioni, che sono stati poi analizzati all'Università degli studi di Padova, presso il Laboratorio di Parassitologia e Malattie Parassitarie, entro pochi giorni dalla raccolta.

Ciascun campione è stato identificato con la sigla dell'area di raccolta, un numero progressivo identificativo, il sesso (per i soggetti adulti) e la classe d'età dell'animale (adulto o capretto).

3.3 Analisi di laboratorio

Tutti i campioni raccolti sono stati sottoposti ad analisi copro-microscopiche quali-quantitative e alla tecnica di Baermann modificata per determinare la prevalenza e l'abbondanza rispettivamente dei parassiti gastrointestinali e broncopolmonari.

3.3.1 Parassiti gastrointestinali

Analisi quali-quantitativa

Il primo esame al quale i campioni sono stati sottoposti è stato l'esame copro-microscopico qualitativo, tramite il quale si è determinata la presenza o meno dei diversi parassiti eventualmente presenti. Con questo tipo di analisi è stato possibile identificare diversi parassiti gastrointestinali tra cui coccidi, strongili gastrointestinali (SGI), *Marshallagia/Nematodirus*, cestodi, *Trichuris* e

Capillaria. Dato che le uova di *Marshallagia/Nematodirus* sono facilmente identificabili dalle uova degli altri SGI, questi generi sono stati considerati separatamente dagli altri .

Per ciascun campione, 2 g di feci sono stati stemperati in un mortaio con circa 10 ml d'acqua. La soluzione ottenuta è stata filtrata attraverso un colino, posta all'interno di una provetta e centrifugata a 2000 rpm per 5 minuti.

Al termine del primo ciclo, è stata eliminata la componente acquosa ed il sedimento è stato risospeso in soluzione con l'ausilio di un solvente ad alto peso specifico (soluzione di acqua, sale e zucchero con peso specifico pari a 1,3). La nuova soluzione è stata centrifugata a 2000 rpm per 5 minuti.

Successivamente, alla provetta contenente la soluzione, è stata aggiunta la soluzione ad alto peso specifico, precedentemente citata, in quantità sufficiente a formare un menisco leggermente positivo. Sopra a tale menisco, è stato posizionato un vetrino copri-oggetto (24 x 24 mm) per circa 5 minuti, tempo sufficiente a permettere alle uova in sospensione di aderire al vetrino copri-oggetto. Esso è stato quindi posizionato su un vetrino porta-oggetto per poter procedere all'osservazione al microscopio ottico all'ingrandimento di 100x.

Ad ogni risultato positivo, emerso dall'osservazione qualitativa microscopica, ha fatto seguito l'esame quantitativo con camera di McMaster, il quale fornisce una stima di OPG (Oocisti Per Grammo) e UPG (Uova Per Grammo) presenti nel campione.

Per ciascun campione, 2 g di feci sono stati stemperati in un mortaio con pochi ml di soluzione acquosa ad alto peso specifico (1,3). La soluzione così ottenuta è stata posta in una provetta Falcon ed è stata portata al volume di 30 ml.

Dopo aver miscelato delicatamente a provetta chiusa, per renderne omogeneo il contenuto, con una pipetta è stata prelevata un'aliquota di soluzione filtrandola attraverso tre strati di garza. L'aliquota prelevata è stata successivamente inserita in entrambe le camere di una McMaster e osservata dopo 2-3 minuti d'attesa ad un ingrandimento di 100x. Il numero di elementi parassitari contati è stato poi moltiplicato per 50 in modo tale da ottenere il corrispondente numero di UPG/OPG presenti nel campione analizzato.

3.3.2 Parassiti broncopolmonari

Tecnica di Baermann modificata (mini-Baermann quali-quantitativo)

Per fare una valutazione quali-quantitativa degli eventuali parassiti broncopolmonari, è stata eseguita una tecnica di Baermann modificata (Cassini et al., 2015). Questa procedura segue lo stesso principio della tecnica di Baermann, ma la ripropone con un minor dispendio di tempo per la

preparazione ed un minor ingombro fisico del materiale necessario, permettendo quindi un'analisi più rapida dei campioni. Inoltre permette una valutazione quantitativa degli elementi parassitari presenti nelle feci.

Per ciascun campione sono stati analizzati 2g di feci, i quali sono stati ricoperti con tre strati di garza. Le feci così preparate sono state poi inserite in una provetta Falcon contenente 40 ml di acqua, in modo tale da farle entrare in contatto con l'acqua senza toccare il fondo della provetta. Trascorse almeno 18 h a temperatura ambiente (circa 24°C), le feci sono state eliminate, in quanto le larve degli strongili broncopolmonari, dotate di igrotropismo positivo, migrano dal materiale fecale all'acqua accumulandosi sul fondo conico della provetta per gravità.

È stata poi eliminata una quantità di surnatante tale da ottenere un volume residuo pari a 10 ml, dal quale, dopo averlo adeguatamente mescolato per renderlo omogeneo, sono stati prelevati 0,5 ml. Questi ultimi sono stati inseriti in una provetta Eppendorf da 2 ml assieme a 4 gocce di soluzione di Lugol, con lo scopo di uccidere e colorare le larve eventualmente presenti, permettendone in seguito una più semplice identificazione. Tutto il contenuto della provetta Eppendorf è stato poi prelevato con una pipetta Pasteur e distribuito omogeneamente su alcuni vetrini porta-oggetto (generalmente 6), coperti in seguito con dei vetrini copri-oggetto 24x60 mm.

I vetrini così preparati sono stati osservati al microscopio ottico ad un ingrandimento iniziale di 40 o 100x e il genere delle larve individuate è stato identificato ad un ingrandimento di 400x. Il numero di larve contate al microscopio è stato moltiplicato per un fattore 10 per ottenere il numero di L1/g (LPG, Larve Per Grammo) di feci.

Nel caso in cui l'aliquota della provetta Eppendorf fornisse un risultato negativo, si prelevava un volume minimo di liquido dal fondo della Falcon e si osservava allo stereomicroscopio.

Se venivano individuate delle larve, queste venivano osservate ed identificate al microscopio, ottenendo quindi un campione positivo ma con valore di concentrazione dichiarato sotto soglia.

Se non venivano individuate larve nemmeno allo stereomicroscopio, il campione risultava essere negativo.

L'identificazione del genere delle L1 si è basata sulle descrizioni di Foreyt (2001) e Van Wyk et al. (2004). Non è possibile definire la specie dei parassiti individuati, sulla base della osservazione delle L1.

3.4 Raccolta dati ambientali

I dati meteorologici (temperatura, precipitazioni, copertura nevosa) sono stati reperiti dal sito web <http://www.arpa.veneto.it/previsioni/it/html>. In particolare sono stati utilizzati i dati delle

precipitazioni registrati dalla stazione meteo “Malga Ciapela”, la più vicina al sito di studio. Per quanto riguarda le temperature medie giornaliere e la copertura nevosa invece, sono stati utilizzati i dati registrati dalla stazione meteo “Monti Altì di Ornella”, situata ad un’altitudine simile a quella del sito di studio e poco lontana dallo stesso (circa 6 km in linea d’aria). I dati, forniti su base giornaliera, sono stati organizzati in un database excel e ne sono state calcolate le medie mensili, stagionali e annuali.

Si è deciso inoltre di utilizzare anche un ulteriore parametro, che consiste in un valore definito Normalized Difference Vegetation Index (NDVI). Questo valore, di derivazione satellitare, indica la quantità di vegetazione viva in una data area tramite l’analisi della radiazione fotosinteticamente attiva riflessa dai vegetali. Questo indice può assumere valori che vanno da -1 a +1 e la presenza di vegetazione è confermata da valori maggiori di 0,2. Più alto è il valore, maggiore è la quantità di vegetazione viva presente in quell’area. I dati relativi all’NDVI sono stati reperiti dal sito <https://modis-land.gsfc.nasa.gov/vi.html>. Il valore fornito è un valore su base settimanale. Anche in questo caso sono state calcolate le medie mensili, stagionali e annuali.

3.5 Analisi statistica

I dataset delle analisi copromicroscopiche e quello dei dati ambientali sono stati analizzati inizialmente tramite una semplice statistica descrittiva. Sono stati calcolati gli andamenti dei valori di prevalenza e i valori medi delle abbondanze di emissione di forme parassitarie (oocisti/uova/larve) per i principali gruppi di parassiti riscontrati (coccidi, *Marshallagia/Nematodirus*, altri strongili gastro-intestinali, cestodi, piccoli vermi polmonari dei generi *Muellerius* e *Protostrongylus*), nei seguenti intervalli temporali: anno, stagione, mese. Si deve tenere presente che l’area di studio non è raggiungibile nel periodo invernale e inizio primavera, di conseguenza è stato possibile ottenere dati per soli 6 mesi dell’anno (da giugno a novembre) e per sole due stagioni, identificate come la stagione estiva (giugno-luglio-agosto) e quella autunnale (settembre-ottobre-novembre).

Eventuali differenze di prevalenza e di abbondanza tra i periodi considerati sono state indagate rispettivamente tramite il test del Chi quadrato e test statistici non parametrici (test di Kruskal-Wallis). Analogamente, è stata valutata la significatività di differenza tra le medie di temperatura e di NDVI, tra i diversi anni, tramite una analisi ANOVA, seguita dal test post-hoc di Bonferroni per i confronti multipli. La possibile influenza dei parametri ambientali considerati (temperatura, precipitazioni, numero di giorni con copertura nevosa, NDVI) è stata inizialmente indagata tramite la visualizzazione comparata degli andamenti degli stessi parametri e di quelli dei valori di prevalenza e abbondanza di tutti i parassiti considerati.

La correlazione della temperatura media, delle precipitazioni, dei giorni con neve e dell'NDVI con i valori di abbondanza (emissione media ed emissione mediana) delle varie forme parassitarie è stata valutata, per l'insieme di tutti i mesi nei quali era stato eseguito un campionamento, tramite il test di Spearman. La correlazione è stata valutata sia rispetto al mese stesso, sia rispetto al mese precedente che a quello ancora prima, in modo da prendere in considerazione l'effetto che i parametri ambientali possono esercitare sulle forme libere del parassita: questi effetti si manifesteranno sulla emissione solo dopo i tempi biologici del tempo di prepatenza, variabile tra i 6 e i 70 giorni, e i tempi della fase ambientale, che variano a seconda del tipo di parassita considerato. Similmente, la correlazione tra le abbondanze medie stagionali e gli stessi parametri ambientali precedentemente considerati è stata valutata con il test di Spearmann.

Nell'arco di un anno, i mesi sono stati raggruppati nelle 4 stagioni nel seguente modo:

- Stagione invernale (SI): dicembre (dell'anno precedente a quello considerato), gennaio, febbraio.
- Stagione primaverile (SP): marzo, aprile, maggio.
- Stagione estiva (SE): giugno, luglio, agosto.
- Stagione autunnale (SA): settembre, ottobre, novembre.

Le analisi sono state eseguite con il software IBM SPSS Statistics 24.

4 Risultati

4.1 Ambiente

I dati meteorologici raccolti sono stati riorganizzati in modo tale da ottenere valori annuali, stagionali e mensili. Per ciascun periodo sono state considerate rispettivamente le medie della temperatura media giornaliera (T) e del Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) e la somma delle precipitazioni (PREC) e del numero di giorni con copertura nevosa (NGCN).

Nella tabella 4.1 sono riportati i valori annuali dei parametri ambientali considerati.

Anno	T media (°C)	NDVI medio	PREC (mm)	NGCN (giorni)
2013	1,51	0,262	1453,6	178
2014	2,42	0,263	1801,6	170
2015	3,08	0,328	941,0	141
2016	2,23	0,316	1344,2	153

Tabella 4.1: Valori annuali di temperatura, NDVI, precipitazioni e numero di giorni con copertura nevosa al suolo.

Nei grafici 4.1 e 4.2 sono rappresentati gli stessi valori annuali dei parametri ambientali sopra citati. Da questi grafici si può notare come la T ha un andamento simile a quello dell'NDVI ed opposto al n° di giorni con copertura nevosa.

Le analisi statistiche hanno dimostrato che le distribuzioni delle temperature del 2013 e del 2015 sono risultate significativamente diverse ($p < 0,01$) tra di loro al test ANOVA, come si può notare dalla tabella 4.1.

