



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI
DI PERUGIA



MINISTERO DELL'AMBIENTE
E DELLA TUTELA DEL TERRITORIO E DEL MARE



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE
MUSEO DI
STORIA
NATURALE

Linee guida per il ricollocamento in natura di individui del genere *Testudo* spp. confiscati



2019

Referente scientifico progetto di UNIFI (aspetti naturalistici): Claudia Corti.

Referenti scientifici progetto di UNIPG (aspetti sanitari e nutrizionali): Oliviero Olivieri, Massimo Trabalza Marinucci.

Ricercatore e coordinamento stesura linee guida: Marta Biaggini (UNIFI).

Ricercatori: Erika Baldoni (UNIPG), Sara Bellucci (UNIPG), Marco Bottinelli (UNIPG), Lorenzo Cecchi (UNIFI), Mauro Coletti (UNIPG), Gianluca Deli (UNIFI), Manuela Diaferia (UNIPG), Elisa Manganelli (UNIPG), Luisa Marenzoni (UNIPG), Daniele Marini (UNIPG), Iolanda Moretta (UNIPG), Giulia Morganti (UNIPG), Chiara Nepi (UNIFI), Fabrizio Passamonti (UNIPG), Oriana Raffaele (UNIPG), Valentina Stefanetti (UNIPG), Fabrizia Veronesi (UNIPG), Laura Vieceli (UNIPG), Mauro Zampiglia (UNIPG), con il contributo di Francesco Origgi (Università di Berna, CH).

Coordinamento aspetti genetica di popolazione: Daniele Canestrelli (UNITUS).

Collaborazione SHI: Luciano Di Tizio, Angelo Cameli.

Collaborazione ISPRA: Piero Genovesi, Anna Alonzi.

Collaborazione: Comando Carabinieri per la Tutela della Biodiversità e dei Parchi, Raggruppamento Carabinieri Biodiversità.

Sommario

1. PREMESSA	3
2. INQUADRAMENTO GENERALE	5
2.1. Quadro normativo	5
2.1.1 Convenzione di Berna	5
2.1.2 Direttiva Habitat	5
2.1.3 Convenzione di Washington (CITES).....	6
2.1.4 Unione Internazionale per la Conservazione della Natura e delle Risorse Naturali (IUCN).....	8
2.1.5 Principali misure di conservazione e classificazione IUCN del livello di rischio di <i>Testudo graeca</i> , <i>Testudo hermanni</i> , <i>Testudo marginata</i>	10
2.2. Biologia	12
2.2.1. Distribuzione del genere <i>Testudo</i> in Italia	12
2.2.2. Note sulla biologia: <i>habitat</i> e ciclo annuale di attività	15
2.2.3 Approfondimento sugli ambienti frequentati da <i>Testudo hermanni</i> in Italia	18
2.2.4. Dieta	30
2.3. Principali minacce e fattori limitanti	31
2.3.1 Valutazione dello stato di conservazione a livello nazionale	31
2.3.2 Degrado e perdita dell' <i>habitat</i>	32
2.3.3 Traslocazioni e prelievi in natura.....	33
2.4 Inquadramento delle problematiche sanitarie	34
2.4.1 Agenti virali e batterici	34
2.4.2 Parassiti.....	36
3. ITER E AZIONI PREVISTE PER IL RICOLLOCAMENTO	38
3.1 Selezione degli individui da ricollocare	38
3.1.1 Indagini sanitarie e parassitologiche	38
3.1.2 Indagini genetiche	42
3.1.3 Procedura suggerita per effettuare i prelievi	43
BOX 1. Norme di igiene e prevenzione da adottare durante le manipolazioni.....	45
3.2 Scelta dei siti adatti al ricollocamento	46
3.3 Ricollocamento	48
4. GESTIONE SANITARIA DELLE STRUTTURE DI DETENZIONE E INDICAZIONI SUL MANTENIMENTO DEGLI INDIVIDUI NON RICOLLOCABILI	51
BOX 2. Indicazioni generali per il corretto mantenimento di testuggini in cattività	54
ALLEGATO I. Schema riassuntivo dell'<i>iter</i> di azioni previste per il ricollocamento	55
BIBLIOGRAFIA	59

1. PREMESSA

Le tre specie di testuggini terrestri presenti in Italia, appartenenti al genere *Testudo* - *Testudo graeca* Linnaeus, 1758, *Testudo hermanni* Gmelin, 1789, *Testudo marginata* Schoepff, 1792 (e le relative sottospecie) - sono tutelate dalla normativa CITES, recepita dall'Unione Europea con l'emanazione del Regolamento del Consiglio 338/97 e s.m.i. e applicata in Italia attraverso la Legge 150/1992 (Paragrafo 2.1). Gli individui detenuti o commerciati illegalmente sono soggetti a confisca.

Dalla necessità di ridurre al minimo il soggiorno degli animali sequestrati o confiscati nelle strutture adibite al loro mantenimento, sia per il benessere degli individui sia per gli oneri connessi al loro mantenimento, nasce l'urgenza del ricollocamento in natura, un'operazione particolarmente delicata che deve contemplare molteplici aspetti quali l'individuazione dell'area di provenienza degli individui (la cui origine è nella maggior parte dei casi sconosciuta) attraverso appropriate indagini genetiche, l'accertamento delle condizioni sanitarie e infine la scelta del sito dove effettuare il ricollocamento. Immissioni casuali e non appropriate possono infatti arrecare danni alle popolazioni autoctone. Esiste ad esempio il forte rischio di inquinamento genetico dovuto all'ibridazione tra gli animali presenti in natura e quelli che vengono rilasciati, così come l'elevata probabilità che gli individui da ricollocare possano trasmettere patologie contratte durante il periodo di cattività o nel luogo di origine.

Al fine di operare corrette azioni di ricollocamento in natura si rende pertanto indispensabile avere un quadro clinico e genetico degli individui sequestrati o confiscati, nonché avere informazioni il più possibile dettagliate e recenti riguardo il profilo genetico e lo stato sanitario delle popolazioni selvatiche. Con questo scopo, parallelamente alla ricerca bibliografica su dati genetici, sanitari ed ecologici riguardanti le testuggini terrestri (e in particolare il genere *Testudo*), nel corso dei progetti propedeutici alla stesura delle Linee Guida (Corti *et al.*, 2013b, 2015, 2016; Olivieri *et al.*, 2016) è stata svolta una vasta azione di campionamento sulle popolazioni naturali in tutto il territorio nazionale. I campioni raccolti sono serviti a integrare, rispetto a quanto già noto, la caratterizzazione delle popolazioni insulari e peninsulari italiane da un punto di vista genetico (Paragrafo 3.1.2), mentre mirate indagini sanitarie hanno fornito indicazioni sulla presenza di parassiti e microrganismi patogeni negli individui allo stato selvatico (Paragrafi 2.4, 3.1.1). Lo stesso tipo di indagini, genetiche e sanitarie, sono state effettuate su un elevato numero di individui sequestrati o confiscati, mantenuti all'interno di centri di recupero. Al contempo sono stati raccolti dati riguardanti la varietà di *habitat* frequentati dal genere *Testudo* in Italia e dati sulla dieta di *T. hermanni* (Paragrafi 2.2.3,

2.2.4). Infatti, per effettuare corretti ricollocamenti, appare indispensabile l'individuazione di siti che offrano agli individui da ricollocare le risorse necessarie a soddisfare le esigenze eco-etologiche delle specie di appartenenza, valutando dunque fattori quali disponibilità trofica, qualità e quantità di rifugi, disponibilità di siti adatti alla deposizione, condizioni climatiche locali. Il ricollocamento, come già accennato, non deve inoltre mettere a rischio le popolazioni selvatiche eventualmente presenti né, in generale, deve arrecare danni alle altre specie presenti nell'area né al loro equilibrio ecologico.

Il presente documento è stato stilato sulla base dei risultati di questi studi propedeutici e sulla base della bibliografia disponibile.

Le "Linee guida per il ricollocamento in natura di individui del genere *Testudo* spp. confiscati" vogliono rappresentare un insieme di indicazioni per il conseguimento di ricollocamenti di testuggini terrestri (con particolare riferimento a *T. hermanni*) che tengano conto sia del benessere degli individui ricollocati sia della salvaguardia delle popolazioni selvatiche. In particolare, si illustrano gli aspetti da valutare e i metodi da applicare per la selezione delle testuggini idonee al ricollocamento e per la scelta dei siti adatti a ospitarle. Per gli individui ritenuti non ricollocabili si forniscono indicazioni per il loro mantenimento (Capitolo 4). Tali obiettivi si pongono in linea con quanto stabilito nella Risoluzione CITES Conf. 17.8 ("*Disposal of illegally traded and confiscated specimens of CITES listed species, Annex I – CITES guidelines for disposal of confiscated live animals*") (CITES, 1997) e nelle linee guida "*IUCN Guidelines for the Placement of Confiscated Animals* (IUCN/SSC, 2000) e "*Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations*" (IUCN/SSC, 2013), nell'ambito dei confini stabiliti dalle norme vigenti.

Le "Linee guida per il ricollocamento in natura di individui del genere *Testudo* spp. confiscati" sono quindi da intendersi come uno strumento di supporto, da applicare specificatamente alle testuggini terrestri, in affiancamento alle già esistenti "Linee guida per l'immissione di specie faunistiche" (Aa.Vv., 2007) che restano il riferimento per quanto concerne l'iter autorizzativo da seguire.

Questo documento è dunque direttamente rivolto ai Reparti Carabinieri per la Biodiversità a cui gli animali sequestrati o confiscati vengono affidati dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (L. 150/1992, si veda Paragrafo 2.1), sedi di Assisi (PG), Lucca, Martina Franca (TA), Pescara e Punta Marina (RA).

2. INQUADRAMENTO GENERALE

2.1. Quadro normativo

Nei seguenti paragrafi (2.1.1 - 2.1.4) si riporta una breve descrizione delle principali norme internazionali cui è sottoposto il genere *Testudo*, secondo le misure riportate nel Paragrafo 2.1.5.

2.1.1 Convenzione di Berna

La Convenzione di Berna si propone di regolamentare la tutela della flora, della fauna e degli *habitat* naturali a livello internazionale e prevalentemente comunitario, coprendo gran parte del patrimonio naturale del Continente Europeo e alcuni stati dell’Africa. In particolare la Convenzione si focalizza sulle specie di interesse conservazionistico (vulnerabili, minacciate o in via di estinzione) anche migratrici e sui loro *habitat*.

Aperta alla firma degli Stati membri del Consiglio d'Europa, degli Stati non membri che hanno partecipato alla sua elaborazione e dell'Unione Europea, a Berna, il 19 settembre 1979, la Convenzione è entrata in vigore il 1 giugno 1982. L'Italia ha ratificato la convenzione con la legge n. 503 del 5 agosto 1981. L'Unione Europea ne ha adottato i principi e il quadro di riferimento attraverso la Direttiva Habitat e la Direttiva Uccelli.

La Convenzione prevede quattro allegati e le specie meritevoli di tutela sono inserite all’interno di tre allegati:

- Allegato I: “Specie di flora rigorosamente protette”;
- Allegato II: “Specie di fauna rigorosamente protette”;
- Allegato III: “Specie di fauna protette”;
- Allegato IV: “Mezzi e metodi proibiti di uccisione, di cattura ed altre forme di sfruttamento vietate”.

2.1.2 Direttiva Habitat

La Direttiva 92/43/CEE, più comunemente nota con il nome di Direttiva Habitat, riguarda la conservazione degli *habitat* naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche. Lo scopo ultimo della direttiva è la salvaguardia della biodiversità da promuovere attraverso la tutela degli

habitat naturali oltre che delle specie animali e vegetali di interesse comunitario, nel territorio degli stati membri.

Due sono i pilastri su cui si regge la Direttiva: la rete ecologica Natura 2000, costituita da una serie di siti individuati in base alla presenza di *habitat* e specie elencati rispettivamente negli allegati I e II e mirati alla loro conservazione, e il regime di tutela delle specie presenti negli allegati IV e V.

Habitat e specie sono classificati in base al grado di tutela cui necessitano di essere sottoposti e inseriti all'interno di cinque allegati:

- Allegato I: "Tipi di *habitat* naturali di interesse comunitario la cui conservazione richiede la designazione di aree speciali di conservazione";
- Allegato II: "Specie animali e vegetali di interesse comunitario la cui conservazione richiede la designazione di zone speciali di conservazione";
- Allegato III: "Criteri di selezione dei siti atti ad essere individuati quali siti di importanza comunitaria e designati quali zone speciali di conservazione";
- Allegato IV: "Specie animali e vegetali di interesse comunitario che richiedono una protezione rigorosa";
- Allegato V: "Specie animali e vegetali di interesse comunitario il cui prelievo nella natura e il cui sfruttamento potrebbero formare oggetto di misure di gestione".

Il recepimento della Direttiva Habitat è avvenuto in Italia nel 1997 attraverso il Regolamento D.P.R. 8 settembre 1997 n. 357, modificato e integrato dal D.P.R. 120 del 12 marzo 2003.

2.1.3 Convenzione di Washington (CITES)

"CITES" è l'acronimo di "*Convention on International Trade of Endangered Species*", ovvero una Convenzione che regola il commercio internazionale di specie animali e vegetali in pericolo di estinzione. Spesso ci si riferisce alla convenzione come "Convenzione di Washington" dal nome della città in cui è stata firmata nel 1973.

La Convenzione si articola in tre Appendici in cui sono suddivise le specie animali e vegetali oggetto di attenzione e per le quali il commercio (anche se si tratta di parti o derivati delle stesse) viene regolato in relazione al livello di minaccia:

- Appendice I: include le specie gravemente minacciate di estinzione per le quali è rigorosamente vietato il commercio, la cattura e la detenzione (sono ammesse alcune deroghe al divieto, una di queste è il riconoscimento di nascita/riproduzione in cattività);

- Appendice II: include le specie che non sono a rischio di estinzione ma il cui commercio deve essere controllato per evitare uno sfruttamento incompatibile con la loro sopravvivenza;
- Appendice III: include le specie per cui un singolo Stato Parte ne ha richiesto il monitoraggio al fine di controllarne lo stato di conservazione.

La CITES è stata recepita dall'Unione Europea con l'emanazione del Regolamento del Consiglio 338/97 e s.m.i., detto Regolamento di base che stabilisce tra le altre cose le disposizioni per il commercio delle specie inserite in CITES, dei loro prodotti e derivati sia a livello unionale che internazionale. L'Unione Europea ha aderito alla Convenzione di Washington in maniera più restrittiva e inserendo all'interno della lista delle specie oggetto di controllo e monitoraggio anche quelle specie presenti nei Regolamenti unionali già in vigore (come quelle in Direttiva Habitat e in Direttiva Uccelli). L'elenco delle specie è suddiviso in quattro Allegati al regolamento:

- Allegato A: comprende le specie che figurano nell'Appendice I della CITES, alcune altre specie di Appendice II e III inserite secondo diversi criteri (rarietà, pressione commerciale di utilizzo, somiglianza con specie dell'Appendice I, presenza allo stato selvatico sul territorio comunitario) e alcune specie non CITES. In questo allegato sono comprese anche le tre specie di testuggini terrestri presenti in Europa, *Testudo hermanni*, *T. graeca*, *T. marginata* e le relative sottospecie;
- Allegato B: comprende le specie che figurano nell'Appendice II della CITES (e non incluse nell'Allegato A), le specie dell'Appendice III e alcune specie non CITES;
- Allegato C: comprende le specie dell'Appendice III della CITES diverse da quelle inserite negli Allegati A e B;
- Allegato D: comprende specie CITES e non CITES. Comprende le specie la cui importanza nel volume di importazioni comunitarie giustifica un controllo e le specie dell'Appendice III della Convenzione per le quali sia stata avanzata una riserva.

L'Italia è stato uno dei primi Paesi firmatari della Convenzione. Il dispositivo di legge che fornisce misure più restrittive per l'applicazione della CITES e indica le sanzioni penali e amministrative per le violazioni alla Convenzione e ai Regolamenti unionali è la Legge 150/1992 ("Disciplina dei reati relativi all'applicazione in Italia della convenzione sul commercio internazionale delle specie animali e vegetali in via di estinzione, firmata a Washington il 3 marzo 1973, di cui alla legge 19 dicembre 1975, n. 874, e del regolamento (CEE) n. 3626/82, e successive modificazioni, nonché norme per la

commercializzazione e la detenzione di esemplari vivi di mammiferi e rettili che possono costituire pericolo per la salute e l'incolumità pubblica").

In Italia l'attuazione della Convenzione di Washington è affidata a tre diversi Ministeri e con il D.Lgs. 177/2016, anche a Corpi di Polizia:

- Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare in qualità di Autorità di gestione CITES ai sensi dell'art. 13 comma 1 del Reg. (CE) 338/97 ed è la sede dell'Autorità scientifica CITES ai sensi dell'art.13 comma 2 del Reg. (CE) 338/97;
- Ministero dello Sviluppo Economico in qualità di Autorità deputata al rilascio di certificati di importazione ed esportazione CITES;
- Ministero delle politiche agricole, alimentari e forestali e l'Arma dei Carabinieri in qualità di autorità deputate all'emissione di certificati di riesportazione e di controllo sul territorio;
- Guardia di Finanza in qualità di autorità adibita ai controlli CITES in ambito doganale.

2.1.4 Unione Internazionale per la Conservazione della Natura e delle Risorse Naturali (IUCN)

L'Unione Internazionale per la Conservazione della Natura (IUCN, *International Union for Conservation of Nature*) è un'organizzazione tra i cui scopi principali spicca la creazione (circa 50 anni fa) e il periodico aggiornamento della *IUCN Red List of Threatened Species*, la Lista Rossa IUCN delle Specie Minacciate (<http://www.iucnredlist.org>). Il database, curato dalla *Species Survival Commission* della IUCN, raccoglie le informazioni riguardanti lo stato di conservazione delle specie a livello globale. All'interno di esso ciascuna specie viene classificata attraverso un *iter* standardizzato, basato su un sistema di categorie e criteri quantitativi e scientificamente rigorosi.

La IUCN conta oggi più di 1000 membri tra stati, agenzie governative, agenzie non governative e organizzazioni internazionali, oltre a una rete di più di 10000 ricercatori che contribuiscono alle attività scientifiche e di conservazione. In Italia fanno parte della rete la Direzione per la Protezione della Natura del Ministero dell'Ambiente, le principali organizzazioni non governative per la protezione dell'ambiente, enti di ricerca e alcune aree protette.

La classificazione del livello di rischio delle specie (Figura 1) consta di 11 categorie da Estinta (EX, *Extinct*), applicata alle specie per le quali si ha la definitiva certezza che anche l'ultimo individuo sia deceduto e, Estinta in Ambiente Selvatico (EW, *Extinct in the Wild*), assegnata alle specie per le quali non esistono più popolazioni naturali ma solo individui in cattività; alle tre categorie di minaccia elevata, Vulnerabile (VU, *Vulnerable*), In Pericolo (EN, *Endangered*) e In Pericolo Critico (CR, *Critically*

Endangered); alle categorie di minaccia inferiore, Minor Preoccupazione (LC, *Least Concern*), adottata per le specie che non rischiano l'estinzione nel breve o medio termine e Quasi Minacciata (NT, *Near Threatened*) per le specie molto prossime a rientrare in una delle categorie di minaccia; Carente di Dati (DD, *Data Deficient*) se non si hanno sufficienti informazioni per valutarne lo stato.

