

Verso un piano nazionale di monitoraggio del lupo
Roma, 3-4 Dicembre 2018



IL MONITORAGGIO MOLECOLARE

DELLE DINAMICHE DI POPOLAZIONE E DELL'IBRIDAZIONE
DEL LUPO IN ITALIA

Relatore: Romolo Caniglia

Caniglia R.

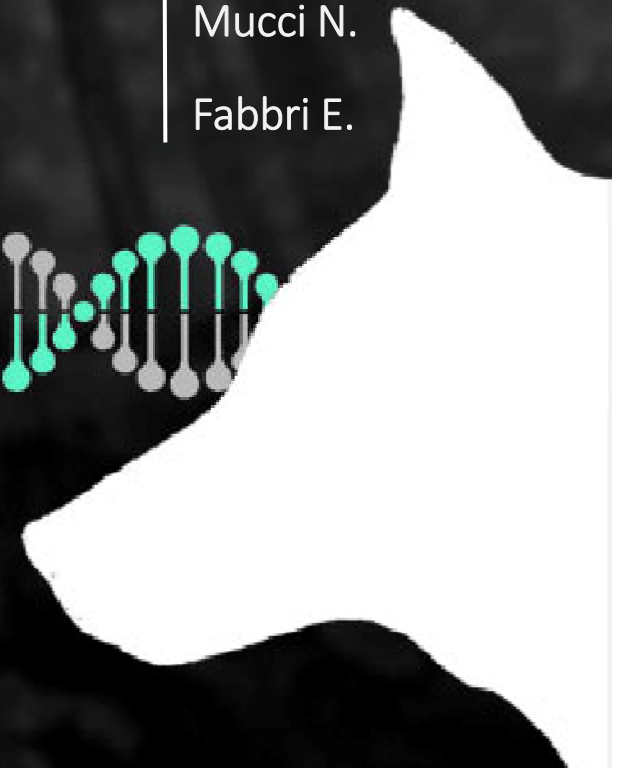
Velli E.

Mattucci F.

Galaverni M.

Mucci N.

Fabrizi E.



Area per la Genetica della Conservazione BIO-CGE, ISPRA,
Ozzano dell'Emilia, Bologna, Italy



INTRODUZIONE: I CAMPIONI



INVASIVI

- Pochi campioni
- Dati morfologici
- DNA di buona qualità
- Più marcatori molecolari
- Buon potere diagnostico



NON-INVASIVI

- Tanti campioni
- No disturbo per l'animale
- DNA di scarsa qualità
- Pochi marcatori molecolari
- Minor potere diagnostico





METODI



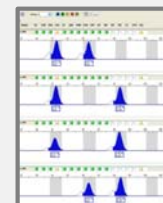
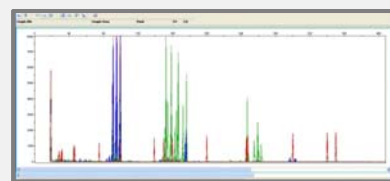
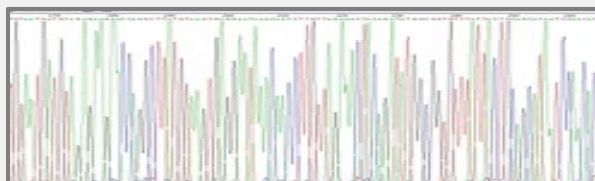
RACCOLTA, CONSERVAZIONE, DATABASE



ESTRAZIONE E AMPLIFICAZIONE DEL DNA



ANALISI DEL DATO





METODI

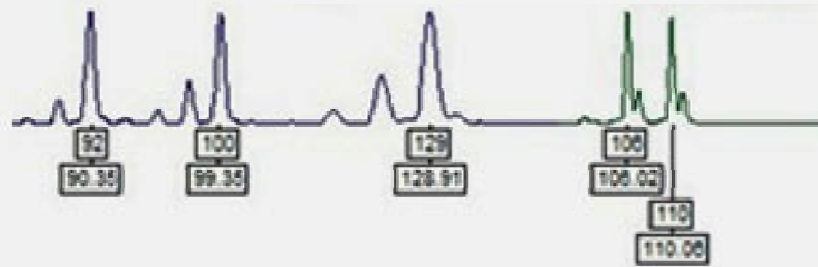


CAMPIONE

PROFILO GENETICO

INDIVIDUO

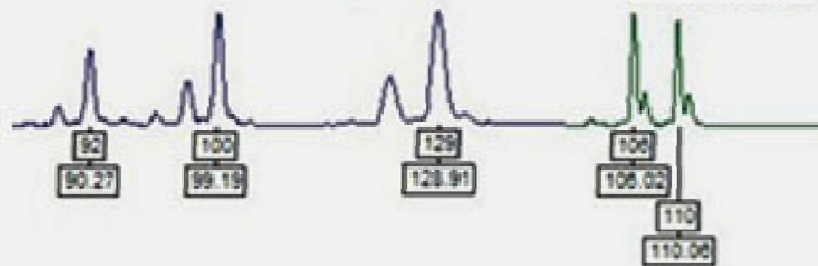
■ W1803



M1



■ W1804



M1



■ W1805



F2



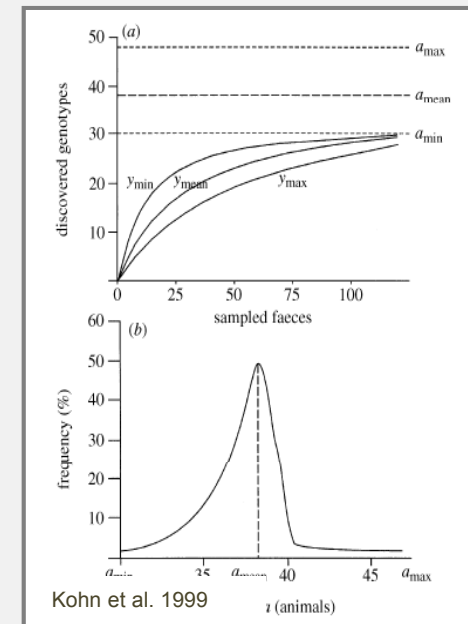
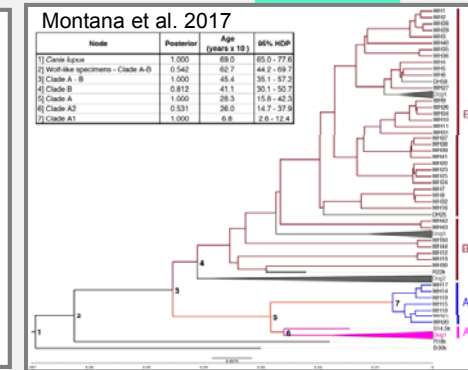
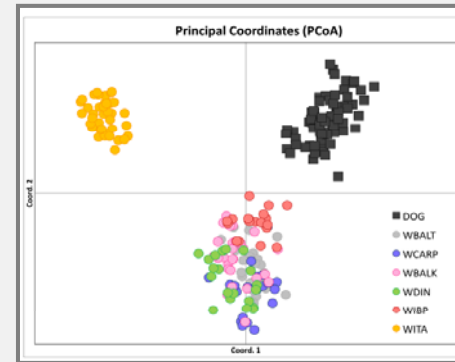