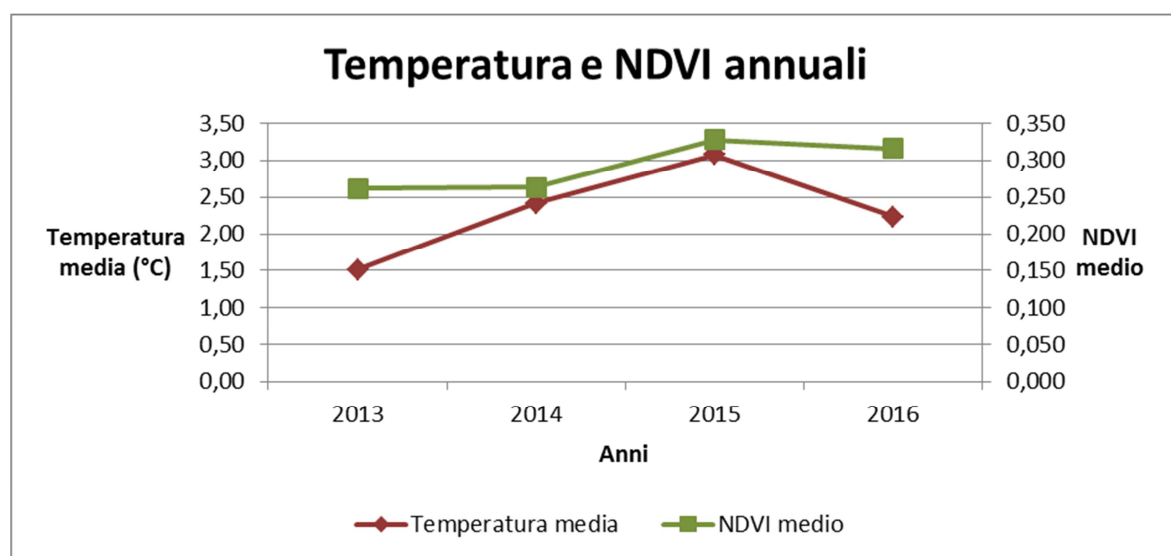


Grafico 4.1: Valori annuali di temperatura media e NDVI medio

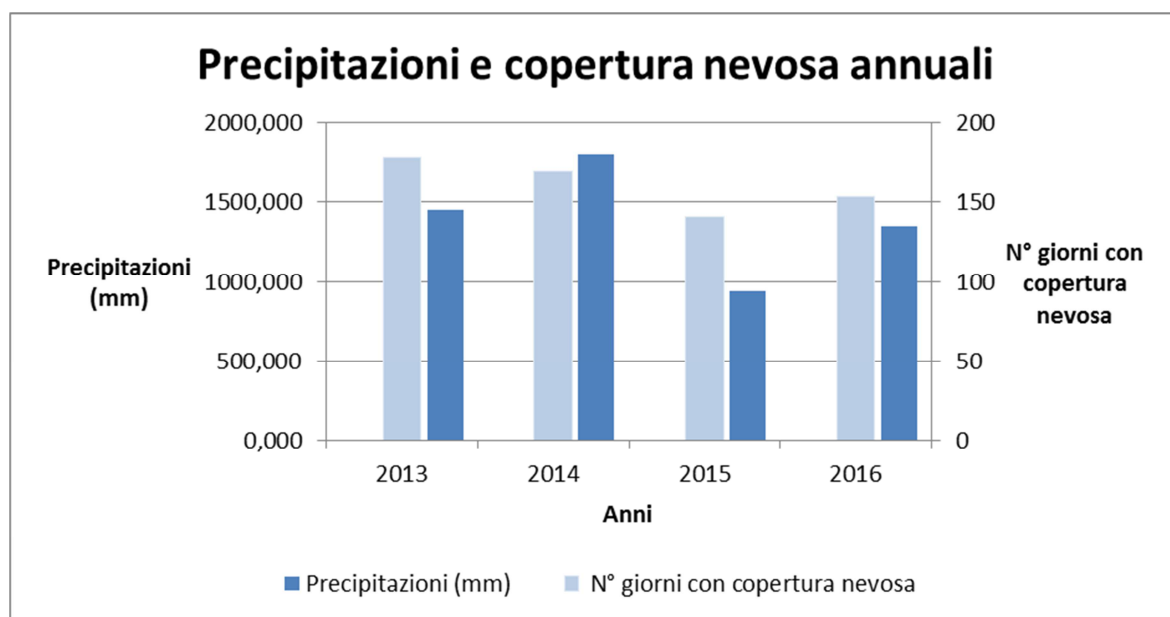


Grafico 4.2: Valori annuali di precipitazioni e n° di giorni con copertura nevosa.

Di seguito sono riportati i dati ambientali stagionali relativi a ciascun anno di studio.

4.1.1 Anno 2013

Il 2013 è stato l'anno caratterizzato dal maggior numero di giorni con copertura nevosa e con l'inverno più rigido del periodo di studio. Le analisi statistiche hanno dimostrato infatti che le temperature medie del 2013 sono risultate più basse degli altri anni, ed in particolare rispetto al 2015. Le precipitazioni sono invece rimaste nella media con piovosità minime in inverno e massime in primavera.

I dati ambientali sono rappresentati nella tabella 4.2 e nei grafici 4.3 e 4.4.

Anno	Stagione	T media (°C)	NDVI medio	PREC (mm)	NGCN (giorni)
2012	Autunno	3,33	0,390	656,6	50
2013	Inverno	-6,90	0,069	147,0	90
2013	Primavera	-0,88	0,083	453,8	92
2013	Estate	9,21	0,460	340,2	27
2013	Autunno	2,92	0,411	403,2	42

Tabella 4.2: Valori stagionali di temperatura media, NDVI medio, precipitazioni e n° di giorni con copertura nevosa.

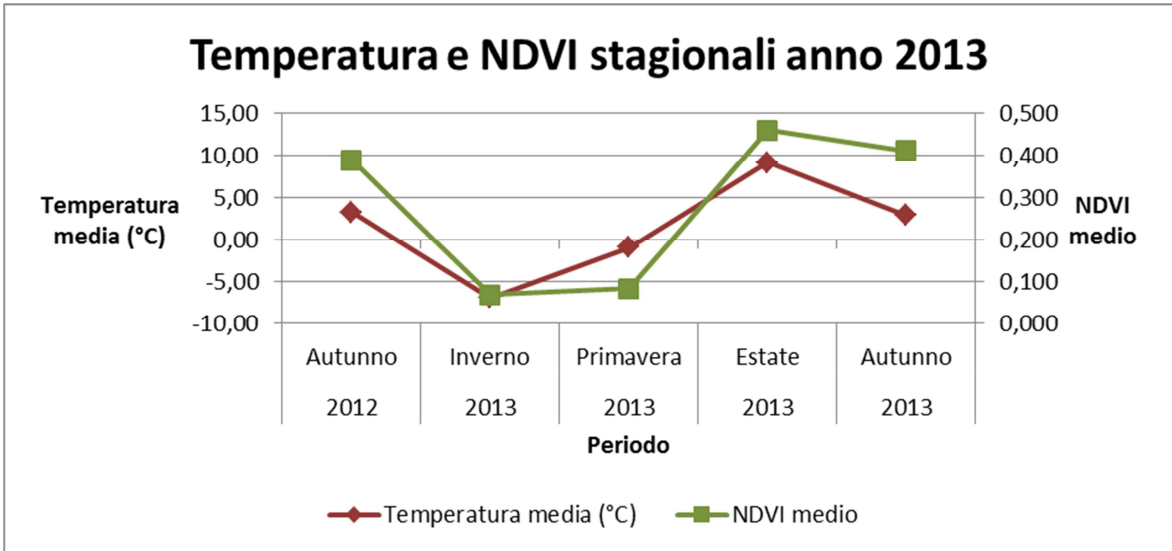


Grafico 4.3: Andamento stagionale della temperatura media e dell'NDVI medio nel 2013.

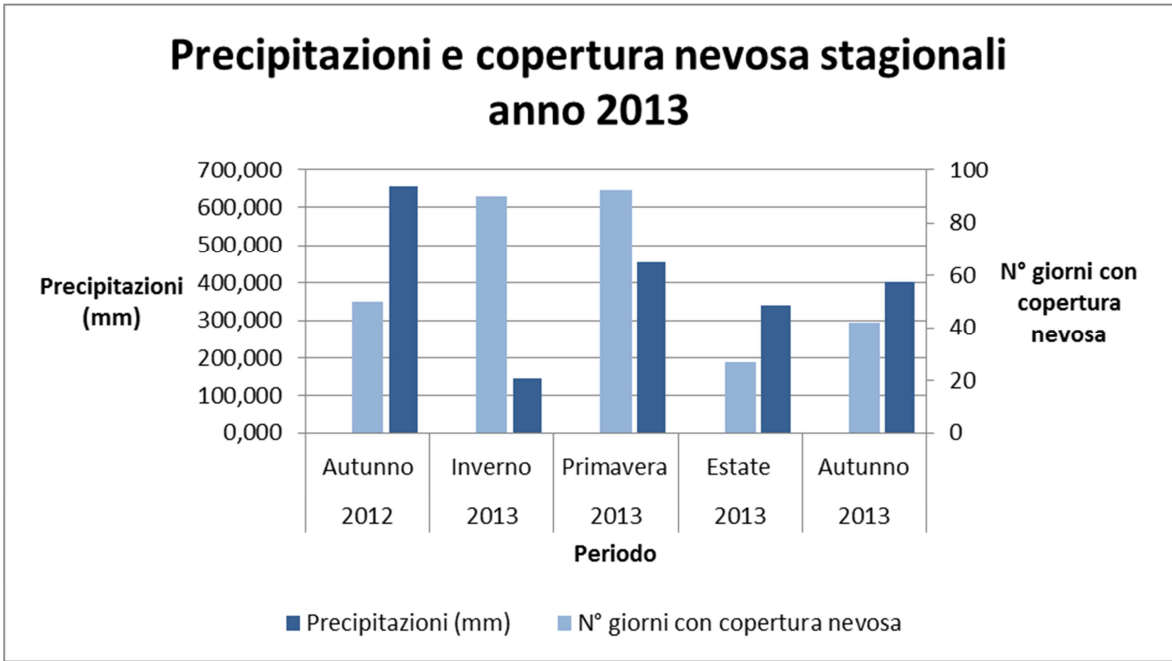


Grafico 4.4: Andamento stagionale delle precipitazioni e del n° di giorni di copertura nevosa nel 2013.

In quest'anno sono stati raccolti 178 campioni. Il campionamento è iniziato a luglio ed è terminato a novembre per una raccolta di campioni pari a 77 e 102 rispettivamente per la SE e la SA. Il mese di Giugno non è stato considerato nelle analisi parassitologiche relative al 2013 in quanto non è stato possibile effettuare il campionamento.

4.1.2 Anno 2014

Nel 2014 si sono verificate le precipitazioni più abbondanti nell'arco dei 4 anni considerati; contrariamente al 2013, i livelli maggiori sono stati registrati in inverno ed i minori in primavera. Anche le temperature medie hanno subito un aumento di circa 1°C rispetto all'anno precedente, mentre i giorni con copertura nevosa e l'NDVI si sono mantenuti quasi invariati.

I parametri ambientali relativi al 2014 sono rappresentati nella tabella 4.3 e nei grafici 4.5 e 4.6.

Anno	Stagione	T media (°C)	NDVI medio	PREC (mm)	NGCN (giorni)
2013	Autunno	2,92	0,411	403,2	42
2014	Inverno	-3,33	0,071	615,2	90
2014	Primavera	1,09	0,093	230,0	92
2014	Estate	8,28	0,448	541,4	19
2014	Autunno	4,25	0,431	487,4	29

Tabella 4.3: Valori stagionali di temperatura media, NDVI medio, precipitazioni e n° di giorni con copertura nevosa.

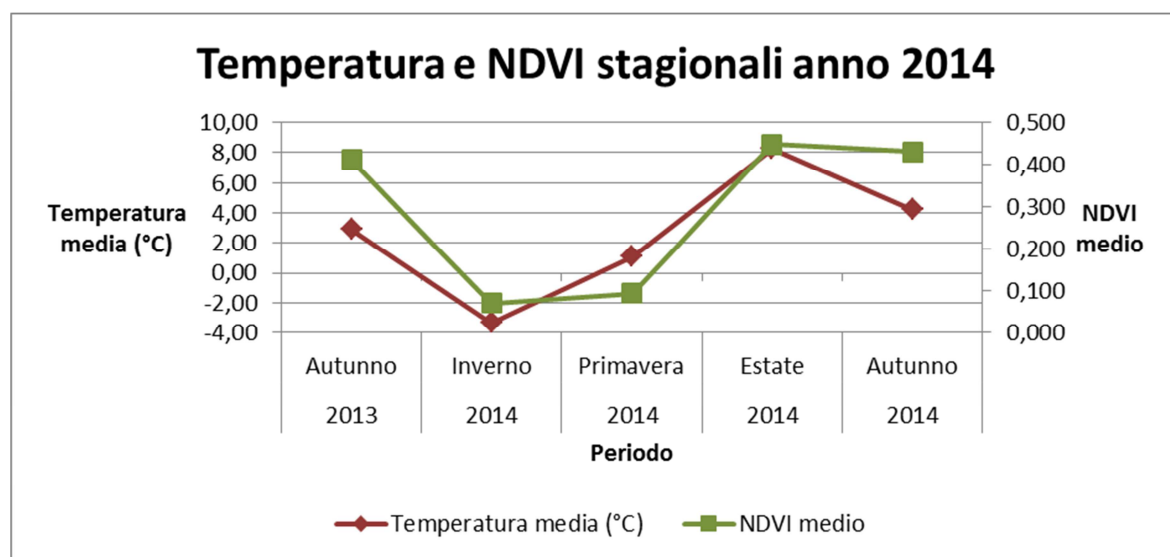


Grafico 4.5: Andamento stagionale della temperatura media e dell'NDVI medio nel 2014.

