

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI URBINO CARLO BO'

Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente

XXVIII Ciclo dei Corsi di Dottorato di Ricerca
Meccanismi di Regolazione Cellulare: Aspetti Morfo-Funzionali
ed Evolutivi
Settore Scientifico Disciplinare BIO/05

**Il sistema di relazioni morfoadattative del gruppo
Myotis myotis/M. blythii/M. punicus
nel Bacino del Mediterraneo**

Il Dottorando
Dott.ssa Pamela Priori

Il Co-tutor
Dott. Dino Scaravelli

Il Tutor
Dott.ssa Loretta Guidi

**Anno Accademico
2014/2015**

A Dino

INDICE

1. INTRODUZIONE.....	3
2. LE SPECIE OGGETTO DI INDAGINE.....	6
2.1. I Chiroteri.....	6
2.1.1. Anatomia.....	10
2.1.2. Riproduzione.....	12
2.1.3. L'ibernazione.....	14
2.1.4. I rifugi.....	16
2.1.5. Migrazioni e spostamenti.....	19
2.1.6. Alimentazione.....	19
2.1.7. Ecolocalizzazione.....	20
2.1.8. Il volo: morfologia alare.....	21
2.1.9. Adattamento ecologico.....	23
2.2. La famiglia Vespertilionidae.....	24
2.2.1. Distribuzione geografica e habitat.....	24
2.3. Il genere <i>Myotis</i> e il gruppo dei “grandi <i>Myotis</i> ”.....	26
2.3.1. <i>Myotis myotis</i> (Borkhausen, 1797), il Vespertilio maggiore.....	28
2.3.2. <i>Myotis blythii</i> (Tomes, 1957), il Vespertilio minore o di Blyth.....	31
2.3.3. <i>Myotis punicus</i> (Felten, 1977), il Vespertilio magrebino.....	33
2.3.4. Sistematica e zoogeografia.....	35
3. LA BIOACUSTICA NEI CHIROTTERI.....	40
3.1. Struttura dei sonogrammi e loro funzione nell'ecolocalizzazione dei Chiroteri.....	41
3.1.1. Struttura e analisi dei sonogrammi.....	43
3.1.2. Le diverse scelte evolutive.....	51
3.2. Ecolocalizzazione del gruppo dei grandi <i>Myotis</i>	52
4. GLI ECTOPARASSITI DEI CHIROTTERI.....	64
4.1. I Principali gruppi di ectoparassiti dei Chiroteri italiani.....	66
4.1.1. <i>Nycteribidae</i> (Insecta, Diptera).....	66

4.1.2. <i>Streblidae (Insecta, Diptera)</i>	67
4.1.3. <i>Ischnopsyllidae (Insecta, Siphonaptera)</i>	68
4.1.4. <i>Cimicidae (Insecta, Rynchota, Heteroptera)</i>	69
4.1.5. <i>Ixodidae e Argasidae (Acarina, Ixodida)</i>	71
4.1.6. <i>Spinturnicidae (Acarina, Mesostigmata)</i>	72
4.2. Specificità dell'ospite e fattori che influenzano la presenza degli ectoparassiti nei Chiroterri.....	74
5. MATERIALI E METODI.....	77
5.1. Area di studio e valutazione dei siti di cattura.....	77
5.2. Cattura delle specie oggetto di studio.....	87
5.2.1. Osservazioni e misurazioni morfometriche.....	89
5.3. Campionamento ectoparassiti.....	90
5.3.1. Determinazione e classificazione dei parassiti.....	91
5.4. Campionamento ultrasuoni.....	92
5.4.1. Analisi dei segnali e compilazione database.....	93
6. RISULTATI.....	96
6.1. Campionamento e identificazione delle specie.....	97
6.2. Analisi dei sonogrammi.....	109
6.3. Identificazione dei parassiti.....	131
7. DISCUSSIONE.....	140
7.1. Aspetti bioacustici.....	140
7.2. Aspetti parassitologici.....	144
8. RINGRAZIAMENTI.....	154
9. BIBLIOGRAFIA.....	155

1. INTRODUZIONE

Le specie di Chiroteri oggi conosciute sono oltre il 20% di tutti i Mammiferi e la loro capacità di volare, di ecolocalizzare, di adattarsi fisiologicamente al mutare delle stagioni e le tantissime particolarità evolutive ne fanno un gruppo che suscita grande curiosità, ma ancora poco studiato. La loro complessa storia evolutiva e i loro peculiari comportamenti sono così complessi da rendere difficile comprenderne le regole generali. Numerose discussioni in ambito scientifico sono in atto per spiegare i processi evolutivi che hanno forgiato l'attuale stato dell'Ordine dei Chiroteri.

Un ordine antico presente fin dall'Eocene (Figura 1) che possiede una grande diversità, in gran parte non esplorata, spesso tristemente in pericolo per le forti pressioni antropiche che rendono molte delle specie a rischio di conservazione per i cambiamenti strutturali degli ecosistemi, l'inquinamento che si accumula nelle prede o negli ambienti frequentati, il disturbo ai luoghi di rifugio e, non ultimo, anche le persecuzioni dirette. Sono infatti tra i mammiferi meno graditi e i secoli di bugie, credenze e superstizioni influiscono ancora negativamente sull'*appeal* del gruppo nei confronti del grande pubblico.

Oggi l'IUCN lista 26 specie come *Critically Endangered*, 51 come *Endangered* e 954 come *Vulnerable*. Inoltre ben 203 specie sono designate come *Data Deficient*, a riprova di quante poche informazioni siano disponibili su un gran numero di *taxa*. Il basso tasso riproduttivo e i lunghi tempi di ricambio generazionale, inoltre, rendono difficile il recupero delle perdite e troppo spesso ci si è accorti del declino di alcune specie quando era troppo tardi per intervenire (IUCN, 2001).

L'Italia ha un patrimonio di diversità, relativa a questo gruppo, molto ricco con almeno 35 specie presenti (Lanza, 2012). Molto interessante è l'aspetto biogeografico dell'Italia; la sua posizione mediana nel Mediterraneo rende infatti la Penisola e le isole maggiori un pezzo fondamentale del puzzle biologico, rappresentato dal bacino Mediterraneo, con una flora e una fauna frutto degli eventi che hanno portato questo pezzo di mare ad essere racchiuso tra Europa e Africa.

La sistematica e il differenziamento delle specie europee è ancora oggetto di notevole dibattito e, recentemente, sono apparsi da indagare nuovi aspetti di diversità criptica in diverse aree (ad es. Hulva *et al.*, 2004; Ibáñez *et al.*, 2006; Ulrich *et al.*, 2007; Puechmaille *et al.*, 2014).

Tra i gruppi di maggiore interesse si posizionano i *taxa* di specie gemelle che si differenziano per caratteristiche ecologiche, genetiche o comportamentali ma che sono morfologicamente simili. Questi eventi di speciazione sono stati prodotti dal concorrere di diverse spinte

evolutive sui *taxa* ancestrali, i quali, in alcuni casi, hanno occupato ambiti territoriali diversi che si sono poi ricongiunti a seguito dei cambiamenti tettonici e bioclimatici avvenuti con il passare delle ere. Il quadro che oggi noi analizziamo è quindi spesso derivante dal concorrere di tutti questi diversi fattori, così come dalle modificazioni del paesaggio avvenute in tempi recenti ad opera dell'uomo, rendendo ulteriormente complesse le interpretazioni delle nicchie realizzate dalle specie coinvolte.



Figura 1. *Icaronycteris index* (Simmons e Geisler, 1998), circa 50 milioni di anni, Nord America. Unico genere di pipistrelli della famiglia degli Icaronitteridi vissuto durante l'Eocene negli Stati Uniti d'America, in Europa e in India, probabilmente tra i primi microchiroteri apparsi sul pianeta.

Tra gli aspetti di particolare interesse, che i Chiroteri hanno mostrato negli ultimi anni grazie all'avvento di specifiche tecnologie di indagine, troviamo l'uso dei suoni. L'ampia gamma di suoni e ultrasuoni utilizzati nella comunicazione intra e interspecifica, ma soprattutto il loro complesso uso per l'esplorazione territoriale mediante ecolocalizzazione pone i Chiroteri alla

ribalta nel campo dell'ecologia comportamentale (Arita e Fenton, 1997; Neuweiler, 2003; Voigt-Heucke *et al.*, 2010).

I Chirotteri, a loro volta, divengono un habitat particolare per una serie di parassiti, ecto ed endo, che sono stati selezionati da un complesso processo di coevoluzione. Questi ospiti, dalla fenologia e biologia così particolare, hanno selezionato una comunità parassitaria che ha raggiunto spesso tassi di specificità elevati e filogenesi parallele (Dick e Patterson, 2006). Lo studio delle parassitosi è importante sia perché molti di questi parassiti possono assumere un ruolo zoonotico (Bennet, 2006, Calisher, 2006, Luis *et al.*, 2013), sia per lo studio delle relazioni ospite-parassita all'interno di una determinata nicchia ecologica dei mammiferi.

Oggi i Chirotteri riscuotono tra i mammiferi un grande interesse non solo per la loro complessità sistematica ma anche perché in molti casi sono estremamente specializzati: esclusivi adattamenti morfologici, nicchie ecologiche particolari e la sempre maggiore necessità di gestire una forte crisi per quanto attiene la loro conservazione, caratterizzano questo gruppo in modo unico rispetto agli altri mammiferi.

Questo studio ha preso in considerazione le relazioni ecologiche all'interno di un gruppo di specie gemelle del genere *Myotis*, in ambito mediterraneo indagando, con tecniche differenti, i vari aspetti del loro differenziamento morfologico, ecologico, parassitologico e acustico.

2. LE SPECIE OGGETTO DI INDAGINE

2.1. I Chiroterri

I Chiroterri (Chiroptera - Blumenbach, 1779) sono un ordine di mammiferi la cui diffusione è quasi planetaria, escludendo soltanto l'Antartide (Simmons, 2005; Altringham, 2011; Fenton e Simmons, 2014). Per un lungo periodo quest'ordine è stato suddiviso in due sottordini, Megachiroterri e Microchiroterri (Dobson, 1875), basandosi esclusivamente su differenze morfologiche e anatomiche tra cui la modalità sensoriale dominante ovvero quella visiva nei Megachiroterri e quella uditiva, legata all'ecolocalizzazione, nei Microchiroterri (Kunz e Pierson, 1994). L'ipotesi che ne conseguiva era quindi che l'ecolocalizzazione, ovvero la sofisticata emissione di ultrasuoni attraverso la laringe e l'ascolto degli eco di ritorno per la percezione dello spazio, avesse avuto un'unica origine all'interno dei Microchiroterri.

In seguito i Microchiroterri furono suddivisi in: Yinochiroptera, comprendente le superfamiglie dei Rhinolophoidea ed Emballonuroidea, e Yangochiroptera, comprendente i Noctilionoidea e i Vespertilionoidea, distinti tra loro in base a differenze nelle strutture ossee del cranio (Springer, 2001).

La posizione dei Megachiroterri all'interno dell'ordine dei Chiroterri è stata per molto tempo oggetto di discussione. Il sottordine comprende l'unica famiglia degli *Pteropodidae*, costituita da circa 166 specie, caratterizzati dall'assenza del sistema di ecolocalizzazione (ad eccezione di alcune specie del genere *Rousettus* che ne mostrano uno primitivo evoluto parallelamente), dall'aver la coda (quando presente) libera dal patagio e dalla presenza dell'unghia anche nel secondo dito. A questo gruppo appartengono le cosiddette "volpi volanti", che possono raggiungere una lunghezza di 40 cm e un'apertura alare di 150 cm.

Molti studi hanno evidenziato come questo gruppo fosse più vicino ai Primati che ai Microchiroterri (Bailey *et al.*, 1992; Vaughan *et al.*, 2000; Teeling *et al.*, 2002; Van den Bussche e Hofer, 2004). Secondo Teeling *et al.* (2005), a seguito di ricerche filogenetiche molecolari, una nuova classificazione individua due sottordini: il primo più ancestrale chiamato Yinpterochiroptera che include gli Pteropodidi e le superfamiglie dei Rhinolophoidea e Rhinopomatoidea, e il secondo chiamato Yangochiroptera che comprende tutte le restanti famiglie dei Microchiroptera. Questa diversa suddivisione porta a considerare che l'ecolocalizzazione si sia originata nei progenitori comuni dei due sottordini e che successivamente si sia persa nell'antenato comune degli Pteropodidi, oppure che questa abbia avuto origine in più di un'occasione lungo il percorso evolutivo dei Chiroterri (Gunnell e Simmons, 2012).

Tuttavia i “vecchi” sottordini Megachiroptera e Microchiroptera sono stati recentemente ridescritti e sono anche sostenuti da un recente studio che combina i dati morfologici con le sequenze nucleotidiche (O’Leary *et al.*, 2013).

L’Ordine dei Chiroteri conta più di 1250 specie, ripartite in 19 famiglie delle quali la più numerosa è quella dei Vespertilionidae che conta circa 190 specie. In Europa ci sono 53 specie di Chiroteri di cui ben 35 solo in Italia divise in 11 generi (Agnelli *et al.*, 2004; Lanza, 2012) (Tabella 1).

La chiroterofauna italiana è costituita esclusivamente da quattro famiglie appartenenti all’ordine dei Chiroteri: Rhinolophidae, Molossidae, Miniopteridae e Vespertilionidae, le quali vengo differenziate in base ad aspetti morfologici.

- Rhinolophidae Gray, 1825

Presenza di un’appendice cutanea sul muso (foglia nasale) e assenza di trago (formazione cartilaginea presente nel punto focale del padiglione auricolare). Famiglia monotipica, unico genere *Rhinolophus*, con 5 specie in Europa e 4 in Italia.

- Molossidae Gervais, 1856

Presenza di una coda libera dall’uropatagio per almeno 15 mm. In Europa e in Italia è presente con una sola specie del genere *Tadarida*.

- Miniopteridae Dobson, 1875

Presenza di una coda totalmente o quasi totalmente inclusa nell’uropatagio; seconda falange del terzo dito quasi tre volte più lunga della prima. Famiglia monotipica, unico genere *Miniopterus*, una sola specie in Europa, presente anche in Italia.

- Vespertilionidae Gray, 1821

Presenza di una coda totalmente o quasi totalmente inclusa nell’uropatagio; seconda falange del terzo dito di lunghezza subeguale alla prima. La famiglia include 43 generi, di cui 9 presenti in Europa, con 24 specie. In Italia sono presenti 29 specie suddivise in 8 generi (Lanza, 2012) (Tabella 2).

Nell’arco di pochi anni la *check-list* dei Chiroteri italiani è passata da 30 a 35 taxa (Lanza e Agnelli, 1999; Lanza, 2012). Un tale incremento è da attribuire all’intensificarsi della ricerca su questo gruppo di mammiferi che, nonostante il loro ruolo fondamentale negli equilibri trofici di numerosi ecosistemi, sono ancora poco conosciuti da un punto di vista ecotologico. Nondimeno i Chiroteri sono stati tra i primi vertebrati ad essere protetti nel nostro paese. Infatti nel 1939 con l’articolo 38 della legge 1016 sulla caccia venivano dichiarati

protetti in quanto “utili” nella lotta contro le zanzare malariche. È importante sottolineare come il patrimonio internazionale dei Chiroterri sia oramai un bene in rapido declino come dimostra la situazione europea dove, su 53 specie presenti, 8 sono in pericolo di estinzione, 4 vulnerabili e 15 considerate rare (Hutson *et al.*, 2001). Oggi sono a tutti gli effetti protetti anche dalla legge nazionale e, soprattutto, inclusi nelle normative comunitarie ratificate dal nostro paese. Dal 1979 tutte le specie sono garantite dall’Allegato II della Convenzione di Berna come “rigorosamente protette” (ad esclusione del *Pipistrellus pipistrellus* che in Allegato III risulta come “protetta”) e sono inoltre protetti ai sensi della Convenzione di Bonn sulla conservazione delle specie migratorie. Alcune specie sono poi state inserite nell’Allegato II della Direttiva "Habitat" 92/43 quali “specie animali la cui conservazione richiede la designazione di zone speciali di conservazione”: *Rhinolophus euryale*, *Rhinolophus ferrumequinum*, *Rhinolophus hipposideros*, *Miniopterus schreibersi*, *Myotis bechsteini*, *Myotis blythi*, *Myotis myotis*, *Myotis emarginatus*, *Barbastella barbastellus*. Nell’Allegato IV della stessa direttiva comunque sono compresi tutti i “Microchiroterri” in quanto “specie animali e vegetali di interesse comunitario che richiedono una protezione rigorosa”.

I Chiroterri possono essere considerati buoni indicatori ambientali in quanto sono presenti con numerose specie in tutto il globo e occupano essenzialmente tutti i livelli trofici essendosi specializzati in svariati regimi alimentari. Selezionano spesso habitat specifici e hanno un ruolo fondamentale in processi ecologici quali la dispersione dei semi, l’impollinazione e il controllo delle popolazioni di artropodi (Medellin, 2000).

Purtroppo questo gruppo di mammiferi risulta essere anche particolarmente vulnerabile al degrado ambientale per una combinazione di fattori legati ai loro adattamenti: basso tasso riproduttivo, cure parentali prolungate e lento sviluppo, caratteristiche che sarebbero ottimali in un contesto stabile in cui le popolazioni si mantengono prossime alla capacità portante dell’ambiente (Kunz e Pierson, 1994).

La struttura di una comunità di Chiroterri in un determinato ambiente e il loro bioaccumulo, in termini di metalli pesanti e pesticidi, è il “riassunto” dello stato di contaminazione ambientale e di conseguenza un utilissimo indicatore per l’attuazione di politiche gestionali idonee alla conservazione ambientale per gli animali e l’uomo (Zukal *et al.*, 2015).

Un altro aspetto di grande interesse è legato al fatto che molte specie in Europa vivono in piccole colonie con scarsi scambi genetici e che solo in determinati momenti e punti del territorio, le specie si incontrano per scambi di informazioni e interrelazioni genetiche (e.g. Kerth *et al.*, 2003, Rivers *et al.*, 2005). Questi siti vengono definiti *swarming site* e appaiono oggi come uno degli elementi chiave per l’ecologia di popolazione di molte specie. I metodi

di analisi della comunità e della sua fenologia si collegano quindi ai nuovi strumenti, come l'analisi genetica, per approfondire anche gli aspetti esaminati in questo lavoro.

Tabella 1. Elenco delle specie di Chiroterri presenti in Italia e loro status (Rondinini *et al.*, 2013). In fondo, descrizione e significato delle sigle, relative allo stato di conservazione, assegnate dalla IUCN *Red List of Threatened Species*.

	SPECIE		Status in Italia
1	<i>Rhinolophus blasii</i> (Rinolofo di Blasius)		RE
2	<i>Rhinolophus euryale</i> (Rinolofo Euriale)		VU
3	<i>Rhinolophus ferrumequinum</i> (Ferro di cavallo maggiore)		VU
4	<i>Rhinolophus hipposideros</i> (Ferro di cavallo minore)		EN
5	<i>Rhinolophus mehelyi</i> (Rinolofo di Mehely)		VU
6	<i>Barbastella barbastellus</i> (Barbastello comune)		EN
7	<i>Eptesicus nilssonii</i> (Serotino di Nilsson)		DD
8	<i>Eptesicus serotinus</i> (Serotino comune)		NT
9	<i>Hypsugo savii</i> (Pipistrello di Savi)		LC
10	<i>Myotis alcaethoe</i> (Vespertilio di Alcaethoe)		DD
11	<i>Myotis bechsteinii</i> (Vespertilio di Bechstein)		EN
12	<i>Myotis blythii</i> (Vespertilio di Blyth)		VU
13	<i>Myotis brandtii</i> (Vespertilio di Brandt)		DD
14	<i>Myotis capaccinii</i> (Vespertilio di Capaccini)		EN
15	<i>Myotis dasycneme</i> (Vespertilio dasicneme)		NA
16	<i>Myotis daubentonii</i> (Vespertilio di Daubenton)		LC
17	<i>Myotis emarginatus</i> (Vespertilio smarginato)		NT
18	<i>Myotis myotis</i> (Vespertilio maggiore)		VU
19	<i>Myotis mystacinus</i> (Vespertilio mustacchino)		VU
20	<i>Myotis nattereri</i> (Vespertilio di Natterer)		VU
21	<i>Myotis punicus</i> (Vespertilio maghrebino)		VU
22	<i>Nyctalus lasiopterus</i> (Nottola gigante)		CR
23	<i>Nyctalus leisleri</i> (Nottola di Leisler)		NT
24	<i>Nyctalus noctula</i> (Nottola comune)		VU
25	<i>Pipistrellus kuhlii</i> (Pipistrello albolimbato)		LC
26	<i>Pipistrellus nathusii</i> (Pipistrello di Nathusius)		NT
27	<i>Pipistrellus pipistrellus</i> (Pipistrello nano)		LC
28	<i>Pipistrellus pygmaeus</i> (Pipistrello pigmeo)		DD
29	<i>Plecotus auritus</i> (Orecchione bruno)		NT
30	<i>Plecotus austriacus</i> (Orecchione grigio)		NT
31	<i>Plecotus macrobullaris</i> (Orecchione alpino)		DD
32	<i>Plecotus sardus</i> (Orecchione sardo)		EN
33	<i>Vespertilio murinus</i> (Serotino bicolore)		NA
34	<i>Miniopterus schreibersii</i> (Miniottero di Schreiber)		VU
35	<i>Tadarida teniotis</i> (Molosso di Cestoni)		LC
Sigla	Nome inglese	Descrizione breve	
EX	Extinct	Estinto	
EW	Extinct in the Wild	Estinto in natura ma presente in strutture artificiali (zoo)	

RE	Regionally Extinct	Estinto nell'area di valutazione ma ancora presente in natura altrove
CR	Critically Endangered	(A rischio di estinzione) Popolazione diminuita del 90% in dieci anni o il suo areale si è ristretto sotto i 100 km ² o il numero di individui riproduttivi è inferiore a 250.
EN	Endangered	(In pericolo) Popolazione diminuita del 70% in dieci anni o il suo areale si è ristretto sotto i 5.000 km ² o il numero di individui riproduttivi è inferiore a 2.500.
VU	Vulnerable	(Vulnerabile) Popolazione diminuita del 50% in dieci anni o il suo areale si è ristretto sotto i 20.000 km ² o il numero di individui riproduttivi è inferiore a 10.000.
NT	Near Threatened	(Prossima alla minaccia) I valori della popolazione non riflettono ma si avvicinano in qualche modo ad una delle descrizioni riportate sopra (prossima alla minaccia)
LC	Least Concern	(A minor rischio) I valori della popolazione non riflettono in alcun modo una delle descrizioni di cui sopra, specie abbondanti e diffuse.
DD	Data Deficient	(Mancanza di dati) Non esistono dati sufficienti per valutare lo stato di conservazione della specie.
NA	Not Applicable	La specie in oggetto non può essere inclusa tra quelle da valutare (per esempio nel caso in cui sia stata introdotta o se la sua presenza nell'area di valutazione è marginale).
NE	Not Evaluated	Specie non valutata.

2.1.1. Anatomia

Morfologicamente, la caratteristica che maggiormente differenzia i Chiroteri dagli altri Mammiferi è rappresentata dalla struttura dell'arto anteriore. Il termine Chiroptera deriva dal greco χείρ *chéir*, (mano) e πτερόν *pterón*, (ala) che significa “mano alata”, infatti gli arti di questi mammiferi si sono modificati in ali permettendo loro di specializzarsi per un volo attivo, più precisamente l'avambraccio e i metacarpali sono molto sviluppati inoltre le falangi (dal secondo al quinto dito) risultano considerevolmente allungate. Tutti questi elementi si sono trasformati dando origine alla struttura portante dell'ala (Figura 2). La membrana alare, chiamata patagio, deriva dalla membrana interdigitale, ed è costituita da un sottilissimo strato di muscoli e fibre elastiche, posto tra due strati epiteliali riccamente vascolarizzati. Si estende dalle falangi delle zampe anteriori fino a quelle posteriori includendo anche la coda spesso nella sua totalità (uropatagio). Il patagio ha lo svantaggio di aumentare significativamente il rapporto superficie/volume portando i Chiroteri ad essere i Mammiferi con il massimo sviluppo del sistema cutaneo. Questo determina una notevole traspirazione con ampie perdite di acqua e di conseguenza un notevole fabbisogno idrico. Il patagio viene costantemente mantenuto elastico grazie ad un secreto ceroso prodotto da ghiandole facciali specifiche.

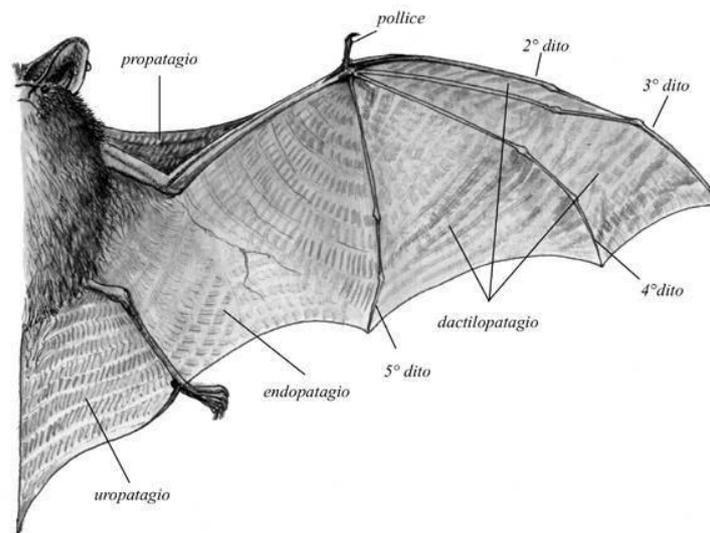


Figura 2. Morfologia dell'ala dei Chiroterri.

Nell'arto anteriore soltanto il primo dito rimane libero dalla membrana alare. Esso ha dimensioni molto ridotte ed è l'unico dotato di movimento indipendente con un artiglio utilizzato per arrampicarsi o per il *grooming*. I Chiroterri hanno 7 vertebre cervicali, 11 toraciche, 4 lombari e da 0 a 10 caudali. Lo scheletro è molto leggero e la zona toracica presenta una notevole rigidità. La cintura scapolare, solitamente più sviluppata del bacino, e lo sterno carenato permettono l'inserzione dei potenti muscoli adduttori usati per il volo, inoltre viene spostato il centro di gravità fra le ali, rendendo più efficiente il volo. Le vertebre sono saldate per avere maggior supporto e le costole appiattite.

Il cranio può assumere diverse forme in funzione della specializzazione delle diverse specie. Nei Chiroterri sono presenti 3 muscoli maggiori discendenti: il pettorale, il sottoscapolare e il serrato anteriore e 2 muscoli ascendenti: il deltoide e il trapezio. La maggior parte di essi sono attaccati alle scapole e soltanto il serrato anteriore è unito allo sterno.

La parte posteriore del corpo è relativamente poco sviluppata, con arti posteriori sottili e brevi. L'orientamento della gamba è particolare in quanto l'acetabolo guarda dorso-lateralmente invece che verso il basso, ne consegue una specifica articolazione del femore e dell'intero arto in cui il ginocchio si piega ventralmente. Ciò facilita lo stare appesi con il ventre rivolto verso la parete e, grazie alla forma di plagio- e uro-patagio, permette di controllare meglio le manovre durante il volo. La classica posizione "a testa in giù" è data da una particolare articolazione dei tendini delle falangi sulla caviglia che consente l'attacco al substrato in maniera passiva, senza nessuna contrazione muscolare (Lanza, 2012).

L'organo di senso maggiormente utilizzato è l'udito sebbene la vista sia a tutti gli effetti funzionale. Nell'orecchio dei Chiroteri appaiono evidenti, soprattutto nelle specie insettivore, gli adattamenti fisiologici e morfologici dell'apparato uditivo, in relazione all'utilizzo del sistema di ecolocalizzazione. Esistono notevoli variazioni nella struttura e nella forma delle orecchie in base al tipo di nicchia trofica utilizzata. Il padiglione auricolare, detto "pinna", è generalmente ampio arrivando anche a 40 mm di lunghezza nei rappresentanti del genere *Plecotus*, e può presentare numerose pliche orizzontali. In certi gruppi le orecchie sono unite alla base e frontalmente come nei generi *Plecotus* e *Barbastella*. In generale, comunque, negli appartenenti alla famiglia dei Vespertilionidae le orecchie sono separate. Morfologicamente si distinguono anche trago, antitrago ed un lobo basale anteriore (Figura 3), ad eccezione dei Rhinolophidae in cui il trago è assente (Lanza, 2012).

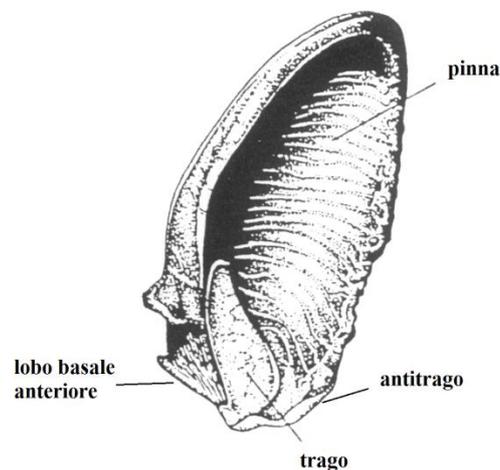


Figura 3. Anatomia esterna dell'orecchio di un Vespertilionidae.

Il senso del tatto è molto sviluppato, soprattutto a livello della membrana alare, e consente ai pipistrelli di usare le ali anche per catturare le prede. Stimoli tattili importanti sono percepiti a livello di particolari peli presenti sul muso e sugli arti posteriori. Il senso dell'olfatto è importante soprattutto nel riconoscimento tra madre e figlio (Kunz e Hood, 2000; Lanza, 2012).

2.1.2. Riproduzione

Nei pipistrelli europei il dimorfismo sessuale è poco accentuato infatti è possibile distinguere i due sessi solo tramite l'osservazione diretta degli organi genitali. Nei maschi il pene è ben visibile fin dalla nascita ed è quasi sempre provvisto di osso penico di sostegno chiamato *baculum*. Da un punto di vista anatomico l'apparato genitale è del tutto analogo a quello degli

altri mammiferi (Lanza, 2012). La fisiologia riproduttiva, invece, è molto diversificata e presenta molteplici caratteristiche. Il modello riproduttivo è di tipo dissociato, questo significa che, al momento dell'accoppiamento, i maschi hanno un alto livello ormonale di testosterone mentre le femmine non sono ancora fertili.

In tutte le specie europee il periodo degli accoppiamenti coincide con la tarda estate e l'inizio dell'autunno, in molti casi protrandosi nei rifugi poi occupati per il letargo.

In questi periodi maschi e femmine condividono i rifugi solo eccezionalmente; infatti, i parti avvengono in colonie riproduttive, chiamate *nursery*, costituite esclusivamente da femmine (i maschi sono generalmente esclusi). Un maschio può accoppiarsi con più femmine e, come nel caso di *Nyctalus* sp., *Pipistrellus pipistrellus*, *Pipistrellus nathusii* e alcune specie del genere *Myotis*, giunge a stabilire un harem di anche 10 femmine (Schober e Grimmberger, 1997).

Dopo la copula e prima del letargo, lo sperma viene conservato vitale nelle vie genitali femminili fino agli inizi della primavera successiva quando, dopo il risveglio, ci sarà la maturazione dell'ovulo, la sua fecondazione e quindi lo sviluppo embrionale. Unica eccezione è rappresentata da *Miniopterus schreibersii* in cui vi è l'annidamento differito dell'embrione nel quale la fecondazione avviene al momento dell'accoppiamento, ma lo sviluppo dell'embrione si arresta allo stadio di blastocisti fino alla primavera successiva (Racey, 1982). Questa strategia è una forma di adattamento efficace per poter arrivare al sincronismo tra nascita e maggior disponibilità alimentare.

La gestazione non ha un tempo prestabilito, dipende dalle risorse alimentari o dalle condizioni climatiche e, rispetto ai mammiferi di taglia simile, è molto lenta e può durare da 4 a 8 settimane al termine della quale viene partorito generalmente un solo piccolo; i parti gemellari sono la regola in poche specie (*Pipistrellus pipistrellus*, *Hypsugo savii*, *Vespertilio murinus*, *Nyctalus noctula*) (Kurta *et al.*, 1987; Maywald e Pott, 1988).

Al momento del parto le femmine si girano a testa in su, e con l'uropatagio formano una sorta di canestro, dove i piccoli vengono accolti appena nati. I neonati del tutto inetti, glabri e con gli occhi ancora chiusi, si attaccano saldamente alla madre, utilizzando gli artigli del pollice e degli arti posteriori, e cominciano subito ad alimentarsi. Sono già provvisti di denti da latte, ad eccezione dei *Rhinolophidae*, ai quali spuntano solo successivamente.

Nelle femmine di tutte le specie europee sono presenti due ghiandole mammarie, ad eccezione di *Eptesicus serotinus*, il Serotino che ne ha quattro in posizione toracica. I *Rhinolophidae* possiedono, oltre alle due vere mammelle per l'allattamento, anche due capezzoli pubici con la sola funzione di facilitare l'appiglio del neonato al corpo della madre anche durante il volo.

Lo svezzamento dura circa una decina di giorni, nei casi in cui si prolunga maggiormente, i piccoli sono indipendenti all'età di sei-otto settimane incominciando a volare a tre-quattro settimane (*Pipistrellus kuhlii* e *Pipistrellus nathusii*) o a cinque settimane per le specie più grosse (*Myotis myotis* e *Nyctalus noctula*) (Lanza, 2012).

La maturità sessuale è raggiunta all'età di un anno, con diverse eccezioni tra le femmine di molte specie, che possono essere sessualmente mature già nel primo autunno, a tre mesi di vita (*Rhinolophus hipposideros*, *Myotis daubentonii*, *M. mystacinus*, *M. emarginatus*, *M. myotis*, *Eptesicus serotinus*, *Pipistrellus pipistrellus*, *P. nathusii*, *P. kuhlii* e *Miniopterus schreibersii*) (Lanza, 2012).

Durante la stagione degli accoppiamenti i maschi maturi sessualmente e quindi adulti diventano estremamente territoriali. Scelgono un territorio, lo difendono e lo marcano, utilizzando un secreto prodotto da ghiandole cutanee, in modo da scoraggiare altri maschi ad avvicinarsi e poter attirare invece le femmine, tutto questo anche con l'emissione di caratteristiche vocalizzazioni. Terminati gli accoppiamenti, i pipistrelli si dedicano unicamente all'accumulo delle riserve di grasso per superare l'inverno.

I giovani sono molto sensibili a inaspettati peggioramenti climatici perché non hanno una riserva di grasso adeguata e mancano di esperienza. La mortalità dei piccoli dopo lo svezzamento è quindi molto alta, pari a circa il 50%. In generale si stima che solo il 30-40% raggiunga il secondo anno di vita. Alla nascita la *sex-ratio* è equilibrata, la mortalità dei maschi sembra essere un po' più alta di quella delle femmine, ma questo non influenza in modo negativo la composizione della popolazione grazie alla poliginia, formazione di harem, (Schober e Grimmberger, 1991; Dietz *et al.*, 2007). Il basso tasso riproduttivo (un piccolo l'anno) e la mortalità vengono in parte compensati dalla longevità, anche superiore ai 30 anni, ma ci sono anche altri fattori delicati come i tempi lunghi di gestazione e la tendenza delle femmine a riunirsi in grossi gruppi per il parto e per l'allevamento dei piccoli, questo spiega come singoli eventi distruttivi, anche limitati ad una sola colonia, possano avere effetti sul popolamento di una intera regione (Dietz *et al.*, 2007).

2.1.3. L'ibernazione

Durante l'autunno i Chiroteri immagazzinano il grasso che gli servirà come riserva energetica per sopravvivere durante l'inverno in cui, per le condizioni ambientali sfavorevoli e soprattutto per la notevole scarsità di prede, entrano in ibernazione, ossia uno stato di profondo torpore caratterizzato da una diminuzione di tutte le funzioni vitali e delle attività metaboliche, con conseguente abbassamento della temperatura corporea, fino a circa 1 o 2°C al di sopra della temperatura ambientale. I pipistrelli hanno un letargo non continuo,

caratterizzato dall'alternanza di periodi di torpore, più o meno prolungati, e di risvegli, dettati sia da stimoli interni (fisiologici) che esterni (anche indipendenti dalla temperatura ambientale come ad esempio alta presenza di parassiti o disturbo di predatori). La durata del periodo di ibernazione dipende dalle condizioni climatiche e soprattutto dalla temperatura esterna ed ovviamente entrambe queste variabili sono strettamente correlate alla latitudine.

L'energia consumata durante tutto il periodo di ibernazione è notevole e maggiore in caso di un aumento del numero di risvegli, molto dispendiosi dal punto di vista energetico (Koteja *et al.*, 2001). Alla base di queste variazioni fisiologiche vi è l'alterazione del potere termoregolatore e l'attuazione della termogenesi senza brivido. Questa viene controllata dal sistema nervoso simpatico, che permette l'attivazione di sistemi enzimatici per il metabolismo dei lipidi (prevalentemente grasso bruno) e la conseguente produzione di calore. Il grasso bruno, il cui nome deriva dall'elevata presenza di mitocondri, si trova in piccoli depositi tra collo e scapole, è un tessuto riccamente vascolarizzato che si riscalda durante la termogenesi, diffondendo il calore in tutto il resto del corpo. Questo processo è particolarmente attivo durante il risveglio di tutti i mammiferi ibernati o in letargo, favorendo un rapido riscaldamento. Nei Chiroterri il grasso viene accumulato principalmente intorno alle scapole, sul collo e sui fianchi. Il peso aumenta di circa 20-30% in confronto al peso primaverile. Le varie specie di Chiroterri adottano una posizione ben precisa del proprio corpo durante il letargo. I Rhinolophidae avvolgono il proprio corpo con le ali mentre le specie del genere *Plecotus* abbassano i grandi padiglioni auricolari molto vascolarizzati e li sistemano sotto le ali; gli altri Vespertilionidae spingono le ali e l'uropatagio contro il corpo in modo da diminuire il più possibile la superficie esposta all'aria. Durante l'ibernazione si verifica un rallentamento di tutti i processi vitali, frequenza respiratoria e cardiaca, reattività del sistema nervoso nonché attività muscolare, endocrina e metabolica. Un esempio concreto può essere fatto per *Myotis myotis*, il Vespertilio maggiore, una delle specie oggetto di questo studio, che mantiene la frequenza cardiaca intorno ai 350 battiti al minuto in condizioni di riposo, raggiunge in eccitazione gli 880 battiti e durante il letargo, il suo cuore varia tra i 18 e gli 80 battiti al minuto. La frequenza respiratoria è di circa cinque respiri al secondo da sveglio, mentre in letargo viene ridotta a tal punto che possono esserci pause di 90 minuti tra due respiri successivi (Schober e Grimmberger, 1997). L'accumulo di poche riserve, specialmente nei giovani, l'alterazione di particolari condizioni microclimatiche e/o l'eccessivo disturbo dei siti di svernamento (con conseguente aumento del numero dei risvegli) possono risultare fatali per molti esemplari. La normale temperatura corporea di un individuo in attività è di circa 40°C, mentre in ibernazione scende a valori compresi 0° e 10°C. Nei Chiroterri europei il letargo avviene quando la temperatura scende al di sotto dei 10°C medi giornalieri. Durante

questo periodo la temperatura corporea segue approssimativamente quella ambientale, ma se questa scende sotto gli 4-5°C, l'attività metabolica aumenta e si ha il risveglio dell'animale, il quale cercherà di raggiungere un rifugio più temperato.

2.1.4. I rifugi

I rifugi dei Chiroteri sono tecnicamente definiti roost, termine anglosassone traducibile come "posatoio", che indica qualunque luogo venga utilizzato per il riposo. Le comunità di Chiroteri con maggiore diversità si trovano in ambienti dotati di ogni tipo di rifugio e di habitat diversi, in grado di offrire molteplici possibilità di ricovero e alimentazione.

La maggior parte delle specie europee, infatti, durante l'inverno utilizza pochi rifugi di grandi dimensioni (siti di svernamento), mentre nel corso dell'anno sfrutta vari tipi di *roost*, a seconda della fase del ciclo biologico.

I Chiroteri europei, in base alla tipologia di rifugio scelta, possono essere distinti in specie troglofile, fessuricole, antropofile e fitofile; le variazioni individuali sono da mettere in relazione anche alle caratteristiche climatiche delle diverse località e alla stagione (Schober e Grimmberger, 1991; Dietz *et al.*, 2007). Vi sono specie legate alle fessure di pareti rocciose come *Tadarida teniotis* che vengono definite fessuricole. I Chiroteri troglofili, solitamente appartenenti ai generi *Rhinolophus*, *Miniopterus*, *Plecotus* e buona parte delle specie del genere *Myotis*, sono sostanzialmente legate ad ambienti ipogei come grotte e miniere.. Queste specie trovano in questi rifugi particolari condizioni microclimatiche adatte all'ibernazione come temperature basse e costanti e gradi elevati di umidità. Quando individui di diverse specie occupano uno stesso grande rifugio, si nota facilmente che ognuna delle specie occupa una particolare zona della cavità, in relazione alle diverse esigenze ecologiche (Lesiński, 1986; Priori e Scaravelli, 2014). Nelle grotte con sviluppo complesso si creano microclimi diversificati che possono essere più o meno adatti alle diverse specie e ai loro diversi momenti fenologici (Figura 4).

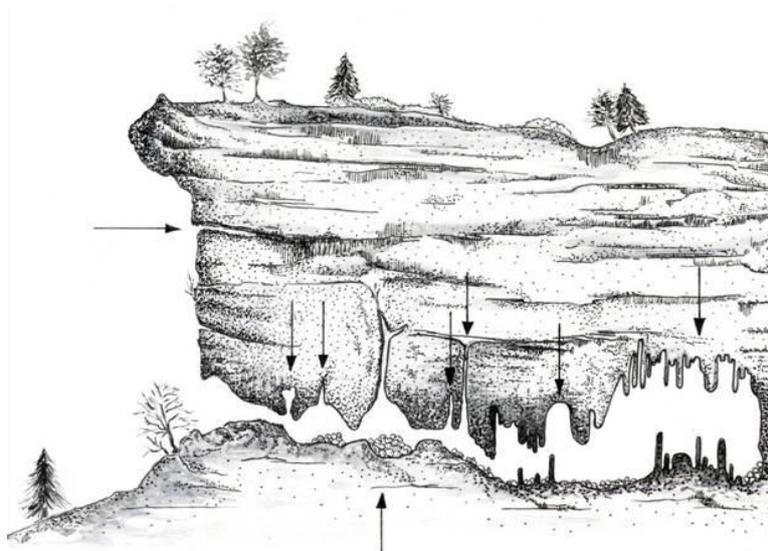


Figura 4. Potenziali siti di rifugio utilizzabili dai Chiroterri nelle cavità ipogee.

- Rifugi invernali

La scelta del rifugio per il letargo è molto importante, il luogo deve essere al sicuro da eventuali predatori, privo di correnti d'aria e con temperature non eccessivamente basse (comprese tra 3° e 9°C). Il tasso di umidità relativa discretamente alto (90-100%) e l'assenza di correnti d'aria sono fondamentali per impedire la disidratazione ed il disseccamento del patagio. Il letargo invernale può subire delle interruzioni per stimoli esterni. Infatti, se disturbati, gli animali possono spostarsi da una parte all'altra di uno stesso rifugio o anche cambiarlo. Anche stimoli interni, come il raffreddamento eccessivo (sotto gli 0°C) o la vescica urinaria piena, possono interrompere il letargo. Quando un individuo si risveglia i ritmi cardiaci e respiratori aumentano, l'apporto di ossigeno nei tessuti aumenta e la produzione di calore riprende lentamente. Solo dopo 30 o 70 minuti dal risveglio, gli animali ritrovano la temperatura normale. La durata del risveglio è maggiore se la temperatura d'ibernazione è bassa o se le riserve energetiche sono minime. In una prima fase, la produzione di calore è assicurata principalmente attraverso la combustione del grasso e in un secondo momento attraverso le contrazioni muscolari. Il tempo di letargo varia da specie a specie: variando da un minimo di due giorni a un massimo di circa due mesi. Il letargo termina nei mesi di marzo o di aprile (Schober e Grimmberger, 1991; Dietz *et al.*, 2007).

Molte specie europee prediligono le grotte, come quelle appartenenti ai generi *Myotis*, *Miniopterus*, *Plecotus*, *Barbastella*, *Rhinolophus*, perché più temperate, non sottoposte a sbalzi termici e con un'umidità relativa quasi costante.

Dato che addentrandosi e allontanandosi dall'ingresso della grotta l'aria è più calda e la temperatura rimane più costante, la maggior parte delle specie si trova ad una distanza che

varia dai 20 ai 60 m dall'entrata. In un rifugio occupato da più specie sarà possibile trovare i Rhinolophidae, che preferiscono temperature più elevate, al fondo della grotta mentre altre specie come *Eptesicus nilssonii*, il Serotino di Nilsson e *Barbastella barbastellus*, il Barbastello, si trovano solitamente all'entrata delle cavità (Schober e Grimmberger, 1991; Dietz *et al.*, 2007). Nelle aree carsiche con sistemi complessi e di grandi dimensioni non sono comunque poche le specie che possono occupare camere e volumi posti anche a diverse centinaia di metri dall'entrata quando posseggono le adeguate caratteristiche microclimatiche. Alcune specie si collocano all'interno di fenditure lungo le pareti rocciose o al suolo, o anche negli interstizi delle pietraie. Specie dei generi *Vespertilio*, *Nyctalus*, *Pipistrellus* si servono invece di cavità arboree, nidi abbandonati o di qualunque spaccatura o fessura.

A causa della distruzione o alterazione degli ambienti naturali provocate dall'uomo, molte specie sono diventate antropofile. In particolare alcune specie, come ad esempio *Pipistrellus kuhlii*, *Hypsugo savii* e *Eptesicus serotinus*, frequentando in modo esclusivo o quasi ambienti antropizzati, quali cavità sotterranee artificiali, costruzioni o edifici, utilizzando gli spazi che risultano simili ai siti naturali originariamente utilizzati. Diverse specie necessitano di volumi ampi, bui e poco disturbati, condizioni che talora si riscontrano in chiese, castelli e altri edifici monumentali. Altre, che frequentano spazi piccoli, incluse semplici fessure, si rifugiano spesso sotto i ponti o nelle comuni abitazioni. In genere, i Chiroteri che prediligono le grotte o gli edifici, tendono ad essere gregari, formando dei raggruppamenti sia intra- che interspecifici anche molto numerosi. In una grotta con un notevole sviluppo le diverse specie si collocano in una ben precisa zona della cavità, a seconda delle proprie esigenze ecologiche (soprattutto temperatura).

Con l'arrivo della primavera, che corrisponde ad un aumento della temperatura ambientale e all'esaurimento delle riserve di grasso, si ha il risveglio dell'animale.

- Rifugi estivi

In primavera, le femmine gravide si riuniscono nelle *nursery*, formate a seconda delle specie da piccoli raggruppamenti o molte migliaia di individui, dove partoriscono e allevano insieme i piccoli. Il potere termoregolatore dei pipistrelli non viene utilizzato solo ai fini del letargo, ma anche durante la buona stagione, in quanto permette di variare la propria temperatura corporea, così da risparmiare energia. In fase di riposo diurno possono raffreddarsi fino a circa 20°C, per poi riscaldarsi nuovamente fino a 37-40°C, prima di intraprendere l'attività notturna. Dopo la nascita dei piccoli, le femmine mantengono una temperatura corporea elevata anche durante il giorno. E' necessario che la *nursery* sia un ambiente ben riscaldato, infatti, vengono evitati i luoghi soggetti a correnti d'aria. Può succedere che i pipistrelli

cambino la loro *nursery* durante l'allevamento dei piccoli a causa di molestie esterne, modificazioni climatiche, infestazioni di parassiti o per trovare luoghi di caccia più ricchi.

Le madri abbandonano i piccoli tutta la notte tornando solo poche volte per l'allattamento, già dalla prima notte dopo il parto; in molti casi i piccoli si riuniscono in gruppi compatti su cui vigilano poche femmine. In questa situazione, l'olfatto rappresenta il senso fondamentale per il riconoscimento madre-figlio. Nelle grandi colonie, formate da migliaia di individui, ogni madre riconosce il proprio piccolo grazie ad una particolare combinazione di voce e odore.

Durante tutto questo periodo i maschi vivono da soli o in piccoli gruppi e trascorrono il giorno all'interno di dormitori separati, solitamente utilizzati per l'accoppiamento.

2.1.5. Migrazioni e spostamenti

I Chiroteri effettuano degli spostamenti più o meno lunghi tra i rifugi invernali e quelli estivi che raramente si trovano nel medesimo luogo. Le specie considerate sedentarie compiono solo spostamenti tra i rifugi invernali ed estivi, percorrendo solitamente distanze che variano dai 20 ai 50 km; si tratta di solito di movimenti di tipo ecologico e non geografico, come il caso di *Myotis myotis*, il Vespertilio maggiore, che nel Nord Europa forma consistenti colonie nelle abitazioni in estate ma in inverno si rifugia in ipogei naturali ed artificiali anche distanti.

Alcune specie dei generi *Nyctalus* e *Pipistrellus* trascorrono l'estate nei paesi del Nord Europa, spostandosi più a Sud e nelle zone mediterranee per lo svernamento e la maggior parte delle specie compie normalmente degli spostamenti a breve raggio, tra i 50 e i 300 km, che non necessariamente hanno un orientamento geografico preferenziale. Queste migrazioni sono necessarie soprattutto per i pipistrelli che usano come rifugi invernali le cavità arboree, rifugi più esposti al rischio di congelamento.

Tuttavia vi sono specie che intraprendono consistenti migrazioni sia in Europa che nel neartico come il *Pipistrellus nathusii* che raggiunge e supera i 1000 km di movimenti stagionali.

2.1.6. Alimentazione

Tutte le specie europee di Chiroteri si nutrono esclusivamente di insetti. Ad eccezione di *Nyctalus lasiopterus*, la Nottola gigante, che, oltre a grossi coleotteri e falene, può catturare anche piccoli uccelli come *Erithacus rubecula*, il Pettiroso e *Phylloscopus sibilatrix*, il Luì verde durante la sua migrazione notturna in autunno e primavera. Questi ultimi vengono predati e divorati in volo (Dondini e Vergari, 2000; Ibanez *et al.*, 2001). Le specie italiane sono tutte insettivore e cacciano una grande quantità di insetti che catturano quasi sempre in volo, oppure, a seconda della specie, raccogliendoli dal terreno, dalla vegetazione o sulla superficie dell'acqua. La dieta di alcune specie viene integrata come il caso del *Myotis*

daubentonii (Kuhl, 1817), che caccia gli insetti sui fiumi o sui laghi e può occasionalmente ingerire piccoli pesci, mentre sembra che per *Myotis capaccinii* (Bonaparte, 1837) cibarsi di pesci non sia un evento occasionale (Aihartza *et al.*, 2003).

I pipistrelli sono predatori notturni e svolgono un importante ruolo all'interno dell'equilibrio degli ecosistemi. Considerando per esempio le specie cosiddette antropofile, che sono solite alimentarsi nelle zone urbane e sotto ai lampioni, un singolo individuo di circa 5 g di peso è in grado in una sola notte di predare fino a 5000 insetti. Oltre alle zanzare, catturano anche numerose specie dannose per le colture agricole e forestali. Le scelte alimentari sono molto diversificate: alcune specie sembrano non mostrare nessuna preferenza per il tipo di preda, altre invece effettuano specifiche scelte alimentari anche se le specie di uno stesso ambiente tendono comunemente ad avere una dieta simile; tuttavia la mole del predatore sembra però influenzare la scelta della grandezza delle prede (Dietz *et al.*, 2007).

2.1.7. Ecolocalizzazione

Un ruolo fondamentale nella percezione dell'ambiente e nella caccia delle loro prede lo svolge l'ecolocalizzazione, un sofisticato sistema di orientamento basato sull'emissione di suoni ad alta frequenza e sulla capacità di percepire gli echi di ritorno, così da permettere all'animale di orientarsi grazie ad una vera e propria immagine sonora. Questo sistema fu studiato per la prima volta da Lazzaro Spallanzani nella seconda metà del '700 per poi essere definitivamente descritto negli anni '50 (Griffin, 1958). I Chiroteri producono ultrasuoni per mezzo della laringe emettendo il suono dalla bocca aperta oppure dalle narici, come nel caso dei Rhinolophidae, i quali hanno evoluto una particolare struttura detta foglia nasale per migliorare la modulazione del suono. I suoni prodotti dai pipistrelli hanno un intervallo di frequenza che va da circa 14000 a oltre 100000 Hz, in gran parte fuori dalla soglia di udibilità umana compresa invece tra 20 e 20000 Hz. Il suono emesso una volta colpito un oggetto torna all'orecchio del pipistrello sotto forma di eco. Il trago ha una grande importanza nell'indirizzare l'eco di ritorno nell'orecchio, aumentandone l'efficienza uditiva. Il ritardo temporale dell'eco di ritorno permette all'animale di valutare la distanza dall'oggetto colpito dall'ultrasuono. Inoltre l'eco, rispetto all'ultrasuono emesso, viene modificato in termini di frequenza, lunghezza d'onda e intensità e questo dà al pipistrello informazioni sul movimento e sul tipo di superficie. Tutte le informazioni sonore sono captate ed elaborate da specifiche unità del sistema nervoso centrale per la creazione di un'immagine "sonora" molto dettagliata dell'ambiente circostante. Questo processo è estremamente raffinato, tanto da permettere ai pipistrelli di individuare oggetti più sottili di un capello. I Chiroteri italiani producono

ultrasuoni compresi tra una decina di kHz (14 kHz nel *Tadarida teniotis*) fino ad oltre 100 kHz in alcuni Rhinolophidae. In quasi tutti i casi sono suoni non udibili dall'orecchio umano essendo superiori alla soglia massima di udibilità (circa 20 kHz). L'uomo è in grado di percepire per alcune specie solo le ultime code dell'onda ultrasonora emessa dal pipistrello durante l'ecolocalizzazione. Un concetto diverso è legato invece all'emissione dei suoni emessi a scopo comunicativo inter o intraspecifico, le così dette *social calls*, segnali sociali emessi dai chiroterteri la cui frequenza spesso rientra nella soglia di udibilità umana.

Gli ultrasuoni sono prodotti a livello della laringe dove le membrane vocali sono sottilissime e in grado di vibrare ad alta velocità. La modulazione del suono avviene grazie ai sacchi laringei, invaginazioni della laringe che fungono da organi risuonatori, e attraverso il controllo della tensione delle membrane oltre che della quantità di aria espulsa. L'emissione di ultrasuoni può variare da 5/sec, in condizioni di riposo, fino a 200/sec in volo. Il raggio d'azione è compreso tra i 2,5 e i 5 m, la durata degli impulsi è dell'ordine del millesimo di secondo (da pochi millisecondi nei *Myotis*, fino a qualche decina nei Rhinolophidae) (Kunz e Parsons, 2007).

2.1.8. Il volo: morfologia alare

Durante il corso dell'evoluzione i mammiferi terrestri hanno sviluppato progressivamente diversi modi sofisticati di locomozione, fino ad arrivare a casi in cui il movimento è diventato estremamente veloce e preciso. Questa efficienza nella locomozione raggiunta in molti mammiferi è dovuta principalmente a tre caratteristiche fondamentali. La prima è che l'unico collegamento tra la spalla e lo scheletro è rappresentato dai muscoli e permette all'arto anteriore di muoversi in qualsiasi direzione, fornendo anche un alto grado di motilità che compensa le irregolarità del terreno anche a velocità elevate. Secondariamente, durante il movimento, la scapola si muove insieme all'arto ruotando in avanti, questo significa che nei mammiferi il punto di perno dell'arto anteriore si trova nella parte alta del corpo, tra scapola e costole, piuttosto che nell'articolazione dell'arto superiore come avviene in anfibi e rettili, la conseguenza di questo è che la leva e la lunghezza della falcata sono notevolmente aumentati. Infine gli arti sono posizionati direttamente sotto il corpo e il movimento degli arti avviene principalmente in dimensione verticale, di conseguenza l'intera lunghezza dell'arto, dalla spalla alle dita, agisce come un braccio di leva, consentendo di utilizzare l'intero arto per il movimento.

I pipistrelli hanno sfruttato queste caratteristiche specializzate del corpo dei mammiferi per ottenere un uso completamente diverso dei mezzi di locomozione utilizzati dai *taxa* terrestri. Attraverso il volo i pipistrelli hanno avuto accesso ad una nuova nicchia, l'aria, che è

normalmente inaccessibile ai mammiferi. Mediante alcune piccole modifiche nella struttura di base del corpo dei mammiferi, i pipistrelli hanno raggiunto uno *status* paragonabile agli uccelli come vertebrati volatori. Il volo è un mezzo di locomozione che richiede un elevato dispendio energetico ed evidentemente i vantaggi che ne derivano compensano l'utilizzo di questa capacità che è arrivata ad evolversi e perfezionarsi in modo così sorprendente nei chiroteri. Intanto è da notare che il volo è la forma più costosa in termini di energia di locomozione per unità di tempo ma è anche la più economica in rapporto alla distanza percorsa, dato che i tempi di esplorazione delle risorse si riducono notevolmente. Ciò è particolarmente importante per gli animali che devono spostarsi su lunghe distanze per esempio dal rifugio alle aree di alimentazione.

Nei Chiroteri il perfezionamento della capacità di volo ha portato alla conquista di una nuova nicchia trofica come quella degli insetti in volo, infatti i primi mammiferi volanti risalenti al Paleocene utilizzavano un volo planato non utile per il foraggiamento in ambiente aereo.

Il potere aerodinamico totale richiesto per il volo è dato dalla somma delle azioni richieste per generare l'innalzamento e la spinta, che mantengono l'animale in aria e lo fanno muovere in avanti, ed il potere d'inerzia, richiesto per il movimento battuto delle ali. Il volo dei pipistrelli è altamente specializzato, possono guadagnare altezza non solo per impennata o volo a vela, ma anche durante il volo attivo. Le ali sono flessibili e adattabili grazie a diversi muscoli coinvolti e permettono una rapida accelerazione e una corta distanza di frenata.

Questa efficienza di volo è particolarmente utile durante la caccia agli insetti, infatti i pipistrelli sono incredibilmente agili in volo all'inseguimento della preda, possono fare curve quasi ad angolo retto, tuffarsi verso il basso e risalire quasi verticalmente, volare su un lato o in *loop*, cabrare e occasionalmente volare a testa in giù.

L'elevazione e la propulsione dipendono non solo dal modello di movimento, ma anche dalla dimensione e lunghezza delle ali. Per questo motivo la forma delle ali in qualsiasi specie fornisce un chiaro indizio circa il suo stile di volo e la strategia di foraggiamento (Norberg e Rayner, 1987). Per un'alta manovrabilità di volo sono necessarie ali larghe con un basso carico alare (peso dell'ala in relazione alla superficie totale del patagio), al contrario per un volo veloce con poco dispendio energetico, sono utili ali lunghe e sottili (Figura 5).