RISULTATI



SOLO DATO GENETICO

- **Analisi della variabilità genetica**
- **Numero minimo di individui presenti**
- **Casi di bracconaggio**
- **Origine degli individui**
- **Analisi dell'ibridazione**



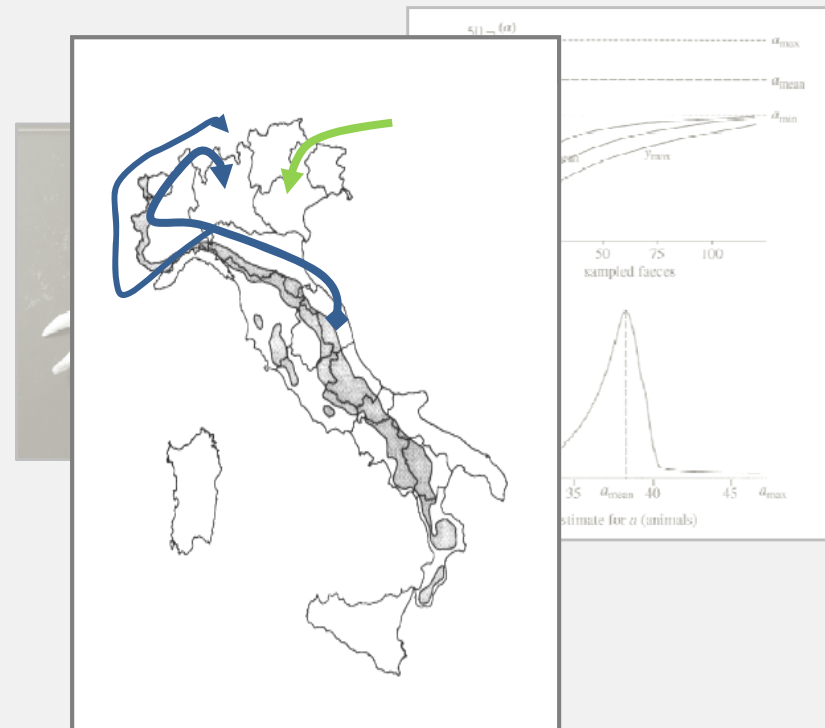
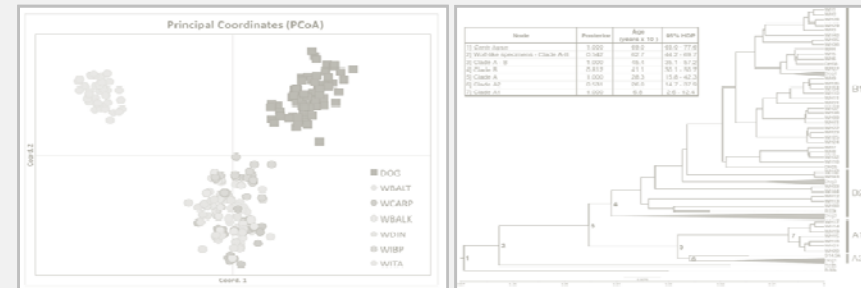