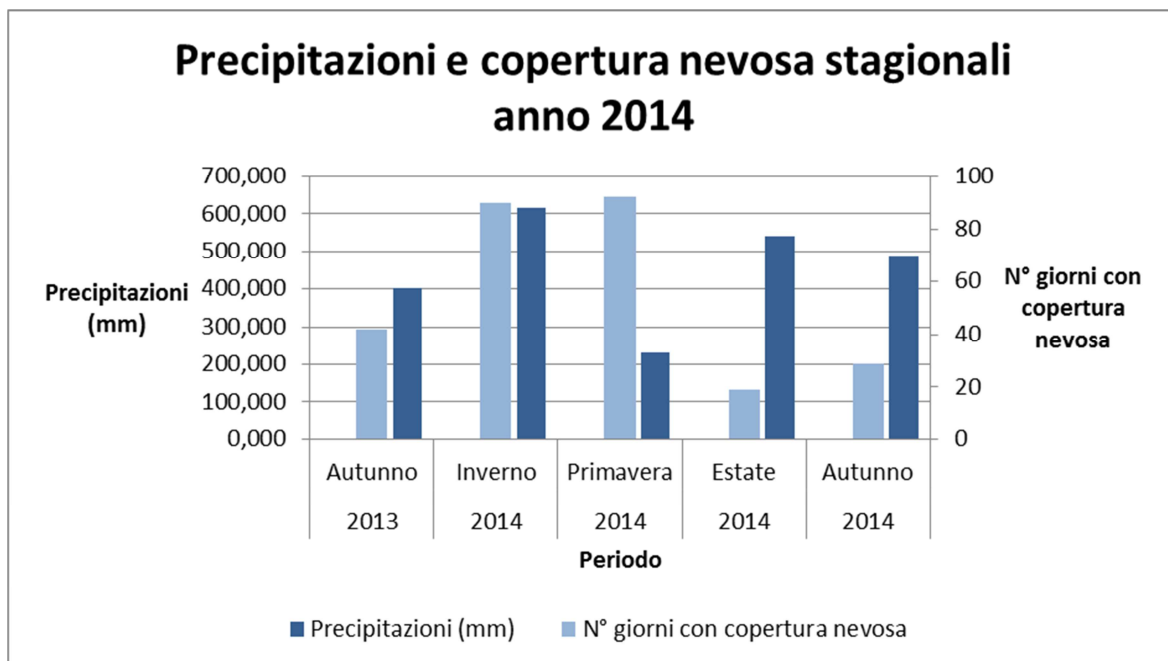


Grafico 4.6: Andamento stagionale delle precipitazioni e del n° di giorni di copertura nevosa nel 2014.

Il campionamento del 2014 è iniziato a luglio ed è terminato ad ottobre. Sono stati raccolti 44 campioni nella SE e 45 nella SA per un totale di 89 campioni. Nelle analisi parassitologiche del 2014 non sono stati considerati i mesi di Giugno e Novembre in quanto non è stato possibile effettuare i campionamenti.

4.1.3 Anno 2015

Il 2015 è stato l'anno più caldo e meno piovoso di tutto il periodo di studio, con temperature sopra la media e ridotte precipitazioni. L'analisi statistica ha infatti evidenziato che le temperature medie risultano essere più alte rispetto a quelle degli altri anni, soprattutto al 2013. Date le elevate temperature anche la copertura nevosa è stata presente per un minor periodo, il più breve tra il 2013 e il 2016. L'NDVI medio ha invece subito un netto incremento rispetto ai due anni precedenti.

Nella tabella 4.4 e nei grafici 4.7 e 4.8 sono riportati i valori dei parametri ambientali relativi al 2015.

Anno	Stagione	T media (°C)	NDVI medio	PREC (mm)	NGCN (giorni)
2014	Autunno	4,25	0,431	487,4	29
2015	Inverno	-4,60	0,114	166,2	90
2015	Primavera	0,67	0,167	245,6	82
2015	Estate	11,08	0,522	321,4	0
2015	Autunno	3,40	0,431	275,8	40

Tabella 4.4: Valori stagionali di temperatura media, NDVI medio, precipitazioni e n° di giorni con copertura nevosa.

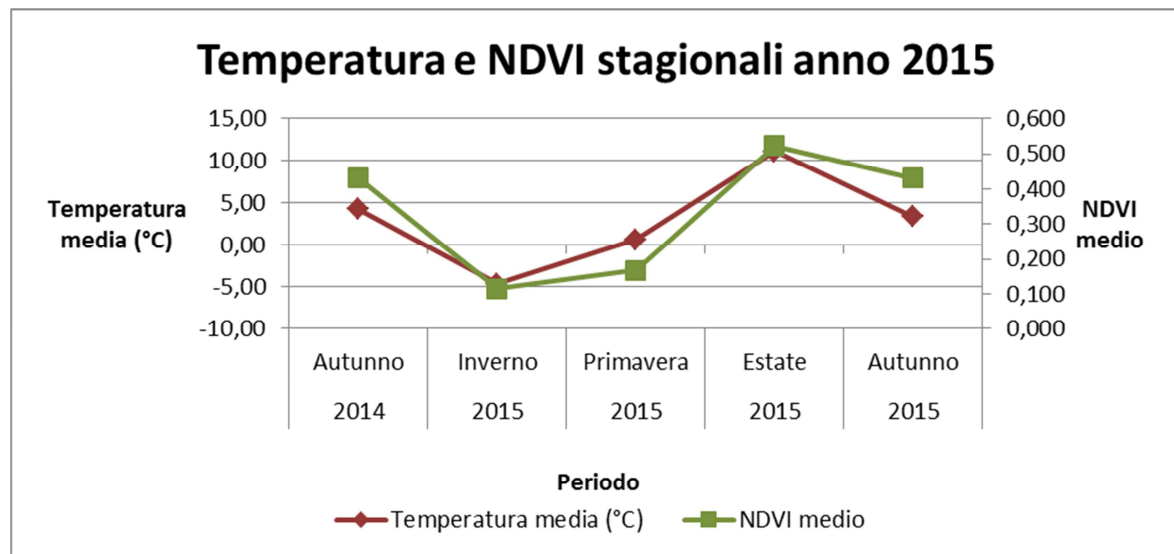


Grafico 4.7: Andamento stagionale della temperatura media e dell'NDVI medio nel 2015.

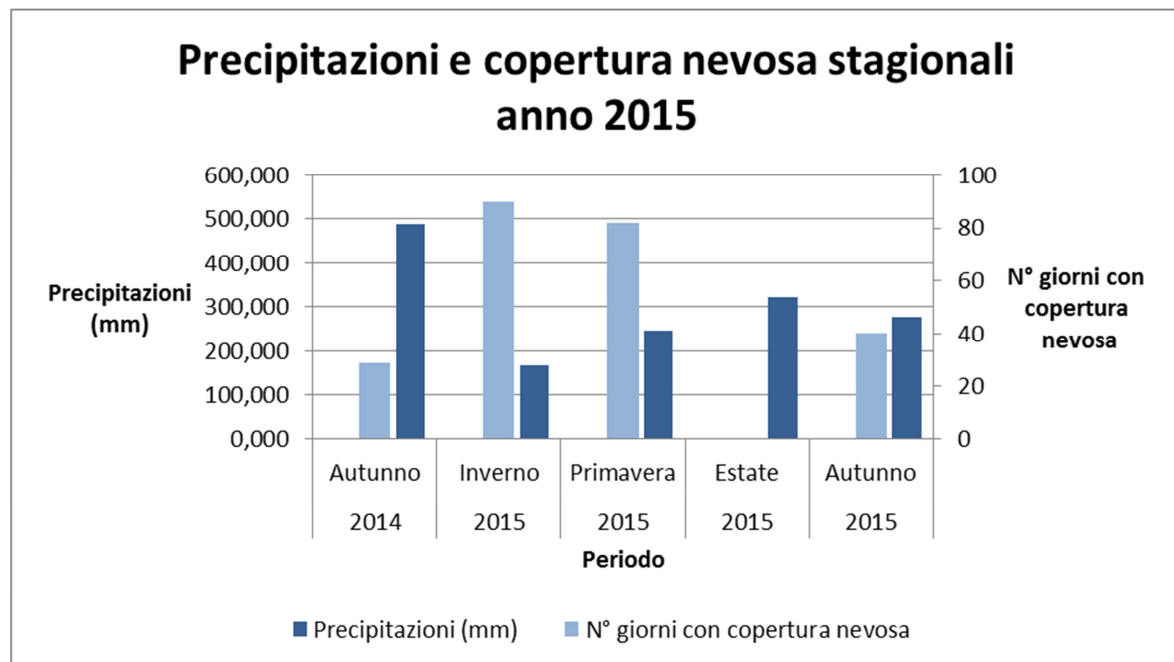


Grafico 4.8: Andamento stagionale delle precipitazioni e del n° di giorni di copertura nevosa nel 2015.

Nel 2015 sono stati raccolti 87 campioni, 37 dei quali nella SE e 50 nella SA. Nelle analisi parassitologiche relative al 2015 non è stato possibile considerare i mesi di Luglio e Ottobre, in quanto in questi due mesi non è stato possibile effettuare i campionamenti.

4.1.4 Anno 2016

Il 2016 è stato un anno caratterizzato da temperature e precipitazioni nella media. I giorni con copertura nevosa sono stati leggermente superiori al 2015. L'NDVI invece ha subito un calo minimo rispetto all'anno precedente.

I dati ambientali del 2016 sono riportati nella tabella 4.5 e nei grafici 4.9 e 4.10.

Anno	Stagione	T media (°C)	NDVI medio	PREC (mm)	NGCN (giorni)
2015	Autunno	3,40	0,431	275,8	40
2016	Inverno	-2,22	0,229	151,4	60
2016	Primavera	-0,22	0,111	319,8	92
2016	Estate	9,53	0,508	584,0	4
2016	Autunno	2,67	0,434	289,0	41

Tabella 4.5: Valori stagionali di temperatura media, NDVI medio, precipitazioni e n° di giorni con copertura nevosa.

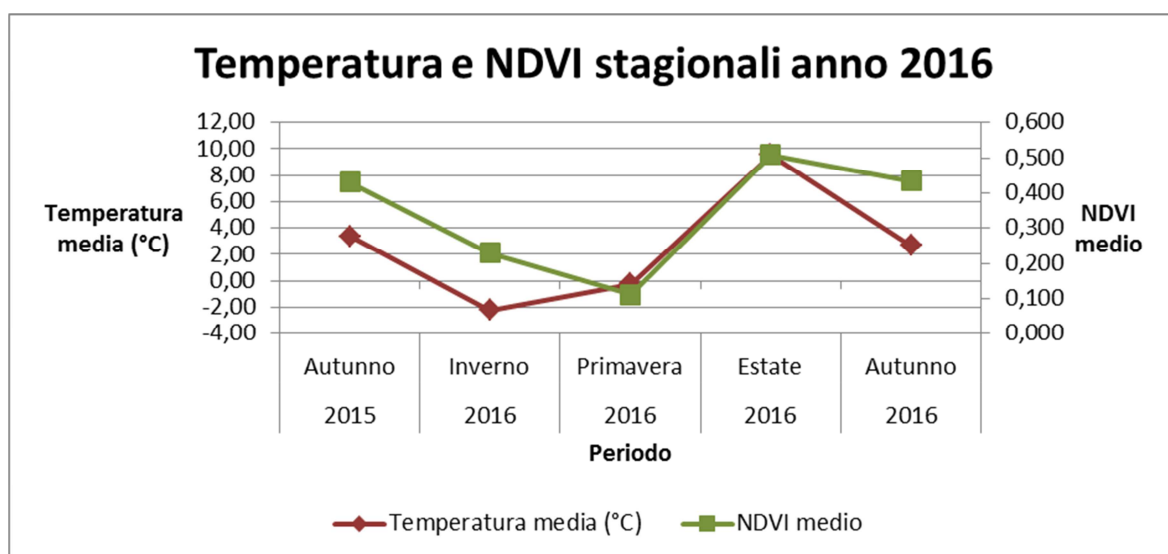


Grafico 4.9: Andamento stagionale della temperatura media e dell'NDVI medio nel 2016.

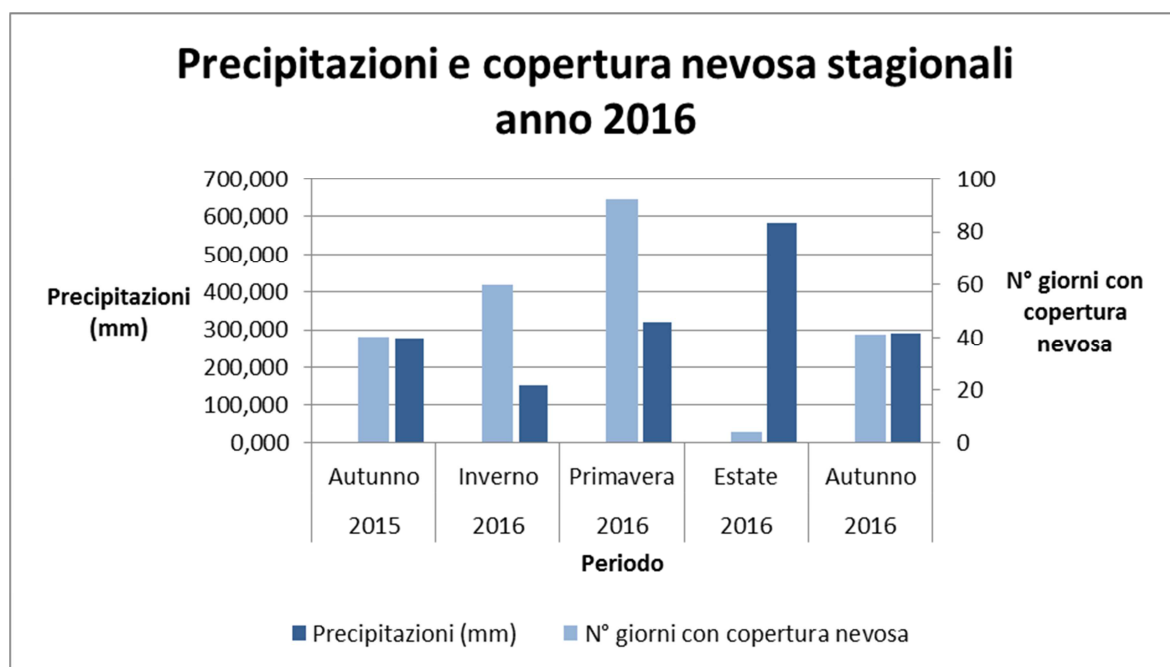


Grafico 4.10: Andamento stagionale delle precipitazioni e del n° di giorni di copertura nevosa nel 2016.