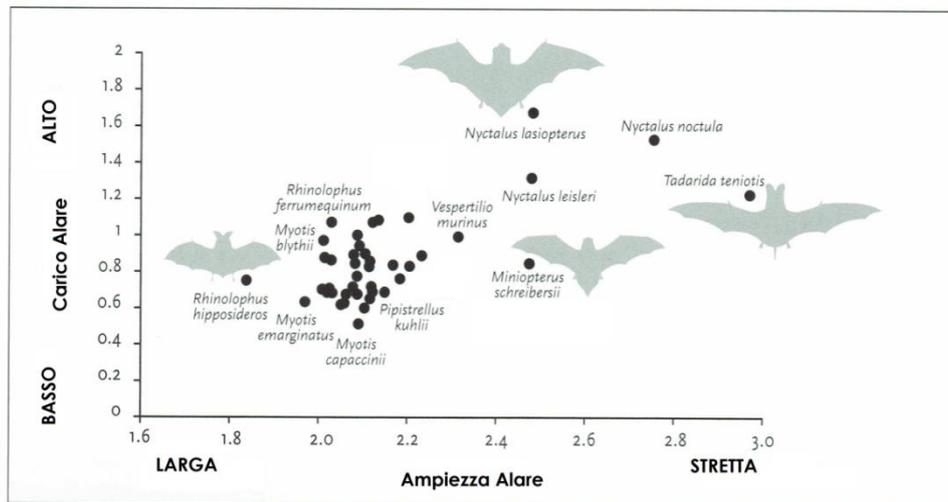


Figura 5. Il grafico mostra il rapporto tra il carico alare (peso dell'ala) e l'ampiezza alare intesa come il rapporto tra lunghezza e larghezza dell'ala per pipistrelli italiani (da Dietz *et al.* 2009).

2.1.9. Adattamento ecologico

È possibile determinare diversi gruppi funzionali a cui associare le diverse specie di chirotteri sulla base della loro strategia di caccia, della morfologia alare e dell'habitat di foraggiamento utilizzato, in quanto questi tre aspetti sono strettamente connessi tra loro (Norberg e Rayner, 1987; Aldridge e Rautenbach, 1987; Fenton, 1990; Schnitzler e Kalko, 2001; Schnitzler *et al.*, 2003). La potenza e le caratteristiche del volo sono determinate dalla forma dell'ala: ali lunghe e strette con estremità appuntite sono tipiche di predatori veloci che foraggiano nelle praterie e negli spazi aperti, come per esempio *Nyctalus* spp., la Nottola, *Miniopterus schreibersii* Kuhl, 1817, il Miniottero e *Tadarida teniotis* Rafinesque 1814, il Molosso di Cestoni; al contrario specie dotate di ali corte e larghe con estremità arrotondate presentano una maggior manovrabilità nel volo e quindi una maggior dimestichezza nel volare tra ostacoli ravvicinati o tra la vegetazione. Questa struttura alare è tipica delle specie così dette "di bosco" come i Rhinolophidae, specializzati nel *perch-hunting* (caccia dal posatoio) (Voigt *et al.*, 2010), alcune specie dei generi *Myotis* e *Plecotus*, che cacciano le prede direttamente atterrando sul terreno o sulle foglie (Norberg e Rayner, 1987); il loro volo richiede un notevole dispendio energetico dovuto ad una alta frequenza e ampiezza dei battiti cardiaci ne consegue un volo più lento che porta maggior vulnerabilità verso i predatori in spazi aperti privi di vegetazione. Al contrario le specie ad ala lunga e stretta battono le ali con minor frequenza e possono compiere tratti più lunghi in volo planato da cui ne consegue, complessivamente, un volo più veloce e duraturo, con virate più rapide.

2.2. La famiglia Vespertilionidae

La famiglia Vespertilionidae Gray, 1821 ha una distribuzione pressoché cosmopolita, l'areale di distribuzione si sovrappone infatti a quello dei microchiroteri. Nell'ordine dei Chiroteri è quella maggiormente rappresentata comprendendo attualmente 388 specie conosciute, 47 generi e 5 sottofamiglie (Vespertilioninae, Antrozoinae, Myotinae, Murinae e Kerivoulinae). Tuttavia questi dati sono in continuo aggiornamento come dimostrato dalle ultime revisioni di questa famiglia, che risulta oggi la seconda più grande nella classe dei mammiferi, superata in numero solo dalla famiglia dei Muridae, tra i Roditori, che contiene oltre 1000 specie (Hill e Smith, 1992; Wilson e Reeder, 2005; Simmons, 2005; Altringham, 2011).

2.2.1. Distribuzione geografica e habitat

I Vespertilionidae sono diffusi in tutti i continenti, tranne l'Antartide, comprese molte isole oceaniche tra cui Hawaii, Bermuda, Isole Galapagos, Azzorre, Islanda, Nuova Zelanda e probabilmente Samoa. La sola parte del mondo in cui non sono presenti sono le zone polari, oltre che in aree a quote estremamente elevate. La sottofamiglia Vespertilioninae, la più grande delle 5, ha un areale di distribuzione sovrapposto a quello della famiglia Vespertilionidae, così come per la sottofamiglia Myotinae diffusa in tutto il mondo anche se comprende meno specie della precedente.

Le sottofamiglie Murinae e Kerivoulinae si trovano solo nel supercontinente Afro-Eurasiatico mentre la sottofamiglia Antrozoinae è conosciuta solo nelle regioni neartiche e neotropicali (Yalden e Morris, 1975; Hill e Smith, 1992; Feldhamer *et al.*, 2007; Arroyo-Cabrales e de Grammont, 2008; Miller e Medina, 2008).

Testimonianze fossili dei Vespertilionidae sono state rinvenute in strati europei risalenti all'Eocene, altre in depositi del Miocene e Oligocene localizzati in Nord America, altre ancora in depositi del Pliocene in Asia e depositi pleistocenici nel Sud America e Africa.

I Vespertilionidae moderni sono riusciti ad estendere il loro areale ad una vasta gamma di zone temperate grazie anche al fatto che molte specie sono in grado di regolare la loro temperatura corporea e il metabolismo al fine di affrontare le temperature più fredde e la mancanza di cibo; il letargo ha permesso a questo gruppo di colonizzare praticamente ogni parte del globo (Hill e Smith, 1992). In Italia, come già menzionato, sono presenti 29 specie, elencate in Tabella 2, suddivise in 8 generi.

Tabella 2. Elenco delle specie presenti in Italia, appartenenti alla famiglia Vespertilionidae (Rondinini *et al.*, 2013). Per il significato delle sigle si veda Tabella 1.

	SPECIE	Status in Italia
1	<i>Barbastella barbastellus</i> (Barbastello comune)	EN
2	<i>Eptesicus nilssonii</i> (Serotino di Nilsson)	DD
3	<i>Eptesicus serotinus</i> (Serotino comune)	NT
4	<i>Hypsugo savii</i> (Pipistrello di Savi)	LC
5	<i>Hypsugo</i> cfr. <i>darwinii</i> (in attesa di attribuzione definitiva del nome)	DD
6	<i>Myotis alcaethoe</i> (Vespertilio di Alcaethoe)	DD
7	<i>Myotis bechsteinii</i> (Vespertilio di Bechstein)	EN
8	<i>Myotis blythii</i> (Vespertilio di Blyth)	VU
9	<i>Myotis brandtii</i> (Vespertilio di Brandt)	DD
10	<i>Myotis capaccinii</i> (Vespertilio di Capaccini)	EN
11	<i>Myotis dasycneme</i> (Vespertilio dasicneme)	NA
12	<i>Myotis daubentonii</i> (Vespertilio di Daubenton)	LC
13	<i>Myotis emarginatus</i> (Vespertilio smarginato)	NT
14	<i>Myotis myotis</i> (Vespertilio maggiore)	VU
15	<i>Myotis mystacinus</i> (Vespertilio mustacchino)	VU
16	<i>Myotis nattereri</i> (Vespertilio di Natterer)	VU
17	<i>Myotis punicus</i> (Vespertilio maghrebino)	VU
18	<i>Nyctalus lasiopterus</i> (Nottola gigante)	CR
19	<i>Nyctalus leisleri</i> (Nottola di Leisler)	NT
20	<i>Nyctalus noctula</i> (Nottola comune)	VU
21	<i>Pipistrellus kuhlii</i> (Pipistrello albolimbato)	LC
22	<i>Pipistrellus nathusii</i> (Pipistrello di Nathusius)	NT
23	<i>Pipistrellus pipistrellus</i> (Pipistrello nano)	LC
24	<i>Pipistrellus pygmaeus</i> (Pipistrello pigmeo)	DD
25	<i>Plecotus auritus</i> (Orecchione bruno)	NT
26	<i>Plecotus austriacus</i> (Orecchione grigio)	NT
27	<i>Plecotus macrobullaris</i> (Orecchione alpino)	DD
28	<i>Plecotus sardus</i> (Orecchione sardo)	EN
29	<i>Vespertilio murinus</i> (Serotino bicolore)	NA

La loro presenza in Italia copre l'intero territorio nazionale ma le specie microterme come *V. murinus*, *E. nilssonii* e *P. macrobullaris* sono confinati all'ambito alpino. Unico particolare endemismo è rappresentato da *P. sardus* presente solamente in Sardegna.

I Vespertilionidae prosperano in un'ampia varietà di habitat, possono essere trovati dai tropici alle zone temperate, dove prediligono paesaggi boscosi o zone aperte a seconda della specie, oltre che alcune specie in habitat desertici. Nelle aree tropicali le specie di Vespertilionidae sono più diversificate. Essi possono rifugiarsi in un'ampia varietà di luoghi, molte specie abitano in spazi chiudi e bui quali grotte, miniere, gallerie e abitazioni umane. Altri pipistrelli di questa famiglia trovano riparo in alberi cavi o sotto le cortecce come ad esempio le Nottole (*Nyctalus* sp.) e il Barbastello (*Barbastella barbastellus*) (Russo *et al.*, 2004; Ruczyński e Bogdanowicz, 2005).

2.3. Il genere *Myotis* e il gruppo dei “grandi *Myotis*”

Il genere *Myotis* (Kaup, 1829) appartenente alla sottofamiglia Myotinae nell'ambito dei Vespertilionidae comprende pipistrelli comunemente noti come vespertili e diffusi in tutto il mondo, tranne che nelle zone polari e circumpolari, nelle aree desertiche e in alcune isole remote.

Le specie appartenenti a questo genere, anche se facilmente distinguibili dagli altri generi della famiglia, sono estremamente eterogenee, ma presentano alcune caratteristiche che le accomunano quali la forma armoniosa del cranio con rostro lungo circa quanto la scatola cranica e con denti canini semplici e ben sviluppati. Le orecchie possono essere di varie dimensioni e sono sempre munite di trago, a volte molto lungo come nel caso del *Myotis nattereri*. La coda è completamente o quasi inclusa nell'uropatagio. La forma e la grandezza delle orecchie e del trago, la lunghezza dell'avambraccio e la forma della membrana alare sono alcune tra le caratteristiche che consentono la discriminazione tra le specie. A questo genere appartengono animali di piccole dimensioni, con lunghezza della testa e del corpo tra 35 e 100 mm, la lunghezza dell'avambraccio tra 28 e 69 mm e un peso che varia dai 4 g, come nel *Myotis mystacinus*, fino ai 35 g nella specie più grande, *Myotis myotis* (il Vespertilio maggiore) (Lanza, 2012). Quest'ultimo insieme al *Myotis blythii* (Vespertilio minore) e al *Myotis punicus* (Vespertilio magrebino) sono i più grandi *Myotis* e le loro dimensioni si discostano molto da tutti gli altri “piccoli *Myotis*”. Per questo motivo vengono definiti come “grandi *Myotis*”.

- I “grandi *Myotis*” oggetto di studio

I grandi *Myotis* oggetto di studio sono *Myotis myotis* e *Myotis blythii*, definite specie gemelle per la loro stretta simpatria e *Myotis punicus*. Le due specie *Myotis myotis* e *Myotis blythii* si riescono a distinguere abbastanza facilmente con le misure morfologiche adeguate. La terza specie, *Myotis punicus*, invece è molto più difficile da identificare perché mostra una miscela

di caratteri presenti nelle altre due specie e la sua posizione sistematica è stata a lungo poco chiara. Dal punto di vista genetico (cytochrome b e microsatelliti), è risultata chiaramente distinta (Dietz e von Helversen, 2004) e il suo *status* di specie è stato accettato nel 2001 (Ruedi e Mayer, 2001). L'aspetto delle tre specie è presentato nella Figura 6.



Figura 6. Aspetto delle 3 specie di grandi *Myotis* (da Dietz e von Helversen, 2004)

2.3.1. *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797), il Vespertilio maggiore.



Figura 7. Colonia di *Myotis myotis* in una chiesa a Gargazzone (Alto Adige).

- Descrizione morfologica

Il Vespertilio maggiore è il più grande del suo genere. La pelliccia ha un contrasto netto tra il dorso, di colore bruno chiaro dorato, e l'addome color panna (Figura 7). La lunghezza testa – corpo è compresa tra i 67- 79 mm, la coda tra i 45-60 mm, l'avambraccio tra i 54-68 mm e la sua apertura alare può raggiungere i 450 mm; il peso varia dai 28 ai 35 g. Non è facilmente distinguibile dal Vespertilio di Blyth, ma ha dimensioni leggermente maggiori, le orecchie più grandi (sopra i 26 mm) e più ampie, il trago più largo e il muso lievemente più lungo (Figura 8) (Arlettaz *et al.*, 1991). Normalmente si ricorre a misurazioni morfometriche per essere certi dell'identificazione anche se l'analisi genetica rimane attualmente il metodo più sicuro disponibile per distinguere con assoluta certezza tra queste due specie viste anche le molteplici evidenze di introgressioni tra le due specie (Ruedi *et al.*, 1990; Arlettaz *et al.*, 1997a; Bertier *et al.*, 2006).



Figura 8. Tavola *Myotis myotis* e *Myotis blythii* da iconografia della Fauna d'Italia (Spagnesi e Toso, 1999).

- Biologia ed ecologia

Il Vespertilio maggiore è considerato una specie sedentaria con migrazioni occasionali fino a 200 Km, lo spostamento più lungo sinora accertato di 436 km (Simon *et al.*, 2004). Predilige ambienti aperti e mosaici di vegetazione foraggiando spesso anche nelle aree agricole.

È una specie che predilige località temperate e calde di pianura e collina fino a 600 m di quota, ma può spingersi anche fino a 2200 m (Lanza, 2012). I voli di foraggiamento sono in genere a bassa quota alla ricerca di grossi insetti, per la maggior parte coleotteri, anche di grosse dimensioni che vengono cacciati direttamente al suolo (Audet, 1990; Arlettaz, 1996; Priori e Scaravelli, 2012).

Nella stagione favorevole si rifugia in fabbricati, ove può sopportare temperature elevate fino a 45°C (Zahn, 2006), o in ambienti sotterranei naturali o artificiali come miniere, sotterranei e grotte. Le colonie possono raggiungere varie migliaia di individui spesso in compagnia del congenerico *Myotis blythii* ma anche con *Miniopterus schreibersii* e alcuni Rhinolophidae (Güttinger *et al.* 2001, Lanza, 2012). Sverna di regola in ipogei umidi, sia naturali che artificiali, con temperature medio basse di 2-12°C e i luoghi di svernamento sono occupati da settembre-ottobre a marzo-aprile (Güttinger *et al.*, 2001). La maturità sessuale è raggiunta in ambo i sessi a 1-2 anni di età; i maschi posseggono harem dei quali possono far parte sino a cinque femmine (Lanza, 2012). Le *nursery*, che vengono occupate a partire da marzo e

abbandonate in luglio-agosto, possono ospitare diverse migliaia di femmine e occasionalmente qualche maschio che normalmente, in primavera ed estate, vive separatamente nel periodo che precede gli accoppiamenti.

- Distribuzione

Il Vespertilio maggiore è una specie diffusa nell'Europa meridionale arrivando a nord-est fino all'Inghilterra meridionale, a Est fino ad Ucraina, Turchia ed Israele e a Sud fino all'Africa maghrebina ed alla Libia. In Italia è nota per l'intero territorio (Ruffo e Stock 2005, Lanza 2012) ad esclusione della Sardegna dove alcuni esemplari segnalati in passato sono invece da attribuirsi al *Myotis punicus* (Agnelli *et al.*, 2004) (Figura 9).



Figura 9. Mappa di distribuzione del Vespertilio maggiore (*Myotis myotis*) (Hutson *et al.*, 2008).

Valutata Vulnerabile (VU) per il declino della popolazione, è una specie per la quale si è notata una significativa diminuzione sul territorio, rappresentata sia dalla riduzione numerica che dalla scomparsa di colonie importanti. In Italia meridionale tende a riprodursi in grotte soggette a minacce per sfruttamento turistico e accessi non controllati, mentre nella parte settentrionale della penisola la si trova in vecchi edifici oggetto di ristrutturazioni. È inoltre minacciata dalla progressiva alterazione dei siti ipogei e degli edifici, siti importanti per le diverse fasi del ciclo vitale. La sorprendente velocità con cui stanno scomparendo gli habitat porta a stimare riduzione della popolazione ad una velocità superiore al 30% in 3 generazioni (Rondinini *et al.*, 2013). Infatti, benché a livello europeo lo *status* di questo *taxon* sia

considerato a minor rischio (LC), in Italia è stato considerato vulnerabile (VU) (Hutson *et al.*, 2001; Rondinini *et al.*, 2013).

2.3.2. *Myotis blythii* (Tomes, 1957), il Vespertilio minore o di Blyth.



Figura 10. Esemplare di *Myotis blythii* fotografato nel tunnel di una miniera a Montecatini Val di Cecina (Toscana).

- Descrizione morfologica

Il Vespertilio di Blyth ha una pelliccia dal colore molto variabile, generalmente nerastra ma il dorso spesso è marrone con marcate sfumature grigie alla base del pelo e la parte addominale è color panna con sfumature grigie (Figura 10). La sua morfologia è quasi indistinguibile da *Myotis myotis*, sebbene quest'ultimo, ad un occhio esperto, appaia leggermente più grande, con il muso lievemente più appuntito, le orecchie un po' più slanciate e il trago più stretto (Arlettaz *et al.*, 1991) (Figura 8). Come per il Vespertilio maggiore, si ricorre a misurazioni morfometriche per essere certi dell'identificazione anche se è sempre auspicabile l'analisi genetica (Ruedi *et al.*, 1990; Arlettaz *et al.*, 1997a). Può presentare una piccola macchia bianca sul vertice, sempre assente invece nel *M. myotis*. Presenta orecchie grandi, lunghe (orecchio 21-23 mm) e strette, con trago sottile e lanceolato, la lunghezza del corpo è compresa tra 62 e 71 mm mentre coda e avambraccio sono rispettivamente 53-59 mm e 52,5-59 mm; la sua apertura alare è di 380-400 mm per un peso compreso tra i 15 e i 28 g.

- Biologia ed ecologia

Il Vespertilio di Blyth è considerato specie sedentaria con migrazioni occasionali fino a 488 Km (Hutterer *et al.*, 2005). Gli ambienti di foraggiamento sono caratterizzati da copertura erbacea come steppe, praterie, pascoli e prati polifiti con alte erbe. La sua dieta è composta prevalentemente da insetti cacciati direttamente sulla vegetazione erbacea volando a raso del suolo, principalmente Ortotteri Tettigonidi. Ulteriori componenti trofiche importanti sono le larve dei Lepidotteri e i Coleotteri Melolontidi (Arlettaz, 1996). Le colonie riproduttive si trovano all'interno di edifici o cavità ipogee relativamente calde mentre l'ibernazione avviene solitamente in ambienti ipogei (Furmana e Özgülb, 2004; Berková *et al.*, 2014).

- Distribuzione

Diffusa maggiormente nell'Europa meridionale, anche se arriva a Nord est fino alla Polonia e verso Est fino alla catena himalayana, alla Mongolia e alla Cina (Novak, 1991; Piksa, 2006) Smith e Xie, 2008). Sul Caucaso è stata confermata la sua presenza a quote non superiori ai 1.700 m (Huston *et al.*, 2008), tuttavia, è stato trovato fino a 2.100 m in inverno nel Sud della Spagna (Palomo e Gisbert, 2002). In Italia la specie è nota per l'intero territorio, con esclusione della Sardegna ed è segnalata dal livello del mare fino a circa 1.000 m di altitudine (Spagnesi e Toso 1999; Agnelli *et al.*, 2004; Ruffo e Stock, 2005).

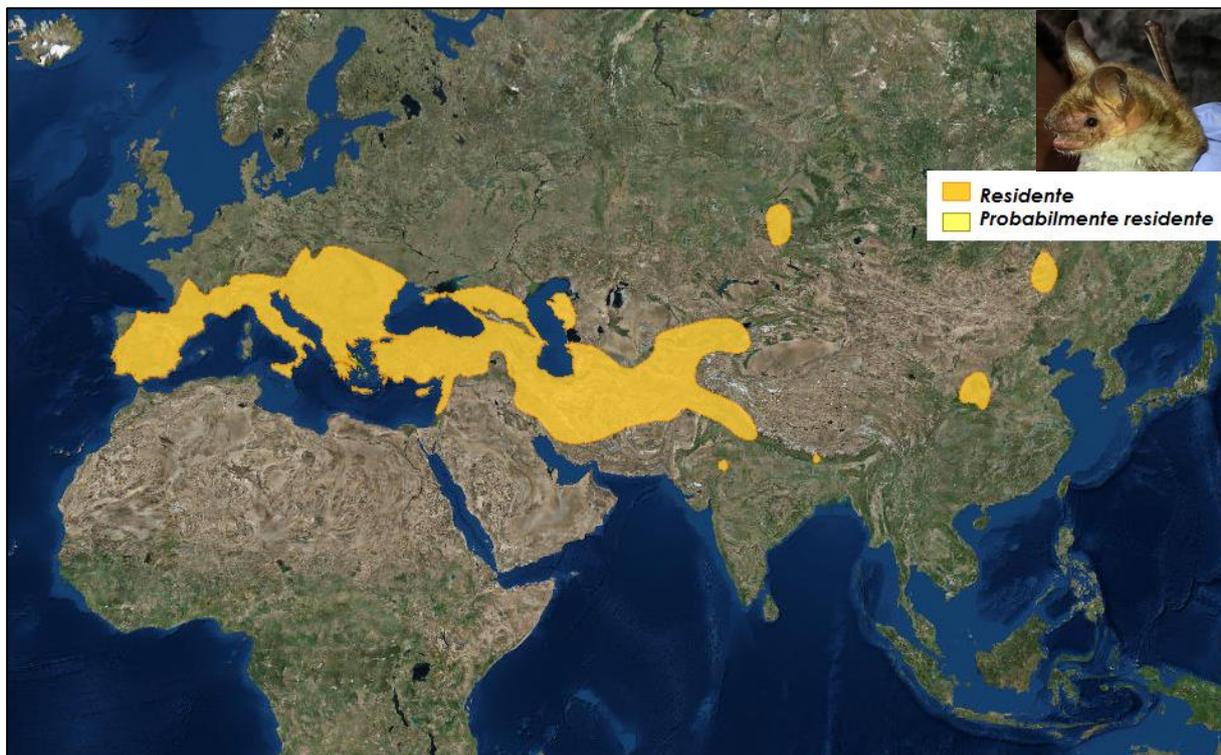


Figura 11. Mappa di distribuzione di *Myotis blythii* (Hutson *et al.*, 2008).

Per quanto riguarda il suo stato di conservazione, la situazione è la medesima del Vespertilio maggiore quindi, a livello europeo, è anch'essa considerata a minor rischio, LC, mentre in Italia risulta vulnerabile, VU (Hutson *et al.*, 2001; Rondinini *et al.*, 2013).

2.3.3. *Myotis punicus* (Felten, 1977), il Vespertilio magrebino.



Figura 12. Esemplare di *Myotis punicus* della Grotta Sa Rocca Ulari nel comune di Borutta (Sardegna).

- Descrizione morfologica

Il Vespertilio magrebino è difficilmente distinguibile da *Myotis myotis* e *M. blythii* e originariamente, infatti, è stato descritto come sottospecie di *M. blythii*, ma recentemente è stato dimostrato che questa specie si trova all'esterno della clade che include *M. blythii* e *M. myotis* (Ruedi e Mayer, 2001).

Questo vespertilio ha una pelliccia dal pelo corto, denso e lanoso. Le parti dorsali sono marrone/bruno chiaro mentre le parti ventrali sono biancastre. La base dei peli risulta più scura in tutto il corpo. Le orecchie sono lunghe e larghe, con un trago sottile, lungo e lanceolato. Il corpo, del peso di 20-33 g, è massiccio e lungo 67-79 mm fino alla coda che sporge dall'uropatagio e misura 50-60 mm. L'avambraccio è compreso tra i 57 e i 63 mm per una apertura alare di 350-410 mm (Mucedda e Pidinchèdda, 2010).

- Biologia ed ecologia

Essendo un *taxon* recentemente elevato al rango di specie non gode ancora di una conoscenza approfondita e vi sono tuttora pochi studi eto-ecologici. Le aree di foraggiamento di questa specie sono solitamente legate ad ambienti semi-desertici, ma anche la macchia mediterranea ed i boschi sono tipici del suo areale. Trova rifugio in siti sotterranei, eventualmente anche in edifici e ponti e la si trova singolarmente o in gruppi fino a diverse migliaia di individui in grotte e miniere abbandonate. Poco si sa anche sugli spostamenti del Vespertilio magrebino. Alcuni esemplari inanellati a Malta sono stati ricatturati a Gozo, ma non ci sono indicazioni di movimenti di distanza più lunghi (Hutterer *et al.*, 2005).

Si nutre in habitat aperti prevalentemente di ortotteri, coleotteri e larve di lepidotteri, catturati al suolo (Beuneux, 2004).

- Distribuzione

Myotis punicus è presente nella parte Nord-occidentale dell'Africa (Marocco, Algeria, Tunisia e in Libia occidentale) e sulle isole mediterranee di Corsica, Sardegna e Malta (compresa l'isola di Gozo). In Corsica è segnalato ad altitudini comprese tra 0 e 1480 m (Beuneux, 2004).



Figura 13. Mappa di distribuzione di *Myotis punicus* (Hutson *et al.*, 2008).

C'è un evidente declino della popolazione in Corsica e si presume che il *trend* sia simile in Sardegna dove la specie affronta le stesse minacce di conservazione legate alla perdita di habitat. Indagini condotte a Malta su questa specie hanno mostrato, nell'isola, un declino stimato del 50% in sole 3 generazioni, aspetto da tenere in considerazione anche se si tratta di

una piccola parte della popolazione generale e se la situazione ora è stabilizzata (Baron e Vella, 2010).

Dato che è una specie rigorosamente legata a rifugi ipogei, la situazione critica presente in Nord Africa per lo sfruttamento delle grotte ha portato a classificarla NT, prossima alla minaccia rispetto alla classificazione DD (carenza di informazioni) del 2004 (Aulagnier *et al.*, 2008).

2.3.4. Sistematica e zoogeografia.

La maggior parte degli studi effettuati sia a livello ecologico e sia morfologico riguardano le due specie gemelle *Myotis myotis* e *M. blythii* mentre ben poco è stato fatto riguardo *M. punicus*.

L'effettiva distribuzione geografica delle prime due specie, pienamente simpatriche nella regione paleartica occidentale, è stata per lungo tempo oggetto di discussione. Il problema riguarda in particolare l'attribuzione specifica di popolazioni marginali delle isole del Mediterraneo e delle zone adiacenti del Nord Africa e dell'Asia, che risultavano morfologicamente intermedie tra i *M. myotis* e *M. blythii* dell'Europa continentale.

La distinzione mediante analisi genetica delle due specie è stata opportunamente documentata solo per l'Europa continentale, dove le due specie mostrano una stretta somiglianza morfologica formando spesso colonie miste, senza tuttavia ibridarsi (Ruedi *et al.*, 1990; Arlettaz *et al.*, 1991). Non vi sono dati simili per altre regione geografiche.

Nel 1996 uno studio di Arlettaz *et al.* (1996) tenta di chiarire questo aspetto utilizzando quattro diversi approcci: morfologia craniale, morfologia esterna, genetica ed ecologia trofica. Gli ultimi tre approcci hanno mostrato inequivocabilmente che Nord Africa, Malta, Sardegna e Corsica sono abitate da popolazioni monospecifiche di *M. myotis*. La morfometria cranica invece non ha dato alcun riscontro. I risultati di Arlettaz contraddicono tutti gli studi effettuati fino a quel momento, nei quali le popolazioni nord africane e Maltesi sono state attribuite a *M. blythii* e in cui si afferma che Sardegna e Corsica ospitano popolazioni simpatriche delle due specie. Per quanto riguarda le popolazioni sud-orientali ci sono dubbi circa l'attribuzione della sottospecie *M. blythii omari* Thomas, 1906 che effettivamente poteva riferirsi a *M. myotis* e non a *M. blythii*.

Sebbene l'analisi genetica sia attualmente l'unico metodo disponibile per determinare con certezza gli areali di distribuzione di *M. myotis* e *M. blythii*, gli altri aspetti studiati da Arlettaz hanno dato interessanti risultati dimostrando che tutte le recensioni fatte da autori precedenti non sono effettivamente utili per ricostruire la storia zoogeografica di queste due specie

(Findley, 1971; Strelkov, 1972; Felten *et al.*, 1977; Bogan *et al.*, 1978; Corbet, 1978; Koopman, 1993). Infatti questi studi sono fatti su caratteri morfologici, come ad esempio le dimensioni complessive, che possono avere origine adattativa oltre che essere soggette a variazioni individuali. I risultati di Arlettaz dimostrano che le specializzazioni ai diversi habitat sono probabilmente responsabili delle differenze osservate nella distribuzione geografica delle due specie, poiché forniscono un fondamento logico per un coerente modello di speciazione. Eppure, rimane poco chiaro se la concorrenza abbia giocato un qualche ruolo dinamico nella segregazione di nicchia durante il passato e, possibilmente, nella speciazione di *M. myotis* e *M. blythii*. In ogni caso, poiché la speciazione simpatica risulta improbabile per quanto riguarda *M. myotis* e *M. blythii*, soprattutto per la loro tendenza a riunirsi in colonie miste riproduttive, è quasi certo che la separazione di nicchia sia avvenuta allopatricamente durante gli eventi di speciazione (Arlettaz *et al.*, 1997a).

Da un punto di vista filogenetico lo studio degli stili di foraggiamento dei Vespertilionidae suggerisce che l'area di alimentazione è ancestrale e la successiva diversificazione è associata al partizionamento e alla specializzazione trofica ad esempio della caccia sull'acqua (Fenton e Bogdanowicz, 2002).

La competizione interspecifica non sembra aver giocato alcun ruolo nel processo di partizionamento; ciò conferma che la convivenza di queste due specie in totale simpatria sia possibile grazie ad una netta suddivisione delle risorse alimentari (Arlettaz *et al.*, 1997). Infatti, *M. myotis* e *M. blythii*, separati da un antenato comune nel Pleistocene (Arlettaz *et al.*, 1997a), hanno raggiunto una segregazione di nicchia selezionando diversi microhabitat di foraggiamento e sfruttando diverse prede. Il *M. myotis* cattura le sue prede direttamente sul terreno nudo, sull'erba appena falciata o su lettiera di bosco e si nutre principalmente di Coleotteri e Carabidi in boschi, frutteti e prati da pascolo (Arlettaz, 1999). *M. blythii*, invece, cattura la sua preda principalmente dalla cotica erbosa, nell'erba fitta ed è specializzato in cavallette che trova facilmente in praterie come steppe o prati da fieno (Arlettaz *et al.*, 1997; Arlettaz, 1999). Entrambe le specie si basano in gran parte anche su ascolto passivo (ovvero non tramite l'eco di ritorno dell'ecolocalizzazione) per rilevare la preda nascosta nel substrato (Arlettaz *et al.*, 2001).

La distribuzione geografica della terza specie del gruppo dei "Grandi *Myotis*" ovvero *M. punicus*, è stata confermata relativamente da poco. L'ipotesi che nel Nord Africa ci sia una sola specie di grande *Myotis*, ovvero *M. blythii*, è stata riconosciuta da diversi autori (ad es. Ellerman Morrison-Scott, 1965; Aellen e Strinati, 1970; Strelkov, 1972; Felten *et al.*, 1977; Bogan *et al.*, 1978; Hanak Elgadi, 1984; Aulagnier Thevenot, 1986; Horacek Gaisler, 1986), tuttavia alcuni hanno espresso dubbi su questa ipotesi (Strinati, 1951; Gaisler, 1983). Ci sono

state poi attribuzioni a sottospecie come *M. blythii oxygnathus* e *M. blythii omari* (Strelkov, 1972) e Felten ha poi proposto una nuova sottospecie per il Nord Africa, *M. blythii punicus* (Felten *et al.*, 1977). L'attribuzione del Vespertilionidae del Nord Africa ad una delle due specie *M. myotis* e *M. blythii* non è stata cosa semplice dato che ha caratteristiche morfologiche e dimensioni intermedie tra le due (Felten *et al.*, 1977; Benda e Horacek, 1995). Un acceso dibattito ha riguardato la sua possibile posizione sistematica: è stato considerato sia una forma più piccola di *M. myotis*, sia una forma più grande di *M. blythii* (Ellerman e Morrison-Scott, 1966; Felten *et al.*, 1977; Bogan *et al.*, 1978; Corbet, 1978; Benda e Horacek 1995). Sulla base di campioni provenienti dal Maghreb, dalla Sardegna, Corsica e Malta, Felten li descrive sotto il nuovo nome di *M. blythii punicus* Felten, 1977 (Felten *et al.*, 1977). Oggi è descritto come una specie distinta dagli altri *Myotis* sia grazie a dati di misurazione morfometrica, sia sulla base di nuove analisi genetiche (Benda e Horáček, 1995; Arlettaz *et al.*, 1997; Evin *et al.*, 2008). La specie, che si distingue da *M. myotis* e *M. blythii*, è denominata quindi *Myotis punicus* Felten, 1977 (Castella *et al.*, 2000).

La presenza delle due specie criptiche *M. myotis* e *M. blythii* nelle isole del Mediterraneo è sempre stato argomento di dibattito (Strelkov, 1972; Felten *et al.*, 1977; Arlettaz *et al.*, 1997a). Felten *et al.* (1977) hanno attribuito i *Myotis* della Corsica, Sardegna e Malta al *M. blythii punicus* invece che al *M. blythii omari*. In Sardegna, Frick e Felten (1952) e Miller (1966) hanno segnalato solo il *M. myotis* (Lanza, 2012); Strelkov (1972) ha attribuito la maggior parte dei *Myotis* sardi a *M. blythii omari*, non negando l'eventuale presenza di *M. myotis* sull'isola. Kahmann e Goerner (1956) hanno identificato tutti i *Myotis* trovati sulla Corsica come *M. myotis*.

Il confronto biometrico degli esemplari della Sardegna (Mucedda e Nuvoli, 2000) ha permesso di stabilire che la popolazione sarda del “grande *Myotis*” ha caratteri biometrici omogenei in tutta l'isola.

In Corsica, Joleaud (1926) e poi Strinati (1954), Kahmann e Brotzler (1955) e Kahmann e Goerner (1956) hanno in passato segnalato la presenza del *M. myotis* mentre attualmente le popolazioni sono tutte attribuite a *M. punicus*. All'interno del *taxon*, il cranio di popolazioni della Corsica e della Sardegna differisce significativamente da quello degli animali magrebini, suggerendo l'esistenza di ulteriori elementi criptici nella diversità tassonomica della specie a questo livello. (Evin *et al.*, 2008).

Lo studio più recente riguarda l'analisi mitocondriale fatta su campioni di colonie della Corsica, Sardegna e Nord Africa. I risultati hanno mostrato come nelle isole non ci sia alcuna differenza tra le colonie, mentre a livello continentale popolazioni marocchine e tunisine sono risultate altamente differenziate (Biollaz *et al.*, 2010). La colonizzazione delle due isole, con

flussi provenienti dal territorio magrebino, sembra essere avvenuta grazie a punti che possono aver fatto da tramite certamente in una data precedente alla colonizzazione umana. Attualmente il mare aperto sembra impedire lo scambio di pipistrelli tra le due isole, nonostante le loro capacità di volo e la ristrettezza delle Bocche di Bonifacio. Le popolazioni della Corsica e della Sardegna sono quindi attualmente isolate da qualsiasi *pool* genico continentale e pertanto devono essere considerate come diverse unità evolutivamente significative (Biollaz *et al.*, 2010).

Vi sono due aspetti nella storia naturale del *M. punicus* che molto probabilmente hanno giocato un ruolo fondamentale in questo processo. In primo luogo il fatto che il Vespertilio magrebino generalmente non si spinga oltre barriere acquatiche naturali (Biollaz *et al.*, 2010). In secondo luogo il fatto che sia una specie opportunista, un predatore generalista come osservato nelle differenti proporzioni di insetti che compongono la sua dieta. La dieta del *M. punicus* maltese è maggiormente composta da ortotteri (65%), e da lepidotteri e coleotteri (20 e 15% rispettivamente) per la restante parte (Borg, 1998), mentre in Corsica, lepidotteri e coleotteri coprono la percentuale maggiore e gli ortotteri costituiscono solo il 36 % della dieta (Beuneux, 2004).

Oggi il *M. punicus* è l'unica specie che abita le isole maltesi. L'ipotesi sulle ragioni che hanno portato questa specie ad espandere la sua nicchia ecologica riguardano la competizione intraspecifica derivante dalla distruzione dell'habitat e delle ridotte risorse alimentari e il possibile ruolo dell'estinzione locale del *R. ferrumequinum* sulle Isole maltesi. Questa ipotesi è solo parzialmente sostenuta dai dati sin ora acquisiti (Baron e Borg, 2011).

Lo studio della morfometria di *Myotis punicus*, è stato affrontato solo in quattro lavori: Dietz e von Helversen (2004) in Europa, Beuneux (2004) in Corsica e Kowalski e Rzebik - Kowalska (1991) in Algeria e più recentemente da Baron e Borg (2011) in Malta. La distribuzione di *Myotis punicus* si estende dall'Africa nord occidentale in Marocco, Algeria e Tunisia, raggiungendo la Tripolitania a Nord-Ovest della Libia e verso Nord fino alle isole europee di Malta e Gozo, Corsica e Sardegna (Felten *et al.*, 1977; Arlettaz *et al.*, 1997a; Borg, 1998; Castella *et al.*, 2000; Mucedda e Nuvoli, 2000; Topál e Ruedi, 2001; Beuneux, 2004).

Riguardo a Creta per chiarire la posizione tassonomica delle popolazioni del luogo è stato fatto un confronto tra campioni di *Myotis blythii* dell'isola con conspecifici provenienti dall'isola di Lesvos (Egeo, settentrionale, Grecia) e da regioni del bacino mediterraneo incluso Europa, Medio Oriente e Asia centrale.

I risultati mostrano che il Vespertilio minore cretese ha dimensioni dell'avambraccio e del cranio intermedie tra gli altri due gruppi mentre l'apparato masticatore è significativamente di dimensioni minori nelle popolazioni comparative. I dati emersi suggeriscono che la

precedente assegnazione delle popolazioni cretesi di *M. blythii* alla sottospecie mediorientale *M. b. omari* non è giustificabile (Georgiakakis *et al.*, 2012). Tuttavia sono necessari studi in ambito ecologico e genetico per verificare se il *Myotis blythii* cretese sia tassonomicamente in transizione tra il più piccolo *M. b. oxygnathus* presente in Europa meridionale e il più grande *M. b. omari* del Mediterraneo orientale, oppure se sia il risultato degli effetti biogeografici insulari o di specializzazione alimentare (Georgiakakis *et al.*, 2012).

È importante specificare che, benché si continui ad attribuire le popolazioni europee a *Myotis blythii*, si è scoperto che potrebbero invece essere *Myotis oxygnathus*. Il *M. blythii*, descritto da Tomes nel 1857, secondo ricerche sul DNA mitocondriale, risulta geneticamente diverso da *M. oxygnathus* e più vicino a *M. myotis* che non a *M. blythii* (Ruedi e Mayer, 2001). Tuttavia Ruedi e Mayer hanno studiato individui di Oš (Kirghizistan) ovvero di una località diversa da quella usuale della specie e considerano *M. oxygnathus* una sottospecie del *M. blythii*. Il *M. oxygnathus* è indicata anche da Lanza (2012) come specie monotipica a sé stante e non come sottospecie di *Myotis blythii*, così come riportato in altri autori (Simmons, 2005; Dietz *et al.*, 2007).

In Aulagnier *et al.* (2008) comunque viene considerato come le popolazioni europee, in modo conservativo, vadano attribuite a *M. blythii*. Ugualmente, oltre che per considerare in modo organico le diverse pubblicazioni che applicano in modo differente le correnti di pensiero sistematico, si è mantenuto per la specie nell'ambito della presente ricerca la denominazione più affermata di *M. blythii*.

3. LA BIOACUSTICA NEI CHIROTTERI

Molti animali emettono suoni a frequenze superiori ai 17-20 kHz, che rappresentano la frequenza limite percepibile dall'orecchio umano. L'ascolto degli ultrasuoni prodotti da animali è stato possibile per la prima volta nel 1938, quando D. Griffin inventa un convertitore di ultrasuoni che gli permette di sentire le emissioni prodotte dagli insetti abbassandone le frequenze fino a renderle udibili per l'uomo. In seguito scopre che i pipistrelli volano emettendo continuamente sequenze di brevi impulsi ultrasonori (Griffin, 1960). Questa scoperta rispolverò le teorie di Lazzaro Spallanzani (Figura 14) il quale, nel 1793, comprese che i pipistrelli utilizzano una tecnica di percezione dell'ambiente che non ha nulla a che fare con la vista. Egli, infatti, dopo aver accecato i pipistrelli, scopre che essi evitano comunque gli ostacoli e sono in grado di cacciare gli insetti con la stessa efficienza. Spallanzani riferì questo esperimento in una lettera scientifica, in cui sostiene che i pipistrelli utilizzano un sesto senso che gli permette di evitare gli ostacoli nella totale oscurità (Spallanzani, 1794). Alcuni anni dopo, poco prima della sua morte, egli giunge quasi alla soluzione del problema e, occludendo i condotti uditivi dei pipistrelli con della cera, scopre che gli animali non sono più in grado di percepire in modo preciso gli oggetti durante il volo e quindi il loro sesto senso è in qualche modo legato all'udito. Queste scoperte furono accolte con scetticismo: la loro spiegazione ha dovuto attendere più di un secolo e mezzo prima che Galambos e Griffin riuscissero a dimostrare che il volo e la caccia dei pipistrelli risultano compromessi se si impedisce loro di emettere suoni (Galambos e Griffin, 1942). Si dedusse infine che i pipistrelli usano i suoni da loro emessi per orientarsi durante il volo, ovvero utilizzano l'ecolocalizzazione (Galambos, 1945).

La scoperta di Griffin stimolò molte ricerche in questo campo e viene così scoperto che la stragrande maggioranza dei Chiroterri utilizzano l'ecolocalizzazione quale principale senso per l'esplorazione spaziale e la caccia delle prede.

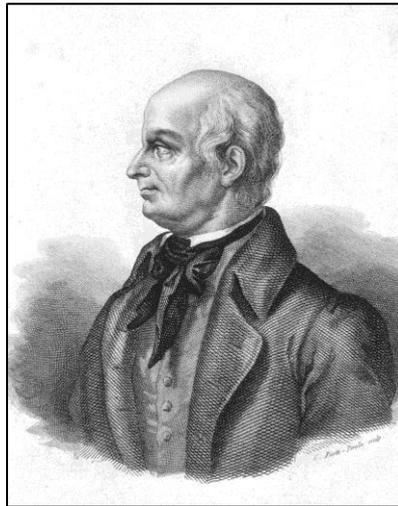


Figura 14. Lazzaro Spallanzani (1729-1799).

3.1. Struttura dei sonogrammi e loro funzione nell'ecolocalizzazione dei Chiroteri.

L'ecolocalizzazione si basa sull'emissione di un suono da parte dell'animale e l'elaborazione delle differenze di tempo, timbro e struttura dell'eco di ritorno per interpretare l'ambiente circostante (Figura 15).

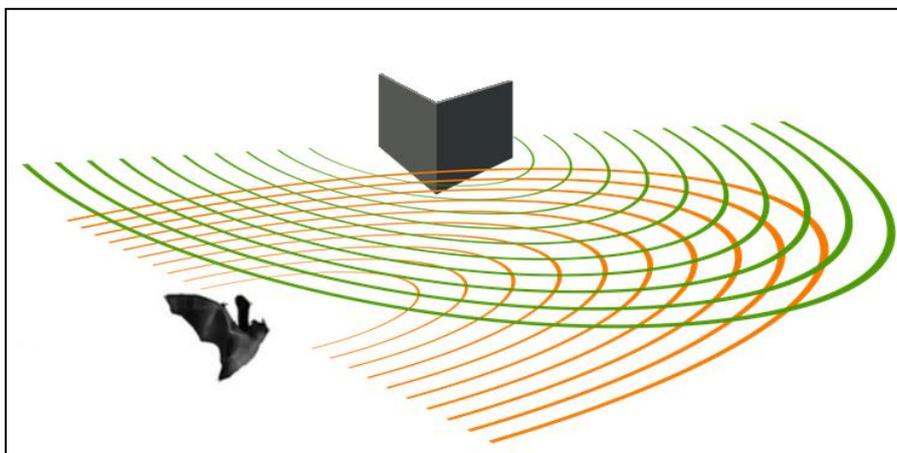


Figura 15. Una rappresentazione dei segnali ad ultrasuoni emessi da un pipistrello e l'eco di ritorno proveniente da un oggetto nelle vicinanze.

Il suono è generato da movimenti vibratori provenienti da un corpo chiamato “sorgente” del suono. Le vibrazioni creano una variazione di pressione nelle particelle dell'aria, o di qualsiasi mezzo elastico, le quali trasmettono meccanicamente l'onda pressoria le une alle altre dando origine ad un'onda sonora.

L'onda sonora può essere rappresentata su un grafico cartesiano in cui vi sia il tempo sull'asse delle ascisse e gli spostamenti delle particelle sulle ordinate (Figura 16).

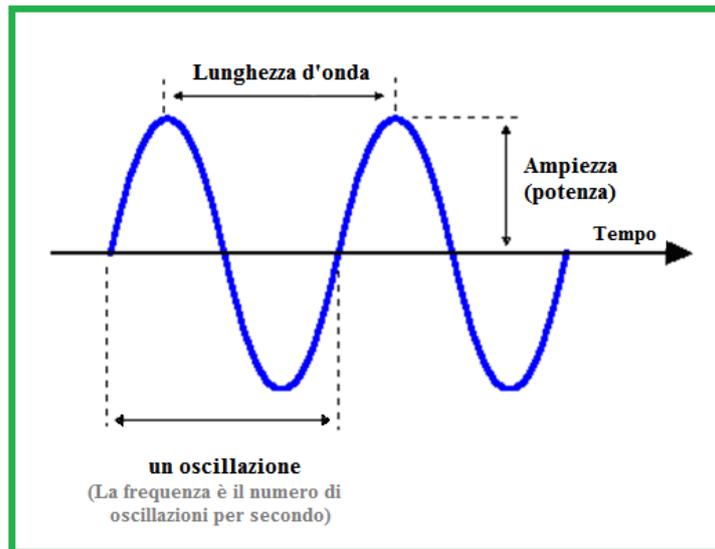


Figura 16. Rappresentazione grafica di un'onda sonora.

La velocità di questa diffusione, quindi la velocità del suono, varia con la temperatura dell'aria con valori di 331, 343 e 355 m/s rispettivamente alle temperature di 0, 20 e 40°C. Altre variabili atmosferiche come umidità e pressione hanno un effetto trascurabile sulla velocità del suono rispetto ad altre condizioni biologicamente rilevanti. Il suono viene descritto in termini di velocità, frequenza, lunghezza d'onda e ampiezza. La frequenza descrive quante oscillazioni si verificano per unità di tempo, misurato in cicli al secondo oppure in hertz (Hz). Il tempo richiesto ad una singola oscillazione di attraversare un punto stazionario definisce il periodo, mentre la distanza percorsa da un'onda sonora in quel dato periodo è definita come la lunghezza d'onda (graficamente la distanza tra due picchi successivi di un'oscillazione) (Figura 16). Velocità, frequenza e lunghezza d'onda sono correlati secondo l'equazione $v = f \lambda$. Frequenza e lunghezza d'onda sono inversamente proporzionali, quindi frequenze molto alte hanno lunghezze d'onda brevi. Le lunghezze d'onda degli impulsi di ecolocalizzazione di un chiroterro variano da circa 3 cm, per suoni nel *range* di udibilità umana, a meno di 2 mm per vocalizzi di frequenza più alta intorno ai 200 kHz.

Quando un animale produce un suono questo si propaga nell'aria e una volta incontrato un ostacolo, viene riflesso e percepito dall'animale che lo ha emesso sotto forma di eco di ritorno. Il pipistrello è in grado di misurare il tempo intercorso tra l'istante in cui il suono è stato prodotto e quello in cui l'eco è stato udito. Dato che la velocità del suono è quasi costante (340 m/s nell'aria) e che la velocità è data dallo spazio diviso il tempo, il pipistrello conoscendo il tempo che impiega l'eco a ritornare calcola di fatto la distanza dall'oggetto.

Le dimensioni di un oggetto devono essere maggiori della metà della lunghezza d'onda emessa affinché l'oggetto venga colpito dagli impulsi sonori e generi un eco di ritorno. Ne

conseguono che le frequenze più alte forniranno una maggiore risoluzione dell'oggetto al pipistrello che sta ecolocalizzando. Come regola generale si può affermare che pipistrelli che utilizzano frequenze molto alte tendono ad inseguire prede più piccole mentre quelli che utilizzano frequenze più basse sono limitati a seguire prede più grandi (Parsons e Szewczak, 2009).

I Chirotteri producono il suono grazie alle vibrazioni della laringe al passaggio dell'aria e ne captano l'eco per mezzo di un padiglione auricolare particolarmente sofisticato, dove la pinna insieme al trago o all'antitrigo convogliano il suono verso il timpano. L'udito è quindi particolarmente direzionale dando così informazioni precise circa la posizione della preda; il gioco pinna-trago permette alla maggior parte dei pipistrelli di avere una sensibilità ai suoni che giungono direttamente contro di loro secondo un angolo di soli 30-40° (Russo, 2013). L'effetto stereo dato dalla presenza di due orecchie fa sì che l'animale riceva l'eco in tempi diversi a seconda che la preda si trovi a destra o a sinistra e questo aumenta ulteriormente la precisione dell'ascolto portando agevolmente il pipistrello a risolvere angoli orizzontali pari a poco più di 1°. In particolare, il calcolo del ritardo temporale dell'eco consente, non solo di determinare con precisione la distanza del bersaglio, ma anche di ricavare le caratteristiche della preda (Neuweiler, 1984; Russo e Jones, 2002). I suoni emessi dai Chirotteri non sono generalmente suoni udibili, per le alte frequenze in gioco. I Chirotteri della fauna italiana emettono i suoni dalla bocca ad eccezione dei Rhinolophidae (*Rhinolophus* spp.) e, tra i Vespertilionidae, gli Orecchioni (*Plecotus* spp.) i quali convogliano i suoni attraverso il naso.

3.1.1. Struttura e analisi dei sonogrammi

Gli impulsi ultrasonori emessi da un chirottero sono costituiti da una serie di "clic" che colpiscono gli oggetti circostanti; tale serie è definita sequenza (Figura 17). Ogni singolo impulso della sequenza viene detto *call* ma anche *pulse* o *signal element* (Figura 18). Le informazioni contenute in questa sequenza sono in relazione al tempo e alla frequenza, ma mentre il tempo è una variabile relativamente semplice a cui accedere, la frequenza deve essere ottenuta attraverso l'elaborazione basata su funzioni matematiche discrete. Fortunatamente le applicazioni per l'analisi del suono eseguono automaticamente questi calcoli e la rappresentazione grafica rende agevole l'analisi attraverso quello che si chiama uno spettrogramma.

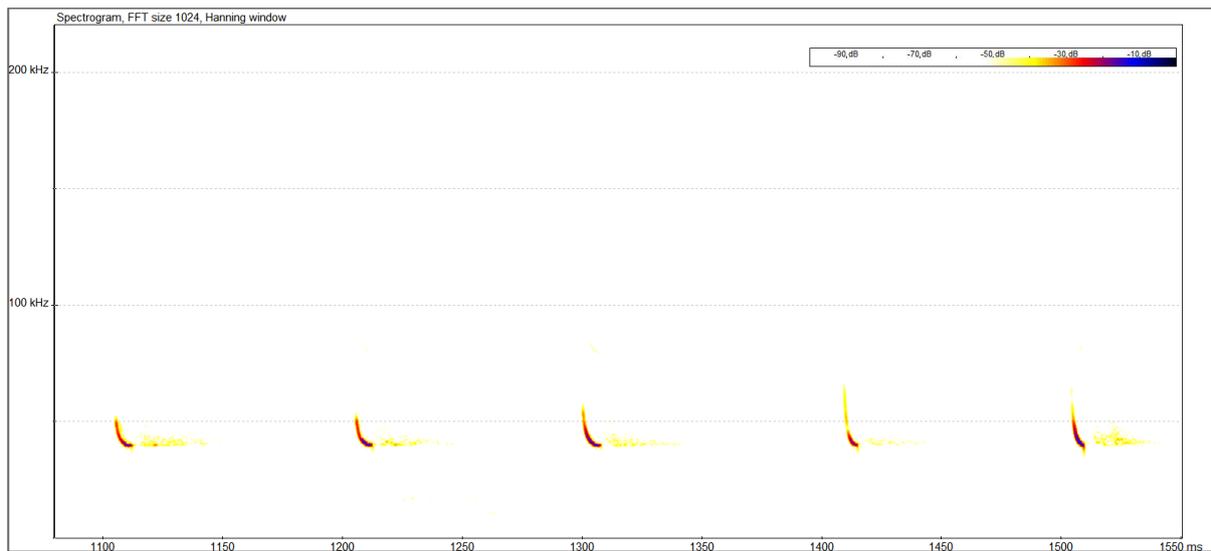


Figura 17. Spettrogramma di una sequenza di ecolocalizzazione di Pipistrello albolimbato (*Pipistrellus kuhlii*).

Lo spettrogramma è la rappresentazione grafica dell'intensità di un suono in funzione del tempo e della frequenza in hertz (Hz) come è visibile in Figura 17 dove sull'asse delle ascisse è riportato il tempo in scala lineare, sull'asse delle ordinate la frequenza in scala lineare o logaritmica. A ciascun punto è assegnata una tonalità di colore che rappresenta l'intensità del suono in decibel (dB) in un dato tempo e a una data frequenza.

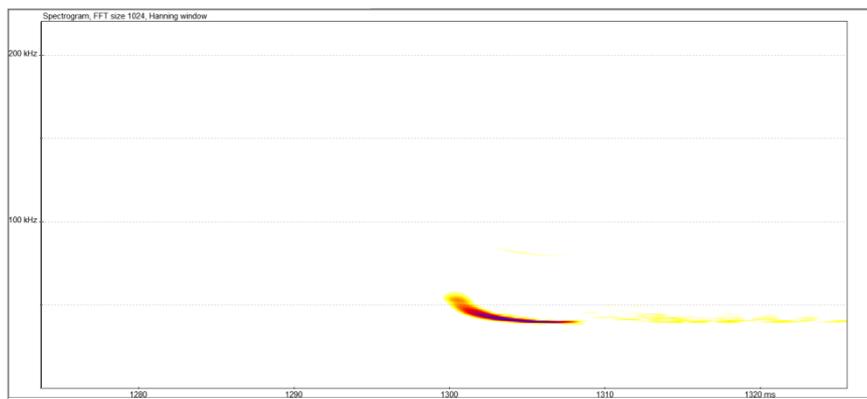


Figura 18. Singolo "pulse" di una sequenza di ecolocalizzazione in Figura 17.

La visione di un sonogramma può essere effettuata anche tramite quello che si chiama un oscillogramma. In questo caso come si evince dalla Figura 19 avremo sempre la variabile tempo sull'asse delle ascisse ma sull'asse delle ordinate non sarà riportata la frequenza ma l'ampiezza dell'onda (Figura 19). L'ampiezza di un'onda sonora rappresenta il massimo spostamento, rispetto alla posizione di equilibrio, che le molecole del mezzo di propagazione compiono al passaggio dell'onda; al crescere dell'ampiezza, aumenta la forza con la quale viene colpito il timpano dell'orecchio e quindi l'intensità con cui il suono è percepito.

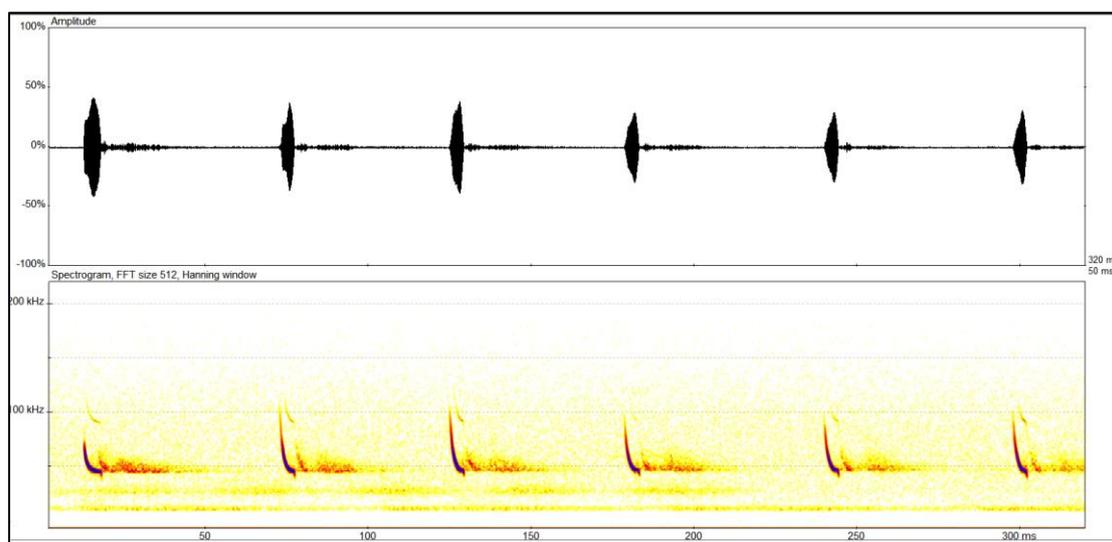


Figura 19. Oscillogramma e spettrogramma di una sequenza di avvicinamento.

Nei segnali dei Chiroterri l'intensità varia in generale dai 60 ai 140 dB (Surlykke *et al.*, 2008). Alcune specie di Chiroterri possono modificare le loro emissioni di media intensità, abbassandola quando si avvicinano ad oggetti che riflettono fortemente il suono in modo che l'eco di ritorno non assordi l'animale (Hiryu *et al.*, 2007b).

Le emissioni ad alta intensità, emesse ad esempio dai pipistrelli che volano in quota (*aerial-hawking*), fino a 133 dB, sono adatte per la caccia a "cielo aperto". L'alta intensità è necessaria per permettere al suono di propagarsi su lunghe distanze dato che l'aria ha un alto assorbimento degli ultrasuoni e poiché le dimensioni degli insetti forniscono solo un bersaglio ridotto per la riflessione del suono (Holderied e Helversen, 2003).

Al contrario i cosiddetti "pipistrelli sussurratori" (*whispering bats*) hanno adattato la loro ecolocalizzazione a basse intensità affinché le loro prede, principalmente falene, in grado di percepire gli ultrasuoni del loro predatore, siano in grado di rilevare ed evitare un pipistrello in arrivo con maggior difficoltà (Fullard, 1997).

Un singolo *call* può durare da 0,2 a 100 millisecondi (*call duration*, *d*), a seconda se l'animale è più o meno in prossimità della preda. Infatti, la durata di solito diminuisce quando il pipistrello è nella fase finale dell'azione di cattura, perché in questo modo il predatore può emettere suoni più rapidamente senza sovrapposizione degli eco e quindi avere informazioni sulla posizione della preda più velocemente (Jones e Holderied, 2007).