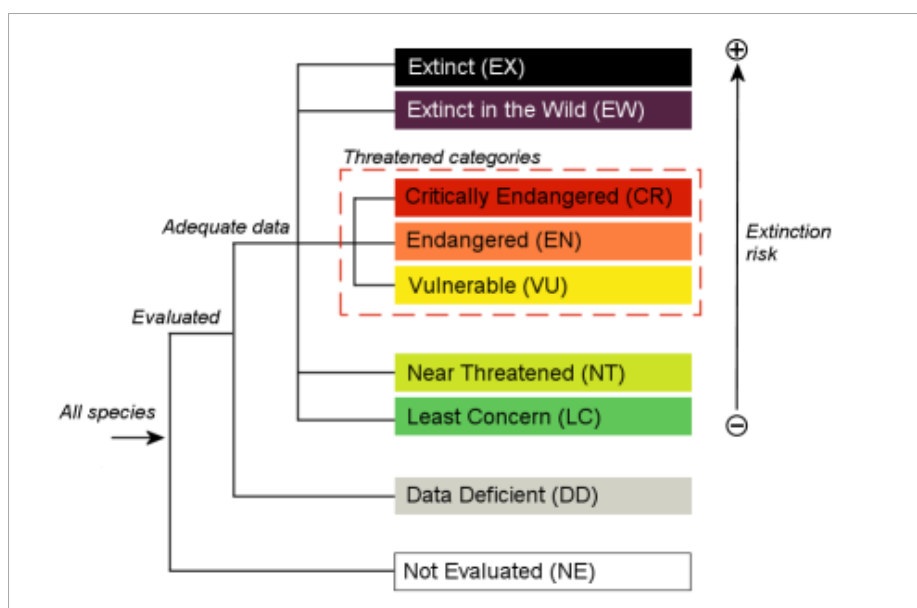


Figura 1. Categorie incluse nella IUCN Red List (da <http://www.iucnredlist.org/about/introduction>)

Per le sole valutazioni non effettuate a livello globale si aggiungono due categorie: Estinta nella Regione (RE, *Regionally Extinct*) che si usa per le specie estinte nell'area di valutazione ma ancora presenti altrove in natura; Non Applicabile (NA, *Not Applicable*) che si usa quando la specie in oggetto non può essere inclusa tra quelle da valutare (per esempio se è introdotta o se la sua presenza nell'area di valutazione è marginale). Infine esiste la categoria Non Valutata (NE, *Not Evaluated*) per le specie che non sono state valutate secondo le Categorie e i Criteri della *Red List* IUCN.

Le categorie di minaccia VU, EN, CR che identificano specie che corrono un crescente rischio di estinzione nel breve o medio termine rappresentano degli obiettivi prioritari di conservazione, poiché necessitano di urgenti interventi mirati ad azioni di rinforzo delle popolazioni e/o a interventi sulle principali cause di minaccia.

2.1.5 Principali misure di conservazione e classificazione IUCN del livello di rischio di *Testudo graeca*, *Testudo hermanni*, *Testudo marginata*

In Tabella 1 si riporta schematicamente l'inserimento delle tre specie *Testudo graeca*, *T. hermanni*, *T. marginata* (Figura 2) all'interno degli allegati delle normative internazionali e comunitarie presentate nei precedenti paragrafi, nonché la rispettiva classificazione nelle categorie di rischio stilata dalla IUCN.

Tabella 1. Principali norme di tutela (Convenzione di Berna, Direttiva Habitat, Convenzione di Washington e Regolamento CE 338/97) delle tre specie di *Testudo* presenti in Italia e loro *status* di conservazione secondo la IUCN.

Specie	Conv. di Berna	Direttiva Habitat	Conv. di Washington	Reg. (CE) 338/97	Status IUCN	Status IUCN Italia
<i>Testudo graeca</i>	All. II	All. IV	App. II	All. A	VU	NT
<i>Testudo hermanni</i>	All. II	All. II, IV	App. II	All. A	NT	EN
<i>Testudo marginata</i>	All. II	All. II, IV	App. II	All. A	LC	NT

In particolare, *Testudo graeca* è tutelata dalla Convenzione di Berna (All. II), inclusa nella Convenzione di Washington (CITES, App. II), nell'Allegato A del Regolamento (CE) 338/97 con cui l'Unione Europea recepisce la normativa CITES e nell'Allegato IV della Direttiva Habitat. La specie è classificata secondo la IUCN come Vulnerabile (VU) a livello internazionale (Tortoise & Freshwater Turtle Specialist Group, 1996. *Testudo graeca*. The IUCN Red List of Threatened Species 1996: e.T21646A9305693. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1996.RLTS.T21646A9305693.en>. Downloaded on 04 April 2018) e come specie Quasi Minacciata (NT, *Near Threatened*) a livello nazionale (Rondinini *et al.*, 2013).

Testudo hermanni è inserita nella lista rossa dell'IUCN nella categoria NT (van Dijk, P.P., Corti, C., Pérez-Mellado, V. & Cheylan, M. 2004. *Testudo hermanni*. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T21648A9306057. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T21648A9306057.en>. Downloaded on 04 April 2018) a livello internazionale mentre a livello nazionale è stata collocata nella categoria In Pericolo (EN, *Endangered*) (Rondinini *et al.*, 2013) ed è presente nell'Allegato II della Convenzione di Berna, negli Allegati II e IV della Direttiva Habitat, nell'Appendice II della CITES e nell'Allegato II del Reg.(CE) 338/97.

Testudo marginata è protetta dalla Convenzione di Berna (All. II), dalla Convenzione di Washington (App. II), dal Reg.(CE) 338/97 (All. A) e dalla Direttiva Habitat (All. II e All. IV). Nella classificazione di

rischio stilata dalla IUCN è inserita nella categoria di Minor Preoccupazione (LC, *Least Concern*, van Dijk, P.P., Lymberakis, P. & Böhme, W. 2004. *Testudo marginata*. The IUCN Red List of Threatened Species 2004: e.T21653A9307262. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2004.RLTS.T21653A9307262.en>. Downloaded on 04 April 2018) a livello internazionale mentre a livello nazionale è inserita nella categoria Quasi Minacciata (NT, Rondinini *et al.*, 2013).



Figura 2. Individui adulti di *Testudo graeca* (a sinistra), *T. hermanni* (in alto a destra) e *T. marginata* (in basso a destra) fotografati rispettivamente in Sardegna centro-occidentale, Toscana meridionale, Sardegna nord-orientale.

2.2. Biologia

2.2.1. Distribuzione del genere *Testudo* in Italia

In Italia sono presenti tre specie di *Testudo* allo stato naturale: *T. graeca*, *T. hermanni* e *T. marginata*. *T. graeca* è distribuita in Nordafrica (Marocco, Algeria, Tunisia, Tripolitania, Cirenaica), in Spagna meridionale, sulle Isole Baleari e Pitiuse, in Sardegna, nei Balcani sudorientali (in Serbia, Grecia settentrionale, Bulgaria, Romania), in Medio Oriente (Palestina, Libano, Siria, Giordania, Anatolia), in Transcaucasia e lungo le coste nord-orientali del Mar Nero fino al Kurdistan e all'Iran; *T. hermanni* è presente in Europa meridionale dal Bosforo fino alla Catalogna e in Romania; *T. marginata* è caratterizzata da una distribuzione molto meno ampia ed è di fatto presente in Macedonia, Grecia, Albania meridionale e Sardegna.

In Italia *T. graeca*, la testuggine moresca, si trova esclusivamente in Sardegna dove la specie risulta naturalizzata. Le popolazioni vitali sono concentrate nella porzione centro-occidentale dell'isola maggiore e sull'Isola di Mal di Ventre (Borri *et al.*, 1988; Corti *et al.*, 2007a, b; Bassu *et al.*, 2008; Vamberger *et al.*, 2010, 2011), mentre le segnalazioni nelle altre porzioni della regione sembrano essere relative a individui isolati (Lanza & Corti, 1993, 1996; Fritz *et al.*, 1995; Bassu *et al.*, 2008) (Figura 3). Anche per l'Italia peninsulare vi sono alcune segnalazioni (di individui appartenenti a diverse sottospecie) ma attribuibili a individui introdotti, abbandonati o fuggiti dalla cattività.

Analogamente, anche *T. marginata* è presente con popolazioni stabili solo in Sardegna, in particolare nella parte nord e nord-orientale dell'Isola (Carpaneto, 2006; Corti *et al.*, 2007b; Bassu *et al.*, 2008; Corti, 2016), dove la specie è stata introdotta in tempi storici. Si trova anche in numerose isole minori tra cui Molara, San Pietro, Tavolara, Budelli, Santa Maria, La Maddalena, Caprera (Poggesi *et al.*, 1995; Corti *et al.*, 2014) (Figura 3). Per la Penisola, invece, sono note solo segnalazioni sporadiche e isolate relative a individui rilasciati illegittimamente in natura e/o sfuggiti alla cattività.

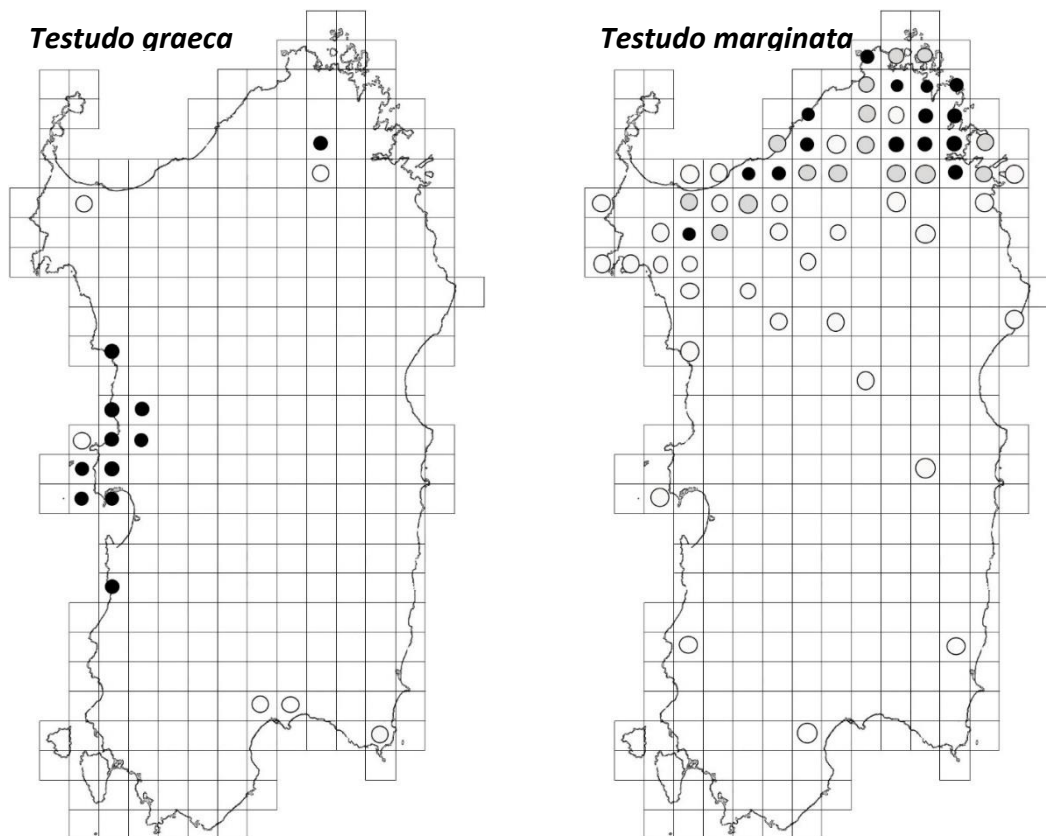


Figura 3. Distribuzione di *Testudo graeca* (a sinistra) e *T. marginata* (a destra) in Sardegna con indicazione della consistenza numerica degli avvistamenti (bianco: avvistamenti isolati; grigio: fino a 4 individui; nero: più di 4 individui) in un reticolo UTM con maglie di 10×10 km (da Corti *et al.*, 2013a, modificato).

Testudo hermanni, autoctona (*T. hermanni hermanni*), è l'unica delle tre specie di *Testudo* a presentare un areale più ampio nel territorio nazionale (porzione peninsulare e isole), anche se piuttosto frammentato. In Figura 4 è rappresentata la distribuzione della specie in base all'aggiornamento svolto da Corti *et al.* (2013a): i dati si riferiscono sia alla presenza di popolazioni (autoctone e alloctone), sia a osservazioni accidentali di individui isolati rinvenuti in *habitat* e aree potenzialmente idonee alla specie (come, ad esempio, nel caso delle Marche e della Liguria, regioni per le quali i dati di presenza si riferiscono a testuggini in stato di cattività o semi-cattività). Per una lettura critica della mappa si rimanda a Corti *et al.*, 2013b.

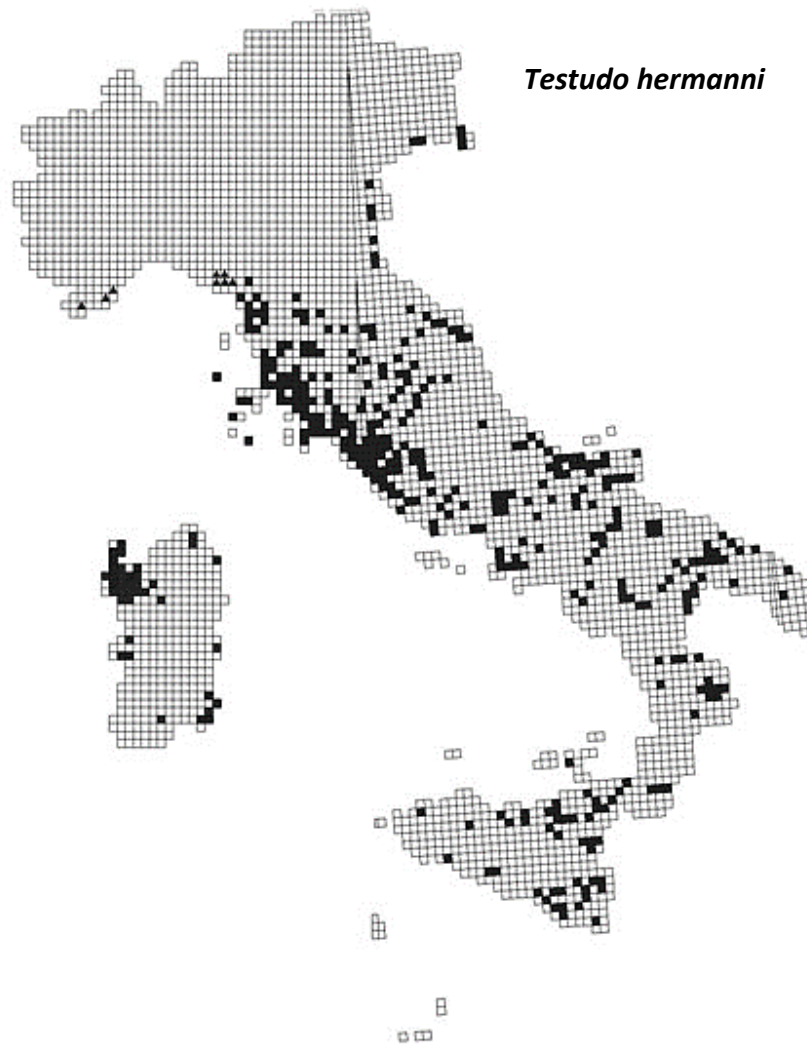


Figura 4. Distribuzione di *Testudo hermanni* in Italia riportata sul reticolo UTM con maglie di 10×10 km. Con il simbolo triangolare, utilizzato per la Liguria, sono identificate le segnalazioni pervenute al servizio CITES del Corpo Forestale dello Stato, di animali riscontrati in ambienti potenzialmente idonei alla specie (da Corti *et al.*, 2013a).

L'Italia centrale, lungo la fascia costiera tirrenica di Toscana e Lazio, è la parte dell'areale dove la distribuzione di *T. hermanni* risulta essere decisamente più continua e diffusa. Nel resto dell'Italia centrale, ovvero nelle zone appenniniche umbre (e nella fascia costiera marchigiana in cui tuttavia attualmente non sono note popolazioni naturali) e in Abruzzo, la distribuzione è invece piuttosto frammentata e rarefatta.

Nell'Italia settentrionale la presenza della specie è nettamente scarsa rispetto al resto del territorio nazionale: in quest'area infatti la specie mostra una distribuzione limitata a relativamente pochi siti concentrati nella zona costiera adriatica (Friuli-Venezia Giulia, Veneto, Emilia Romagna) dove spesso i nuclei presenti sono ascrivibili alla sottospecie *T. h. boettgeri* e in quella del Mar Ligure. Per quanto

riguarda la Liguria (generalmente non inclusa nella distribuzione di *T. hermanni*, cfr. Mazzotti, 2006 e Cheylan *et al.*, 2010), le segnalazioni si riferiscono ad avvistamenti di animali trovati in *habitat* potenzialmente idonei alla specie, anche se non sono ritenute relative a individui autoctoni. Si ricorda tuttavia che la specie è presente nelle vicina Provenza anche se non con popolazioni particolarmente numerose.

Nell'Italia meridionale *T. hermanni* è presente lungo le fasce costiere e nell'entroterra, sia lungo il versante tirrenico sia in quello adriatico, sebbene la distribuzione presenti alcune aree di discontinuità. Recentemente le conoscenze sulla distribuzione hanno portato ad ampliare l'areale soprattutto in territori della Basilicata e del Cilento (Corti *et al.*, 2013a, b).

Per quanto riguarda le isole maggiori, in Sardegna *T. hermanni* è distribuita essenzialmente nel settore nord occidentale dell'Isola, prevalentemente nella Nurra, nel Sassarese, sulle isole dell'Asinara e Piana dell'Asinara e in parte della Romangia. Gli altri dati di presenza in questa regione, presumibilmente ad esclusione della fascia costiera della Sardegna sud-orientale (Figura 4), sono invece relativi a segnalazioni isolate riferibili, con tutta probabilità, a individui traslocati. In Sicilia la specie appare più diffusamente distribuita nella parte occidentale dell'isola. In particolare, *T. hermanni* sembrerebbe mostrare una concentrazione relativamente discreta nel settore degli Iblei, nell'area pedemontana dell'Etna, nei Peloritani e nel versante settentrionale, in corrispondenza delle aree dei Nebrodi e delle Madonie (Giacalone *et al.*, 2008; Turrisi, 2008).

2.2.2. Note sulla biologia: *habitat* e ciclo annuale di attività

Testudo graeca in Sardegna frequenta prevalentemente ambienti caratterizzati dalla compresenza di macchia o bosco e zone aperte, comprese le aree agricole abbandonate o a basso impatto di gestione, sia lungo la costa sia a quote collinari/montane (Carpaneto & Corti, 2010) (Figura 5). Generalmente negli ambienti frequentati dalla specie prevale la vegetazione mediterranea, di macchia e/o boschiva. Indicazioni sul tasso di attività si hanno per l'Isola di Mal di Ventre, in cui è stata registrata una sospensione solo nei mesi estivi, caratterizzati da elevate temperature e condizioni di siccità che riducono drasticamente la disponibilità trofica (Corti *et al.*, 2007).

La testuggine di Hermann si trova sia lungo le coste sia in aree interne, fino a oltre 900 m s.l.m. (Romano *et al.*, 2013). Anche per questa specie appare importante l'alternanza tra aree di macchia o boschive e aree aperte, più adatte al foraggiamento. In genere la sua presenza è associata a boschi xerofili e/o a macchia mediterranea. Può frequentare anche coltivi, soprattutto se poco gestiti o in

abbandono. La stagione di massima attività è la primavera che coincide con il periodo degli accoppiamenti, seguita da un secondo picco in autunno. Generalmente, nei periodi più freddi si ha una fase di ibernazione (che manca tuttavia in aree con clima particolarmente mite).

In Sardegna *T. marginata* si trova dal livello del mare fino a circa 600 m. La specie frequenta preferenzialmente ambienti aridi con emergenze rocciose, caratterizzati da macchia mediterranea e gariga (Figura 6). Non si hanno studi ecologici sulle popolazioni italiane; in altre zone del suo areale la testuggine marginata iberna nei mesi più freddi ed estiva in quelli più caldi e aridi (Willensem, 1995).