Nel 2016 sono stati raccolti 63 campioni, più precisamente 33 nella SE e 30 nella SA. Nelle analisi parassitologiche relative al 2016 non è stato possibile prendere in considerazione i mesi di agosto e novembre, in quanto non sono stati eseguiti campionamenti.

4.2 Parassiti

In totale sono stati raccolti 418 campioni di feci di stambecco, 181 provenienti dall'area FR-CI, 110 da LA e 127 dall'area di OM. La strategia adottata per la raccolta dei campioni ha garantito un campionamento uniformemente rappresentativo dei generi (maschi e femmine) e delle classi di età (adulti e capretti), lungo l'intero periodo dello studio.

Tra i gastrointestinali sono stati individuati diversi parassiti, i quali sono stati suddivisi in diversi gruppi (coccidi, *Marshallagia/Nematodirus*, altri SGI, cestodi, *Trichuris*, *Capillaria*) dato che la metodica di analisi utilizzata non ha permesso un'identificazione più precisa. È stato possibile invece differenziare dagli altri strongili le uova di *Marshallagia/Nematodirus*, i quali generi sono stati utilizzati per formare un unico gruppo. Data l'elevata somiglianza tra le uova di questi due generi, non è stato possibile identificarli con certezza.

Nella tabella 4.6 sono riportate la prevalenza (Prev), l'emissione media (Em) e l'emissione mediana (EM). Per *Trichuris* e *Capillaria* non è stata fatta alcuna analisi oltre alla prevalenza, pertanto non saranno trattati in questo lavoro.

PARASSITI GASTROINTESTINALI				
Gruppo parassitario	Anno	Prevalenza	Em	EM
Coccidi	2013 ^a	100%	4301,4 OPG	1600 OPG
	2014 ^{ab}	100%	1807,3 OPG	1400 OPG
	2015 ^b	100%	2192,0 OPG	900 OPG
	2016 ^a	100%	3233,1 OPG	1850 OPG
SGI	2013	98,3%	292,8 UPG	200 UPG
	2014	100%	238,8 UPG	150 UPG
	2015	98,9%	210,3 UPG	150 UPG
	2016	96,8%	275,8 UPG	250 UPG
<i>Marshallagia/Nematodirus</i> (**)	2013 ^a	81,0%	21,9 UPG	25 UPG
	2014 ^{ab}	62,9%	18,8 UPG	25 UPG
	2015 ^{ab}	73,6%	19,8 UPG	25 UPG
	2016 ^b	55,6%	14,0 UPG	25 UPG
Cestodi (**)	2013 ^a	25,7%	26,5 UPG	0 UPG
	2014 ^{ab}	19,1%	24,4 UPG	0 UPG
	2015 ^{ab}	12,6%	87,9 UPG	0 UPG
	2016 ^b	7,9%	14,8 UPG	0 UPG
<i>Trichuris</i> (*)	2013	0,0%		
	2014	5,6%		
	2015	4,6%		
	2016	3,2%		
<i>Capillaria</i>	2013	0,0%		
	2014	1,1%		
	2015	0,0%		
	2016	1,6%		

Tabella 4.6: Valori annuali di prevalenza, emissione media ed emissione mediana di ciascun gruppo di parassiti gastrointestinali. Eventuali differenze significative nei valori di prevalenza sono indicati da (*) per $p < 0,05$ e (**) per $p < 0,01$, mentre differenze tra i valori di emissione (test di Kruskal-Wallis) sono evidenziate da lettere diverse, per i singoli anni.

Gli strongili broncopolmonari individuati sono stati *Muellerius*, *Protostrongylus*, *Cystocaulus* e *Neostrongylus*.

Nella tabella 4.7 sono rappresentati i valori annuali della prevalenza, dell'emissione media e dell'emissione mediana. I parassiti appartenenti ai generi *Cystocaulus* e *Neostrongylus* sono stati riscontrati in modo occasionale e non è stata eseguita alcuna analisi statistica, pertanto non saranno trattati in questo lavoro.

PARASSITI BRONCOPOLMONARI				
Gruppo parassitario	Anno	Prevalenza	Em (LPG)	EM (LPG)
<i>Muellerius</i> (**)	2013 ^a	84,3%	122,8	30
	2014 ^{ab}	68,5%	72,6	20
	2015 ^b	52,8%	122,6	5
	2016 ^b	61,9%	54,8	10
<i>Protostrongylus</i> (*)	2013	8,9%	1,7	0
	2014	11,2%	6,5	0
	2015	11,5%	10,1	0
	2016	19%	9,4	0
<i>Cystocaulus</i>	2013	1,1%		
	2014	0,0%		
	2015	0,0%		
	2016	0,0%		
<i>Neostrongylus</i>	2013	4,5%		
	2014	3,4%		
	2015	0,0%		
	2016	0,0%		

Tabella 4.7: Valori annuali di prevalenza, emissione media ed emissione mediana di ciascun genere di parassita broncopolmonare. Eventuali differenze significative nei valori di prevalenza sono indicati da (*) per $p < 0,05$ e (**) per $p < 0,01$, mentre differenze tra i valori di emissione (test di Kruskal-Wallis) sono evidenziate da lettere diverse, per i singoli anni.

Di seguito verrà trattato ciascun gruppo/genere parassitario fino ad un approfondimento temporale stagionale o mensile.

4.2.1 Coccidi

I coccidi sono stati l'unico gruppo parassitario ad essere individuato in tutti i campioni raccolti (Prev=100%). L'abbondanza invece risulta essere significativamente diversa tra i vari anni ($p < 0,005$). Particolarmente risultano essere significative le differenze che intercorrono tra le abbondanze del 2015 e quelle del 2013 e 2016 ($p < 0,05$). Infatti dalla tabella 4.6 si può notare come l'EM del 2015 sia inferiore agli altri due anni. Per quanto riguarda il test di Spearman, nessun parametro ambientale è risultato essere significativamente correlato con l'abbondanza dei coccidi, sia per l'analisi mensile, sia per quella stagionale.

La tabella 4.8 mostra i valori stagionali nei 4 anni di studio di Prev, Em, emissione mediana (EM), valore minimo registrato (Min) e valore massimo registrato (Max), mentre nel grafico 4.11 sono rappresentate le Em e le EM stagionali relative a ciascuno dei 4 anni.

COCCIDI							
Anno	Stagione	Campioni raccolti	Prevalenza	Em (OPG)	EM (OPG)	Min (OPG)	Max (OPG)
2013	SE	77	100%	6546,8	1600	400	312000
	SA	102	100%	2606,3	1600	25	44200
2014	SE	44	100%	1695,5	1500	450	8700
	SA	45	100%	1916,7	1400	400	7250
2015	SE	37	100%	1602,7	1150	50	5500
	SA	50	100%	2628,0	700	100	40750
2016	SE	33	100%	3817,4	1700	25	37150
	SA	30	100%	2491,3	2050	25	7800

Tabella 4.8: Tabella riassuntiva di prevalenze ed abbondanze stagionali dei coccidi.

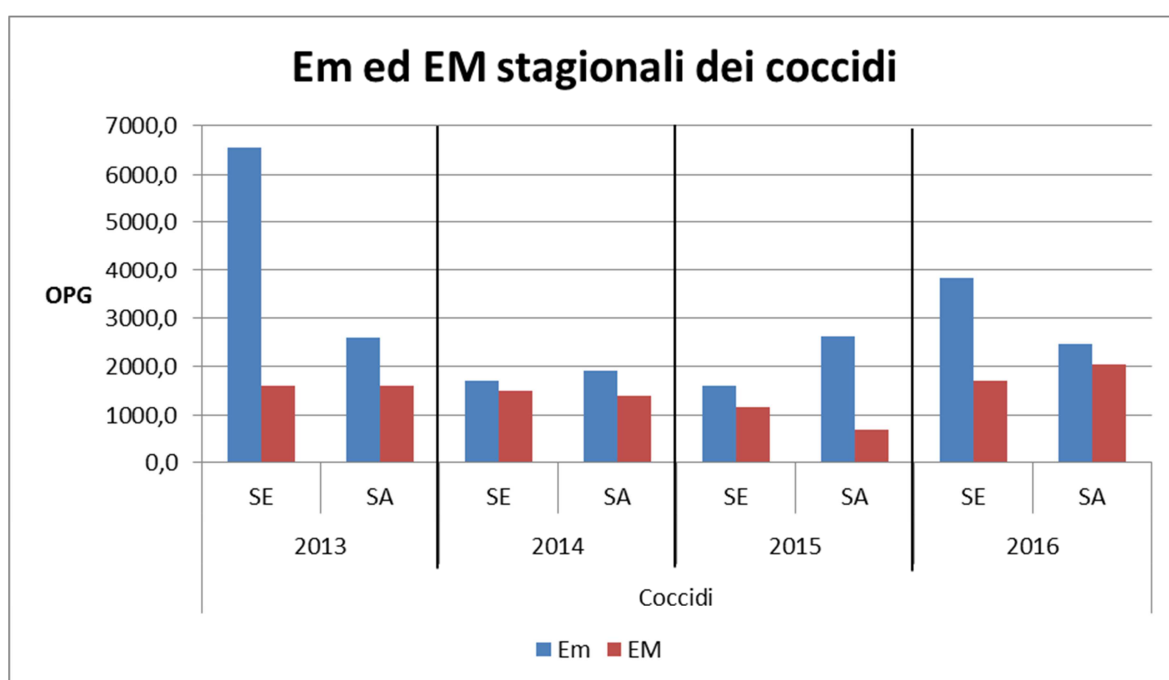


Grafico 4.11: Confronto tra l'Em e l'EM stagionali dei coccidi negli anni di studio.

4.2.2 SGI

Gli SGI sono risultati essere presenti in quasi la totalità dei campioni raccolti, con una prevalenza totale prossima al 100%. Non è stata evidenziata nessuna differenza significativa né tra le abbondanze dei diversi anni né tra quelle stagionali. Infatti, l'emissione di uova di questi parassiti si è mantenuta più o meno costante nel tempo. Inoltre non è stata evidenziata nessuna correlazione significativa con alcun parametro ambientale. È stata invece individuata una correlazione positiva significativa tra le emissioni medie stagionali degli SGI e dei coccidi ($\rho=0,762$; $p<0,05$) e tra le emissioni medie mensili degli SGI e dei cestodi ($\rho=0,527$; $p<0,05$).

La tabella 4.9 mostra i valori stagionali nei 4 anni di studio di Prev, Em, EM, Min e Max, mentre nel grafico 4.12 vengono messe a confronto le Em e le EM stagionali relative a ciascuno dei 4 anni.

SGI							
Anno	Stagione	Campioni raccolti	Prevalenza	Em (UPG)	EM (UPG)	Min (UPG)	Max (UPG)
2013	SE	77	100%	336,7	250	25	1450
	SA	102	97,1%	259,7	150	0	2850
2014	SE	44	100%	259,7	175	25	1800
	SA	45	100%	218,3	150	25	750
2015	SE	37	100%	175,0	100	25	1000
	SA	50	98,0%	236,5	150	0	950
2016	SE	33	93,9%	303,0	250	0	1450
	SA	30	100%	241,3	225	25	800

Tabella 4.9: Tabella riassuntiva di prevalenze ed abbondanze stagionali degli SGI.

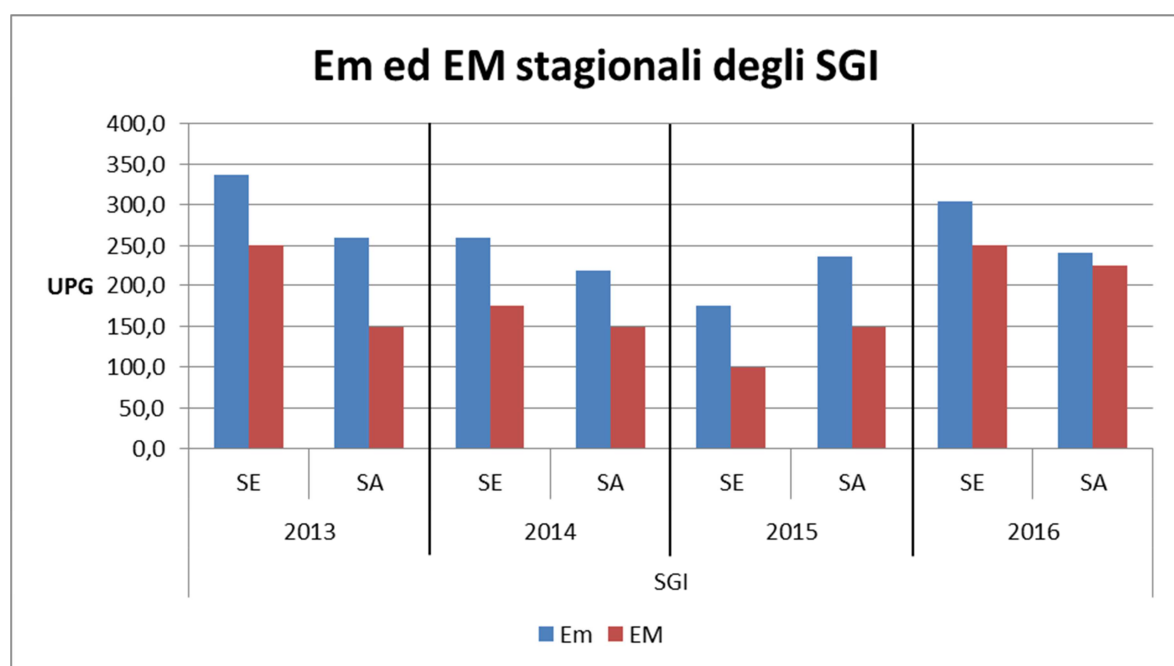


Grafico 4.12: Confronto tra l'Em e l'EM stagionali degli SGI negli anni di studio.