RISULTATI



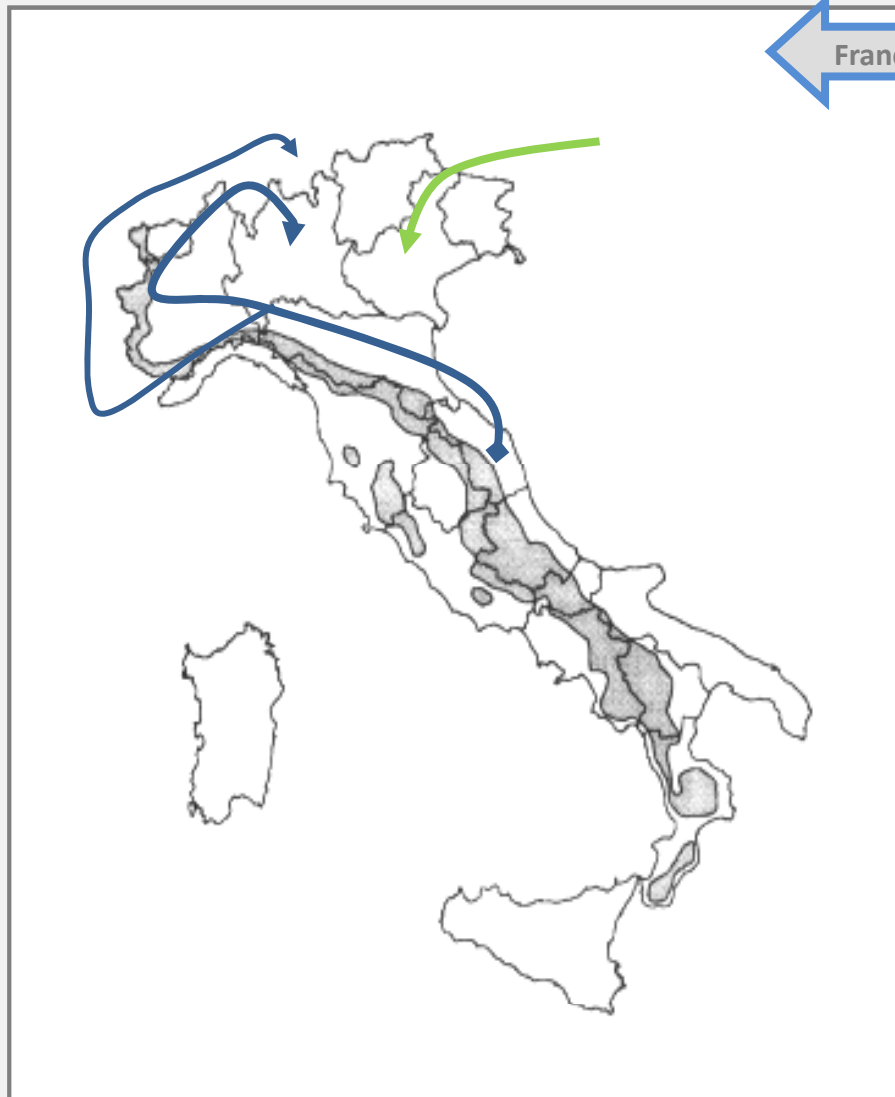
SOLO DATO GENETICO

- **Analisi della variabilità genetica**
- **Numero minimo di individui presenti**
- **Casi di bracconaggio**
- **Origine degli individui**
- **Analisi dell'ibridazione**





ORIGINE GEOGRAFICA INDIVIDUI

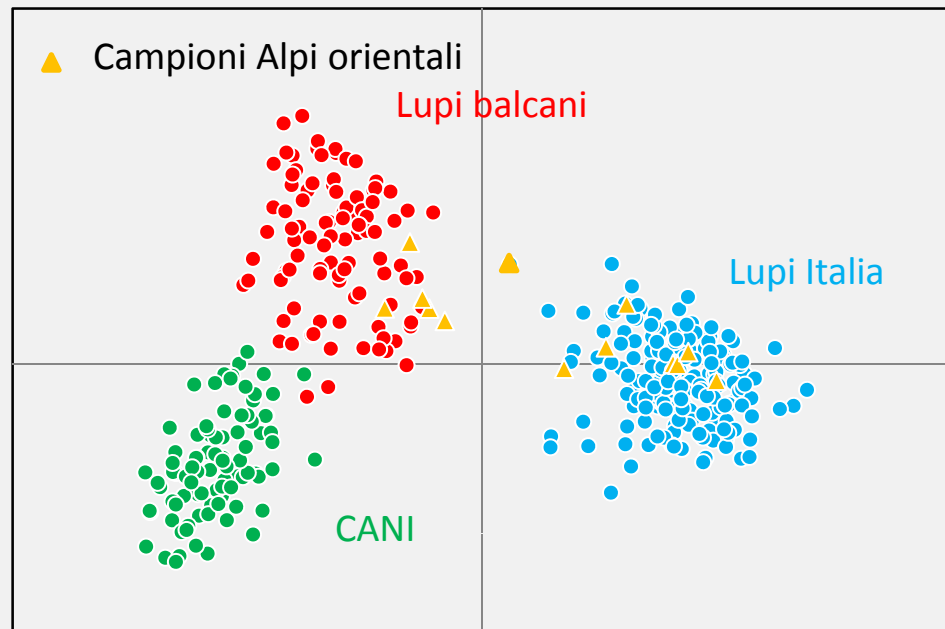
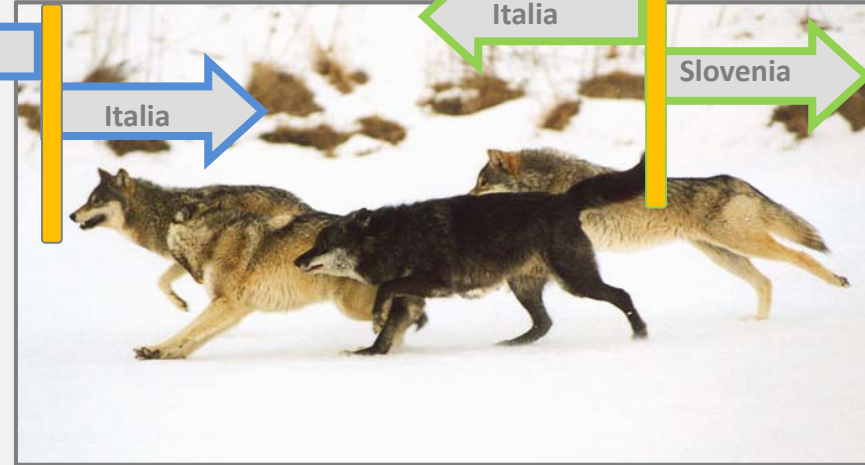


Francia

Italia

Italia

Slovenia



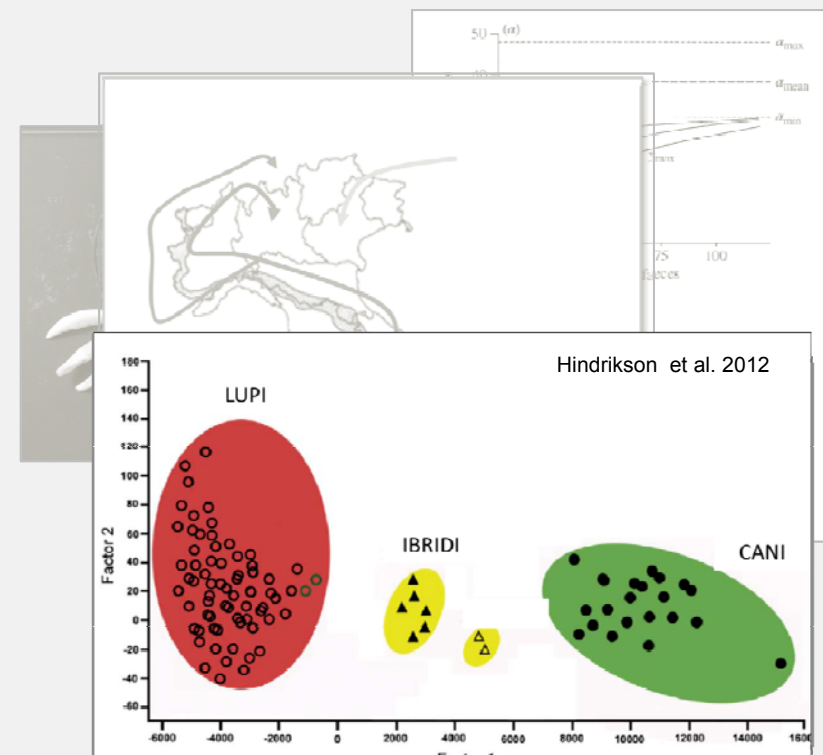
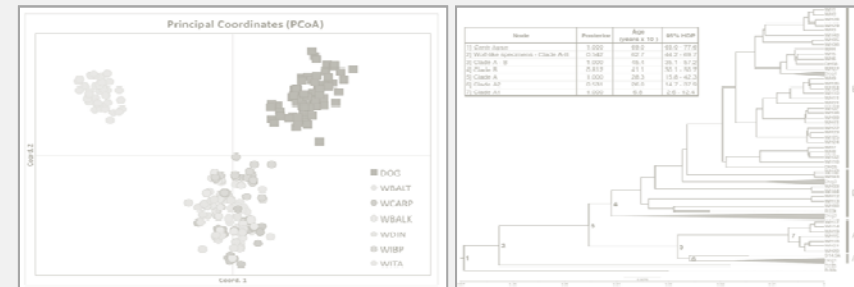