Figura 5. Ambienti frequentati da *Testudo graeca* in Sardegna.



Figura 6. Ambienti frequentati da *Testudo marginata* in Sardegna.

2.2.3 Approfondimento sugli ambienti frequentati da *Testudo hermanni* in Italia

In base agli studi svolti nell'ambito dei progetti propedeutici alla stesura delle Linee Guida (Corti *et al.*, 2015, 2016), sono state svolte analisi floristiche su un totale di 18 siti, distribuiti in 9 regioni (Toscana, Lazio, Abruzzo, Molise, Campania, Puglia, Basilicata, Calabria, Sardegna) e interessati dalla presenza stabile o da avvistamenti recenti di *Testudo hermanni* e ulteriori siti sono stati visitati in Sicilia.

Tutti i siti rientrano nella Regione fitogeografica Mediterranea, come tradizionalmente definita da Takhtajan (1986) e Rivas-Martínez *et al.* (2004). Seguendo la mappatura ecoregionale recentemente proposta da Blasi *et al.* (2010, 2014) che per ciascuna sezione indica anche la vegetazione naturale potenziale (Blasi *et al.*, 2014), i siti in oggetto risultano appartenere a due divisioni, quella temperata e quella mediterranea, come di seguito schematizzato. Per ogni divisione si riporta una breve descrizione dei siti censiti (alcuni dei quali sono stati raggruppati per vicinanza geografica e per avere analoghe caratteristiche), a testimonianza della tipologia di ambienti frequentati dalla testuggine di Hermann (Figura 7 - Figura 10).

Divisione temperata

Provincia appenninica

1. Sezione appenninica centro-meridionale.

- Campania (Alta Irpinia): ampia area caratterizzata da un insieme eterogeneo di tipi di vegetazione e di ambienti in cui l'originaria copertura di boschi mesofili di latifoglie, ancora presenti in discreta quantità, è stata in parte sostituita da aree a pascolo, coltivi cerealicoli, sporadici oliveti e rimboschimenti a conifere.

Divisione mediterranea

Provincia tirrenica

1. Sezione tirrenica centro-settentrionale.

- Toscana (Maremma Grossetana): area di contatto tra la macchia mediterranea dominata da leccio e sclerofille e ambienti antropogenici tra i quali argini falciati, vegetazione di recupero da incendio con *Cistus* e *Ampelodesmos*, oliveti e coltivi a ciclo annuale, poco distante dalla costa.

2. Sezione tirrenica meridionale.

- Campania (Casertano): fascia costiera con vegetazione dunale e retrodunale, comprensiva anche di una pineta vetusta a *Pinus pinea*;
- Campania (Casertano): rilievo calcareo in area interna, con pendii rocciosi aridi adibiti perlopiù a pascolo, coperti da rada vegetazione a gariga e pratelli terofitici, tuttavia con impluvi occupati da densi lembi residuali di bosco di latifoglie decidue; pendici inferiori lambite da coltivi e oliveti con siepi e margini incolti ad alte erbe;
- Calabria (Provincia di Cosenza): due siti agricoli, collocati in un'area interna, prevalentemente caratterizzati dall'alternarsi di colture (perlopiù cerealicole, talora oliveti e frutteti) all'interno delle quali i soli, seppur numerosi, elementi di vegetazione arborea o arbustiva sono quelli lineari delle siepi di confine. La presenza di numerose archeofite lascia immaginare su gran parte dei terreni la permanenza di pratiche colturali tradizionali con scarso uso di sostanze chimiche e diserbanti;
- Calabria (Catanzarese): zona caratterizzata da oliveti e frutteti abbandonati, oggi adibiti a pascolo ma in massima parte in via di colonizzazione da parte del bosco di querce che si trova tutto intorno. Il mosaico tra erbosi, arbusti e bosco è localmente molto serrato, ma probabilmente effimero;
- Calabria (Sila): vigneti abbandonati, rimboschimenti a *Eucalyptus* e vegetazione degradata lungo un crinale dal substrato conglomeratico-gessoso. Si osserva un discreto mosaico di tipi vegetazionali, in cui tuttavia la presenza di erbosi e arbusteti radi è evidentemente il frutto di un'azione antropogenica (pascolo, incendio, residui di coltivazione): la vegetazione matura è di bosco di latifoglie.
- Calabria (pendici dell'Aspromonte): valle di una fiumara, zona ad ampio intervallo altitudinale, dalla prossimità dell'alveo fluviale alla fascia del castagno, dove la vegetazione climacica è ampiamente rappresentata da boschi di farnetto. Gli spazi aperti nel bosco sono perlopiù interessati da pascolo o prodotti di incendio.

3. Sezione siciliana.

- Sicilia centro-orientale: contesto caratterizzato da un mosaico di coltivazioni cerealicole e di vaste aree occupate da coltivi abbandonati, nelle quali prevalgono le formazioni ad *Ampelodesmos mauritanicus*; una parte delle aree ispezionate si trova a ridosso di cospicue emergenze rocciose, dove si osservano microhabitat più freschi e umidi occupati da roveti;

- Sicilia sud-orientale: vasta area riforestata a sughera e altre essenze arboree a margine di pascoli e coltivi cerealicoli, con alcuni corpi idrici;
- Sicilia nord-occidentale (Palermitano): contesti forestali rappresentati da boschi cedui e pascoli, il cui strato erbaceo presenta un denso grado di copertura; alcuni di questi sono ubicati in prossimità di corpi idrici permanenti.

4. Sezione sarda.

- Isola dell'Asinara: vasta area, per la maggior parte coperta da gariga, con la componente arbustiva dominata da sclerofille o da *Euphorbia arborea*, *Astragalus terraccianoi* e *Centaurea horrida*, vegetazione naturale sulle fasce litoranee e sui crinali più impervi delle scogliere ma diffusa altrove per l'antico regresso, per taglio e incendio, del bosco di leccio. Estesi elementi erbosi, interessati oggi esclusivamente dal pascolo dei numerosi ungulati presenti nell'area, si alternano ad arbusteti. Sull'isola Piana le rocce affioranti e il profilo più morbido creano anche un mosaico litoraneo con bassure salse a salicornieto.
- Sardegna nord-occidentale (Sassarese): mosaico di macchia mediterranea, rimboschimenti a *Pinus pinea*, coltivi ed ex-coltivi. La vegetazione naturale sarebbe la lecceta, con la gariga circoscritta presumibilmente solo ai margini delle scogliere.

Provincia adriatica

1. Sezione adriatica centrale.

- Abruzzo (Chietino): Ambienti eterogenei costituiti da residuo bosco sub-mediterraneo a dominanza di roverella e dalle circostanti aree agricole, adibite sia alla coltivazione di cereali e ortaggi che a quella dell'olivo, all'interno delle quali esistono ancora numerosi elementi di discontinuità (canneti, siepi, lembi relittuali di bosco).

2. Sezione adriatica meridionale.

- Molise (Campobassano): lembi residui di vegetazione dunale e retrodunale litoranee alla foce di un torrente.
- Basilicata (Murgia Materana): calanchi argillosi naturali al limite di ampie zone coltivate. I più o meno estesi lembi di vegetazione arbustiva rada, a margine dei coltivi cerealicoli, vanno interpretati come fasce transizionali mantenute da taglio, pascolo e/o incendio e altrimenti destinate a evolvere in bosco di latifoglie. Nei campi sono

presenti numerose archeofite, testimonianza di pratiche colturali tradizionali con scarso uso di sostanze chimiche e diserbanti;

- Puglia (Murgia Tarantina): impianti artificiali a *Pinus pinaster* con rado sottobosco a *Pistacia lentiscus* e vegetazione arbustiva con ampi spazi aperti sul margine che degrada ripido verso la gravina; substrato calcareo e ampia area non distante da una zona di gravine, ma con substrato calcareo compatto e terreno sciolto solo superficiale, con boschi interni submediterranei a latifoglie alternati ad ampie aree di pascolo, coltivi e vegetazione arbustiva di transizione; il mosaico tra tessere prative e con vegetazione densa è in alcuni punti piuttosto articolato;
- Puglia (Salento): isolato residuo di vegetazione costiera su formazione calcarea compatta con fenomeni carsici. La fascia litoranea è caratterizzata da scogliere con scarsa vegetazione alofila a *Limonium* ma nell'interno si trovano bassure salmastre con salicornieto ed estesi appezzamenti adibiti a pascolo in cui si alternano erbosi a nuclei di vegetazione arbustiva a sclerofille; per la presenza di roccia superficiale in gran parte della zona è modesta la possibilità di evoluzione della gariga in bosco.
- Puglia (radice della Penisola Garganica) area in cui mare e acque interne delimitano un ambiente dominato da vegetazione dunale a ginepri, garighe retrodunali a dominanza di *Rosmarinus officinalis*, sparsi rimboschimenti a *Pinus pinea* e nuclei di *Pinus halepensis* e con lembi residui di macchia a sclerofille e di bosco di leccio sopravvissuta ai recenti incendi e per questo sostituita in varie parti del mosaico da vegetazione con dominanza di *Cistus*.



Figura 7. Ambienti frequentati da *Testudo hermanni* nella Sezione tirrenica centro-settentrionale, in Toscana (Maremma Grossetana, in alto) e nella Sezione tirrenica meridionale, in Campania (Casertano, in basso).



Figura 8. Ambienti frequentati da *Testudo hermanni* nella Sezione tirrenica meridionale, in Calabria. Dall'alto verso il basso: sulla Sila, nel Catanzarese e sulle pendici dell'Aspromonte.



Figura 9. Ambienti frequentati da *Testudo hermanni* nella Sezione sarda, sull'Isola dell'Asinara (in alto e al centro) e sull'Isola Piana dell'Asinara (in basso).

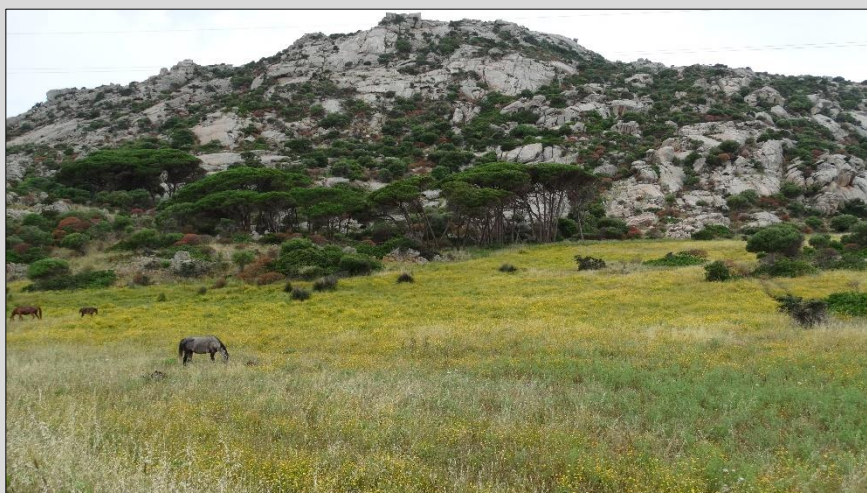




Figura 10. Ambienti frequentati da *Testudo hermanni* nella Sezione adriatica centrale, in Abruzzo (Chietino, in alto) e nella Sezione adriatica meridionale, in Basilicata (Murgia Materana, al centro) e in Puglia (Penisola Garganica, in basso).



Nell'ambito dei siti sopraelencati sono stati individuati 17 *habitat* prioritari, secondo la Direttiva Habitat 92/43/CEE (Tabella 2).

Tabella 2. Elenco degli *habitat* prioritari secondo la Direttiva Habitat 92/43/CEE individuati in 18 siti interessati dalla presenza stabile o da avvistamenti recenti di *Testudo hermanni* in Italia (Corti *et al.*, 2016)

Habitat prioritari secondo la Direttiva Habitat 92/43/CEE	
1420	Praterie e fruticeti alofili mediterranei e termo-atlantici (Sarcocornietea fruticosi)
2210	Dune fisse del litorale (Crucianellion maritimae)
2230	Dune con prati dei Malcolmietalia
2240	Dune con prati dei Brachypodietalia e vegetazione annua
2250*	Dune costiere con <i>Juniperus</i> spp.
2260	Dune con vegetazione di sclerofille dei Cisto-Lavanduletalia
2270*	Dune con foreste di <i>Pinus pinea</i> e/o <i>Pinus pinaster</i>
5330	Arbusteti termo-mediterranei e pre-desertici
5410	Phrygane del Mediterraneo occidentale sulla sommità di scogliere
5430	Frigane endemiche dell'Euphorbio-Verbascion
6210(*)	Formazioni erbose secche seminaturali e facies coperte da cespugli su substrato calcareo (Festuco-Brometalia)
6220*	Percorsi substepnici di graminacee e piante annue dei Thero-Brachypodietea
62A0	Formazioni erbose secche della regione submediterranea orientale (Scorzoneratalia villosae)
6420	Praterie umide mediterranee con piante erbacee alte del Molinio-Holoschoenion
9250	Querceti a <i>Quercus trojana</i>
91M0	Foreste Pannonico-Balcaniche di cerro e rovere
9340	Foreste di <i>Quercus ilex</i> e <i>Quercus rotundifolia</i>

In 9 dei suddetti 18 siti (relativi a 6 regioni) è stata effettuata un'analisi floristica approfondita che ha portato al censimento di 675 specie di piante vascolari appartenenti a 354 generi (Corti *et al.*, 2016). L'analisi è stata condotta entro 1,5 km di raggio da ciascun punto di osservazione di *T. hermanni*, basandosi sui dati noti in letteratura sugli spostamenti medi di questa specie (Chelazzi & Francisci 1979; Cheylan *et al.* 2010). In generale, le famiglie più rappresentate in termini di diversità specifica sono risultate le *Fabaceae* (13,9%), le *Asteraceae* (11,9%) e le *Poaceae* (11,3%), mentre

considerando la copertura (\approx biomassa) relativa l'ordine delle famiglie prevalenti cambia in *Poaceae* (8,7%), *Fabaceae* (6,4%) e *Asteraceae* (5,3%) seguite dalle *Fagaceae* (3,6%) che con le poche specie del genere *Quercus* costituiscono la gran parte della biomassa vegetale delle componenti boschive (i valori relativi alle famiglie più rappresentate in termini di copertura/biomassa, evidentemente, differiscono in relazione all'uso del suolo considerato, ad esempio, aree agricole, boschi, vegetazione mista arbustiva ed erbacea).

Facendo un confronto assoluto tra i 9 siti, il livello di condivisione a livello specifico appare molto basso, con sole 7 specie (1%) condivise da 7 siti (sui 9 totali) ed una sola specie (*Briza maxima* L.) presente in tutti i siti. Anche a livello di genere, la condivisione floristica resta piuttosto bassa: 14 generi (4%) sono rappresentati in 7 siti su 9, 2 generi (*Briza* e *Trifolium*) in tutti i siti.

All'interno di tre dei nove siti, localizzati in Toscana, Puglia e Sardegna e caratterizzati dalla presenza stabile di popolazioni di *T. hermanni*, il confronto della diversità floristica è stato svolto anche tenendo conto delle specie edibili da parte delle testuggini (Corti *et al.*, 2015). Su un totale di 345 specie di piante vascolari, in base a dati di letteratura e a osservazioni inedite, 187 risulterebbero potenzialmente edibili per *T. hermanni*. Dai risultati riportati in Tabella 3 si può notare che l'affinità floristica tra le coppie di siti sale considerando i taxa edibili rispetto alla totalità dei taxa, soprattutto a livelli tassonomici superiori, a evidenziare un probabile effetto di "vicarianza alimentare" di una specie rispetto all'altra (le percentuali di condivisione tra i tre siti sono notevolmente maggiori se il confronto viene fatto a livello di generi piuttosto che di specie).

Tabella 3. Quadro sintetico della distribuzione di specie e generi delle tracheofite censite nei tre siti studiati in Puglia (P), Sardegna (S) e Toscana (T). (da Corti *et al.*, 2015).

Taxa totali	TOTALE	P	S	T	P \cap S	S \cap T	P \cap T	P \cap S \cap T
n. specie (%)	345 (100%)	136 (39,4%)	141 (40,9%)	175 (50,7%)	49 (14,2%)	54 (15,7%)	45 (13,0%)	29 (8,4%)
n. generi (%)	229 (100%)	121 (52,8%)	107 (46,7%)	133 (58,1%)	55 (24,0%)	56 (24,5%)	57 (24,9%)	36 (15,7%)
n. famiglie (%)	65 (100%)	48 (73,8%)	42 (64,6%)	53 (81,5%)	32 (49,2%)	42 (64,6%)	36 (55,4%)	32 (49,2%)
Taxa potenzialmente edibili								
n. specie (%)	187 (100%)	65 (34,8%)	85 (45,5%)	104 (55,6%)	29 (15,5%)	36 (19,3%)	26 (13,9%)	18 (9,6%)
n. generi (%)	115 (100%)	55 (47,8%)	60 (52,2%)	77 (67,0%)	31 (27,0%)	37 (32,2%)	32 (27,8%)	23 (20,0%)
n. famiglie (%)	28 (100%)	24 (85,7%)	20 (71,4%)	23 (82,1%)	18 (64,3%)	20 (71,4%)	20 (71,4%)	18 (64,3%)

Un ulteriore tipo di confronto della diversità floristica è stato fatto considerando le tipologie di ambiente rappresentate. Eliminate dalle superfici di studio quelle di fatto non frequentate dalle testuggini terrestri (es. abitati e ambienti acquatici, ovvero mare e acque interne), ogni area è stata ripartita in un reticolato con maglie di 100 m di lato, ciascuna delle quali è stata assegnata, secondo un principio di dominanza assoluta, ovvero una copertura dell'*habitat* superiore al 50%, a uno dei seguenti quattro tipi di vegetazione principale: prato (pascoli, incolti e coltivi); gariga (arbusteti radi, mosaico di arbusti e zone prative esposte con tessere inferiori ai 10 mq ciascuna); macchia (arbusteti densi con scarsa presenza di specie erbacee, lecceta); bosco (rimboschimenti a *Pinus pinea*).

Per ciascun sito ammonta a oltre un quinto, rispetto alla lista totale, la rappresentanza delle specie edibili censite in ambienti prativi, in accordo con l'attitudine delle testuggini alla scelta preferenziale degli spazi aperti per il foraggiamento. Molti dei valori aumentano in egual misura per le specie della "macchia", sia nel confronto a coppie che in quello generale, mentre sono in ribasso i valori riguardanti "prato" e "gariga". Il motivo di tale differente variazione potrebbe risiedere nel fatto che la componente erbacea, prevalente in questi due tipi di *habitat* (prato e gariga), risente maggiormente dell'eterogeneità degli elementi floristici su scala regionale e locale (fenomeni di vicarianza).

Per quanto concerne i taxa (29) condivisi tra tutti e tre i siti (Tabella 4), si tratta di specie e sottospecie a larga distribuzione e tuttavia caratteristiche, se non esclusive, degli ambienti mediterranei. Mentre non può essere automatico identificare in questa lista le entità cardinali della dieta di *T. hermanni*, si può invece ritenere che ragionevolmente essa contenga delle "specie guida".