L'intervallo di tempo tra impulsi successivi (*pulse interval*, IPI) stabilisce quanto velocemente vengono aggiornate le informazioni uditive sull'ambiente che giungono al pipistrello e, come per la durata del singolo *pulse*, anche l'intervallo tra uno e l'altro viene ridotto mano a mano che si avvicina all'oggetto colpito. Per di più, l'intervallo tra gli impulsi determina l'intervallo massimo in cui i pipistrelli sono in grado di rilevare oggetti, questo accade perché i pipistrelli

possono elaborare gli echi di un'emissione per volta, appena emettono nuovamente ultrasuoni smettono di ascoltare quelli inviati precedentemente (Wilson e Moss, 2004).

Alcuni dei parametri fondamentali per lo studio di un sonogramma sono rappresentati in Figura 20.

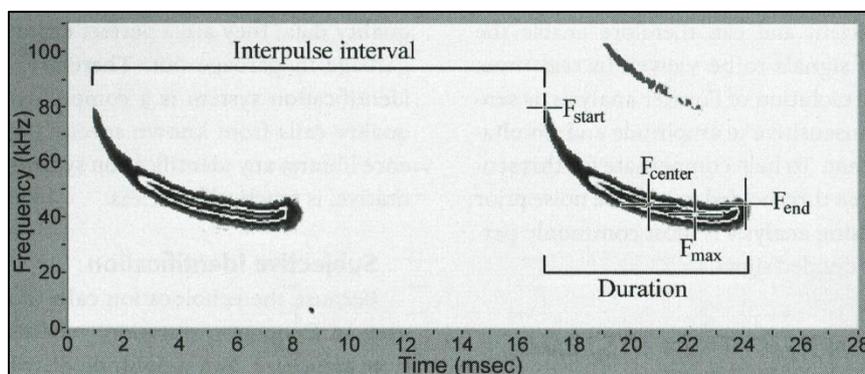


Figura 20. Due *calls* successive di una sequenza di emissione. Sono evidenziati alcuni dei parametri fondamentali di misurazione. IPI (*Interpulse interval*) = distanza tra due *calls* consecutive; F_{start} = Frequenza iniziale; F_{center} = Frequenza centrale; F_{end} = Frequenza finale e F_{max} = Frequenza alla massima energia che si ottiene grazie allo spettro di potenza (da Parsons e Szewczak, 2009).

I suoni delle diverse specie differiscono sia per le frequenze costituenti sia per il modo con cui la frequenza varia nel tempo. Esaminando gli spettrogrammi degli impulsi dei Chiroterri in generale, si riscontra la presenza di diversi tipi di *call*, nella sequenza di ecolocalizzazione, che possono essere presenti singolarmente o in combinazione tra loro:

- **FM** (*frequency modulated*, modulazione di frequenza): segnali con uno spettrogramma lineare molto ripido avendo una frequenza modulata in una banda più o meno ampia (Figura 21). È tipica dei *Myotis* ed è particolarmente adatta per la percezione su lunghe distanze. Più è ampia la banda d'emissione, più è accurata l'immagine acustica del bersaglio (Suga, 1990). Il principale vantaggio conferito da un segnale in modulazione di frequenza è l'estrema precisione con cui viene definito un intervallo di discriminazione o localizzazione del bersaglio. Simmons nel 1980 ha dimostrato questo effetto con una serie di eleganti esperimenti in cui i pipistrelli, utilizzando segnali FM, dimostrano di poter distinguere tra due obiettivi separati anche quando gli obiettivi sono meno di mezzo millimetro di distanza. Questa straordinaria capacità è dovuta all'estensione a banda larga del segnale, che permette una migliore cognizione del ritardo di tempo tra l'impulso emesso e l'eco di ritorno, migliorando così la correlazione incrociata dei due. Inoltre, se al segnale FM vengono aggiunte frequenze armoniche la localizzazione diventa ancora più precisa (Simmons e Stein 1980; Zupanc 2004; Jones e Teeling 2006).

Un possibile svantaggio del segnale FM è un ridotto *range* di azione dell'emissione sonora infatti, dato che l'energia dell'impulso è distribuita su molte frequenze, la distanza alla quale l'animale può rilevare gli oggetti risulta limitata (Fenton, 1995).

Un'altra ragione è dovuta al fatto che l'eco di ritorno, ad una particolare frequenza, può essere valutato solo per una breve frazione di millisecondo, quindi la variazione della frequenza verso il basso è molto veloce e non rimane ad una determinata sequenza per lungo tempo (Grinnell, 1995).

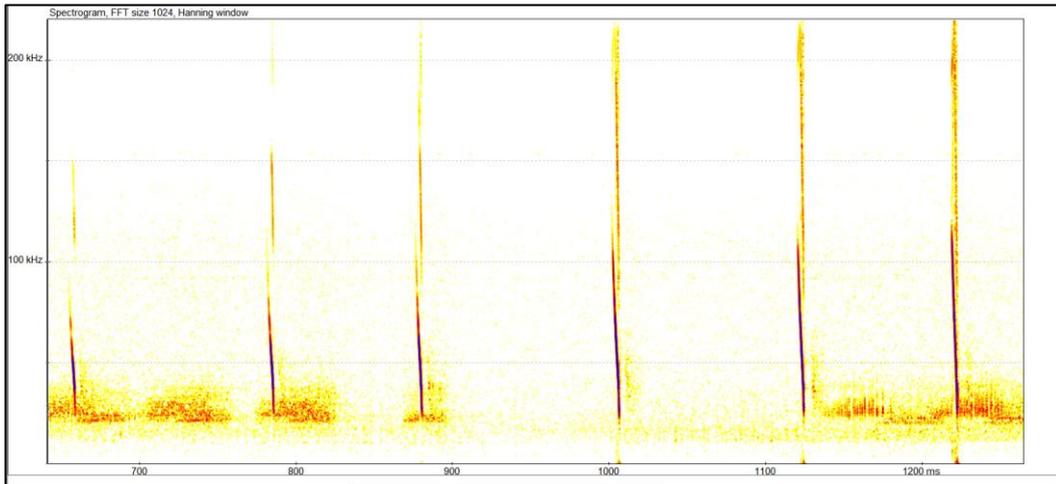


Figura 21. Spettrogramma di un Vespertilio di Natter (*Myotis nattereri*).

Un segnale con una componente in modulazione di frequenza (FM) risulta adatta durante la caccia di prede che volano in ambienti stretti e ingombri. Infatti la precisa localizzazione espressa dal segnale a banda larga permette di distinguere il bersaglio in ambienti con grandi quantità di rumore di fondo grazie appunto ad una vera e propria localizzazione 3D definita da Simmons e Stein (1980) “*clutter rejection strategy*”. Questa strategia è ulteriormente migliorata dall'uso delle armoniche che, come affermato in precedenza, ne esaltano le proprietà di localizzazione dell'ecolocalizzazione. La breve durata dell'emissione FM consente al pipistrello di generare molti impulsi in modo estremamente rapido e senza sovrapposizione, ottenendo così un flusso quasi continuo di informazioni, aspetto essenziale quando gli oggetti sono vicini (Simmons e Stein, 1980; Fenton, 1995; Neuweiler, 2003 Jones e Teeling, 2006).

- **CF** (*constant frequency*, frequenza costante): segnali che risultano per un lungo tratto a frequenza costante (Figura 22). Poiché l'energia del segnale di un'emissione di tipo CF è concentrata in una stretta banda di frequenza, il *range* di azione sarà molto maggiore

di quello di un segnale di tipo FM. Questo si basa sul fatto che, all'interno di una banda di frequenza stretta, si possono sommare gli echi di ritorno su tutta la lunghezza dell'emissione, che mantiene una frequenza costante fino a 100 millisecondi (Fenton, 1995; Grinnell, 1995).

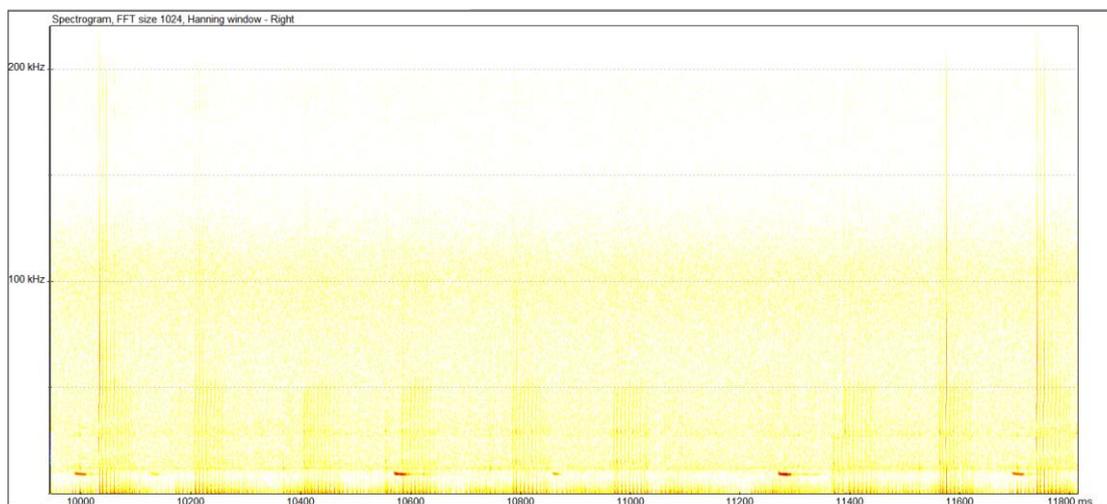


Figura 22. Spettrogramma di un Molosso di Cestoni (*Tadarida teniotis*).

L'emissione a frequenza costante (CF) viene spesso utilizzata da quei Chiroteri che cacciano in ambienti aperti e liberi da ostacoli oppure da quelli che attendono che la loro preda compaia prima di spiccare il volo (*perch hunting*). Il successo di questa strategia sonora nell'individuazione della preda è dovuto alla possibilità di colpire bersagli a grandi distanze abbassando il rischio di sovrapposizione degli eco. Nel caso particolare dei Rhinolophidae (*Rhinolophus* spp.) si ha un'emissione del tipo FM-CF-FM, con una componente CF abbastanza lunga, da 8 a 50 ms, preceduta e seguita da due brevi tratti FM, ovvero due brevi componenti del segnale in modulazione di frequenza tra cui è interposta una lunga componente a frequenza costante (Figura 23). Il tratto del segnale a più elevato contenuto energetico è quello a frequenza costante, molto sensibile ai movimenti delle prede in ambienti chiusi e con vegetazione fitta. Il battito delle ali della preda arricchiscono la componente CF di punti con picchi di energia maggiori (*“acoustic glints”*, Neuweiler, 1989, 2003); queste piccole variazioni permettono al predatore di dedurre dimensioni e forma della preda e possono essere percepite grazie alla presenza della fovea acustica, un filtro di frequenza cocleare specie-specifico (Schuller e Pollak, 1979).

La struttura di questo tipo di segnale diviene adattativa in quanto permette all'animale di rilevare sia la velocità di un bersaglio che lo spostamento di quest'ultimo.

Emissioni a banda lunga e stretta consentono di rilevare gli spostamenti tenendo conto dell'effetto Doppler e questo è assai utile nella caccia da un punto fermo. (Simmons e Stein 1980; Fenton 1995; Neuweiler 2003; Jones e Teeling 2006).

L'effetto Doppler è un'alterazione nella frequenza dell'onda sonora e si verifica in due situazioni fondamentali: quando il pipistrello e la sua preda si muovono uno rispetto all'altro e quando il volo della preda oscilla avanti e indietro. Un pipistrello in grado di emettere a frequenza costante deve compensare l'effetto Doppler abbassando la frequenza della sua emissione sonora in risposta a echi di elevata frequenza, ciò assicura che l'eco di ritorno rimanga alla frequenza a cui le orecchie del pipistrello sono sintonizzate più finemente. L'oscillazione del volo di una preda produce anche variazioni nell'ampiezza di banda, che dà un aiuto supplementare al predatore nel distinguere un bersaglio volante da uno stazionario (Simmons e Stein 1980; Schnitzler e Flieger, 1983; Grinnell, 1995; Neuweiler, 2003; Zupanc, 2004; Jones e Teeling 2006).

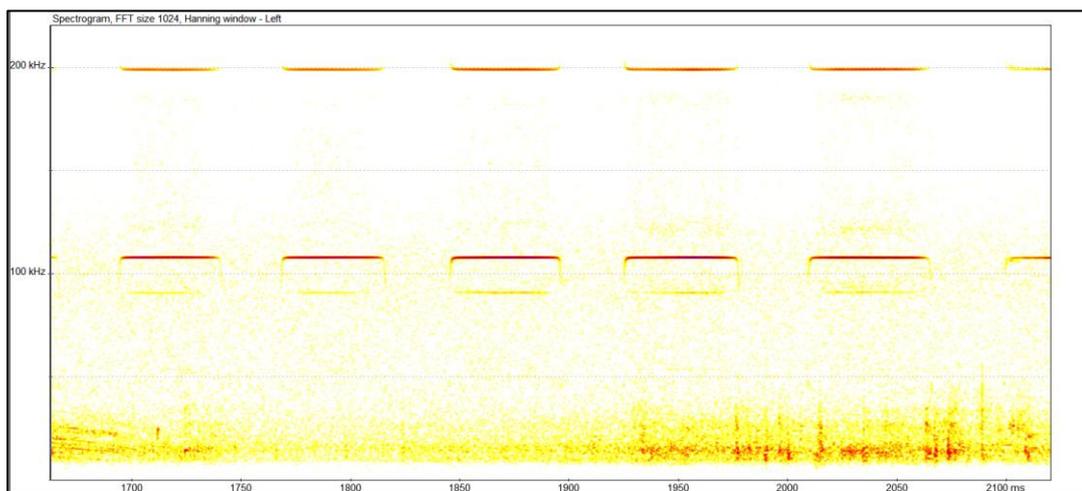


Figura 23. Spettrogramma di un Rinolofo minore (*Rhinolophus hipposideros*).

- **FM-QCF** (Quasi-Costant Frequency, frequenza quasi costante): segnali con una componente FM seguita da un tratto QCF che vengono spesso chiamati segnali *hockey stick* perché lo spettrogramma ha la forma di un bastone da hockey (Figura 17).

Le specie che frequentano diversi tipi di habitat di foraggiamento emettono segnali di questo tipo costituiti dalle due componenti che hanno funzioni complementari. La componente in frequenza modulata permette una precisa localizzazione della preda mentre quella a frequenza quasi costante, tendente verso il basso e a banda stretta, è adatta alla percezione della preda anche su lunghe distanze. Appartiene tipicamente al genere *Pipistrellus* la cui capacità di sfruttare molti tipi di habitat è probabilmente resa

possibile proprio dalla struttura dei segnali di ecolocalizzazione (Kalko e Schnitzler, 1993).

I segnali emessi dai Chiroterteri non sono sempre identici nel tempo. Quando un *Pipistrellus* sp. vola lungo il margine del bosco i segnali appariranno come nella sequenza sopra descritta (Figura 17), ma addentrandosi nel bosco con un aumento degli ostacoli e spazi più ristretti, lo spettrogramma cambierà la sua forma accorciando al massimo la componente CF e aumentando quella FM; al contrario se il pipistrello dovesse sorvolare una radura o un lago i suoi segnali cambierebbero facendo del tutto o quasi sparire la componente FM (Figura 24). In un singolo *pulse*, l'energia può essere distribuita in modo relativamente uniforme per alcune specie mentre altre concentrano l'energia in una larghezza di banda relativamente stretta con una durata più lunga (spesso meno di circa 3 kHz su 5-20 ms). Questo situazione la si trova facilmente nei suoni del tipo QCF che permettono di aumentare, e quindi migliorare, la percezione degli echi riflessi causati dal movimento delle ali della preda, ma le prestazioni di localizzazione sono minori. I pipistrelli che invece utilizzano componenti FM e QCF nelle loro *calls* hanno un maggior rischio di avvertire gli eco sovrapposti ai suoni emessi e sono quindi costretti ad usare impulsi relativamente brevi (Kalko e Schnitzler, 1993; Waters *et al.*, 1995).

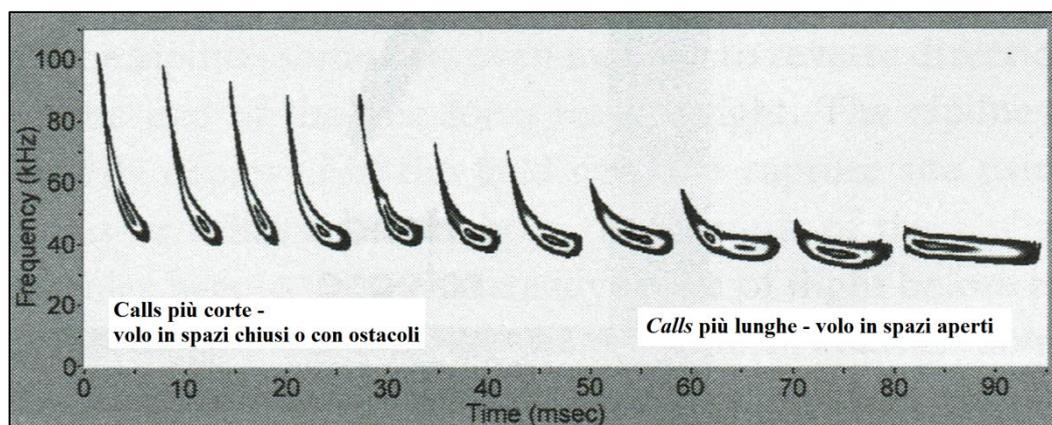


Figura 24. Rappresentazione del repertorio di sonogrammi utilizzati da un singolo individuo che vola in differenti tipi di habitat (da Parsons e Szewczak, 2009).

L'orientamento acustico e le emissioni di ultrasuoni variano anche durante le tre diverse fasi della caccia: ricerca, avvicinamento e cattura della preda (Figura 3). Durante la ricerca (*search phase*), in volo di crociera più o meno rettilineo, si ha maggior regolarità delle emissioni con suoni pulsanti separati da pause più o meno lunghe e quasi costanti, fino alla localizzazione della preda. Nella successiva fase d'avvicinamento (*approach phase*), gli impulsi vengono ripetuti ad intervalli più brevi (*duty cycle*) per aggiornare più rapidamente la sua posizione rispetto alla preda, le pause si riducono mentre la frequenza resta più o meno

compresa nello stesso ambito di variazione seppur aumentata leggermente per ottenere maggior dettaglio. Infine si ha la cattura, che corrisponde all'emissione di una specie di ronzio (*feeding buzz*) in cui i periodi silenti sono ancora più corti: la durata degli impulsi si riduce fino a circa 0,5 ms, anche la frequenza diminuisce ed è compresa in un intervallo di variazione inferiore (Figura 25).

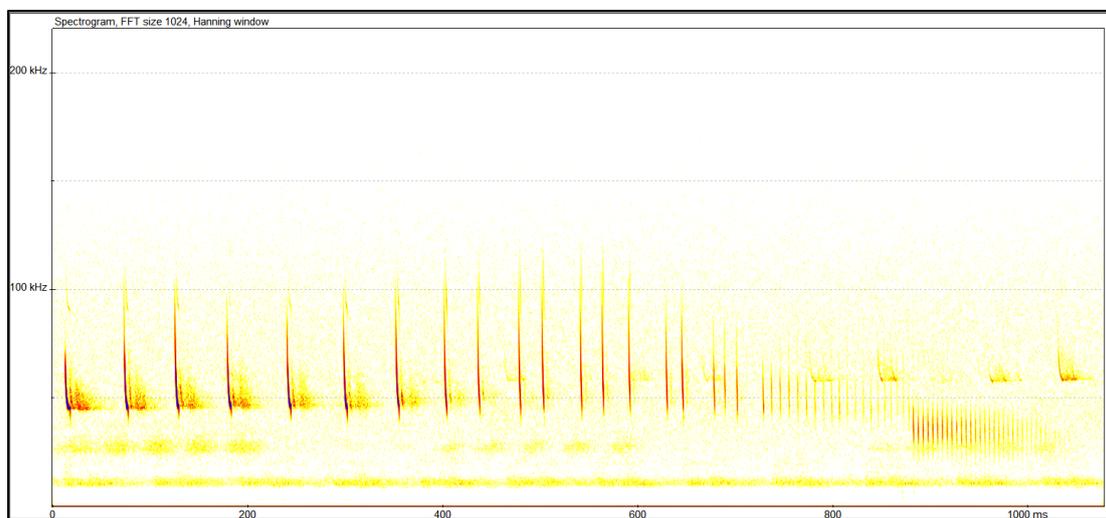


Figura 25. Spettrogramma di un tipico *feeding buzz*.

3.1.2. Le diverse scelte evolutive.

Il complesso sistema di ecolocalizzazione gioca un ruolo fondamentale nella caccia alle prede da parte dei Chiroterri quindi i segnali d'ecolocalizzazione emessi dalle diverse specie variano in relazione all'ambiente spaziale in cui cacciano (Schnitzler e Kalko, 2001).

Come già detto, generalmente, in ambienti strutturalmente complessi è più vantaggioso un segnale FM, con un ampio spettro di frequenze modulate nel tempo, mentre in spazi aperti sono favorite le specie che emettono segnali CF, ovvero segnali con banda stretta e durata maggiore (Griffin e Thompson, 1982; Schnitzler e Kalko, 2001).

Le specie del genere *Myotis* e *Plecotus*, che cacciano le prede tra la vegetazione fitta, emettono segnali in modulazione di frequenza (FM) e questi segnali sono prodotti lungo una banda di frequenze molto ampia ma concentrate in un tempo breve, di solito pochi millisecondi. Solitamente questo tipo di sonogrammi sono arricchiti dalla presenza di armoniche peculiari a seconda della specie.

Le specie che volano in quota, al di sopra della copertura boschiva hanno bisogno di localizzare la preda su lunghe distanze, tra queste ad esempio il Serotino (*Eptesicus serotinus*, Schreber 1774), le nottole (*Nyctalus* spp.) e il Molosso di Cestoni (*Tadarida teniotis*), i quali emettono segnali di tipo CF. I segnali del tipo FM/CF/FM è tipico dei Rhinolophidae (*Rhinilophus* spp.), la cui strategia di caccia è spesso rappresentata dalla cosiddetta "caccia dal

posatoio” (*perch hunting*), ovvero rimanere appesi a un ramo scandagliando l’ambiente circostante. Le specie che frequentano diversi tipi di habitat di foraggiamento e quindi con segnali del tipo FM/QCF sono, ad esempio, *Pipistrellus kuhlii*, Kuhl 1817, *Pipistrellus pygmaeus*, Leach 1825 e *Pipistrellus pipistrellus*, Schreber 1774, specie generaliste che non selezionano un particolare habitat, cacciando sia lungo i margini dei fiumi e dei corsi d’acqua, sia all’interno del bosco ma anche in vicinanza dei lampioni stradali (Rydell, 1992; Rydell e Racey, 1995; Russo e Jones, 2000; Warren *et al.*, 2000).

Dal momento che la variabilità dei segnali emessi dalle diverse specie varia in relazione all’ambiente di foraggiamento e la scelta dell’habitat potrebbe essere influenzata dalla tipologia del sistema d’ecolocalizzazione delle singole specie. In ogni caso, la scelta dell’habitat di foraggiamento potrebbe anche essere basata sulla diversità e/o sull’abbondanza delle prede disponibili oppure dalla vicinanza dei siti di rifugio (Verboom e Spoelstra, 1999; Tibbels e Kurta, 2003; Kunz e Lumdsen, 2003; Kusch *et al.*, 2004).

3.2. Ecolocalizzazione del gruppo dei grandi *Myotis*.

L’ecolocalizzazione, essendo altamente adattabile, offre uno degli esempi biologici più interessanti di evoluzione convergente (Siemers *et al.*, 2001; Jones e Teeling, 2006).

Lo studio della struttura dei sonogrammi di queste tre specie così simili è ancora manchevole di conferme, avendo parametri molto somiglianti e spesso indistinguibili.

Tuttavia si può generalizzare su alcuni aspetti ovvero che sono segnali in modulazione di frequenza (FM) e relativamente a bassa frequenza rispetto a tutte le altre specie del genere *Myotis* e comprendono una vasta gamma di frequenze (in genere fino ad 8) in un tempo relativamente breve (spesso meno di 5 ms) e mostrano alcune caratteristiche molto utili alla localizzazione di un oggetto grazie all’eco che dà informazioni sulla distanza e posizione del target (Schnitzler e Kalko, 1998). I parametri di misurazione dei sonogrammi nel loro dettaglio sono soggetti a numerose variazioni.

Per quanto riguarda le due specie *Myotis myotis* e *Myotis blythii*, gli stili di caccia sono diversi e questo porta a differenze anche nell’utilizzo dell’ecolocalizzazione. Il comportamento specifico della specie durante il foraggiamento può essere un buon punto di partenza per un confronto dei loro ultrasuoni. Alcune caratteristiche dei sonogrammi sono state messe a confronto proprio durante le diverse fasi di caccia (Russo *et al.*, 2007). In questo contesto, le differenze riscontrate riguardano alcuni dei parametri nelle diverse fasi, dove, in entrambe le specie, l’ampiezza di banda diminuisce passando dalla fase iniziale di ricerca alle successive fasi di approccio verso la preda (Figura 26).

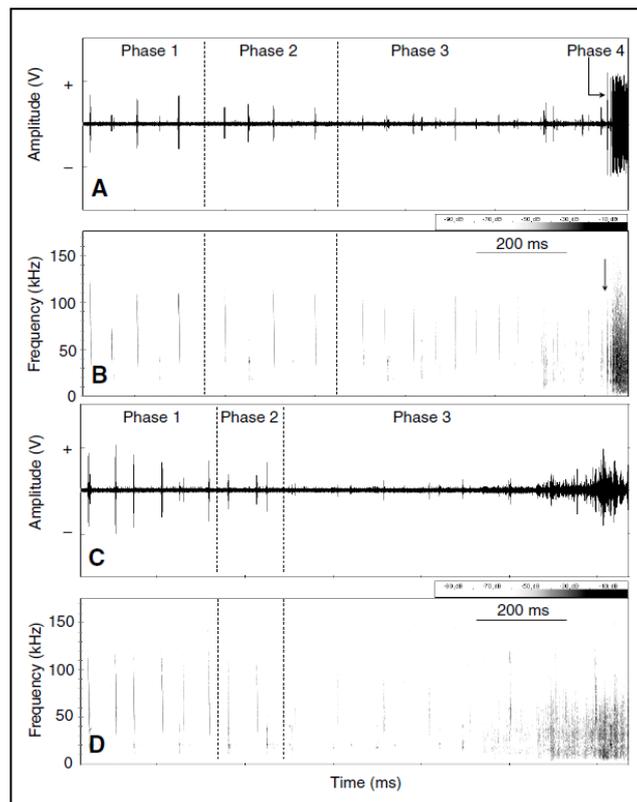


Figura 26. Oscillogrammi (A, C) e spettrogrammi (B, D) delle sequenze di caccia dei due grandi *Myotis* (A, B, *Myotis myotis*; C, D, *Myotis blythii*). Rispetto alla fase di ricerca (fase 1), l'ampiezza di banda diminuisce andando verso le successive fasi di approccio (fase 2 e 3) fino alla cattura finale (fase 4). Le frecce nei riquadri A e B indicano un ronzio emesso solo dal *M. myotis* prima dell'atterraggio sulla preda (da Russo *et al.*, 2007).

In altre specie di Chiroteri l'ecolocalizzazione viene interrotta una volta arrivati in prossimità della preda, questo non accade nelle due specie criptiche le quali hanno adottato l'uso di impulsi molto deboli durante la fase di approccio, “*whispering mode*”, oltre all'energia dell'impulso che varia nelle due fasi di ricerca e approccio (spettro di potenza) (Figura 28).

Concentrandosi sugli impulsi sonori emessi solo durante la fase di ricerca, la fase più vicina come struttura a quella di un volo libero in esplorazione, sono presenti alcune differenze. Per esempio la frequenza a cui il pipistrello emette alla massima energia (f_{MAX}) è significativamente più bassa in *M. blythii* (Figura 27 e Figura 28) e le analisi statistiche su un numero significativo di suoni permette di notare qualche diversità anche per altri parametri come picco di energia relativa (dB, *Maximum relative power*), durata del singolo impulso (ms, *call duration*), numero di impulsi al secondo (s^{-1} , *pulse rate*) e durata della fase di approccio (ms, *Approach phase duration*) (Figura 27) (Russo *et al.*, 2007). Tuttavia analisi effettuate su sequenze di soggetti registrati al rilascio dopo la cattura (*hand-released*) in ambiente chiuso, non hanno mostrato valori con differenze significative (ANOVA, $F=0.34$, n.s.), per esempio f_{MAX} , per esempio, di 51.7 ± 1.9 kHz in *M. myotis* ($N=4$) e 50.1 ± 5.5 kHz in *M. blythii* ($N=10$).

Variable	<i>Myotis myotis</i>	<i>Myotis blythii</i>	ANOVA (GLM) level of significance (<i>P</i>)	
			Species	Phase
f_{MAXE} (kHz)			0.023	0.884
Phase 1	55.1 (8.9)	47.6 (5.3)		
Phase 2	55.8 (13.6)	49.5 (9.0)		
Phase 3	54.0 (5.2)	51.2 (7.4)		
Maximum relative power (dB)			0.111	<0.001
Phase 1	-39.83 (3.66)	-36.0 (3.3)		
Phase 2	-49.16 (3.93)	-48.0 (3.0)		
Phase 3	-46.98 (5.73)	-46.2 (5.6)	0.002	
Call duration (ms)				
Phase 1	1.9 (0.3)	2.3 (0.3)		
Pulse rate (s^{-1})			0.217	0.001
Phase 1	10.1 (3.1)	13.0 (7.6)		
Phase 2	11.0 (5.4)	18.3 (9.0)		
Phase 3	26.8 (17.5)	23.9 (21.8)		
Approach phase duration (ms)	972 (668)	522 (286)	0.072	

Values are means (\pm s.d.); $N=8$ *Myotis myotis*; $N=10$ *M. blythii*.
 f_{MAXE} , frequency of maximum energy; pulse rate, number of calls in phase/phase duration (s).
All between-factor interactions in GLM failed to reach significance (*P* levels are not shown). Variable values are means of individual means from two sequences/bat. Call duration was measured only from phase 1 calls with a high signal-to-noise ratio.

Figura 27. Statistiche descrittive per le sequenze di ecolocalizzazione prodotte da *Myotis myotis* e *M. blythii* (da Russo *et al.*, 2007).

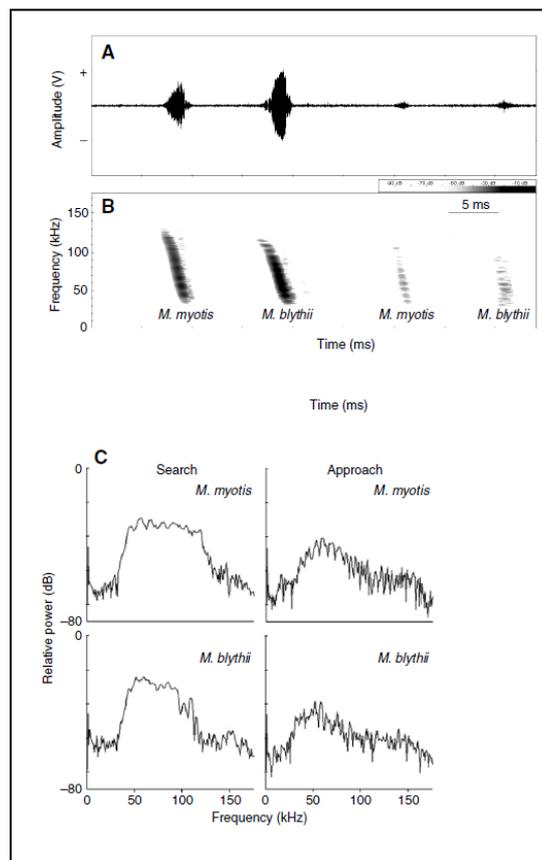


Figura 28. Fase 1 (*search*) e Fase 3 di approccio (*approach*) in un *pulse* di ecolocalizzazione di *M. myotis* e *M. blythii* a confronto. (A) Oscillogramma, (B) Spectrogramma, (C) Spettro di potenza (*Power spectrum*) (da Russo *et al.*, 2007).

Queste analisi sono fatte sulla fase di ricerca che precede un approccio alla preda e sono quindi legate ad una situazione particolare seppur simile ad un volo libero. Certamente

diverse sono le *calls* di un ecolocalizzazione esplorativa in volo libero (*free flight*), quella di uscita da un *roost* (*roost emergence*), con possibile maggior allarme dovuto alla possibile presenza di predatori, e quella esplorativa al rilascio dopo una cattura (*hand released*) e quindi sotto potenziale stress.

Uno studio effettuato su 22 specie di Chiroterri italiani tra cui un campione di 42 *Myotis myotis* e 49 *Myotis blythii* catturati rispettivamente su 3 e 2 siti e registrati in *hand released*, hanno mostrato caratteristiche simili nei valori relativi ai parametri di misurazione dei sonogrammi (Tabella 3).

Tabella 3. Statistica descrittiva dei parametri di *Myotis myotis* e *Myotis blythii* italiani (da Russo e Jones, 2002).

Specie	CS	Frequenza iniziale SF (kHz)	Frequenza finale EF (kHz)	Frequenza di massima energia FMAX (kHz)	Frequenza media MF (kHz)	Durata D (ms)	Intervallo tra i pulse IPI (ms)
<i>M. myotis</i>	FM	79.6±12.46 52.2-104.5	27.9±2.66 24.7-37.7	39.1±5.22 31.5-53.9	50.6±7.65 36.8-68.7	4.6±1.11 2.5-7.1	109.6±27.68 46.6-159.1
<i>M. blythii</i>	FM	74.4±15.47 46.5-107.4	30.4±2.50 26.2-36.0	41.4±4.37 33.0-52.5	49.1±7.69 35.2-66.0	4.3±1.23 2.0-7.3	94.3±31.36 40.0-170.8

Myotis myotis ha mostrato valori significativamente più bassi di *f* MAX (ANOVA, $F_{1, 89} = 5.15$, $P < 0,001$), EF (Mann-Whitney $W = 1364.5$, $P < 0,0001$) e un IPI più lungo ($W = 2247.0$, $P < 0,05$); non è stata trovata nessuna differenza nel SF (ANOVA, $F_{1, 89} = 3.10$, n.s.), MF ($W = 2061.5$, n.s.) e D (ANOVA $F_{1, 89} = 1.60$, n.s.) (Russo e Jones, 2002).

Qui, la *f* MAX risulta simile ma lievemente maggiore in *Myotis blythii* al contrario di quanto esaminato nella *search phase* dello studio precedentemente descritto.

Oltre al momento specifico in cui si registra l'animale, bisogna tener conto del tipo di ambiente circostante sia durante un rilascio che durante un volo libero. La forma del sonogramma presenta differenze a seconda dell'ambiente in cui l'animale emette. Si avranno quindi differenze tra un ambiente con ostacoli e un ambiente aperto (Figura 29).

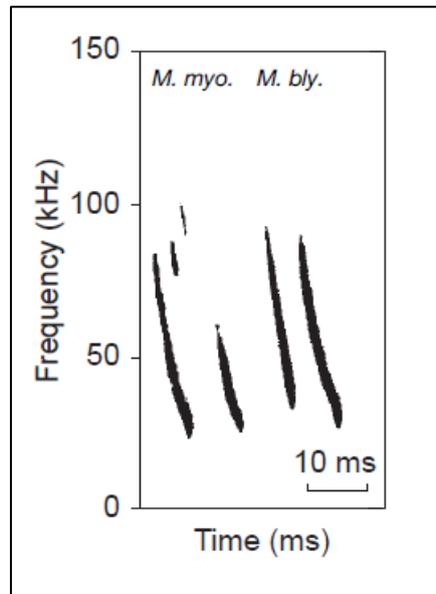


Figura 29. Sonogrammi di *Myotis myotis* e *Myotis blythii*. Ogni paio di *pulse* rappresenta, in ordine di tempo, il segnale in ambiente con ostacoli e in ambiente aperto (la distanza tra i *pulse* non rappresenta la reale distanza di "*inter pulse*"(da Russo e Jones, 2002).

Valutando la possibilità di differenze legate alla posizione geografica delle popolazioni, sempre nel bacino Mediterraneo, è stato eseguito uno studio relativo ad esemplari registrati in Grecia continentale. In questo caso i dati sono arricchiti da una componente di suoni registrati in volo all'uscita dal *roost*. Sono stati eseguiti, infatti, analisi sui sonogrammi di 47 *Myotis myotis*, tutti registrati al rilascio e di 52 *Myotis blythii* di cui 34 registrati in *roost emergence*. I parametri misurati sono visibili in Tabella 4.

Tabella 4. Statistica descrittiva dei parametri di *Myotis myotis* e *Myotis blythii* greci. CS = struttura della call. (da Papadatou *et al.*, 2008).

Specie	CS	n	Frequenza iniziale F_{start} (kHz)	Frequenza finale F_{end} (kHz)	Frequenza di massima energia F_{peak} (kHz)	Lunghezza di banda BW (kHz)	Durata D (ms)	Intervallo tra i pulse IPI (ms)
<i>M. myotis</i>	FM	47	85.0±16.51 46.3-107.3	24.8±2.54 20.0-32.3	39.4±4.30 28.9-48.2	15.2±3.10 8.7-20.7	4.6±1.24 2.2-7.9	103.9±32.33 51.0-171.2
<i>M. blythii</i>	FM	52	83.3±18.22 47.5-107.6	27.7±2.35 22.7-32.1	39.2±3.41 33.3-48.6	13.6±2.80 8.0-19.5	5.9±1.46 2.8-9.7	102.9±29.61 55.7-160.0

È possibile notare come qui il picco di frequenza (che coincide con la f_{MAX}) risulta essere estremamente simile nelle due specie mentre la frequenza finale (F_{end}) mostra una maggior disuguaglianza.

Il livello di variabilità di questi parametri è molto alto, basti osservare i risultati del lavoro di Obrist *et al.* (2004) in cui è stato calcolato il coefficiente di variabilità per ogni parametro e rispetto ai valori sopradescritti, la frequenza massima (F_{peak}), ad esempio, è tutt'altro che simile mostrandosi molto più alta nel *Myotis blythii* (Tabella 6).

Tabella 5. Parametri relativi a calls di ecolocalizzazione delle due specie di *Myotis* secondo Obrist *et al.*, 2004. CV =coefficiente di variabilità.

	N	Durata Duration (ms)			Frequenza finale Low Frequency (kHz)			Frequenza di massima energia Fpeak (kHz)			Frequenza iniziale High Frequency (kHz)		
		Media	Dev. St.	CV	Media	Dev. St.	CV	Media	Dev. St.	CV	Media	Dev. St.	CV
<i>M. myotis</i>	100	6.0	1.7	29%	22.2	2.6	12%	37.1	4.0	11%	56.0	11.3	13%
<i>M. blythii</i>	100	3.3	0.7	20%	24.5	4.4	18%	53.2	10.9	20%	106.2	14.1	13%

La forma dei sonogrammi può essere molto diversa ma non discriminante come si potrebbe sperare (Figura 30) in quanto la variabilità, come si evince dai lavori precedenti, riguarda forma e struttura sia del singolo *pulse* che della sequenza nella suo complesso.

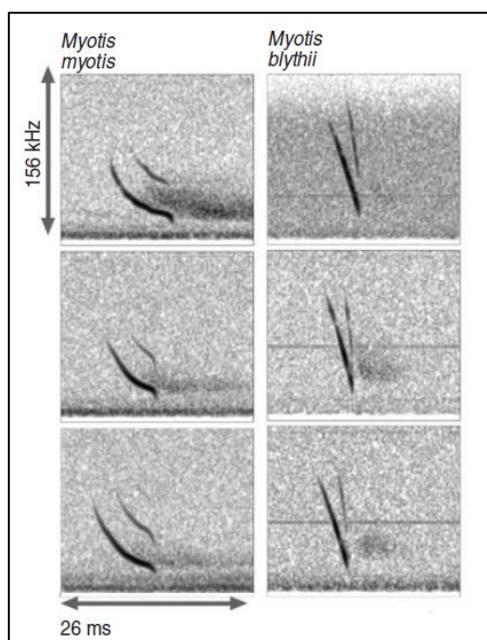


Figura 30. Spettrogrammi delle due specie di *Myotis* messe a confronto (da Obrist *et al.*, 2004).

Tabella 6. Parametri relativi a *calls* di ecolocalizzazione delle due specie di *Myotis* secondo Obrist *et al.* 2004. CV =coefficiente di variabilità.

	N	Durata Duration (ms)			Frequenza finale Low Frequency (kHz)			Frequenza di massima energia Fpeak (kHz)			Frequenza iniziale High Frequency (kHz)		
		Media	Dev. St.	CV	Media	Dev. St.	CV	Media	Dev. St.	CV	Media	Dev. St.	CV
<i>M. myotis</i>	100	6.0	1.7	29%	22.2	2.6	12%	37.1	4.0	11%	56.0	11.3	13%
<i>M. blythii</i>	100	3.3	0.7	20%	24.5	4.4	18%	53.2	10.9	20%	106.2	14.1	13%

Le caratteristiche generali del sonogramma del *Myotis punicus* sono molto simili ai suoi due congenerici. In letteratura sono poche le informazioni sulla struttura del sonogramma delle sue sequenze di ecolocalizzazione. L'unico lavoro in cui gli ultrasuoni dei tre grandi *Myotis* sono stati descritti e confrontati è quello di Barataud, la cui ultima edizione del 2012 mette anche a confronto alcuni parametri del sonogramma delle tre specie qui oggetto di indagine (Barataud, 2012). In questo lavoro le variabili considerate nell'analisi dello spettrogramma di segnali FM riguardano anche aspetti legati alla sonorità del segnale che si modifica a seconda ad esempio della distribuzione dell'energia all'interno del segnale rispetto alla frequenza finale (EF), quest'ultima potrà essere alta, media o bassa, determinando diversi raggruppamenti in funzione del "acoustic type" ovvero del tipo di segnale acustico (Tabella 7): *final whack*, la potenza del segnale è maggiore nella parte finale (questo accumulo di energia a fine segnale può creare echi che generano artefatti della frequenza finale del sonogramma falsando la misurazione, "pumping effect"); *esplosive start*, l'energia è maggiore a inizio segnale ed infine *absence of peak*, assenza di picco. In quest'ultima tipologia, particolarmente utile durante un volo libero in spazi aperti e utilizzato maggiormente dalle tre

specie di grandi *Myotis*, è possibile vedere un sonogramma la cui massima energia (dB) si concentra nella parte bassa del segnale, senza un vero e proprio picco di energia (*abs - absence of peak*).

Tabella 7. Tipologie acustiche secondo Barataud, 2012.

Tipologia acustica - <i>Acoustic type</i>			
Distribuzione dell'energia all'interno del segnale	Frequenza finale (EF) kHz		
<i>Final whack (FW)</i>	Alta (> 30)	Media (da 23 a 30)	Bassa (< 23)
<i>Esplosive start (ES)</i>	Alta (> 30)	Media (da 23 a 30)	-
<i>Absence of peak (abs)</i>	Alta (> 30)	Media (da 23 a 30)	Bassa (< 23)

La parte iniziale del segnale rimane debole o addirittura poco visibile e il sonogramma risulta quindi quasi separato in due parti dove la maggior potenza del segnale si concentra nella parte finale (Figura 31) in cui quasi sempre è presente una frequenza finale bassa (*abs slow*). Questa caratteristica è molto meno marcata o assente nelle altre specie che emettono segnali a bassa frequenza (Barataud, 2012). Gli ultrasuoni delle due specie, *M. myotis* e *M. blythii*, sono caratterizzate da una lunghezza di banda sotto i 100 kHz e una forma del segnale forma quasi sempre lineare o sigmoidea (Barataud, 2012).

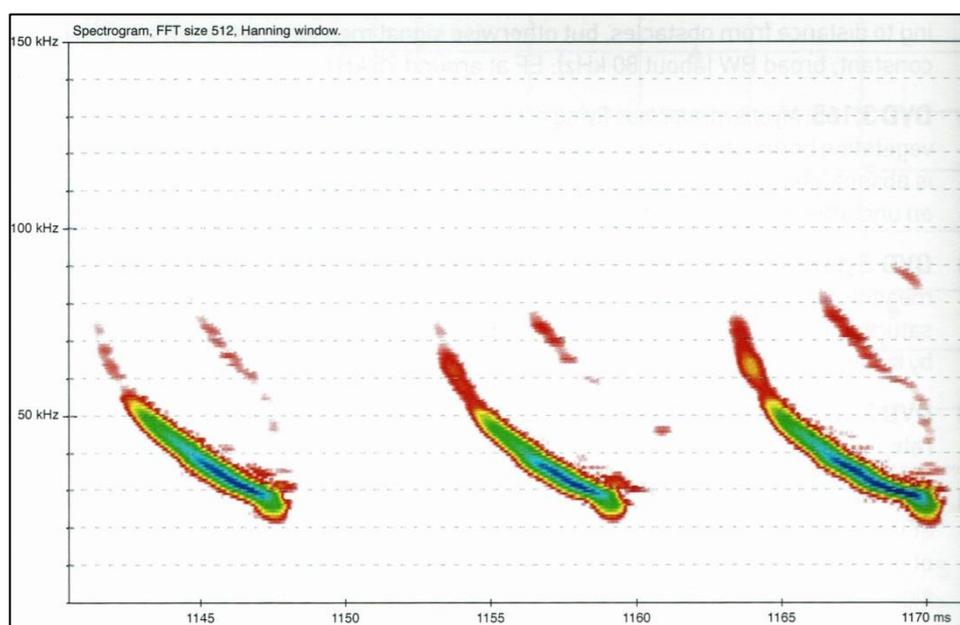


Figura 31. Spettrogramma di tre calls di *Myotis myotis* in volo aperto, in blu la parte con massima potenza del segnale in dB (la distanza tra le calls è accorciata per comodità grafiche) (da Barataud, 2012).

Le analisi effettuate sui sonogrammi nelle varie tipologie acustiche ha permesso di confrontare i valori ottenuti per le tre specie tenendo in considerazione i diversi tipi di ecolocalizzazione che l'animale può utilizzare a seconda della situazione. Nelle tabelle che

seguono sono raccolti i risultati di Barataud relativi a *M. myotis*, *M. blythii* (*oxygnathus*) e *M. punctus* nelle diverse tipologie di emissione sonora (da Tabella 8 a Tabella 12).

Tabella 8. Valori della Media e Deviazione standard per le variabili misurate su sonogrammi del tipo *final whack* con frequenza finale media. N= numero di segnali analizzati (da Barataud, 2012).

FW + EF media											
	N	Intervallo (ms)		Durata (ms)		Larghezza di banda BW (KHz)		Freq. finale EF (kHz)		Freq. di massima Energia FMAX (kHz)	
		Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.
<i>M. blythii</i>	30	47.1	23.3	4.3	0.8	77.6	11.6	25.5	1.5	49.7	10.5
<i>M. myotis</i>	32	57	24.9	4.4	0.7	72.8	11.1	25.4	2.6	45.4	7.1

Si è riscontrato che un segnale del tipo FW + EF media (Tabella 8) è stato utilizzato maggiormente durante voli attraverso vegetazione fitta (Barataud, 2012).

Tabella 9. Valori della Media e Deviazione standard per le variabili misurate su sonogrammi del tipo *final whack* con frequenza finale bassa. N= numero di segnali analizzati (da Barataud, 2012).

FW + EF bassa											
	N	Intervallo (ms)		Durata (ms)		Larghezza di banda BW (KHz)		Freq. finale EF (kHz)		Freq. di massima Energia FMAX (kHz)	
		Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.
<i>M. blythii</i>	42	69.6	39.9	3.5	2.1	69.9	23.3	16.6	3.1	38	6.3
<i>M. myotis</i>	43	69.5	41.8	3.6	0.7	72	19.4	20.4	2.2	48.6	10.8

M. myotis e *M. blythii* emettono un segnale del tipo FW + EF bassa (Tabella 9) durante la fase di approccio ad un ostacolo ma tali segnali possono estendersi per diversi secondi quando i pipistrelli stanno sondando il terreno o il prato erboso. Il ritmo è quindi rapido, ma a volte irregolare con intervalli lunghi sparpagliati nella sequenza, tipico della fase di approccio (Barataud, 2012).

Tabella 10. Valori della Media e Deviazione standard per le variabili misurate su sonogrammi del tipo *esplosive start* con frequenza finale alta. N= numero di segnali analizzati (da Barataud, 2012).

ES + EF alta											
	N	Intervallo (ms)		Durata (ms)		Larghezza di banda BW (KHz)		Freq. finale EF (kHz)		Freq. di massima Energia FMAX (kHz)	
		Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.
<i>M. blythii</i>	14	65.5	21.7	3.9	0.8	64.2	16.1	36.6	4.6	51.0	6.2

Un situazione non consueta come quella di un *Myotis blythii* che vola a ridosso della linea di vegetazione, dopo essere stato catturato e maneggiato, può fornire sonogrammi del tipo ES+

EF alta (Tabella 10). Il suo comportamento, quindi non totalmente naturale, mostra che la specie è in grado di produrre segnali che frequenze finali alte ma non da chiarimenti su quali contesti comportamentali o ambientali possano innescare tale tipo di emissioni in situazioni naturali. Tuttavia, è da sottolineare che questo tipo di segnale non è stato emesso nei primi secondi dopo il rilascio (Barataud, 2012).

Tabella 11. Valori della Media e Deviazione standard per le variabili misurate su sonogrammi del tipo *absent of peak* con frequenza finale media. N= numero di segnali analizzati (da Barataud, 2012).

abs + EF media											
	N	Intervallo (ms)		Durata (ms)		Larghezza di banda BW (KHz)		Freq. finale EF (kHz)		Freq. di massima Energia FMAX (kHz)	
		Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.
<i>M. myotis</i>	65	102.4	26.8	5.5	1	57	8.8	25.8	1.8	40.5	4.1
<i>M. punicus</i>	48	143.3	77.3	5.7	4.8	42.1	18.2	26	5.7	36.4	4.9

Myotis blythii non è solito utilizzare la tipologia acustica abs + EF media (Tabella 11) nonostante sia in grado di produrre, anche in ambienti aperti, serie di segnali (solitamente brevi) con una frequenza finale di oltre 23 kHz (durata del segnale compresa tra 7 e 9 ms; si veda sui segnali di Tabella 12). L'assenza del *M. blythii* potrebbe essere temporanea, perché vi sono diverse registrazioni in volo libero attribuibili ad esso che fanno sospettare che la specie usi questo tipo di segnale, durante la caccia attiva su prati o lungo i confini di vegetazione, più frequentemente di quanto si sia finora documentato (Barataud, 2012). *M. myotis* e *M. punicus* utilizzano questa tipologia di segnale durante la ricerca passiva di prede e in ambienti con pochi ostacoli o abbastanza distanti tra loro. Segnali di questo tipo sono emessi da *M. myotis* nel sottobosco della foresta e molto raramente all'aperto.

Tabella 12. Valori della Media e Deviazione standard per le variabili misurate su sonogrammi del tipo *absent of peak* con frequenza finale bassa. N= numero di segnali analizzati (da Barataud, 2012).

abs + EF bassa											
	N	Intervallo (ms)		Durata (ms)		Larghezza di banda BW (KHz)		Freq. finale EF (kHz)		Freq. di massima Energia FMAX (kHz)	
		Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.	Media	Dev.st.
<i>M. myotis</i>	52	114.5	44.7	6.4	1	48.4	10.5	21.5	1	35.2	4.8
<i>M. punicus</i>	22	137.7	38.2	4.8	0.6	38.5	7.2	22.1	1.7	34.3	1.8
<i>M. myotis (in spazi aperti)</i>	39	135.8	30.4	7.8	1.1	47.7	13	21.4	1.3	31.9	1.9
<i>M. blythii</i>	35	178.3	37.1	8.3	0.8	29.3	9.2	22.7	1.6	30.0	2.4

M. myotis utilizza ecolocalizzazione con segnali di tipo abs + EF bassa in una varietà di contesti di foraggiamento, dal prato aperto al sottobosco. Le uniche circostanze che lo fanno

passare all'utilizzo di un'altra tipologia acustica sono l'alta densità di ostacoli o durante la parte finale delle fasi di approccio ad un oggetto). In questo tipo di segnale la sonorità differisce ancor di più dai suoni dei piccoli *Myotis*.

La possibile distinzione tra *M. myotis* e *M. blythii* sulla base dei precedenti parametri è comunque molto ardua: la sola variabile che li differenzia significativamente è la lunghezza di banda (BW). In entrambe le specie, le caratteristiche fondamentali per l'identificazione sono legate alla tipologia *abs* + EF bassa.

Nella Figura 32, in cui sono rappresentati i dati della Tabella 12, vengono messi a confronto i tre *Myotis* oggetto di studio (Barataud, 2012) ed è visibile chiaramente come la durata del segnale (*duration*) in relazione al valore della frequenza finale (EF) determini una discriminazione delle tre specie. Per quanto riguarda invece la lunghezza di banda (BW) che dovrebbe essere ancor più discriminante, il grafico mostra una forte sovrapposizione non solo per del *Myotis punicus* ma anche tra le altre due specie.

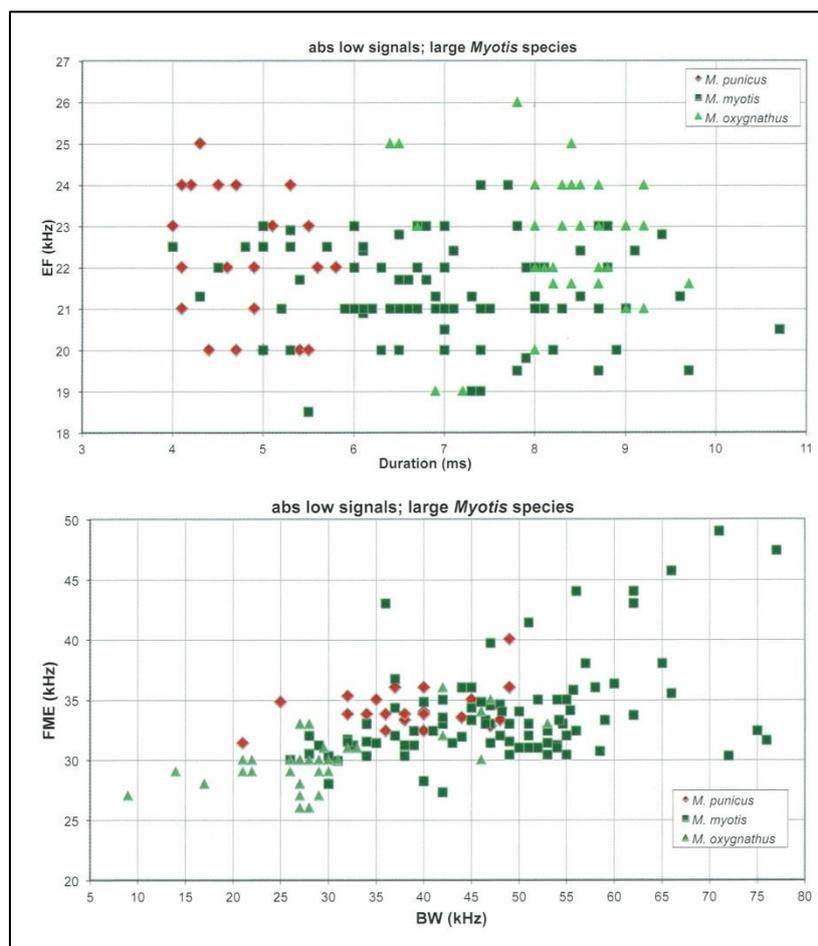


Figura 32. Scatter plot a confronto per le tre specie *M. myotis*, *M. blythii/oxygnathus* e *M. punicus*. In alto la durata del segnale (*duration*) in relazione alla frequenza finale (EF). In basso la lunghezza di banda (BW) in relazione con la frequenza alla massima energia (FME) (da Barataud, 2012).

Un tratto caratteristico delle tre specie di grandi *Myotis* è l'intensità massima di energia concentrata nella seconda metà del segnale durante un'emissione del tipo *abs* + EF bassa. Quando il segnale è debole si crea il rischio di non captare la parte iniziale del segnale perché troppo debole e questo può causare una sottostima della larghezza di banda durante le analisi. Questa potrebbe essere la spiegazione dietro ai valori troppo bassi di BW nei diagrammi a dispersione della Figura 32.

4. GLI ECTOPARASSITI DEI CHIROTTERI

Tra i parassiti dei Chirotteri possiamo distinguere endoparassiti, ovvero parassiti che vivono all'interno dell'ospite, ed ectoparassiti, parassiti esterni che vivono sulla superficie dello stesso. Tra i primi si trovano alcuni rappresentanti di Protozoi, Platelmini, Nematodi, Acantocefali, e tra gli Artropodi alcuni Acari e Ditteri.

I parassiti esterni legati ai Chirotteri comprendono rappresentanti solo di Acari e Insetti. Secondo Lanza (1999) gli Artropodi ectoparassiti raccolti sulle specie presenti in Italia ma indagate nel loro intero areale, ammontano a 467 *taxa* di cui 324 Acarina, 1 Mallophaga, 2 Anoplura, 11 Heteroptera, 65 Diptera e 64 Siphonaptera. Di questi solo 69 (circa il 14,8%) risultano noti per la fauna italiana, Corsica e Malta, di cui 45 Acarina, 1 Heteroptera, 11 Diptera, e 12 Siphonaptera (Lanza, 2012).

Questi Artropodi occupano in modo differente, a seconda delle specie, le varie parti del corpo dell'ospite: Diverse sono poi le specie presenti sui Chirotteri a seconda della scelta del rifugio o della specifica fase fenologica di questi ultimi. Le relazioni che si instaurano tra Chirotteri ed ectoparassiti sono di particolare interesse per la caratteristica ecologia degli ospiti e per la complessa fenologia e le diverse fasi vitali degli ectoparassiti. La lunga storia evolutiva dei Chirotteri ha portato alla possibilità di diversificare una comunità parassitaria ricca e specifica che è avvantaggiata inoltre da alcune peculiarità dei Chirotteri quali soprattutto il vivere in grandi colonie, spesso polispecifiche, sebbene monosessuali, dove gli individui sono a stretto contatto tra loro (Marshall, 1982; Whitaker *et al.*, 2009).

Per determinare la biologia del parassita è necessario avere una conoscenza specifica dell'ospite e molte informazioni possono essere raccolte attraverso l'osservazione diretta dell'animale infestato dopo la cattura. A seconda della posizione sul corpo dell'ospite, aggrappati al pelo, in movimento sul patagio, tra i peli, sulle orecchie, entro i meati corporei o negli strati superficiali dell'epidermide si possono dedurre aspetti fondamentali della loro ecologia (Kunz, 1976; Marshall, 1982; Estrada-Peña e Serra-Cobo, 1991).

Alcuni parassiti sono ovipari, altri vivipari (Marshall 1982). Le uova di solito sono incollate con secreti al pelo dell'ospite come avviene ad esempio negli acari Myobiidae o per i Cimicidae (Heteroptera, Rhynchota) mentre alcuni Streblidae (Diptera), li attaccano al substrato dove sosta la colonia (Usinger, 1966, Dittmar *et al.*, 2009). Le femmine dei ditteri Nycteribidae e Streblidae nutrono le larve all'interno delle vie genitali e producono una singola larva completamente sviluppata che si aggancia al substrato e produce immediatamente la pupa: un perfetto adattamento ad un ambiente ospite del tutto inadatto al tipico sviluppo olometabolo del gruppo che prevede l'accrescimento della larva all'esterno (Ryberg, 1947; Wenzel *et al.*, 1966).

Negli acari che producono piccoli vivi questi si sviluppano all'interno delle madri e, attraverso il microscopio, si possono intravedere potendo quindi valutare la produttività del parassita così come è possibile vedere varie fasi vitali sullo stesso ospite dove le generazioni spesso si sovrappongono durante la stagione (Rudnick, 1960).