RISULTATI



SOLO DATO GENETICO

- **Analisi della variabilità genetica**
- **Numero minimo di individui presenti**
- **Casi di bracconaggio**
- **Origine degli individui**
- **Analisi dell'ibridazione**

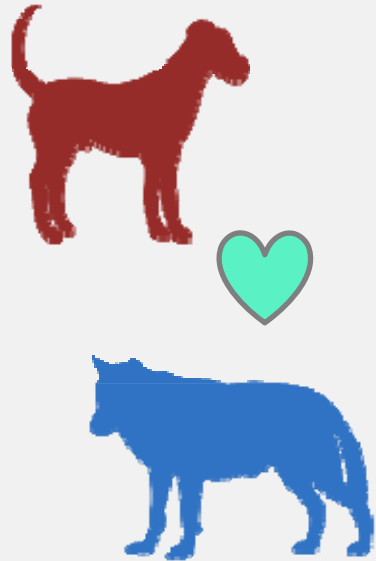




IBRIDAZIONE: DEFINIZIONI



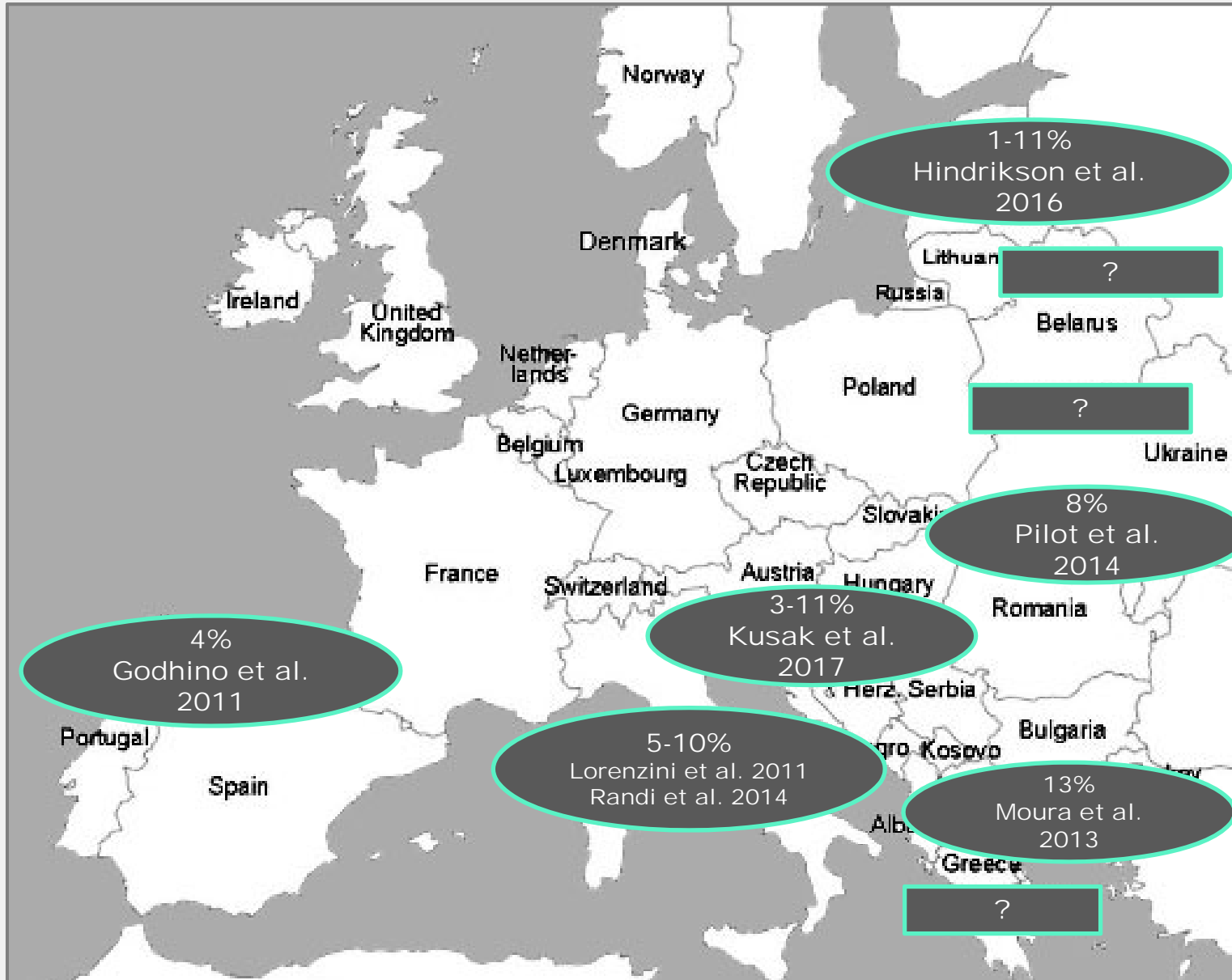
0.1% di differenza



F1		50% lupo-50% cane	} Reincroci con il lupo
BC1		75% lupo-25% cane	
BC2		87.5% lupo-12.5% cane	
BC3		93.8% lupo-6.2% cane	
BC4		96.9% lupo-3.1% cane	



IBRIDAZIONE: DISTRIBUZIONE





IBRIDAZIONE: METODO



WORK-FLOW STANDARDIZZATO

Popolazioni di riferimento



Rappresentative della variabilità genetica



Assegnazione Bayesiana



Utilizzando software affidabili e stabili
(PARALLEL STRUCTURE)



Applicazione di soglie definite matematicamente



Valori di assegnazione q_{wolf} che stabiliscano:

- Individui puri
- Individui con tracce di introgressione
- Individui ibridi



Quantificazione dell'errore

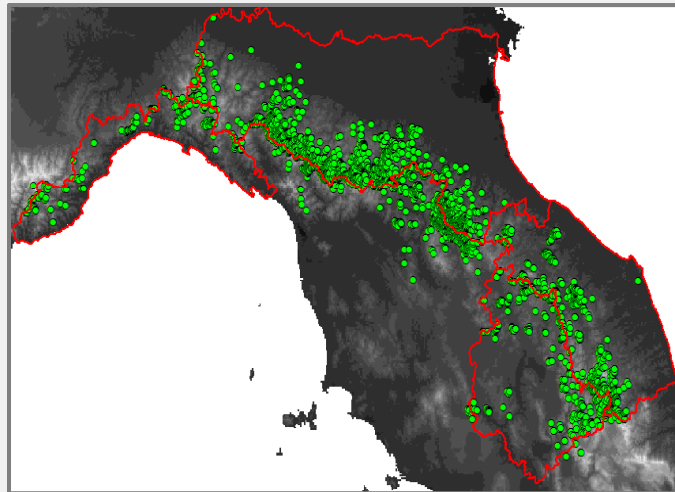
NON E' UNA STIMA!



APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE



CAMPIONAMENTO E DATI DI MONITORAGGIO





CAMPIONAMENTO E DATI DI MONITORAGGIO

- **Stime di abbondanza**
- Identificazione dei branchi
- Dinamiche dei branchi
- Predazioni ed analisi del rischio
- Monitoraggio dell'ibridazione

•Di ottenere Stime di abbondanza utilizzando i genotipi come dati CMR.



STIME DI ABBONDANZA



Area di studio: crinale appenninico Tosco-Emiliano

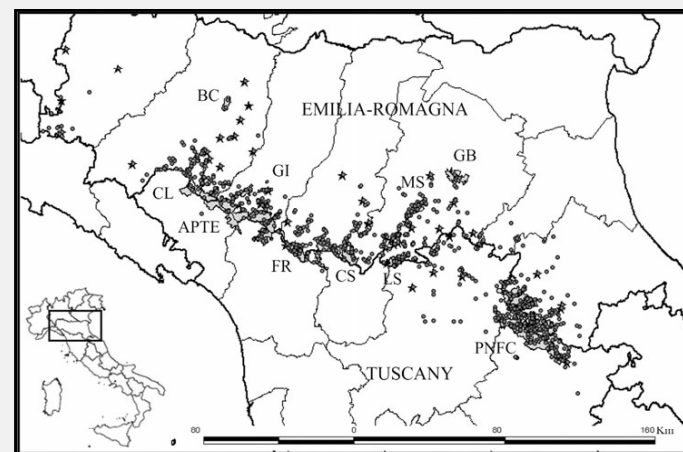
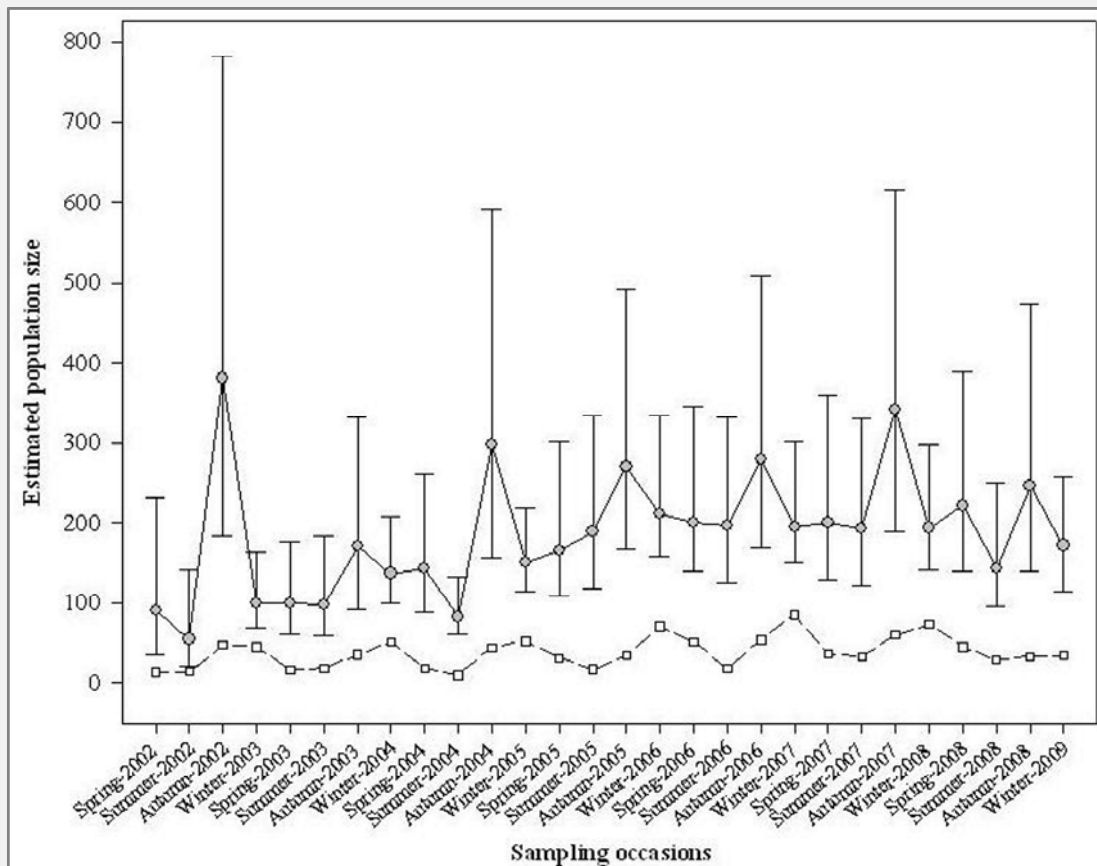
Anni: 2002-2009

Metodo: modelli multi-event e multi-state, CMR

187 lupi
(95%CI:116 - 334)

117 (95%CI: 70 - 214) nel 2003

233 (95%CI: 148 - 402) nel 2007



Caniglia et al. 2012



CAMPIONAMENTO E DATI DI MONITORAGGIO

- **Stime di abbondanza**
- **Identificazione dei branchi**
- **Dinamiche dei branchi**
- **Predazioni ed analisi del rischio**
- **Monitoraggio dell'ibridazione**