La zonazione dei siti che ha consentito di misurare le percentuali relative per ciascun tipo di ambiente e che ha evidenziato una netta prevalenza di macchia e gariga per i due siti peninsulari (Toscana, 851 ha: circa 66% macchia, 15% gariga, 19% prativi; Puglia, 1066 ha: circa 52% gariga, 11% macchia, 31% prativi) e di ambienti prativi e gariga nel sito in Sardegna (1098 ha: circa 54% prativi, 23% gariga, 14% pineta) mostra che le differenze macroscopiche tra i tre siti (e in generale tra molti dei siti frequentati dalla specie) vanno ricondotte ai diversi usi del suolo e al diverso grado di impatto (diretto o indiretto) delle attività antropiche piuttosto che a fattori ecologici primari. Si tratta infatti di ambienti (e, in definitiva, di fitocenosi) che nella loro naturale dinamica tendono ad evolvere in lecceta (più raramente, in querceto caducifoglio) come stadio climacico. Una chiave di lettura certamente decisiva nell'individuazione di elementi condivisi va ricercata nell'articolato mosaico che le varie fitocenosi, collegate l'una all'altra da contatti seriali, definiscono in ciascuno dei tre siti. I rilievi svolti indicano che le testuggini, almeno nelle fasi di maggiore attività e di effettivo

foraggiamento, si trovano prevalentemente, se non esclusivamente, in *habitat* di transizione, ovvero garighe con alternanza di arbusti ed erbosi o margini lineari di contatto tra macchia densa e ambienti aperti, inclusi talvolta i coltivi (poco gestiti o abbandonati). Tali ambienti garantiscono, ad esempio, una fitta alternanza tra zone di rifugio e di foraggiamento, così come tra zone aperte adatte all'attività di *basking* e zone chiuse, nell'arco di pochi metri o decine di metri.

Tabella 4. Taxa edibili da parte di *Testudo hermanni* comuni a tre aree geograficamente distanti, in Toscana, Puglia e Sardegna, caratterizzate dalla presenza stabile di popolazioni della specie. (da Corti *et al.*, 2015).

Famiglia	Taxon
Poaceae	<i>Aegilops geniculata</i> Roth
Primulaceae	<i>Anagallis arvensis</i> L.
Asparagaceae	<i>Asparagus acutifolius</i> L.
Poaceae	<i>Avena barbata</i> Pott ex Link
Poaceae	<i>Briza maxima</i> L.
Cistaceae	<i>Cistus creticus</i> subsp. <i>eriocephalus</i> (Viv.) Greuter & Burdet
Cistaceae	<i>Cistus monspeliensis</i> L.
Cistaceae	<i>Cistus salvifolius</i> L.
Asteraceae	<i>Crepis vesicaria</i> L.
Poaceae	<i>Cynosurus echinatus</i> L.
Asteraceae	<i>Galactites tomentosa</i> Moench
Asteraceae	<i>Hypochoeris achyrophorus</i> L.
Linaceae	<i>Linum bienne</i> Mill.
Linaceae	<i>Linum strictum</i> L.
Poaceae	<i>Lolium rigidum</i> Gaudin
Caprifoliaceae	<i>Lonicera implexa</i> Ait.
Poaceae	<i>Piptatherum miliaceum</i> (L.) Coss.
Anacardiaceae	<i>Pistacia lentiscus</i> L.
Fagaceae	<i>Quercus ilex</i> L.
Brassicaceae	<i>Raphanus raphanistrum</i> L.
Rhamnaceae	<i>Rhamnus alaternus</i> L.
Rubiaceae	<i>Rubia peregrina</i> L.
Asteraceae	<i>Senecio vulgaris</i> L.
Rubiaceae	<i>Sherardia arvensis</i> L.
Caryophyllaceae	<i>Silene gallica</i> L.
Caprifoliaceae	<i>Sixalix atropurpurea</i> subsp. <i>maritima</i> (L.) Greuter & Burdet
Asteraceae	<i>Sonchus bulbosus</i> (L.) N. Kilian & Greuter
Poaceae	<i>Trachynia distachya</i> (L.) Link
Fabaceae	<i>Trifolium angustifolium</i> L.

2.2.4. Dieta

Sull'alimentazione delle testuggini appartenenti al genere *Testudo* in natura esiste un numero relativamente ristretto di pubblicazioni, attestanti una dieta prevalentemente vegetariana, con eventuali inclusioni di artropodi, chioccioline, carogne ed escrementi.

Attualmente non vi sono studi specifici sulla dieta di *T. graeca* in Italia. Le indagini esistenti, riferite a popolazioni iberiche e nord-africane, indicano uno spettro alimentare piuttosto ampio, prevalentemente vegetariano, con occasionale consumo di invertebrati: 80 sono le specie elencate nella dieta della testuggine moresca nel Parco nazionale spagnolo di Doñana, con prevalenza di Poaceae, Fabaceae, Asteraceae, Juncaceae (Andreu, 1987; Diaz-Paniagua & Andreu, 2005). Nella regione desertica di Jbilets, in Marocco, le specie vegetali riscontrate nelle feci di *T. graeca* sono risultate 34, di cui il 70% rappresentato da sole 5 specie appartenenti alle famiglie Asteraceae, Fabaceae e Malvaceae (El Mouden *et al.*, 2005). Nel parco nazionale di El Kala, in Algeria, il 70% delle piante consumate appartiene alle famiglie Fabaceae, Asteraceae, Primulaceae e Caryophyllaceae e le specie rappresentate sono almeno 16. Questa minore varietà della dieta viene attribuita dagli autori a una minore ricchezza di specie vegetali propria dell'*habitat* di El Kala e non a una scelta alimentare delle testuggini (Rouag *et al.*, 2008). La composizione della dieta della sottospecie *T. graeca* iberica in Romania risulta essere simile a quella degli studi sopracitati, nonostante l'*habitat* diverso rispetto a quello nord-africano; le specie vegetali più rappresentate appartengono alle famiglie Asteraceae, Fabaceae e Poaceae e, in minor misura, alle Lamiaceae e alle Rosaceae (Iftime & Iftime, 2012).

Considerando l'insieme delle fonti bibliografiche disponibili, *T. hermanni* sembra includere nella propria dieta un elevato numero di specie vegetali, ovvero più di 130 appartenenti a oltre 40 famiglie (Cheylan *et al.*, 2010 e bibliografia ivi citata; Del Vecchio *et al.*, 2011), tra cui prevalgono Asteraceae, Fabaceae e secondariamente Poaceae e Ranunculaceae. La prevalenza della famiglia delle Fabaceae potrebbe essere legata all'alto contenuto in proteine e calcio, oltre all'elevata digeribilità tipica degli stadi fenologici iniziali di queste piante. La parte vegetale ad essere maggiormente consumata è rappresentata dalle foglie, specialmente in primavera (Budó *et al.*, 2009). Generalmente *T. hermanni* si ciba di piante annuali, a cui affianca occasionalmente frutta, muschi, alghe ma anche chioccioline, invertebrati, carogne ed escrementi. I risultati preliminari di uno studio svolto su popolazioni in Toscana, Puglia e Sardegna (Cecchi *et al.*, 2015; Corti *et al.*, 2015; Olivieri *et al.*, 2016) ha confermato una dieta composta prevalentemente da piante erbacee tra cui prevalgono, in ordine

di abbondanza nei campioni: Fabaceae, Plantaginaceae, Rubiaceae, Smilacaceae, Caprifoliaceae, Poaceae, Brassicaceae, Rosaceae, Ericaceae, Oleaceae, Fagaceae, Asteraceae, Araliaceae, Lamiaceae, Cistaceae. Solo in un campione sono stati trovati alcuni frammenti di *Quercus ilex*, il leccio e di *Arbutus unedo*, il corbezzolo. Sono stati inoltre identificati semi di *Knautia integrifolia* (ambretta a foglie intere), resti di frutti di *Phillyrea angustifolia* (fillirea a foglie strette), di funghi, muschi e di gusci di chioccioline. Considerata la varietà di specie vegetali di cui si nutrono queste testuggini, la loro strategia alimentare risulta quindi essere versatile e adattabile alle diverse risorse alimentari disponibili nel corso dell'anno (Muñoz *et al.*, 2009). Il sesso non sembra influenzare la composizione della dieta di *T. hermanni*, mentre ci sono differenze stagionali, verosimilmente legate alla diversa disponibilità di risorse (Del Vecchio *et al.*, 2011). Non si hanno studi sulla dieta di *T. marginata* in natura.

2.3. Principali minacce e fattori limitanti

2.3.1 Valutazione dello stato di conservazione a livello nazionale

Tra le tre specie di testuggine terrestri presenti in Italia *Testudo hermanni* è considerata quella più a rischio a livello nazionale ed è classificata come “vulnerabile” nella Lista Rossa IUCN dei Vertebrati Italiani; al contrario, *T. graeca* e *T. marginata* sono inserite in categorie a minor rischio (cfr. Paragrafo 2.1.5).

Per definire lo stato di conservazione di una specie in una determinata area sono necessarie alcune informazioni di base tra cui dati aggiornati sulla sua effettiva distribuzione e sull'entità delle popolazioni (e.g., IUCN, 2012; Rondinini *et al.*, 2013) oltre, auspicabilmente, a dati demografici ed ecologici. In particolare, sarebbero necessari programmi di monitoraggio a lungo termine per verificare l'andamento demografico delle popolazioni, cogliere segnali di eventuali *trend* negativi e/o verificare l'efficacia di misure di conservazione, laddove applicate.

Come visto nei paragrafi introduttivi, un aggiornamento della distribuzione delle tre specie di testuggini terrestri su scala nazionale è stato recentemente svolto da Corti *et al.* (2013a, b).

Le informazioni riguardanti l'entità delle popolazioni per il genere *Testudo* in Italia sono invece molto scarse o datate. La specie per cui si hanno maggiori informazioni su densità di popolazioni, alcune delle quali riassunte in Carpaneto *et al.* (2010), è *T. hermanni*; per *T. graeca* si hanno solo due studi riferiti alla popolazione dell'Isola di Mal di Ventre (Corti *et al.*, 2007) e a una popolazione

della Sardegna centro-occidentale (Biaggini *et al.*, 2018); sulla densità di popolazione di *T. marginata* si ha un solo dato riferito alla Sardegna nord-orientale (Biaggini *et al.*, 2018). Mentre i valori di densità sulla penisola (quindi riferiti alla Testuggine di Hermann) sono piuttosto variabili, in Sardegna sono state stimate densità elevate per le tre specie.

Sono invece inesistenti dati di monitoraggi a lungo termine in Italia. Informazioni analoghe sul lungo periodo sono state fornite da uno studio di Luiselli *et al.* (2014) in cui gli autori hanno dedotto un *trend* negativo per tre popolazioni di *T. hermanni* nel Lazio da serie di avvistamenti nel corso di venti anni.

2.3.2 Degrado e perdita dell'*habitat*

In tutta l'area mediterranea le popolazioni di *Testudo* sono soggette a numerose minacce legate al rapido e drastico cambiamento degli usi del suolo che appare sempre più intenso (e.g. Cheylan, 1984; Lambert, 1984; Hailey *et al.*, 1988; Hailey 2000; Willemsen & Haley 2001; Pérez *et al.*, 2004; Znari *et al.*, 2005; Perez *et al.*, 2012).

Anche in Italia, il genere *Testudo* è fortemente a rischio a causa della progressiva riduzione e frammentazione di ambienti naturali e semi-naturali quali, ad esempio, boschi litoranei e xerofili interni, dune costiere, macchia mediterranea ma anche coltivi e frutteti non intensivi, operati dalla crescente urbanizzazione e dalla diffusione dell'agricoltura di tipo intensivo. L'agricoltura intensiva, in particolare, implica la distruzione di molti *habitat* semi-naturali inclusi nel mosaico tipico del paesaggio agricolo "tradizionale", l'uso di sostanze chimiche e mezzi meccanici e in alcune zone la pratica degli incendi, particolarmente nociva negli ambienti prevalentemente xerofili. L'estensiva variazione negli usi del suolo può essere particolarmente drammatica per specie quali le testuggini del genere *Testudo* che richiedono, per la sopravvivenza di popolazioni vitali, di associazioni di *habitat* ben definite (Rozyłowicz & Popescu, 2013). Legati al problema dell'urbanizzazione sono anche il traffico stradale e la gestione delle scarpate stradali con mezzi meccanici (Corti *et al.*, 2010). La vicinanza dell'uomo e delle attività economiche può aumentare anche il rischio di predazione ad opera di specie selvatiche come il cinghiale, il ratto, il topo o domestiche come il gatto e il cane (Turrisi, 2008).

2.3.3 Traslocazioni e prelievi in natura

Un ulteriore problema di conservazione legato alle testuggini è dato dalla traslocazione degli individui che vengono trovati allo stato libero in natura. Gli animali vengono spesso prelevati in natura (illegalmente), detenuti per un periodo più o meno lungo in cattività e poi rilasciati in un luogo diverso da quello di origine, oppure fuggono dal luogo in cui sono mantenuti in cattività. Questo fenomeno può comportare problemi di vario tipo per le popolazioni autoctone, laddove presenti: vi è, infatti, il rischio di ibridazione con animali provenienti da altre aree, con conseguente inquinamento genetico delle popolazioni locali. La traslocazione da parte dell'uomo di individui della stessa sottospecie può causare alterazioni genetiche degli aplotipi, mentre a causa dello stesso fenomeno si possono avere anche ibridi tra sottospecie diverse (come nel caso del rilascio di individui appartenenti alla sottospecie balcanica *Testudo hermanni boettgeri* in aree in cui persistono popolazioni naturali di *T. hermanni hermanni*); infine, sono noti anche ibridi tra specie (ad es. di *T. graeca iberica* e *T. marginata*, *T. hermanni boettgeri* e *T. horsfieldii*, Carpaneto & Corti, 2010 e bibliografia ivi citata). Alla traslocazione di individui, temporaneamente mantenuti in cattività è legato anche il pericolo di trasmissione di malattie, come per esempio la contaminazione virale dovuta a Herpesvirus, di cui in particolare gli individui di testuggine moresca provenienti dalla porzione orientale dell'areale (*T. graeca iberica*) possono essere portatori sani (Ahne, 1993; Marschang *et al.*, 1997; Marschang & Origgi, 2003; Origgi *et al.*, 2001).

Un altro fenomeno che affligge gravemente le testuggini terrestri è il prelievo illegale in natura a scopo commerciale, pratica che è responsabile di un importante decremento numerico delle popolazioni naturali, purtroppo non ancora stimato.

2.4 Inquadramento delle problematiche sanitarie

2.4.1 Agenti virali e batterici

Al momento l'identificazione dei microrganismi che possono costituire una minaccia per *Testudo* spp. è ancora limitata, tuttavia le conoscenze scientifiche al riguardo permettono di formulare una serie di suggerimenti.

In generale il ricollocamento deve prevedere l'inserimento in natura di soggetti sani che non comportino la diffusione nell'ambiente di agenti patogeni, sia noti sia ancora poco caratterizzati. Purtroppo le condizioni di cattività, che possono prevedere la commistione di specie diverse e con diversa provenienza, a volte anche ad elevata densità, creano dei fattori di rischio per lo sviluppo e la diffusione di malattie sia infettive che infestive. Inoltre, specie diverse di *Testudo* possono mostrare diversa suscettibilità e resistenza alle infezioni.

Due infezioni, conosciute e caratterizzate nelle popolazioni di testuggini, possono essere considerate come principali bersagli dello screening sanitario per le malattie infettive, ossia l'infezione da Herpesvirus e quella da *Mycoplasma* spp.

L'infezione da Herpesvirus può avere effetti notevoli sulle popolazioni di testuggini. Esistono almeno 4 diversi genotipi di Herpesvirus in grado di infettare le testuggini: *Testudinid herpesvirus* (TeHV) 1, 2, 3, 4. Il più temuto, in quanto dotato di maggior potere patogeno e segnalato in Italia, è il TeHV-3. Tali virus hanno la caratteristica di essere in grado di causare infezioni latenti, in cui il virus non replica e non provoca alcuna forma clinica, ma può riattivarsi in seguito a eventi stressanti o immunodepressivi per l'animale. I soggetti che albergano tale tipo di infezione sono asintomatici, ma sono in grado di diffondere il virus (Origgi, 2012). Le infezioni possono essere caratterizzate da elevata mortalità, che può seguire a promiscuità di soggetti di diversa origine e soprattutto di specie differenti, che hanno probabilmente variabile resistenza all'infezione. Infatti, mentre alcune specie sono considerate maggiormente resistenti all'infezione e più frequentemente alberganti infezione latente (es. *T. graeca* e *T. marginata*), altre specie (es. *T. hermanni*) sono considerate altamente suscettibili e manifestano un'elevata mortalità in seguito a infezione (Origgi & Rigoni, 2003; Origgi, 2012; Marenzoni *et al.*, 2018). L'introduzione di soggetti positivi in ambienti con popolazioni naïve potrebbe avere, in alcune particolari situazioni, un impatto considerevole sulla numerosità della popolazione (Martel *et al.*, 2009).

Recenti studi hanno evidenziato che esistono periodi dell'anno maggiormente a rischio per la riattivazione dell'infezione latente, come ad esempio il periodo del risveglio dall'ibernazione, caratterizzato da una fase di immunodepressione fisiologica, per cui è più probabile che i soggetti infetti latentemente e asintomatici eliminino il virus all'esterno (Origgi *et al.*, 2015; Marenzoni *et al.*, 2018).

La seconda infezione da considerare è quella da micoplasmi. Questi microrganismi sono molto diffusi e vengono ritrovati spesso come commensali (Farkas & Gal, 2009; Di Ianni *et al.*, 2015), ma alcune specie sono state riconosciute come causa di malattie gravi a carico dell'apparato respiratorio superiore e associate a mortalità. Infatti *Mycoplasma testudinis* è stato indicato come un agente non patogeno del tratto respiratorio di *T. graeca*, mentre *Mycoplasma agassizii* e *Mycoplasma testudineum* sono stati associati a malattia respiratoria in testuggini sia selvatiche che in cattività in America (Feldman *et al.*, 2006; Lecis *et al.*, 2011; Jacobson *et al.*, 2014). In particolare è documentato che *M. agassizii* abbia causato in America epidemie in popolazioni di testuggini selvatiche una volta introdotti soggetti infetti provenienti da condizioni di cattività (Jacobson *et al.*, 2014). Si ipotizza che l'infezione, sia clinicamente manifesta che asintomatica, poiché comporta l'infiammazione delle prime vie respiratorie, possa avere un impatto sulle popolazioni naturali riducendo la capacità olfattoria delle testuggini, che è invece necessaria per la ricerca del cibo e il riconoscimento dei conspecifici (Jacobson *et al.*, 2014). In Italia al momento esiste solo una segnalazione di *M. agassizii* identificato in Sardegna su sei testuggini selvatiche, di cui tre su sei con segni clinici respiratori (Lecis *et al.*, 2014). Per tutti questi motivi i micoplasmi vengono considerati una seria minaccia ai fini della gestione sia delle popolazioni in cattività che per la conservazione di testuggini in natura (Jacobson *et al.*, 2014). In effetti non si può escludere un ruolo patogeno, da indentificare nel tempo, anche per altri micoplasmi così come accaduto in diverse specie animali. Infine, è da segnalare che le testuggini, e i rettili in generale, sono naturali portatori di salmonelle. Spesso si tratta di specie tipiche di questi animali e perciò dette salmonelle associate ai rettili (RAS, *Reptile Associated Salmonella*). La salmonella va quindi considerata un normale commensale delle testuggini e come tale i soggetti eliminatori non vanno trattati con antibiotici; dove ciò è stato tentato, spesso si sono selezionati ceppi antibiotico-resistenti (Bradley *et al.*, 1998; Harris *et al.*, 2010). Se venissero ricollocate testuggini portatrici di tali ceppi, si potrebbe correre il rischio di introdurre in natura alcuni caratteri di antibiotico-resistenza trasmissibili orizzontalmente anche a batteri che occupano differenti nicchie ecologiche, causando un ampliamento del fenomeno. Analisi svolte in precedenti indagini su *Testudo* in Italia hanno evidenziato che tutti i ceppi di *Salmonella*

spp. isolati, sia in cattività sia in condizioni naturali, sono risultati sensibili agli antibiotici. Le indagini relative all'antibiotico-resistenza dovranno essere effettuate in quei soggetti precedentemente sottoposti a trattamenti antibiotici o che presentino patologie causate da *Salmonella* spp.; *Salmonella* spp. può essere infatti responsabile di malattia nei rettili, agendo da patogeno opportunista, soprattutto se associato a fattori predisponenti, come una inadeguata temperatura ambientale (Pasmans *et al.*, 2002; González-Candela *et al.*, 2005; Sting *et al.*, 2013).