4.2.3 Marshallagia/Nematodirus

Molti campioni sono risultati positivi a *Marshallagia/Nematodirus*, con prevalenze annuali e stagionali quasi sempre maggiori del 50%. Le analisi statistiche hanno individuato una differenza significativa tra i livelli di abbondanza dei diversi anni ($p < 0,001$), in particolar modo tra quelle relative al 2013 e al 2016 ($p < 0,001$), dove la prima è maggiore della seconda. Anche tra le

abbondanze stagionali è stata individuata una differenza significativa ($p < 0,05$), infatti dalla tabella 4.10 si può notare che l'Em è sempre maggiore in autunno, tranne nel caso del 2013. Nessun parametro ambientale è risultato essere correlato con l'abbondanza di *Marshallagia/Nematodirus*. La tabella 4.10 mostra i valori stagionali nei 4 anni di studio di Preval, Em, EM, Min e Max, mentre nel grafico 4.13 sono rappresentate le Em e le EM stagionali riscontrate in ogni anno di studio.

MARSHALLAGIA/NEMATODIRUS							
Anno	Stagione	Campioni raccolti	Prevalenza	Em (UPG)	EM (UPG)	Min (UPG)	Max (UPG)
2013	SE	77	83,1%	23,4	25	0	50
	SA	102	79,4%	20,8	25	0	50
2014	SE	44	45,5%	14,2	0	0	100
	SA	45	80,0%	23,3	25	0	100
2015	SE	37	62,2%	16,9	25	0	50
	SA	50	82,0%	22,0	25	0	50
2016	SE	33	51,5%	12,9	25	0	25
	SA	30	60,0%	15,4	25	0	25

Tabella 4.10: Tabella riassuntiva di prevalenze ed abbondanze stagionali di *Marshallagia/Nematodirus*.

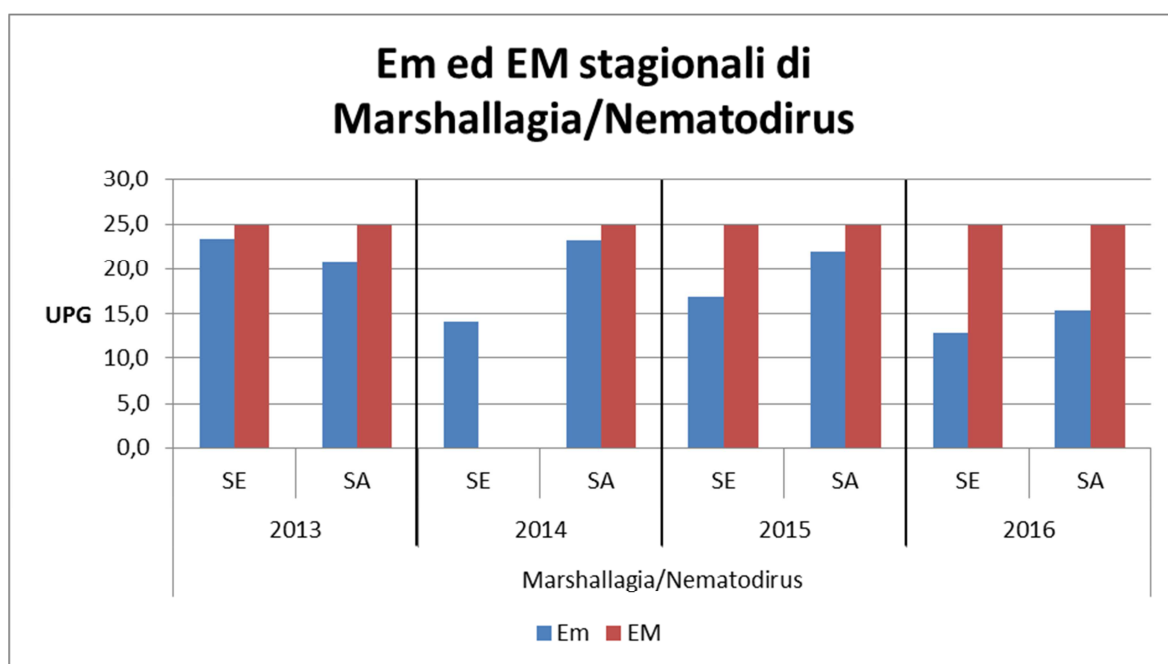


Grafico 4.13: Confronto tra l'Em e l'EM stagionali di *Marshallagia/Nematodirus* negli anni di studio

4.2.4 Cestodi

Escludendo *Trichuris* e *Capillaria*, questo è risultato essere il gruppo di parassiti individuato con minor frequenza. Anche per i cestodi è stata messa in evidenza una differenza significativa tra i

livelli di abbondanza riscontrati nei diversi anni ($p < 0,01$), in particolar modo tra quella registrata nel 2013 e quella del 2016 ($p < 0,05$). Come già precedentemente detto, è stata inoltre individuata una correlazione positiva significativa tra le emissioni medie mensili di cestodi e SGI ($\rho = 0,527$; $p < 0,05$). Invece nessun parametro ambientale è risultato essere correlato con l'abbondanza dei cestodi.

La tabella 4.11 mostra i valori stagionali nei 4 anni di studio di Prev, Em, EM, Min e Max, mentre nel grafico 4.14 sono rappresentate le Em e le EM stagionali relative a ciascuno dei 4 anni di studio.

CESTODI							
Anno	Stagione	Campioni raccolti	Prevalenza	Em (UPG)	EM (UPG)	Min (UPG)	Max (UPG)
2013	SE	77	32,5%	34,4	0	0	400
	SA	102	20,6%	20,6	0	0	400
2014	SE	44	36,4%	48,3	0	0	1050
	SA	45	2,2%	1,1	0	0	50
2015	SE	37	10,8%	9,5	0	0	150
	SA	50	14,0%	146,0	0	0	6600
2016	SE	33	3,0%	6,1	0	0	200
	SA	30	13,3%	26,0	0	0	550

Tabella 4.11: Tabella riassuntiva di prevalenze ed abbondanze stagionali dei cestodi.

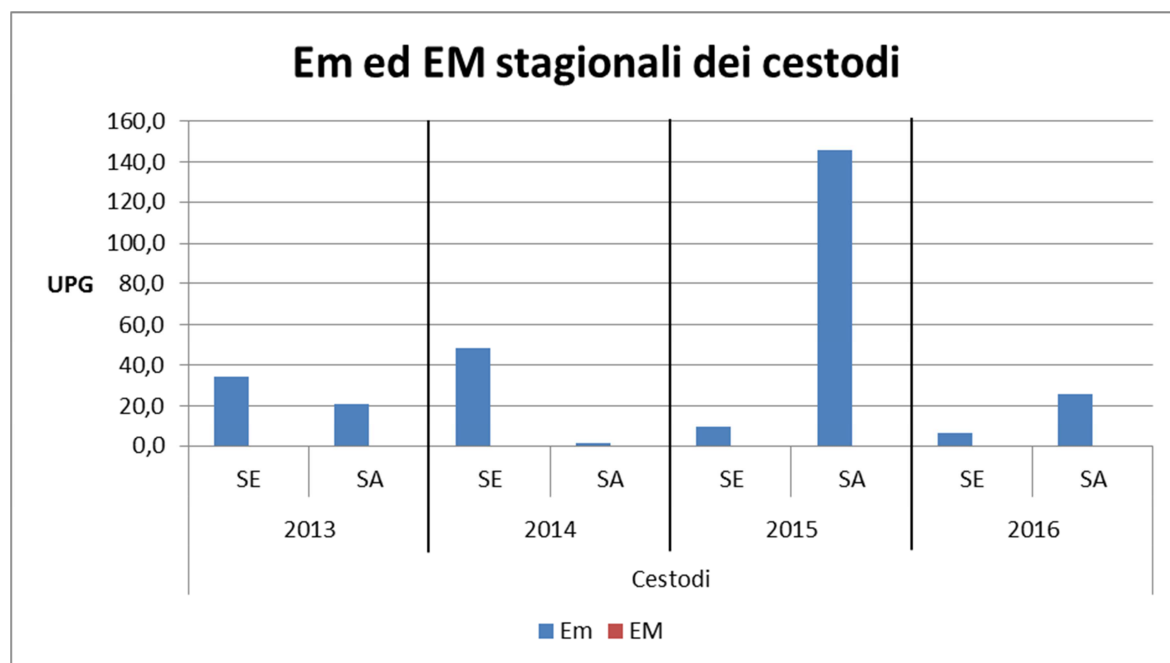


Grafico 4.14: Confronto tra l'Em e l'EM stagionali dei cestodi negli anni di studio.

4.2.5 Muellerius

Questo parassita è stato individuato spesso nei campioni raccolti, infatti presenta prevalenze annuali sempre superiori al 50% (Tab. 4,7). Anche per *Muellerius* è stata evidenziata una differenza significativa tra le abbondanze annuali ($p < 0,001$), in particolar modo tra quella registrata nel 2013 e quelle del 2015 ($p < 0,001$) e 2016 ($p < 0,01$). Inoltre sono state individuate delle correlazioni significative con 3 dei 4 parametri ambientali considerati:

- Correlazione negativa tra temperatura media ed emissione media mensile ($\rho = -0,703$; $p < 0,01$) ed emissione media stagionale ($\rho = -0,810$; $p < 0,05$).
- Correlazione negativa tra NDVI medio ed emissione media mensile ($\rho = -0,544$; $p < 0,05$) ed emissione media stagionale ($\rho = -0,905$; $p < 0,01$).
- Correlazione positiva tra NGCN ed emissione media mensile ($\rho = 0,686$; $p < 0,01$) ed emissione media stagionale ($\rho = 0,881$; $p < 0,01$).

Il grafico 4.15, nel quale vengono riportate le Em e le EM stagionali nei 4 anni di studio, mostra infatti che l'abbondanza di *Muellerius* aumenta dalla SE alla SA ripetendo un andamento molto simile in tutti gli anni. Nei grafici 4.16 e 4.17 sono riportate le Em stagionali in relazione rispettivamente con T medie e precipitazioni.

Infine, la tabella 4.12 mostra i valori stagionali nei 4 anni di studio di Preval, Em, EM, Min e Max.

MUELLERIUS							
Anno	Stagione	Campioni raccolti	Prevalenza	Em (LPG)	EM (LPG)	Min (LPG)	Max (LPG)
2013	SE	77	77,9%	56,1	20	0	1360
	SA	102	89,2%	173,2	70	0	2240
2014	SE	44	77,3%	40,2	20	0	340
	SA	45	60,0%	104,3	20	0	920
2015	SE	37	46,0%	25,1	0	0	240
	SA	50	58,0%	194,7	5	0	4720
2016	SE	33	60,6%	26,1	5	0	220
	SA	30	63,3%	86,5	20	0	1030

Tabella 4.12: Tabella riassuntiva di prevalenze ed abbondanze stagionali di *Muellerius*.

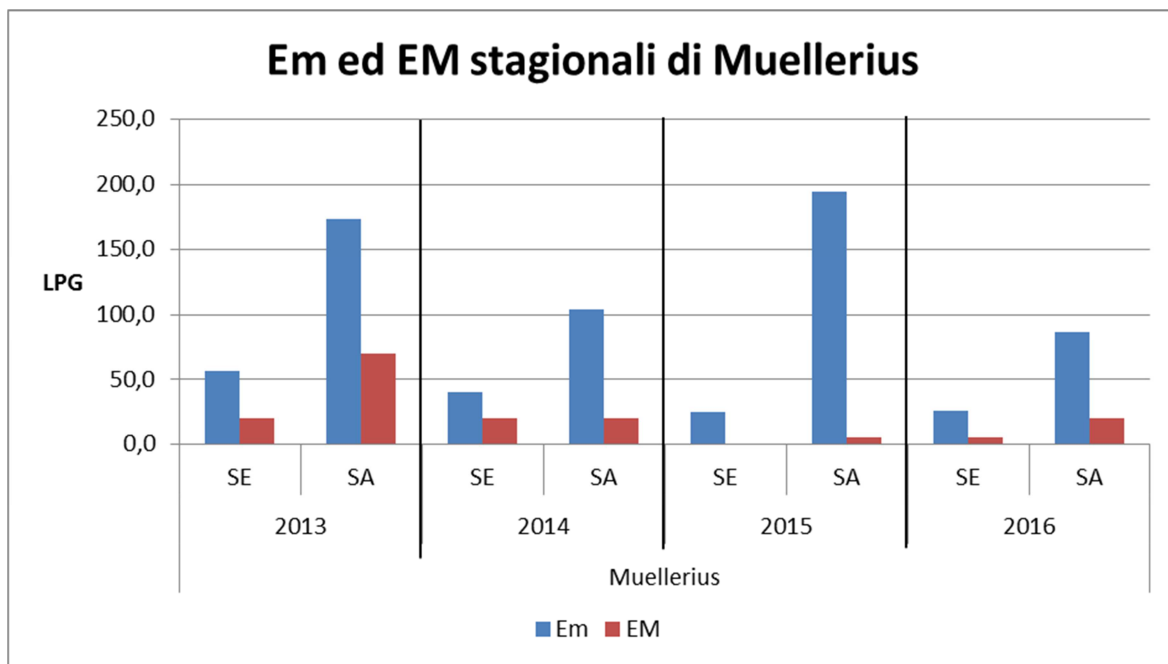


Grafico 4.15: Confronto tra l'Em e l'EM stagionali di *Muellerius* negli anni di studio.