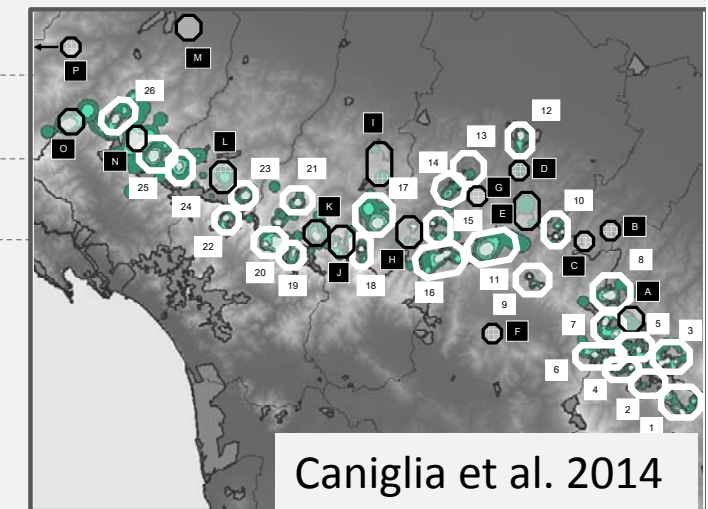
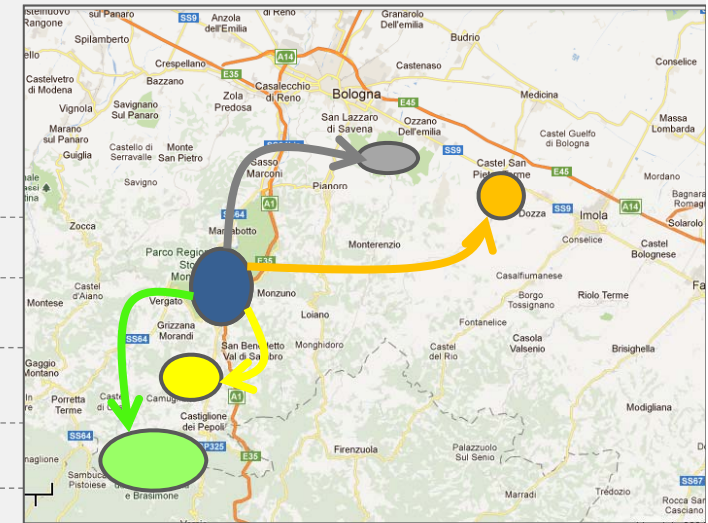
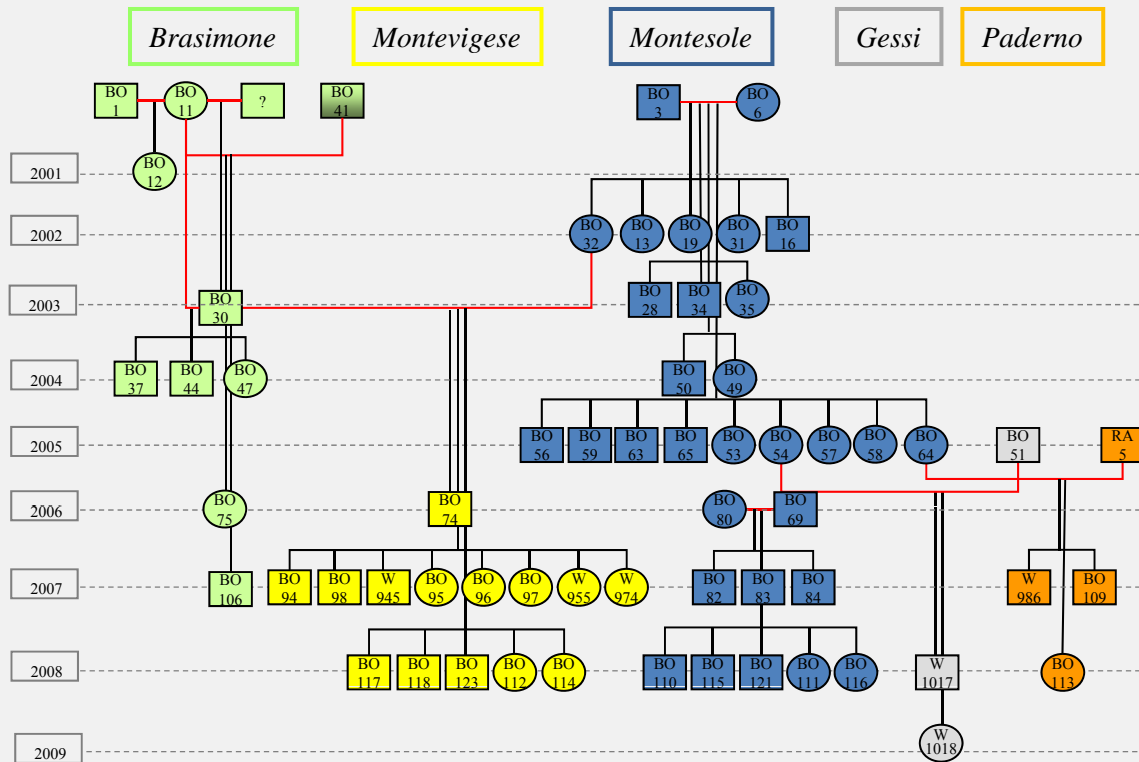




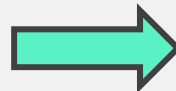
BRANCHI, DINAMICA



Campionamento dal 2002 al 2018



12200 campioni non-invasivi
 1430 campioni invasivi
 2057 individui



70 branchi



CAMPIONAMENTO E DATI DI MONITORAGGIO

- **Stime di abbondanza**
- **Identificazione dei branchi**
- **Dinamiche dei branchi**
- **Predazioni ed analisi del rischio**
- **Monitoraggio dell'ibridazione**