Considerando che sono ancora limitate le informazioni sui microrganismi a potenziale patogeno nelle testuggini, occorre ricordare che esistono anche altri agenti che vengono monitorati nelle popolazioni di *Testudo* in quanto, seppur al momento non segnalati sul territorio nazionale, sono in grado di causare epidemie nelle testuggini di tutto il mondo (esempio *Ranavirus*, *Topivirus*, *Ferlavirus*) o hanno un discusso potere patogeno (*Adenovirus* e *Chlamydia*) (Kolesnik *et al.*, 2017; Mitura *et al.*, 2017; Seimon *et al.*, 2017).

2.4.2 Parassiti

Giardia duodenalis e *Cryptosporidium parvum* sono gli agenti patogeni di due fra le più importanti parassitosi emergenti dell'apparato digerente dell'uomo e di diverse specie di vertebrati domestici e selvatici. Enteropatogeni opportunisti a stretta affinità epidemiologica (van Keulen, 2002; Thompson, 2003), i due protozoi sono ritenuti responsabili di forme cliniche di lieve entità, generalmente autolimitanti, ma che in soggetti giovani ed immunocompromessi possono rivelarsi fatali. In ambiente selvatico come anche in cattività, i rettili, e nel caso specifico, molte specie appartenenti all'Ordine Testudines sono infestate da un'abbondante fauna parassitaria anche in assenza di sintomatologia clinica manifesta; ad esempio le testuggini fungono da ospiti naturali di molte specie di amebe (*Entamoeba terrapene*, *E. testudinis*, *E. clevelandi* ecc.), in genere considerate commensali ma il cui potere patogeno è attualmente in via di definizione alla luce di segnalazioni di sempre più frequenti casi umani di meningoencefaliti provocate da amebe di origine animale (García *et al.*, 2014).

Inoltre è importante valutare e monitorare la popolazione ectoparassitaria nelle testuggini appartenenti al genere *Testudo* da ricollocare sul territorio italiano. In particolare la fauna ixodologica sembra rivestire notevole interesse sia per il ruolo vettoriale (*Tick Borne Pathogens* o

TBPs di interesse medico-veterinario) (Brianti *et al.*, 2010; Paștiu *et al.*, 2012) sia per il loro adattamento agli altri animali allevati.

Le indagini di tipo parassitologico da prevedere su soggetti destinati al ricollocamento sono la ricerca di eventuali individui di zecca e la loro speciazione tramite chiavi morfologiche (Manilla, 1998), nonché la ricerca di patogeni, zoonosici e non, quali *Borrelia burgdorferi* s.l, *Anaplasma phagocytophylum*, *Ehrlichia canis* ed emogregarine del genere *Haemogregarina* spp. tramite l'esecuzione di PCR diagnostiche specifiche (Cook *et al.*, 2009; Paștiu *et al.*, 2012).

In letteratura sono frequenti, nelle testuggini, le segnalazioni di infezioni cutanee di origine micotica sostenute da diversi generi quali *Trichosporon*, *Aspergillus* e *Mucor*; alcune evidenziano gravi alterazioni quali necrosi del carapace o lesioni ulcerative a carico degli arti (Origgi *et al.*, 2000).

Da ultimo, va ricordato il riscontro abbastanza frequente di alterazioni a carico del sistema respiratorio (e.g., polmoniti) legate a miceti del genere *Candida* (Hernandez-Divers, 2001).

3. ITER E AZIONI PREVISTE PER IL RICOLLOCAMENTO

3.1 Selezione degli individui da ricollocare

La base di partenza per poter ricollocare gli individui di *Testudo* deve essere necessariamente la conoscenza del loro stato di salute e la caratterizzazione genetica che ne indichi la macro-area di provenienza.

Un elevato numero di testuggini terrestri (la maggior parte appartenenti alla specie *T. hermanni*), sia *wild* sia oggetto di sequestro o confisca e quindi mantenute all'interno di centri di recupero, è stato analizzato nel corso dei progetti propedeutici alla stesura delle linee guida (Corti *et al.*, 2015, 2016; Olivieri *et al.*, 2016). Tutti gli individui oggetto di indagini sanitarie e genetiche sono stati dotati, nel corso dei suddetti studi, di microchip in modo da consentirne il riconoscimento individuale. Questi dati costituiscono una prima consistente base di partenza per la costruzione di una banca di informazioni genetiche e sanitarie, da implementare nel tempo, riguardante sia le popolazioni selvatiche di *Testudo* sia gli individui sequestrati o confiscati e mantenuti nelle strutture preposte. Questo tipo di conoscenze è essenziale per la programmazione di corrette azioni di ricollocamento in natura.

3.1.1 Indagini sanitarie e parassitologiche

È fondamentale che prima dell'eventuale ricollocamento tutti i soggetti siano sottoposti, a scopo diagnostico e/o epidemiologico, a uno *screening* completo (microbiologico e parassitologico) così come dettagliato nei seguenti punti. La valutazione delle condizioni sanitarie delle testuggini dovrà essere effettuata da medico veterinario esperto nel settore.

Per l'inquadramento delle problematiche sanitarie si rimanda al Paragrafo 2.4.

Agenti virali e batterici

a) Soggetti con infezione latente da *Testudinid herpesvirus* (TeHV-1, 2, 3 e 4). Questi soggetti ospitano il virus in maniera asintomatica e non subiscono di per sé danni a causa dell'infezione; tuttavia, possono essere eliminatori del virus nell'ambiente e quindi trasmettere l'infezione durante

alcuni periodi della loro vita. In particolare, il virus può riattivarsi in seguito a stress (es. trasporto, modifica della dieta, ecc.) o, come sempre più spesso osservato nelle testuggini, al momento del risveglio dall'ibernazione. Tali soggetti possono essere identificati tramite esame sierologico e/o tramite PCR. I soggetti risultati positivi a tali test non devono essere reintrodotti in natura, ma tenuti in isolamento per il resto della loro vita, in quanto sempre in grado di trasmettere l'infezione, che spesso è letale per *T. hermanni hermanni*.

A corredo delle procedure da adottare per la valutazione dello stato sanitario delle testuggini considerate per un ricollocamento, va incluso anche il test sierologico per rilevare l'esposizione delle testuggini all'infezione da Herpesvirus. Come menzionato nel Paragrafo 2.4.1, l'Herpesvirus delle testuggini può essere presente nel soggetto che si è infettato in forma asintomatica. Questo normalmente riflette lo stato di latenza del virus nell'ospite, una sorta di dormienza, che si può manifestare poco dopo l'infezione iniziale nei soggetti che sopravvivono alla forma acuta, clinicamente manifesta o meno, dell'infezione. Il virus latente, successivamente all'infezione primaria, può subire riattivazioni, a seguito di stress di diversa origine, durante la vita del soggetto infetto. Il test molecolare (PCR) condotto su animali con infezione latente, che non necessariamente presentano dei segni clinici, può risultare erroneamente negativo (falso negativo). Questo può compromettere seriamente l'obiettivo principale della valutazione dello stato sanitario delle testuggini da rilasciare, che è quello di impedire di liberare animali infettati con patogeni rilevanti, che possano rappresentare un serio problema sia per l'animale stesso da rilasciare che per tutti quelli che potrebbero venirne in contatto nella popolazione in cui la testuggine da rilasciare verrebbe inserita. Questo rischio diventa ancora maggiore se la popolazione residente sul territorio è immunologicamente vergine per quel microrganismo e quindi particolarmente suscettibile all'infezione. Per limitare questo rischio, si raccomanda di affiancare il test molecolare (PCR) con uno sierologico (ad esempio *Enzyme-linked immunosorbent assay*-ELISA o sieroneutralizzazione). Il test sierologico si basa sul rilevamento della presenza di anticorpi sviluppati contro l'Herpesvirus dalla testuggine che ne è stata infettata. Questi anticorpi sono rilevabili anche durante lo stato latente del virus (Origgi *et al.*, 2001/2004; Origgi, 2012). Di conseguenza, una testuggine infettata con Herpesvirus, che venga testata sia sierologicamente che per via molecolare, ha una probabilità molto più alta di essere rilevata come infetta, che non quando testata solo per via molecolare. Il test molecolare e quello sierologico sono complementari. Quello molecolare è particolarmente utile nel rilevare la presenza di virus rilasciato da animali infetti, in particolare durante la fase acuta della malattia, quando gli anticorpi circolanti contro il virus sono ancora assenti o comunque presenti a

basso titolo e dunque non facilmente rilevabili sierologicamente. D'altro canto, durante la fase cronica/latente dell'infezione, il test molecolare potrebbe risultare negativo in virtù dell'assenza o dell'irregolarità con cui il virus viene rilasciato dalla testuggine infetta. Al contrario, gli anticorpi contro il virus sono generalmente presenti e dunque rilevabili. Lo sviluppo di anticorpi contro il virus richiede fino a 8 settimane dall'inizio dell'infezione (con il test ELISA, mentre il test di sieroneutralizzazione richiede fino a 5 settimane in più) e di conseguenza la conferma di un individuo come sierologicamente negativo per herpesvirus necessita di eseguire due test consecutivi negativi realizzati a non meno di 8 settimane (nel caso dell'ELISA) l'uno dall'altro.

Non è noto se il livello anticorpale di testuggini infette possa subire variazioni ed in particolare se possa abbassarsi fino a non essere più rilevabile dal test sierologico (ELISA) dopo un lungo periodo di tempo dall'infezione primaria. Sperimentalmente, gli anticorpi sono stati rilevati fino a 11 mesi, ossia il tempo di durata della sperimentazione eseguita (Origgi *et al.*, 2004). In termini precauzionali, non si può escludere che, in particolari situazioni, alcuni soggetti, anche a seguito di lunghi periodi di infezione latente, possano avere un titolo anticorpale sotto la soglia di rilevamento tramite il test sierologico. Va infatti considerato che nessun test, sia molecolare sia sierologico, è in grado di assicurare la corretta identificazione dello stato sanitario nel 100% dei casi e per ovviare a questa lacuna sarebbe consigliata la ripetizione periodica dei test.

b) Soggetti con infezione da *Mycoplasma spp.*, in particolare *M. agassizii*. Questi batteri sono responsabili di forme respiratorie croniche. Per il principio di precauzione, non esistendo evidenze dell'impatto di queste infezioni su popolazioni selvatiche di *T. hermanni*, i soggetti positivi alla sierologia o alla PCR non devono essere ricollocati.

c) Infezione da *Salmonella spp.* Essendo *Salmonella spp.* un normale commensale delle testuggini, il test per questo microrganismo non viene reputato obbligatorio per il ricollocamento; tuttavia, può essere effettuato a discrezione del medico veterinario sulla base delle condizioni cliniche dell'animale. Il rischio maggiore è che i ceppi abbiano acquisito dei meccanismi di antibiotico-resistenza che possono essere trasmessi per via orizzontale ad altri batteri presenti nell'ambiente, causando un ampliamento del fenomeno. In questo caso, i soggetti non vanno ricollocati ma devono essere monitorati nel tempo; gli stessi potranno essere ricollocati qualora abbiano perso le caratteristiche fenotipiche di antibiotico-resistenza, attività verificabile tramite l'esecuzione di un antibiogramma sulla salmonella isolata dal tampone cloacale dell'animale.

Agenti parassitari

Come indicato nel Paragrafo 2.4 il risveglio dall'ibernazione, in quanto evento stressogeno, deprime le difese immunitarie dell'animale e lo rende più sensibile ai parassiti; questo è quindi il momento privilegiato per effettuare la prima serie di prelievi sugli animali. Tuttavia, qualora non siano stati effettuati, vanno comunque eseguiti prima del ricollocamento.

a) Se gli animali risultano positivi agli **ossiuridi** con alte concentrazioni di parassiti è necessario intervenire con un trattamento antiparassitario mirato alla riduzione dell'infestazione. L'obiettivo è quello di mantenere un carico parassitario medio-basso che risulta collegato ad una serie di effetti positivi per l'ecosistema intestinale. A distanza di 15 giorni dal trattamento si procede con un nuovo esame coprologico per la verifica dello stato parassitario; qualora questo risulti medio-basso si potrà procedere al ricollocamento.

b) Se gli animali risultano positivi a **protozoi** (*Giardia*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba*, ecc.) è necessario intervenire con un trattamento antiprotozoario al fine di prevenire sia le infezioni dirette all'interno delle aree di raccolta che soprattutto la diffusione in natura; anche in questo caso a distanza di 15 giorni dal trattamento è necessario procedere con un nuovo esame coprologico per la verifica dello stato parassitario; se l'esame coprologico è negativo si potrà procedere al ricollocamento.

c) I soggetti positivi agli **ectoparassiti** dovranno essere trattati con prodotti ectocidi e rivalutati a distanza di 15 giorni al fine di verificare l'efficacia del trattamento; se negativi, si potrà procedere al ricollocamento.

Sono infine da escludere individui che, dopo visita medico-veterinaria, non risultino idonei al ricollocamento (es. alterazioni locomotorie, lesioni del piastrone/carapace, oppure presenza di sintomi respiratori e/o gastroenterici e/o carenziali). Il medico veterinario in questa fase valuterà se procedere a ulteriori indagini.

3.1.2 Indagini genetiche

Le metodologie volte alla selezione, su base genetica, degli individui da ricollocare in una determinata area geografica, prevedono essenzialmente due passaggi:

- 1) procedure così dette di “*wet-lab*” per l'estrazione di DNA dai campioni biologici di interesse e la genotipizzazione a marcatori genetici scelti allo scopo (in questo caso loci microsatellite o STR);
- 2) analisi volte a determinare la probabilità che ciascun individuo a provenienza ignota sia originario di una data area.

Lo studio della struttura genetica della specie e la definizione di un database di riferimento è stato reso possibile grazie alla genotipizzazione di un grande numero di individui *wild*, provenienti da siti dislocati in tutto l'areale, e all'integrazione con dati di letteratura (nello specifico, Perez *et al.*, 2013). Una volta genotipizzati, gli individui a provenienza ignota possono essere confrontati con quelli del database di riferimento tramite test di assegnazione con approccio Bayesiano, come implementato nel software STRUCTURE v2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000), test di assegnazione/esclusione che utilizzano un criterio parzialmente Bayesiano (Rannala & Mountain, 1997) e metodi di ricampionamento casuale basati su genotipi simulati (Paetkau *et al.*, 2004), come implementato nel software GENECLASS2 (Piry *et al.*, 2003). Il doppio controllo viene generalmente effettuato perché STRUCTURE stima la probabilità di assegnazione di ciascun individuo a uno dei gruppi definiti a priori, ma assume che la vera popolazione di origine sia tra quelle presenti nel database. Il test di esclusione invece stima la probabilità di ciascun individuo di appartenere a ognuna delle popolazioni identificate indipendentemente dalla presenza o assenza della vera popolazione di origine nel database e consente quindi di escludere popolazioni di origine eventualmente assegnate erroneamente con il primo approccio. Gli individui che superano tutti i test di assegnazione a una determinata area, vengono considerati candidati per la ricollocazione in quell'area.

La banca dei dati genetici per le future analisi statistiche comparative verrà resa pubblica, dal Dipartimento di Scienze Ecologiche e Biologiche, UNITUS, su una piattaforma di *data sharing*.

3.1.3 Procedura suggerita per effettuare i prelievi

I prelievi per le indagini sanitarie, parassitologiche e genetiche devono essere effettuati da personale medico veterinario in contemporanea per ottimizzare la procedura e ridurre le condizioni di stress per gli animali.

a) tamponi orali

I tamponi orali sono utilizzati per la ricerca del DNA di TeHV ed eventuali agenti micotici e batterici.

b) tamponi cloacali e prelievo di feci

I tamponi cloacali sono destinati all'eventuale ricerca di *Salmonella* spp.; i campioni fecali sono processati per le indagini parassitologiche (ricerca di uova e larve di elminti, cisti e oocisti di protozoi) con tecniche copromicroscopiche tradizionali e immunologiche (Wolf *et al.*, 2014).

Sia i tamponi (sterili) orali che quelli cloacali devono essere posti in microprovette da 1.5 ml contenenti liquido di trasporto (PBS) e mantenuti in ambiente refrigerato prima dell'invio al laboratorio di referenza.

c) prelievi ematici

Il prelievo ematico viene eseguito (di norma dal plesso sottocarapaciale o dalla vena giugulare) mediante siringa usa e getta da 1 ml, da cui verranno isolate aliquote per le diverse indagini:

- per quanto riguarda le **analisi genetiche** si possono utilizzare due diverse opzioni: 1) una goccia di sangue viene fatta cadere su appositi cartoncini assorbenti (ad es. Whatman FTA Cards) che fungono da mezzo di trasporto - il campione così ottenuto viene refrigerato e inviato al laboratorio di riferimento; 2) un'aliquota viene conservata in una provetta contenente anticoagulante;
- per la ricerca di **agenti infettivi** mediante metodi biomolecolari un'aliquota viene conservata in microprovetta contenente Litio Eparina;
- un'ultima aliquota viene conservata in provetta contenente Litio Eparina per la ricerca di **emoparassiti**.

d) Qualora all'esame clinico fosse evidenziata una **lesione cutanea** (infossamenti, desquamazione e/o deformazioni della corazza e del piastrone, ulcerazione a carico della testa e/o degli arti) si deve

procedere a una detersione della zona interessata con alcool 70% o acqua distillata e si deve raccogliere il materiale sospetto alla periferia della lesione tramite tamponi o bisturi sterili.

I tempi indicati per la visita clinica e il tipo di prelievo da eseguire sono riportati schematicamente in Tabella 5.

Tabella 5. Visita clinica (peso vivo, presenza e/o assenza di ectoparassiti, presenza e/o assenza di lesioni sul carapace, ecc.) e tipo di prelievo da eseguire sugli individui detenuti: tampone orale, prelievo di sangue e prelievi fecali (feci e tamponi cloacali). Viene indicato il periodo preferenziale per ogni prelievo.

Periodo	Visita clinica	Tampone orale	Prelievo di sangue	Prelievi fecali
Risveglio dall'ibernazione	X	X	X ¹	X
Prima del rilascio	X	X		X
Controllo annuale successivo al rilascio (se programmato)	X	X	X ²	X

1) Per caratterizzazione genetica, ricerca di emoparassiti e indagini sierologiche.

2) Per ricerca di emoparassiti e indagini sierologiche.

Il risveglio dall'ibernazione è identificato come periodo a maggior rischio sia per la riattivazione di un'eventuale infezione latente da TeHV che come momento discriminante per determinare la carica parassitaria degli ossiuridi nei singoli soggetti, quindi momento privilegiato per effettuare la prima serie di prelievi agli animali; un secondo prelievo prima del rilascio è necessario per accertare la conservazione dello stato sanitario risultato idoneo al precedente prelievo (intervallo tra primo e secondo prelievo non inferiore a 30 giorni; tale periodo può coincidere con la fase di adattamento dell'animale al nuovo regime alimentare).