Nel caso in cui il parassita debba allontanarsi dall'ospite per partorire la larva saranno necessari particolari adattamenti che gli consentano di ritrovare la colonia ospite di Chiroteri e lo stesso vale per i giovani neometamorfosati. Per questo motivo hanno quindi evoluto efficienti meccanismi sensoriali chemiocettivi e termocettivi che permettono loro di individuare gli ospiti a distanza tramite la percezione dei livelli di anidride carbonica e del calore del corpo (Lourenço e Palmeirim, 2008a).

Nei *roost* ipogei delle zone temperate possono essere presenti sull'ospite diversi gruppi di parassiti durante tutto il ciclo annuale e la loro attività riproduttiva può oscillare stagionalmente. Il sesso, l'età e lo stato riproduttivo dell'ospite influenza fortemente l'attività dei parassiti che si riduce notevolmente durante i periodi invernali quando i pipistrelli sono in ibernazione (Lourenço e Palmeirim, 2008). Ne consegue che l'attività degli ectoparassiti è in forte relazione con il ciclo riproduttivo degli ospiti ed è condizionata dalle condizioni microclimatiche del roost (Lourenço e Palmeirim, 2008).

A seconda delle situazioni, il grado di parassitismo può essere elevato, comprendendo specie plurime di ectoparassiti conviventi su uno stesso individuo (Rybin, 1977; Haitlinger, 1979b).

Un livello problematico può anche indurre la colonia a spostarsi (Reckardt e Kerth, 2007).

Vi sono diversi fattori che influiscono sul livello di parassitizzazione che diviene un fattore chiave per la *fitness* e modella la storia di vita della maggior parte degli organismi (Clayton e Moore, 1997; Fredensborg e Poulin, 2006).

4.1. I Principali gruppi di ectoparassiti dei Chiroteri italiani

4.1.1. Nycteribidae (Insecta, Diptera)

Con oltre 120.000 specie, quello dei Diptera è uno dei maggiori ordini degli insetti. Sono olometaboli mostrando un ciclo vitale che comprende le fasi di uovo, larva, pupa e adulto. Le larve sono cieche e si nutrono predando o parassitando diversi tipi di esseri viventi, alcune si nutrono di materiale in decomposizione.

La superfamiglia degli Hippoboscidea contiene mosche parassite ematofaghe e comprende 5 famiglie Glossinidae, Mormotomyiidae, Hippoboscidae e, le due infeudate sui Chiroteri, Nycteribiidae e Streblidae.

Tradizionalmente le ultime tre famiglie sono raggruppate nei Pupipara, in riferimento all' avere lo sviluppo delle larve all'interno del corpo materno e un impupamento che avviene subito dopo la deposizione della larva già matura. Durante la fase uterina le larve vengono alimentate da specifiche ghiandole accessorie.

I Nycteribiidae sono totalmente atteri e quasi sempre anoftalmi. Misurano da 1,5 a 5 mm nella fauna europea e hanno lunghe zampe terminanti con grandi unghie ricurve con cui si muovono tra il pelo dell'ospite (Figura 33). I pupari sono semisferici e bruni, incollati sul substrato al quale si appendono i Chiroteri, e sono particolarmente abbondanti nei rifugi utilizzati per lungo tempo da grandi colonie (Figura 33). Le pupe schiuse sono riconoscibili sul substrato poiché, rotte dal parassita appena metamorfosato, alla vista risultano aperte e si presentano come anellini scuri (Lanza, 1999).

La famiglia conta almeno 275 specie distribuite in 12 generi e ha un centro di speciazione sull'emisfero orientale. Sono appiattati dorso-ventralmente e posseggono ctenidi (appendici della cuticola a forma di pettine) similmente alle pulci. Passano tutta la vita adulta sui Chiroteri ospiti, scendendo e portandosi sul substrato solo per la deposizione delle larve mature (Whitaker *et al.*, 2009). La specializzazione sugli ospiti varia molto tra le specie, alcune sono stenoecie, altre euriecie vantando diverse specie di Chiroteri tra i possibili ospiti. E' anche vero che certe specie di Chiroteri possono ospitare una comunità varia di Nycteribiidae (Ryberg, 1947; Lanza, 1999).



Figura 33. A sinistra esemplare adulto di Nycteribiidae. A destra pupari di Nycteribiidae fissati alla parete di un tunnel in una miniera Toscana.

4.1.2. Streblidae (Insecta, Diptera)

In questa famiglia di Diptera specializzati le ali permangono, così come gli occhi, e vengono ripiegate a riposo ai lati dell'addome (Figura 34). Gli Streblidae, al contrario dei Nycteribiidae, normalmente preferiscono localizzarsi sulle zone nude del patagio (Lanza, 1999).

Sono distribuiti a livello mondiale con epicentro di speciazione delle quasi 230 specie nel sud del continente americano. La distribuzione appare comunque particolare con due sottofamiglie tipiche e presenti solo nell'emisfero occidentale mentre le altre tre sono presenti solo in quello orientale (Whitaker *et al.*, 2009).

In Europa è presente una sola specie, *Brachytarsina flavipennis* Macquart, 1851 (Figura 34), la cui distribuzione, fenologia e scelta degli ospiti è in buona parte ancora da indagare.

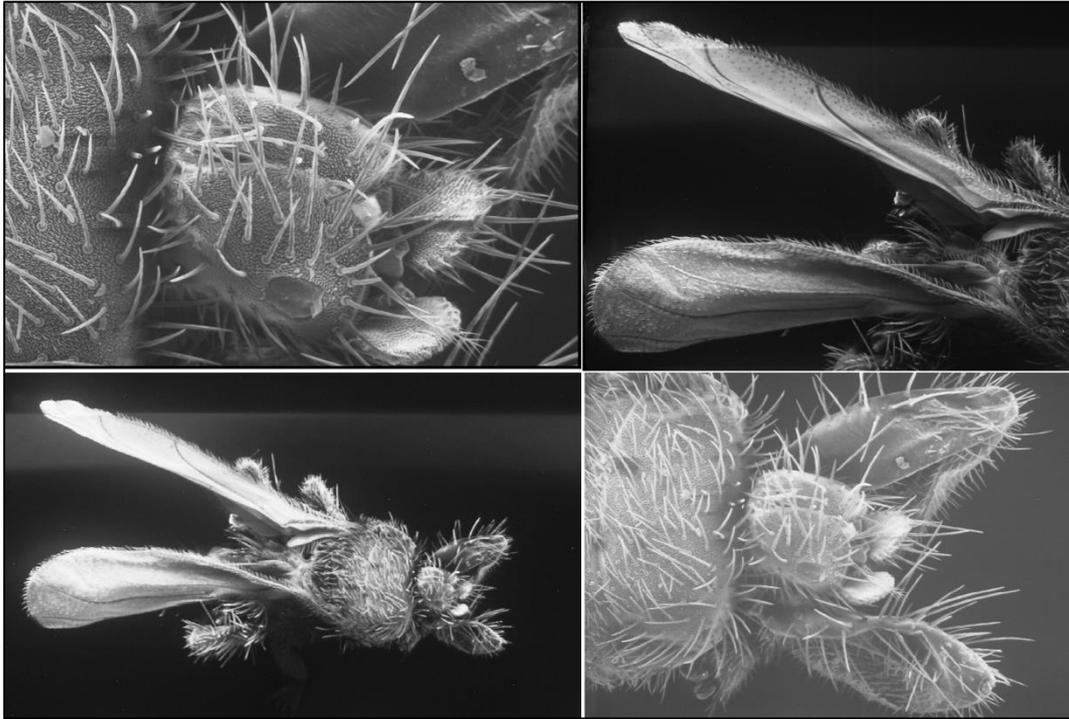


Figura 34. Esempio adulto di *Brachytarsina flavipennis* al microscopio ottico a scansione (SEM).

4.1.3. Ischnopsyllidae (Insecta, Siphonaptera).

All'ordine Siphonaptera appartengono le cosiddette pulci (Figura 35) prive di ali e con apparato masticatore modificato a formare stilette con cui succhiano il sangue dei propri ospiti, essenzialmente Mammiferi e Uccelli. Inizialmente erano considerati derivanti dai ditteri mentre oggi appaiono un gruppo evolutosi da ancestrali comuni coi Mecoptera. Sono ometaboli e hanno maturato una lunga e complessa via di coevoluzione con i propri ospiti (Whiting *et al.* 2008; Zhu *et al.*, 2015).

Sono caratterizzate da un esoscheletro compatto e robusto fortemente compresso lateralmente, capace di resistere a forti pressioni ed eventuali danneggiamenti da parte dell'ospite. La coppia di zampe posteriori è adattata al salto. Gli ctenidi presenti su capo e pronoto sono spesso morfologicamente adattati alle caratteristiche del pelo dell'ospite (Figura 35). Il loro ciclo vitale, comprendente le fasi di uovo, larva, pupa e adulto, richiede un tempo variabile da due settimane a otto mesi a seconda della specie e delle condizioni climatiche. Le femmine possono deporre varie centinaia di uova durante la vita adulta rilasciandole di solito sull'ospite. Le larve neonate si portano sul substrato dove si nutrono di detriti organici. La metamorfosi avviene in bozzoli setosi tessuti dalla larva da dove l'adulto fuoriesce sollecitato dalle vibrazioni, dalle emissioni di CO₂ e dal calore di un ospite in avvicinamento. I neometamorfosati della famiglia, che si è coevoluta con i Chiroterri, salgono nelle colonie,

non arrampicandosi direttamente sull'ospite, ma salendo sui piccoli caduti sul substrato e raccolti in seguito dalle madri (Hudson, 1984).

Quindi le pulci dei Chiroteri appartengono alla specializzata famiglia degli Ischnopsyllidae, anche se vi sono ritrovamenti di specie appartenenti ad altre 5 famiglie considerate comunque legate ad infestazione accidentali (Lanza, 1999).

Delle oltre 2300 specie di pulci conosciute solo circa il 10% parassitizza i Chiroteri e nell'ambito della famiglia Ischnopsyllidae se ne contano ben 236 specie distribuite in 20 generi (Whitaker *et al.*, 2009).

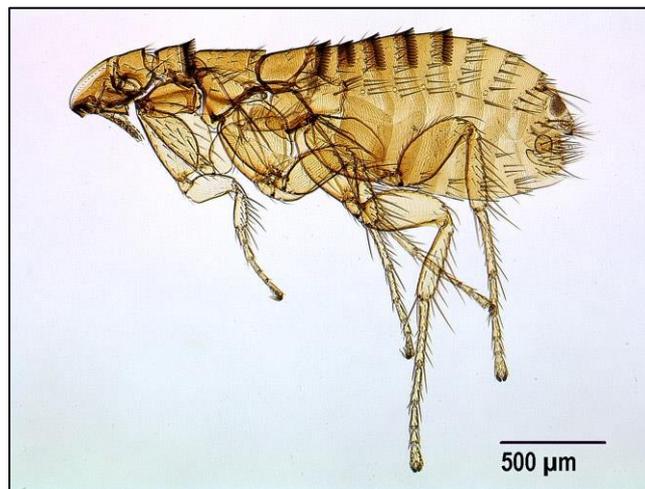


Figura 35. *Ischnopsyllus hexactenus* (coll. ent. @ [ewww.senckenberg.de](http://www.senckenberg.de)).

4.1.4. Cimicidae (Insecta, Rynchota, Heteroptera)

La famiglia Cimicidae è cosmopolita con specie ematofaghe infeudate su molteplici ospiti. Conta 108 specie ripartite tra 22 generi; in Europa sono presenti solo i generi *Cimex* e *Oeciacus*. Il genere *Cimex* è caratterizzato da occhi composti e antenne suddivise in 4 articoli. Distintive sono le espansioni laterali del pronoto che si protraggono in avanti quasi fino all'altezza degli occhi. Tipicamente in questa famiglia si riscontra il meiotterismo, ovvero le ali posteriori sono assenti e quelle anteriori sono ridotte a due piccole squame sclerificate. A fronte del particolare comportamento riproduttivo, con inseminazione traumatica extragenitale, le femmine presentano una fenditura, nella parte latero-ventrale del V° urite, chiamata fenditura di Ribaga, attraverso la quale avviene la copulazione. L'organo copulatore del maschio è asimmetrico, con un edeago (organo copulatore estroflettibile degli insetti) e un paramero (ognuna delle due appendici pari della porzione prossimale dell'organo copulatore maschile) sinistro ben sviluppati, a formare uno stiletto adattato appunto all'inseminazione traumatica per via emocelica (Lanza, 1999).

Le cimici sono ectoparassiti temporanei, salgono e rimangono sui loro ospiti solo per il tempo dell'alimentazione per poi portarsi di nuovo nei rifugi vicini. Ricercano e trovano l'ospite, percependo le concentrazioni di CO₂ e il calore corporeo. Possono digiunare per mesi interi, soprattutto a basse temperature, ma in fase di attività solitamente si alimentano quasi tutti i giorni. Durante la vita adulta possono produrre alcune centinaia di uova e, dopo la schiusa, si hanno cinque stadi ninfali di varia durata prima di raggiungere lo stadio adulto con uno sviluppo, appunto, di tipo eterometabolo (Lanza, 1999).

Sulle 91 specie conosciute di Cimicidae, 13 generi e almeno 61 specie sono state trovate sui Chiroterri di cui 10 esclusivamente su questi ultimi, spesso con scarsa specializzazione nella scelta della specie ospite (Whitaker *et al.*, 2009). Tre sole specie sono ad oggi citate per l'Italia sui Chiroterri (Lanza, 1999).



Figura 36. *Cimex pipistrelli* (Blagdon, Somerset @ www.wildguideuk.com).

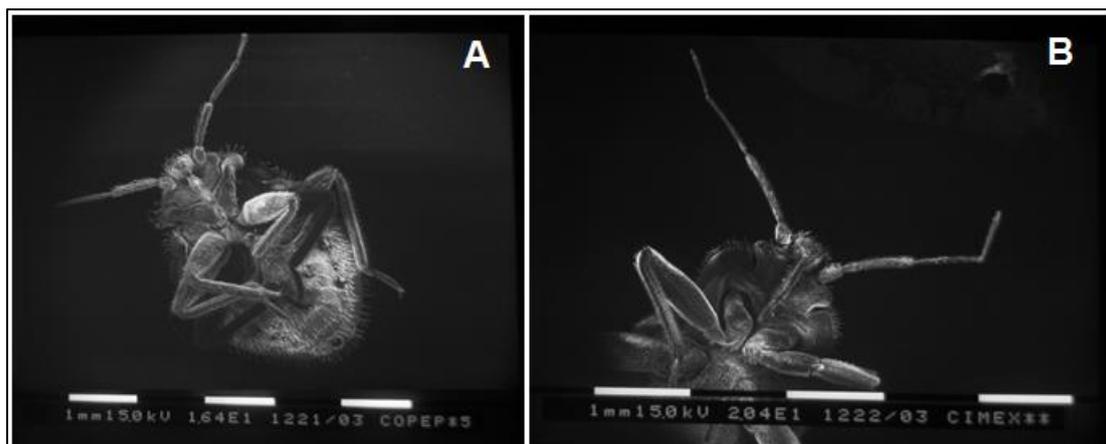


Figura 37. *Cimex pipistrelli* al microscopio ottico a scansione (SEM). A: Visione ventrale di allo stadio di ninfa; B: Visione ventrale del cefalotorace di un esemplare adulto.

4.1.5. Ixodidae e Argasidae (Acarina, Ixodida)

Nell'ordine Acarina si contano almeno 30.000 specie, ma si presuppone che ve ne siano da scoprire dieci volte tante. I reperti fossili fanno risalire gli Acarina ad almeno 290 milioni di anni fa. Sono di piccole dimensioni misurando da meno di un mm fino a 3 cm di lunghezza e presentano la fusione del cefalotorace con l'addome e l'assenza di segmentazioni visibili. Vi sono moltissime specie parassite così come a vita libera, predatori e fitofagi. Hanno una notevole varietà morfologica per adattarsi ai vari *habitus* e la loro riproduzione avviene con la deposizione di uova da cui nascono larve esapode che, raggiunto lo stadio di ninfa, acquisiscono il quarto paio di zampe. La ninfa va incontro a mute successive che portano allo stadio finale di adulto (Whitaker *et al.*, 2009).

Gli Ixodidae, denominate comunemente zecche (Figura 38), sono una famiglia caratterizzata dalla presenza di uno scudo dorsale chitinoso presente in tutti gli stadi di sviluppo. Lo scudo copre tutto il dorso nel maschio, mentre nella femmina è presente solo anteriormente. La parte addominale della femmina è elastica e si può allargare per ospitare grandi quantità di sangue e successivamente di uova. Vi sono specie con occhi ed altre senza.



Figura 38. Visione ventrale di un maschio adulto di *Ixodes vespertilionis* (da Cringoli *et al.*, 2005).

Vi sono specie che appaiono essere monoxene, nutrendosi su un solo ospite ed altre *dixene* o *eteroxene* nutrendosi su due o più ospiti. In questi ultimi due casi sul primo ospite generalmente si nutrono larva e ninfa mentre sugli altri gli adulti. Gli Argasidae,

comunemente conosciute come "zecche molli", non presentano lo scudo dorsale chitinoso nei vari stadi di sviluppo (Figura 39; Lanza, 1999).

Tra questi “grandi” Acarina le specie che si sono infeudate sui Chiroterri sono circa 50 nell’ambito della famiglia Argasidae ed almeno 20 specie tra gli Ixodidae. In alcuni casi si tratta di specie più connesse con la struttura dei rifugi (cavità sotterranee) che con l’ospite, come mostra un largo spettro di specie parassitate. Molte femmine adulte di Ixodidae si fissano sul corpo dell’ospite e lì rimangono per molto tempo mentre i maschi salgono sugli ospiti solo per alimentarsi. Anche tutte le specie degli Argasidae presentano frequentazioni alimentari e rimangono poco tempo sull’ospite, spesso rilasciando le uova dopo aver digerito il pasto di sangue (Whitaker *et al.*, 2009).



Figura 39. Esemplare adulto di Argasidae, genere *Carios* (www.macromite.wordpress.com).

4.1.6. Spinturnicidae (Acarina, Mesostigmata)

Sono una famiglia di piccoli acari tipicamente parassiti di Chiroterri. Sono caratterizzati da corpo non molto grande, ma con zampe forti e tozze che lo incorniciano risultando più visibili del corpo stesso (Figura 40). Si localizzano soprattutto sul patagio del pipistrello. Hanno ciclo vitale particolare con le fasi di uovo, larva, protoninfa, deuteroninfa e adulto. Le prime due

avvengono all'interno del corpo della femmina che partorisce la protoninfa la quale in breve tempo muta in deuteroninfa e successivamente in adulto (Figura 40). La sistematica del gruppo è in revisione in quanto sono state scoperte di recente molte nuove specie. Almeno 67 specie sono infeudate sui Chiroteri (Whitaker *et al.*, 2009).

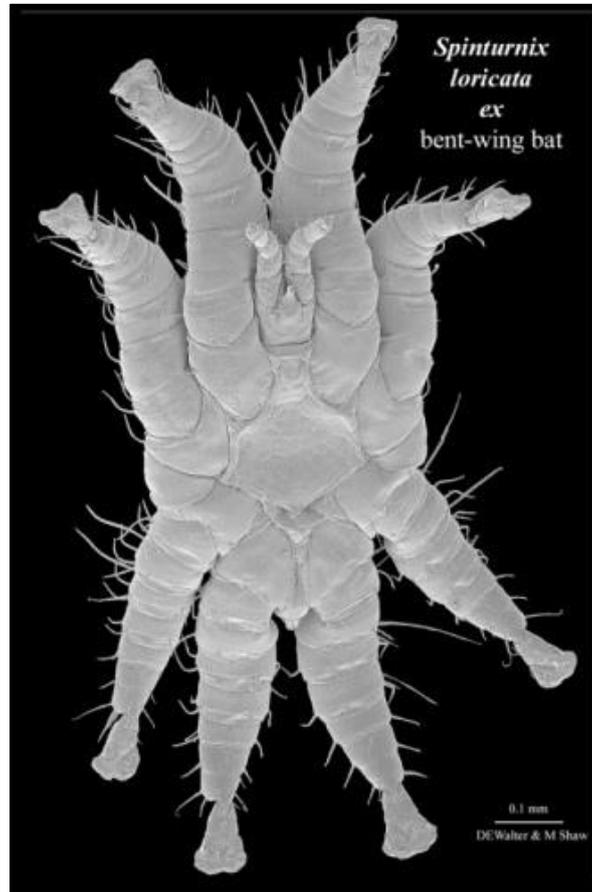


Figura 40. Spinturnicidae adulto (macromite.wordpress.com).



Figura 41. Spinturnicidae (macromite.wordpress.com).

4.2. Specificità dell'ospite e fattori che influenzano la presenza degli ectoparassiti nei Chiroteri

A seconda del parassita, è possibile riscontrare una specificità più o meno ristretta nella ricerca dell'ospite. Il parassita può essere legato, più o meno, ad un dato ospite mentre altri possono essere più generalisti (Lanza, 2012). Per ogni parassita, quindi, si possono identificare uno o più *ospiti primari* (specifici); uno o più *ospiti secondari*, che assicurano la sopravvivenza del parassita in caso di emergenza e di mancanza dell'ospite primario, e *ospiti accidentali* soprattutto nel caso di colonie miste con diverse specie che vengono a contatto tra loro (Lanza, 2012).

La maggior parte dei parassiti utilizza un numero ristretto di possibili ospiti, mostrando specificità nella scelta della specie ospite. I parassiti con ospite specifico generalmente hanno pochi altri ospiti usati con meno frequenza (Poulin, 1992; Tripet *et al.*, 2002). Anche i generalisti mostrano una preferenza per alcune specie rispetto ad altre (Tripet e Richner, 1997; Soler *et al.*, 1999; Johnson *et al.*, 2002). La selezione apparentemente tende a favorire la specializzazione dei parassiti verso il proprio microambiente e di conseguenza verso gli ospiti adatti (Combes, 1991; Thompson, 1994; Kawecki, 1998; de Meeûs *et al.*, 1998).

I vantaggi di avere una sola specie ospite riguardano la creazione di una nicchia specializzata che porta ad avere un maggior grado di *fitness* una volta instaurato un sofisticato equilibrio ospite-parassita (Jaenike, 1990; Thompson, 1994; Combes, 1995, 1997; Tripet e Richner,

1997; Norton e De Lange, 1999; McCoy *et al.*, 2001). Pertanto un parassita è portato a specializzarsi se i benefici di questa scelta evolutiva superano il vantaggio della facile interazione con ospiti occasionali (McCoy *et al.*, 2001). In altre parole, la scelta ecologica di restringere il proprio campo di azione ad uno o pochi ospiti, rispetto a potersi avvalere di una ampia schiera degli stessi, ha diversi vantaggi e svantaggi in termini evolutivi. Legarsi ad un particolare ospite ha il vantaggio di potersi adattare alle eventuali particolarità ecologiche o fenologiche dello stesso, con un tipico percorso di coevoluzione. Se l'ospite si mantiene abbondante, questo conferisce evidenti vantaggi, e diminuisce la competizione con specie più generaliste ma meno adattate. Gli svantaggi derivano dall'essere confinati in un determinato ambiente e non potersi muovere al di fuori di esso, contattando altri ospiti potenzialmente utilizzabili e quindi in caso di declino o estinzione dell'ospite si è destinati alla stessa sorte. Da qui l'altra strategia, ovvero una euriecia del parassita, che gli permette di cambiare orizzontalmente ospite e intercettare quindi molti più ambienti che ne permettano lo sviluppo al riparo dal destino del singolo ospite. L'adattabilità però gioca a sfavore in caso di competizione nei confronti di specie stenoece e intrinsecamente meglio adattate ad uno specifico ospite (Whitaker, 2009). Ne consegue che la scarsa disponibilità di ospiti dovrebbe promuovere la strategia generalista del parassita (Tripet *et al.*, 2002).

L'alta specificità è piuttosto comune tra gli ectoparassiti dei Chiroteri come dimostra la revisione di Whitaker *et al.* (2007) dove il 62,5 % delle specie di Spinturnicidae della fauna nord americana è legata ad un solo ospite. Di contrasto comunque vi sono due *taxa* che sono stati ritrovati su ben 13 specie diverse di ospiti. Tra gli Streblidae del Paraguay ben l'81% è legato a singole specie o a gruppi di specie strettamente correlati filogeneticamente (Dick e Gettinger, 2005)

Benchè i parassiti siano onnipresenti, le popolazioni ospitanti mostrano spesso una forte variazione della probabilità e dell'entità dell'infestazione dovute principalmente al tipo di esposizione e a meccanismi individuali di difesa immunitaria più o meno efficienti. Aspetti fisiologici come la relazione tra ormoni steroidei, in particolare il testosterone, e l'efficienza della risposta immunitaria, giocano un ruolo importante nella differenza tra i sessi (Grossman, 1985; Zuk, 1990; Folstad e Karter, 1992; Roberts *et al.*, 2004).

Oltre a questo i parassiti devono evolvere strategie di adattamento alle caratteristiche fisiologiche dell'ospite, cosa ben nota per gli endoparassiti, ma altrettanto valida per gli ectoparassiti che spesso dipendono dai livelli ormonali del sangue dell'ospite, per esempio, per dare inizio alla propria riproduzione (Christe *et al.* 2007, Lourenço e Palmeirim 2008).

È stata dimostrata una differenza del livello di infestazione in base al sesso dell'ospite: la maggior parte degli studi ha trovato che i maschi sono più parassitati rispetto alle femmine

(Zuk, 1990; Poulin, 1996; Schalk e Forbes, 1997; Klein, 2000; Moore e Wilson, 2002; Morand *et al.*, 2004; Amo *et al.*, 2005), con alcune eccezioni (Poulin, 1996; Schalk e Forbes, 1997; McCurdy *et al.*, 1998; Morales-Montor *et al.*, 2004).

Infatti in alcune zone temperate, in condizioni naturali, sono le femmine ad essere maggiormente colpite dai parassiti con variabilità stagionali (Zahn e Rupp, 2004; Lucan, 2006).

Fondamentali differenze biologiche tra i due sessi possono spiegare la loro diversa sensibilità ai parassiti. Il comportamento nelle fasi di vita differenziate di maschi e femmine può influire sull'esposizione ai parassiti rendendo un sesso più vulnerabile dell'altro (Reimchen e Nosil 2001; Krasnov *et al.*, 2005). Un esempio sono le aggressioni tra maschi per conquistare le opportunità di accoppiamento durante la stagione degli amori che aumentano la probabilità di contagio (Mooring e Hart, 1995; Mooring *et al.*, 2006) oppure il diverso grado di aggregazione e di distribuzione spaziale all'interno di individui di uno stesso sesso (Zuk e McKean, 1996). L'abitudine delle femmine di riunirsi in grandi colonie riproduttive (*nursery*) favorisce la trasmissione verticale e orizzontale dei parassiti (Christe *et al.*, 2000).

Una grande aggregazione di individui in stretta associazione tra loro, porta ad un aumento della temperatura all'interno del *roost*, la quale potrebbe avvantaggiare le capacità riproduttive dei parassiti (Marshall, 1981).

Gli effetti del parassitismo possono essere debilitanti per i Chiroterti, tuttavia generalmente l'evoluzione del rapporto ospite-parassita tende verso una riduzione della virulenza del parassita piuttosto che ad un grado di infestazione troppo elevato, proprio a limitare gli effetti nocivi del parassitismo (Whitaker *et al.*, 2009).

Alcuni parassiti (come ad esempio zecche e pulci) possono creare lesioni temporanee sulla cute che inducono occasionalmente risposte immunologiche di media entità (Christe *et al.*, 2000). Ciò nonostante la maggior parte degli ectoparassiti non provocano ferite problematiche ai loro ospiti.

I parassiti hanno dimostrato di influenzare l'efficienza riproduttiva dell'ospite e la scelta del sito di rifugio risultando in certi casi di detrimento sulla *fitness* complessiva (Møller, 1993; Richner *et al.*, 1993; Christe *et al.*, 1994; Christe *et al.*, 2000; Giorgi *et al.*, 2001; Kunz e Lumsden, 2003; Reckardt e Kerth, 2006; Christe *et al.*, 2007; Bartonicka e Gaisler, 2007; Reckardt e Kerth, 2007).

Altri effetti includono quelli sulla salute generale dell'ospite; è dimostrato, ad esempio, che esiste una correlazione negativa tra il peso dell'animale e il numero di parassiti presenti sul corpo (Linhares e Komeno, 2000).

5. MATERIALI E METODI

5.1. Area di studio e valutazione dei siti di cattura

L'ambito geografico della ricerca è il bacino Mediterraneo. Prima di procedere al campionamento vero è proprio è stato necessario valutare i possibili siti di cattura.

In Tabella 13 sono elencati tutti i rifugi in cui è stato eseguito un sopralluogo di verifica seguito, in alcuni casi, da tentativi di cattura. Solo successivamente sono stati decise come colonie sicure e stabili per il campionamento quelle elencate in Tabella 14.

Tabella 13. Colonie visitate per raccolta informazioni e valutazione.

N	Nazione - Regione	Città	Localione	Tipologia	Composizione Colonia
1	Italia Piemonte	Torino	Verrua Savoia	Ipogeo edificio	Mista
2	Italia Liguria	Savona	Giovo Ligure	Ipogeo edificio	<i>R. ferrumequinum</i>
3	Italia Emilia Romagna	Rimini	Onferno	Grotta	Mista
4	Sicilia	Agrigento	Sant'Angelo Muxaro	Grotta	Mista
5	Sicilia	Palermo	Carini	Grotta	Mista
6	Sicilia	Trapani	Santa Ninfa	Grotta	Mista
7	Basilicata	Potenza	Monte Raparo	Grotta	Mista
8	Basilicata	Matera	Grotta dei pipistrelli	Grotta	Mista
9	Puglia	Foggia	Gargano	Grotta	Mista
10	Puglia	Brindisi	Grotte di Castellana	Grotta	Mista
11	Puglia	Lecce	Grotta Zinzulusa	Grotta	Mista
12	Italia - Piemonte	Pollenzo	Santa Vittoria d'Alba	Tunnel cava	Solo <i>M. myotis</i>
13	Italia - Emilia Romagna	Riolo Terme	Monte Tondo	Cava attiva	Mista
14	Italia - Alto Adige	Gargazzone	Centro città	Chiesa utilizzata	<i>M. myotis</i> e <i>M. blythii</i>
15	Italia - Alto Adige	Vezzano	Centro città	Chiesa utilizzata	<i>M. myotis</i> e <i>M. blythii</i>
16	Italia - Toscana	Pisa	Montecatini Val di Cecina	Tunnel Miniera	Mista
17	Italia - Sardegna	Borutta	Sa Rocca Ulari	Grotta	Mista
18	Italia - Sicilia	Siracusa	Marzamemi	Grotta	Mista
19	Italia - Sicilia	Siracusa	Palombara	Grotta	Mista
20	Grecia	Achaia	Kato Achaia	Grotta	Mista
21	Grecia	Karistos	Potami	Corso d'acqua	Catture all'aperto
22	Creta	Irakelion	Lera	Grotta marina	Mista
23	Creta	Irakelion	Zoniana	Grotta	Mista
24	Creta	Irakelion	Milatos	Grotta	Mista
25	Creta	Irakelion	Ag. Paraskevi	Grotta	Mista
26	Creta	Sougia	Ag. Eirini	Gola	Mista
27	Catalunya	Gombrèn	Palomeres	Grotta	<i>M. myotis</i>
28	Catalunya	Tarragona	Miloquera	Grotta	<i>M. myotis</i>
29	Algeria	Annaba	Destrios	Tunnel	Mista

Per ogni sito sono stati rilevate le principali caratteristiche:

- posizione geografica e quota;
- struttura e dimensione del rifugio, utilizzando misuratori laser o, quando possibile, mappe del catasto in caso di ipogei accatastati;
- microclima del rifugio, mediante rilievi puntuali o in continuo, utilizzando una termocamera (Figura 42) o termometri digitali e quando possibile l'umidità relativa;
- posizione della colonia all'interno del rifugio;
- fenologia della colonia ovvero composizione specifica della comunità di Chiropteri (numero di individui e numero di specie presenti);
- ricerca di eventuale bibliografia sulla colonia.

Una volta raccolte le informazioni necessarie, è stato valutato il contesto eco-sistematico del rifugio e le sue correlazioni spaziali con sistemi ipogei vicini.



Figura 42. Termocamera FLIR E30. Operatore all'interno del tunnel di Cava di Monte Tondo per il rilievo dei valori di temperatura e di umidità.

I siti utilizzati per il campionamento sono 18 (Tabella 14) la cui posizione geografica è visibile in Figura 43.

Tabella 14. Siti di cattura numerati da 1 a 22.

	Nazione Regione	Città	Localione	Tipologia	Composizione Colonia
1	Italia - Piemonte	Pollenzo	Santa Vittoria d'Alba	Tunnel cava	Solo <i>M. myotis</i>
2	Italia - Emilia Romagna	Riolo Terme	Monte Tondo	Cava attiva	Mista
3	Italia - Alto Adige	Gargazzone	Centro città	Chiesa utilizzata	<i>M. myotis</i> e <i>M. blythii</i>
4	Italia - Alto Adige	Vezzano	Centro città	Chiesa utilizzata	<i>M. myotis</i> e <i>M. blythii</i>
5	Italia - Toscana	Pisa	Montecatini Val di Cecina	Tunnel Miniera	Mista
6	Italia - Sardegna	Borutta	Sa Rocca Ulari	Grotta	Mista
7	Italia - Sicilia	Siracusa	Marzamemi	Grotta	Mista
8	Italia - Sicilia	Siracusa	Palombara	Grotta	Mista
9	Grecia	Achaia	Kato Achaia	Grotta	Mista
10	Grecia	Karistos	Potami	Corso d'acqua	Catture all'aperto
11	Creta	Irakelion	Lera	Grotta marina	Mista
12	Creta	Irakelion	Zoniana	Grotta	Mista
13	Creta	Irakelion	Milatos	Grotta	Mista
14	Creta	Irakelion	Ag. Paraskevi	Grotta	Mista
15	Creta	Sougia	Ag. Eirini	Gola	Mista
16	Catalunya	Gombrèn	Can Palomeres	Tunnel	<i>M. myotis</i>
17	Catalunya	Tarragona	Miloquera	Grotta	<i>M. myotis</i>
18	Algeria	Annaba	Destrios	Tunnel	Mista



Figura 43. Posizione delle colonie oggetto di campionamento.

SITO 1 - La colonia situata a Pollenzo è all'interno di un tunnel di una cava di gesso e ospita una colonia monospecifica di circa 500 *Myotis myotis*. L'accesso è vietato al pubblico e questo comporta un minor disturbo alla colonia, tuttavia i lavori attualmente in atto aumentano il rischio che la colonia si sposti altrove. Il soffitto è alto oltre i 5 m ed è quindi

necessario utilizzare le reti per la cattura, tuttavia gli animali spesso sono a riposo in posizioni raggiungibili con un retino.

SITO 2 - La colonia, situata nel Comune di Riolo Terme, ha un'ubicazione particolare dovuta alla presenza di un forte disturbo antropico attiguo alla stessa. È infatti all'interno di grandi tunnel di una miniera ancora attiva dove gli scavi avvengono oggi a cielo aperto sull'altro versante del monte dove in passato sono stati aperti i tunnel di coltivazione. La colonia è mista, sono presenti alcune centinaia di individui delle due specie gemelle *Myotis myotis/M. blythii* e circa 3500 *Miniopterus schreibersii*. Le 3 specie di Rinolofi (*Rhinolophus hipposideros*, *R. ferrumequinum* e *R. euryale*) sono presenti, in numero molto variabile, durante il periodo di svernamento. Il grande differenziamento microclimatico presente in questi tunnel permette alle diverse specie di riprodursi e anche di ibernare a poca distanza. Questa colonia, posta al margine del Parco della Vena del Gesso Romagnola, è la colonia maggiore del Parco (Figura 44 e Figura 45).



Figura 44. Chiroterri in volo all'interno di uno dei tunnel della cava di Monte Tondo.



Figura 45. Prospettiva della grandezza dei tunnel in relazione all'operatore che raccoglie dati di presenza Chiroterri.

SITO 3 e 4 - Le chiese di Vezzano e Gargazzone in Alto Adige sono utilizzate quotidianamente per le funzioni religiosi e tutti, sia la gente del luogo sia gli esponenti della parrocchia, hanno molto a cuore il benessere delle grandi colonie di Chiroterri presenti. A Vezzano il sottotetto della chiesa ospita una colonia mista di *Myotis myotis* e *M. blythii* di circa 1500 animali riproduttivi, mentre a Gargazzone le due specie sono presenti con circa 2500 esemplari riproduttivi. Gli animali trovano rifugio appesi alle travi di sostegno del tetto delle due chiese.

SITO 5 - Il sito in Toscana, nel Comune di Montecatini in Val di Cecina, ospita una colonia di Chiroterri in un tunnel largo circa 1 m e alto 1,70 m che si estende in orizzontale per 800 m (Figura 46). L'ambiente è molto umido ed ospita una piccola colonia mista di meno di 100 individui di *Myotis myotis/blythii*, con presenza anche di alcuni individui di *Miniopterus schreibersii* ed anche di *R. euryale*. La struttura del tunnel e l'estrema facilità con cui si possono raggiungere gli animali permette un rapido campionamento e uno studio accurato della disposizione dei pupari degli ectoparassiti, infatti è la colonia ideale per testare vari approcci sulla studio della disposizione dei pupari sulla parete.



Figura 46. Entrata del tunnel di miniera a Montecatini Val di Cecina.

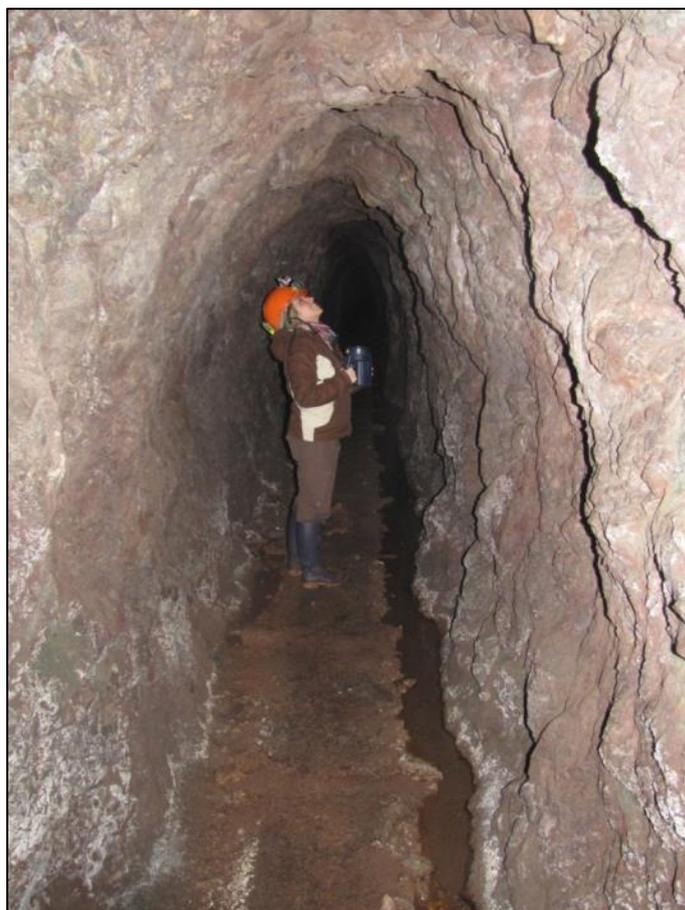


Figura 47. Tunnel di miniera di Montecatini Val di Cecina visto internamente.

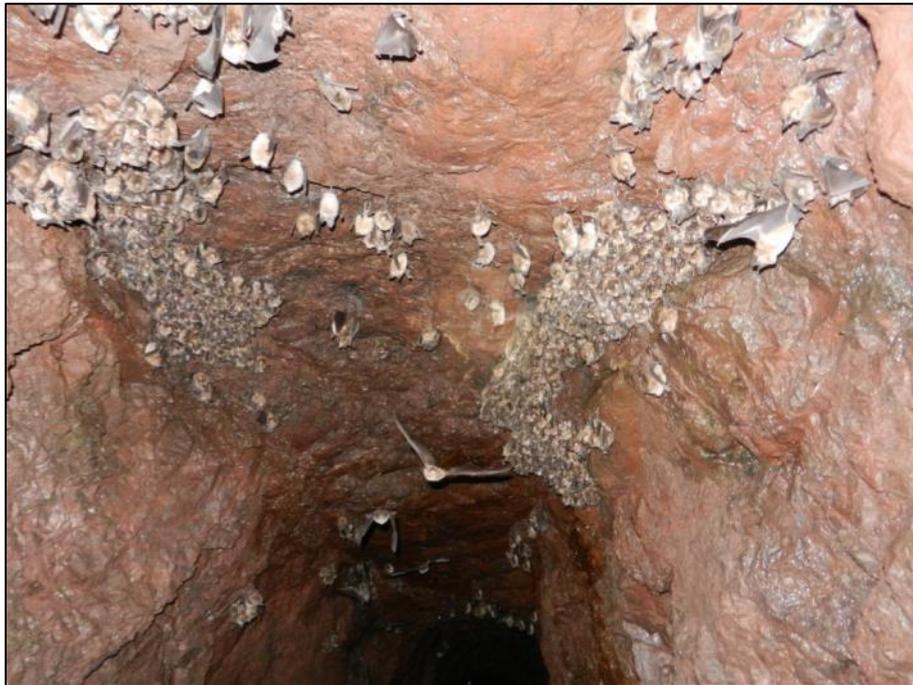


Figura 48. Colonia mista all'interno del tunnel di miniera di Montecatini Val di Cecina.

SITO 6 - La grotta di Sa Rocca Ulari si trova a Borutta nel Comune di Sassari in Sardegna . Si tratta di un ipogeo a meandro nei calcari con volte alte e *dome* (in speleologia termine inglese che indica cupola, volta) finale (Figura 49). Esso ospita una ricca colonia mista con rappresentanti di *Myotis punicus* e *Miniopterus schreibersii*, che insieme raggiungono almeno i 3000 individui. Sono presenti anche individui di *Myotis capaccinii* e *Rhinolophus mehelyi*. È una grotta chiusa al pubblico e poco disturbata.



Figura 49. Grotta di Sa Rocca Ulari a Borutta, Sardegna.

SITO 7 - La colonia di Marzamemi di Siracusa (Sicilia) è una Ricca colonia mista con rappresentanti di *Myotis myotis* e *M. blythii* oltre che *Miniopterus schreibersii*, che raggiungono insieme almeno i 4000 individui. Presenti anche individui di *Myotis capaccinii*, *Rhinolophus ferrumequinum*, *R. mehelyi* e occasionalmente *R. hipposideros*. È una grotta nei calcari, lunga e complessa, con entrata in una dolina di crollo. L'esplorazione interna è difficile ma è fattibile la cattura degli animali all'uscita tramite rete (Figura 50).



Figura 50. Entrata delle grotta di Marzamemi (Sicilia).

SITO 8 - La grotta di Palombara di Siracusa (Sicilia), è una grande cavità situata nei calcari Iblei con volte alte e dome finale (Figura 51). Ospita una colonia con composizione mista di rappresentanti di *Myotis myotis* e *M. blythii* oltre che *Miniopterus schreibersii*, i quali insieme raggiungono almeno i 3000 individui. Presente anche individui di *Myotis capaccinii*, *Rhinolophus ferrumequinum* e *R. hipposideros*. L'entrata è chiusa con un'inferriata, ma si riesce comunque ad accedervi e la cattura degli esemplari è possibile nel corridoio di restringimento della cavità, la quale si apre poi sul *canyon* con ampio vestibolo.

SITO 9 - Una piccola cavità sotterranea nei pressi del villaggio Chalandritsa nella località di Achaia, ad 1 Km a sud del Golfo di Patrasso.

SITO 10 - Nei pressi di Karistos, nell'isola Eubea in Grecia, sono stati catturati alcuni esemplari tramite *misnet*. La rete è stata posta su un corso d'acqua, punto di abbeverata dei Chiroteri, in località Potami a circa 500 metri dalla linea di costa.

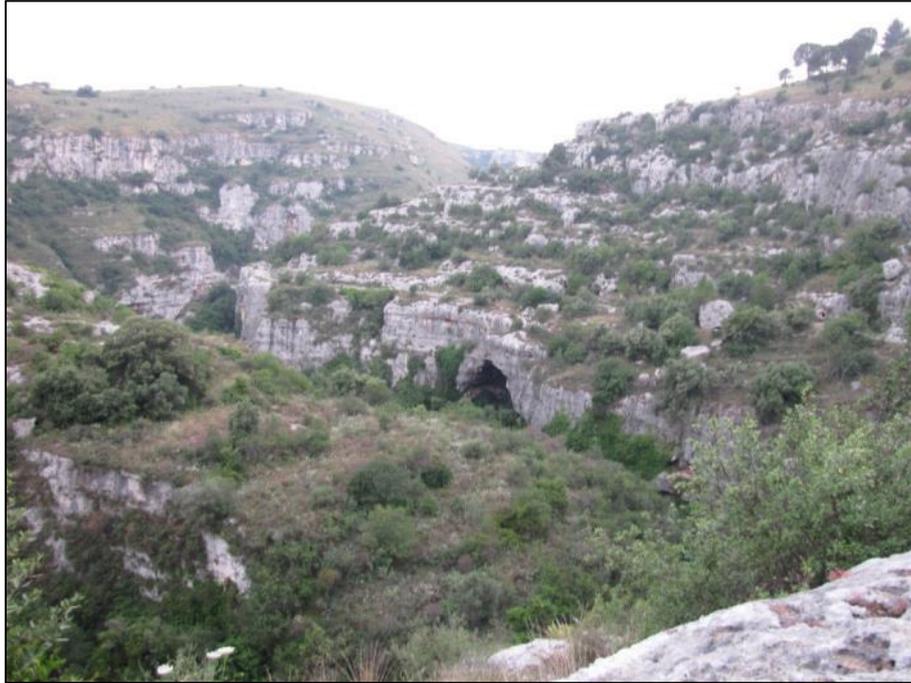


Figura 51. Ingresso della Grotta di Palombara (Sicilia).

SITO dall'11 al 15 - Creta offre più di tremila grotte caratterizzate da stalattiti e stalagmiti e sistemi complessi di cunicoli, corridoi e ampie camere. Sono cavità antiche ricche di storia essendo utilizzate dagli uomini primitivi come rifugio o come santuario durante l'età minoica dagli abitanti dell'isola. Le grotte sono sparse su tutto il territorio cretese e possiedono un'enorme importanza archeologica dato che ospitano ancora oggi molti reperti. La grotta di Sfentoni è la più grande, si estende per circa 300 m con una superficie totale di più di 3000 m². Questa insieme alla grotta di Agi Paraskevi rappresentano le grotte più famose, visitate da turisti di tutto il mondo. La Grotta di Milatos è situata sul fianco di un arido valloncetto a circa 150 metri s.l.m., ad un chilometro ad est del villaggio omonimo e presenta una struttura labirintica, con più ingressi. La grotta Lera o Pan, formata da un corridoio e quattro camere, si è formata alle pendici del Monte Vardies nella parte Ovest, ad un'altitudine di 70m, e si trova di fronte alla laguna di Stavros (Figura 52).

La presenza sull'isola del solo *Myotis blythii* ha permesso una serie di catture veloci all'uscita di diversi ipogei. La valle di Agia Irini inizia sopra il villaggio omonimo e il fiume della valle determina la linea tra il Nord e il Sud di Creta. A sud del villaggio la valle si restringe formando la gola di Agia Irina. Qui è possibile registrare Chiroteri all'uscita delle fessure situate nelle pareti della gola (Figura 53).



Figura 52. Grotta di Leva, Creta.

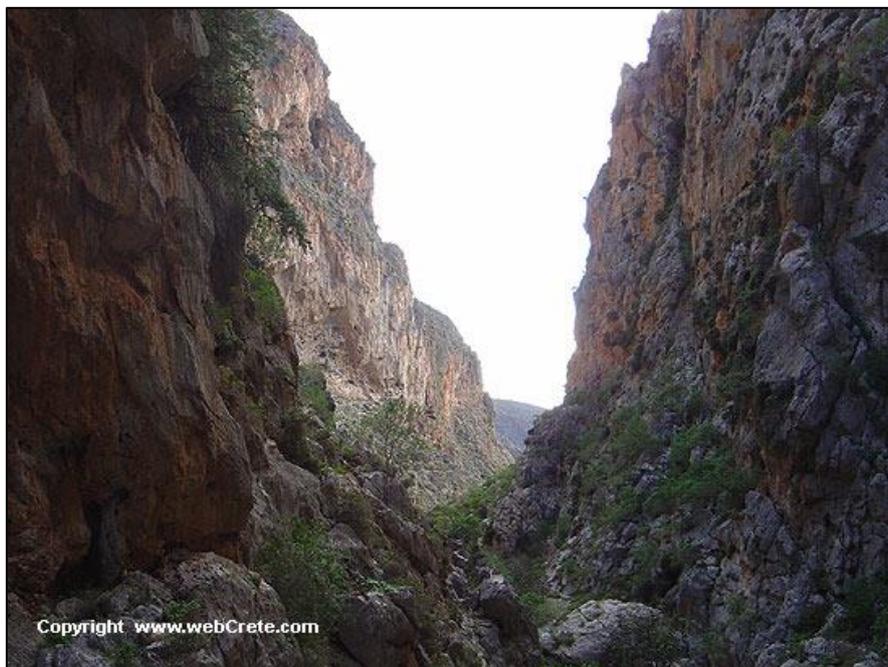


Figura 53. Gola di Agia Irini, Creta.

SITO 16 e 17. Can Palomeres in Catalunya sono importanti miniere di ferro utilizzate fin dall'inizio del XIX secolo con una vasta rete di gallerie (oltre 5 chilometri) e numerosi ingressi. Le gallerie, essendo tutte interconnesse tra loro, sono uno dei sistemi di miniera più grandi della Catalunya per arrivare a costruire un complesso ed elaborato trasporto del sistema minerale verso la costa. Questo complesso sistema di gallerie crea una moltitudine di microambienti adatti al rifugio di numerosi Chiroterri di diverse specie.

La Miloquera è una collina di 405 metri di altitudine ai cui piedi è situato il villaggio di Marçà, la base della collina è di pietra rossa (Figura 54).

La collina della Miloquera ha diverse attrazioni come le buche che arrivano ad un centinaio di metri di profondità, di cui le più importanti sono quella di Heura e Cireret. Miloquera è molto molto apprezzato da speleologi e archeologi, dato che in passato vi era un insediamento iberico.

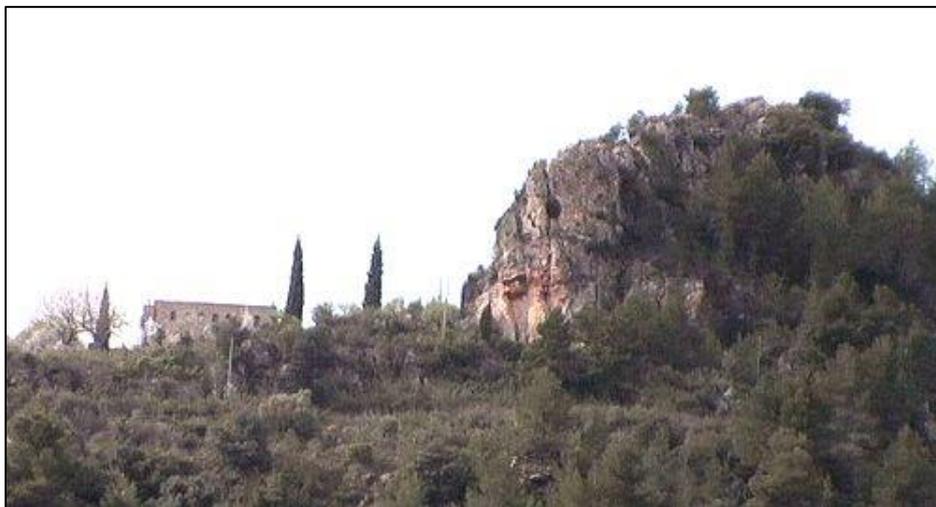


Figura 54. La Miloquera. Catalunya.

SITO 18 - Ad Annaba è presente un tunnel minerario abbandonato di facile accesso. La lunghezza è di circa 200 m. All'interno sono presenti individui di *Myotis punicus*, *Rhinolophus blasii* e *Rhinolophus ferrumequinum* in numero molto variabile, non essendo questo un sito abituale di riproduzione o svernamento.

5.2. Cattura delle specie oggetto di studio

Una volta identificati i rifugi si sono attuate le campagne di studio in campo nelle quali sono stati catturati esemplari di Chiroteri da marzo 2013 fino a giugno 2015.

In pochi casi, come ad esempio quello del tunnel di miniera in Toscana, è stato possibile prelevare gli animali direttamente a mano con guanti di protezione. Normalmente la cattura avviene tramite retino, se i luoghi non sono molto ampi ed è possibile arrivare con facilità agli animali, altrimenti si utilizzano reti poste all'uscita del rifugio. Le reti, *mistnet*, hanno struttura analoga a quelle utilizzate dagli ornitologi, ma più sottili per renderle meno percepibili dal sistema di ecolocalizzazione dei Chiroteri (Kurta e Kunz, 1988). Infatti benché alla vista siano quasi invisibili soprattutto nel contesto di un ambiente variabile, i Chiroteri sono perfettamente in grado di rilevarne la presenza, ma l'effetto sorpresa aiuta ad

aumentare il successo di cattura. Le *mistnet* usate dai chiropterologi sono di *nylon* o di terilene, dello spessore di 50 o 70 denier (denier = massa in grammi di 9.000 m di fibra) e sono costituite da fili a loro volta composti da due sottili elementi intrecciati che formano maglie di circa 32-38 mm. La rete, allestita in campo per la cattura (Figura 55), è sostenuta da due pali telescopici posti verticalmente. Un telaio di fili orizzontali e verticali funge da sostegno generale alla rete e in corrispondenza dei fili orizzontali la rete forma delle tasche che aiutano ad intrappolare il pipistrello che ha sbattuto contro la rete stessa. La liberazione del pipistrello dalla rete richiede molto tempo oltre che manualità ed estrema delicatezza.



Figura 55. Rete, *mistnet*, posizionata all'imboccatura di una grotta e un esemplare di *Rhinolophus* sp. rimasto intrappolato.

L'identificazione della specie può essere, in alcuni casi, molto difficile e richiede un esame diretto dell'esemplare. Catturare i Chiroterteri, infatti, consente di misurarne i parametri diagnostici e osservarne in dettaglio i caratteri morfologici discriminanti (Figura 56).



Figura 56. Osservazione di un esemplare di *Myotis* sp. catturato alla Cava di Monte Tondo.

5.2.1. Osservazioni e misurazioni morfometriche

Uno alla volta i pipistrelli vengono osservati per determinarne il sesso, facilmente visibile ad occhio nudo controllando i genitali, e l'età, verificando se si tratta di un giovane dell'anno oppure di un adulto. Quest'ultima informazione è deducibile osservando le ali controluce, dato che i giovani mostrano la mancata fusione delle epifisi delle falangi (Anthony, 1988).

Un altro dato importante è lo *status* fisiologico dell'animale che è stato categorizzato in riproduttivo, non riproduttivo, gestante e allattante. Infine vengono eseguite le misurazione morfometriche tramite calibro digitale (Figura 57) elencate in Tabella 15. L'animale viene anche pesato tramite bilancia digitale (precisione 0,01 g).

Tabella 15. Parametri di misurazione morfometrica utilizzati e loro sigle di identificazione.

SIGLA	MISURAZIONE
AV	Lunghezza avambraccio
eL	Lunghezza orecchio
eW	Larghezza orecchio
CM ³	Distanza del canino dall'ultimo molare

La scheda di campo raccoglie quindi tutti questi dati per ogni animale codificato per luogo, data e numero.

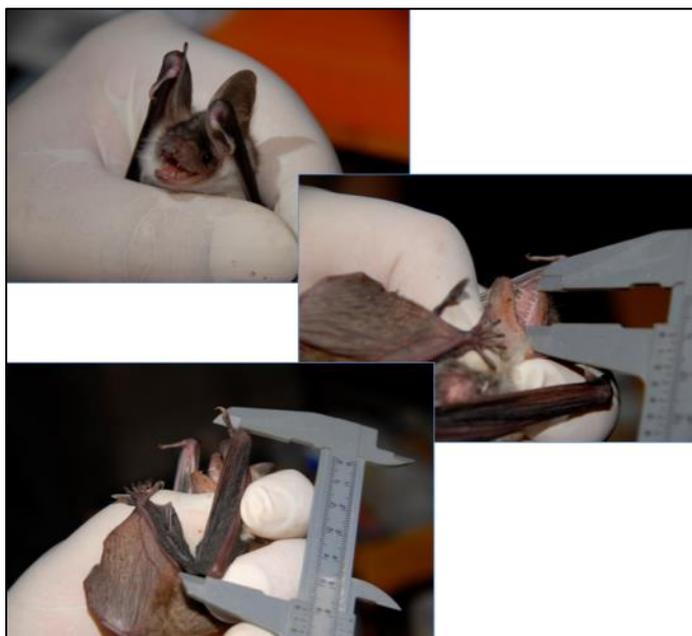


Figura 57. Osservazione, misurazione del CM³ e dell'avambraccio di un *Myotis* sp. catturato nella Chiesa di Gargazzone.

5.3. Campionamento ectoparassiti

I pipistrelli appena catturati vengono liberati dalle reti e posti in sacchetti di tela chiusi con uno spago dopo aver spruzzato all'interno un piretroide (antiparassitario innocuo per i Chiroteri) per l'uccisione degli ectoparassiti. I pipistrelli rimangono nei sacchetti per almeno 20 minuti, il tempo di azione dell'antiparassitario (Figura 58).



Figura 58. Sacchetti di tela contenenti i pipistrelli nei pressi della Chiesa di Gargazzone.

Dopo la liberazione dei pipistrelli, i sacchetti vengono rovesciati delicatamente su un foglio bianco nel quale cadono i parassiti che poi vengono prelevati tramite pinzetta e conservati in provette con alcool 70°. Ogni provetta è etichettata con il codice dell'animale campionato (Figura 59).



Figura 59. Raccolta degli ectoparassiti trovati all'interno dei sacchetti di tela e loro conservazione in alcool 70°.

Nei siti di campionamento in cui sono presenti esemplari di *Cimex pipistrelli* la raccolta degli esemplari avviene direttamente sulle pareti del rifugio mediante pinzette e conservazione in alcool 70°.

5.3.1. Determinazione e classificazione dei parassiti

Gli esemplari raccolti sono stati determinati mediante osservazione allo stereomicroscopio delle caratteristiche morfologiche e loro comparazione con la letteratura e le collezioni di confronto.

Nel caso dei rappresentanti di *Cimex* sp. è stata condotta un'osservazione al microscopio elettronico a scansione (S.E.M) che ha permesso di individuare le particolarità anatomiche esterne con particolare riguardo per le strutture sensoriali.

La letteratura utilizzata per il confronto ha considerato i seguenti autori: Ryberg, 1947, Theodor e Moscona, 1954, Rudnick, 1960, Hürka, 1962, Hürka, 1964, Theodor, 1967, Hürka, 1984, Hürka e Soós, 1986, Manilla, 1988, Estrada-Peña e Serra-Cobo, 1991, Lanza, 1999, Cringoli 2005.

Una volta identificate le specie di parassiti e le quantità presenti sugli esemplari di Chiroteri, i risultati sono stati comparati statisticamente tramite software di analisi *IBM SPSS Statistics* 21 dove il numero di parassiti per specie è stato valutato in base alle variabili presenti in Tabella 16.

Tabella 16. Variabili considerate per lo studio della presenza dei parassiti sul singolo ospite.