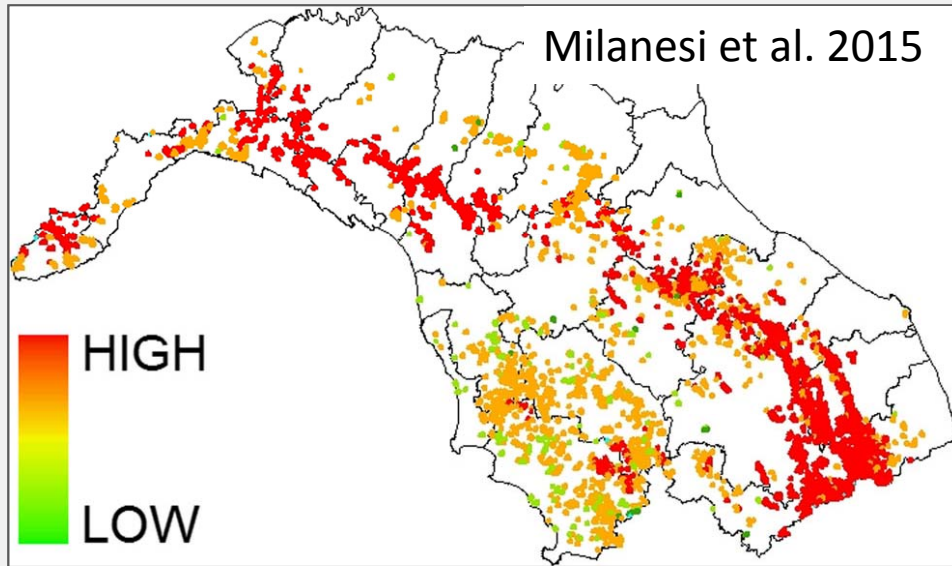




PREDAZIONI

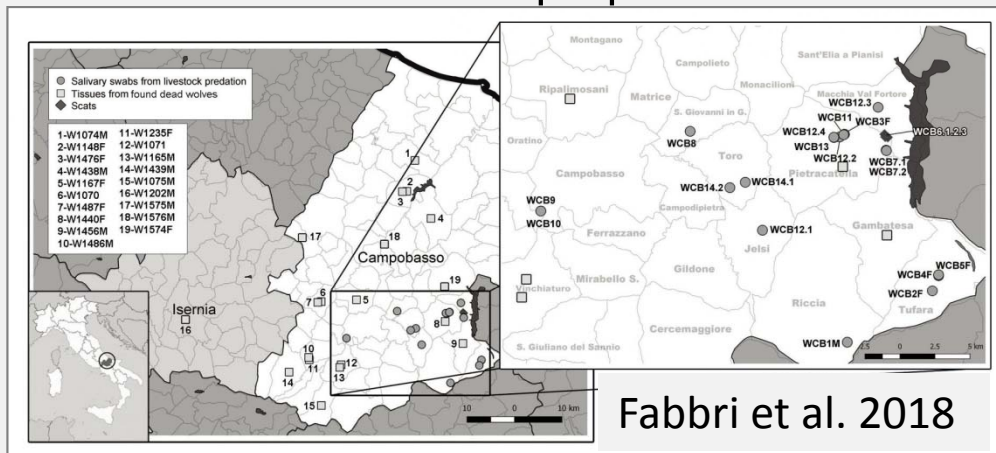


Mappe del rischio



Identificare il predatore
dinamiche di predazione

Monitorare la popolazione





CAMPIONAMENTO E DATI DI MONITORAGGIO

- **Stime di abbondanza**
- **Identificazione dei branchi**
- **Dinamiche dei branchi**
- **Predazioni ed analisi del rischio**
- **Monitoraggio dell'ibridazione**

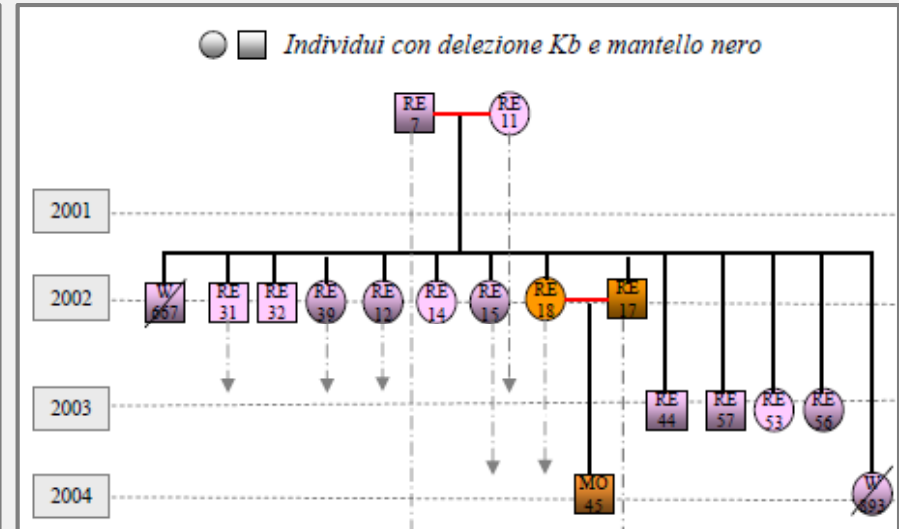
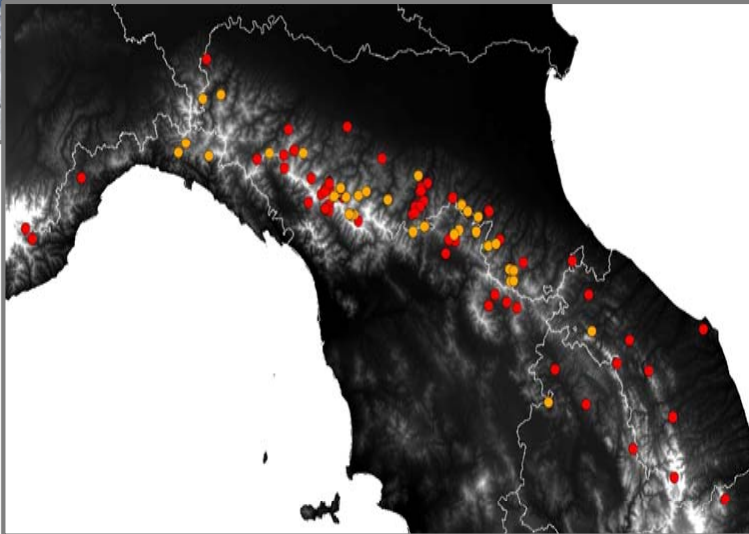