Qualora fosse previsto un programma di monitoraggio, sarebbe inoltre auspicabile poter eseguire controlli per le malattie infettive e infestive anche dopo il ricollocamento in natura. La tipologia di prelievo da effettuare resta quella indicata in Tabella 5, con una cadenza che tenga conto dell'esistenza dei diversi periodi di attività stagionale e che potrebbe fornire informazioni sulla risposta allo stress del rilascio e alle condizioni di adattamento alla nuova allocazione. Per tale motivo, nell'anno del rilascio e, se possibile, negli anni a seguire, sarebbe consigliato effettuare, almeno su un campione di soggetti, un monitoraggio al risveglio e uno prima dell'ibernazione (utile anche per verificare che le condizioni generali dell'animale siano adeguate a effettuare tale attività).

È infine opportuno che aliquote dei campioni biologici prelevati vengano conservate con la finalità di indagare la diffusione di eventuali microrganismi al momento non identificati in Italia, ma considerati emergenti nel genere *Testudo*.

BOX 1. Norme di igiene e prevenzione da adottare durante le manipolazioni

Durante le manipolazioni è necessario seguire alcune norme generali di igiene e prevenzione che servono a tutelare il personale che lavora con questi rettili dalle zoonosi (es. infezione da *Salmonella*) e ridurre il rischio della diffusione dei microrganismi. Tali pratiche sono:

- usare guanti monouso (in nitrile) da cambiare da un animale all'altro;
- lavarsi le mani dopo aver maneggiato gli animali o utensili e attrezzature a loro dedicati;
- se non è possibile lavarsi le mani, usare disinfettanti pronto uso;
- lavare e disinfettare oggetti e materiali che possano essere veicolo di microrganismi.

3.2 Scelta dei siti adatti al ricollocamento

Per la scelta dei siti adatti al ricollocamento sono da valutare diversi aspetti, riassumibili nei seguenti punti:

a) Localizzazione del sito e presenza di popolazioni di testuggini selvatiche.

Il sito deve ricadere all'interno dell'areale della specie ma non deve coincidere con aree in cui siano presenti popolazioni selvatiche, onde evitare di introdurre uno *stock* di animali dove sia già presente un nucleo di conspecifici o congenerici. Nella ricerca del sito adatto al ricollocamento è dunque necessario raccogliere informazioni riguardo alla presenza di *Testudo* nell'area, al momento del ricollocamento e/o pregressa.

In caso di accertata presenza di *Testudo* in passato, occorrerà indagare sulle possibili cause che hanno portato all'estinzione locale e valutare l'effettiva assenza di tali minacce al momento delle operazioni di ricollocamento.

b) Fattori di minaccia e conservazione.

Essendo le specie di *Testudo* tutelate da leggi nazionali e internazionali, sono da privilegiare le aree protette; ciò dovrebbe garantire la conservazione degli *habitat* nel tempo e inquadrare l'azione di ricollocamento e quelle successive, di monitoraggio e protezione, all'interno di strategie di conservazione locali e nazionali. Le aree non devono essere di proprietà privata.

L'area da selezionare dovrà essere priva di particolari fattori di minaccia quali strade, eccessivo disturbo antropico, ad esempio dovuto ad agricoltura, soprattutto se intensiva, turismo sostenuto, presenza di nuclei abitativi e, in genere, attività economiche nelle vicinanze, pressione predatoria particolarmente elevata.

c) Requisiti ambientali.

Il sito da adibire al ricollocamento, localizzato nell'area geografica di provenienza degli individui selezionati, dovrà essere caratterizzato dalla presenza di un mosaico di *habitat* e microhabitat che rispondano alle esigenze eco-etologiche del genere *Testudo* e dovrà garantire la ricchezza floristica atta a soddisfare le esigenze trofiche delle testuggini. In particolare, come visto, è importante l'alternanza tra zone aperte, più adatte al foraggiamento e al *basking*, e zone chiuse costituite, ad esempio, da vegetazione di macchia o gariga più o meno fitta o da aree boschive, ottimali come rifugio (cfr. Paragrafo 2.2.3). La preferenza per fasce ecotonali e zone di confine tra ambienti aperti

e chiusi e la necessità di un ambiente “complesso” dal punto di vista della struttura della vegetazione è stata verificata in diverse regioni dell’areale di *T. hermanni* (i.e. Del Vecchio *et al.*, 2011a; Rozyłowicz & Popescu, 2013; Stojadinović *et al.*, 2017).

Ad esempio, in base ai risultati ottenuti nel corso dei progetti propedeutici alla stesura delle linee guida (Corti *et al.*, 2015, 2016), durante i quali è stato svolto un approfondimento sulle caratteristiche floristiche degli ambienti frequentati da *Testudo hermanni* in Italia, sono emerse delle caratteristiche ricorrenti, seppur tra aree molto distanti tra loro (9 siti in 6 regioni, Paragrafo 2.2.3), che possono essere indicative dei siti frequentati da questa specie:

1) *habitat* riconducibili alla serie ecologica culminante nella lecceta, ovvero cenosi direttamente o indirettamente collegate all’*habitat* “9340: Foreste di *Quercus ilex* e *Quercus rotundifolia*”;

2) presenza di un mosaico il più possibile vario e articolato di stati seriali precoci, con numerose Asteraceae e Fabaceae terofitiche o emicriptofitiche e, indicativamente, con almeno il 25-30% di arbusteti radi (“gariga”) o equivalenti fasce di contatto ecotonali tra macchia densa e aree erbose non soggette a intensa azione di disturbo antropico. L’alternanza di tessere di vegetazione densa con altre a dominanza di specie erbacee (che di regola sono caratterizzate dalla presenza della famiglie più comunemente consumate dalle *Testudo*), sembra costituire un fattore determinante per la presenza delle testuggini. Quand’anche sia ridotta a superfici di modesta estensione, in tutte le aree considerate si osserva infatti la presenza di spazi aperti con vegetazione erbacea, spesso con elementi arboreo-arbustivi dispersi o in contatto per lunghe distanze (fasce ecotonali), il che consente agli animali, anche con piccoli spostamenti, di disporre sia di ambienti prettamente di rifugio che di zone utili per il *basking* e il foraggiamento.

3) occorrenza di specie edibili (in opportuna abbondanza e talvolta riconducibili a specie “ricorrenti”, cfr. Paragrafo 2.2.3), concentrate negli ambienti prativi.

La presenza di un substrato di tipo sabbioso o comunque non troppo compatto permette alle testuggini di scavare, operazione essenziale non solo per deporre le uova ma anche per permettere l’interramento (soprattutto durante le fasi di ibernazione ed estivazione).

La scelta del sito deve scaturire da specifiche indagini sul campo che approfondiscano, a livello “locale”, la caratterizzazione degli *habitat* frequentati dalle popolazioni di *Testudo* e le esigenze trofiche di questi animali. Propedeuticamente alle operazioni di ricollocamento, devono essere necessariamente svolti dei sopralluoghi nelle aree ritenute potenzialmente adatte, in particolar

modo durante la stagione primaverile, la più ricca dal punto di vista della diversità e dell'abbondanza floristica, nonché il periodo di massima attività per le *Testudo*. Per la scelta dei siti è necessaria la consulenza di erpetologi esperti della biologia di *Testudo*.

3.3 Ricollocamento

Nell'ottica di ricollocare gli individui sequestrati o confiscati è opportuno ridurre al minimo il periodo di detenzione. Lo stretto contatto tra gli animali mantenuti in cattività, spesso in sovrannumero e vicini a individui di altre specie, favorisce lo sviluppo e la diffusione di malattie; una dieta e condizioni ambientali non ottimali possono ulteriormente inficiare la salute delle testuggini. L'ambiente artificiale, inoltre, necessariamente semplificato rispetto a quello di origine, può implicare un disadattamento all'ambiente naturale (risultante ad esempio in un comportamento antipredatorio inefficiente e/o nella difficoltà nel selezionare e trovare le risorse trofiche o nell'adattarsi alla loro stagionalità). Infine, da tenere presente sono i costi di gestione e mantenimento.

Dopo aver selezionato gli individui idonei al ricollocamento e aver individuato siti potenzialmente adatti al loro ricollocamento, occorre adempiere all'*iter* autorizzativo previsto dalla normativa vigente. In ottemperanza con le "Linee guida per l'immissione di specie faunistiche" (Aa.Vv., 2007), la reintroduzione di specie presenti in allegato D del DPR 357/97 ("Regolamento recante attuazione della direttiva 92/43/CEE relativa alla conservazione degli *habitat* naturali e seminaturali, nonché della flora e della fauna selvatiche") richiede l'autorizzazione da parte dell'amministrazione regionale (o delle amministrazioni) competente per l'area selezionata, rilasciata sulla base di una relazione di fattibilità comprendente dettagliate analisi di opportunità e di rischio.

Una volta introdotti in una nuova area, gli animali possono andare incontro a un elevato tasso di mortalità dovuto alla mancanza di familiarità con l'ambiente, alla difficoltà nel reperire risorse e a una maggiore vulnerabilità rispetto alla predazione (Kingsbury & Attum 2009). Per ridurre questi rischi sarebbe auspicabile, quando possibile, mantenere le testuggini, per un periodo di almeno un anno, all'interno di recinti all'aperto (Tuberville *et al.*, 2005) collocati nell'area selezionata per il rilascio (o in un'area che presenti caratteristiche simili, in particolare, per quanto concerne le condizioni climatiche e il tipo di vegetazione, essenziale sia per l'alimentazione sia come rifugio). Tale condizione favorisce l'acclimatamento delle testuggini alle condizioni dell'area di destinazione,

permette un migliore preadattamento alla dieta, nonché lo sviluppo di una certa fedeltà al sito (Tuberville *et al.* 2005, 2008), ulteriore elemento che può contribuire alla buona riuscita del ricollocamento (Attum *et al.*, 2010). Il mantenimento all'interno di recinti all'aperto, rende inoltre possibile il controllo sanitario degli animali selezionati per il ricollocamento, operazione da ripetere all'indomani dello spostamento dai siti di detenzione (almeno un anno dopo) ma che, nel caso in cui non venga scelta l'opzione del rilascio graduale, può essere impossibilitata dalla difficoltà di ritrovare le testuggini.

Alcune indicazioni sulla grandezza delle recinzioni in base alla specie di *Testudo*, al numero e al sesso degli individui è fornito nel documento "Linee guida dettagliate per il mantenimento in cattività delle tartarughe terrestri del genere *Testudo*" (http://www.carabinieri.it/docs/default-source/default-document-library/lineeguida_dettagliate_testudo.pdf) elaborato dalla Commissione Scientifica CITES. Per le recinzioni si raccomanda l'utilizzo di reti metalliche plastificate (per evitare escoriazioni), interrate di almeno 35 cm (soprattutto nel caso di *T. marginata*) a difesa delle testuggini e per impedirne la fuga.

Per ottimizzare l'efficacia del ricollocamento in un'ottica di conservazione della specie su più larga scala è opportuno non rilasciare un numero troppo esiguo di individui. Tenendo anche conto della naturale tendenza alla dispersione delle testuggini terrestri, ciò potrebbe comportare infatti la presenza nel territorio di individui di fatto isolati oppure di un nucleo destinato a scomparire.

Considerando stime di densità svolte su popolazioni peninsulari di *T. hermanni* in Italia (tra le più recenti: Loy *et al.* (2007) indicano una densità media di 20,84 n/ha in una popolazione in Molise; Filippi & Luiselli (2008) 2,86 n/ha nel Lazio; Biaggini *et al.* (2018) 5,85 n/ha in Toscana e 3,03 n/ha in Abruzzo) e facendone una media, si può indicare come densità di riferimento un numero non superiore a 8 individui per ettaro. Il nucleo ricollocato dovrebbe avere una *sex-ratio* (n. maschi / n. femmine) il più possibile bilanciata e, soprattutto non dovrebbe contenere un numero di maschi troppo superiore a quello delle femmine, a causa del comportamento di corteggiamento aggressivo degli individui di sesso maschile. Tuttavia, nel caso non fosse possibile una *sex-ratio* bilanciata o la auspicabile presenza di un numero maggiore di femmine, tenendo conto del sovrannumero di maschi generalmente presente all'interno dei centri di recupero, un limite tollerabile potrebbe essere rappresentato da una *sex ratio* pari a 1,5 per nuclei inferiori ai 50 individui; con numeri maggiori non superare una *sex-ratio* di 1,25. Quindi, tenendo conto della densità massima suggerita pari a 8 n/ha, avendo ad esempio a disposizione un'area di 3 ha, lo *stock* di testuggini da ricollocare sarebbe composto di 24 individui di cui, in condizioni "ottimali", 12 femmine (o più) e un massimo

di 12 maschi (meglio se meno) e, nel caso non fossero possibili soluzioni bilanciate, sarebbe tollerabile un rapporto di 10 femmine e 14 maschi. Nel caso di individui giovani da ricollocare si consiglia di aspettare i tre anni di vita per aumentarne le probabilità di sopravvivenza: in *T. hermanni* è stato osservato che la più alta mortalità, pari a circa 52%, si registra tra 0 e 2 anni (Henry *et al.*, 1999).

Tenendo conto delle esigenze eto-ecologiche delle testuggini appartenenti al genere *Testudo* è consigliabile effettuare l'azione di ricollocamento durante la stagione primaverile, indicativamente da aprile a giugno, ma ovviamente in relazione alle condizioni climatiche locali tipiche dell'area a loro destinata (es. ricollocare le testuggini entro i primi di maggio laddove il clima si presenta particolarmente arido). In tal modo gli individui potranno adattarsi al nuovo ambiente nel periodo di maggiore attività, usufruendo anche del picco di disponibilità trofica. Si ricorda che nella stagione estiva, l'attività delle *Testudo* subisce un notevole decremento che, in alcune aree, si può tradurre in una temporanea sospensione (estivazione). In relazione a questo comportamento, uno studio eseguito su *T. graeca* suggerisce che un rilascio tardivo, nel periodo estivo, potrebbe essere consigliabile nel caso in cui non sia possibile il mantenimento in recinti all'aperto (Attum *et al.*, 2011): il calo di attività "forzerebbe" infatti le testuggini a discostarsi in misura minore dal sito di rilascio, favorendovi la permanenza anche nelle stagioni successive a seguito dello sviluppo della fedeltà al sito. Sono, ovviamente, da evitare rilasci autunnali a ridosso del periodo di ibernazione.

Si sconsigliano tuttavia le fasi immediatamente successive e precedenti l'ibernazione, periodi particolarmente delicati per le testuggini che, in particolare, al momento del risveglio primaverile risultano immunodepresse e dunque particolarmente vulnerabili e che, prima di ibernare necessitano di adattamenti fisiologici e comportamentali non compatibili con un ricollocamento. Tempistica e modalità di ricollocamento dovranno essere valutati, caso per caso, da erpetologi esperti in *Testudo*.

4. GESTIONE SANITARIA DELLE STRUTTURE DI DETENZIONE E INDICAZIONI SUL MANTENIMENTO DEGLI INDIVIDUI NON RICOLLOCABILI

Le testuggini che non siano risultate idonee al ricollocamento a causa delle condizioni sanitarie, del profilo genetico o di entrambi questi aspetti, come detto, non possono essere ricollocate in natura e pertanto sono destinate a rimanere in cattività.

Come indicato nei Paragrafi 3.1 e 3.3, in sintesi, vanno considerati non ricollocabili:

1. individui con alterazioni morfologiche e/o comportamentali tali da mettere a rischio la sopravvivenza in natura;
2. individui in condizioni sanitarie inadeguate (es. portatori di Herpesvirus e *Mycoplasma* spp.) (ma si veda Paragrafo 3.1.1);
3. individui geneticamente incompatibili rispetto alle popolazioni selvatiche italiane (a livello di specie, sottospecie o perché ibridi) e/o per cui non sia possibile individuare l'area di provenienza all'interno dell'areale italiano della specie di appartenenza;
4. individui potenzialmente ricollocabili (secondo il punto precedente) ma per i quali non sia possibile individuare un sito adatto per il ricollocamento.

Gli individui malati andranno ovviamente trattati come tali e quindi in base alle patologie presenti, come da indicazione veterinaria. Il loro destino sarà deciso in base alle caratteristiche individuali, una volta recuperate condizioni di salute soddisfacenti.

Come indicato nella Risoluzione CITES Conf. 17.8 (CITES, 1998) agli animali destinati a rimanere in cattività deve essere garantito il mantenimento a vita in condizioni opportune.

Escludendo i centri di recupero in cui le testuggini sono state ospitate a seguito di sequestro o confisca, nel caso in cui tali strutture siano impossibilitate a proseguirne il mantenimento, le istituzioni che potrebbero accogliere gli individui non ricollocabili vanno ricercate tra strutture, preferibilmente a gestione pubblica (ad esempio giardini zoologici, bioparchi, centri per l'educazione ambientale), debitamente autorizzate, che siano dotate di un adeguato spazio esterno, in zone caratterizzate dalle condizioni ambientali adatte alla sopravvivenza delle testuggini. Nei casi sopracitati gli individui potrebbero acquisire un valore educativo per le strutture di accoglienza.

Gli individui non ricollocabili per problematiche di natura sanitaria (Paragrafo 3.1.1) devono essere mantenuti in aree separate fino ad eventuale guarigione. L'unica eccezione è rappresentata dai soggetti positivi agli Herpesvirus e al *Mycoplasma* spp., in particolare *M. agassizii*: questi, come già

specificato, devono essere tenuti in isolamento per il resto della loro vita (e separati fra di loro), in quanto sempre in grado di trasmettere l'infezione che, nel caso degli Herpesvirus, spesso è letale per *T. hermanni hermanni*.

È necessario, al fine di impedire la riproduzione, che maschi e femmine siano tenuti separati. Un'alternativa al mantenimento dei due sessi in siti separati è quella della sterilizzazione chirurgica endoscopio-guidata. Gli animali che possono essere sottoposti a tale operazione devono essere in salute ed esenti da patologie. Questo intervento deve essere eseguito da un medico veterinario nel rispetto delle normali prassi seguite in laparoscopia. I rischi della sterilizzazione chirurgica sono quelli comuni a tutti gli altri interventi chirurgici (possibili reazioni allergiche o di ipersensibilità ai farmaci utilizzati, reazioni avverse ai materiali di sutura utilizzati, complicazioni durante il risveglio o post-operatorie).

Si raccomanda il mantenimento delle testuggini all'esterno (in modo che possano godere di insolazione, temperatura e umidità naturali) e in condizioni di sicurezza, ovvero che impediscano la dispersione degli animali e/o il loro prelievo. Seguendo le indicazioni fornite nelle "Linee guida dettagliate per il mantenimento in cattività delle tartarughe terrestri del genere *Testudo*" (http://www.carabinieri.it/docs/default-source/default-document-library/lineeguida_dettagliate_testudo.pdf) elaborate dalla Commissione Scientifica CITES, in Tabella 6 si suggerisce il numero massimo di femmine in relazione alla superficie disponibile per il loro mantenimento. Nel caso di individui di sesso maschile il numero deve essere ridotto (anche drasticamente in presenza di testuggini particolarmente "aggressive").

Tabella 6. Numero massimo di femmine di *Testudo graeca*, *T. hermanni* e *T. marginata* per superficie dell'area adibita al loro mantenimento all'esterno. Nel caso di individui di sesso maschile il numero deve essere inferiore. (modificato da: http://www.carabinieri.it/docs/default-source/default-document-library/lineeguida_dettagliate_testudo.pdf)

Superficie (m ²)	N. max femmine	
	<i>T. graeca</i> , <i>T. hermanni</i>	<i>T. marginata</i>
2	1	0
3	2	1
4	4	2
5	6	3
6	8	4
7	10	5
8	12	6
9	14	7
10	16	8

Gli spazi esterni adibiti al mantenimento devono essere caratterizzati da una certa complessità dal punto di vista della struttura della vegetazione (in particolare, presenza di cespugli) per consentire alle testuggini i naturali comportamenti di rifugio e termoregolazione. Per quanto riguarda l'alimentazione si raccomanda, laddove l'area non fornisca essa stessa le risorse trofiche idonee e sufficienti per il mantenimento del nucleo di *Testudo* (condizione che sarebbe invece auspicabile), di fornire essenze selvatiche comprese nella naturale dieta delle testuggini terrestri (Paragrafo 2.2.4 e Tabella 4).