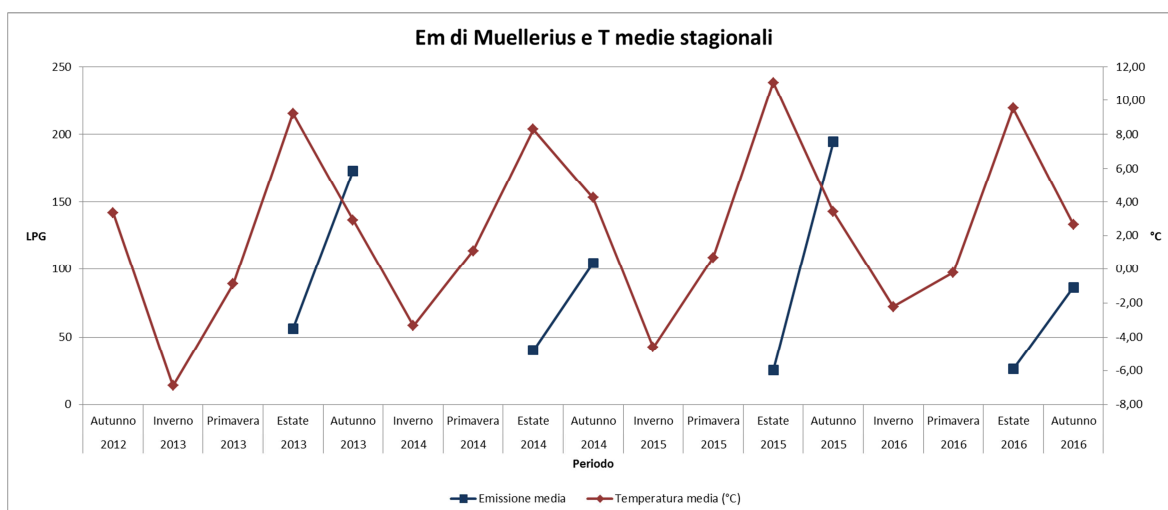


Grafico 4.16: T medie stagionali in relazione con l'Em stagionale nel corso degli anni.

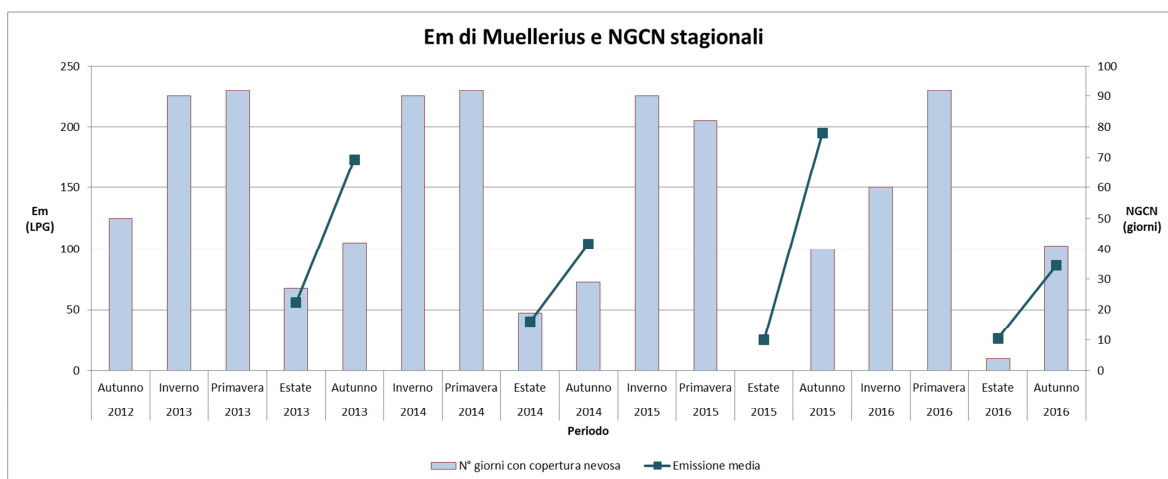


Grafico 4.17: NGCN stagionali in relazione con l'Em stagionale nel corso degli anni

4.2.6 Protostrongylus

La prevalenza di questo parassita non è mai risultata superiore al 25%. Non sono state evidenziate differenze significative tra le abbondanze dei diversi anni. È stata invece individuata una differenza significativa tra le abbondanze stagionali ($p < 0,05$). La tabella 4.13 mostra infatti che l'emissione media stagionale è generalmente maggiore nella SA. Sono state individuate delle correlazioni significative anche con alcuni parametri ambientali:

- Correlazione positiva tra la temperatura media di due mesi prima e l'emissione media mensile ($\rho = 0,531$; $p < 0,05$).
- Correlazione negativa tra il NGCN di due mesi prima e l'emissione media mensile ($\rho = -0,608$; $p < 0,01$).
- Correlazione negativa tra il NGCN del mese prima e l'emissione media mensile ($\rho = -0,491$; $p < 0,05$).

La tabella 4.13 mostra i valori stagionali nei 4 anni di studio di Prev, Em, EM, Min e Max, mentre il grafico 4.18 mostra le Em e le EM stagionali riscontrate per ciascuno dei 4 anni di studio.

PROTOSTRONGYLUS							
Anno	Stagione	Campioni raccolti	Prevalenza	Em (LPG)	EM (LPG)	Min (LPG)	Max (LPG)
2013	SE	77	3,9%	0,8	0	20	20
	SA	102	12,8%	2,4	0	10	40
2014	SE	44	11,4%	7,0	0	30	160
	SA	45	11,1%	6,0	0	10	100
2015	SE	37	2,7%	1,9	0	70	70
	SA	50	18,0%	16,1	0	0	350
2016	SE	33	15,2%	6,4	0	10	120
	SA	30	23,3%	12,7	0	10	150

Tabella 4.13: Tabella riassuntiva di prevalenze ed abbondanze stagionali di *Protostrongylus*.

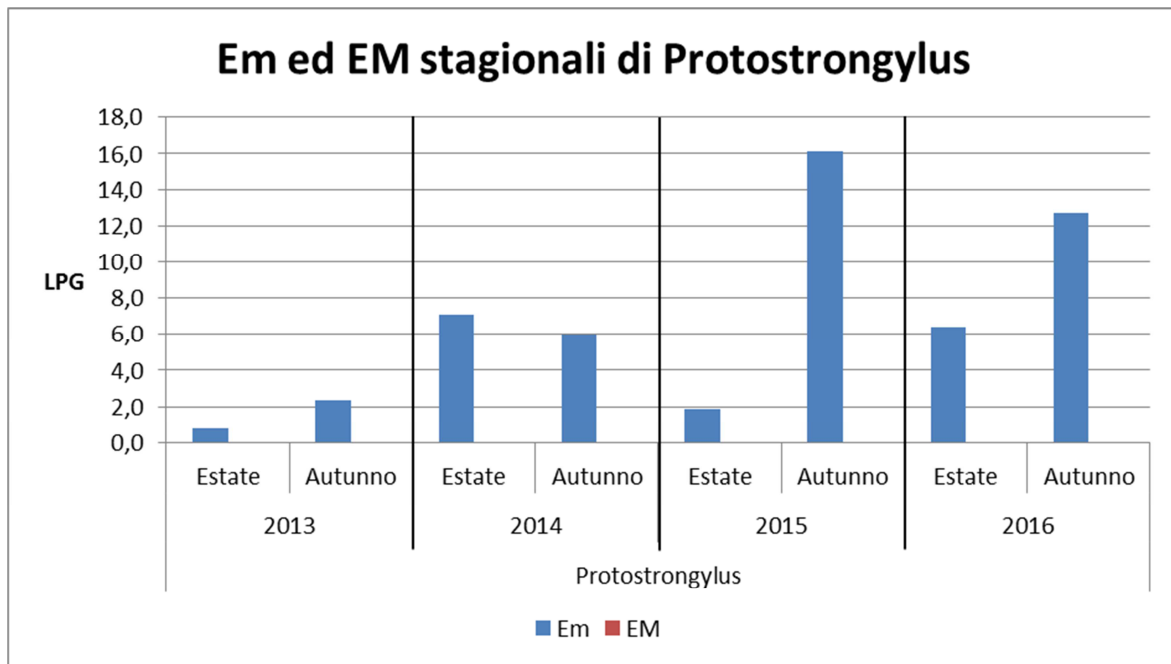


Grafico 4.18: Confronto tra l'Em e l'EM stagionali di *Protostrongylus* negli anni di studio.

5 Discussione

5.1 Parassiti gastrointestinali

5.1.1 Coccidi

Dalle analisi statistiche eseguite non è stata evidenziata nessuna correlazione significativa tra l'abbondanza dei coccidi e i parametri ambientali. È stata messa in evidenza invece una differenza significativa tra le abbondanze dei diversi anni, con valori di EM che si abbassano progressivamente dal 2013 al 2015 e si alzano poi nel 2016. Osservando la tabella 4.6 e il grafico 4.1 si nota che l'abbondanza e le temperature medie hanno due andamenti opposti. Svensson et al.(1997) e Lassen et al.(2013) hanno infatti riscontrato una minor sopravvivenza delle oocisti di diverse specie di *Eimeria* al caldo e all'esposizione diretta al sole, in quanto questi fattori provocano danni al DNA e disidratazione delle oocisti stesse. Conseguentemente, questo può comportare cariche di oocisti maggiori all'ombra durante l'estate (Lassen et al., 2014). Altri studi invece hanno evidenziato una presenza maggiore di coccidi in estate (Ruiz et al., 2006; Lassen et al., 2014) probabilmente dovuta alla più rapida sporulazione che caratterizza questi parassiti in presenza di temperature medio-alte (Turner e Getz, 2010). Questi differenti risultati di affinità di *Eimeria* alle temperature medio-alte possono essere dovuti alle diversità interspecifiche di questo parassita (Svensson et al., 1997; Turner et al., 2012). Contrariamente da ciò che è emerso dalla letteratura, questo studio non ha evidenziato alcuna correlazione significativa tra l'abbondanza dei coccidi e i parametri ambientali considerati. Tuttavia, l'osservazione associata degli andamenti e la valutazione comparata delle differenze significative suggerisce un effetto negativo della temperatura media sulle specie di coccidi presenti nell'area di studio. È possibile ipotizzare che le specie di coccidi di questa popolazione di stambecchi siano particolarmente adattate al freddo e soffrano dunque un aumento delle temperature.

5.1.2 SGI

Le analisi statistiche riguardanti il gruppo degli SGI non hanno evidenziato né correlazioni significative con i parametri ambientali, né differenze significative tra le abbondanze annuali e le abbondanze stagionali. Sono state invece individuate delle correlazioni tra l'Em stagionale degli SGI e l'Em stagionale o mensile, sia dei coccidi sia dei cestodi. Osservando le tabelle 4.8 e 4.9 si

può notare che i valori di Em di entrambi i gruppi parassitari hanno un andamento simile in tutti gli anni. Anche lo studio di Gwaze et al. (2009) mette in evidenza che le maggiori cariche di coccidi e SGI si registrano in contemporanea nello stesso periodo. Dato che nessuno di questi due gruppi parassitari ha dimostrato correlazioni significative con i parametri ambientali considerati, le cause della correlazione sono da attribuirsi ad altri fattori, o ad interazioni complesse tra più fattori che in questo studio non sono state analizzate. Una possibile spiegazione potrebbe essere l'azione primaria di determinanti esterni predisponente all'infestazione con un primo gruppo di parassiti che poi facilita l'infestazione secondaria con il secondo gruppo (Marreros et al., 2012). Gli SGI, rispetto agli altri parassiti, sono quelli che influiscono maggiormente nella perdita della massa corporea (Gwaze et al., 2009). Un eccessivo deperimento fisico va a costituire un fattore stressante per l'animale e in quanto tale, si ha la liberazione in circolo di una maggiore quantità di glucocorticoidi. È stato dimostrato che l'innalzamento della concentrazione di questi ormoni provoca immunodepressione, la quale permette l'aumento del grado d'infestazione (Arnett et al., 1993; Cizauskas et al., 2015). Questa variazione ormonale comporta quindi una maggiore suscettibilità dell'ospite all'infestazione, la quale, in relazione alla comunità parassitaria presente, può condizionare l'abbondanza e la carica del parassita (Cabaret et al., 1998). Per quest'ultimo parametro è stata inoltre riscontrata una correlazione significativa con le UPG emesse (Rinaldi et al., 2009). In base a queste considerazioni, è possibile che una prima infestazione da SGI possa predisporre a un'infestazione secondaria da coccidi, o da cestodi.