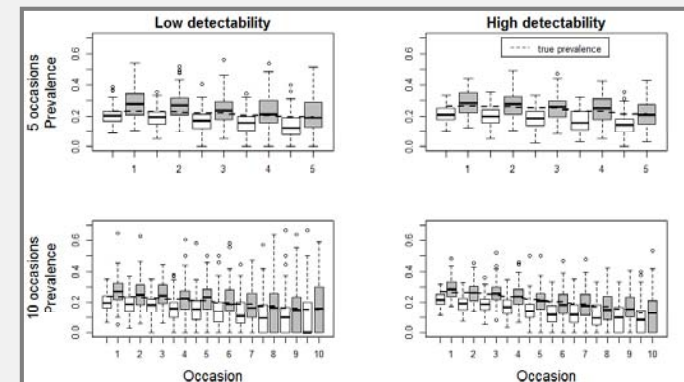
MONITORARE L'IBRIDAZIONE



Area di studio: crinale Appenninico - Anni: 2002-2018
1901 individui (campioni non-invasivi e invasivi 12-39L)



- 12.1% ibridi recenti → 11 branchi (23.3%)
- 9.9% ibridi antichi → 14 branchi (20.7%)
- 5.7% individui neri → 11 branchi
- 6.1% individui Y → 5 branchi



Stime di prevalenza (Santostasi et al. 2018)



COSA SERVE



AFFIDABILITA'

- Protocolli standardizzati
- S.G.Q.
- Automatizzazione
- Stima affidabilità

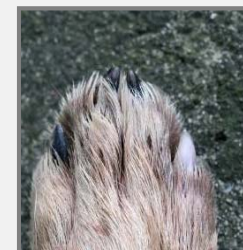


BIO-BANCA DEL DNA: POPOLAZIONI DI RIFERIMENTO

- ITALIA: 3118 individui (lupi, cani, ibridi, reincroci, invasivi, non-invasivi)
- EUROPA E NORD-AMERICA: 612 individui (HR, SLO, FR, CH, GR, BG, CZ, SK, LT, E, EW, USA)

MARCATORI GENETICI ADEGUATI ED INFORMATIVI

- Neutrali variabili (PID)
- Uniparentali
- Codificanti (KB)





DALLA GENETICA ALLA GENOMICA



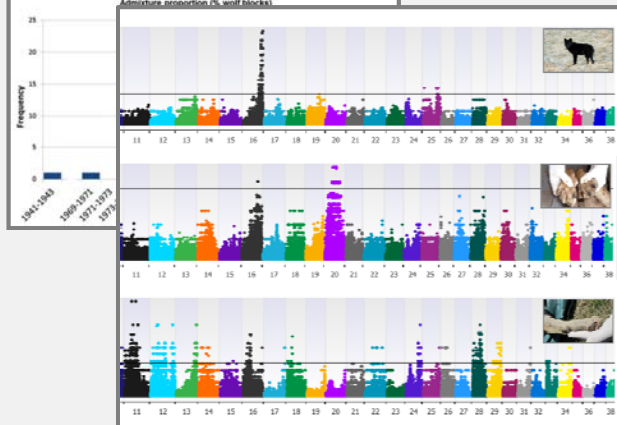
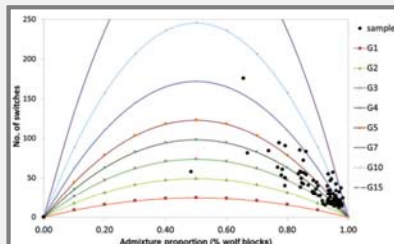
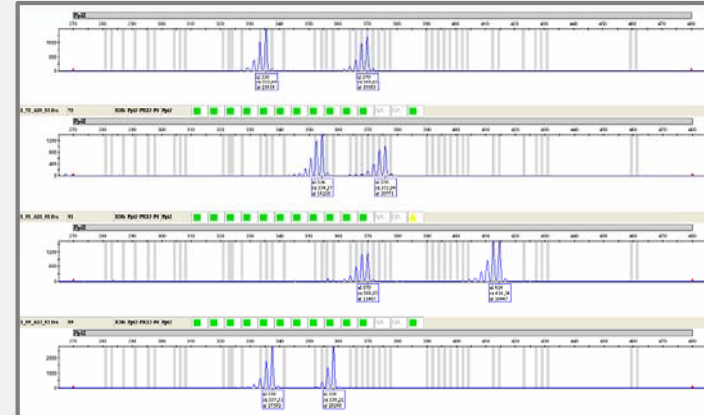
GENETICA:



Decine di siti: 10-40
Minor potere diagnostico
Poche generazioni nel passato



Anche DNA non-invasivo



GENOMICA:



Da tutto il genoma a migliaia di siti: 100-170000
Maggior potere diagnostico
Molte generazioni nel passato
Geni associati a comportamento, morfologia, ecc.



Necessita DNA di buona qualità...ma non solo



CONCLUSIONI

... VERSO UN PIANO NAZIONALE DI MONITORAGGIO DEL LUPO ... Collaborazione e Condivisione

- Network di laboratori
- Protocollo di lavoro ISPRA
- Analisi ibridazione: ISPRA (popolazioni di riferimento fisse)
- Banca dati dei genotipi on-line

- Gruppo di lavoro permanente
- Schema di campionamento comune
- Condivisione dei risultati
- Integrazione dei database tra gruppi di ricerca



RINGRAZIAMENTI

E. Randi, P. Genovesi, M. Apollonio, W. Reggioni, P. Milanese, M. Scandura, P. Ciucci, L. Boitani, A. Meriggi, L. Montana, A. Canu, L. Mattioli, C. Greco, F. Marucco, G. Canavese, R. Fico, N. Cappai, C. Pedrazzoli, M. Mencucci, L. Molinari, R. Berti, E. Berti, M. Canestrini, M. Andreani, F. Moretti, D. Berzi, M. Delogu, C. Musto, A. De Faveri, C. Zabaglia, U. Sergiacomi, A. Frassanito, A. Siclari, A. Sangiuliano, F. Striglioni, N. Riganelli, R. Fabbri, A. Iannibelli, D. Palumbo, R. Fontana, M. Rizzoli, A. Lanzi, F. Rigotto, D. Pagliai, L. Rigacci, M. Colombari, D. Martelli, A. Bortolini, G. Paladini, M. Fabbri, C. Monti, M.L. Zanni, CRAS, IZS, Corpo Carabinieri Forestali, MATTM, ...

... tutti coloro i quali in questi anni hanno collaborato e conferito campioni ad ISPRA



GRAZIE PER
L'ATTENZIONE