BOX 2. Indicazioni generali per il corretto mantenimento di testuggini in cattività

- Prevedere una zona di quarantena e una di isolamento rispettivamente per i soggetti di nuova introduzione e quelli malati;
- I soggetti di nuova introduzione (testuggini sequestrate o confiscate in attesa di essere introdotte negli spazi di accoglienza e testuggini non ricollocabili prima di essere introdotte nel sito destinato al loro mantenimento) devono essere messi in quarantena e sottoposti a *screening* sanitario completo e devono essere separati sulla base del sesso (ove possibile);
- Evitare la promiscuità di specie (soprattutto *T. hermanni* con *T. graeca* e *T. marginata*, in particolare per ridurre il rischio di diffondere l'infezione da TeHV di cui *T. graeca* e *T. marginata* sono più frequentemente portatori latenti);
- Eseguire approfondimenti diagnostici su eventuali soggetti malati o venuti a morte;
- Prestare molta attenzione al periodo del risveglio dall'ibernazione e introdurre l'uso regolare di test diagnostici di *screening* per svelare lo stato di portatore in questo periodo;
- Disporre gli animali in piccoli gruppi, tenuti separati da barriere fisiche, anche ridotte, ma tali da evitare il contatto diretto tra i diversi soggetti (evitare reti ma utilizzare barriere continue);
- Per le testuggini non ricollocabili, destinate a vita alla cattività, si raccomanda il mantenimento in spazi all'aperto con adeguate dimensioni e caratteristiche ambientali e la separazione fra i sessi;
- In caso di focolaio: mantenere i piccoli gruppi; isolare i malati e sospetti di infezione; disinfettare utensili e oggetti venuti a contatto con gli animali infetti; fare prontamente test diagnostici che identifichino gli infetti che, qualora accertati, non potranno mai essere ricollocati in natura e andranno tenuti isolati.

ALLEGATO I. Schema riassuntivo dell'iter di azioni previste per il ricollocamento

Si presenta schematicamente l'iter da seguire per selezionare gli individui idonei al ricollocamento, mentre si rimanda ai capitoli precedenti (in particolare Capitoli 3 e 4) per le procedure da seguire e per una lettura critica dello schema.

Passo 1: L'individuo risulta positivo a Herpesvirus e/o Mycoplasma? (cfr. Paragrafo 3.1.1)

A causa dell'alto rischio di trasmissione di patogeni alle popolazioni selvatiche, *in primis* Herpesvirus e/o *Mycoplasma* spp., le testuggini devono essere sottoposte a uno *screening* sanitario completo.

Risposta: SI L'individuo non è ricollocabile ed è da destinare al mantenimento in cattività (in condizioni di isolamento).

Risposta: NO Procedere al passo 2.

Passo 2: L'individuo risulta in condizioni sanitarie idonee? (cfr. Paragrafo 3.1.1)

A causa del rischio di trasmissione di patogeni alle popolazioni selvatiche, occorre testare le testuggini sequestrate o confiscate, oltre che per la presenza di Herpesvirus e *Mycoplasma*, anche per le infestazioni da parassiti (ossiuridi, protozoi, ectoparassiti) ed, eventualmente, per *Salmonella* spp., in base alle indicazioni fornite nel Paragrafo 3.1.1. La verifica delle condizioni sanitarie idonee al ricollocamento, a seguito di visita medico-veterinaria, passa anche attraverso la valutazione di altri aspetti quali, ad esempio, alterazioni locomotorie, lesioni del piastrone/carapace, sintomi respiratori e/o gastroenterici e/o carenziali.

Risposta: SI Procedere al passo 3.

Risposta: NO Procedere alla quarantena e al trattamento delle infezioni parassitarie (Paragrafo 3.1.1) e tornare al passo 2. In caso di condizioni sanitarie inadeguate permanenti, destinare l'individuo al mantenimento in cattività (in condizioni di isolamento se necessario).

Passo 3: L'individuo è geneticamente compatibile rispetto alle popolazioni selvatiche italiane e la sua area di provenienza è assegnabile, con sufficiente precisione e affidabilità, a una zona dell'areale italiano della specie?

Per evitare il rischio di inquinamento genetico delle popolazioni selvatiche, è necessario poter risalire all'area di origine delle testuggini sequestrate o confiscate. Sono ovviamente da escludere gli individui incompatibili con le popolazioni selvatiche italiane (a livello specifico e sottospecifico o in quanto ibridi) e gli individui per cui non sia possibile assegnare la "macro-area" di provenienza all'interno nell'areale italiano della specie di appartenenza. (Si veda il Paragrafo 3.1.2 per i dettagli sulle analisi genetiche)

Risposta: SI Procedere al passo 4.

Risposta: NO Destinare l'individuo al mantenimento in cattività (Capitolo 4).

Passo 4: L'individuo manifesta particolari anomalie comportamentali?

Da un periodo più o meno lungo di detenzione in cattività possono risultare anomalie comportamentali (es. comportamenti antipredatori "rilassati", difficoltà nella ricerca e selezione delle risorse trofiche, ecc.) che potrebbero mettere a rischio la sopravvivenza dell'individuo una volta liberato in natura.

Risposta: SI Valutare la possibilità di un periodo di "riabilitazione" in un recinto di acclimatemento dotato di rifugi idonei e sufficiente complessità ambientale.

Risposta: NO Procedere al passo 5.

Passo 5: È possibile individuare un sito idoneo per il ricollocamento nell'area di provenienza dell'individuo? (Paragrafo 3.2)

È necessario individuare un sito nell'area di provenienza dell'individuo (compreso nell'areale della specie) che sia sufficientemente lontano da popolazioni selvatiche, che offra le condizioni ambientali idonee alla sopravvivenza di testuggini (risorse trofiche, possibilità di rifugio, termoregolazione, deposizione, ecc.) e sia lontano da fattori di rischio o di disturbo.

Risposta: SI Procedere al passo 6.

Risposta: **NO** Mantenere l'individuo in cattività fino all'individuazione del sito adatto al ricollocamento. Ripetere le indagini sanitarie (passi 1 e 2) prima di procedere con l'eventuale ricollocamento.

Passo 6: Adempiere all'iter autorizzativo previsto per l'immissione di specie faunistiche.

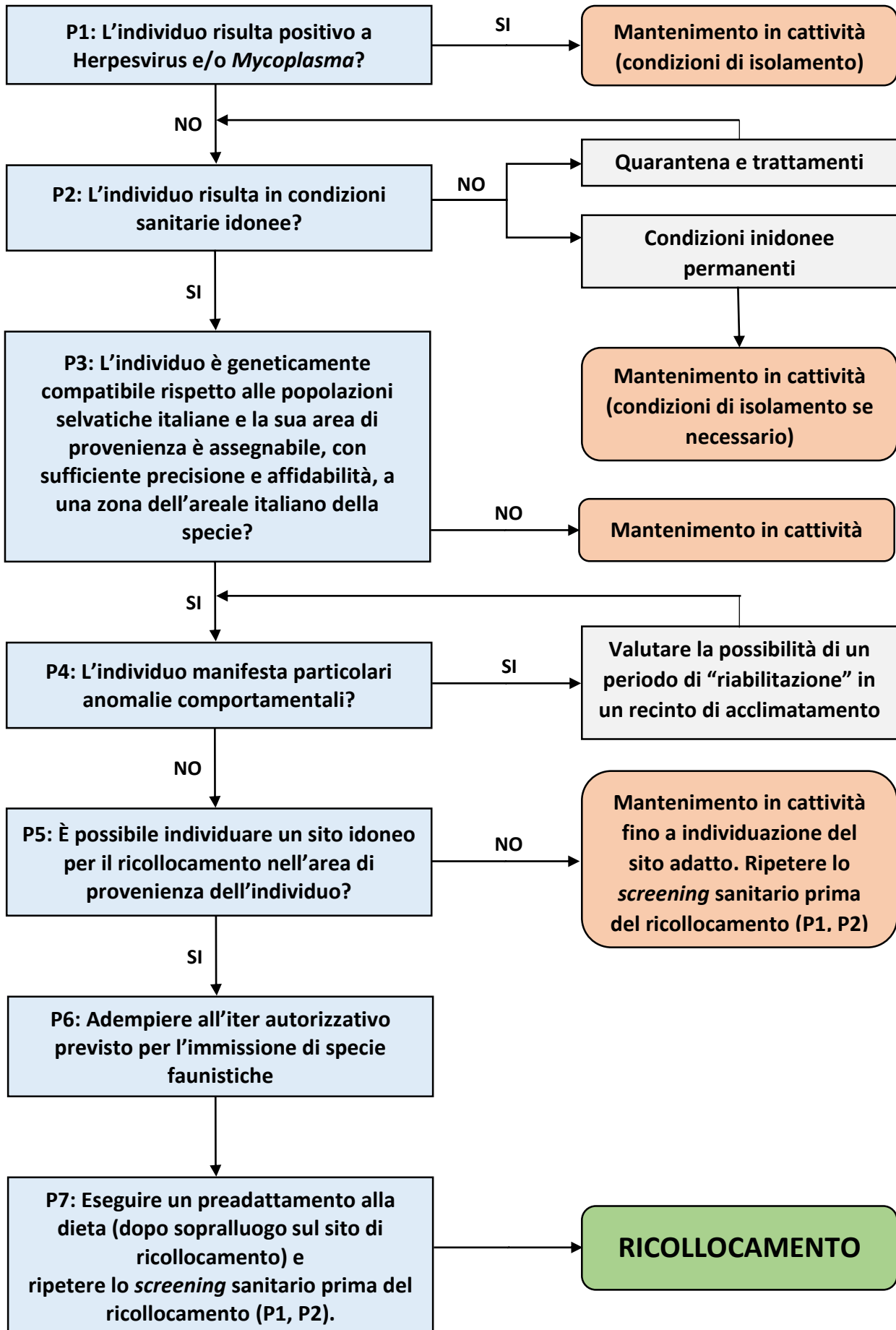
Come indicato in "Linee guida per l'immissione di specie faunistiche" (Aa. Vv., 2007), è necessario ottenere le dovute autorizzazioni prima di ricollocare individui in natura.

Passo 7: Eseguire un preadattamento alla dieta (dopo sopralluogo sul sito di ricollocamento) e ripetere lo *screening* sanitario prima del ricollocamento.

Durante il periodo in cattività gli individui potrebbero aver conclamato patologie non evidenziate nel corso del primo *screening* per cui occorre ripetere un controllo sanitario prima del rilascio.

La scelta del sito adatto per il ricollocamento e la procedura autorizzativa obbligatoria per il rilascio in natura degli animali sequestrati o confiscati richiedono necessariamente un periodo di tempo, più o meno lungo, durante il quale è necessario eseguire un preadattamento alla dieta, fornendo alle testuggini selezionate per il ricollocamento essenze selvatiche che troveranno nel sito di rilascio.

Segue il diagramma riassuntivo dell'iter per la selezione degli individui da ricollocare in natura e per conseguire il ricollocamento. Per le modalità di ricollocamento (es. indicazioni di densità e *sex-ratio* dello *stock* di testuggini da ricollocare in base al sito disponibile) si rimanda al Paragrafo 3.3.



BIBLIOGRAFIA

- AA.VV., 2007. Linee guida per l'immissione di specie faunistiche. Quad. Cons. Natura, 27, Min. Ambiente – Ist. Naz. Fauna Selvatica.
- Ahne W., 1993. Viruses of Chelonia. J Vet Med, (B) 40: 35-45.
- Andreu A.C., 1987. Ecología y dinámica poblacional de la Tortuga Mora, *Testudo graeca graeca* L., en Doñana, Huelva. Tesis doctoral, Universidad de Sevilla.
- Attum O., Farag W.E., Baha El Din S.M., Kingsbury B., 2010. Retention rate of hard-released translocated Egyptian tortoises *Testudo kleinmanni*. Endanger Species Res, 12: 11–15.
- Attum O., Otoum M., Amr Z., Tietjen B., 2011. Movement patterns and habitat use of soft-released translocated spur-thighed tortoises, *Testudo graeca*. Eur J Wildl Res, 57: 251-258.
- Barnard S.M., Upton S.J., 1994. Laboratory Procedures for the Herpetoculturist. In: A Veterinary Guide to the Parasites of Reptiles, Volume 1, Protozoa. Malabar-Krueger Publishing, pp. 81-98.
- Biaggini M., Romano A., Di Tizio L., Corti C., 2018. Density and sex-ratio of wild populations of three *Testudo* species in Italy. Herpetozoa, 30 (3/4): 203-208.
- Blasi C., Capotorti G., Copiz R., Guida D., Mollo B., Smiraglia D., Zavattero L., 2014. Classification and mapping of the ecoregions of Italy. Plant Biosystems, 148(6): 1255-1345.
- Blasi C., Capotorti G., Smiraglia D., Guida D., Zavattero L., Mollo B., Frondoni R., Copiz R., 2010. Le Ecoregioni d'Italia. Contributo tematico alla Strategia Nazionale per la Biodiversità. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare.
- Bosch S., Tauxe R.V., Behravesh C.B., 2016. Turtle-Associated Salmonellosis, United States, 2006-2014. Emerg Infect Dis, 22(7): 1149-1155.
- Bradley T., Angulo F.J., Raiti P., 1998. Association of Reptilian and Amphibian Veterinarians guidelines for reducing risk of transmission of *Salmonella* spp from reptiles to humans. J Am Vet Med Assoc, 213(1): 51-52.
- Brianti E., Dantas-Torres F., Giannetto S., Risitano A., Brucato G., Gaglio G., Otranto D., 2010. Risk for the introduction of exotic ticks and pathogens into Italy through the illegal importation of tortoises, *Testudo graeca*. Med Vet Entomol, 24(3): 336-339.
- Budó J., Capalleras X., Fèlix J., Font J., 2009. Aportacions sobre l'estudi de l'alimentació de la tortuga mediterrània *Testudo hermanni hermanni* (Gmelin, 1789) a la serra de l'Albera (Catalunya). Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia, 18: 109-115.

- Carpaneto G.M., Corti C., 2010. *Testudo graeca* Linnaeus, 1758. In: Corti C., Capula M., Luiselli L., Razzetti E., Sindaco R. (Eds), Fauna d'Italia. Reptilia. Calderini, Bologna, pp. 180-187.
- Carpaneto G.M., Sacchi R., Corti C., 2010. *Testudo marginata* Schoepff, 1792. In: Corti C., Capula M., Luiselli L., Razzetti E., Sindaco R. (Eds), Fauna d'Italia. Reptilia. Calderini, Bologna, pp. 199-208.
- Cecchi L., Manganelli E., Bartoli C., Deli G., Bassu L., Biaggini M., Foggi B., Mastropasqua F., Nepi C., Trabalza-Marinucci M., Corti C., Olivieri O., 2015. Foraging ecology and vegetation characteristic of sites inhabited by wild populations of *Testudo hermanni* in Italy: a study preparatory to an appropriate relocation in nature of confiscated individuals. Atti del LXIX Convegno SISVET. Perugia, 15-17 giugno 2015, p. 112.
- Cheylan M., 1984. The true status and future of Hermann's Tortoise *Testudo hermanni robertmertensi* Wermuth 1952 in Western Europe. Amphibia-Reptilia, 5: 17–26
- Cheylan M., Corti C., Carpaneto G.M., Mazzotti S., Zuffi M.A.L., 2010. *Testudo hermanni* Gmelin, 1789. In: Corti C., Capula M., Luiselli L., Razzetti E., Sindaco R. (Eds), Fauna d'Italia. Reptilia. Calderini, Bologna, pp. 188-199.
- CITES, 1997. Resolution Conf. 10.7: Disposal of Confiscated Live Specimens of Species Included in the Appendices. Adopted at the Tenth Meeting of the Conference of the Parties to the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (Harare, 1997). (Available from CITES Secretariat or from <http://www.cites.org>)
- Cook C.A., Lawton S.P., Davies A.J., Smit N.J., 2014. Reassignment of the land tortoise haemogregarine *Haemogregarina fitzsimonsi* Dias 1953 (Adeleorina: Haemogregarinidae) to the genus *Hepatozoon* Miller 1908 (Adeleorina: Hepatozoidae) based on parasite morphology, life cycle and phylogenetic analysis of 18S rDNA sequence fragments. Parasitology, 13: 1-10.
- Cook C.A., Smit N.J., Davies A.J., 2009. A redescription of *Haemogregarina fitzsimonsi* Dias, 1953 and some comments on *Haemogregarina parvula* Dias, 1953 (Adeleorina: Haemogregarinidae) from southern African tortoises (Cryptodira: Testudinidae), with new host data and distribution records. Folia Parasitol, 56(3): 173-179.
- Corti C., 2016. *Testudo graeca* Linnaeus, 1758 (*Testuggine moresca*) - *T. marginata* Schoepff, 1792 (*Testuggine marginata*). In: Stoch F., Genovesi P. (Eds), Manuali per il monitoraggio di specie e habitat di interesse comunitario (Direttiva 92/43/CEE) in Italia: specie animali. ISPRA, Serie Manuali e linee guida, 141/2016, pp. 253-255.

- Corti C., Bassu L., Nulchis V., Satta M.G., Carretero M.A., Paliaga B., 2007. Preliminary data on the ecology of *Testudo graeca graeca* of Mal di Ventre Island (W Sardinia, Italy). In: Bologna M.A., Capula M., Carpaneto G.M., Luiselli L., Marangoni C., Venchi A. (Eds), Riassunti del 6° Congresso Nazionale della *Societas Herpetologica Italica*. Roma, 27.IX-1.X.2006, p. 72.
- Corti C., Bassu L., Biaggini M., Bressi N., Capula M., Di Cerbo A.R., Di Francesco N., Di Tizio L., Fiacchini D., Lo Cascio P., Mastropasqua F., Nulchis V., Oneto F., Ottonello D., Richard J., Romano A., Satta M.G., Scillitani G., Spilinga C., Vanni S., 2013a. Aggiornamento sulla distribuzione italiana delle testuggini terrestri appartenenti al genere *Testudo*. In: Di Tizio L., Brugnola L., Cameli A., Di Francesco N. (Eds), Atti II Congresso SHI Abruzzo e Molise (Chieti 27-29 settembre 2013). Ianieri Edizioni, Pescara, pp. 153-170.
- Corti C., Bassu L., Nulchis V., Paliaga B., Satta M.G., Zuffi M.A.L., 2007. Morphology and preliminary data on the ecology of *Testudo graeca graeca* of Mal di Ventre Island (W Sardinia, Italy). In: Bologna M.A., Capula M., Carpaneto G.M., Luiselli L., Marangoni C., Venchi A. (Eds), Atti del 6° Congresso Nazionale della *Societas Herpetologica Italica*. Edizioni Belvedere, Latina, pp. 123-126.
- Corti C., Biaggini M., Bassu L., Di Cerbo A.R., Di Tizio L., Lo Cascio P., Mastropasqua F., Nulchis V., Romano A., Satta M.G., Sillero N., 2013b. Indagine sullo status delle popolazioni naturali di testuggini terrestri (genere *Testudo*) in Italia. Relazione finale. Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, 161 pp.
- Corti C., Biaggini M., Delaugerre M., Lo Cascio P., 2014. New data on the herpetofauna of the National Park “Arcipelago di La Maddalena” (NE Sardinia, Italy). In: Capula M., Corti C. (Eds), *Scripta Herpetologica, Studies on Amphibians and Reptiles in honour of Benedetto Lanza. Societas Herpetologica italica*, Edizioni Belvedere, Latina, pp. 55-62.
- Corti C., Cecchi L., Biaggini M., Lo Cascio P., Deli G., Leonetti F., Bassu L., Di Tizio L., Nepi C., Cameli A., Di Francesco N., Capuani R., Nulchis V., Romano A., Sperone E., 2016. Studio sanitario, genetico e naturalistico su popolazioni continentali, insulari di *Testudo* per la ricollocazione in aree idonee di soggetti sequestrati. Parte naturalistica. Relazione finale, giugno 2016. Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, 75 pp.
- Corti C., Cecchi L., Nepi C., Bartoli C., Biaggini M., Mastropasqua F., Bassu L., Nulchis V., Deli G., 2015. Studio delle caratteristiche distintive di alcune popolazioni naturali del genere *Testudo* presenti in Italia continentale e sulle isole maggiori, finalizzato alla creazione di una banca dati di riferimento con indicazioni utili ai fini di un corretto ricollocaimento in natura di

esemplari del genere *Testudo* confiscati. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, 52 pp.