Variabili del singolo individuo	Variabili del gruppo
Specie	Numero di specie presenti
Sesso	Tipo di rifugio
Età	Temperatura
Stato riproduttivo	Sito
Peso	

5.4. Campionamento ultrasuoni

Lo strumento utilizzato per le registrazioni degli ultrasuoni dei pipistrelli durante l'ecolocalizzazione è il *bat detector* e nello specifico il modello D1000x della *Pettersson Elektronik AB*, Uppsala (Figura 60), che trasduce o campiona direttamente gli ultrasuoni tramite digitalizzatore ad alta frequenza e registra *files* in formato *wave*, direttamente su *flash card*. La frequenza di campionamento utilizzata durante le registrazioni è stata di 500 kHz con 16 bits per campionatura.

Le registrazioni sono state fatte per ogni sito visitato durante lo studio e per tutti gli esemplari catturati.



Figura 60. *Bat detector* D1000x (Pettersson Elektronik).

Le registrazioni delle tre specie di *Myotis* sono state effettuate in due condizioni differenti (Russo e Jones, 2002; Waters e Gannon, 2004):

- a) Registrazioni durante l'uscita dal rifugio di esemplari la cui identità è conosciuta. È possibile avere la certezza della specie, durante le registrazioni all'uscita dal rifugio,

se la colonia è monospecifica oppure nel caso in cui ci si trovi in zone dove vi sia una sola delle tre specie di grandi *Myotis*, come il caso delle Sardegna in cui è presente solo *Myotis punicus*. In questa seconda situazione anche in colonie multispecifiche si ha la certezza della presenza della sola specie di interesse essendo l'unico grande *Myotis* presente. Le registrazioni in queste condizioni specifiche sono definite registrazioni in *free flight* (FF), ovvero durante un volo libero dell'animale non condizionato dal rilascio manuale e avvengono a circa 20-25 m dal *roost* onde evitare *calls* atipiche dovute proprio al comportamento di uscita (Russo e Jones, 2002).

- b) Registrazioni al rilascio, *hand-released* (HR), ovvero registrazioni delle serie di *calls* specifiche di ogni esemplare catturato. Ogni pipistrello viene rilasciato in prossimità del *roost* verso l'operatore che registrerà il suono di ecolocalizzazione mediante il *bat detector*. Essendo uno strumento che registra in continuo, senza bisogno di attivare manualmente la modalità di espansione temporale, la registrazione viene fatta partire un attimo prima del rilascio del pipistrello in modo da avere la sequenza il più completa possibile e la registrazione prosegue fino a che il suono del pipistrello non è più percepibile.

Anche se le *calls* di un'emissione al rilascio potrebbero non essere rappresentative quanto quelle di un volo libero, questo metodo dà la certezza assoluta della specie oltre che fornire una sequenza di sonogrammi regolari sempre nelle stesse condizioni e quindi altamente confrontabili. Inoltre per l'analisi sono stati scelti i migliori sonogrammi il più possibile verso la fine della sequenza in modo da ridurre al minimo l'influenza dello *stress* da cattura.

Uno dei vantaggi dell'*hand released* è la totale assenza di rischio di repliche dato che gli animali catturati sono riconoscibili grazie ad un piccolo lembo di patagio prelevato per eventuali analisi genetiche. Per ovviare al rischio di registrare suoni degli stessi individui in modalità *free flight* le registrazioni sono state effettuate in tempi molto corti, circa 10 minuti, all'uscita dei *roost* dai quali solitamente i Chiroteri non rientrano prima di aver trovato almeno un punto di abbeverata. Lo stesso sito è stato visitato una sola volta per evitare il rischio di replica (Hurlbert, 1984).

5.4.1. Analisi dei segnali e compilazione database

I *files* di registrazioni raccolti durante le attività di campo sono stati analizzati in laboratorio tramite due software specifici: *BatSound* v. 4.12 (*Pettersson Elektronik AB*, Uppsala) e *Raven Pro* 1.5.

Questi due software permettono entrambi di misurare i diversi parametri su un singolo sonogramma della sequenza di ecolocalizzazione, sia in modo manuale che automatico.

Per ogni individuo è stato scelto in modo casuale un singolo *pulse* (Figura 43), sempre verso la fine della sequenza, su cui sono state effettuate misurazioni per 10 parametri (Tabella 17) tramite *Raven pro 1.5*. utilizzando una finestra di tipo *hamm* a 512 FFT (*Fast Fourier Transform*) e un grado di sovrapposizione dell'80%.

Tabella 17. Parametri misurati sul sonogramma di ogni sequenza analizzata.

Abbreviazione	Parametro (unità di misura)	Significato
Begin Time	Tempo iniziale (s)	Valore in secondi del punto di inizio del sonogramma
End Time	Tempo finale (s)	Valore in secondi del punto di fine del sonogramma
Center Time	Tempo centrale (s)	Valore in secondi del punto del sonogramma con $t = \frac{1}{2} \Delta t$
Delta Time	Durata (s)	Durata del sonogramma Δt ottenuta da $\Delta t = \text{End Time} - \text{Begin Time}$
Center Freq	Frequenza centrale (Hz)	Valore della frequenza del sonogramma in cui il tempo corrisponde a $t = \frac{1}{2} \Delta t$
High Freq	Frequenza iniziale (Hz)	Valore massimo della frequenza del sonogramma
Low Freq	Frequenza minima (Hz)	Valore minimo della frequenza
Energy	Energia (dB)	Media dell'energia, o potenza, nel sonogramma
Max Power	Massima energia (dB)	Valore di massima energia del sonogramma
Max Freq	Frequenza massima (Hz)	Valore della frequenza al punto di massima energia

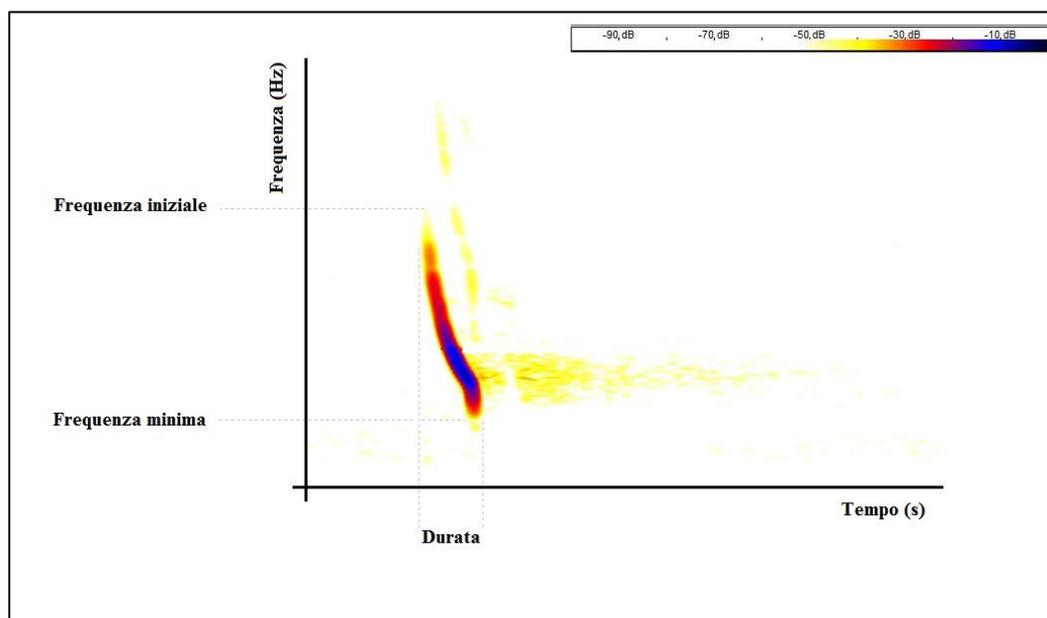


Figura 61. Immagine di un grafico generico di un sonogramma.

Dopo opportuna compilazione di una tabella *excel*, i parametri relativi ai sonogrammi sono stati comparati statisticamente tramite software di analisi *IBM SPSS Statistics 21*.

È stata calcolata la statistica descrittiva per ognuna delle tre specie. *T-tests* e ANOVA sono stati utilizzati per le variabili a distribuzione normale mentre i *tests* Mann-Whitney e Kruskal-Wallis per le variabili con distribuzione non normale. L'analisi delle componenti principali (PCA - *Principal Component Analysis*) per applicare successivamente l'analisi discriminante (DFA - *Discriminant function analysis*) multivariata che permette di valutare se la distribuzione sia una distribuzione normale, requisito necessario per applicare un'analisi multivariata (MacArdle, 1994). In tutti i test, i valori di P 0,05 sono stati considerati significativi.

I parametri delle tre specie sono stati messi in relazione a 6 variabili:

- 1- Tipo di campionamento. Se *hand released* (HR) o *free flight* (FF).
- 2- Regione di cattura. In questo caso i siti di cattura vengono raggruppati tra loro riducendosi a 6: Italia, Grecia, Spagna e Algeria per quanto riguardano le aree continentali e Sardegna e Creta per quanto riguarda i contesti insulari.
- 3- Cattura in continente o isola. Nel primo caso si è utilizzato il codice 0, nel secondo il codice 1.
- 4- Tipo di habitat. Questo aspetto può influire sulla struttura del sonogramma di ecolocalizzazione. Le categorie sono 7 elencate in Tabella 18.

Tabella 18. Tipo di habitat in cui sono state effettuate le registrazioni.

CODICE	Tipo di habitat	
0	Zona aperta	<i>Open area</i>
1	Bosco	<i>Tree</i>
2	Pareti rocciose chiuse	<i>Rocks</i>
3	Presenza alberi moderata	<i>Semi tree</i>
4	Presenza di pareti rocciose	<i>Semi rocks</i>
5	Tunnel	<i>Tunnel</i>
12	Alberi e pareti rocciose	<i>Tree-Rocks</i>

5- Provenienza da colonia mista o monospecifica.

6- Specie: codice 1 per *Myotis myotis*, 2 per *Myotis blythii* e 3 per *Myotis punicus*.

6. RISULTATI

I due siti di cattura presenti in Sicilia sono stati esclusi dallo studio per la recente scoperta di Bogdanowicz *et al.* della presenza di *Myotis punicus* sull'isola (Bogdanowicz *et al.*, 2015). La Sicilia ora risulta la sola area geografica in cui sono presenti contemporaneamente le tre specie di grandi *Myotis*. Dal momento che i parametri morfologici di *M. punicus* sono intermedi a quelli di *M. myotis* e *M. blythii*, senza un'analisi genetica, non è possibile essere certi della specie cosicché la scelta dell'esclusione dei dati siciliani dalle analisi del presente studio è stata obbligatoria.

Vengono quindi considerati 16 siti di cattura raggruppati in 6 gruppi relativi all'area geografica: Italia occidentale, Sardegna, Spagna, Grecia, Creta e Algeria, tenendo conto anche degli areali delle tre specie di grandi *Myotis* (Figura 62).

Ogni sito di cattura, per comodità, è stato codificato come da elenco in Tabella 19.

Durante i 2 anni di campionamento sono stati catturati in totale 428 esemplari di cui 326 appartenenti alle 3 specie di grandi *Myotis*. La distinzione tra *M. myotis* e *M. blythii* italiani è stata fatta sulla base della misurazione del CM³ (distanza tra il canino e l'ultimo molare) che risulta inferiore a 9,1 mm per *Myotis blythii* (Topal e Ruedi, 2001), mentre per la Grecia analisi genetiche operate contestualmente dai colleghi locali hanno confermato la distinzione tra le due specie.

Tabella 19. Elenco dei siti suddivisi in 6 gruppi secondo l'area geografica e rispettivi codici.

CODICE	Gruppo		SITO
	Zona	Codice Gruppo	
A1	ITALIA occidentale	A	Santa Vittoria d'Alba
A2			Monte Tondo
A3			Gargazzone
A4			Vezzano
A5			Montecatini Val di Cecina
B6	SARDEGNA (Italia)	B	Sa Rocca Ulari
C7	GRECIA	C	Achaia
C8			Karistos
D9	CRETA	D	Lera
D10			Zoniana
D11			Milatos
D12			Ag. Paraskevi
D13			Ag. Eirini
E14	CATALUNYA	E	Palomeres
E15			Miloquera
F16	ALGERIA	F	Destrios

Per facilitare le analisi statistiche il nome delle tre specie è stato abbreviato e codificato secondo la Tabella 20.

Tabella 20. Codici e abbreviazioni per le tre specie oggetto di studio.

Specie	Codice	Abbreviazione
<i>Myotis myotis</i>	1	Mymyo
<i>Myotis blythii</i>	2	Mybly
<i>Myotis punicus</i>	3	Mypun



Figura 62. Sei gruppi di siti di cattura nei quali è indicata la specie presente secondo il suo areale di distribuzione. A: Italia Occidentale; B: Sardegna; C: Grecia; D: Spagna; E: Creta; F: Algeria.

6.1. Campionamento e identificazione delle specie

In Italia sono stati catturati in totale 217 esemplari di cui di cui 152 *M. myotis* e 65 *M. blythii* (Tabella 21 a Tabella 23). Essendo quasi sempre colonie miste, in cui è impossibile distinguere le due specie prima della cattura, risulta arduo avere un numero equilibrato di esemplari delle due specie.

Inoltre la colonia in Piemonte, Santa Vittoria d'Alba, è l'unica colonia pura studiata ed è un *roost* contenente solo *M. myotis*, il che contribuisce ulteriormente alla disparità numerica tra le due specie.

Per quanto riguarda l'altra area geografica in cui sono presenti sia *M. myotis* che *M. blythii*, la Grecia, le catture hanno fornito 9 esemplari di *M. myotis* e 21 di *M. blythii* (Tabella 21 e Tabella 22). Nel caso della Spagna sono stati catturati 24 esemplari solo di *M. myotis* (Tabella 21) e nessun esemplare di *M. blythii*, ma il suo areale, come quello di *M. myotis*, copre quasi interamente la penisola iberica. Le altre aree geografiche vedono la presenza solo di una delle specie di grandi *Myotis*, nell'isola di Creta è presente solo il *M. blythii* dove sono stati catturati 20 esemplari (Tabella 22).

Per quanto riguarda *Myotis punicus* sono stati catturati 25 esemplari in Sardegna e 10 in Algeria (Tabella 23), due aree geografiche dove non sono presenti le altre due specie di grandi *Myotis*.

Tabella 21. Numero di esemplari di *Myotis myotis* catturati e misurati nelle 3 zone in cui è presente. I dati sono suddivisi tra maschi e femmine e loro età. A: adulto; G: giovane.

Zona	Specie	Femmine (f)		Maschi (m)		TOT
		A	G	A	G	
A - Italia Occidentale	<i>M. myotis</i>	74	31	30	17	152
C - Grecia	<i>M. myotis</i>	0	0	9	0	9
D - Spagna	<i>M. myotis</i>	21	0	3	0	24
TOTALE		95	31	42	17	185

Tabella 22. Numero di esemplari di *Myotis blythii* catturati e misurati nelle 3 zone in cui è presente. I dati sono suddivisi tra maschi e femmine e loro età. A: adulto; G: giovane.

Zona	Specie	Femmine (f)		Maschi (m)		TOT
		A	G	A	G	
A - Italia Occidentale	<i>M. blythii</i>	22	12	12	19	65
C - Grecia	<i>M. blythii</i>	9	0	12	0	21
E - Creta	<i>M. blythii</i>	11	0	9	0	20
TOTALE		42	12	33	19	106

Tabella 23. Numero di esemplari di *Myotis punicus* catturati e misurati nelle 3 zone in cui è presente. I dati sono suddivisi tra maschi e femmine e loro età. A: adulto; G: giovane.

Zona	Specie	Femmine (f)		Maschi (m)		TOT
		A	G	A	G	
A - Sardegna	<i>M. punicus</i>	19	1	3	2	25
C - Algeria	<i>M. punicus</i>	1	2	6	1	10
TOTALE		20	3	6	1	35

Per ogni individuo sono stati misurati il peso (g), la lunghezza dell'avambraccio (AV), la distanza tra canino e ultimo molare (CM³) e, quando le condizioni dell'animale lo hanno permesso, anche lunghezza e larghezza orecchio (rispettivamente eL ed eW) (da Tabella 24 a Tabella 28). Per quanto riguarda i siti Greci non è stato possibile effettuare la pesatura per non arrecare troppo stress durante il periodo degli accoppiamenti.

La statistica descrittiva relativa al totale del campione (326 esemplari) è visibile nella tabella prodotta dal programma di analisi (Tabella 29).

Tabella 24. Media, Deviazione Standard, Min e Max del peso di tutti gli esemplari catturati suddivisi per specie e gruppo geografico.

Zona	Specie	Peso (g)			
		Media	Dev. st.	Min	Max
A - Italia	<i>M. myotis</i>	25,23	2,125	20,0	29,9
	<i>M. blythii</i>	23,26	2,818	18,0	29,3
B - Sardegna	<i>M. punicus</i>	24,32	1,865	21,0	27,0
C - Grecia	<i>M. myotis</i>	-	-	-	-
	<i>M. blythii</i>	-	-	-	-
D - Spagna	<i>M. myotis</i>	20,76	5,685	13,6	31,3
E - Creta	<i>M. blythii</i>	24,92	3,188	20,6	30,4
F - Algeria	<i>M. punicus</i>	20,40	0,738	18,9	21,3

Tabella 25. Media, Deviazione Standard, Min e Max della lunghezza dell'avambraccio (AV) di tutti gli esemplari catturati suddivisi per specie e gruppo geografico.

Zona	Specie	AV (mm)			
		Media	Dev. st.	Min	Max
A - Italia	<i>M. myotis</i>	61,72	1,749	57,1	66,8
	<i>M. blythii</i>	58,27	3,116	47,4	64,0
B - Sardegna	<i>M. punicus</i>	60,76	1,322	57,5	62,7
C - Grecia	<i>M. myotis</i>	60,04	1,344	58,2	62,0
	<i>M. blythii</i>	56,85	1,801	53,7	60,3
D - Spagna	<i>M. myotis</i>	62,70	2,073	59,3	67,1
E - Creta	<i>M. blythii</i>	59,16	2,866	54,2	64,2
F - Algeria	<i>M. punicus</i>	60,59	2,073	56,2	63,0

Tabella 26. Media, Deviazione Standard, Min e Max del CM³ di tutti gli esemplari catturati suddivisi per specie e gruppo geografico.

Zona	Specie	CM ³ (mm)			
		Media	Dev. st.	Min	Max
A - Italia	<i>M. myotis</i>	9,77	0,304	9,1	11,2
	<i>M. blythii</i>	8,69	0,340	8,0	9,7
B - Sardegna	<i>M. punicus</i>	9,00	0,305	8,6	9,6
C - Grecia	<i>M. myotis</i>	9,50	0,215	9,3	9,9
	<i>M. blythii</i>	8,32	0,211	7,9	8,8
D - Spagna	<i>M. myotis</i>	10,40	0,762	9,4	13,2
E - Creta	<i>M. blythii</i>	8,72	0,132	8,5	9,0
F - Algeria	<i>M. punicus</i>	8,95	0,280	8,5	9,3

Tabella 27. Media, Deviazione Standard, Min e Max della lunghezza orecchio (eL) di tutti gli esemplari catturati suddivisi per specie e gruppo geografico.

Zona	Specie	eL (mm)			
		Media	Dev. st.	Min	Max
A - Italia	<i>M. myotis</i>	25,40	1,671	20,9	28,5
	<i>M. blythii</i>	24,98	1,593	23,4	27,3
B - Sardegna	<i>M. punicus</i>	-	-	-	-
C - Grecia	<i>M. myotis</i>	-	-	-	-
	<i>M. blythii</i>	-	-	-	-
D - Spagna	<i>M. myotis</i>	25,56	1,396	23,3	28,0
E - Creta	<i>M. blythii</i>	-	-	-	-
F - Algeria	<i>M. punicus</i>	-	-	-	-

Tabella 28. Media, Deviazione Standard, Min e Max della larghezza orecchio (eW) di tutti gli esemplari catturati suddivisi per specie e gruppo geografico.

Zona	Specie	eW (mm)			
		Media	Dev. st.	Min	Max
A - Italia	<i>M. myotis</i>	13,43	1,089	11,0	15,7
	<i>M. blythii</i>	13,02	1,230	11,7	14,9
B - Sardegna	<i>M. punicus</i>	-	-	-	-
C - Grecia	<i>M. myotis</i>	-	-	-	-
	<i>M. blythii</i>	-	-	-	-
D - Spagna	<i>M. myotis</i>	-	-	-	-
E - Creta	<i>M. blythii</i>	-	-	-	-
F - Algeria	<i>M. punicus</i>	-	-	-	-

Tabella 29. Statistica descrittiva sul totale campioni.

	N	Minimum	Maximum	Mean	Std. Deviation	Skewness	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error
Peso	326	13,60	31,30	23,8410	2,61172	-,674	,135
AV	326	47,40	67,10	60,4778	2,76347	-,716	,135
CM3	326	7,90	13,20	9,3722	,67227	,534	,135
Valid N (listwise)	326						

Il peso, la lunghezza dell'avambraccio e il CM^3 , indicativo della dimensione del cranio, sono tre variabili correlabili tra loro per valutare la dimensione dell'animale. Considerando queste variabili in base alla specie, sottoposti i dati a statistica descrittiva, non vi è una differenza significativa (Figura 63); solo AV mostra una media di valori più bassa nel *M. blythii* (Figura 64). Verificando i parametri di ogni specie, tenendo conto del gruppo geografico, il risultato è il medesimo: non vi è una significativa differenza dei parametri misurati né tra le specie, morfologicamente quasi indistinguibili, né per gruppo geografico come si evince dai grafici da Figura 65 a Figura 69.

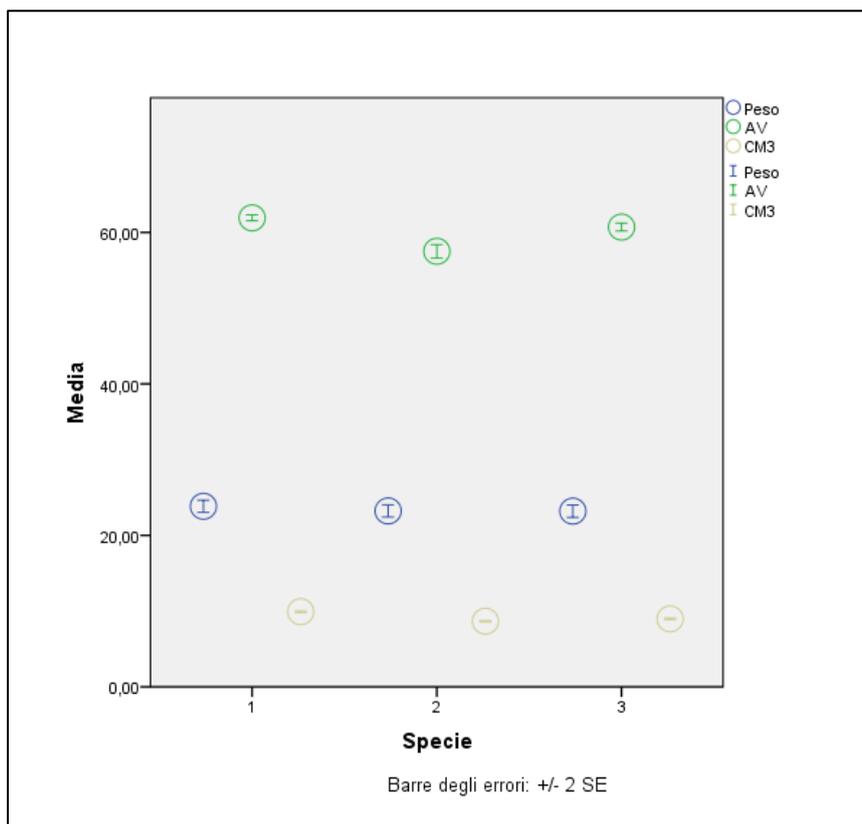


Figura 63. Statistica descrittiva delle tre variabili peso, AV e CM3 divise per specie. 1: *M. myotis*; 2: *M. blythii*; 3: *M. punicus*.

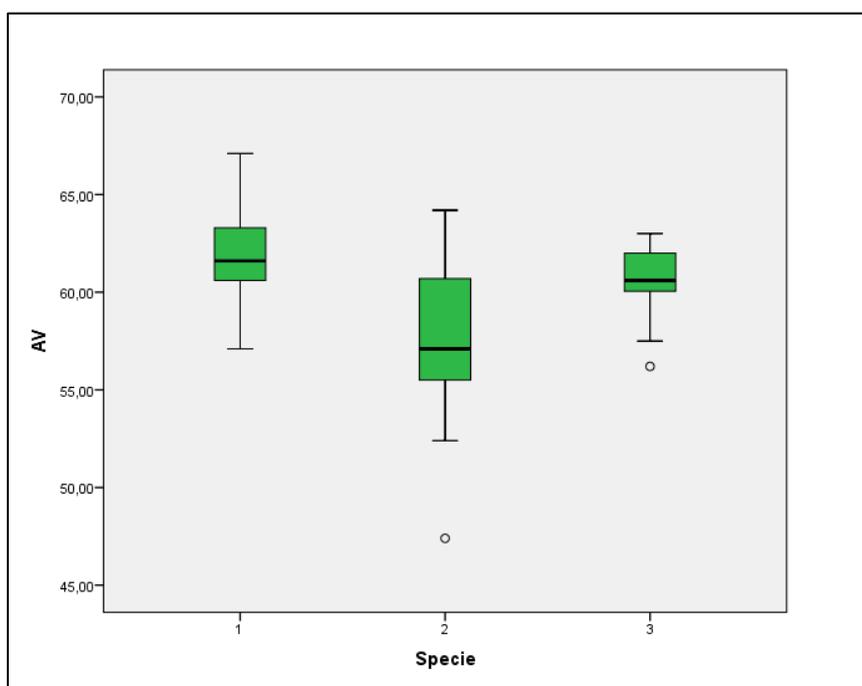


Figura 64. Statistica descrittiva della variabile AV per specie. 1: *M. myotis*; 2: *M. blythii*; 3: *M. punicus*.

Dato che non è stato possibile pesare gli animali durante il campionamento nei siti greci, la variabile “peso” non è stata inserita nei grafici in cui è presente la Grecia, gruppo C (Figura 65 e Figura 66). Tuttavia il peso viene confrontato tra gli altri gruppi geografici: sono quindi presenti i grafici del confronto tra AV e CM³ di *M. myotis* (Figura 65) e *M. blythii* (Figura 66), del confronto tra il peso di *M. Myotis* e *M. blythii* nei siti in cui tale misurazione è disponibile (Figura 67 e Figura 68) e il confronto tra le tre variabili AV, CM³ e peso di *M. punicus*, presente solo nelle aree B e F (Figura 69).

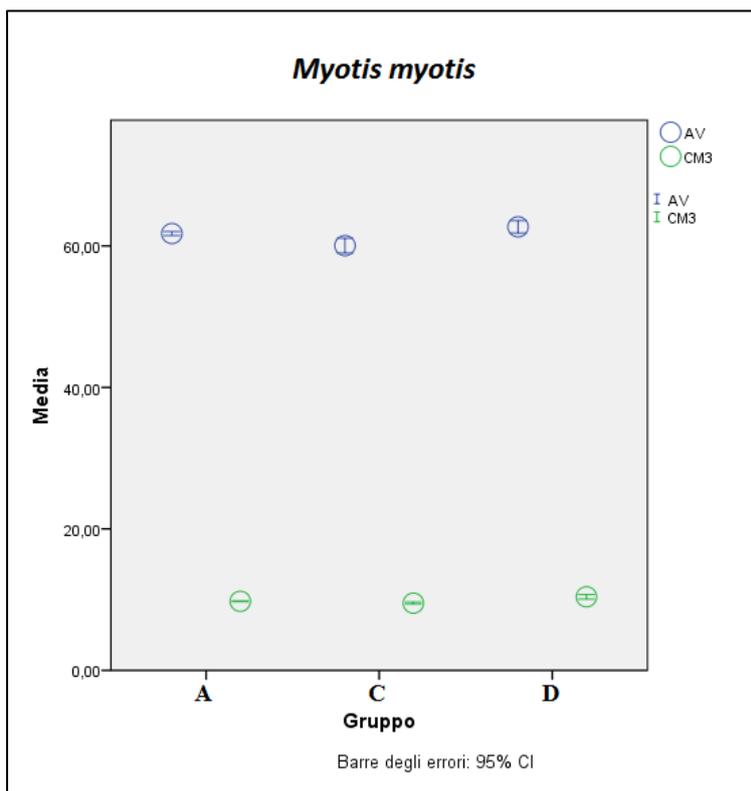


Figura 65. Statistica descrittiva delle due variabili AV e CM³ di *M. myotis* divise per gruppo geografico.

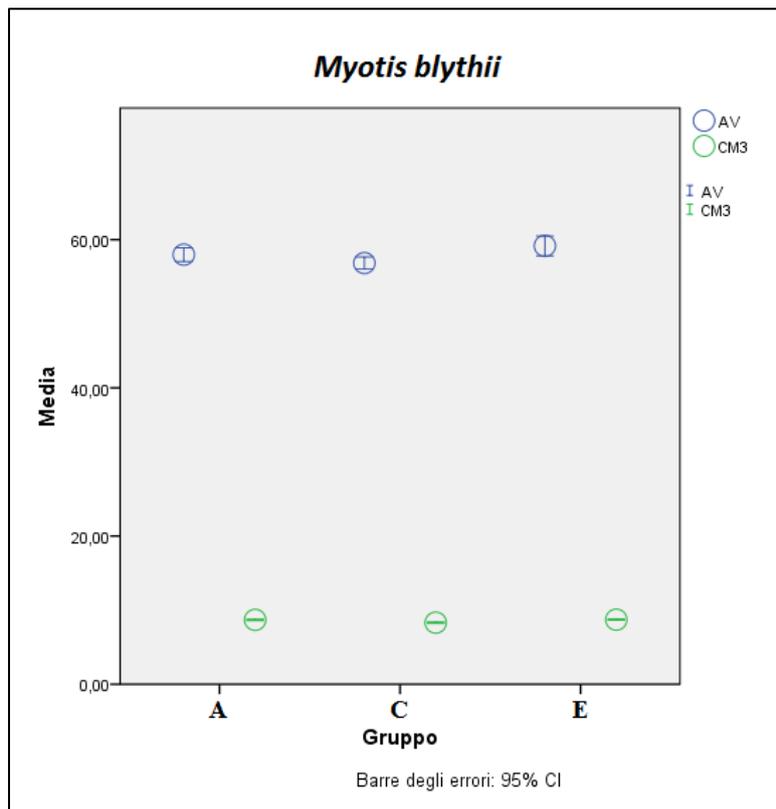


Figura 66. Statistica descrittiva delle due variabili AV e CM³ di *M. blythii* divise per gruppo geografico.

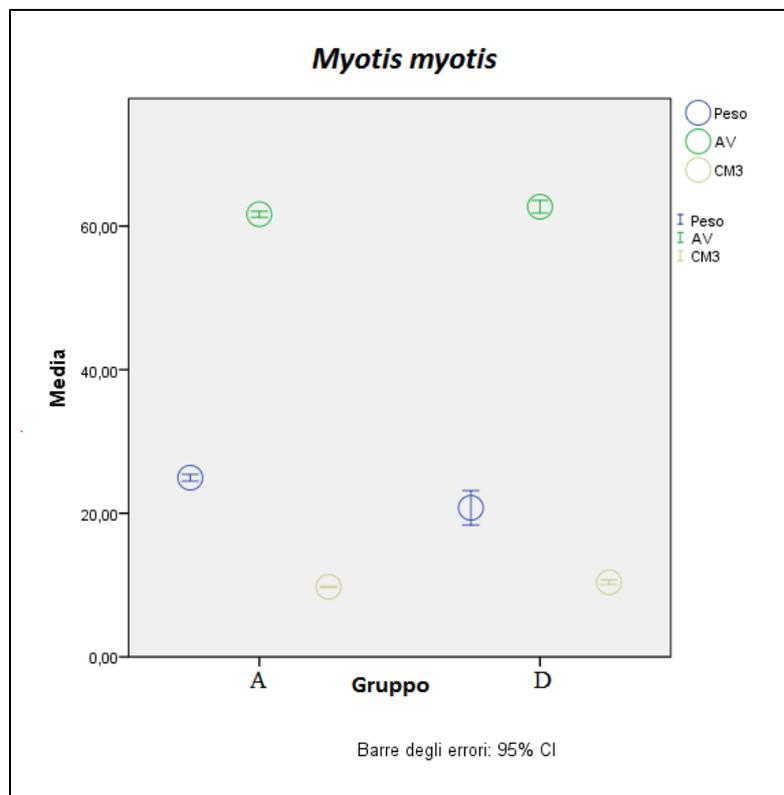


Figura 67. Statistica descrittiva delle tre variabili peso, AV e CM3 di *M. myotis* divise per gruppo geografico.

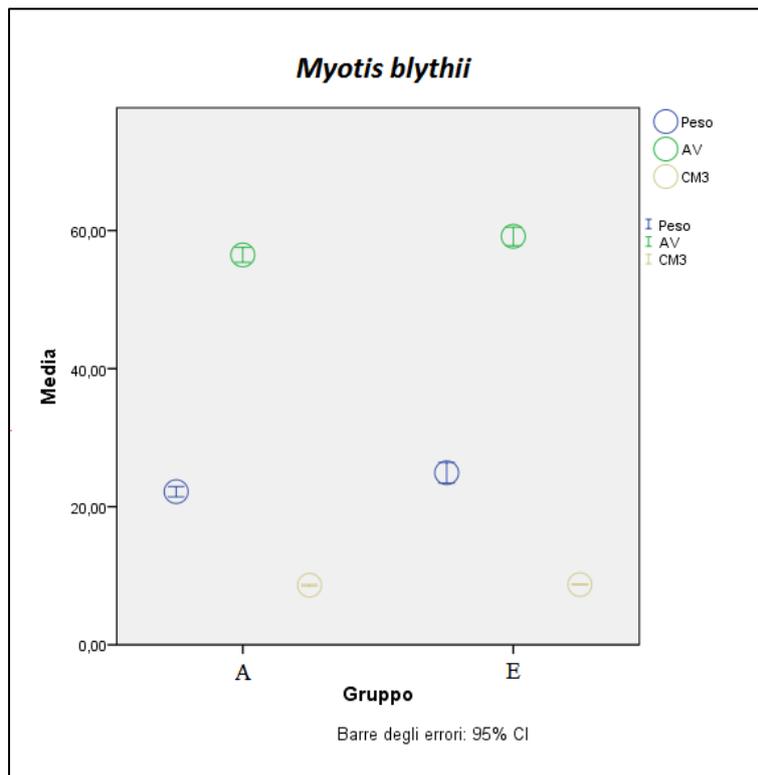


Figura 68. Statistica descrittiva delle tre variabili peso, AV e CM3 di *M. blythii*, divise per gruppo geografico.

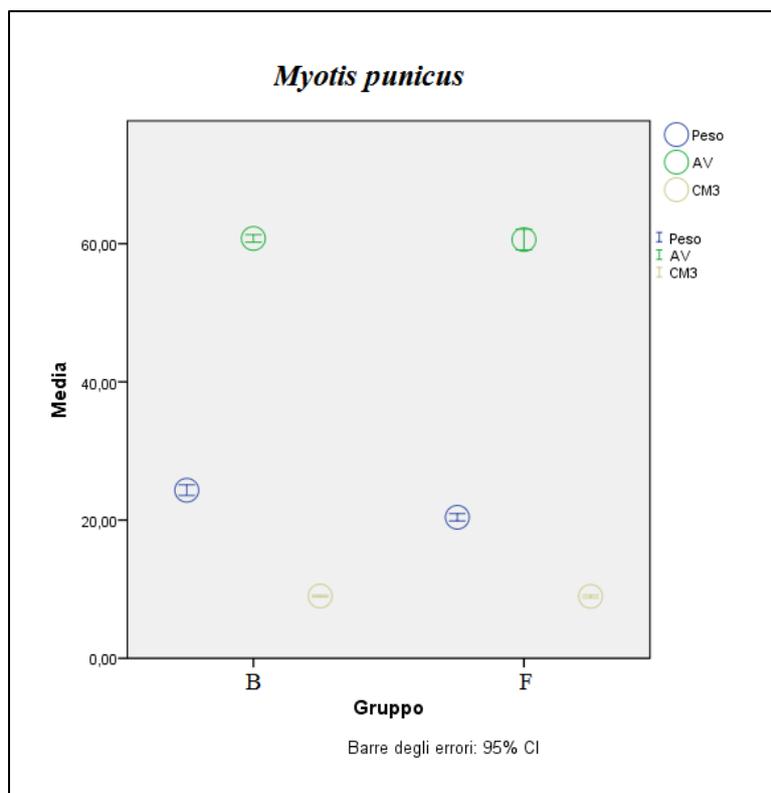


Figura 69. Statistica descrittiva delle tre variabili peso, AV e CM3 di *M. punicus*, divise per gruppo geografico.

Il CM^3 è un parametro determinante per la discriminazione tra *M. myotis* e *M. blythii* e, messo a confronto nelle tre specie, si può notare come nel *M. punicus* il CM^3 abbia valori intermedi rispetto alle altre due specie invece nettamente separate (Figura 70).

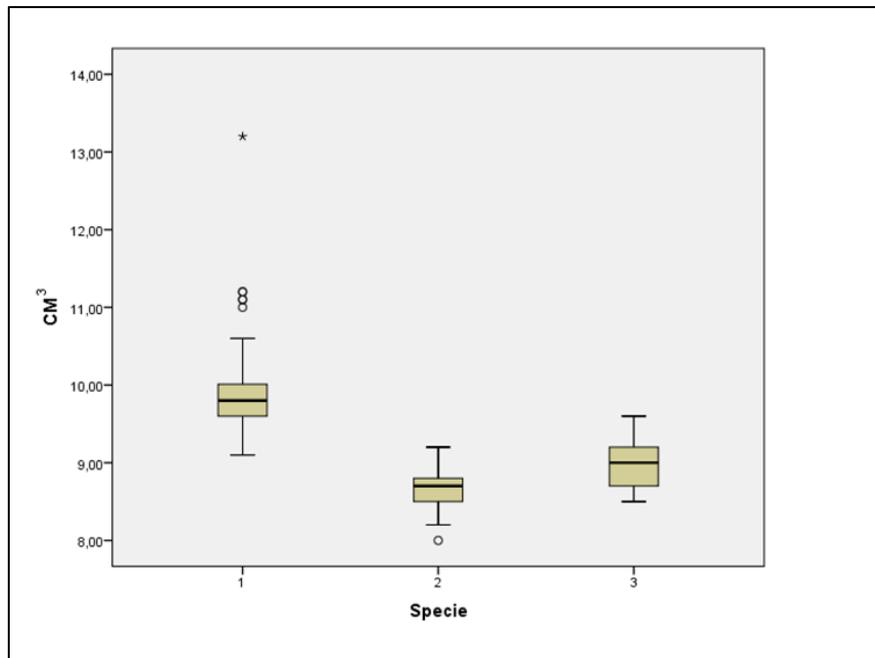


Figura 70. Statistica descrittiva della variabile CM^3 per specie. 1: *M. myotis*; 2: *M. blythii*; 3: *M. punicus*.

Anche il grafico a dispersione di Figura 71 in cui sono visibili tutti i valori si può notare il CM^3 del *M. punicus* con valori sovrapposti e intermedi a quello delle altre due specie.

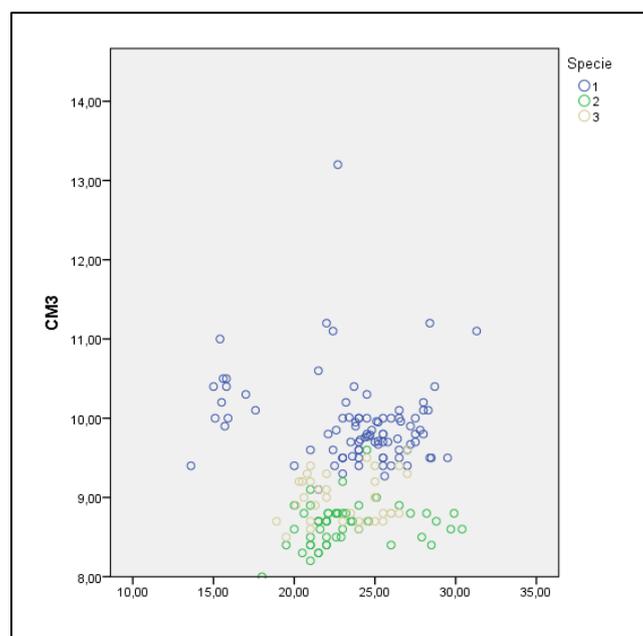


Figura 71. Grafico a dispersione relativo ai valori di CM^3 delle tre specie. 1: *M. myotis*; 2: *M. blythii*; 3: *M. punicus*.

Per valutare se esiste relazione negativa o positiva tra le variabili e il grado di entità di questa relazione è stato utilizzato il coefficiente di correlazione di *Pearson* 'r' che misura la correlazione tra variabili a intervalli o a rapporti equivalenti. Il coefficiente può assumere valori da -1,00 (correlazione perfetta negativa) a +1,00 (correlazione perfetta positiva), mentre una correlazione uguale a zero indica che tra due variabili non vi è alcuna relazione. Il risultato del test effettuato è mostrato in Figura 72 sul totale di 326 campioni per le tre variabili AV, CM³ e Peso in cui è stata considerata la possibile correlazione tra gruppi geografici o specie. Si può notare che il valore con maggior distanza dallo zero è il CM³ in rapporto alle specie tuttavia, essendo 0,665, è comunque poco significativo (Figura 72).

Descriptive Statistics			
	Mean	Std. Deviation	N
Gruppo	1,88	1,445	326
Specie	1,54	,682	326
Peso	23,8410	3,38040	195
AV	60,4778	2,76347	326
CM3	9,3722	,69283	307

Correlations						
		Gruppo	Specie	Peso	AV	CM3
Gruppo	Pearson Correlation	1	,366**	-,269**	-,072	-,162**
	Sig. (2-tailed)		,000	,000	,197	,004
	N	326	326	195	326	307
Specie	Pearson Correlation	,366**	1	-,098	-,375**	-,665**
	Sig. (2-tailed)	,000		,173	,000	,000
	N	326	326	195	326	307
Peso	Pearson Correlation	-,269**	-,098	1	,211**	,028
	Sig. (2-tailed)	,000	,173		,003	,707
	N	195	195	195	195	177
AV	Pearson Correlation	-,072	-,375**	,211**	1	,571**
	Sig. (2-tailed)	,197	,000	,003		,000
	N	326	326	195	326	307
CM3	Pearson Correlation	-,162**	-,665**	,028	,571**	1
	Sig. (2-tailed)	,004	,000	,707	,000	
	N	307	307	177	307	307

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Figura 72. Risultato del test di correlazione di *Pearson* prodotto dal programma di analisi. In rosso il valore con maggior distanza dallo zero.

È stato fatto anche un confronto delle misurazioni morfometriche (AV e CM³) e del peso tra maschi e femmine. Tale confronto è stato possibile solo per l'Italia grazie ad un numero sufficiente di campioni. Anche in questo non è stata riscontrata alcuna differenza statisticamente significativa, tuttavia si nota una dimensione maggiore dell'AV delle femmine sia di *M. blythii* (Figura 73) che di *M. myotis* (Figura 74).

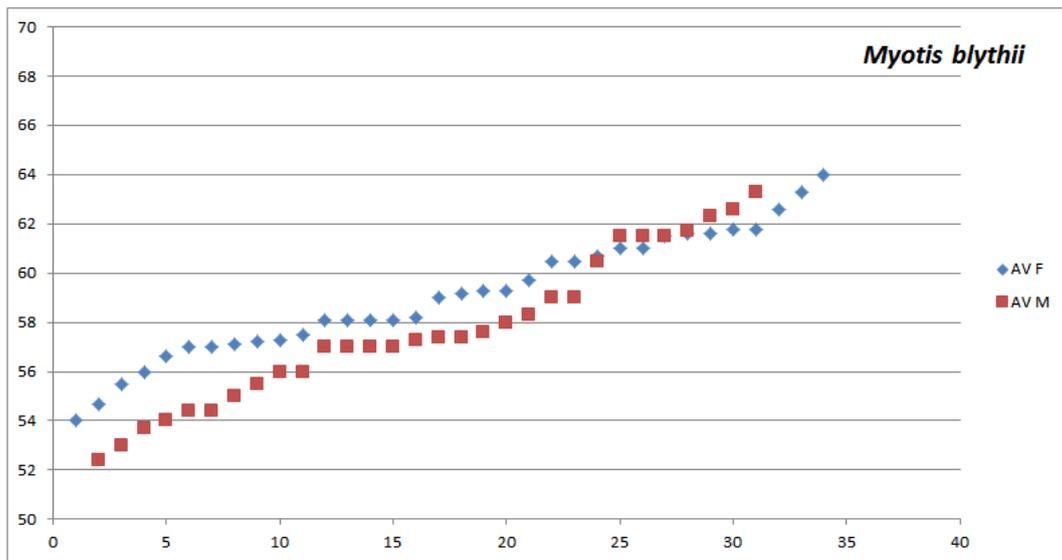


Figura 73. Grafico dei valori di lunghezza avambraccio di maschi e femmine di *M. blythii*. In ordinata la misura dell'AV (mm) e in ascissa il numero di esemplari.

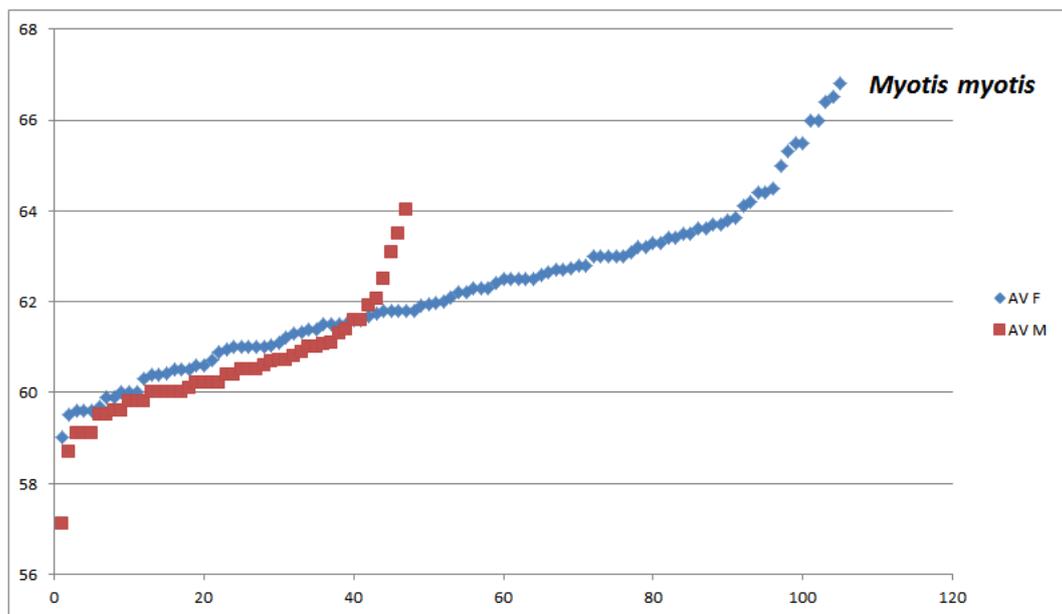


Figura 74. Grafico dei valori di lunghezza avambraccio di maschi e femmine di *M. myotis*. In ordinata la misura dell'AV (mm) e in ascissa il numero di esemplari.

Il campione italiano vede una prevalenza di femmine catturate rispetto ai maschi, questa disparità è ben visibile soprattutto per *M. myotis* (Figura 74). Si è preferito tuttavia mostrare tutta i dati di misurazione delle femmine all'interno dei grafici per fornire, oltre al confronto con il sesso maschile, anche un'idea dell'andamento della misurazione dell'avambraccio delle due specie all'interno della popolazione italiana (Figura 73 e Figura 74).

6.2. Analisi dei sonogrammi

Il numero di campioni usati per l'analisi dei suoni non corrisponde al numero degli individui catturati poiché sono presenti anche registrazioni di animali in volo libero (Tabella 30). Inoltre non tutte le registrazioni effettuate sono risultate idonee per la comparazione dei sonogrammi, per questo motivo il totale dei campioni presi in esame per questa fase è di 216 sonogrammi.

Tabella 30. Numero di sonogrammi analizzati per specie, gruppo geografico e modalità di registrazione (HR: Hand Released; FF: Free Flight).

Gruppo	Specie	HR	FF	TOT
A - Italia	<i>M. myotis</i>	21	23	44
	<i>M. blythii</i>	10	0	10
B - Sardegna	<i>M. punicus</i>	17	22	39
C - Grecia	<i>M. myotis</i>	17	0	17
	<i>M. blythii</i>	9	0	9
D - Spagna	<i>M. myotis</i>	30	0	30
E - Creta	<i>M. blythii</i>	41	16	57
F - Algeria	<i>M. punicus</i>	10	0	10
TOTALE		155	61	216

I parametri sui sonogrammi, già descritti, sono stati sottoposti a statistica descrittiva per ogni specie all'interno dei rispettivi gruppi geografici (da Tabella 31 a Tabella 38).

Tabella 31. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis myotis* nel gruppo geografico A (Nord Italia).

Statistiche Descrittive					
	<i>N Validi</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>	<i>Dev. St.</i>
Begin Time (s)	44	3,374	0,973	4,580	0,891
End Time (s)	44	3,378	0,977	4,587	0,892
Low Freq (Hz)	44	25055,71	22070,00	28162,00	1720,597
High Freq (Hz)	44	98917,39	55494,00	118151,00	14745,679
Center Freq (Hz)	44	45235,07	36176,00	62877,00	7741,784
Center Time (s)	44	3,377	0,976	4,585	0,892
Delta Freq (Hz)	44	73861,64	32442,00	94917,00	14627,697
Energy (dB)	44	100,94	91,40	117,20	6,359
Max Freq (Hz)	44	40851,54	33161,00	74936,00	8569,978
Max Power (dB)	44	90,58	82,20	106,60	6,655
Delta Time (s)	44	0,0041	0,0027	0,0065	0,0011

Tabella 32. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis blythii* nel gruppo geografico A (Nord Italia).

Statistiche Descrittive					
	<i>N Validi</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>	<i>Dev. St.</i>
Begin Time (s)	10	12,997	4,697	29,905	8,851
End Time (s)	10	13,000	4,701	29,908	8,850
Low Freq (Hz)	10	26711,30	21064,70	37205,70	4822,893
High Freq (Hz)	10	104753,80	83735,70	118690,90	10796,154
Center Freq (Hz)	10	50212,50	41625,00	61875,00	6808,657
Center Time (s)	10	12,999	4,700	29,907	8,850
Delta Freq (Hz)	10	78042,48	59630,00	95127,30	11956,312
Energy (dB)	10	126,74	102,20	138,00	10,468
Max Freq (Hz)	10	47400,00	36000,00	66375,00	9243,579
Max Power (dB)	10	116,26	93,80	123,90	9,064
Delta Time (s)	10	0,0035	0,0020	0,0050	0,0008

Tabella 33. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis myotis* nel gruppo geografico C (Grecia).

Statistiche Descrittive					
	<i>N Validi</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>	<i>Dev. St.</i>
Begin Time (s)	17	7,811	2,729	15,372	4,159
End Time (s)	17	7,859	2,771	15,418	4,157
Low Freq (Hz)	17	2419,81	2004,50	3074,30	311,396
High Freq (Hz)	17	10193,53	9380,90	12463,00	969,571
Center Freq (Hz)	17	3785,04	3531,40	4263,60	224,245
Center Time (s)	17	7,849	2,759	15,406	4,157
Delta Freq (Hz)	17	7773,73	6466,60	9995,40	1100,395
Energy (dB)	17	120,91	115,90	127,90	4,277
Max Freq (Hz)	17	3603,22	3359,20	4005,20	186,486
Max Power (dB)	17	112,28	106,80	119,20	4,319
Delta Time (s)	17	0,0483	0,0420	0,0600	0,0060

Tabella 34. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis blythii* nel gruppo geografico C (Grecia).

Statistiche Descrittive					
	<i>N Validi</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>	<i>Dev. St.</i>
Begin Time (s)	9	5,089	0,116	29,905	8,084
End Time (s)	9	5,095	0,129	29,908	8,083
Low Freq (Hz)	9	25958,15	10298,00	37205,70	5424,161
High Freq (Hz)	9	106293,70	83735,70	121392,00	8448,040
Center Freq (Hz)	9	50211,11	34453,00	80965,00	12755,954
Center Time (s)	9	5,093	0,123	29,907	8,083
Delta Freq (Hz)	9	80335,55	59630,00	97529,00	10419,295
Energy (dB)	9	112,84	91,20	138,00	13,138
Max Freq (Hz)	9	46362,15	32730,00	87855,00	13675,069
Max Power (dB)	9	102,63	80,70	123,90	12,603
Delta Time (s)	9	0,0059	0,0020	0,0128	0,0024

Tabella 35. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis blythii* nel gruppo geografico E (Creta).

Statistiche Descrittive					
	<i>N Validi</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>	<i>Dev. St.</i>
Begin Time (s)	57	2,725	1,211	6,001	0,926
End Time (s)	57	2,731	1,217	6,008	0,926
Low Freq (Hz)	57	26140,26	17620,00	34289,00	3292,106
High Freq (Hz)	57	101928,12	65112,00	122677,00	14825,016
Center Freq (Hz)	57	45280,11	35314,00	61585,00	6722,024
Center Time (s)	57	2,729	1,215	6,006	0,926
Delta Freq (Hz)	57	75787,81	37379,00	98096,00	14956,937
Energy (dB)	57	109,79	95,10	118,60	5,587
Max Freq (Hz)	57	42431,70	32730,00	61585,00	5974,222
Max Power (dB)	57	99,41	85,40	107,80	5,380
Delta Time (s)	57	0,0062	0,0041	0,0107	0,0013

Tabella 36. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis myotis* nel gruppo geografico D (Spagna).

Statistiche Descrittive					
	<i>N Validi</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>	<i>Dev. St.</i>
Begin Time (s)	30	4,413	0,152	9,765	3,138
End Time (s)	30	4,416	0,155	9,771	3,140
Low Freq (Hz)	30	24368,28	20652,5	30822,1	2356,476
High Freq (Hz)	30	72286,44	62311,9	84198,6	6434,443
Center Freq (Hz)	30	42330,00	33000	50062,5	5193,694
Center Time (s)	30	4,414	0,154	9,768	3,139
Delta Freq (Hz)	30	47918,18	37651,4	63546,1	6543,435
Energy (dB)	30	115,03	101,6	125,3	6,567
Max Freq (Hz)	30	42015,00	31875	53250	7545,937
Max Power (dB)	30	102,74	88,9	111,5	6,425
Delta Time (s)	30	0,0045	0,0030	0,0100	0,0018

Tabella 37. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis punicus* nel gruppo geografico B (Sardegna).

Statistiche Descrittive					
	<i>N Validi</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>	<i>Dev. Std.</i>
Begin Time (s)	39	3,249	1,013	9,200	2,106
End Time (s)	39	3,253	1,018	9,204	2,106
Low Freq (Hz)	39	21974,18	16976,00	25663,00	2886,473
High Freq (Hz)	39	107651,18	83210,00	121691,00	10140,806
Center Freq (Hz)	39	42078,29	34453,00	51249,00	4276,369
Center Time (s)	39	3,252	1,016	9,203	2,106
Delta Freq (Hz)	39	85676,94	65874,00	98877,00	8708,934
Energy (dB)	39	105,17	90,70	115,50	6,657
Max Freq (Hz)	39	38582,47	32730,00	55556,00	5292,331
Max Power (dB)	39	96,54	85,40	108,30	6,254
Delta Time (s)	39	0,0047	0,0033	0,0065	0,0007

Tabella 38. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis punicus* nel gruppo geografico F (Algeria).

Statistiche Descrittive					
	<i>N Validi</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>	<i>Dev. Std.</i>
Begin Time (s)	10	11,699	11,300	12,214	0,263
End Time (s)	10	11,702	11,304	12,216	0,262
Low Freq (Hz)	10	32231,63	20734,30	39896,67	9895,138
High Freq (Hz)	10	81989,21	54738,70	100156,37	23453,317
Center Freq (Hz)	10	51300,25	38250,00	60000,57	11231,679
Center Time (s)	10	11,701	11,303	12,215	0,262
Delta Freq (Hz)	10	49757,79	34004,30	60260,27	13558,257
Energy (dB)	10	98,33	94,80	103,54	4,212
Max Freq (Hz)	10	50250,25	39000,00	57750,57	9682,485
Max Power (dB)	10	88,25	83,20	95,74	6,173
Delta Time (s)	10	0,2522	0,0020	0,5740	0,2057

Le variabili *Begin Time*, *Center Time* ed *End Time* sono misurate per calcolare il *Delta Time* ovvero la durata del singolo *pulse* (s). Essendo quindi già di per sé correlate è stata presa in considerazione solo la variabile *Delta Time* per le comparazioni statistiche. I parametri sottoposti ai test statistici, il cui significato è stato già descritto, sono elencati in Tabella 39.

Tabella 39. Parametri di misurazione dei sonogrammi sottoposti a comparazione statistica.

Abbreviazione	Parametro (unità di misura)
<i>Delta Time</i>	Durata (s)
<i>Center Freq.</i>	Frequenza centrale (Hz)
<i>High Freq.</i>	Frequenza iniziale (Hz)
<i>Low Freq.</i>	Frequenza minima (Hz)
<i>Energy</i>	Energia (dB)
<i>Max Power</i>	Massima energia (dB)
<i>Max Freq.</i>	Frequenza massima (Hz)

È stata effettuata una correlazione bivariata utilizzando il coefficiente di *Pearson* (Figura 75 e Figura 76).

Correlations

	Specie	Gruppo	LowFreqHz	HighFreqHz	CenterFreqHz	DeltaFreqHz	EnergydB	MaxFreqHz	MaxPowerdB	IORBWHZ	DeltaTimes
Specie	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,294** ,000 183	,270** ,000 183	,399** ,000 183	,268** ,000 183	,381** ,000 183	-.134 ,070 183	,249** ,001 183	-.084 ,256 183	,140 ,058 183	,300** ,000 183
Gruppo	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	1 ,000 183	,193** ,009 183	-.087 ,239 183	,048 ,523 183	-.161* ,030 183	,002 ,981 183	,104 ,160 183	-.022 ,769 183	-.150** ,043 183	,298** ,000 183
LowFreqHz	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,270** ,000 183	1 ,000 183	,624** ,000 183	,768** ,000 183	,418** ,000 183	-.313** ,000 183	,740** ,000 183	-.373** ,000 183	,280** ,000 183	,145 ,050 183
HighFreqHz	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,399** ,000 183	-.087 ,239 183	1 ,000 183	,764** ,000 183	,971** ,000 183	-.163* ,027 183	,656** ,000 183	,768** ,000 183	,545** ,000 183	-.159** ,032 183
CenterFreqHz	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,268** ,000 183	,048 ,523 183	,768** ,000 183	1 ,000 183	,652** ,000 183	-.164* ,026 183	,920** ,000 183	-.281** ,004 183	,664** ,000 183	,031 ,673 183
DeltaFreqHz	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,381** ,000 183	-.161* ,030 183	,418** ,000 183	,971** ,000 183	1 ,000 183	-.094 ,206 183	,536** ,000 183	-.129** ,081 183	,548** ,000 183	-.229** ,002 183
EnergydB	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.134 ,070 183	,002 ,981 183	-.313** ,000 183	-.163* ,027 183	-.164* ,026 183	1 ,000 183	-.127 ,088 183	-.094 ,206 183	-.087 ,240 183	-.186** ,011 183
MaxFreqHz	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,249** ,001 183	,104 ,160 183	,740** ,000 183	,656** ,000 183	,920** ,000 183	-.127 ,088 183	1 ,000 183	-.230** ,002 183	,465** ,000 183	,061 ,411 183
MaxPowerdB	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	-.084 ,256 183	-.022 ,769 183	-.373** ,000 183	-.281** ,000 183	-.281** ,000 183	-.094 ,206 183	-.127 ,088 183	1 ,000 183	-.190** ,010 183	-.184** ,013 183
DeltaTimes	Pearson Correlation Sig. (2-tailed) N	,300** ,000 183	,298** ,000 183	,145 ,050 183	-.159** ,032 183	-.229** ,002 183	-.186** ,011 183	,061 ,411 183	-.184** ,013 183	-.110 ,139 183	1 183

***. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).
*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

Figura 75. Matrice di correlazione tra le variabili indipendenti prodotta dal programma di statistica SPSS. In giallo i parametri maggiormente correlati tra loro e in rosso i parametri con maggiore correlazione significativa con le variabili gruppo e specie.