5.1.3 *Marshallagia/Nematodirus*

Dalle analisi statistiche eseguite non è emersa alcuna correlazione significativa tra l'abbondanza di *Marshallagia/Nematodirus* e i parametri ambientali considerati. Tuttavia, Meradi et al. (2011) affermano che la presenza di *Marshallagia* è inversamente proporzionale alla quantità di precipitazioni e, osservando la tabella 4.6 e il grafico 4.2, si può notare lo stesso andamento descritto nello studio appena citato. Sono emerse inoltre delle differenze significative tra le abbondanze del 2013 e del 2016 e tra quelle della SE e della SA. Dalla tabella 4.6 si nota infatti la differenza tra i valori dell'Em del 2013 e del 2016, con un generale trend calante delle cariche parassitarie. Questo dato però necessita di ulteriori approfondimenti e risulta di difficile interpretazione.

La variabilità stagionale viene confermata anche da altri studi. Diversi autori affermano che la prevalenza e l'abbondanza di questo parassita diminuisce in estate per poi aumentare in autunno e raggiungere il picco in inverno (Zaffaroni, 1999; Zaffaroni et al., 2003; Marreros et al., 2012). In quest'ultima stagione, è stata dimostrata anche una maggiore trasmissione di questo parassita tra gli

individui, con livelli d'infestazione crescenti col progredire dell'inverno nell'individuo inizialmente non infestato (Carlsson et al., 2012). È stato poi evidenziato, in esemplari di renna in Norvegia, che gli adulti di *Marshallagia* hanno vita breve, con picchi di carica parassitaria ad aprile e cali drastici della stessa in estate (Carlsson et al., 2012), mentre le uova e le larve possiedono una buona resistenza alle basse temperature, anche inferiori allo zero, che da loro la possibilità di superare l'inverno ed infestare l'ospite definitivo in primavera-estate (Carlsson et al., 2013). Le caratteristiche biologiche di *Marshallagia*, messe in evidenza da questi studi, possono giustificare la variabilità stagionale osservata nel nostro studio.

5.1.4 Cestodi

Le analisi statistiche hanno individuato una differenza significativa tra le abbondanze registrate nel 2013 e nel 2016. Anche i cestodi, come *Marshallagia/Nematodirus*, hanno mostrato una tendenza al calo lungo i 4 anni dello studio, sia dei valori di prevalenza, sia di quelli di abbondanza. Questo trend non è facilmente interpretabile sulla base degli andamenti dei parametri ambientali, dal momento che nessun parametro considerato ha un andamento analogo od opposto. La complessità del ciclo dei cestodi, che prevede la presenza di un ospite intermedio, rende ancor più complicata l'interpretazione dell'influenza dei fattori esterni, considerando che questi possono influire sia sull'ospite definitivo, sia soprattutto sull'ospite intermedio e sulla fase ambientale del parassita.

5.2 Parassiti broncopolmonari

5.2.1 Muellerius

Per *Muellerius* sono state riscontrate diverse correlazioni significative tra l'abbondanza e la T media, l'NDVI medio e il NGCN, sia mensili che stagionali. Dalle analisi statistiche e dal grafico 4.16, si osserva che l'abbondanza di *Muellerius* aumenta con il diminuire delle T medie e dell'NDVI medio e con l'aumentare dei NGCN. Osservando i dati riportati nella tabella 4.12, si nota che l'abbondanza e, generalmente, anche la prevalenza aumentano dalla SE alla SA, periodo in cui le T medie iniziano a scendere. Questo andamento stagionale è stato messo in evidenza anche da altri studi (Diez-Baños et al., 1994; McCraw e Menzies, 1988). Bisogna considerare che i 3 fattori ambientali considerati sono tra loro correlati e che specificatamente l'NDVI medio e il NGCN sono sicuramente influenzati entrambi dalla T. Si può dunque affermare che l'abbondanza di *Muellerius* è influenzata primariamente dalle temperature, ed in particolare che nell'area di

studio le cariche di questo parassita diminuiscono all'aumentare della T, confermando la descrizione di *Muellerius* come di un parassita tipico degli ambienti freddi.

In letteratura non è chiaro se le precipitazioni influenzino positivamente o negativamente l'abbondanza di questo parassita, in quanto alcuni studi hanno ottenuto risultati contrastanti tra loro (Diez-Baños et al., 1994; Solomon et al., 1997; Georgiev et al., 2003). Osservando il grafico 4.2 e la tabella 4.7, si nota che la quantità di precipitazioni e l'emissione di L1 hanno andamenti annuali opposti. Sebbene in questo studio sia stata effettivamente trovata una correlazione negativa tra i due parametri, questa non risulta essere significativa.

Sono state inoltre evidenziate delle differenze significative tra le abbondanze annuali del 2015 e quelle del 2013 e 2016. Osservando la tabella 4.12 si può notare che le EM del 2015 e del 2016, tra loro simili, siano nettamente inferiori a quella del 2013. La stessa differenza si può notare tra l'Em del 2016 e quella del 2013. L'Em del 2015 non segue lo stesso andamento della corrispettiva EM, in quanto è probabile che risenta dell'influenza di singoli campioni con valori eccezionalmente alti registrati nella SA di quell'anno.

5.2.2 Protostrongylus

La differenza significativa evidenziata tra le abbondanze stagionali di questo parassita è stata individuata anche da altri studi ma con risultati non sempre sovrapponibili a quelli evidenziati con questo lavoro. Lo studio condotto da Jenkins et al. (2006) su esemplari di bighorn bianco sulle Mackenzie mountains, ha rilevato che i livelli maggiori di emissione di L1 sono tra Marzo e Maggio e poi calano drasticamente in estate. Inoltre afferma che anche la prevalenza subisce un calo ad agosto per poi risalire in autunno e portare l'infestazione ai livelli massimi in inverno. Anche dal presente studio è emerso che la prevalenza e l'abbondanza di *Protostrongylus* aumentano generalmente dalla SE alla SA. Un altro studio ha però ottenuto risultati contrastanti tra due colonie di stambecco in Svizzera. La prima colonia ha mostrato prevalenze maggiori a Novembre e la seconda a Luglio, ma in entrambe era generalmente più alta in autunno (Marreros et al., 2012).

È dimostrato che l'abbondanza di *Protostrongylus* può essere condizionata anche da fattori non ambientali. Uno studio (Arnett et al., 1993) condotto sul bighorn, nel Montana meridionale (USA), ha evidenziato che l'emissione di L1 in inverno aumenta nei capretti ma cala negli adulti. Considerando che stambecco e bighorn appartengono entrambi alla sottofamiglia *Caprinae*, è possibile che l'andamento della parassitosi nelle due specie possa essere molto simile.

Da questo studio sono emerse anche delle correlazioni significative dell'Em con la T media (correlazione positiva) e il NGCN (correlazione negativa) dei mesi precedenti al campionamento.

Bisogna tenere in considerazione il fatto che nel ciclo biologico di questo parassita è compreso un ospite intermedio, il quale si identifica in un gasteropode terrestre. Questi animali, in condizioni climatiche sfavorevoli, riducono al minimo le funzioni vitali entrando in ibernazione in inverno ed in estivazione in estate. È possibile che le L1, penetrando nel gasteropode poco prima dell'ibernazione, non riescano a mutare a L3 durante questo periodo, ma che solo al termine di esso possano portare a termine la muta, cioè quando si alzano le T medie. Le L1 di *Protostrongylus* impiegano circa 2-3 settimane per diventare L3 e il periodo di prepatenza nell'ospite definitivo è di circa 5-6 settimane. Considerando queste tempistiche e le condizioni di uscita dall'ibernazione, se quest'ultima avviene a inizio estate si avrà un aumento della prevalenza a cavallo tra l'estate e l'autunno, come hanno evidenziato questo e altri studi.

È possibile che altri fattori non considerati in questo lavoro, sia ambientali che non, vadano ad influenzare prevalenza ed abbondanza dei parassiti. In più specie animali è stato infatti rilevato che i maschi hanno intensità parassitarie maggiori rispetto alle femmine (Body et al., 2011; Marreros et al., 2012; Milner et al., 2013; Cizauskas et al., 2015), mentre per altre è stato rilevato il contrario (Vadlejch et al., 2015). Per alcuni parassiti, anche l'età dell'ospite definitivo sembra giocare un ruolo non trascurabile, come è stato individuato ad esempio in coccidi del genere *Eimeria*. Infatti, da alcuni studi, l'abbondanza è risultata essere maggiore negli individui giovani rispetto agli adulti (Ruiz et al., 2006; Gwaze et al., 2009). Inoltre, Turner e Getz (2010) affermano che *Eimeria* è più specie-specifico rispetto ad altri parassiti e pertanto l'organismo riesce a sviluppare un'immunità più efficiente contro eventuali infestazioni successive. È quindi possibile che le infestazioni avvenute in giovane età conferiscano al soggetto un'immunità in grado di limitarne altre in età adulta.

Un altro fattore che è stato evidenziato influire su questi due parametri e sulla sopravvivenza delle forme parassitarie a vita libera è l'umidità relativa (Diez-Baños et al., 1994; Solomon et al., 1997; Svensson et al., 1997; Ruiz et al., 2006; Alasaad et al., 2009; Knapp-Lawitzke et al., 2016).

È da considerare inoltre che, trattandosi di animali selvatici a vita libera, anche la presenza di altri animali può influire sulla presenza e l'abbondanza di certi parassiti nell'area di studio. Diversi parassiti possono infestare più specie di bovidi e, anche se in minor misura, cervidi (Lanfranchi et al., 1993; Zaffaroni et al., 2003; Carlsson et al., 2012). Questi ultimi possono fungere da ponte tra gli stambecchi e i pascoli a più basse altitudini frequentate da animali domestici in alpeggio. Questo può potenzialmente influenzare qualitativamente e quantitativamente i parassiti presenti in quest'area.

Anche malattie primarie o stress di altra natura, come la gerarchia o il periodo degli amori, possono influenzare la prevalenza e l'abbondanza dei parassiti.

6 Conclusioni

Dai risultati ottenuti con questo studio, sono emerse poche relazioni tra i singoli parametri ambientali e le abbondanze riscontrate per ciascun parassita. Solamente per *Muellerius* è stata evidenziata una chiara relazione con la T stagionale e mensile, all'aumentare della quale diminuisce l'abbondanza e viceversa. Questo è risultato essere l'unico caso in cui l'andamento dell'emissione di elementi parassitari nel tempo può essere descritto tramite l'utilizzo di un singolo parametro ambientale.

Anche per *Protostrongylus* è stata riscontrata l'esistenza di una relazione tra l'abbondanza e la T dei mesi precedenti. Questa relazione però potrebbe non coinvolgere direttamente l'emissione di L1, ma essere un indicatore indiretto della più probabile relazione che intercorre tra la T e l'ospite intermedio di questo parassita.

In più parassiti è stata invece evidenziata una differenza tra le abbondanze stagionali.

Considerando i risultati ottenuti, è possibile affermare che un unico parametro ambientale difficilmente può descrivere l'andamento temporale delle abbondanze di ogni parassita. Ciascuno di essi infatti possiede caratteristiche biologiche che lo differenziano dagli altri e che ne condizionano il rapporto con i vari parametri ambientali. Inoltre, questi ultimi non agiscono singolarmente ma contemporaneamente. Questo rende difficile, se non impossibile, determinare l'influenza che ciascuno di essi possa avere nel ciclo vitale di ciascun parassita. Il parametro che più sembra influenzare la dinamica dei parassiti considerati (o almeno alcuni di questi) è la temperatura. L'unico modo per descrivere in modo completo l'andamento temporale delle abbondanze parassitarie è riferirle alla stagionalità, la quale comprende tutti i fattori climatici ed ambientali che caratterizzano un determinato periodo e che possono influenzare i cicli vitali dei parassiti. Purtroppo, le caratteristiche climatiche e orografiche dell'area di studio impediscono il monitoraggio parassitologico per metà dell'anno, limitando fortemente la completezza della descrizione della stagionalità. Inoltre, nemmeno la stagionalità spiegherebbe per intero l'andamento delle cariche parassitarie, in quanto non considera i fattori legati all'ospite.

Per concludere, da questa tesi non è emerso in modo chiaro un parametro ambientale in grado, singolarmente, di descrivere l'andamento di tutti i parassiti individuati nella colonia di stambecchi della Marmolada. Per descrivere in modo più completo la dinamica di tutti i parassiti considerati, sarebbe utile studiare i parametri climatici ed ambientali in relazione ai fattori legati all'ospite, come ad esempio l'età ed il sesso. Inoltre sarebbe utile svolgere un'indagine parassitologica anche su altri ruminanti selvatici, in particolar modo sul camoscio. In letteratura sono presenti studi che dimostrano la condivisione di parassiti tra lo stambecco ed il camoscio, la quale area di frequentazione, inoltre, è per la maggior parte sovrapponibile a quella dello stambecco stesso.

7 Bibliografía

- Alasaad, S., P. Morrondo, V. Dacal-Rivas, R. C. Soriguer, J. E. Granados, E. Serrano, X. Q. Zhu, L. Rossi and J. M. Pérez. 2009. Bronchopulmonary nematode infection of *Capra pyrenaica* in the Sierra Nevada massif, Spain. *Veterinary Parasitology* 164(2–4): 340-343.
- Arnett, E. B., L. R. Irby and J. G. Cook. 1993. Sex- and age-specific lungworm infection in Rocky Mountain bighorn sheep during winter. *Journal of Wildlife Diseases* 29(1): 90-93.
- Bashtar, A., M. Hassanein, F. Abdel-Ghaffar, K. Al-Rasheid, S. Hassan, H. Mehlhorn, M. AL-Mahdi, K. Morsy and A. Al-Ghamdi. 2011. Studies on monieziasis of sheep I. Prevalence and antihelminthic effects of some plant extracts, a light and electron microscopic study. *Parasitology Research* 108(1): 177-186.
- Body, G., H. Ferté, J. Gaillard, D. Delorme, F. Klein and E Gilot-Fromont. 2011. Population density and phenotypic attributes influence the level of nematode parasitism in roe deer. *Oecologia* 167(3): 635-646.
- Cabaret, J., N. Gasnier and P. Jacquet. 1998. Faecal egg counts are representative of digestive-tract strongyle worm burdens in sheep and goats. *Parasite (Paris, France)* 5(2): 137-142.
- Carlsson, A. M., R. J. Irvine, K. Wilson and S. J. Coulson. 2013. Adaptations to the Arctic: low-temperature development and cold tolerance in the free-living stages of a parasitic nematode from Svalbard. *Polar Biology* 36(7): 997-1005.
- Carlsson, A. M., R. Justin Irvine, K. Wilson, S. B. Piertney, O. Halvorsen, S. J. Coulson, A. Stien and S. D. Albon. 2012. Disease transmission in an extreme environment:

Nematode parasites infect reindeer during the Arctic winter. *International Journal for Parasitology* 42(8): 789-795.

Cassini, R., M. A. Párraga, M. Signorini, A. Frangipane di Regalbono, E. Sturaro, L. Rossi and M. Ramanzin. 2015. Lungworms in Alpine ibex (*Capra ibex*) in the eastern Alps, Italy: An ecological approach. *Veterinary Parasitology* 214(1–2): 132-138.

Cizauskas, C. A., W. C. Turner, N. Pitts and W. M. Getz. 2015. Seasonal patterns of hormones, macroparasites, and microparasites in wild African ungulates: the interplay among stress, reproduction, and disease. *PLoS one* 10(4): e0120800.

Diez-Baños, P., P. Morrondo-Pelayo, A. Feijoo-Penela, B. Carrillo-González and C. López-Sández. 1994. Relationship between the excretion of protostrongylid larvae in sheep in North-west Spain and climatic conditions. *Journal of Helminthology* 68(3): 197-201.

Duneau, D. and Ebert, D. 2012. Host Sexual Dimorphism and Parasite Adaptation. *PLoS Biology* 10(2): e1001271.

Foreyt B. 2001. *Veterinary Parasitology Reference Manual*. 5th ed. Iowa State University Press, Ames, Iowa: 88-89.

Georgiev, D. 2003. Land snails in the transmission of protostrongylids on pastures in Southern Bulgaria: Variability of infection levels related to environmental factors. *Acta Parasitologica* 48(3): 208-217.

Gwaze, F. R., M. Chimonyo and K. Dzama. 2009. Prevalence and loads of gastrointestinal parasites of goats in the communal areas of the Eastern Cape Province of South Africa. *Small Ruminant Research* 84(1): 132-134.

Jenkins, E. J., A. M. Veitch, S. J. Kutz, E. P. Hoberg and L. Polley. 2006. Climate change and the epidemiology of protostrongylid nematodes in northern ecosystems:

Parelaphostrongylus odocoilei and *Protostrongylus stilesi* in Dall's sheep (*Ovis d. dalli*).

Parasitology 132(3): 387-401.

Knapp-Lawitzke, F., G. von Samson-Himmelstjerna and J. Demeler. 2016. Elevated temperatures and long drought periods have a negative impact on survival and fitness of strongylid third stage larvae. *International Journal for Parasitology* 46(4): 229-237.

Kumba, F. F., H. Katjivena, G. Kauta and E. Lutaaya. 2003. Seasonal evolution of faecal egg output by gastrointestinal worms in goats on communal farms in eastern Namibia.

Onderstepoort J Vet Res 70(4): 265-271.

Lanfranchi, P. 1993. Patrimonio zootecnico e faunistico: Interazioni sanitarie e relative implicazioni gestionali. *Atti Societa Italiana Di Buiatria*, 25, 147-155.

Lassen, B., T. Lepik and B. Bangoura. 2013. Persistence of *Eimeria bovis* in soil.

Parasitology Research 112(7): 2481-2486.

Lassen, B., T. Lepik and T. Järvis. 2014. Seasonal recovery of *Eimeria* oocysts from soil on naturally contaminated pastures. *Parasitology Research* 113(3): 993-999.

Leathwick, D. M. 2013. The influence of temperature on the development and survival of the pre-infective free-living stages of nematode parasites of sheep. *New Zealand*

Veterinary Journal 61(1): 32-40.

Manfredi M.T., E. Zaffaroni, C. Fraquelli e A. Bonicalzi. 1996. Diffusione del parassitismo broncopolmonare nello Stambecco (*Capra i. ibex*) del Piz Albris. *Ricerche di biologia della selvaggina*. Supplemento 24: 97-104

- Marreros, N., C. F. Frey, C. S. Willis, C. Signer and M. Ryser-Degiorgis. 2012. Coprological analyses on apparently healthy Alpine ibex (*Capra ibex ibex*) from two Swiss colonies. *Veterinary Parasitology* 186(3-4): 382-389.
- McCraw, B. M., and P. I. Menzies. 1988. *Muellerius capillaris*: Resumption of Shedding Larvae in Feces Following Anthelmintic Treatment and Prevalence in Housed Goats. *The Canadian Veterinary Journal* 1(3): 217-222.
- Menzano, A., L. Rambozzi and L. Rossi. 2007. A severe episode of wildlife-derived scabies in domestic goats in Italy. *Small Ruminant Research* 70(2): 154-158.
- Meradi, S., B. Bentounsi, I. Zouyed and J. Cabaret. 2011. The steppe species of gastrointestinal nematodes of small ruminants, with a focus on *Marshallagia*: climate as a key determinant. *Parasite (Paris, France)* 18(3): 261-269.
- Milner, J. M., S. J. Wedul, S. Laaksonen and A. Oksanen. 2013. Gastrointestinal nematodes of moose (*Alces alces*) in relation to supplementary feeding. *Journal of wildlife diseases* 49(1): 69-79.
- Mustoni, A., L. Pedrotti, E. Zanon and G. Tosi. (2002). *Ungulati delle Alpi, biologia, riconoscimento e gestione*. Edizione Nitida Immagine, Cles (TN).
- Panuska, C. 2006. Lungworms of Ruminants. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 22(3): 583-593.
- Rinaldi, L., V. Veneziano, M. E. Morgoglione, S. Pennacchio, M. Santaniello, M. Schioppi, V. Musella, V. Fedele and G. Cringoli. 2009. Is gastrointestinal strongyle faecal egg count influenced by hour of sample collection and worm burden in goats? *Veterinary Parasitology* 163(1): 81-86.

- Rose, H., T. Wang, J. van Dijk and E. R. Morgan. 2015. GLOWORM-FL: A simulation model of the effects of climate and climate change on the free-living stages of gastrointestinal nematode parasites of ruminants. *Ecological Modelling* 297232-245.
- Ruiz, A., J. F. González, E. Rodríguez, S. Martín, Y. I. Hernández, R. Almeida and J. M. Molina. 2006. Influence of Climatic and Management Factors on Eimeria Infections in Goats from Semi-arid Zones. *Journal of Veterinary Medicine* 53(8): 399-402.
- Scillitani, L. 2011. Ecology of Alpine ibex (*Capra ibex ibex*, Linnaeus 1758) in relation to management actions in the Marmolada massif, Italy.
- Scillitani, L., G. Darmon, A. Monaco, G. Cocca, E. Sturaro, L. Rossi and M. Ramanzin. 2013. Habitat Selection in Translocated Gregarious Ungulate Species: An Interplay Between Sociality and Ecological Requirements. *The Journal of Wildlife Management* 77(4): 761-769.
- Sissay, M., A. Ugula and P. Waller. 2008. Prevalence and seasonal incidence of larval and adult cestode infections of sheep and goats in eastern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production* 40(6): 387-394.
- Solomon, A., I. Paperna and A. Markovics. 1996. The influence of aestivation in land snails on the larval development of *Muellerius cf. capillaris* (Metastrongyloidea: Protostrongylidae). *International Journal for Parasitology* 26(4): 363-367.
- Solomon, A., I. Paperna, I. Glazer and P. U. Alkon. 1997. Migratory behaviour and desiccation tolerance of protostrongylid nematode first-stage larvae. *International Journal for Parasitology* 27(12): 1517-1522.

- Svensson, C. 1997. The survival and transmission of oocysts of *Eimeria alabamensis* in hay. *Veterinary Parasitology* 69(3): 211-218.
- Taylor M.A., Coop R.L., Wall R.L. 2010. *Parassitologia e Malattie parassitarie degli animali*. EMSI. Traduzione ad opera di Garippa G., Manfredi M.T., Otranto D.
- Turner, W. C. and W. M. Getz. 2010. Seasonal and demographic factors influencing gastrointestinal parasitism in ungulates of Etosha National Park. *Journal of wildlife diseases* 46(4): 1108-1119.
- Turner, W. C., W. D. Versfeld, J. W. Kilian and W. M. Getz. 2012. Synergistic effects of seasonal rainfall, parasites and demography on fluctuations in springbok body condition. *Journal of Animal Ecology* 81(1): 58-69.
- Vadlejch, J., R. Kotrba, Z. Čadková, A. Růžičková and I. Langrová. 2015. Effects of age, sex, lactation and social dominance on faecal egg count patterns of gastrointestinal nematodes in farmed eland (*Taurotragus oryx*). *Preventive veterinary medicine* 121(3-4): 265.
- Van Wyk J.A., Cabaret J., and Michael L.M. 2004. Morphological identification of nematode larvae of small ruminants and cattle simplified. *Veterinary Parasitology*, 199: 277-306
- Walker, L. R., D. C. Simcock, J. D. Neale, H. V. Simpson and S. Brown. 2007. Thermotolerance of L3 *Ostertagia* (*Teladorsagia*) *circumcincta* and some of its enzymes. *Veterinary parasitology* 146(1-2): 77-82.
- Zaffaroni, E. 1999. Effect of seasonality on abomasal helminth community in alpine ibex (*Capra ibex ibex*). *Parassitologia* 41(4): 567.

Zaffaroni, E., M. T. Manfredi and P. Lanfranchi. 2003. Specie-specificità dei nematodi abomasali in ruminanti selvatici alpini. *Journal of Mountain Ecology* 7(0): .

Zaffaroni, E., M. Teresa Manfredi, C. Citterio, M. Sala, G. Piccolo and P. Lanfranchi. 2000. Host specificity of abomasal nematodes in free ranging alpine ruminants. *Veterinary Parasitology* 90(3): 221-230.

Zajac, A. M. 2006. Gastrointestinal Nematodes of Small Ruminants: Life Cycle, Anthelmintics, and Diagnosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 22(3): 529-541.

8 Sitografia

http://www.arpa.veneto.it/previsioni/it/html/meteo_veneto.php

<https://modis-land.gsfc.nasa.gov/vi.html>

9 Ringraziamenti

Innanzitutto voglio ringraziare il dott. Rudi Cassini, per essere stato un relatore sempre presente e disponibile e per avermi seguito con pazienza e costanza in questi anni.

Un enorme ringraziamento va ai miei genitori, che mi hanno sempre sostenuto lungo tutto questo mio percorso di studi, incoraggiandomi nei momenti di difficoltà ed incitandomi a seguire questa mia passione.

Ringrazio la dott.ssa Paola Semenzato, per tutto ciò che mi ha insegnato e per avermi accompagnato nelle lunghe e faticose giornate passate ad inseguire gli stambecchi.

Ringrazio mia sorella e suo marito, per avermi sempre ricordato, con simpatia ed allegria, che le esperienze valgono più di molti libri.

Un grande ringraziamento va alla mia ragazza, per avermi sempre sostenuto con entusiasmo, per l'aiuto ed i consigli che mi ha dato e per essermi sempre stata vicina.

Ringrazio tutto il gruppo di parassitologia dell'Università di Padova per la disponibilità e la simpatia. Ringrazio in particolar modo Cinzia Tessarin per aver reso piacevoli le giornate in laboratorio e per aver dimostrato che serietà professionale ed allegria possono coesistere nell'ambiente di lavoro.

Un enorme ringraziamento va ai miei amici di università, che hanno fatto di questi cinque anni un'avventura indimenticabile.

Un altro enorme ringraziamento va alle mie coinquiline, per avermi sopportato in questi anni di convivenza, per essere diventate la mia seconda famiglia e per avermi sempre fatto sentire a casa.

Ringrazio i miei amici di vecchia data che mi sono stati vicini e che mi hanno sempre sostenuto.

Un ultimo ma non meno importante ringraziamento, va al professor Maurizio Ramanzin, grazie al quale è stato possibile studiare la colonia di stambecchi della Marmolada.

Grazie a tutti coloro che mi hanno accompagnato in questa avventura!