Descriptive Statistics			
	Mean	Std. Deviation	N
Specie	1,81	,672	183
Gruppo	3,42	1,625	183
LowFreqHz	24515,8502	6701,02739	183
HighFreqHz	93147,1196	25425,31116	183
CenterFreqHz	43858,0431	12326,32892	183
DeltaFreqHz	68631,2546	21882,45217	183
EnergydB	110,0196	10,25784	183
MaxFreqHz	41144,4617	12211,20810	183
MaxPowerdB	99,6672	10,01025	183
DeltaTimes	,02082	,072770	183

Figura 76. Statistiche descrittive prodotte dal programma relative alla matrice di correlazione di Figura 75.

Nella matrice di Figura 75 risulta un alto grado di correlazione tra i diversi parametri. La maggior correlazione è visibile nelle variabili connesse alla potenza del segnale; si ha infatti una significatività di 0,971 nella correlazione tra *Energy* e *Max Power* (la correlazione tendente a 1 è significativa). Anche per quanto riguarda le variabili legate alla frequenza si ha un alto grado di significatività tra *High Frequency* e *Delta Frequency* e tra *Center Frequency* e *Max Frequency*.

L'aspetto di maggior interesse è valutare se vi sia una correlazione tra i parametri misurati del sonogramma e la specie o il gruppo geografico di appartenenza. Nella matrice di correlazione si nota che, per quanto riguarda la specie, la variabile con maggior significatività è *High Frequency* (correlazione di *Pearson*: 0,399), la quale invece non sembra essere determinante per la distinzione del gruppo geografico (correlazione di *Pearson*: -0,87). Il *Delta Time* (correlazione di *Pearson*: 0,298) risulta maggiormente influenzato dal gruppo geografico anche se è comunque maggiormente determinato dalla specie di appartenenza (correlazione di *Pearson*: 0,300).

L'effetto del gruppo geografico sui parametri in analisi è risultato significativo osservando le medie marginali stimate (Figura 77) in cui è stata attivata l'opzione "Confronta effetti principali". In questo modo è possibile eseguire confronti a coppie tra le medie marginali di qualsiasi effetto principale del modello. Nel confronto tra le medie, un'indicazione immediata della grandezza dell'effetto che la variabile indipendente (in questo caso i parametri misurati sui sonogrammi) ha su quella dipendente (in questo caso il gruppo geografico), è data dall'indice Eta-Quadrato (*Eta-Square*) sempre compreso tra 0 e 1 dove un valore uguale a 1 indica la massima dipendenza tra le medie.

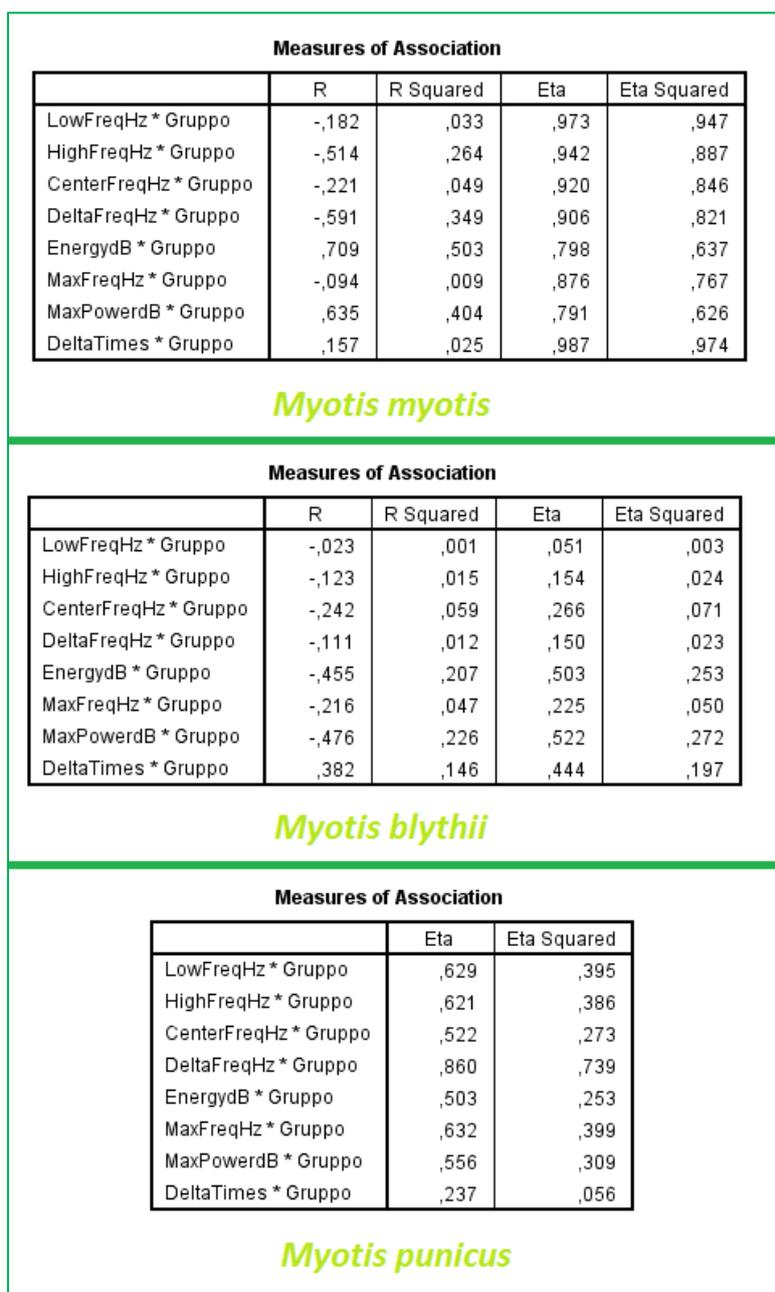


Figura 77. Risultato del confronto delle medie in associazione alla variabile “gruppo geografico”.

Nel confronto a coppie delle medie solo il *M. myotis* ha valori ad alta significatività ed è possibile osservare graficamente l’andamento delle medie di ogni variabile per ogni gruppo.

Sono state rappresentate insieme le variabili relative alla frequenza, con Hz come unità di misura (da Figura 78 a Figura 80) e quelle relative alla potenza in dB (da Figura 83 a Figura 81). Dopo il *Test* di omogeneità (*Homogeneity Test*), che produce il *Test* di *Levene* utile per confrontare l’omogeneità delle varianze dei gruppi, è stata effettuata l’analisi della varianza (ANOVA) dove il valore di F (*Test* di *Fisher*) è maggiore quanto più è significativa la differenza tra i gruppi geografici.

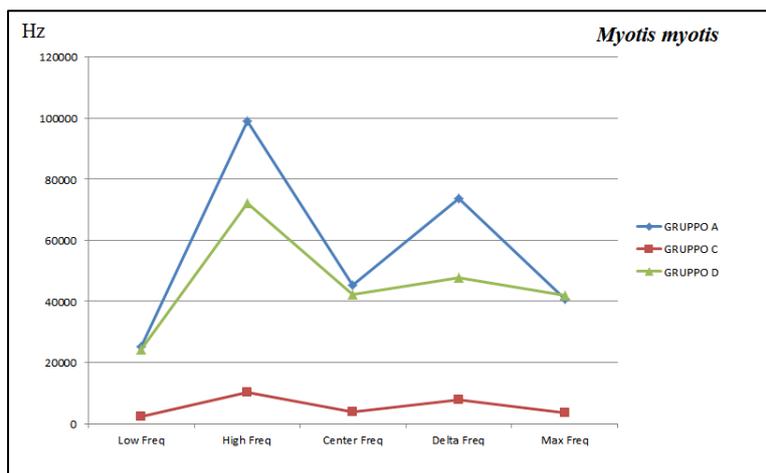


Figura 78. Andamento dei parametri relativi alla frequenza (Hz) nei diversi gruppi di presenza del *Myotis myotis*.

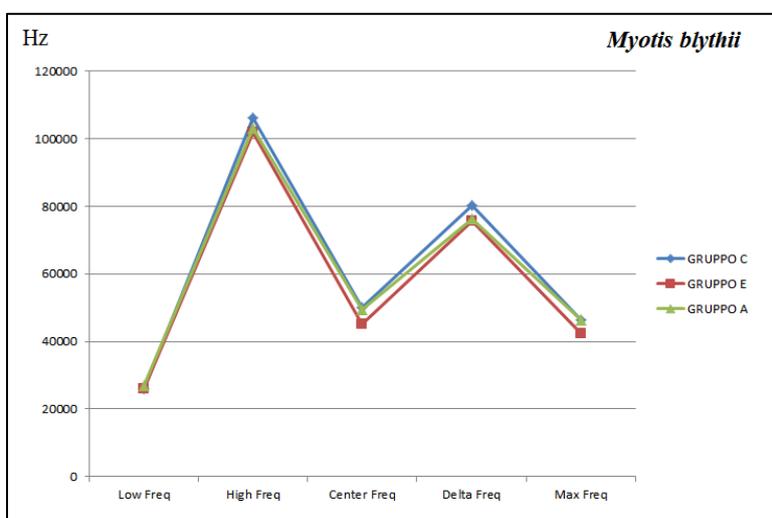


Figura 79. Andamento dei parametri relativi alla frequenza (Hz) nei diversi gruppi di presenza del *Myotis blythii*.

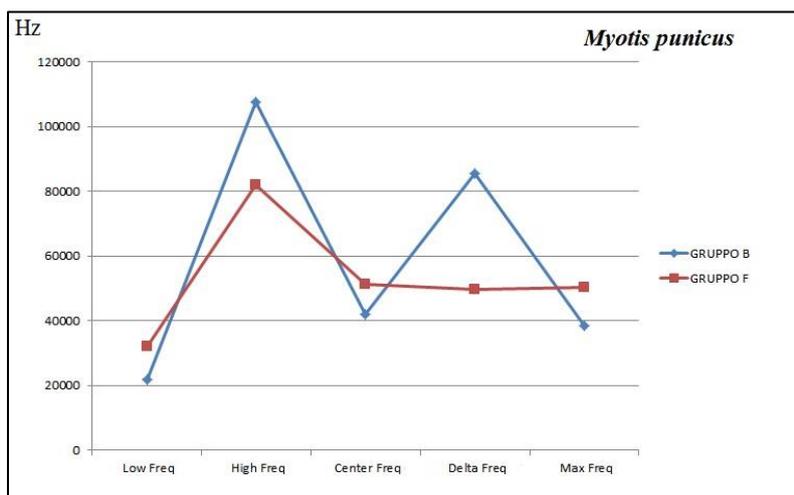


Figura 80. Andamento dei parametri relativi alla frequenza (Hz) nei diversi gruppi di presenza del *Myotis punicus*.

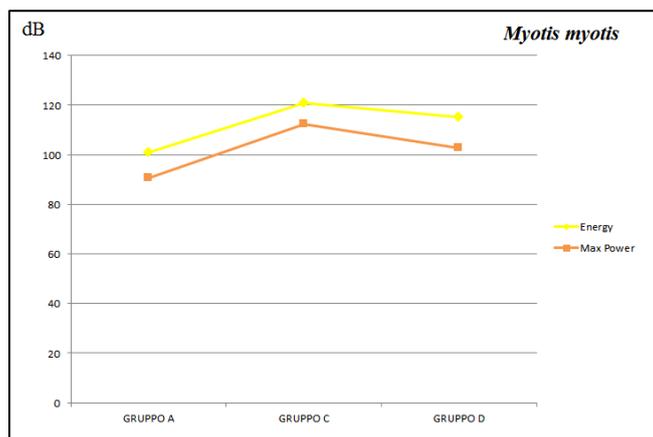


Figura 81. Andamento dei parametri relativi alla potenza (dB) nei diversi gruppi di presenza del *Myotis myotis*.

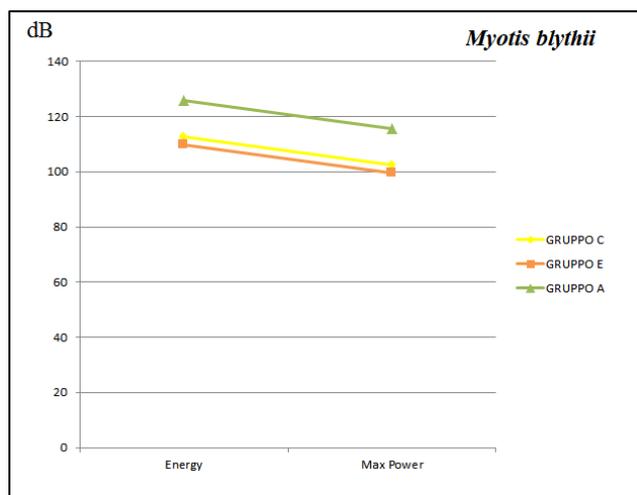


Figura 82. Andamento dei parametri relativi alla potenza (dB) nei diversi gruppi di presenza del *Myotis blythii*.

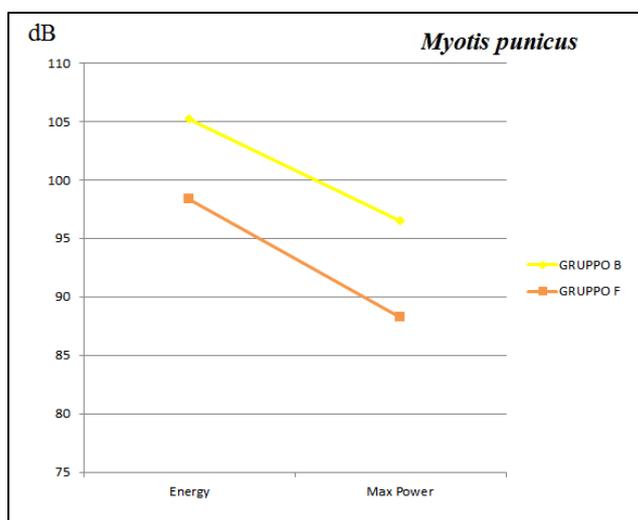


Figura 83. Andamento dei parametri relativi alla potenza (dB) nei diversi gruppi di presenza del *Myotis punicus*.

Test of Homogeneity of Variances					
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
<i>Myotis myotis</i>	LowFreqHz	4,292	2	59	,018
	HighFreqHz	7,591	2	59	,001
	CenterFreqHz	16,960	2	59	,000
	DeltaFreqHz	7,385	2	59	,001
	EnergydB	1,324	2	59	,274
	MaxFreqHz	7,199	2	59	,002
	MaxPowerdB	1,046	2	59	,358
	DeltaTimes	22,832	2	59	,000

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LowFreqHz	Between Groups	3836161806	2	1918080903	528,867	,000
	Within Groups	213979505,2	59	3626771,275		
	Total	4050141311	61			
HighFreqHz	Between Groups	53994581482	2	26997290741	231,790	,000
	Within Groups	6871915763	59	116473148,5		
	Total	60866497245	61			
CenterFreqHz	Between Groups	12470250991	2	6235125496	162,342	,000
	Within Groups	2266040081	59	38407459,00		
	Total	14736291072	61			
DeltaFreqHz	Between Groups	31199793387	2	15599896693	135,065	,000
	Within Groups	6814461410	59	115499345,9		
	Total	38014254797	61			
EnergydB	Between Groups	3990,689	2	1995,345	51,786	,000
	Within Groups	2273,308	59	38,531		
	Total	6263,997	61			
MaxFreqHz	Between Groups	11009051513	2	5504525757	96,949	,000
	Within Groups	3349868590	59	56777433,74		
	Total	14358920104	61			
MaxPowerdB	Between Groups	3912,984	2	1956,492	49,419	,000
	Within Groups	2335,798	59	39,590		
	Total	6248,782	61			
DeltaTimes	Between Groups	,015	2	,007	1114,050	,000
	Within Groups	,000	59	,000		
	Total	,015	61			

Figura 84. Risultato dell'analisi della varianza (ANOVA) di tutti i parametri in relazione al gruppo geografico per *M. myotis*.

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
<i>Myotis blythii</i>	LowFreqHz	2,120	2	91	,126
	HighFreqHz	6,183	2	91	,003
	CenterFreqHz	7,740	2	91	,001
	DeltaFreqHz	2,206	2	91	,116
	EnergydB	16,887	2	91	,000
	MaxFreqHz	4,447	2	91	,014
	MaxPowerdB	17,939	2	91	,000
	DeltaTimes	8,402	2	91	,000

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LowFreqHz	Between Groups	4149615,100	2	2074807,550	,119	,888
	Within Groups	1581228110	91	17376133,08		
	Total	1585377725	93			
HighFreqHz	Between Groups	367256465,4	2	183628232,7	1,098	,338
	Within Groups	15212358742	91	167168777,4		
	Total	15579615208	93			
CenterFreqHz	Between Groups	545614485,4	2	272807242,7	3,458	,036
	Within Groups	7178187645	91	78881182,91		
	Total	7723802130	93			
DeltaFreqHz	Between Groups	384540929,5	2	192270464,8	1,052	,354
	Within Groups	16636942187	91	182823540,5		
	Total	17021483117	93			
EnergydB	Between Groups	2449,062	2	1224,531	15,429	,000
	Within Groups	7222,375	91	79,367		
	Total	9671,437	93			
MaxFreqHz	Between Groups	405700009,8	2	202850004,9	2,419	,095
	Within Groups	7629902991	91	83845087,82		
	Total	8035603001	93			
MaxPowerdB	Between Groups	2424,854	2	1212,427	17,000	,000
	Within Groups	6489,914	91	71,318		
	Total	8914,768	93			
DeltaTimes	Between Groups	,000	2	,000	11,177	,000
	Within Groups	,000	91	,000		
	Total	,000	93			

Figura 85. Risultato dell'analisi della varianza (ANOVA) di tutti i parametri in relazione al gruppo geografico per *M. blythii*.

Test of Homogeneity of Variances					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
<i>Myotis punicus</i>	LowFreqHz	102,292	1	25	,000
	HighFreqHz	35,985	1	25	,000
	CenterFreqHz	57,131	1	25	,000
	DeltaFreqHz	10,722	1	25	,003
	EnergydB	,649	1	25	,428
	MaxFreqHz	17,850	1	25	,000
	MaxPowerdB	,239	1	25	,629
	DeltaTimes	1,057	1	25	,314

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LowFreqHz	Between Groups	662466907,7	1	662466907,7	16,324	,000
	Within Groups	1014531422	25	40581256,87		
	Total	1676998329	26			
HighFreqHz	Between Groups	4146341395	1	4146341395	15,716	,001
	Within Groups	6595897872	25	263835914,9		
	Total	10742239267	26			
CenterFreqHz	Between Groups	535465067,2	1	535465067,2	9,375	,005
	Within Groups	1427952831	25	57118113,24		
	Total	1963417898	26			
DeltaFreqHz	Between Groups	8123390142	1	8123390142	70,811	,000
	Within Groups	2867965716	25	114718628,6		
	Total	10991355857	26			
EnergydB	Between Groups	294,713	1	294,713	8,481	,007
	Within Groups	868,765	25	34,751		
	Total	1163,478	26			
MaxFreqHz	Between Groups	857159223,0	1	857159223,0	16,587	,000
	Within Groups	1291894942	25	51675797,66		
	Total	2149054165	26			
MaxPowerdB	Between Groups	432,935	1	432,935	11,171	,003
	Within Groups	968,837	25	38,753		
	Total	1401,772	26			
DeltaTimes	Between Groups	,000	1	,000	1,493	,233
	Within Groups	,000	25	,000		
	Total	,000	26			

Figura 86. Risultato dell'analisi della varianza (ANOVA) di tutti i parametri in relazione al gruppo geografico per *M. punicus*.

Il primo dato che salta all'occhio nei grafici, confermato successivamente dall'analisi della varianza (ANOVA), è la differenza in *M. myotis* dei valori del gruppo geografico C, ovvero la Grecia. Mentre l'energia e la massima potenza del segnale (*Energy* e *Max Power*) non si discostano di molto dagli altri gruppi (Italia e Spagna - Figura 81), i parametri di frequenza (Hz) hanno valori molto più bassi (Figura 78). Gli ultrasuoni registrati in Grecia mostrano una misura dei parametri relativi alla frequenza (Hz) che si discosta molto rispetto agli altri gruppi, specialmente per *M. myotis* (Figura 87).

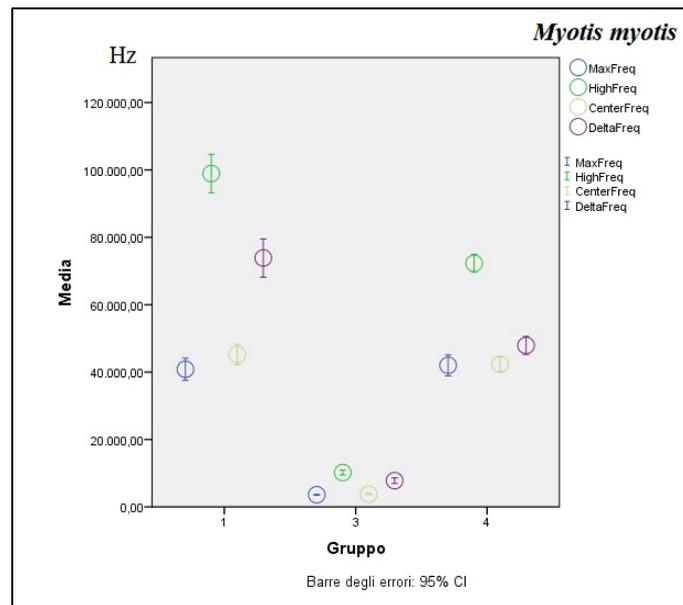


Figura 87. Andamento delle variabili relative alla Frequenza (Hz) per *M. myotis* nei gruppi geografici di presenza.

Per quanto riguarda *M. blythii* l'influenza della variabile gruppo è poco significativa per tutte le variabili (Figura 88 e Figura 91), come indicano i valori del test di Fisher C (Figura 85),

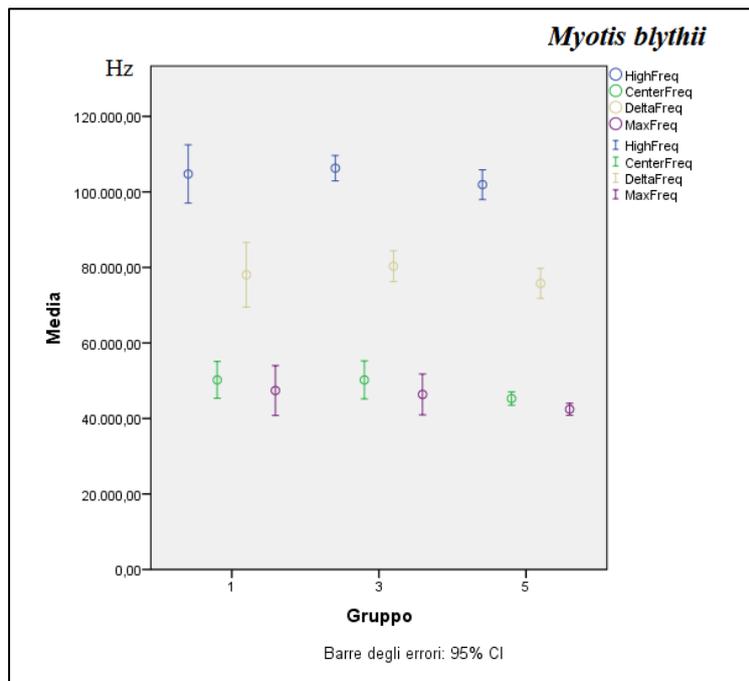


Figura 88. Andamento delle variabili relative alla Frequenza (Hz) per *M. blythii* nei gruppi geografici di presenza.

Il *M. punicus* non mostra significative differenze nei parametri misurati tra Sardegna e Algeria.

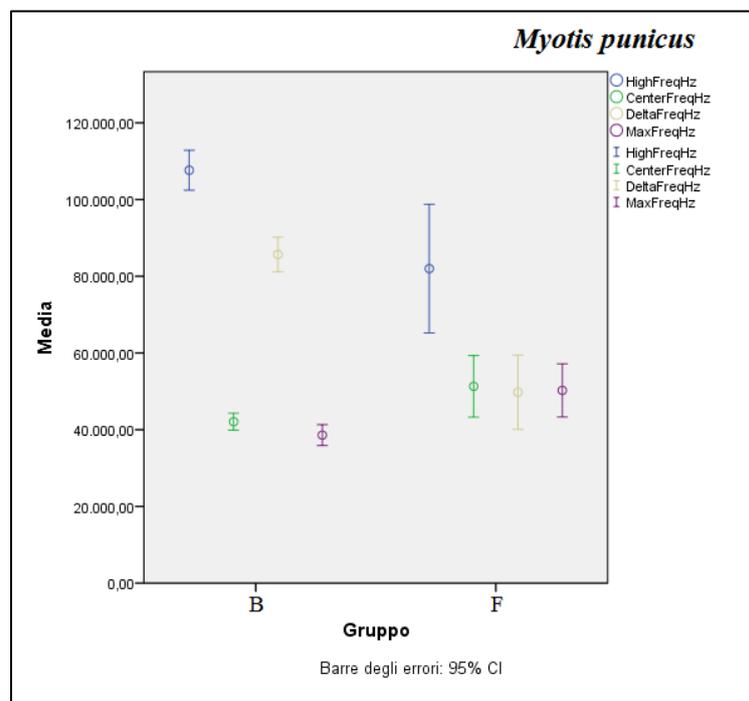


Figura 89. Andamento delle variabili relative alla Frequenza (Hz) per *M. punicus* nei gruppi geografici di presenza.

I parametri relativi alla potenza del segnale (dB) risultano meno discriminanti nelle due specie *M. myotis* e *M. blythii* rispetto a *M. punicus* per i gruppi geografici Sardegna e Algeria (da Figura 90 a Figura 92).

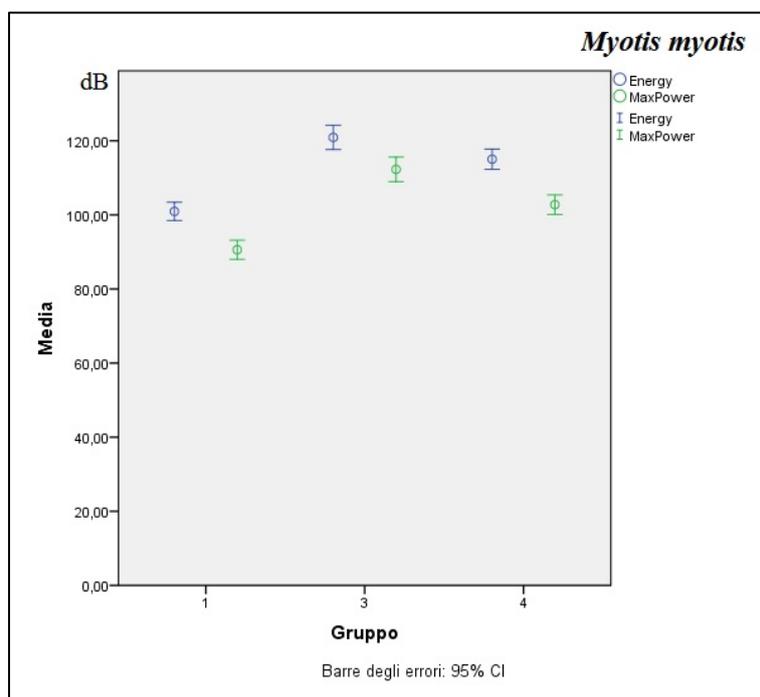


Figura 90. Andamento delle variabili *Energy* e *Max Power* per *M. myotis* nei gruppi geografici di presenza.

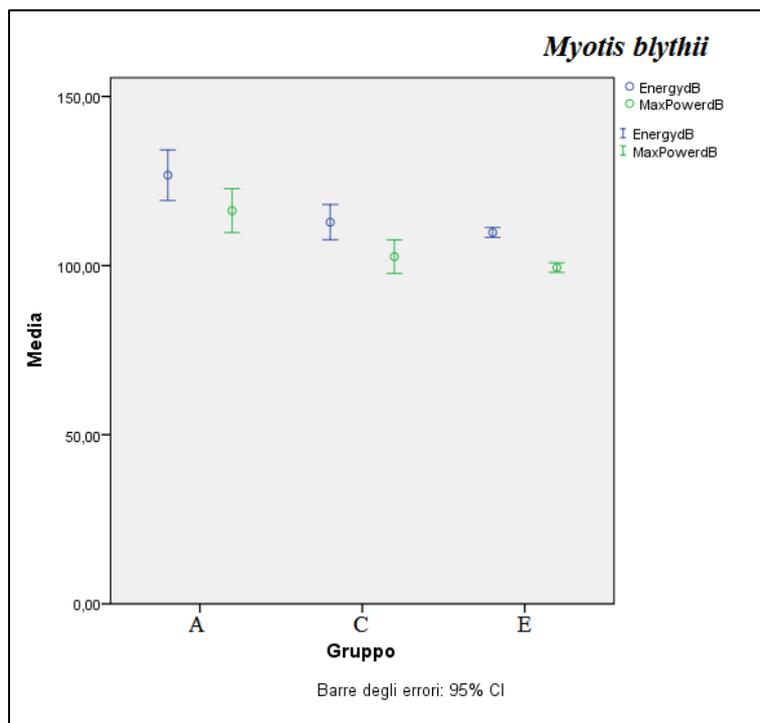


Figura 91. Andamento delle variabili *Energy* e *Max Power* per *M. blythii* nei gruppi geografici di presenza.

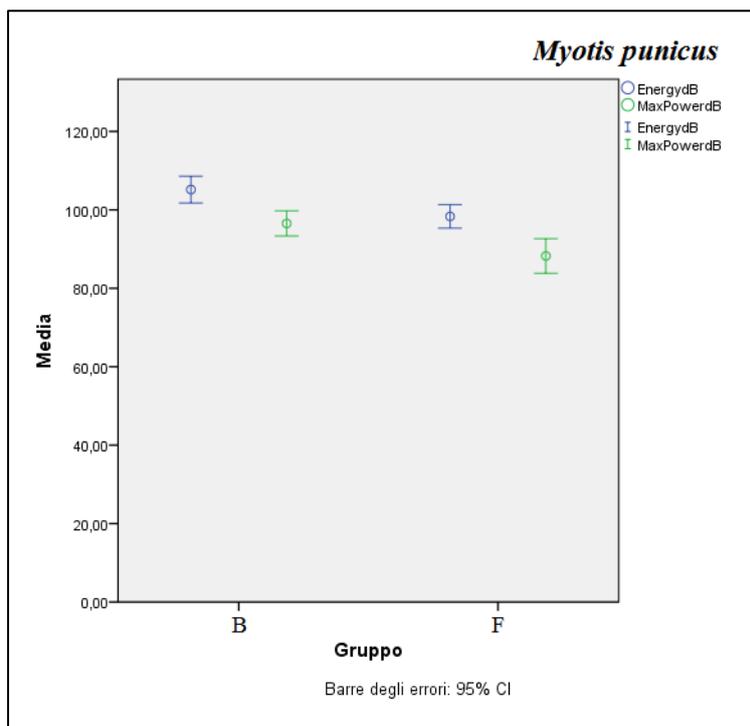


Figura 92. Andamento delle variabili *Energy* e *Max Power* per *M. punicus* nei gruppi geografici di presenza.

Le variabili che sembrano essere influenzate dalla posizione geografica sono quindi *Delta Time* (Figura 93), *Delta Frequency* (Figura 94) e *Hign Frequency* (Figura 95), queste ultime due hanno comunque un'alta correlazione con tutte le altre variabili relative alla frequenza ad esclusione della *Low Frequency* (Figura 75), motivo per cui non è presente nei grafici di andamento relativi alla Frequenza.

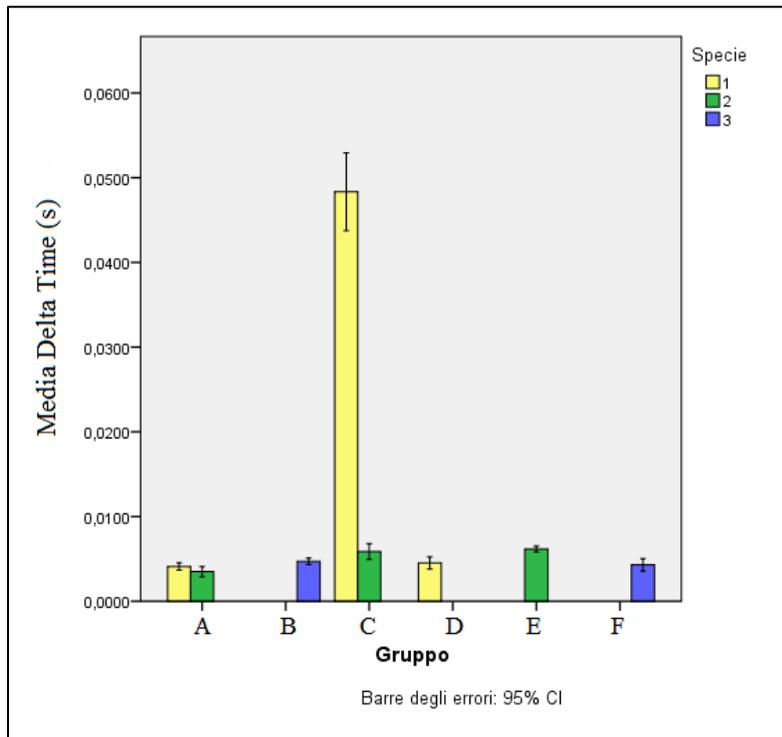


Figura 93. Andamento della variabile *Delta Time* per le 3 specie divise per gruppo geografico in cui la specie è presente.

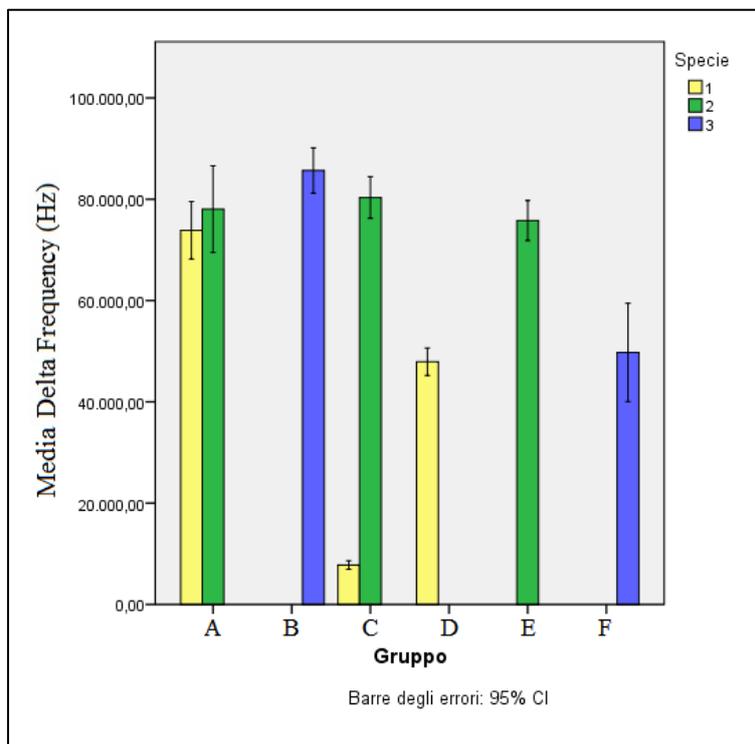


Figura 94. Andamento della variabile *Delta Frequency* per le 3 specie divise per gruppo geografico in cui la specie è presente.

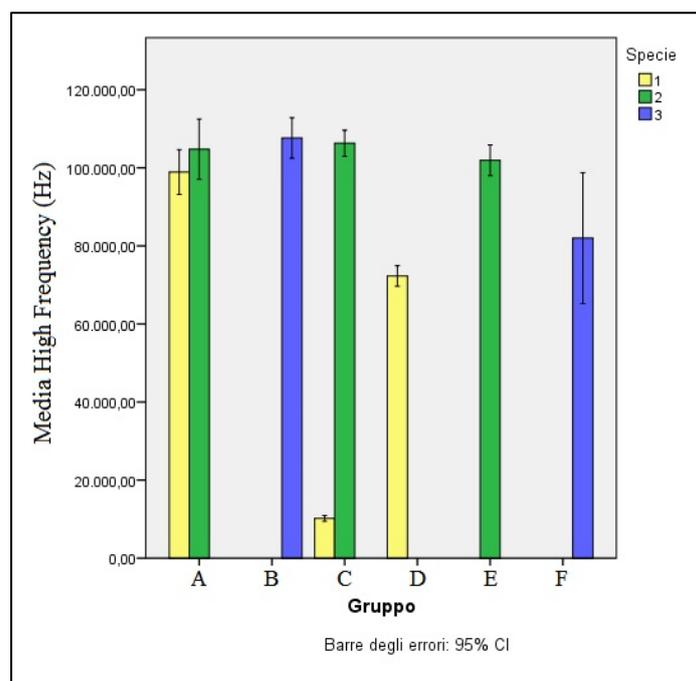


Figura 95. Andamento della variabile *High Frequency* per le 3 specie divise per gruppo geografico in cui la specie è presente.

In seguito sono stati considerati tutti i parametri misurati (Tabella 36), indipendentemente dal gruppo geografico, per valutare se fosse presente una discriminazione per le tre specie. È stata quindi eseguita un'analisi multivariata, in particolare l'analisi discriminante (DFA - *Discriminant Function Analysis*), nella quale, dati n gruppi di "oggetti" descritti da m variabili, viene individuata la combinazione lineare di variabili che spiega meglio la varianza tra i gruppi, in questo modo viene "massimizzata" la distanza tra i gruppi. La funzione discriminante aiuta a "predire" l'appartenenza ad un gruppo confrontando l'ipotesi con la reale appartenenza ad una delle tre specie.

La valutazione è stata realizzata utilizzando il metodo *Stepwise*, per l'inserimento progressivo di variabili nella funzione e il *Lambda di Wilks* per valutare la significatività di ogni inserimento di nuove variabili (Figura 96).

L'analisi ha estratto tre variabili che, prese nel loro complesso, producono uno spazio a due dimensioni, che sono le due funzioni discriminanti ottenute (*Function 1* e *Function 2* - Figura 97). Ognuna delle funzioni è una combinazione lineare delle tre variabili estratte dall'analisi come la terna che produce la massima differenziazione tra gruppi e che sono *High Frequency*, *Max power* e *Energy*. Nella *Structure Matrix* (Figura 97) sono riportati i coefficienti di correlazione tra le due funzioni discriminanti e le variabili originali. Si può interpretare la funzione discriminante notando come la *Function 1* sia correlata positivamente con *Delta Frequency* e *High Frequency* e la *Function 2* positivamente con *Energy* e *Max power*.

Nel grafico sono presenti le due funzioni discriminanti poste come asse delle ascisse e asse delle ordinate e i singoli *cases* (in questo caso le specie), in colori diversi a seconda della specie.

La Figura 99 presenta i risultati della classificazione: l'analisi, in grado di massimizzare al meglio la distanza tra gruppi, classifica correttamente circa il 70% dei casi: la specie 3 è quella che viene classificata peggio mentre la 1 e la 2 sono piuttosto soddisfacenti. Anche dal grafico (Figura 98) si nota come la specie 3 si trovi nel mezzo dello *scatter* delle altre due specie.

Variables Entered/Removed ^{a,b,c,d}									
Step	Entered	Wilks' Lambda				Exact F			
		Statistic	df1	df2	df3	Statistic	df1	df2	Sig.
1	High Freq	,741	1	2	180,000	31,447	2	180,000	,000
2	Max Power	,629	2	2	180,000	23,344	4	358,000	,000
3	Energy	,564	3	2	180,000	19,648	6	356,000	,000

At each step, the variable that minimizes the overall Wilks' Lambda is entered.

- Maximum number of steps is 16.
- Minimum partial F to enter is 3.84.
- Maximum partial F to remove is 2.71.
- F level, tolerance, or VIN insufficient for further computation.

Variables in the Analysis				
Step		Tolerance	F to Remove	Wilks' Lambda
1	High Freq	1,000	31,447	
2	High Freq	,893	39,733	,908
	Max Power	,893	15,936	,741
3	High Freq	,822	46,490	,859
	Max Power	,053	11,456	,637
	Energy	,055	10,205	,629

Wilks' Lambda									
Step	Number of Variables	Lambda	df1	df2	df3	Exact F			
						Statistic	df1	df2	Sig.
1	1	,741	1	2	180	31,447	2	180,000	,000
2	2	,629	2	2	180	23,344	4	358,000	,000
3	3	,564	3	2	180	19,648	6	356,000	,000

Figura 96. Risultato prodotto dal programma di analisi statistica SPSS dell'analisi discriminante con metodo *Stepwise, Lamba di Wilks*.

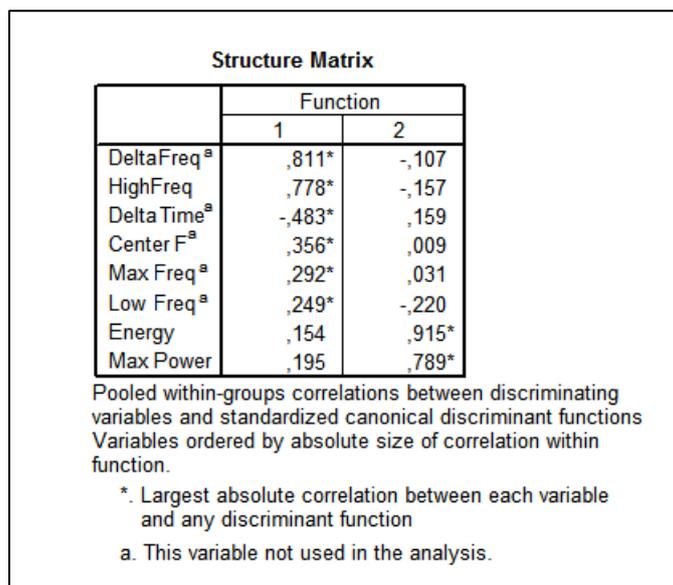


Figura 97. Risultato dell'analisi discriminante - Matrice di struttura con due funzioni ottenute.

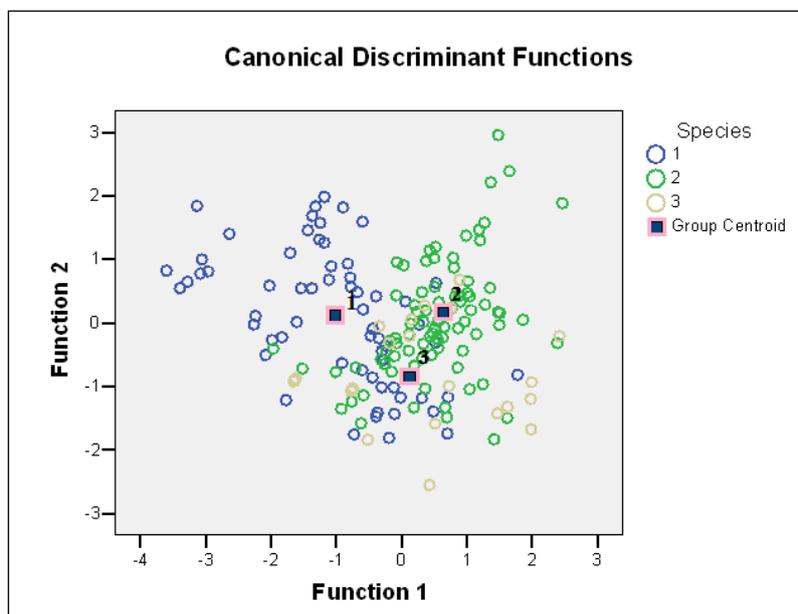


Figura 98. Rappresentazione grafica della funzione discriminante che determina il centroide di ogni gruppo inteso come specie.

Classification Results^a

	Species	Predicted Group Membership			Total
		1	2	3	
Original	Count	1	2	3	
		40	16	6	62
		7	86	1	94
		10	15	2	27
%		1	2	3	
		64,5	25,8	9,7	100,0
		7,4	91,5	1,1	100,0
		37,0	55,6	7,4	100,0

a. 69,9% of original grouped cases correctly classified.

Figura 99. Risultato della classificazione dei casi con percentuale di appartenenza ai tre gruppi.

L'analisi dei *Cluster* (Figura 100) dà come risultato 4 *Cluster* nel metodo *Two Step*, risultato condizionato probabilmente dalla presenza dei *M. myotis* greci i cui parametri dei sonogrammi si discostano molto dagli altri gruppi geografici.

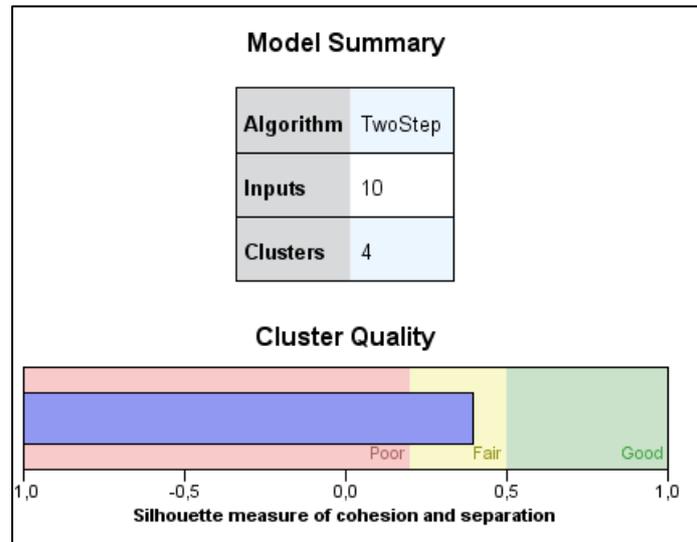


Figura 100. Risultato prodotto dal programma statistico SPSS per l'analisi dei *Cluster* (con metodo *Two Step*).

Tuttavia utilizzando il metodo delle *k*-medie anche l'analisi dei *Cluster* dà come risultato 3 cluster distinti (Figura 101).

Final Cluster Centers			
	Cluster		
	1	2	3
LowFreq	24433,39	2419,81	26181,03
HighFreq	74352,56	10193,53	107277,44
CenterFreq	41182,77	3785,04	47954,53
DeltaFreq	49919,13	7773,73	81096,41
Energy	110,24	120,91	109,12
MaxFreq	40687,23	3603,22	44108,78
MaxPower	99,76	112,28	98,70
DeltaTime	,021	,048	,019

Distances between Final Cluster Centers			
Cluster	1	2	3
1		95660,995	46007,486
2	95660,995		137687,107
3	46007,486	137687,107	

ANOVA						
	Cluster		Error		F	Sig.
	Mean Square	df	Mean Square	df		
LowFreq	2366376538	2	19109626,15	180	123,832	,000
HighFreq	52329589845	2	72189298,72	180	724,894	,000
CenterFreq	8436041527	2	59892794,14	180	140,852	,000
DeltaFreq	35248286434	2	92514549,34	180	381,003	,000
Energy	584,412	2	99,899	180	5,850	,003
MaxFreq	6883506125	2	74287019,76	180	92,661	,000
MaxPower	773,174	2	92,728	180	8,338	,000
DeltaTime	,004	2	,005	180	,703	,496

Figura 101. Risultato prodotto dal programma statistico SPSS per l'analisi dei *Cluster* (con metodo delle *k*-medie, N interazioni = 10).

Le stesse procedure statistiche sono state applicate anche per valutare eventuali effetti dovuti all'habitat in cui i suoni sono stati registrati, alle modalità di registrazione (HR e FF) oltre che al sesso dell'animale, per quanto riguarda i suoni al rilascio. Nessuno di questi aspetti ha dato risultati significativi.

6.3. Identificazione dei parassiti

I dati di presenza di ectoparassiti sono stati ottenuti da 87 esemplari controllati, come riportato in Tabella 40, in cui sono stati identificati 6 *taxa* di ectoparassiti: *Penicillidia dufourii* Westwood, 1835 (Diptera, Hippoboscidae), *Nycteribia schmidlii* Schiner, 1853 (Diptera, Hippoboscidae) e 4 specie non identificate appartenenti alle famiglie Spinturnicidae Audemans, 1902 (Arachnida, Dermanyssoidea), Macronissidae Audemans, 1936 (Arachnida, Mesostigmata), Streblidae Kolenati, 1863 (Diptera, Hippoboscoidea) e Ixodidae C. L. Koch, 1844 (Arachnida, Acarina).

Tabella 40. Comunità parassitaria rilevata. Legenda - A: *Penicillidia dufourii*, B: *Nycteribia schmidlii*, C: Spinturnicidae, D: Macronissidae, E: Streblidae, F: Ixodidae

Sito	Ospite	Sex	A	B	C	D	E	F
Emilia Romagna	<i>M. blythii</i>	f			15	12		
Emilia Romagna	<i>M. blythii</i>	f			17	12		
Emilia Romagna	<i>M. blythii</i>	f			8	7		
Emilia Romagna	<i>M. blythii</i>	f			4			
Emilia Romagna	<i>M. myotis</i>	f	1	1	7	3		
Emilia Romagna	<i>M. myotis</i>	f			22	1		
Emilia Romagna	<i>M. myotis</i>	f	1		4			
Emilia Romagna	<i>M. myotis</i>	f			20	2		
Emilia Romagna	<i>M. myotis</i>	f			9	4		
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m	1	1				
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m		3	1			
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m		2	2	7		
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m	1	1				
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m	1	5	1			
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m	1	3	2			
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m		4				
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m	1	5	2			
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m	1	1	7	3		
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	f			22	1		
Emilia Romagna	<i>M. schreibersii</i>	m	1	1				
Emilia Romagna	<i>R. ferrumequinum</i>	f		14	14	5		
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f			1			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	m	2					
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f			4			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	m			6			

Piemonte	<i>M. myotis</i>	f			7			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	m			4			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	m			3			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	m	1		8			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f			3			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f	1		3			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f	1		1			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f			1			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f			7			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f	1		4			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f	1		1			
Piemonte	<i>M. myotis</i>	f			2			
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	m				1		
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	m		1	2			
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	f		1	1	1		
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	m			1			
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	m		1	1	1		
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	f		8	2	1		
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	f		3		1		
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	m		3				
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	m		4	1			
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	m		2	2	1		
San Marino	<i>M. schreibersii</i>	f		2				
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	7					
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	4		8	3		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	3					
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	7		2			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	9	1	1	4		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	2		3			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	4		6			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	10	1	1	5		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	2	1	1	2		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	6		3	7		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	3		1			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	m	2		4	1		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	2	1	6	4		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	6		3			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	m	4	1	2	3		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	2		7			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	m	4		6			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f		1	6			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	2	1	20			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f			27	6		
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	4		6			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	m	2		18			
Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	1	1	9	3		

Sardegna	<i>M. punicus</i>	f	1		3			
Toscana	(7) <i>M. schreibersii</i>	m	2	48	18	5		6
Toscana	(7) <i>M. schreibersii</i>	4f/3m		42	13	1		
Toscana	<i>M. blythii</i>	m		1				
Toscana	<i>M. blythii</i>	f		1				
Toscana	<i>M. myotis</i>	f			1			
Toscana	<i>M. myotis</i>	m		1				
Toscana	<i>M. myotis</i>	m		1				
Toscana	<i>M. myotis</i>	m		1				
Toscana	<i>M. myotis</i>	m		1				
Toscana	<i>M. schreibersii</i>	m						
Toscana	<i>M. schreibersii</i>	f						1
Toscana	<i>M. schreibersii</i>	m						4
Toscana	<i>M. schreibersii</i>	m				2		4
Toscana	<i>R. hipposideros</i>	f		1			1	

In questa prima analisi, effettuata a livello di *taxa* di diverso valore tassonomico, si denota una maggior variabilità, in termini di diversità della comunità parassitaria, innanzitutto a carico di *M. schreibersii*. Questa specie, per il suo carattere sociale e per la consuetudine di riunirsi in grandi colonie localizzate per decenni nello stesso punto, possiede una ben riconosciuta ampia comunità parassitaria, spesso costituita da numerosi individui che infestano tutte le fasce di età dell'ospite e che divengono, per quest'ultimo, una delle maggiori spese energetiche durante la fase riproduttiva (Estrada-Peña e Serra-Cobo, 1991).

In questo campione, tra i grandi *Myotis*, il *M. blythii* ha mostrato la comunità con minor numero di *taxa*, mentre sia su *M. myotis* che su *M. punicus* è stata registrata la presenza fino a 4 diversi *taxa* su uno stesso esemplare (Tabella 41).

Tabella 41. α diversità di *taxa* parassitari per le diverse specie considerate.

<i>M. blythii</i>	<i>Media</i>	<i>Max</i>	<i>Dev.st.</i>
Emilia Romagna	1,75	2	0,500
Toscana	1,00	1	0,000
TOTALE	1,50	2	0,548
<i>M. myotis</i>	<i>Media</i>	<i>Max</i>	<i>Dev.st.</i>
Emilia Romagna	2,40	4	0,894
Piemonte	1,31	2	0,479
Toscana	1,00	1	0,000
TOTALE	1,46	4	0,706
<i>M. punicus</i>	<i>Media</i>	<i>Max</i>	<i>Dev.st.</i>
Sardegna	2,58	4	0,974

<i>M. schreibersii</i>	Media	Max	Dev.st.
Emilia Romagna	2,50	4	0,926
San Marino	2,00	3	0,894
Toscana	2,33	5	1,789
TOTALE	2,18	5	1,090

La comunità di ogni specie è stata analizzata in base ai due principali indici ecologici parassitari: la PREVALENZA (numero di individui parassitati nell'insieme della popolazione) e l'INTENSITÀ di parassitizzazione (il numero di parassiti per ospite), elencati da Tabella 42 a Tabella 45.

Tabella 42. Valori di PREVALENZA e INTENSITÀ per *M. myotis* e località di raccolta.

<i>M. myotis</i>	<i>P. dufourii</i>	<i>N. schmidlii</i>	<i>Spinturnicidae</i>	<i>Macronissidae</i>	<i>Ixodidae</i>
Emilia Romagna					
PREVALENZA	40,00	20,00	100,00	80,00	0
INTENSITÀ	0,40	0,20	12,40	2	0
Valore minimo	0	0	4	0	0
Valore massimo	1	1	22	4	0
Piemonte					
PREVALENZA	37,50	0	93,75	0	0
INTENSITÀ	0,44	0	3,44	0	0
Valore minimo	0	0	2	0	0
Valore massimo	2	0	8	0	0
Toscana					
PREVALENZA	0	80,00	3,19	0	0
INTENSITÀ	0	0,80	2,81	0	0
Valore minimo	0	0	2	0	0
Valore massimo	0	1	38	0	0
TOTALE					
PREVALENZA	30,77	19,23	80,77	15,38	0
INTENSITÀ	0,35	0,19	4,54	0,38	0
Valore minimo	0	0	4	0	0
Valore massimo	1	1	22	4	0

Tabella 43. Valori di PREVALENZA e INTENSITÀ per *M. punicus* e località di raccolta.

<i>M. punicus</i>	<i>P. dufourii</i>	<i>N. schmidlii</i>	<i>Spinturnicidae</i>	<i>Macronissidae</i>	<i>Ixodidae</i>
Sardegna					
PREVALENZA	91,67	33,33	91,67	41,66	0
INTENSITÀ	3,63	0,33	5,96	1,58	0
Valore minimo	0	0	0	0	0
Valore massimo	10	1	27	7	0

Tabella 44. Valori di PREVALENZA e INTENSITÀ per *M. blythii* e località di raccolta.

<i>M. blythii</i>	<i>P. dufourii</i>	<i>N. schmidlii</i>	Spinturnicidae	Macronissidae	Ixodidae
Emilia Romagna					
PREVALENZA	0	0	100,00	75,00	0
INTENSITÀ	0	0	11	7,75	0
Valore minimo	0	0	4	0	0
Valore massimo	0	0	17	12	0
Toscana					
PREVALENZA	0	100	0	0	0
INTENSITÀ	0	1	0	0	0
TOTALE					
PREVALENZA	0	33,33	75,00	75,00	0
INTENSITÀ	0	0,33	7,33	5,17	0
Valore minimo	0	0	0-17	0	0
Valore massimo	0	1	17	12	0

Tabella 45. Valori di PREVALENZA e INTENSITÀ per *M. schreibersii* e località di raccolta.

<i>M. schreibersii</i>	<i>P. dufourii</i>	<i>N. schmidlii</i>	Spinturnicidae	Macronissidae	Ixodidae
Emilia Romagna					
PREVALENZA	63,64	90,91	72,73	27,27	0
INTENSITÀ	0,64	2,36	3,36	1,00	0
Valore minimo	0	0	0	0	0
Valore massimo	1	5	22	7	
San Marino					
PREVALENZA	0	81,82	63,64	145,45	0,00
INTENSITÀ	0,00	2,27	0,91	0,55	0,00
Valore minimo	0	0	2	0	
Valore massimo	2	8	8	2	
Toscana					
PREVALENZA	33,33	33,33	33,33	50,00	66,67
INTENSITÀ	0,05	2,14	0,74	0,48	1,64
Valore minimo	0	0	0	0	0
Valore massimo	1	7	3	2	4
TOTALE					
PREVALENZA	32,14	75,00	57,14	42,86	14,29
INTENSITÀ	0,26	2,28	1,84	0,71	0,35
Valore minimo	0	0	0	0	0
Valore massimo	2	18	22	7	4

I dati medi di sintesi sono riportati nelle due tabelle seguenti (Tabella 46 e Tabella 47).

Tabella 46. Dati medi per ospite e *taxa* parassitari per prevalenza e intensità.

PREVALENZA	<i>P. dufourii</i>	<i>N. schmidlii</i>	Spinturnicidae	Macronissidae	Ixodidae
<i>M. blythii</i>	0,00	33,33	75,00	75,00	0,00
<i>M. myotis</i>	30,77	19,23	80,77	15,38	0,00
<i>M. punicus</i>	91,67	33,33	91,67	41,67	0,00
<i>M. schreibersii</i>	32,14	75,00	57,14	42,86	14,29

Tabella 47. Dati medi per ospite e *taxa* parassitari per prevalenza e intensità.

INTENSITÀ	<i>P. dufourii</i>	<i>N. schmidlii</i>	Spinturnicidae	Macronissidae	Ixodidae
<i>M. blythii</i>	0,000	0,330	7,330	5,170	0,000
<i>M. myotis</i>	0,346	0,192	4,538	0,385	0,000
<i>M. punicus</i>	3,625	0,333	5,958	1,583	0,000
<i>M. schreibersii</i>	0,260	2,281	1,837	0,709	0,352

Le significative differenze tra le tre specie di *Myotis* poste a confronto con *Miniopterus schreibersii*, unica specie sempre presente nei vari siti di analisi e quindi trovata in comunità con tutte le altre specie, sono rappresentate graficamente (Figura 102 e Figura 103).

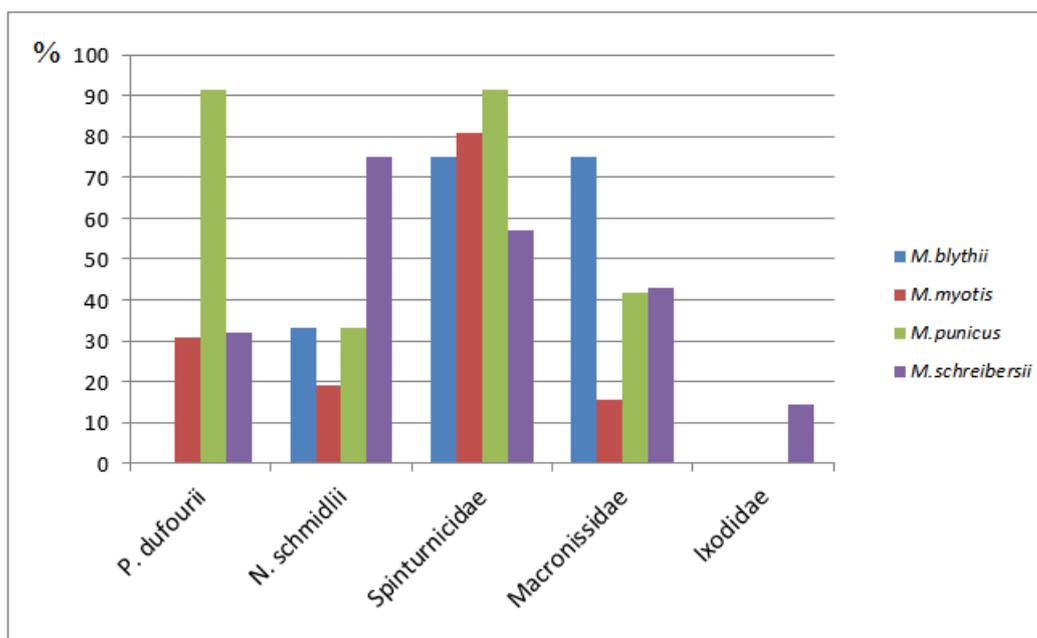


Figura 102. Confronto tra la PREVALENZA media per ogni *taxon* parassitario e le specie campionate.

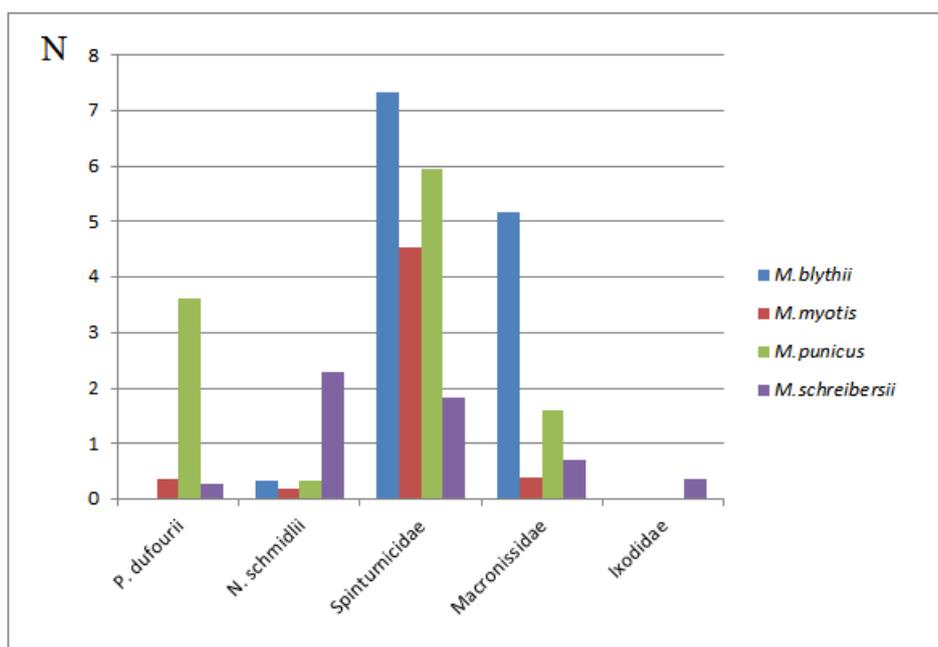


Figura 103. Confronto tra l' INTENSITÀ media per ogni *taxon* parassitario e le specie campionate.

Considerando le singole specie campionate nell'insieme delle stazioni, vediamo come *Miniopterus schreibersii* abbia mostrato la comunità più varia e ricca in termini numerici (Tabella 48). In definitiva la numerosità dei campioni non appare in questa fase essere sufficiente per un confronto fra le diverse località (Tabella 40), ma nell'insieme e, per i soli *taxa Nycteribia schmidlii* e Spinturnicidae, si è potuto verificare se vi fossero differenze significative tra i due sessi (Tabella 49) con il risultato che le femmine appaiono avere un maggior carico parassitario rispetto ai maschi.

Tabella 48. Dati medi della comunità parassitaria per *Miniopterus schreibersii*.

	<i>P. dufourii</i>	<i>N. schmidlii</i>	Spinturnicidae	Macronissidae	Ixodidae	TOT
Media	0,81	3,04	3,21	1,65	1,97	5,44
Min	0	1	1	0,00	0	0
Max	1	8	22	7	4	23
Dev. St.	0,385	2,119	5,214	1,826	1,891	4,839

Tabella 49. Dati medi per *taxa* parassitari nei due sessi in *Miniopterus schreibersii*.

	<i>N. schmidlii</i>	<i>N. schmidlii</i>	Spinturnicidae	Spinturnicidae
Sesso ospite	<i>ff</i>	<i>mm</i>	<i>ff</i>	<i>mm</i>
Media	4	2,75	6,71	2,05
Min	1	1	1	1
Max	8	7,00	22	7
Dev. St.	2,915	1,844	10,200	1,660

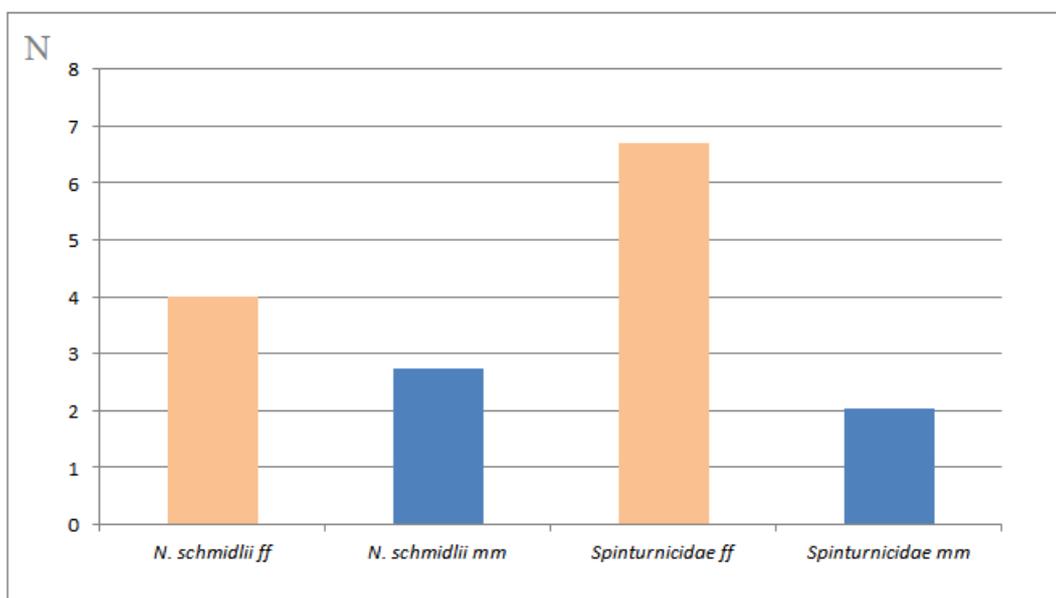


Figura 104. Differenze di numerosità in *taxa* parassitari tra i due sessi in *Miniopterus schreibersii*.

Considerando poi le tre specie di grandi *Myotis*, come raccolto in Tabella 50, si denota come le numerosità dei *taxa* parassitari sia diversificata soprattutto a carico degli acari, la cui presenza appare molto variabile ma significativamente differente tra le 3 specie.

Tabella 50. Dati medi della comunità parassitaria nelle tre specie di grandi *Myotis*.

	<i>P. dufourii</i>	<i>N. schmidlii</i>	Spinturnicidae	Macronissidae	TOT
<i>M. blythii</i>					
Media	0,00	1,00	11,00	10,33	12,83
max	0,00	1,00	17,00	12,00	29,00
Dev.St.	0,00	0,000	6,055	2,887	12,844
<i>M. myotis</i>					
Media	1,13	1,00	5,62	2,50	5,46
Max	2,00	1,00	22,00	4,00	5,20
Dev.St.	0,354	0,000	5,696	1,291	4,498
<i>M. punicus</i>					
Media	3,95	1,00	6,50	3,80	11,50
Max	10,00	1,00	27,00	7,00	33,00
Dev.St.	2,535	0,000	6,767	1,814	6,903

Le differenze significative tra le 3 specie di grandi *Myotis* sono a carico di *P. dufourii*, Spinturicidae e Macronissidae (Figura 105.).

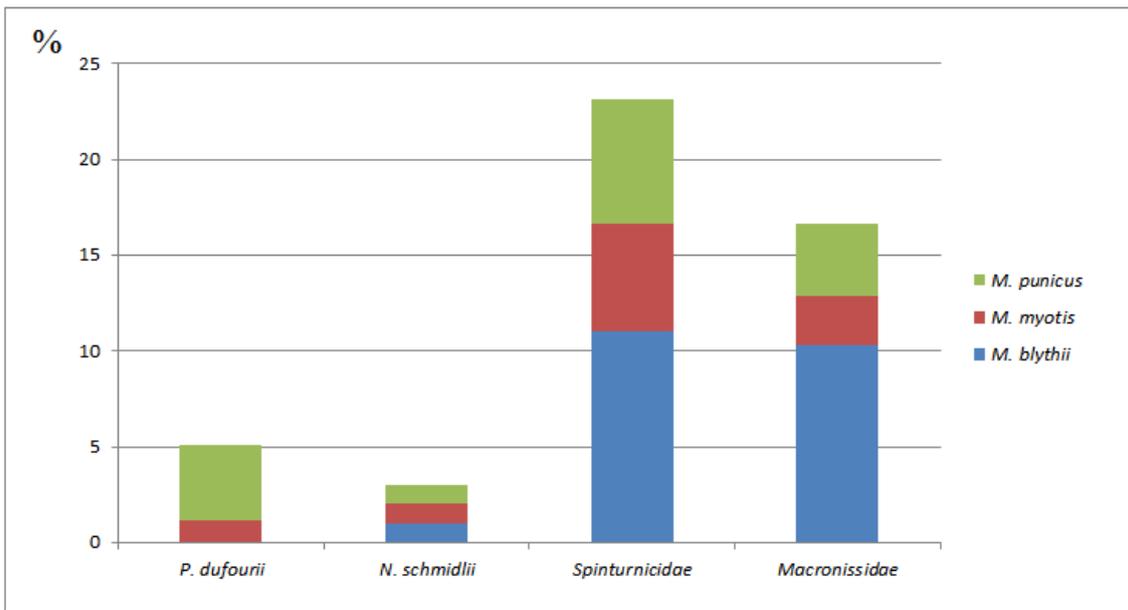


Figura 105. Differenze nelle prevalenze tra le diverse specie di *Myotis*.

7. DISCUSSIONE

7.1. Aspetti bioacustici.

La distinzione tra le specie di Chiroteri tramite analisi degli ultrasuoni emessi durante l'ecolocalizzazione è un argomento molto discusso, ma sono ancora poche le informazioni che permettono di avere certezze. La variabilità del segnale riguarda sia suoni a frequenza modulata sia a frequenza costante e ogni situazione è diversa per la capacità dei Chiroteri di adattare le loro emissioni alla particolare esigenza del momento. Ad esempio, essi sono in grado di utilizzare segnali brevi, segnali a banda larga, un tasso di ripetizione elevato durante la caccia in ambienti con ostacoli o segnali a banda stretta e lunga quando si nutrono in spazi aperti o ad alte quote (Kalko, 1995). Anche caratteristiche individuali come età, sesso e dimensioni corporee possono influire sulle caratteristiche dei sonogrammi (Russo *et al.*, 2001).

Nonostante questa loro flessibilità, che comporta un'alta mutabilità del segnale sonoro, il riconoscimento delle specie attraverso le loro *calls* sonore può essere affrontato. Già dal 1958 Griffin aveva esplorato questo argomento, ma solo 23 anni più tardi vi furono le prime pubblicazioni dedicate espressamente all'identificazione delle specie (Ahlen, 1981; Fenton & Bell, 1981). L'argomento ha guadagnato un nuovo slancio in anni recenti alla luce del fatto che il monitoraggio della biodiversità è divenuto elemento importante e più abbordabile grazie agli avanzamenti nella tecnologia, che hanno ulteriormente facilitato la registrazione e l'analisi dei segnali ultrasonici (Parsons e Obrist, 2004). Approcci differenti possono essere scelti per analizzare quantitativamente o qualitativamente i segnali di ecolocalizzazione (Parsons *et al.*, 2000). Alcune specie sono identificabili con maggior facilità per la struttura tipica del loro segnale come i Rhinolophidae, che tuttavia rivelano anch'essi un certo rischio di sovrapposibilità oltre che di influenze biogeografiche (Russo *et al.*, 2007).

La struttura di segnali emessi da specie diverse ma adattate agli stessi ambienti tende ad avere caratteristiche similari con un'intrinseca sovrapposizione di buona parte delle misure dei parametri (Russo & Jones, 2000).

Per la plasticità ecologica di molte specie il segnale sonoro possiede uno spettro adattabile al tipo di ambiente. Questa ultima complicazione si accentua nei segnali con entrambi le componenti, frequenza costante e frequenza modulata, ed è molto evidente nel genere *Pipistrellus*. Le specie di questo genere emettono ultrasuoni con sonogrammi la cui forma può passare ad essere quasi totalmente "piatta", ovvero a frequenza costante e con assenza di modulazione tipico, ad esempio, di *Nyctalus* spp., ad una forma "dritta" ovvero con ampia modulazione di frequenza in un tempo ridotto (Ahlén e Baagøe, 1999).

Tuttavia in determinati contesti si ravvedono differenziamenti tra le specie analizzate soprattutto considerando i parametri in maniera non univoca o monovariata, ma utilizzando analisi che prendano in esame nel loro complesso molti parametri di misurazione sia del sonogramma che della sequenza (Obrist *et al.*, 2004; Russo *et al.*, 2007; Barataud, 2012).

Il genere *Myotis* è quello che meno si presta ad una identificazione certa dei sonogrammi dato che la sovrapposizione dei segnali è molto alta soprattutto a carico dei “piccoli *Myotis*” come ad esempio nel lavoro di Lundy *et al.* (2011) in cui è stato affrontato il confronto tra *M. daubentonii*, *M. nattereri* e *M. mystacinus* i cui segnali in alcune situazioni sono indistinguibili, ma è stato possibile ottenere valori significativi, ad esempio per il parametro Fmax (*Max Frequency*), per suoni registrati all’uscita del *roost* grazie all’analisi discriminante.

Altri autori hanno sempre affrontato con cautela la complessità del gruppo *Myotis* e tuttora si cercano spunti per ridurre il margine di errore nell’identificazione delle specie di questo genere le cui registrazioni in volo libero sono spesso quasi impossibili da identificare.

Il caso dei “grandi *Myotis*” riduce, anche se di poco, il campo di identificazione poiché essendo animali con dimensioni corporee maggiori degli altri *Myotis* e avendo l’abitudine di cacciare in spazi aperti, hanno un segnale di ecolocalizzazione a frequenze più basse e con larghezza di banda più corta (Arlettaz, 1996).

La struttura del sonogramma del *Myotis punicus* non è mai stata analizzata in letteratura mentre per le due specie gemelle *M. myotis* e *M. blythii* sono state ravvisate differenze nella struttura del segnale, anche se rilevate in ambiente controllato (Russo *et al.*, 2007).

La presente ricerca, che ha come specie *target* i tre grandi *Myotis*, ha dato come primo risultato un discreto database di suoni derivanti da specie verificate morfologicamente. La raccolta dati, avvenuta in contesti geografici strategici, ha permesso di esplorare la variabilità geografica dei segnali, esplorando l’effetto dell’isolamento geografico ad esempio di Sardegna e Creta in cui sono presenti rispettivamente solo *M. punicus* e *M. blythii*. È stato poi possibile integrare il confronto con l’Italia e la Grecia in cui sono presenti, in stretta simpatria, le due specie gemelle *M. myotis* e *M. blythii*, sia in colonie miste che in colonie pure per quanto riguarda il *M. myotis*. Infine per un ulteriore confronto del *M. punicus* sono stati inseriti nello studio dati proveniente dal Maghreb (Algeria).

La variabilità geografica dei segnali è di grande interesse in quanto coinvolge le strette relazioni tra morfologica, filogenesi e adattamento ecologico che una specie può estrinsecare nelle diverse parti del proprio areale (cfr. Obrist, 1995; Guillen *et al.*, 2000; O’Farrell *et al.*, 2000; Yoshino *et al.*, 2006; Shiang-Fan *et al.* 2009; Sun *et al.*, 2013).

L'influenza della posizione geografica è stata riscontrata in modo marcato in Grecia per *M. myotis* dove i valori di tutti i parametri misurati, specialmente quelli legati alla frequenza, si discostano dai risultati ottenuti per la specie in Italia e Spagna.

Il *M. blythii* in Grecia è invece risultato molto simile a quello italiano e cretese a dimostrazione del fatto che le differenze in *M. myotis* non sono dovute al metodo di campionamento.

Il complesso della difficoltà analitica si evidenzia anche nel confronto diretto tra i suoni analizzati nel campione (Tabella 51) e quanto pubblicato su *M. myotis* in un lavoro di riferimento per la Grecia (Tabella 52), a dimostrazione di come l'accuratezza e la specifica manualità di ogni analizzatore è oltremodo importante per ottenere parametri comparabili.

Tabella 51. Statistiche descrittive per i parametri relativi ai sonogrammi di *Myotis myotis* nel gruppo geografico C (Grecia).

Statistiche Descrittive			
<i>Myotis myotis</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>
Low Freq (kHz)	24,2	20,0	30,7
High Freq (kHz)	101,9	93,8	124,6
Max Freq (kHz)	36,0	33,6	40,1

Tabella 52. Risultati da Papadatou *et al.* 2008.

Statistiche Descrittive			
<i>Myotis myotis</i>	<i>Media</i>	<i>Minimo</i>	<i>Massimo</i>
Low Freq (kHz)	24,8	20,0	32,3
High Freq (kHz)	85,0	107,3	46,3
Max Freq (kHz)	39,4	28,9	48,2

Nel caso specifico le differenze si concentrano nel parametro *High Freq* dove la scelta della soglia di contrasto (*threshold*), e quindi la visibilità dell'inizio del segnale, può rendere molto significativa la differente valutazione.

In Grecia *M. myotis* e *M. blythii* hanno mostrato una media della frequenza finale (*Low Freq*) inferiore rispetto ai suoni italiani registrati con le medesime modalità in Russo e Jones (2002) in linea con quanto identificato da Papadatou *et al.* (2008).

Interessante è riuscire a distinguere le tre specie analizzando i sonogrammi. Dai risultati ottenuti è emerso un concreto differenziamento specialmente per quanto riguarda i parametri delle due specie gemelle *M. myotis* e *M. blythii* seppur con alto grado di sovrapposizione. I parametri che hanno mostrato la maggior differenziazione sono *High Frequency*, *Max power*

e *Energy*. Curioso è il poco potere discriminante della *Max Frequency*, parametro maggiormente utilizzato per la distinzione tra altri generi di Chiroteri a sottolineare probabilmente l'alto grado di sovrapposizione ecologica dei *Myotis* (Vaughan *et al.*, 1997).

In linea con quanto presente in letteratura è comunque la *High Frequency* che insieme alla *Low Frequency* si dimostra determinante nella valutazione dei suoni del genere *Myotis* (Jones *et al.* 2000; Barataud, 2012).

Per quanto riguarda il *M. punicus*, sul quale non sono presenti studi effettuati sulle caratteristiche dei segnali ultrasonici, non sembra ci sia una differenza significativa tra Sardegna, e quindi il suo carattere di area "isola", e Algeria, invece di ambito continentale. Le uniche differenze riscontrate sono comunque relative all'*Energy* e al *Max Power* due parametri molto condizionati dal tipo di habitat e dalle condizioni individuali dell'animale oltre che dall'efficienza dell'operatore durante le registrazioni. Tuttavia la *Max Frequency* pare essere mediamente discriminante, ma sia il campione algerino che quello sardo non sono abbastanza grandi per un confronto adeguato.

I valori intermedi di *M. punicus* rispetto alle altre due specie sono in linea con il ruolo ecologico anch'esso intermedio che la specie ricopre, come dimostrato anche dalle analisi ecologiche in Corsica e Algeria (Beuneux, 2004; Bendjedou *et al.*, 2014).

La ricerca ha quindi permesso di valutare il differenziamento tra le specie e creare un approccio che consenta, quando i suoni siano di adeguata qualità, di discernere le specie e ha verificato la mancanza di un cline zoogeografico di variazione per le tre specie, a parte una buona significatività per il *M. myotis* greco. Lo studio ha sottolineato la complessità della situazione filogenetica ed ecologica tra queste specie in ambito mediterraneo evidenziando la necessità e l'opportunità di proseguire in un campo molto promettente.

7.2. Aspetti parassitologici

I 4 *taxa* di pipistrelli presi in considerazione dal punto di vista parassitologico sono, tra le specie presenti in Italia, quelli a maggiore diversità per quanto riguarda la comunità degli ecto parassiti. Li accomuna una vita sociale complessa dove le femmine costituiscono colonie di migliaia di individui a stretto contatto e che, seppure con una fenologia particolare, si riportano ogni anno nei medesimi quartieri. Questi due fattori promuovono ovviamente l'instaurarsi di popolazioni di ecto parassiti stabili e dense, al contrario di quanto avviene per la maggior parte delle specie che abitano altri tipi di rifugi, come ad esempio alberi cavi per i quali lo scambio di *roost*, che si verifica con costanza, è stato attribuito appunto alla necessità di abbassare il carico parassitario (Reckardt e Kerth, 2006 e 2007; Pattersson *et al.*, 2007). In queste specie legate indissolubilmente a specifici ambienti, nonostante gli effetti di diminuzione nella fitness riproduttiva derivante da forti infestazioni (Møller 1993; Bize *et al.*, 2004), dalla maggiore spesa energetica (Giorgi *et al.*, 2001), dalla difficoltà nella crescita dei piccoli (Fitze *et al.*, 2004) e, non ultimo, dall'aumento del rischio sanitario (Durden *et al.*, 2004), l'esigenza di rifugi sicuri con adatto microclima per la riproduzione diviene prioritaria e il carico parassitario incrementa.

Tale requisito, inoltre, può fungere da condizionante ecologico che spinge ad una maggiore diversificazione delle specie parassitarie che si specializzano in termini di scelta di localizzazione sul corpo dell'ospite o negli ambienti frequentati (Estrada-Peña e Serra-Cobo, 1991; Dick e Patterson, 2006 e 2007).

Sebbene per ora l'analisi sia parziale, in quanto non è stato possibile ancora arrivare alla determinazione specifica di alcuni dei *taxa* parassiti, si è comunque verificato come la maggiore diversità della comunità parassitaria sia a carico di *M. schreibersii*, mentre, tra i grandi *Myotis*, il *M. blythii* ha mostrato la comunità con minor numero di *taxa* parassiti. Su *M. myotis* e *M. punicus* è stata registrata la presenza fino a 4 diversi *taxa* su uno stesso esemplare. Per *M. punicus* si tratta di un dato completamente nuovo, in quanto le presenze riscontrate fino ad ora sono state solo occasionali e riportate in modo confuso in letteratura tanto da non poterle riassumere correttamente. Questi risultati sono in linea con quanto ricavabile a livello dell'intero areale delle specie di pipistrelli esaminati come riportato in Tabella 53.

Tabella 53. Numerosità di specie ectoparassitiche accertate per le specie considerate nel loro intero areale distributivo (Lanza, 1999).

Specie	Acarina	Diptera	Heteropetera	Siphonaptera
<i>M. blythii</i>	47	12	1	9
<i>M. myotis</i>	60	12	3	17
<i>M. punicus</i>	No Data	No Data	No Data	No Data
<i>M. schreibersii</i>	72	40	2	10

In merito agli studi effettuati su prevalenza e intensità di parassitizzazione, va affrontato un discorso a parte per *M. schreibersii*. Le diverse colonie hanno mostrato notevoli differenze nella prevalenza e nell'intensità in particolare per quanto concerne i Nycteribiidae. Considerando insieme i *taxa* studiati, le prevalenze per gli acari sono altissime e superano il 70%, tanto da considerare la loro presenza come una costanza su quasi tutti gli esemplari controllati, di ogni età e sesso. Tale situazione è in linea con quanto rilevato per la specie (Křištofik e Danko, 2012; Postawa e Furman, 2014) e per altri rappresentanti del genere (Wood, 2012).

Inoltre anche se la numerosità dei campioni non appare al momento essere sufficiente per un confronto fra le diverse località, si è però potuto rilevare una significativa differenza tra i sessi per la presenza dei *taxa Nycteribia schmidlii* e *Spinturnicidae*. Le femmine appaiono avere un maggior carico parassitario rispetto ai maschi, come spesso già rilevato per altre specie, a seguito dei diversi ormoni maschili e femminili e dell'immunocompetenza rilevata tra i due sessi (Hutson, 1984; Schmidt, 1994; Dietz & Walter, 1995; Christe *et al.*, 2000, Klein, 2000; Zahn e Rupp, 2004).

Tra i grandi *Myotis* risultano elevate differenze tra le diverse colonie osservate in merito al livello di parassiti presenti. Colpisce in particolare la bassa prevalenza e intensità dei campioni toscani di *M. myotis* e *M. blythii*, anche se si deve specificare che si trattava principalmente di maschi, con le conseguenze, se pur al momento deduttive, di un *bias* a favore delle femmine anche in questa specie, come d'altronde già rilevato (cfr. Zahn e Rupp, 2004). Dal punto di vista delle differenze tra le specie è evidente che similari condizioni ecologiche hanno prodotto, per lo meno all'attuale livello sistematico di analisi, similari condizioni delle comunità parassitarie. Comunque sono rilevabili differenze significative tra le 3 specie di grandi *Myotis* a carico di *P. dufourii*, Spinturicidae e Macronissidae. Non è al momento possibile considerare quanto rilevato in confronto ad altre situazioni, in quanto non vi sono termini di paragone utili in letteratura (cfr. Lanza 1999) in aggiunta al fatto che i dati di comunità sono i primi per quanto attiene *M. punicus*.

Durante lo studio delle caratteristiche dei *roost* alpini della coppia *M. myotis* e *M. blythii* è emersa la particolarità infestativa delle *Cimex* spp. Questi Heteroptera hanno un'ecologia particolare. Non si localizzano sull'ospite, ma sono normalmente nascoste negli anfratti dei rifugi e salgono per alimentarsi sull'ospite a riposo. Il loro ciclo, eterometabolo, quindi si svolge essenzialmente nel *roost* e ha una esplosione di generazioni, che si susseguono dall'arrivo degli ospiti durante il periodo riproduttivo per poi rallentare e passare in fase di mera sopravvivenza durante i mesi di fredda latenza invernale (Lanza, 1999; Reinhardt e Siva-Jothy, 2007). Il grado di infestazione è quindi strettamente correlato alla struttura stessa del *roost* e quindi alla possibilità di ospitare queste specie. Inoltre le alte densità che possono raggiungere divengono elemento selettivo per il *roost* da parte dei Chiroterri (Bartonička e Gaisler, 2007; Bartonička 2008). Visto anche la complessa morfologia e sistematica del gruppo si è ulteriormente approfondito lo studio della situazione specifica. Le specie del genere *Cimex*, infatti, sono molto simili fra loro, ma offrono un interessante quadro di differenziamento ecologico con scelte specifiche degli ospiti e sistemi di coevoluzione (Péricart, 1972; Simov *et al.*, 2006). Sebbene entrambe le principali specie di *Cimex* in Europa possano portarsi ad alimentarsi sui Chiroterri, vi sono differenze genetiche tra i differenti gruppi che preferiscono un ospite o l'altro (Balvin *et al.*, 2012).

Fino a poco tempo fa la *Cimex pipistrelli* era conosciuta solo per dati storici, ma recenti indagini ne hanno confermato la presenza quanto meno nell'arco alpino italiano (Scaravelli e Trentini, 2005).

La ricerca ha evidenziato come tra tutte le colonie verificate si siano riscontrate particolarità distributive, come già è riconosciuto dalla letteratura (Roer, 1969; Zahn e Rupp, 2004).

Sono oltre 200 gli esemplari delle due specie di *Myotis* (*M. myotis* e *M. blythii*) che sono state controllate e su nessuno è mai stata trovata una *Cimex* a vario stadio di sviluppo, a dimostrazione che molto probabilmente queste specie rimangono sull'ospite in rare occasioni e solo per poter colonizzare nuovi *roost* (Bartonička 2008, Balvín *et al.*, 2012).

In tutti i *roost* ispezionati nelle varie regioni tra cui Sicilia, Calabria, Toscana, Piemonte, Molise e Emilia Romagna, tutti in ambiente ipogeo, non vi sono stati riscontri della presenza della cimice, mentre in 2 delle colonie dell'Alto Adige la sua presenza è risultata abbondante. Si tratta di sottotetti di chiese (Gargazzone e Vezzano) che in estate raggiungono i 37 °C e sono popolati da alcune migliaia di ospiti da Maggio a Settembre. A Vezzano sono stati contati fino a 35 adulti e ninfe di *Cimex* sp. in circa 10 cm² di solaio (Priori e Scaravelli, 2013) (Figura 106). D'altro canto, come precedentemente indicato, con il passare del tempo non si hanno differenze nella struttura e numerosità del resto della comunità parassitaria a

sottolineare ulteriormente come l'effetto del rifugio sia maggiore dello stato dell'ospite per questo gruppo particolare (Bartonička, 2008; Bartonička e Růžicková, 2012).



Figura 106. Concentrazione di *Cimex pipistrelli* nel roost atesino di Vezzano.

A fronte della complessa risposta ecologica di questo parassita si è indagata la morfologia della specie per individuare le vie evolutive a queste specializzazioni (Priori *et al.*, 2015). Alcuni esemplari adulti di *C. pipistrelli*, sia di sesso maschile che femminile, sono stati preparati per l'osservazione al microscopio elettronico a scansione (S.E.M.).

L'osservazione al S.E.M. ha permesso di evidenziare numerosi caratteri anatomici ed in particolare di riconoscere e misurare i caratteri significativi per il differenziamento tra le specie. In *C. pipistrelli* il pronoto presenta due caratteristiche espansioni laterali notevolmente sviluppate e separate dal capo da un profondo incavo (Figura 107) e il rapporto tra larghezza e lunghezza si attesta significativamente tra 2.0 e 2.5 (Péricart, 1972).

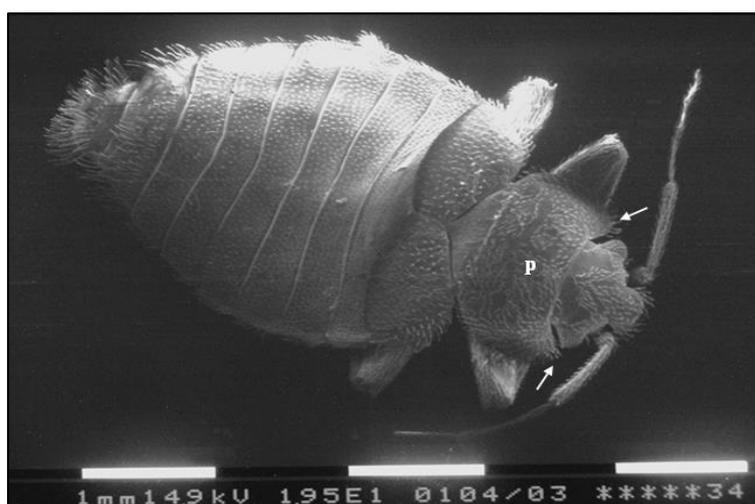


Figura 107., Forma del pronoto (p) in *Cimex pipistrelli*.

Le antenne di *C. pipistrelli* mostrano la classica divisione in quattro segmenti tipica di tutti gli appartenenti al genere *Cimex*. Sulle antenne sono stati osservati cinque tipi di sensilli (S1, S2,

S3, S4, S5 - Figura 109 A, B e C). Quattro di essi sono stati già descritti in altre specie di *Cimex* (Sioli, 1937; Steinbrecht e Müller, 1976; Singh *et al.*, 1996), mentre il tipo S4 è descritto per la prima volta (Figura 109 D).

Data la particolare posizione e morfologia di questo tipo di sensilli è possibile ipotizzare una funzione termo-recettrice (Levinson *et al.*, 1974; Prakash *et al.*, 1996; Olson *et al.*, 2014).

Sulle zampe di *C. pipistrelli*, in corrispondenza dell'articolazione tibio-tarsica (Figura 108 A), sono state descritte particolari strutture a sperone (Figura 108 C) e, in corrispondenza del pretarso, due unghie unciniformi che possono essere interpretate come adattamenti alla vita parassitaria (Figura 108 B). *C. pipistrelli*, infatti, ha un regime dietetico ematofago ma, come tutte le altre specie del genere, non vive sempre sul corpo dell'ospite: si insidia in microambienti in prossimità dell'ospite sul quale sale solo per alimentarsi e su cui si aggrappa grazie appunto alle zampe specializzate. Le strutture a forma di sperone invece facilitano la sua deambulazione quando non è attaccato all'ospite.



Figura 108. Particolari fotografati al microscopio elettronico a scansione (S.E.M.) delle zampe di *Cimex pipistrelli*. A: Tarso; B: Unghie unciniformi; C: Struttura a forma di sperone in prossimità dell'articolazione tibio-tarsica.

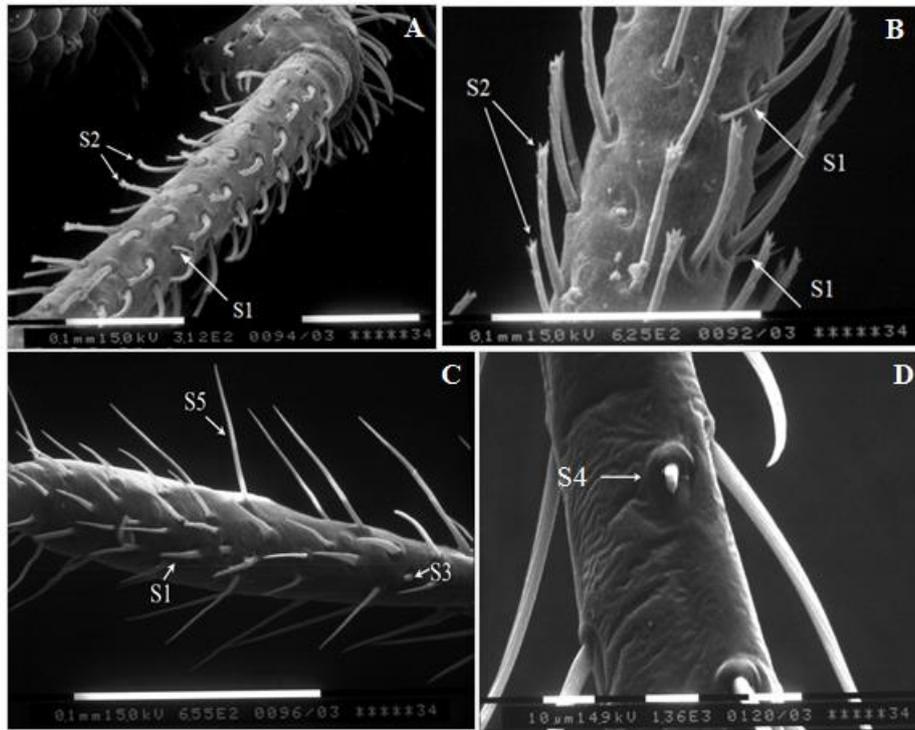


Figura 109. Particolare delle antenne di *Cimex pipistrelli* e forma e posizione delle chete sensoriali.

La forma particolarmente acuminata dell'organo copulatore e la presenza del seno paragenitale nella femmina confermano che *C. pipistrelli*, come *C. lectularius*, attua un'inseminazione traumatica con penetrazione extragenitale e successivo movimento degli spermatozoi direttamente nell'emocele della femmina (Reinhardt e Siva-Jothy, 2007).

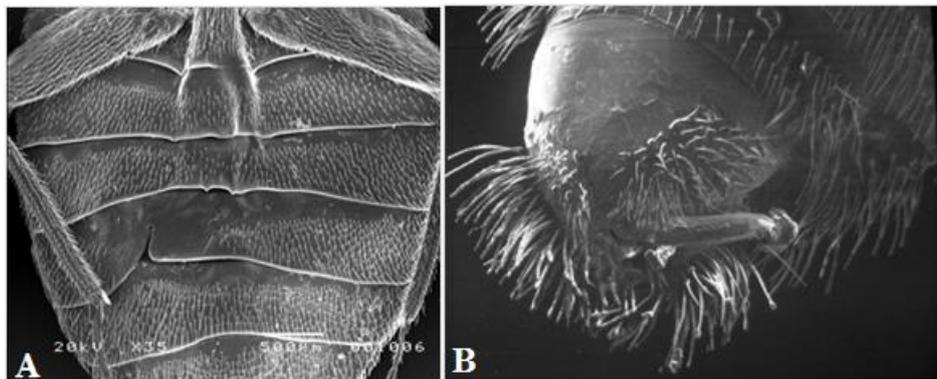


Figura 110. Apparati sessuali nelle *Cimex pipistrelli*. A: Seno paragenitale femminile; B: Organo copulatore maschile.

Tra le specie di ectoparassiti rilevate durante lo studio si sono trovati pochi individui di ixodidi. Il gruppo delle zecche, sia molli che dure, è di particolare interesse anche nell'ambito dei Chiroteri (cfr ad es. Arthur, 1956; Walter e Kock, 1985; Sevcik *et al.*, 2010; Siuda *et al.*, 2009 e in generale Lanza, 1999), soprattutto per l'importante ruolo di vettori che questi artropodi rappresentano per molte malattie batteriche e virali, anche zoonotiche (Estrada-Pena

e Jongejan, 1999; De la Fuente *et al.*, 2008; Socolovschi *et al.*, 2012; Muhldorfer, 2013; Piksa *et al.*, 2013).

In ambito italiano sono 6 le specie di Ixodidi ritrovate su Chiroterri a cui vanno aggiunti 2 Argasidi come riportato in Tabella 54 (Lanza, 1999).

Tabella 54. Zecche (Ixodidae e Argasidae) dei pipistrelli italiani.

Taxa	Specie ospiti
Ixodidae	
<i>Haemaphysalis punctata</i>	<i>R. ferrumequinum</i>
<i>Ixodes simplex</i>	<i>M. schreibersii</i>
<i>Ixodes vespertilionis</i>	<i>R. ferrumequinum</i> , <i>R. hipposideros</i> , <i>P. kuhlii</i> , <i>M. myotis</i>
<i>Ixodes ricinus</i>	<i>R. ferrumequinum</i> , <i>R. euryale</i>
<i>Ixodes hexagonus</i>	<i>R. ferrumequinum</i> , <i>R. hipposideros</i>
<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	<i>R. hipposideros</i>
Argasidae	
<i>Argas (Carios) vespertilionis</i>	<i>R. ferrumequinum</i> , <i>M. bechsteinii</i> , <i>E. serotinus</i> , <i>P. kuhlii</i> , <i>P. pipistrellus</i> ,
<i>Argas (Secretargas) transgaripepinus</i>	<i>R. ferrumequinum</i> , <i>E. serotinus</i> , <i>M. myotis</i> , <i>Pipistrellus</i> sp., <i>H. savii</i>

I risultati conseguiti hanno dato per il momento una presenza di zecche molto contenuta, che ha riguardato solo *M. schreibersii*. Al contempo, tuttavia, osservazioni occasionali nell'area di indagine hanno confermato la presenza di Argasidi su altre specie di Chiroterri a dimostrazione che le metodologie utilizzate sono pienamente funzionali (Scaravelli, 2013).

Solo nella stazione toscana di Montecatini, Val di Cecina, nel tunnel di miniera in cui è presente una colonia di circa 1500 *M. schreibersii*, una ventina di *Myotis blythii*, 200 *Rhinolophus euryale* e pochi *R. hipposideros* e *R. ferrumequinum*, sono state trovate zecche, solo su *M. schreibersii* (Figura 111). 11 adulti e 3 ninfe di *Ixodes simplex* son state trovate su 6 esemplari (2 femmine e 4 maschi). Si tratta tra l'altro del primo ritrovamento della specie per l'Italia continentale (Scaravelli *et al.*, 2014), in quanto precedentemente segnalata solo per una femmina trovata sul terreno in una grotta sassarese. Per il resto la specie è nota per l'Europa meridionale, Turchia, Africa, Asia e Australia proprio con ospite principale *M. schreibersii*, ma trovata anche sulle specie che convivono con esso nelle grotte come *M. myotis*, *M. blythii*, *M. nattereri*, *R. ferrumequinum*, *R. hipposideros*, così come anche, seppur assai di rado, anche su *Nyctalus leisleri* e *N. lasiopterus* (Lanza, 1999).



Figura 111. *Ixodes simplex* su *M. schreibersii*, Montecatini, Val di Cecina.

La presenza di tutti questi ectoparassiti ematofagi nei Chirotteri campionati ha anche contribuito all'apertura di nuovi campi di indagine.

Il ruolo di queste specie, come vettori di parassiti ematici nei Chirotteri, è ormai riconosciuto ma, in molti casi, non è chiaro quali siano i reali meccanismi di infezione e il loro ruolo nella determinazione del grado di parassitizzazione delle varie popolazioni di ospiti.

In tal senso è in corso un'ampia collaborazione con l'equipe del professor Christe dell'Università di Lausanne per lo studio dei parassiti ematici soprattutto in *M. schreibersii*.

A tal riguardo è stato ritrovato il *Polychromophilus melanipherus* come nuova specie per l'Italia, per il quale vi erano solo notazioni vecchie di mezzo secolo (Witsenburg *et al.*, 2014), con nuove informazioni sul complesso modo di interazione con il suo ospite (Witsenburg *et al.*, 2015). Successivamente è stata segnalata, sempre per la prima volta in l'Italia, la presenza anche del protozoo *Trypanosoma cruzi livingstonei* (Clément *et al.*, 2015).

Alla luce di queste scoperte è apparsa da tempo anche la necessità di indagare le presenze di virus nei Chirotteri per il loro elevato significato zoonotico, sia per la presenza di *Lyssavirus* che portano a sindromi rabide e sia per la presenza di molti altri nuovi taxa potenzialmente pericolosi.

I Chirotteri mostrano una particolare affinità con i virus e probabilmente la loro ecologia è tra le più favorevoli allo sviluppo di questi parassiti. La vita in grandi gruppi a stretto contatto, le metapopolazioni e contemporaneamente la possibilità di muoversi su grandi distanze rendono quest'ordine tra i mammiferi più predisposti allo sviluppo di infezioni virali.

Contestualmente la grande numerosità di infezioni riscontrate e la scarsa patogenicità di buona parte di esse fa presupporre una lunga vita evolutiva comune e la creazione di equilibri dinamici di grande interesse per l'ecologia evolutiva (Calisher *et al.*, 2006; Luis *et al.*, 2013).

Tra le oltre 75 specie virali zoonotiche rilevate a carico dei Chirotteri (Van der Poel *et al.*, 2006), ve ne sono alcune potenzialmente importanti come sorgenti zoonotiche. In particolare, oltre agli importanti Lyssavirus responsabili delle sindromi rabide, sono recentemente stati

ritenuti di notevole interesse i vari Coronavirus (CoV) presenti in differenti specie e il loro eventuale ruolo epidemiologico.

I CoV sono causa di infezioni respiratorie ed enteriche nell'uomo e in vari altri animali e sono stati anche all'origine di importanti epidemie nella popolazione umana dove è stato appunto accertato il ruolo di CoV emergenti da un serbatoio animale. Esempi recenti sono la trasmissione zoonotica del CoV della SARS (*Severe Acute Respiratory Syndrome*), che nel 2003 ha causato una grave epidemia a livello mondiale (oltre 8000 casi umani), e l'emergenza nell'aprile 2012 di un nuovo CoV responsabile della MERS (*Middle East Respiratory Syndrome*), grave malattia respiratoria tuttora presente e che ad oggi (dati WHO, *World Health Organization*) ha causato 1493 casi umani di contagio. Anche se altre specie animali, come la Civetta delle palme mascherata (*Paguma larvata*) per il SARS-CoV e il Dromedario (*Camelus dromedarius*) nel caso del MERS-CoV, hanno costituito la principale fonte di contagio per l'uomo, entrambi i virus hanno avuto origine da un serbatoio animale quasi sicuramente rappresentato dai Chiroterri (Zumla *et al.*, 2015).

In tale contesto si è iniziata una ricerca relativa alla presenza di virus, sia *Lyssavirus* che CoV, in varie specie di Chiroterri italiani grazie ad una collaborazione con il laboratorio OIE (*Office International des Epizooties*) in collaborazione con *Centre for Diseases at the Animal-Human Interface* presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie di Legnaro (Padova). Il quadro italiano si è recentemente arricchito del riscontro di CoV sia in Rhinolophidae (Balboni *et al.*, 2011) che in alcune specie di Vespertilionidae (Lelli *et al.*, 2013).

La ricerca ha preso inizio con la raccolta di 56 tamponi anali in 5 siti italiani nel 2012. Sono stati raccolti da *Myotis myotis* (n=47), *Myotis blythii* (n=19) e *Eptesicus serotinus* (n=9).

I tamponi sono stati raggruppati per specie e sito e analizzati per la presenza del CoV RNA per mezzo di una nested RT-PCR. L'RNA è stato estratto mediante Nucleospin RNA II kit (Macherey-Nagel, Germany) e poi analizzato usando il protocollo OneStep-PCR presso il laboratorio di Padova.

Sono stati scoperti due nuovi CoVs appartenenti ai generi Alpha- and BetaCoV (De Benedictis *et al.*, 2014). In *Myotis blythii*, denominato ITA31/384/2012, è stato riscontrato in una colonia mista con *Myotis myotis* presso Gargazzone di Bolzano e in *Eptesicus serotinus*, denominato ITA26/384/2012 (GenBank accession numbers: KF312400 and KF312399) è stato rilevato in una colonia a Saronno (Varese). Entrambe le sequenze dei 2 CoV sono simili a quelle rilevate in Spagna (Falcon *et al.*, 2011) mostrando un'interessante similarità con i corrispettivi *lineages* degli ospiti campionati in quel paese (De Benedictis *et al.*, 2014) (Figura 112). Di interesse ulteriore è il fatto che questi due campioni provengano da colonie

sinantropiche e pongano diversi interrogativi sulle potenzialità zoonotiche del sistema ospite-virus oggi scoperto.

Sugli stessi campioni e su altri ancora sono inoltre state effettuate ricerche sulla presenza di *Lyssavirus* mediante tampone faringeo e prelievo ematico. Per la prima volta quindi si è operata una sorveglianza attiva anche nei confronti di questi virus di notevole pericolosità affiancandola a quella passiva già esistente (Scaravelli *et al.*, 2012)

I risultati preliminari di quanto ottenuto ad oggi mostrano una sieropositività che per la prima volta è stata dimostrata in Italia per colonie dell'Alto Adige e Sicilia (Scaravelli *et al.*, 2012; Leopardi *et al.*, 2015).

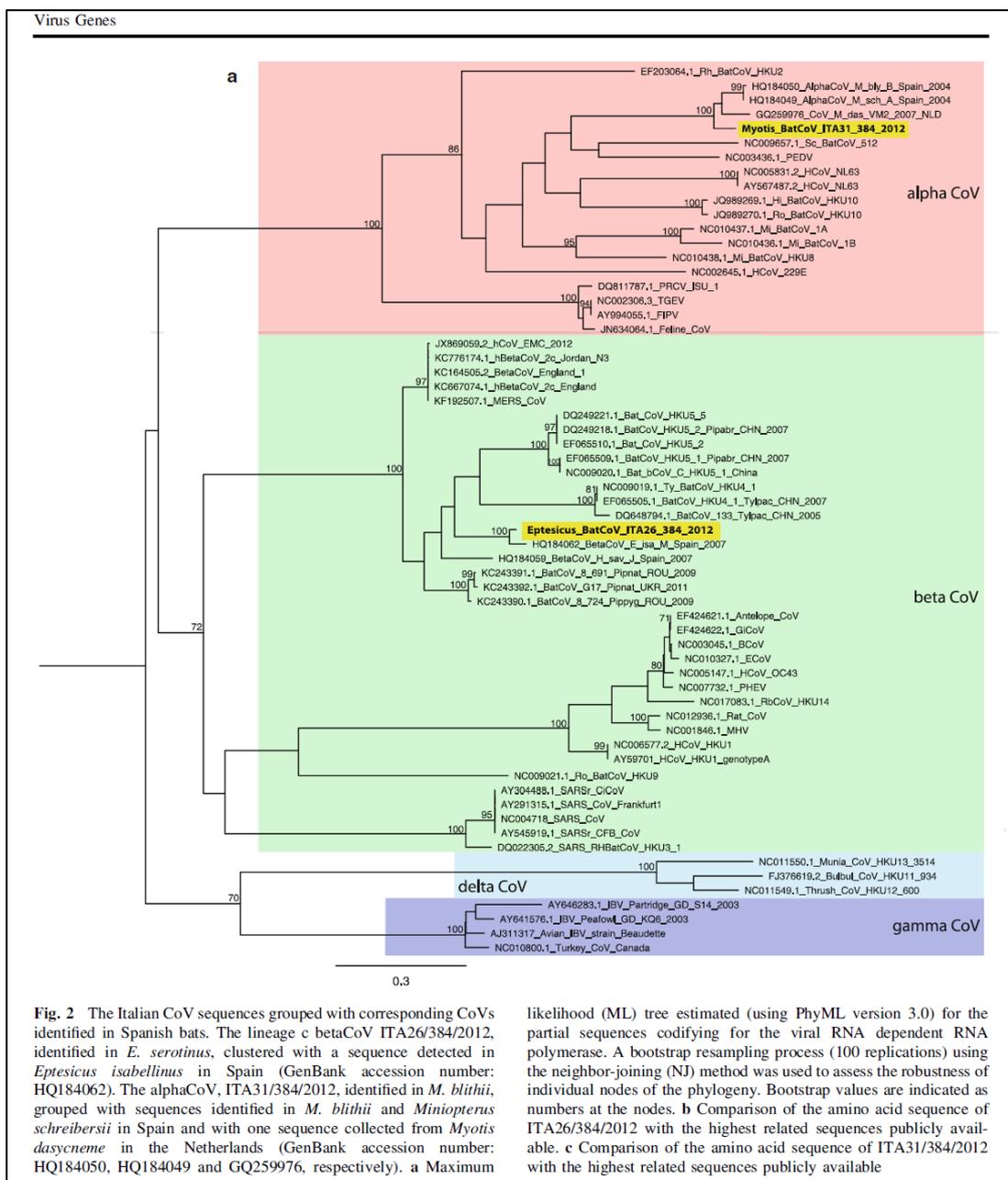


Figura 112. Affinità dei CoV rilevati in Italia (da De Benedictis *et al.*, 2014).

8. RINGRAZIAMENTI

Un sentito ringraziamento alla Dott.ssa Loretta Guidi per il sostegno, l'infinita pazienza, l'aiuto e la sincera amicizia.

Ringrazio i colleghi per la preziosa collaborazione condividendo con me i loro dati per rendere ancora più completo il lavoro: Panagiotis Georgiakakis (Creta), Adrià López-Baucells (Spagna), Eleni Papadatou (Grecia), Amine Bendjeddou (Algeria).

Ringrazio amici e colleghi che hanno partecipato attivamente al lavoro di campo: Giada Giacomini, Mauro Mucedda, Roberto Toffoli, Eva Ladourner, Julia Rosa Ladurner, Christian Drescher, Stefania Leopardi, Elena Santolini, Laura Clément e Eléonore Genzoni.

Ringrazio Stuart Parsons per avermi permesso di trascorrere un periodo di ricerca entusiasmante quanto impegnativo, dedicandomi tempo e supporto sincero.

Ringrazio Gianni Pavan per il suo infinito sapere sulla bioacustica e la sua amicizia.

Ringrazio il mio amico e collega Stefano Gellini per il prezioso aiuto statistico.

A Claudia un particolare ringraziamento per aver reso questi anni speciali con amicizia e sostegno.

Ringrazio i miei genitori Mira e Giorgio per un altro traguardo raggiunto poiché sono sempre al mio fianco.

Ed infine ringrazio Dino senza il cui supporto e la sua sapiente guida questa tesi a lui dedicata, non esisterebbe.

9. BIBLIOGRAFIA

- Allen, V. & Strinati, P., 1970. Chauves-souris cavernicoles de Tunisie. *Mammalia* 34: 228-236.
- Agnelli P., Martinoli A., Patriarca E., Russo D., Scaravelli D., Genovesi P. (Eds), 2004. Linee guida per il monitoraggio dei Chiroterri: indicazioni metodologiche per lo studio e la conservazione dei pipistrelli in Italia. *Quad. Cons. Natura*, 19, Min. Ambiente - Ist. Naz. Fauna Selvatica, Roma, 216 pp.
- Ahlén I. & Baagøe H.J., 1999. Use of ultrasound detectors for bat studies in Europe: experiences from field identification, surveys, and monitoring. *Acta Chiropterol.*, 1: 137-150.
- Ahlén I., 1981. Field identification of bats and survey methods based on sounds. *Myotis*, 18-19: 128-136.
- Aihartza J., Goiti U., Almenar D., Garin I., 2003. Evidences of piscivory by *Myotis capaccinii* (Bonaparte, 1837) in Southern Iberian Peninsula. *Acta Chiropt.*, 5: 193-198.
- Aldridge H.D.J.N. & Rautenbach I.L., 1987. Morphology, echolocation and resource partitioning in insectivorous bats. *J. Anim. Ecol.*, 56: 763-778.
- Altringham J.D., 2011. *Bats: from evolution to conservation*. OUP Oxford, 324 pp.
- Amo L., Lopez P., Martin J., 2005. Prevalence and intensity of haemogregarine blood parasites and their mite vectors in the common wall lizard, *Podarcis muralis*. *Parasitol. Res.*, 96: 378-381.
- Antony E.L.P., 1988. Age determination in bats. In: T.H. Kuntz (Ed.), *Ecological and Behavioral Methods for the Study of Bats*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., p. 47-58
- Arita H. & Fenton M. B., 1997. Flight and echolocation in the ecology and evolution of bats. *T.E.E.*, 12: 53-58.
- Arlettaz R., 1995. Ecology of the sibling mouse-eared bats (*Myotis myotis* and *Myotis blythii*): zoogeography, niche, competition and foraging. PhD Thesis, Univ. Lausanne, Martigny, Horis Publishers.
- Arlettaz R., 1996. Feeding behaviour and foraging strategy of free-living mouse-eared bats (*Myotis myotis* and *Myotis blythii*). *Anim. Behav.*, 51: 1 - 11.
- Arlettaz R., 1999. Habitat selection as a major resource partitioning mechanism between the two sympatric sibling bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. *Anim. Ecol.*, 68: 460-471.
- Arlettaz R., Beck A., Güttinger R., Lutz M., Ruedi M., Zingg P., 1994. Où se situe la limite nord de répartition géographique de *Myotis blythii* (Chiroptera: Vespertilionidae) en Europe centrale?. *Z. Säugetierkd.*, 59 (3): 181-188.
- Arlettaz R., Jones G., Racey P.A., 2001. Effect of acoustic clutter on prey detection by bats. *Nature*, 414: 742-745.
- Arlettaz R., Maddalena T., Ruedi M., 1990. Distinction morphologique et biochimique de deux espèces jumelles de chauves-souris: *Myotis myotis* (Bork.) et *Myotis blythii* (Tomes), (Mammalia; Vespertilionidae). *Mammalia*, 54 (3): 415-429.
- Arlettaz R., Perrin N., Hausser J., 1997. Trophic resource partitioning and competition between the two sibling bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. *J. Ecol.*, 66 (6): 897-911.
- Arlettaz R., Ruedi M., Hausser J., 1991. Field morphological identification of *Myotis myotis* and *Myotis blythii* (Chiroptera, Vespertilionidae): a multivariate approach. *Myotis*, 29, 7-16.
- Arlettaz R., Ruedi M., Ibañez C., Palmeirim J., Hausser J., 1997a. A new perspective on the zoogeography of the sibling mouse-eared bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*: morphological, genetical and ecological evidence. *J. Zool.*, 242: 45-62
- Arroyo-Cabrales J., de Grammont P., 2008. *Antrozous pallidus*. IUCN Red List of Threatened Species. Accessed November 07, 2013 at <http://www.iucnredlist.org/details/1790/0>.

- Arthur D.R., 1956. The *Ixodes* ticks of Chiroptera (Ixodoidea, Ixodidae). J. Parasitol., 7:180-196.
- Audet D., 1990. Foraging behavior and habitat use by a gleaning bat, *Myotis myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae). J. Mammal., 71: 420-427.
- Aulagnier S. & Thevenot, M., 1986. Catalogue des mammifères sauvages du Maroc. Rabat, Institut Scientifique, 163 pp.
- Aulagnier S., Juste J., Karataş A., Palmeirim J., Paunović M., 2008. *Myotis punicus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T44864A10948799. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T44864A10948799.en>.
- Bailey W.J., Slightom, J.L., Goodman, M. 1992. Rejection of the “flying primate” hypothesis by phylogenetic evidence from the ϵ -globin gene. Science, 256: 86-89.
- Balboni A., Palladini A., Bogliani G., Battilani M., 2011. Detection of a virus related to betacoronaviruses in Italian greater horseshoe bats. Epidemiol. Infect., 139: 216-219.
- Balvín O., Munclinger P., Kratochvíl L., Vilímová J., 2012. Mitochondrial DNA and morphology show independent evolutionary histories of bedbug *Cimex lectularius* (Heteroptera: Cimicidae) on bats and humans. Parasitol Res., 111(1):457-69.
- Balvín O., Ševčík M., Jahelková H., Bartonička T., Orlova M., Vilímová J., 2012. Transport of bugs of the genus *Cimex* (Heteroptera: Cimicidae) by bats in western Palearctic. Vespertilio, 16: 43-54, 2012.
- Barataud M., 2012. Ecologie acoustique des chiroptères d'Europe. Identification des espèces, études de leurs habitats et comportements de chasse. Biotope Ed., Mèze, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris: 344 pp.
- Baron B. & Borg J.J., 2011. Evidence of niche expansion in the *Myotis punicus* (Mammalia Chiroptera) of the Maltese Islands. Naturalista siciliano, S. IV, XXXV (3-4): 407-417.
- Baron B. & Vella A., 2010. A preliminary analysis of the population genetics of *Myotis punicus* in the maltese islands. Hystrix, Ital. J. Mamm., 21(1): 65-72.
- Bartonička T. & Gaisler J., 2007. Seasonal dynamics in the number of parasitic bugs (Heteroptera, Cimicidae): a possible cause of roost switching in bats (Chiroptera: Vespertilionidae). Parasitol. Res., 100: 1323-1330.
- Bartonička, T., 2008. *Cimex pipistrelli* (Heteroptera, Cimicidae) and the dispersal propensity of bats: an experimental study. Parasitol. Res., 104 (1): 163-168.
- Bartonička, T., Růžičková, L., 2012. Bat bugs (*Cimex pipistrelli*) and their impact on non-dwelling bats. Parasitol. Res., 111 (3): 1233-1238.
- Beaucornu J.C., 1967. Contribution à la connaissance de la biologie d'*Ixodes (Eschatocephalus) vespertilionis* Koch, 1844 et d'*Ixodes (Pomerantzerella) simplex* Neumann, 1906 (Acarina, Ixododidea) parasites des Chiroptères. Ann. Spéleol., 22:543-580.
- Benda P. & Horáček I., 1995. Biometrics of *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. Myotis, 32-33: 45-55.
- Bendjeddou M.L., Berkane E., Abiadh A., Scaravelli D., Bouslama Z., 2014. Roost characteristics of Maghrebian mouse-eared bats *Myotis punicus* (Chiroptera, Vespertilionidae) in Northeastern Algeria. Hystrix, Ital. J. Mamm., 25 (suppl.): 25.
- Bennett M., 2006. Bats and human emerging diseases. Epidemiol. Infect., 134(5): 905-907.
- Berkova H., Pokorny M.; Zukal J., 2014. Selection of buildings as maternity roosts by greater mouse-eared bats (*Myotis myotis*). J. Mamm., 95, 5: 1011-1017.
- Berthier P., Excoffier L., M. Ruedi, 2006. Recurrent replacement of mtDNA and cryptic hybridization between two sibling bat species *Myotis myotis* and *Myotis blythii*. Proc. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci., 273: 3101-3109.

- Beuneux G., 2004. Morphometrics and ecology of *Myotis cf. punicus* (Chiroptera, Vespertilionidae) in Corsica. *Mammalia*, 68 (4): 269-273.
- Biollaz F., Bruyndonckx, N., Beuneux, G., Mucedda, M., Goudet, J., Christe, P., 2010. Genetic isolation of insular populations of the Maghrebian bat, *Myotis punicus*, in the Mediterranean Basin. *J. Biogeogr.*, 37 (8): 1557-1569.
- Bize P., Roulin A., Tella J.L., Bersier J.F., Richner H., 2004. Additive effects of ectoparasites over reproductive attempts in the longlived alpine swift. *J. Anim. Ecol.*, 73:1080-1088.
- Bogan M.A., Setzer, H.W., Findley, J.S., Wilson, D.E. (1978). Phenetics of *Myotis blythii* in Morocco. In Olembo R.J., J.B. Castelino, F.A. Mutere (edts), *Proceedings of the Fourth International Bat Research Conference, Nairobi*, p. 217-230.
- Bogdanowicz W., Hulva P., Černá Bolfíková B., Buš M.M., Rychlicka E., Sztencel-Jabłonka A., Cistrone A., Russo D., 2015. Cryptic diversity of Italian bats and the role of the Apennine refugium in the phylogeography of the Western Palaearctic. *Zool. J. Linn. Soc. Lond.*, 174 (3): 635–648.
- Borg J.J., 1998. The Lesser Mouse-eared Bat *Myotis blythii punicus* Felten, 1977 in Malta. Notes on status, morphometrics, movements, and diet (Chiroptera, Vespertilionidae). *Naturalista Siciliano*, 22 (3-4): 365-374.
- Calisher C.H., Childs J. E., Field H. E., Holmes K.V., Schountz T., 2006. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin. Microbiol Rev.*, 19(3): 531-545.
- Castella V., Ruedi M., Excoffier L., Ibanez C., Arlettaz R., Hausser J., 2000. Is the Gibraltar Strait a barrier to gene flow for the bat *Myotis myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae)? *Mol. Ecol.*, 9: 1761-1772.
- Christe P., Arlettaz R., Vogel P., 2000. Variation in intensity of a parasitic mite (*Spinturnix myoti*) in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host (*Myotis myotis*). *Ecol. Lett.*, 3 (3): 207-212.
- Christe P., Giorgi M.S., Vogel P., Arlettaz R., 2003. Differential species-specific ectoparasitic mite intensities in two intimately coexisting sibling bat species: resource-mediated host attractiveness or parasite specialization? *J. Anim. Ecol.*, 72: 866–872
- Christe P., Glaziot O., Evanno G., Bruyndonckx N., Devevey G., Yannic G., Patthey P., Maeder A., Vogel P., Arlettaz R., 2007. Host sex and ectoparasite choice: preference for, and higher survival on female hosts. *J. Anim. Ecol.*, 76: 703-710.
- Christe P., Opplige A., Richner H., 1994. Ectoparasite affects choice and use of roost sites in the Great Tit, *Parus major*. *Anim. Behav.*, 47(4): 895-898.
- Clayton D.H. & Moore J., 1997. *Host - parasite evolution*. Oxford University Press, Oxford, 473 pp.
- Clément L., Scaravelli D., Priori P., Christe P., 2015. *Trypanosoma cruzi livingstoneii* in *Miniopterus schreibersii* new for Italy. *Abstr. III Conv. Ital. Chiroterri, Trento*, 9-11/10/2015: 40.
- Combes C., 1995. *Interactions durables: ecologie et évolution du parasitisme*. Masson, Paris. 524 pp.
- Combes C., 1997. Fitness of parasites - pathology and selection [Review]. *Int. J. Parasitol.*, 27:1-10.
- Combes C., 1991. Evolution of parasite life cycles. In: Toft C.A., Aeschlimann A., Bolis L. (Eds) *Parasite-host associations. Coexistence or conflict?* Oxford University Press, London, p. 62-82.

- Corbet G.B., 1978. The mammals of the Palaearctic Region: a taxonomic review. Cornell Univ. Press, London, 314 pp.
- Cringoli G. (ed.), 2005. Zecche. Mappa Parasitologica 6: 263 pp.
- De Benedictis P., Marciano S., Scaravelli D., Priori P., Zecchin B., Capua I., Monne I., Cattoli G., 2014. Alpha and lineage C betaCoV infections in Italian bats. *Virus Genes*, 48: 366-371.
- De la Fuente J., Estrada-Pena A., Venzal J.M., Kocan K.M., Sonenshine D.E., 2008. Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Front. Biosci.*, 1: 6938-6946.
- Dick C.W. & D. Gettinger, 2005. A faunal survey of streblid bat flies (Diptera: Streblidae) associated with bats in Paraguay. *J. Parasitol.*, 91: 1015-1024.
- Dick C.W. & Patterson B.D., 2007. Against all odds: explaining high host specificity in dispersal-prone parasites. *Int. J. Parasitol.*, 37: 871-876.
- Dick C.W., Patterson B.D., 2006. Bat flies - obligate ectoparasites of bats. In: Morand S., Krasnov B., and Poulin R. (Eds), *Micromammals and macroparasites: from evolutionary ecology to management*. Springer-Verlag, Tokyo, p. 179-194.
- Dietz C., Von Helvesen O., 2004. Illustrated identification key to the bats of Europe. Version 1.0. Tuebingen & Erlangen. Accessed 2012 Feb 16.
- Dietz C., von Helvesen O., Nill D., 2007. *Die Fledermäuse Europas und Nordwestafrikas*. Kosmos Verlag, Stuttgart, 399 pp.
- Dietz M. & Walter G., 1995. Zur Ektoparasitenfauna der Wasserfledermaus (*Myotis daubentonii* Kuhl, 1819) in Deutschland unter besonderen Berücksichtigung der saisonalen Belastung mit der Flughautmilbe *Spinturnix andegavinus* Deunff, 1977. *Nyctalus*, 5: 451-468.
- Dittmar K., Dick C.W., Patterson B.D., Whiting M.F., Gruwell M.E., 2009. Pupal deposition and ecology of bat flies (Diptera: Streblidae): *Trichobius* sp. (*caecus* group) in a Mexican cave habitat. *J. Parasitol.*, 95(2): 308-14.
- Dobson A.P., 2005 What links bats to emerging infectious diseases? *Science*, 310: 628-629. doi:10.1126/science.1120872.
- Dobson G.E., 1875. Conspectus of the suborders, families and genera of Chiroptera arranged according to their natural affinities. *Ann. Mag. Nat. His.*, Series 4, 16: 345-357.
- Dondini G., Vergari S., 2000. Carnivory in the greater noctule bat (*Nyctalus lasiopterus*) in Italy. *J. Zool.*, 251: 233-236.
- Durden L.A., Polur R.N., Nims T., Banks C.W., Oliver J.H., 2004. Ectoparasites and other epifaunistic arthropods of sympatric cotton mice and golden mice: comparisons and implications for vector-borne zoonotic diseases. *J. Parasitol.*, 90(6): 1293-1297
- Ellerman, J. R., & Morrison-Scott, T.C.S., 1966. Checklist of Palaearctic and Indian Mammals, 1758-1946. Alden Press, Oxford, 810 pp.
- Estrada-Peña A. & Serra-Cobo J., 1991. The Acarina and Nycteribidia zones of *Miniopterus schreibersii* Kuhl (Mammalia: Chiroptera) in the northeast of Spain. *Folia Parasit.* 38: 345-354.
- Estrada-Peña A., Balcells E., Serra-Cobo J., 1991b. Los artrópodos ectoparásitos de murciélagos en España. In: Benzal, J., De Paz, O. (Eds.), *Los murciélagos de España y Portugal*. Colección técnica. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Instituto Nacional para la Conservación de la Naturaleza, Madrid, p. 253-279.

- Estrada-Pena A., Jongejan F., 1999. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Exp. Appl. Acarol.*, 23: 685-715.
- Evin A., Baylac M., Ruedi M., Mucedda, M., Pons, J.M., 2008. Taxonomy, skull diversity and evolution in a species complex of *Myotis* (Chiroptera: Vespertilionidae): a geometric morphometric appraisal. *Biol. J. Linn. Soc.*, 95: 529- 538.
- Falcon A., Vazquez-Moron S., Casas I., Aznar C., Ruiz G., Pozo F., Perez-Brena P., Juste J., Ibanez C., Garin I., Aihartza J., Echevarria J.E., 2011. Detection of alpha and betacoronaviruses in multiple Iberian bat species. *Arch. Virol.*, 156: 1883-1890.
- Feldhamer G. A., Drickamer L. C., Vessey S. H., Merritt J. F., Krajewski C., 2007. *Mammalogy: Adaptation, diversity, ecology*. Johns Hopkins Univ., 643 pp.
- Felten H., Spitzenberger, F., Storch, G., 1977. Zur Kleinsäugerfauna West-Anatoliens. Teil IIIa. *Senckenb. Biol.*, 58: 1-44.
- Fenton M.B. & Bell G.P., 1981. Recognition of species of insectivorous bats by their echolocation calls. *J. Mammal.* 62: 233-243.
- Fenton M.B. & Simmons N.B., 2014: *Bats. A World of Science and Mystery*. University of Chicago Press, Chicago, 240 pp.
- Fenton M.B., 1990. Recognition of species of insectivorous bats by their echolocation calls. *Can. J. Zool.*, 68 (3): 411-422.
- Fenton, M.B. & Bogdanowicz W., 2002. Relationships between external morphology and foraging behaviour: bats in the genus *Myotis*. *Can. J. Zool.*, 80:1004-1013.
- Fenton, M.B., 1995. Natural history and biosonar signals. In: Popper A.N. and Fay R.R. (Eds), *Hearing by bats*. Springer-Verlag, New York, p. 37-86.
- Findley J. S., 1971. Phenetic relationships among bats of the genus *Myotis*. *Syst. Zool.*, 21: 31-52.
- Fitze P. S., Clobert J., H. Richner, 2004. Long-term life-history consequences of ectoparasite-modulated growth and development. *Ecology*, 85 (7): 2018-2026.
- Folstad I. & Karter A.J., 1992. Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *Am. Nat.*, 139: 603–622.
- Fredensborg B.L. & Poulin R., 2006. Parasitism shaping host life-history evolution: adaptive responses in a marine gastropod to infection by trematodes. *J. Anim. Ecol.*, 75: 44–53.
- Frick H., Felten H., 1952. Okologische Beobachtungen and sardischen Fledermausen. *Zool. Jb. Syst. Okol. Geogr. Tiere.*, 81: 175-189.
- Fullard J. H., 1997. Sensory coevolution of moths and bats. In: Hoy R.R., Popper A.N., Fay R.R. (Eds) *Comparative hearing: insects*. Springer, Berlin Heidelberg New York, p. 279-326.
- Furman A. & Özgülb A., 2004. The distribution of cave-dwelling bats and conservation status of underground habitats in Northwestern Turkey. *Biol. Conserv.*, 120: 243-248.
- Gaisler J., 1983. Nouvelles données sur les Chiroptères du nord algérien. *Mammalia* 47: 359-369.
- Galambos R. & Griffin D., 1942. Obstacle avoidance by flying bats: The cries of bats. *J. Exp. Zool.*, 89 (3): 475-490.
- Galambos, R., 1945. The production and reception of supersonic sounds by flying bats. Harvard University Summaries of Theses, 1941, Cambridge, Published by the University, 1945: 42-44.
- Georgiakakis P., Kaidatzi S., Benda P., 2012. Morphometrics of *Myotis blythii* from Crete: A taxonomic transition or an island effect? *Vespertilio*, 16: 139-147.

- Giorgi M.S., Arlettaz R., Christe P., Vogel P., 2001. The energetic grooming costs imposed by a parasitic mite (*Spinturnix myoti*) upon its bat host (*Myotis myotis*). Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci., 268: 2071–2075.
- Griffin D.R. & Thompson D., 1982. Echolocation by cave swiftlets. Behav. Ecol. Sociobiol., 10: 119-123.
- Griffin D.R., 1958. Listening in the dark. Yale Univ. Press, New Haven, 413 pp.
- Griffin D.R., Webster F.A., C.R. Michael, 1960. The echolocation of flying insects by bats. Anim. Behav., 8, 3-4: 141-154.
- Grinnell A.D., 1995. Hearing in bats: an overview. In: Popper A.N. and Fay R.R. (Eds), Hearing by Bats., Springer-Verlag, New York, p. 1-36. Grossman, C.J., 1985. Interactions between gonadal steroids and the immune system. Science, 227: 257–261.
- Guillen A., Juste B., Ibanez C., 2000. Variation in the frequency of the echolocation calls of *Hipposideros ruber* in the Gulf of Guinea: an exploration of the adaptive meaning of the constant frequency value in rhinolophoid CF bats. J. Evol. Biol., 13: 70-80.
- Gunnell G.F. & Simmons N.B. (Eds.), 2012. Evolutionary history of bats: fossils, molecules and morphology. Cambridge Univ. Press, Cambridge, United Kingdom, 572 pp.
- Güttinger R., Zahn A., Krapp F., Schober W. 2001. *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797) - Großes Mausohr, Großmausohr. In: F. Krapp (Ed.), Handbuch der Säugetiere Europas. Bd. 4: Fledertiere. Teil I: Chiroptera I. Rhinolophidae, Vespertilionidae 1, Aula-Verlag, Wiebelsheim, Germany, p. 123-207.
- Haitlinger R., 1979. Pasożyty zewnętrzne nietoperzy Dolnego Śląska. VI. Acarina, Siphonaptera, Diptera (Nycteribiidae). Wiad. Parazytol., 25: 119-140.
- Hanák V. & Elgadi A., 1984. On the bat fauna (Chiroptera) of Libya. Věs. Česk. Spol. Zool., 48: 165-187.
- Hill J.E. & Smith J.D., 1992. Bats: A natural history. Univ. Texas Press, Austin, 243 pp.
- Hiryu S., Hagino T., Riquimaroux H., Watanabe Y., 2006. Echo-intensity compensation in echolocating bats (*Pipistrellus abramus*) during flight measured by a telemetry microphone. J. Acoust. Soc. Am., 121 (3): 1749-1757.
- Holderied M.W. & von Helversen O., 2003. Echolocation range and wingbeat period match in aerial-hawking bats. Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci., 270: 2293-2299.
- Holderied M.W., von Helversen O., 2003. Echolocation range and wing beat period match in aerial-hawking bats. P. Roy. Soc. Lond. B. Biol., 270 (1530): 2293-2299.
- Horáček I. & Gaisler J., 1986. The mating system of *Myotis blythii*. Myotis, 23-24: 125-130.
- Hulva P., Horáček I., Strelkov P.P., Bendac P., 2004. Molecular architecture of *Pipistrellus pipistrellus*/*Pipistrellus pygmaeus* complex (Chiroptera: Vespertilionidae): further cryptic species and Mediterranean origin of the divergence. Mol. Phylogenet. Evol., 32: 1023-1035.
- Húrka K. & Soós Á., 1986. Family Nycteribiidae. In: Soós Á. e Papp L. (Eds.): Catalogue of Palearctic Diptera. Akadémiai Kiadó, Budapest, Vol. 11, p. 226-234..
- Húrka K., 1962. Beitrag zur Nycteribien- und Streblidenfauna Albaniens nebst Bemerkungen zur Fauna von Bulgarien, Ungarn und UdSSR. Čas. Česk. Spol. Entomol., 59 (2): 156-164.
- Húrka K., 1964. Distribution, bionomy and ecology of the European bat flies with special regard to the Czechoslovak fauna (Diptera, Nycteribidae). Acta Univ. Carol. Biol., 1964 (3): 167-234.
- Húrka K., 1984. New taxa and new records of Palearctic Nycteribiidae and Streblidae (Diptera, Pupipara). Věst. Česk. Spol. Zool., 48: 90-101.
- Hurlbert S.H., 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. Ecol. Monogr., 54: 187–211.

- Hutson A. M., Mickleburgh S. P., Racey P. A. (comp.), 2001. Microchiropteran bats: Global Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Chiroptera Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 258 pp.
- Hutson A. M., Spitzenberger F., Aulagnier S., Juste J., Karataş A., Palmeirim J., Paunović M., 2008. *Myotis blythii*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3.
- Hutson A.M., 1984. Keds, flat flies and bat flies, Diptera, Hippoboscidae and Nycteribiidae. Handbook for the identification of British insects. R. Entomol. Soc., London, Vol. 10 (7), 40 pp.
- Hutterer R., Ivanova T., Meyer-Cord Ch., Rodrigues L., 2005. Bat migrations in Europe - A review of banding data and literature. Federal Agency for Nature, Natur. Biol. Vielfalt, Bonn, 28: 162 pp.
- Ibáñez C., García-Mudarra J.L., Ruedi M., Stadelmann B., Juste J., 2006. The Iberian contribution to cryptic diversity in European bats. *Acta Chiropt.*, 8: 277-297.
- Ibáñez C., Juste J., Garcia-Mudarra J. L., Agirre-Mendi P. T., 2001. Bat predation on nocturnally migrating birds. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 98: 9700-9702.
- Issel B., Issel W., 1960. Beringungsergebnisse an der Grossen Hufeisennase (*Rhinolophus ferrumequinum*) in Bayern. *Bonn. zool. Beitr.*, 11: 124-142.
- Jaenike J., 1990. Host specialization in phytophagous insects. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 21: 243–273.
- Johnson K.P., Williams B.L., Drown D.M., Adams R.J., Clayton D.H., 2002. The population genetics of host specificity: genetic differentiation in dove lice (Insecta: Phthiraptera). *Mol. Ecol.*, 11: 25 -38.
- Joleaud L., 1926. Les Mammifères. In Fage L., P. Lechevalier (edts), *Histoire du peuplement de la Corse*. *Bull. Soc. Hist. nat. Corse*, 45: 35- 107.
- Jones G. & Holderied M.W., 2007. "Bat echolocation calls: Adaptation and convergent evolution". *Proc. R. Soc. Biol. Lond.B, Biol. Sci.*, 274 (1612): 905-912.
- Jones G. & Holderied M.W., 2007. Bat echolocation calls: adaptation and convergent evolution. *Proc. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.*, 274: 905-912.
- Jones G. & Teeling E.C., 2006. The evolution of echolocation in bats. *Trends Ecol. Evol.*, 21: 149-156.
- Jones G., Vaughan N., Parsons S., 2000. Acoustic identification of bats from directly sampled and time expanded recordings of vocalizations. *Acta Chiropterol.*, 2: 155-170.
- Kahamann H. & Brotzler A., 1955. Das Bild der Fledermauslebewelt auf der Insel Korsika. *Säugetierkundliche Mitteilungen*, 3: 53-66.
- Kahamann H. & Goerner P., 1956. Les Chiroptères de Corse. *Mammalia*, 20: 333-389.
- Kalko E.K.V. & Schnitzler H.-U., 1993. Plasticity in echolocation signals of European pipistrelle bats in search flight - Implications for habitat use and prey detection. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 33: 415-428.
- Kalko E.K.V., 1995. Insect pursuit, prey capture and echolocation in pipistrelle bats (Microchiroptera). *Anim. Behav.*, 50, 861-880.
- Kawecki T.J., 1998. Red queen meets Santa Rosalia - arms races and the evolution of host specialization in organisms with parasitic lifestyles. *Am. Nat.*, 152: 635–651.
- Kerth G., Kiefer A., Trappmann C., Weishaar M., 2003. High gene diversity at swarming sites suggest hot spots for gene flow in the endangered Bechstein's bat. *Conserv. Genet.*, 4: 491-499.

- Kirsch J.A., Hutcheon J.M., Byrnes D.C., Llyod B.D., 1998. Affinities and historical zoogeography of the New Zealand Short-tailed bat, *Mystacina tuberculata* Gray, 1843, inferred from DNA-hybridization comparisons. *J. Mammal. Evol.*, 5(1): 33-64.
- Klein S.L., 2000. Hormones and mating system affect sex and species differences in immune function among vertebrates. *Behav. Process.*, 51: 149-166.
- Koopman K.F., 1993. Order Chiroptera, p. 137-241. In: Wilson D.E. & Reeder D.M. (Eds.), *Mammals species of the World, a taxonomic and geographic reference*. Washington, D.C., Smithsonian Inst. Press, 1206 pp.
- Koteja P., Jurczyszyn M., Woloszyn B.W., 2001. Energy balance of hibernating mouse-eared bat *Myotis myotis*: a study with a TOBEC instrument. *Acta Theriol.*, 46: 1-6.
- Kowalski K., Rzebik-Kowalska B., 1991. *Mammals of Algeria*: Pol. Acad. Sci., Wroclaw, 370 pp.
- Krasnov B.R., Morand S., Hawlena H., Khokhlova I.S., Shenbrot G.I., 2005. Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia*, 146: 209–217.
- Krištofik J. & Danko S., 2012. Arthropod ectoparasites (Acarina, Heteroptera, Diptera, Siphonaptera) of bats in Slovakia. *Vespertilio*, 16: 167-189.
- Kristofik J., Danko S., 2012. Arthropod ectoparasites (Acarina, Heteroptera, Diptera, Siphonaptera) of bats in Slovakia. *Vespertilio*, 16: 167–98.
- Kunz T.H., 1976. Observations on the winter ecology of the bat fly *Trichobius corynorhini*. *J. Med. Entomol.*, 12: 631-636.
- Kunz T.H. & Hood W.R., 2000. Parental care and postnatal growth in the Chiroptera. In: Crichton E.G. (Ed.), *Reproductive biology of bats*. Acad. Press, S.Diego, p. 415-468.
- Kunz T.H. & Lumsden L. F., 2003. Ecology of cavity and foliage roosting bats. In: Kunz T.H., Fenton M.B. (Eds.), *Bat Ecology*. Univ. Chicago Press, Chicago, p. 3-89.
- Kunz T.H., Parsons S., 2009. *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. 2nd ed. J. Hopkins Univ. Press, Baltimore, 901 pp.
- Kunz T.H. & Pierson E.D., 1994. Bats of the world: an introduction. In: Nowak R. M., Walker's bats of the world. J. Hopkins Univ. Press, Baltimore, p. 1-46
- Kurta A. & Kunz T.H., 1987. Size of bats at birth and maternal investment during pregnancy. *Symp. Zool. Soc. London*, 57: 79-106.
- Kurta A. & Kunz T.H., 1988. Roosting metabolic rate and body temperature of male little brown bats (*Myotis lucifugus*) in summer. *J. Mammal.*, 69, 645–651.
- Kurta A., Bell G., Nagy K., Kunz T., 1989. Energetics of pregnancy and lactation in free-ranging little brown bats (*Myotis lucifugus*). *Physiol. Zool.*, 62: 804-818.
- Kurta A., Johnson K.A., Kunz T.H., 1987. Oxygen consumption and body temperature of female little brown bats (*Myotis lucifugus*) under simulated roost conditions. *Physiol. Zool.*, 60: 386-397.
- Kusch J., Weber C., Idelberger S., Koob T., 2004. Foraging habitat preferences of bats in relation to food supply and spatial vegetation structures in a western European low mountain range forest. *Folia Zool.*, 53: 113-128.
- Lanza B., 1999. I parassiti dei pipistrelli (Mammalia, Chiroptera) della fauna italiana. *Monogr. Mus. Reg. Sci. Nat.*, Torino, 30, 318 pp.
- Lanza B., 2012. Chiroptera, Fauna d'Italia, Mammalia III. Edizioni Calderini, Milano, 786 pp.
- Lanza B. & Agnelli P., 1999. Chiroptera Blumenbach, 1799. In: Spagnesi M. & Toso S. (Eds). *Iconografia dei mammiferi d'Italia*; Istituto Nazionale per la Fauna Selvatica

- “Alessandro Ghigi”, Ozzano Emilia (Bologna) e Roma, Ministero dell’Ambiente, Servizio Conservazione Natura, Roma, p.27-96.
- Lelli D., Papetti A., Sabelli C., Rosti E., Moreno A., Boniotti M.B., 2013. Detection of Coronaviruses in Bats of Various Species in Italy. *Viruses*, 5, 2679-2689.
- Leopardi S., Priori P., Scaravelli D., Zecchin B., Cattoli G., De Benedictis P., 2015. Bat lyssaviruses circulation in European bats: is there an actual conflict between species conservation and public health? Abs.. III Conv. Ital. Chiroterri, Trento 9-11/10/2015: 7.
- Lesiński G., 1986. Ecology of bats hibernating underground in Central Poland. *Acta Theriol.*, 31 (37): 507-521.
- Levinson H. Z., Levinson A.R., Müller B., Steinbrecht R.A., 1974. Structure of sensilla, olfactory perception, and behaviour of the bedbug, *Cimex lectularius*, in response to its alarm pheromone. *J. Insect Physiol.*, 20 (7), 1231-1248.
- Linhares A.X. & Komeno C.A., 2000. *Trichobius joblingi*, *Aspidoptera falcata*, and *Megistopoda proxima* (Diptera: Streblidae) parasitic on *Carollia perspicillata* and *Sturnira lilium* (Chiroptera: Phyllostomidae) in Southeastern Brazil: sex ratios, seasonality, host site preference, and effect of parasitism on the host. *J. Parasitol.*, 86: 167-170.
- Lourenço S. & Palmeirim J.M., 2008. Which factors regulate the reproduction of ectoparasites of temperate-zone cave-dwelling bats? *Parasitol. Res.*, 104: 127–134.
- Lourenço S.I., Palmeirim J.M., 2008a. How do ectoparasitic nycteribiids locate their bat hosts? *Parasitology*, 135 (10): 1205-1213.
- Lucan R.K., 2006. Relationships between the parasitic mite *Spinturnix andegavinus* (Acari: Spinturnicidae) and its bat host, *Myotis daubentonii* (Chiroptera: Vespertilionidae): seasonal, sex- and age-related variation in infestation and possible impact of the parasite on the host condition and roosting behaviour. *Folia Parasitol.*, 53: 147-152.
- Luis A.D., Hayman D.T., O’Shea T.J., Cryan P.M., Gilbert A.T., Pulliam J.R., Mills J.N., Timonin M.E., Willis C.K., Cunningham A. A., Fooks A. R., Rupprecht C. E., Wood J.L., Webb C.T., 2013. A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: are bats special? *Proc. R. Soc. Lond. B, Biol. Sci.*, 280(1756): 2012-2753.
- Lundy M., Teeling E., Boston E., Scott D., Buckley D., Prodohu P., Marnel F., Montgomery I., 2011. The shape of sound: elliptic Fourier descriptors (EFD) discriminate the echolocation calls of *Myotis* bats (*M. daubentonii*, *M. nattereri* and *M. mystacinus*). *Bioacoustics* 20: 101-116.
- Manilla G., 1988. Acari Ixodida. Fauna d'Italia XXXVI. Calderini, Bologna, 280 pp.
- Marshall A.G., 1981. The ecology of ectoparasitic Insects. Acad. Press, London, 459 pp.
- Marshall A.G., 1982. Ecology of insects ectoparasitic on bats. In: Kunz T.H. (Ed.), *Ecology of Bats*. Plenum, New York, p. 369–401.
- Maywald A., Pott B., 1988. Fledermäuse: Leben, Gefährdung, Schutz. Buchverlag Ott Maier GmbH., Ravensburger, 128 pp.
- McArdle J.J., 1994. Structural factor analysis experiments with incomplete data. *Multivar. Behav. Res.*, 29: 409–454.
- McCoy K.D., Bouludier T., Tirard C., Michalakis Y., 2001. Host specificity of a generalist parasite: genetic evidence of sympatric host races in the seabird tick *Ixodes uriae*. *J. Evol. Biol.*, 14:395–405.
- McCurdy D.G., Shutler D., Mullie A., Forbes M.R., 1998. Sex-biased parasitism of avian hosts: relations to blood parasite taxon and mating system. *Oikos*, 82: 303–312.

- Medellin R.A., 2000. Bat diversity and abundance as indicators of disturbance in neotropical rain forests. *Conserv. Biol.*, 14(6): 1666-1675.
- Meeûs T. de, Michalakis Y., Renaud F., 1998. Santa Rosalia revisited: Or why are there so many kinds of parasites in ‘the garden of earthly delights’? *Parasitol. Today*, 14: 10–13.
- Miller B., Medina A., 2008. *Bauerus dubiaquercus* (On-line). IUCN Red List of Threatened Species, 2008: e.T1789A7635960. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T1789A7635960.en>.
- Miller G.S., 1966. Catalogue of the mammals of Western Europe in the collection of the British Museum. (2nd edn.). British Museum (Natural History), London, 1019 pp.
- Møller A.P., 1993. Ectoparasites increase the cost of reproduction in their hosts. *J. Anim. Ecol.* 62: 309-322.
- Moore S.L. & Wilson K., 2002. Parasites as a viability cost of sexual selection in natural populations of mammals. *Science*, 297: 2015–2018.
- Mooring M.S. & Hart B.L., 1995. Differential grooming rate and tick load of territorial male and female impala, *Aepyceros melampus*. *Behav. Ecol.*, 6: 94-101.
- Mooring M.S., Patton M.L., Reisig D.D., Osborne E.R., Kanallakan, A.L., Aubery S.M., 2006. Sexually dimorphic grooming in bison: the influence of body size, activity budget and androgens. *Anim. Behav.*, 72: 737–745.
- Morales-Montor J., Chavarria A., De Leon M.A., Del Castillo L.I., Escobedo E.G., Sanchez E.N., Vargas J.A., Hernandez-Flores M., Romo-Gonzalez T., Larralde C., 2004. Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the female host supremacy paradigm. *J. Parasitol.*, 90: 531–546.
- Morand S., De Bellocq J.G., Stanko M., Miklisova D., 2004. Is sex-biased ectoparasitism related to sexual size dimorphism in small mammals of Central Europe? *Parasitology*, 129: 505–510.
- Mucedda M. & Nuvoli T., 2000. Indagine biometrica sul “grande *Myotis*” (Chiroptera, Vespertilionidae) della Grotta Sa Rocca Ulari (Borutta) e di altre località della Sardegna. *Sardegna Speleologica*, 17: 46-51.
- Mucedda M., Murittu G., Oppes A., Pidinchedda E., 1995. Osservazioni sui Chiropteri troglodili della Sardegna. *Boll. Soc. Sarda Sci. Nat.*, 30 (1994/95): 97-129.
- Muhldorfer K., 2013. Bats and bacterial pathogens: a review. *Zoonoses and Public Health*, 60: 93-103.
- Neuweiler G., 1984. Foraging, echolocation and audition in bats. *Naturwissenschaften*, 71: 446-455.
- Neuweiler G., 2003. Evolutionary aspects of bat echolocation. *J. Comp. Physiol. A*, 189: 245-256.
- Norberg U. M. & Rayner, J.M.V., 1987. Ecological morphology and flight in bats (Mammalia; Chiroptera): wing adaptations, flight performance, foraging strategy and echolocation. *Philos. T. Roy. Soc. B*, 316: 335-427.
- Norton D.A., De Lange P.J., 1999. Host specificity in parasitic mistletoes (Loranthaceae) in New Zealand. *Funct. Ecol.*, 13: 552-559.
- Novak R.M., 1991. Walker’s Mammals of the World. 5th Ed. – J. Hopkins Univ. Press, Baltimore, Vol. 1, 1936 pp.
- O’Farrell M. J., Corben C., Gannon W. L., 2000. Geographic variation in the echolocation calls of the hoary bat (*Lasiurus cinereus*). *Acta Chiropt.*, 2: 185-195.

- O'Leary M. A., Bloch J.I., Flynn J.J., Gaudin T.J., Giallombardo A., Giannini N.P., Goldberg S. L., Kraatz B.P., Luo Z.-X., Meng J., 2013. The placental mammal ancestor and the post-K-Pg radiation of placentals. *Science*, 339:662-667.
- Obrist M.K., 1995. Flexible bat echolocation: the influence of individual, habitat and conspecifics on sonar signal design. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 36: 207-219.
- Obrist M.K., Boesch R., Flückiger P.F., 2004. Variability in echolocation call design of 26 Swiss bat species: consequences, limits and options for automated field identification with a synergetic pattern recognition approach. *Mammalia*, 68 (4): 307-322.
- Olson J.F., Moon R.D., Kells S.A., Mesce K.A., 2014. Morphology, ultrastructure and functional role of antennal sensilla in off-host aggregation by the bed bug, *Cimex lectularius*. *Arthropod Struct. Dev.*, 43(2): 117-122.
- Palomo L.J., Gisbert J., 2002. Atlas de los mamíferos terrestres de España. Dirección General de Conservación de la Naturaleza, Sociedad Española para la Conservación y Estudio de los Mamíferos, Madrid, 546 pp.
- Papadatou E., Butlin R.K., Altringham J.D., 2008. Identification of bat species in Greece from their echolocation calls. *Acta Chiropterol.*, 10: 127-143.
- Parsons S. & Obrist M.K., 2004. Recent methodological advances in the recording and analysis of chiropteran biosonar signals in the field. In Thomas et al. (eds), *Advances in the study of echolocation in bats and dolphins*, Proceedings of the Biosonar Conference 1998. University of Chicago Press, Chicago, p. 468-477.
- Parsons S. & Szewczak J.M., 2009. Detecting, recording, and analyzing the vocalizations of bats, p. 91-111. In: Kunz T.H. & Parsons S. (Eds), *Ecological and behavioral methods for the study of bats.*, J. Hopkins Univ. Press, Baltimore, 901 pp.
- Parsons S., Boonman A.M., Obrist M.K., 2000. Advantages and disadvantages of techniques for transforming and analyzing chiropteran echolocation calls. *J. Mammal.* 81: 927-938.
- Patterson B.D., Dick C.W., Dittmar K., 2007. Roosting habits of bats affect their parasitism by bat flies (Diptera: Streblidae). *J. Trop. Ecol.*, 23 : 177-189.
- Péricart J., 1972. Hémiptères Anthocoridae, Cimicidae et Microphysidae de l'ouest-paléarctique. Masson Et C. Ed., Paris, 401 pp.
- Piksa K., 2006. First record of *Myotis blythii* in Poland (Chiroptera: Vespertilionidae). *Lynx (N.S.)*, 37: 197-200.
- Piksa K., Nowak-Chmura M., Siuda K., 2013. First case of human infestation by the tick *Ixodes vespertilionis* (Acari: Ixodidae). *Int. J. Acarol.*, 39:1-2.
- Postawa T. & Furman A., 2014. Abundance patterns of ectoparasites infesting different populations of *Miniopterus* species in their contact zone in Asia minor. *Acta Chiropterol.*, 16(2): 387-395.
- Poulin R., 1992. Evolutionary ecology of parasites. From individual to communities. Chapman & Hall Publ., London: 360 pp.
- Poulin R., 1996. Sexual inequalities in helminth infections: a cost of being a male? *Am. Nat.*, 147: 287-295.
- Prakash S., Chauhan R.S., Parashar B.D., Chandna S., Rao K.M., 1996. Morphology and distribution of antennal sensilla in the postembryonic developmental stages of *Cimex hemipterus* Fabricius. *Ital. J. Zool.*, 63 (2): 131-134.
- Priori P. & Scaravelli D., 2013. Bedbugs at home: the disadvantage of living in comfortable warm churches instead of cold and moist caves. In: Schneeberger K. & Popa-Lisseanu A. (Eds), 3rd Int. Berlin Bat Meeting: bats in the Anthropocene, Berlin, 1-3/3/2013: 79.

- Priori P. & Scaravelli D., 2014. Thermal imaging as a tool for microhabitat preference analysis of bats in a Gypsum Quarry. Abs. XIIIth European Bat Research Symposium, 1-5/9/2014 Šibenik, Croatia: 137.
- Priori P., Amadori M., Guidi L., Scaravelli D., 2015. Morfologia esterna di *Cimex pipistrelli* Jenyns, 1839 con note ecologiche. Abs.. III Conv. Ital.Chiroterri, Trento 9-11/10/2015: 34.
- Priori P., Scaravelli D., 2012. Predazione da parte dei grandi *Myotis* su *Polyphylla fullo* (Insecta, Scarabeidae). VII Conv. Ricerca zoologica e botanica in Alto Adige, Bolzano 6-7/9/2012: 54.
- Puechmaille S.J., Allegrini B., Benda P., Gürün K., Šrámek J., Ibañez C., Juste J., Bilgin R., 2014. A new species from the *Miniopterus schreibersii* species complex (Chiroptera: Miniopteridae) from the Maghreb region, North Africa. *Zootaxa*, 3794: 108-124.
- Racey P.A., 1982. Ecology of bat reproduction. In: Kunz T. H. (Ed.), *The ecology of bats*. Plenum Press, New York, p. 57-104..
- Reckardt K. & Kerth G., 2006. The reproductive success of the parasitic bat fly *Basilina nana* (Diptera: Nycteribiidae) is affected by the low roost fidelity of its host, the Bechstein's bat (*Myotis bechsteinii*). *Parasitol. Res.*, 98: 237-243.
- Reckardt K. & Kerth G., 2007. Roost selection and roost switching of female Bechstein's Bats (*Myotis bechsteinii*) as a strategy of parasite avoidance. *Oecologia*, 154 (3): 581-588.
- Reimchen T.E. & Nosil P., 2001. Ecological causes of sex-biased parasitism in three-spine stickleback. *Biol. J. Linn. Soc.*, 73: 51-63.
- Reinhardt K. & Siva-Jothy M.T., 2007. Biology of the Bed Bugs (Cimicidae). *Annu. Rev. Entomol.*, 52: 351-74.
- Rivers N. M., Butlin R. K., Altringham J. D., 2005. Genetic population structure of Natterer's bats explained by mating at swarming sites and phylopatry. *Mol. Ecol.*, 14: 4299-4312.
- Roberts M.L., Buchanan K.L., Evans M.R., 2004. Testing the immunocompetence handicap hypothesis: a review of the evidence. *Anim. Behav.*, 68: 227-239.
- Roer H., 1969. Über Vorkommen und Lebensweise von *Cimex lectularius* und *Cimex pipistrelli* (Heteroptera, Cimicidae) in Fledermausquartieren. *Bonn. Zool. Beiträg.*, 20: 355-359.
- Rondinini C., Battistoni A., Peronace V., Teofili C. (comp.), 2013. Lista Rossa IUCN dei Vertebrati Italiani. Comitato Italiano IUCN e Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, Roma, 54 pp.
- Ruczynski I., Bogdanowicz W., 2005. Roost cavity selection by *Nyctalus noctula* and *N. leisleri* (Vespertilionidae, Chiroptera) in Bialowieza Primeval Forest, Eastern Poland. *J. Mammal.*, 86 (5): 921-930.
- Rudnick A., 1960. A revision of the family Spinturnicidae. *Univ. California Publ. Entomol.*, 17: 157-284.
- Ruedi M. & Mayer A., 2001. Molecular systematics of bats of the genus *Myotis* (Vespertilionidae) suggests deterministic ecomorphological convergences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 21 (3): 436-438.
- Ruedi M., Arlettaz R., 2013. *Myotis punicus* Maghreb *Myotis* In: Happold, M. & Happold, D.C.D. (Ed). *The Mammals of Africa: Hedgehogs, Shrews and Bats*, Bloomsbury Pub., London, U.K., Vol IV, p. 703-705.
- Ruedi M., Arlettaz R., Maddalena T., 1990. Distinction morphologique et biochimique de deux espèces jumelles de chauves-souris: *Myotis myotis* (Borkh) et *Myotis blythii* (Tomes) (Mammalia, Vespertilionidae). *Mammalia*, 54(3): 415-429.

- Ruffo S., Stock F., 2005. Checklist e distribuzione della fauna italiana Mem. Museo Civ. St. Nat. Verona 2, Serie Sez. Sc. Vita, 16: 307 pp.
- Russo D. & Jones G., 2000. The two cryptic species of *Pipistrellus pipistrellus* (Chiroptera: Vespertilionidae) occur in Italy: evidence from echolocation and social calls. *Mammalia*, 64: 187-197.
- Russo D. & Jones G., 2002. Identification of twenty-two bat species (Mammalia: Chiroptera) from Italy by analysis of time-expanded recordings of echolocation calls. *J. Zool.*, 258: 91-103.
- Russo D., Cistrone L., Jones G., Mazzoleni S., 2004. Roost selection by Barbastelle Bats (*Barbastella barbastellus*, Chiroptera: Vespertilionidae) in beech woodlands of central Italy: consequences for conservation. *Biol. Conserv.*, 117: 73-81.
- Russo D., Jones G., Arlettaz R., 2007. Echolocation and passive listening by foraging mouse-eared bats *Myotis myotis* and *M. blythii*. *J. Exp. Biol.*, 210: 166-176.
- Russo D., Jones G., Mucedda M., 2001. Influence of age, sex and body size on echolocation calls of Mediterranean and Mehely's horseshoe bats, *Rhinolophus euryale* and *R. mehelyi* (Chiroptera: Rhinolophidae). *Mammalia*, 65: 429-436.
- Ryberg O., 1947. Studies on bats and bat parasites. Bokförlaget Svensk Natur, Stockholm, 330 pp.
- Rybin S.N., 1977. Fauna of bats and their ectoparasites in Southern Kirgizia. In Akademija Nauk (Ed) Rare species of mammals and their protection. Science Press, Moscow, p. 60-62.
- Rydell J., 1992. Exploitation of insects around streetlamps by bats in Sweden. *Funct. Ecol.*, 6:744-750.
- Rydell J., Racey P. A., 1995. Street lamps and the feeding ecology of insectivorous bats. *Symp. Zool. Society London*, 67: 291-307.
- Scaravelli D. & Trentini M., 2005. *Cimex pipistrelli* Jenyns, 1839: note morfologiche ed ecologiche. XX Congr. Naz. Entomologia, Perugia 6-11/6/2005: 35.
- Scaravelli D., 2013. Segnalazioni: Zoologia. 131. *Argas vespertilionis* (Latreille, 1802) (Arachnida, Ixodida, Argasidae). *Quad. St. Not. St. nat. Romagna*, 38: 230.
- Scaravelli D., Priori P., Guidi L., 2014. Crawling on a nocturnal flight: ticks on *Miniopterus schreibersii* in Italy. *Proc. 75th Nat. Congr. UZI, Bari 22-25/9/2014*: 141.
- Scaravelli D., Priori P., Mutinelli F., Zecchin B., Cattoli G., De Benedictis P., 2012. European Bat Lyssaviruses (EBLV): European perspectives and the ongoing active and passive Italian surveillance. *Hystrix, Ital. J. Mammal.*, suppl. 2012: 37.
- Schalk G. & Forbes M.R., 1997. Male biases in parasitism of mammals: effects of study type, host age, and parasite taxon. *Oikos*, 78:, 67-74.
- Schmidt E., 1994. Zum Vorkommen der Milbe *Spinturnix myoti* (Kolenati, 1856) (Acarina: Mesostigmata: Spinturnicidae) auf dem Mausohr (*Myotis myotis*) (Chiroptera: Vespertilionidae). *Naturschutzreport, Jena*, 7: 389-404.
- Schnitzler H.-U. & Flieger E., 1983. Detection of oscillating target movements by echolocation in the Greater Horseshoe bat. *J. Comp. Physiol.*, 153 (3): 385-391.
- Schnitzler H.-U. & Kalko E. K. V., 1998. How echolocating bats search and find food. In: Kunz T.H. & Racey P.A. (Eds), *Bat Biology and Conservation* Smithsonian Inst. Press, p. 183-196.
- Schnitzler H.-U. & Kalko E.K.V., 2001. Echolocation by insect-eating bats. *Bioscience*, 51: 557-569.
- Schnitzler H.-U., Moss C.F., Denzinger A., 2003. From spatial orientation to food acquisition in echolocating bats. *Trends Ecol. Evol.*, 18 (8): 386-394.

- Schober W. & Grimmberger E., 1991. Guide des chauves-souris d'Europe. Delachaux & Niestle, Neuchâtel et Paris, 223 pp.
- Schober W., Grimmberger E. 1997. The bats of Europe and North America. T.F.H. publ., Neptune, 239 pp.
- Schober W., Grimmberger E., 1987. Die Fledermäuse Europas. Kosmos, Stuttgart, 265 pp.
- Schuller G. & Pollak G.D., 1979. Disproportionate frequency representation in the inferior colliculus of Doppler compensating greater horseshoe bats: evidence of an acoustic fovea. *J. Comp. Physiol.*, 132: 47-54.
- Sevcik M., Kristofik J., Uhrin M., Benda P., 2010. New records of ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing on bats in Slovakia. *Vespertilio*, 13-14: 139-147.
- Shiang-Fan C., Jones G., Rossiter S. J., 2009. Determinants of echolocation call frequency variation in the Formosan lesser horseshoe bat (*Rhinolophus monoceros*) *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 276: 3901-3909.
- Siemers B. M., Stilz P., Schnitzler H.-U., 2001. The acoustic advantage of hunting at low heights above water: behavioural experiments on the European 'trawling' bats *Myotis capaccinii*, *M. dasycneme* and *M. daubentonii*. *J. Exp. Biol.*, 204: 3843-3854.
- Siemers B.M., Kalko E.KV., Schnitzler H.-U., 2001. Echolocation behavior and signal plasticity in the Neotropical bat *Myotis nigricans* (Schinz, 1821) (Vespertilionidae): a convergent case with European species of *Pipistrellus*? *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 50: 317-328.
- Simmons J.A. & Stein R.A., 1980. Acoustic imaging in bat sonar: Echolocation signals and the evolution of echolocation. *J. Comp. Physiol. A*, 135: 61-84.
- Simmons N.B., 2005. Order Chiroptera. In: Wilson D.E. & Reeder D-A. M. (Eds), *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. 3rd Ed., Vol. 1, p. 312-529..
- Simmons N.B., 2005a. Fossil evidence and the origin of bats. *J. Mamm. Evol.*, 12 (1-2): 209-246.
- Simmons N.B., Geisler J.H., 1998. Phylogenetic relationships of *Icaronycteris*, *Archaeonycteris*, *Hassianycteris* and *Paleochiropteryx* to extant bat lineages, with comments on the evolution of echolocation and foraging strategies in Microchiroptera. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, 235: 1-182.
- Simon M., Hüttenbügel S., Smit-Viergutz J., 2004. Ecology and conservation of bats in villages and towns. *Schriftenr. Landschaftspfl. Naturschutz*, 77: 1-264.
- Simov N., Ivanova T., Schunger I., 2006. Bat-parasitic *Cimex* species (Hemiptera: Cimicidae) on the Balkan Peninsula, with zoogeographical remarks on *Cimex lectularius* Linnaeus. *Zootaxa*, 1190: 59-68.
- Singh R. N., Singh K., Prakash S., Mendki M.J., Rao K.M., 1996. Sensory organs on the body parts of the bed-bug *Cimex hemipterus* Fabricius (Hemiptera: Cimicidae) and the anatomy of its central nervous system. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.*, 25(1): 183-204.
- Sioli H., 1937. Thermotaxis und Perzeption von Wärmestrahlen bei der Bettwanze (*Cimex lectularius*). *Zool. Jahrb. (Phys. E.)*, 58: 284-296.
- Siuda K., Stanko M., Piksa K., Gõrz A., 2009. Ticks (Acari: Ixodida) parasitizing on bats in Poland and Slovakia. *Wiad. Parazit.*, 55: 39-45.
- Smith A.T., Xie Y., Hoffman R., Lunde D., Mackinnon J., Wilson D.E., Wozencraft W.C., 2008. *A Guide to the Mammals of China*. Princeton Univ. Press, Princeton, New Jersey, 576 pp.
- Socolovschi C., Kernif T., Raoult D., Parola P., 2012. *Borrelia*, *Rickettsia*, and *Ehrlichia* species in bat ticks, France, 2010. *Emerg. Infect. Dis.*, 18:1966-1975.
- Soler J.J., Møller A.P., Soler M., 1999. A comparative study of host selection in the European cuckoo *Cuculus canorus*. *Oecologia*, 118: 265–276.

- Spagnesi M. & Toso S., 1999. Iconografia dei mammiferi d'Italia. Min. Amb. Tutela Terr., Cons.Natura e I.N.F.S. "Alessandro Ghigi", Roma, 203 pp.
- Spallanzani L., 1794. Lettere sopra il sospetto di un nuovo senso nei pipistrelli. Stamperia reale, Torino, 64 pp.
- Springer M., Teeling S.E.C., Madsen O., Stanhope M.J., De Jong W.W., 2001. Integrated fossil and molecular data reconstruct bat echolocation. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98 (11): 6241-6246.
- Steinbrecht R.A., 1969. Comparative morphology of olfactory receptors. In: Pfaffman C. (Ed), *Olfaction and taste*. Rockefeller Univ. Press, New York, Vol. 3: p. 3-21..
- Steinbrecht R.A., Müller B., 1976. Fine structure of the antennal receptors of the bed bug, *Cimex lectularius* Linneus. *Tissue Cell*, 8(4): 615-636.
- Strelkov P.P., 1972. *Myotis blythii* (Tomes, 1857): distribution, geographical variability and differences from *Myotis myotis* (Borkhausen, 1797). *Acta Theriol.*, 17: 355-380.
- Strinati P., 1951. Note sure les chauves-souris du Maroc. *Mammalia*, 15: 23-31.
- Strinati P., 1954. Recherches biospéléologiques en Corse. *Stalactite*, 3: 1-3.
- Suga N., 1990. Biosonar and neural computation in bats. *Sci. Am.*, 262: 60-68.
- Sun K., Luo L., Kimball R.T., Wei X., Jin L., 2013. Geographic variation in the acoustic traits of greater horseshoe bats: testing the importance of drift and ecological selection in evolutionary processes. *PLoS ONE*, 8(8): e70368. doi:10.1371/journal.pone.0070368.
- Surlykke A., Kalko E.K.V., 2008. Echolocating bats cry out loud to detect their prey. *PLoS ONE* 3: e2036. doi:10.1371/journal.pone.0002036.
- Teeling E., Madsen O., van den Bussche R., Jong W., Stanhope M., Springer M.S., 2002. Microbat monophyly and the convergent evolution of a key innovation in old world rhinolophoid microbats. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99: 1431-1436.
- Teeling E., Springer M., Madsen O., Bates P., O'Brien S., Murphy W., 2005. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. *Science*, 307: 580-584.
- Theodor O., 1967. An illustrated catalogue of the rothschild collection of Nycteribiidae (Diptera) in the British Museum (Natural History); with keys and short descriptions for the identification of subfamilies, genera, species and subspecies, with an introduction by Miriam Rothschild. *British Museum (Natural History)*, London, VIII, 506 pp.
- Theodor O. & Moscona A., 1954. On bat parasites in Palestine. I. Nycteribiidae, Streblidae, Hemiptera, Siphonaptera. *Parasitology*, 44: 157-245.
- Thompson J.N., 1994. *The coevolutionary process*. Univ. Chicago Press, Chicago, 383 pp.
- Tibbels A. E. & Kurta A., 2003. Bat activity is low in thinned and unthinned stands of red pine. *Can. J. Forest Res.*, 33: 2436-2442.
- Topál G. & Ruedi M., 2001. *Myotis blythii* (Tomes, 1857) - Kleines Mausohr. In: Krapp F. (Ed), *Handbuch der Säugetiere Europas*. Bd. 4/I (Fledertiere). Aula-Verlag, Wiebelsheim, p. 209-215.
- Tripet F., Jacot A., Richner H., 2002. Larval competition affects the life histories and dispersal behavior of an avian ectoparasite. *Ecology*, 83: 935-945.
- Tripet F., Richner H., 1997. The coevolutionary potential of a "generalist" parasite, the hen flea *Ceratophyllus gallinae*. *Parasitology*, 115: 419-427.
- Ulrich W., Sachanowicz K., Michalak M., 2007. Environmental correlates of species richness of European bats (Mammalia: Chiroptera). *Acta Chiropt.*, 9 (2): 347-360.
- Usinger R.L., 1966. *Monograph of Cimicidae*. The Thomas Say Foundation / Entomol. Soc. America, 7, 585 pp.

- Van Den Bussche R.A. and Hooper S.R., 2004. Phylogenetic relationship among recent chiropteran families and the importance of choosing appropriate out-group taxa. *J. Mammal.*, 85: 321-330.
- Van der Poel W.H.M., Lina P.H.C., Kramps J.A., 2006. Public health awareness of emerging Zoonotic viruses of bats: a European Perspective. *Vector-Borne Zoonoses and Diseases*, 6 (4): 315-324.
- Vaughan N., Jones G., Harris S., 1997. Identification of British bat species by multivariate analysis of echolocation call parameters. *Bioacoustics*, 7: 189-207.
- Vaughan T.A., Ryan J.M., Czaplewski N. J., 2000. *Mammalogy*. 4th ed. Saunders College Publ., Fort Worth, Texas, 750 pp.
- Verboom B. & Spoelstra K., 1999. Effects of food abundance and wind on the occurrence of pipistrelle bats *Pipistrellus pipistrellus* and serotines *Eptesicus serotinus* near treelines. *Can. J. Zool.*, 77: 1393-1401.
- Voigt C., Schuller B.M., Greif S., Siemers B., 2010. Perch-hunting in insectivorous *Rhinolophus* bats is related to the high energy costs of manoeuvring in flight. *J. Comp. Physiol. B*, 180: 1079-1088.
- Voigt-Heucke S.L., Taborsky M., Dechmann D.K., 2010. A dual function of echolocation: bats use echolocation calls to identify familiar and unfamiliar individuals. *Anim. Behav.* 80: 59-67.
- Walter G. & Kock D., 1985. Records of *Ixodes vespertilionis*, *I. simplex* and *Argas vespertilionis* (Ixodoidea: Ixodidae, Argasidae) from German bats (Chiroptera). *Z. Parasitenk.*, 71: 107-111.
- Warren R.D., Waters D.A., Altringham J.D., Bullock D.J., 2000. The distribution of Daubenton's bats (*Myotis daubentonii*) and pipistrelle bats (*Pipistrellus pipistrellus*) (Vespertilionidae) in relation to small-scale variation in riverine habitat. *Biol. Conserv.*, 92: 85-91.
- Waters D.A., Rydell J., Jones G., 1995. Echolocation call design and limits on prey size: a case study using the aerial-hawking bat *Nyctalus leisleri*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 37: 321-328.
- Wenzel R.L., V. J. Tipton, Kiewlicz A., 1966. The streblid batflies of Panama (Diptera: Calypterae: Streblidae), 5. In: Wenzel R.L. & Tipton V.J. (Eds.), *Ectoparasites of Panama*. Field Museum of Natural History, Chicago, p. 405-467.
- Whitaker J.O., Ritzi Jr. C.M., Dick C.W., 2009. Collecting and preserving bat ectoparasites for ecological study. Chapter 40. In: Kunz T. W. and Parsons S. (Eds). *Ecological and behavioral methods for the study of bats*. 2nd. Ed., J. Hopkins Univ. Press, Baltimore, p. 806-828.
- Whitaker J.O., Walters Jr. B.L., Castor L.K., Ritzi C.M., Wilson N., 2007. Host and distribution lists of mites (Acari), parasitic and phoretic, in the hair or on the skin of North American wild mammals north of Mexico: records since 1974. Faculty Publ. the Harold W. Manter Lab. Parasitology, Univ. Nebraska, Lincoln, 173 pp.
- Whiting M.F., Whiting A.S., Hastriter M.W., Dittmar K., 2008. A molecular phylogeny of fleas (Insecta: Siphonaptera): origins and host associations. *Cladistics*, 24: 677-707.
- Wilson D., 1997. *Bats in question*. Smithsonian Inst., Hong Kong, 168 pp.
- Wilson D., Reeder D., 2005. *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. J. Hopkins Univ. Press, Baltimore, 2142 pp.
- Wilson W.W. & Moss C.F., 2004. Sensory-motor behavior of free-flying FM bats during target capture. In: Thomas J. A. (Ed.), *Advances in the study of echolocation in bats and dolphins*. Univ. Chicago Press, p. 22-27.

- Witsenburg F., Clément L., Dutoit L., Scaravelli D., Goudet J., Christe P., 2014. Presence of *Polychromophilus melanipherus* (Apicomplexa: Haemosporida) in *Miniopterus schreibersii* (Mammalia, Miniopteridae) colonies in Italy. *Hystrix, It. J. Mammal.*, 25 (suppl.): 142.
- Witsenburg F., Clément L., López-Baucells A., Palmeirim J., Pavlinić I., Scaravelli D., Ševčík M., Dutoit L., Salamin N., Goudet J., Christe P., 2015. How a haemosporidian parasite of bats gets around: the genetic structure of a parasite, vector and host compared. *Mol. Ecol.*, 24(4): 926-40.
- Wood S., 2012. Geographic distribution and composition of the parasite assemblage of the insectivorous bat, *Miniopterus natalensis* (Chiroptera: Miniopteridae), in South Africa. MSc Thesis, Univ. Cape Town, South Africa.
- Yalden D. & Morris P., 1975. *The Lives of bats*. Newton Abbott: David and Charles, 247 pp.
- Yoshino H., Matsumura S., Kinjo K., Tamura H., Ota H., Izawa M., 2006. Geographical variation in echolocation call and body size of the okinawan least horseshoe bat, *Rhinolophus pumilus* (Mammalia: Rhinolophidae), on Okinawa-Jima Island, Ryukyu Archipelago, Japan. *Zool. Sci.*, 23 (8): 661-667.
- Zahn A. & Rupp D., 2004. Ectoparasite load in European vespertilionid bats. *J. Zool.*, 262: 1–9.
- Zahn A., Rottenwallner A., Guttinger R., 2006. Population density of the greater mouse-eared bat (*Myotis myotis*), local diet composition and availability of foraging habitats. *J. Zool.*, 269: 486-49.
- Zhu Q., Hastriter M.W., Whiting M.F., Dittmar K., 2015. Fleas (Siphonaptera) are Cretaceous, and evolved with Theria. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 90: 129-139.
- Zuk M. & McKean, K.A., 1996. Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *Int. J. Parasitol.*, 26: 1009-1023.
- Zuk M., 1990. Reproductive strategies and sex differences in disease susceptibility: an evolutionary viewpoint. *Parasitol. Today*, 6: 231-233.
- Zukal J., Pikula J., Bandouchová H., 2015. Bats as bioindicators of heavy metal pollution: history and prospect. *Mamm. Biol.* 80: 220-227.
- Zumla A., Hui D.S., Perlman S., 2015. Middle East respiratory syndrome. *The Lancet*, doi: 10.1016/S0140-6736(15)60454-8.
- Zupanc G.K.H., 2004. *Behavioral neurobiology: an integrative approach*, Oxford University Press, Oxford, U.K., 203 pp.