- Corti C., Zuffi M.A.L., 2003. Aspects of population ecology of *Testudo hermanni hermanni* from Asinara Island, NW Sardinia (Italy, Western Mediterranean Sea): preliminary data. *Amphibia-Reptilia*, 24: 441-447.
- Del Vecchio S., Burke R.L., Rugiero L., Capula M., Luiselli L., 2011. Seasonal changes in the diet of *Testudo Hermannii hermanni* in central Italy. *Herpetologica*, 67(3): 236-249.
- Del Vecchio S., Burke R.L., Rugiero L., Capula M., Luiselli L., 2011a. The turtle is in the details: microhabitat choice by *Testudo hermanni* is based on microscale plant distribution. *Anim Biol*, 61: 249-261.
- Di Ianni F., Dodi P.L., Cabassi C.S., Pelizzone I., Sala A., Cavirani S., Parmigiani E., Quintavalla F., Taddei S., 2015. Conjunctival flora of clinically normal and diseased turtles and tortoises. *BMC Vet Res* 11: 91.
- Díaz-Paniagua C., Andreu A.C., 2005. Tortuga mora – *Testudo graeca*. In: Carrascal L.M., Salvador A. (Eds), *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
- Editorial team Eurosurveillance, Bertrand S., Rimhanen-Finne R., Weill F.X., Rabsch W., Thornton L., Perevoscikovs J., van Pelt W., Heck M., 2008. *Salmonella* infections associated with reptiles: the current situation in Europe. *Euro Surveill*, 13(24).
- El Mouden E.H., Slimani T., Ben Kaddour K., Lagarde F., Ouhammou A., Bonnet X. 2006. *Testudo graeca graeca* feeding ecology in an arid and overgrazed zone in Morocco. *J Arid Environ*, 64: 422-435.
- Farkas S.L., Gál J., 2009. Adenovirus and mycoplasma infection in an ornate box turtle (*Terrapene ornata ornata*) in Hungary. *Vet Microbiol*, 138(1-2): 169-173.
- Feldman S.H., Wimsatt J., Marchang R.E., Johnson A.J., Brown W., Mitchell J.C., Sleeman J.M., 2006. A novel mycoplasma detected in association with upper respiratory disease syndrome in free-ranging eastern box turtles (*Terrapene carolina carolina*) in Virginia. *J Wildlife Dis*, 42(2): 279-289.
- Filippi E., Luiselli L., 2008. Rettili e anfibi del Parco di Veio: ecologia, conservazione e specie prioritarie (Salamandrina dagli Occhiali e Testuggine di Hermann). In: Parco di Veio (Ed), *La biodiversità del Parco di Veio a 10 anni dalla sua istituzione. I risultati degli studi e delle*

- ricerche. 1998-2008. Atti del Convegno, Parco di Veio, 14 novembre 2008. Series "Parco e Ricerca" 1. Edizioni Parco di Veio, Campagnano di Roma, pp. 62-68.
- García G., Ramos F., Pérez R.G., Yañez J., Estrada M.S., Mendoza L.H., Martinez-Hernandez F., Gaytán P., 2014. Molecular epidemiology and genetic diversity of *Entamoeba* species in a chelonian collection. *J Med Microbiol*, 63(2): 271-283.
- Giacalone G., Abbate M., Fritz U., Lo Valvo M., 2008. Preliminary data on distribution, morphometric and genetic characterization of Hermann's Tortoise in Sicily. In: Corti C. (ed.), *Herpetologia Sardiniae*. Edizioni Belvedere, Latina, pp. 282-286.
- González Candela M., Martín Atance P., Seva J., Pallarés F.J., León Vizcaíno L., 2005. Granulomatous hepatitis caused by *Salmonella* Typhimurium in a spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*). *Vet Rec* 157(8): 236-237.
- Greiner E.C., Mader D.R., 2006. Parasitology. In: Divers S., Mader D. (Eds), *Reptile Medicine and Surgery*. 2nd edition. Saunder Elsevier, pp. 343-364.
- Hailey A., 2000. The effects of fire and mechanical habitat destruction on survival of the tortoise *Testudo hermanni* in northern Greece. *Biol Conserv*, 92: 321-333.
- Hailey A., Wright J., Steer E., 1988. Population ecology and conservation of tortoises: The effects of disturbance. *Herpetol J*, 1:294-301.
- Harris J.R., Neil K.P., Behravesh C.B., Sotir M.J., Angulo F.J., 2010. Recent multistate outbreaks of human *Salmonella* infections acquired from turtles: a continuing public health challenge. *Clin Infect Dis*, 50(4): 554-559.
- Henry P.Y., Nougarede J.P., Pradel R., Cheylan M., 1999. Survival rates and demography of the Hermann's Tortoise *Testudo hermanni* in Corsica, France. In: Miaud C., Guyetant G. (Eds), *Current Studies in Herpetology*, Le Bourget du Lac (SHE), pp.189-196.
- Hernandez-Divers S.J., 2001. Pulmonary candidiasis caused by *Candida albicans* in a Greek tortoise (*Testudo graeca*) and treatment with intrapulmonary amphotericin B. *J Zoo Wildl Med.*, 32(3): 352-359.
- Kingsbury B.A., Attum O., 2009. Conservation strategies: captive rearing, translocation and repatriation. In: Mullin S.J., Seigel R.A. (Eds) *Snakes: ecology and conservation*. Cornell University Press, Ithaca, NY, pp. 201-220.
- Iftime A., Iftime O., 2012. Long term observations on the alimentation of wild Eastern Greek Tortoises *Testudo graeca iberica* (Reptilia: Testudines: Testudinidae) in Dobrogea, Romania. *Acta Herpetol*, 7(1): 105-110.

- IUCN/SSC, 2000. IUCN Guidelines for the Placement of Confiscated Animals. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission.
- IUCN, 2003. Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional level: Version 3.0 IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- IUCN, 2012. Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional and National Levels. Version 4.0. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- IUCN/SSC, 2013. Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission.
- Jacobson E.R., Brown M.B., Wendland L.D., Brown D.R., Klein P.A., Christopher M.M., Berry K.H., 2014. Mycoplasmosis and upper respiratory tract disease of tortoises: a review and update. *Vet J*, 201(3): 257-264.
- Kolesnik E., Obiegala A., Marschang R.E., 2017. Detection of *Mycoplasma* spp., herpesviruses, topiviruses, and ferlaviruses in samples from chelonians in Europe. *J Vet Diagn Invest*, 29(6): 820-832.
- Lambert M., 1984. Threats to Mediterranean (West Palearctic) tortoises and their effects on wild populations: An overview. *Amphibia-Reptilia* 5: 5-15.
- Lecis R., Paglietti B., Rubino S., Are B.M., Muzzeddu M., Berlinguer F., Chessa B., Pittau M., Alberti A., 2011. Detection and characterization of *Mycoplasma* spp. and *Salmonella* spp. in free-living European tortoises (*Testudo hermanni*, *Testudo graeca*, and *Testudo marginata*). *J Wildlife Dis*, 47: 717-724.
- Loy A., Ramacciato V., Gentilotti F., Capula M., 2007. Demography of *Eurotestudo hermanni* in a mesic area of Central Italy. *Amphibia-Reptilia*, 28: 87-95.
- Luiselli L., Capula M., Burke R.L., Rugiero L., Capizzi D., 2014. Sighting frequency decreases over two decades in three populations of *Testudo hermanni* from Central Italy. *Biodiv Conserv*, 23: 3091-3100.
- Manilla G., 1998. Fauna d'Italia. Vol. XXXVI Acari Ixodida. Ed. Calderini, Bologna.
- Marenzoni M.L., Santoni L., Felici A., Maresca C., Stefanetti V., Sforza M., Franciosini M.P., Casagrande Proietti P., Origgi F.C., 2018. Clinical, Virological and Epidemiological Characterization of an Outbreak of Testudinid Herpesvirus 3 in a Chelonian Captive Breeding Facility: Lessons Learnt and first evidence of TeHV3 vertical transmission. *PLoS One*, 13(5): e0197169.

- Marschang R.E., Gravendyck M., Kaleta E.F., 1997. Herpesviruses in Tortoises: Investigations into Virus Isolation and the Treatment of Viral Stomatitis in *Testudo hermanni* and *T. graeca*. J Vet Med, (B) 44: 385-394.
- Marschang R.E., Origgi F.C., 2003. Diagnosis of Herpes Virus Infections in Tortoises – A Review. Verh Ber Erkrz Zootiere, 41: 47-52.
- Martel A., Blahak S., Vissenaekens H., Pasmans F., 2009. Reintroduction of clinically healthy tortoises: the herpesvirus Trojan horse. J Wildlife Dis 45(1), 218-220.
- Matsubayashi M., Suzuta F., Terayama Y., Shimojo K., Yui T., Haritani M., Shibahara T., 2014. Ultrastructural characteristics and molecular identification of *Entamoeba suis* isolated from pigs with hemorrhagic colitis: implications for pathogenicity. Parasitol Res, 113(8): 3023-3028.
- Mitura A., Niemczuk K., Zaręba K., Zajac M., Laroucau K., Szymańska-Czerwińska M., 2017. Free-living and captive turtles and tortoises as carriers of new Chlamydia spp. PLoS One, 12(9): e0185407. 7.
- Muñoz A., Soler J., Martínez-Silvestre A., 2009. Aportaciones al estudio de la alimentación de *Testudo hermanni* en el Parque Natural de la Sierra de Montsant. Boletín de la Asociación Herpetológica Española, 20: 54-58.
- Olivieri O., Marenzoni M.L., Stefanetti V., Del Rossi E., Zicavo A., Scuto S. A., Deli G., Coletti M., 2016. Studio sanitario, genetico e naturalistico su popolazioni continentali, insulari di *Testudo* per la ricollocazione in aree idonee di soggetti sequestrati. Parte sanitaria. Relazione finale. Ministero dell’Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare.
- Origgi F.C., 2012. Testudinid herpesviruses: a review. J Herpetol Med Surg, 22 (1-2): 42-54.
- Origgi F.C., Jacobson E.R., 2000. Diseases of the respiratory tract of chelonians. Vet Clin North Am Exot Anim Pract, 3(2): 537-49.
- Origgi F.C., Klein P.A., Mathes K., Blahak S., Marschang R.E., Tucker S.J., Jacobson E.R., 2001. Enzyme-linked immunosorbent assay for detecting herpesvirus exposure in Mediterranean tortoises (spur-thighed tortoise [*Testudo graeca*] and Hermann’s tortoise [*Testudo hermanni*]). J Clin Microbiol, 39: 3156-3163.
- Origgi F.C., Rigoni D.A., 2003. Tortoise herpesvirus outbreak in Italy: History, Diagnosis, Therapy and Follow up. Proc ARAV, 2003: 21-23.

- Origgi F.C., Romero C.H., Bloom D.C., Klein P.A., Gaskin J.M., Tucker S.J., Jacobson E.R., 2004. Experimental transmission of a herpesvirus in Greek tortoises (*Testudo graeca*). *Vet Pathol*, 41(1): 50-61.
- Origgi F.C., Tecilla M., Pilo P., Aloisio F., Otten P., Aguilar-Bultet L., Sattler U., Roccabianca P., Romero C.H., Bloom D.C., Jacobson E.R., 2015. A Genomic Approach to Unravel Host-Pathogen Interaction in Chelonians: The Example of Testudinid Herpesvirus 3. *PLoS One* 10(8): e0134897.
- Paetkau D., Slade R., Burden M., Estoup A., 2004. Genetic assignment methods for the direct, real-time estimation of migration rate: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol Ecol*, 13(1): 55-65.
- Pasmans F., De Herdt P., Dewulf J., Haesebrouck F., 2002. Pathogenesis of infections with *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Muenchen in the turtle *Trachemys scripta scripta*. *Vet Microbiol*, 87(4): 315-325.
- Paștiu A.I., Matei I.A., Mihalca A.D., D'Amico G., Dumitrache M.O., Kalmár Z., Sándor A.D., Lefkaditis M., Gherman C.M., Cozma V., 2012. Zoonotic pathogens associated with *Hyalomma aegyptium* in endangered tortoises: evidence for host-switching behaviour in ticks? *Parasit Vectors*, 5: 301.
- Pérez I., Giménez A., Sánchez-Zapata J., Anadón J., Martínez M., Esteve M., 2004. Non-commercial collection of Spur-thighed Tortoises (*Testudo graeca graeca*): A cultural problem in southeast Spain. *Biol Conserv*, 118: 175-181.
- Perez M., Leblois R., Livoreil B., Bour R., Lambourdiere J., Samadi S., Boisselier M.C., 2012. Effects of landscape features and demographic history on the genetic structure of *Testudo marginata* populations in the southern Peloponnese and Sardinia. *Biol J Linn Soc*, 105: 591-606.
- Perez M., Livoreil B., Mantovani S., Boisselier M. C., Crestanello B., Abdelkrim J., Bonillo C., Goutner V., Lambourdière J., Pierpaoli M., Sterijovski B., Tomovic L., Vilaça S.T., Mazzotti S., Bertorelle G., 2013. Genetic variation and population structure in the endangered Hermann's tortoise: the roles of geography and human-mediated processes. *J Hered*, 105(1): 70-81.
- Piry S., Alapetite A., Cornuet J. M., Paetkau D., Baudouin L., Estoup A., 2004. GENECLASS2: a software for genetic assignment and first-generation migrant detection. *J Hered*, 95(6): 536-539.
- Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P., 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945-959.

- Rannala B., Mountain J.L., 1997. Detecting immigration by using multilocus genotypes. *P Natl Acad Sci USA*, 94(17): 9197-9201.
- Rivas-Martínez S., Penas A., Díaz T.E., 2004. Bioclimatic & Biogeographic Maps of Europe. University of León, Spain. [http://www.globalbioclimatics.org/form/bi_map/index.htm]
- Romano A., Biaggini M., Di Cerbo A.R., Fulco E., Corti C., 2013. Distribution of *Testudo hermanni* Gmelin, 1789 in Basilicata region (Southern Italy). In: Scillitani, G., Liuzzi, C., Lorusso, L., Mastropasqua, F., Ventrella, P. (Eds), *Atti IX Congresso Nazionale della Societas Herpetologica Italica*, Bari-Conversano, 26-30 settembre 2012, Pineta, Conversano (Bari), pp. 172-177.
- Rondinini C., Battistoni A., Peronace V., Teofili C. (Eds). 2013. Lista Rossa IUCN dei Vertebrati Italiani. Comitato Italiano IUCN e Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, Roma.
- Rouag R., Ferrah C., Luiselli L., Tiar G., Benyacoub S., Ziane N., El Mouden E.-A., 2008. Food choice of an Algerian population of the spur-thighed tortoise, *Testudo graeca*. *Afr J Herpetol*, 57(2): 103-113.
- Rozyłowicz L., Popescu V.D., 2013. Habitat selection and movement ecology of eastern Hermann's tortoises in a rural Romanian landscape. *Eur J Wildlife Res*, 59: 47-55.
- Seimon T.A., Horne B.D., Tomaszewicz A., Pruvot M., Som S., In S., Sokha C., Platt S., Toledo P., McAloose D., Calle P.P., 2017. Disease screening in Southern River Terrapins (*Batagur Affinis Edwardmollii*) in Cambodia. *J Zoo Wildlife Med*, 48(4): 1242-1246.
- Sting R., Ackermann D., Blazey B., Rabsch W., Szabo I., 2013. Salmonella infections in reptiles--prevalence, serovar spectrum and impact on animal health. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 126: 202-208.
- Stojadinović D.M., Milošević D.D., Sretić K.S., Cvetković M.P., Jovanović T.R., Jovanović B.Lj., Crnobrnja-Isailović J.M., 2017. Activity patterns and habitat preference of eastern Hermann's tortoise (*Testudo hermanni boettgeri*) in Serbia. *Turk J Zool*, 41: 1036-1044.
- Takano A., Goka K., Une Y., Shimada Y., Fujita H., Shiino T., Watanabe H., Kawabata H., 2010. Isolation and characterization of a novel *Borrelia* group of tick-borne borreliae from imported reptiles and their associated ticks. *Environ Microbiol*, 12(1): 134-46.
- Takhtajan A., 1986. Floristics regions of the world. University of California, Berkeley and Los Angeles, USA.

- Thompson. R.C.A., 2003. Molecular epidemiology of *Giardia* and *Cryptosporidium* infections. *J Parasitol*, 89: S134-S140.
- Tuberville T.D., Clark E.E., Buhlmann K.A., Gibbons J.W., 2005. Translocation as a conservation tool: site fidelity and movement of repatriated gopher tortoises (*Gopherus polyphemus*). *Anim Conserv*, 8: 349-358.
- Tuberville T.D., Norton T.M., Todd B.D., Spratt J.S., 2008. Longterm apparent survival of translocated gopher tortoises: a comparison of newly released and previously established animals. *Biol Conserv*, 141: 2690-2697.
- Turrisi G.F., 2008. Testuggine di Hermann *Testudo hermanni* Gmelin, 1789. In: AA.VV., Atlante della Biodiversità della Sicilia. Vertebrati. ARPA Sicilia, Palermo, pp. 281-286.
- Vamberger M., Bassu L., Corti C., Nulchis V., Satta M. G., Stuckas H., Fritz U., 2010. Is the spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*) native in Sardinia? In: Di Tizio L., Di Cerbo A.R., Di Francesco N., Cameli A. (Eds), Atti VIII Convegno Nazionale *Societas Herpetologica Italica*, Chieti, 22-26 settembre 2010, Ianieri Edizioni, Pescara, pp. 465-471.
- Vamberger M., Corti C., Stuckas H., Fritz U., 2011. Is the threatened spur-thighed tortoise *Testudo graeca* native in Sardinia? Implications from population genetics and a comparison with other Sardinian chelonians. *Amphibia-Reptilia*, 32: 9-25.
- Van Keulen H., Macechko P.T., Wade S., Schaaf S., Wallis P.M., Erlandsen S.L., 2002. Presence of human *Giardia* in domestic, farm and wild animals, and environmental samples suggests a zoonotic potential for giardiasis. *Vet Parasitol*, 108: 97-107.
- Willensem R.E., 1995. Status of *Testudo marginata* in Greece. In: Ballasina D. (ed.), Red Data Book on Mediterranean Chelonian. Edagricole, Bologna, pp. 103-109.
- Willemsen R.E., Haley A., 2001. Effects of spraying the herbicides 2,4-D and 2,4,5-T on a population of the tortoise *Testudo hermanni* in southern Greece. *Environ Pollut*, 113(1): 71-8.
- Wolf D., Vrhovec M.G., Failing K., Rossier C., Hermosilla C., Pantchev N., 2014. Diagnosis of gastrointestinal parasites in reptiles: comparison of two coprological methods. *Acta Vet Scand*, 56: 44.
- Znari M., Germano D., Mace J., 2005. Growth and population structure of the Moorish Tortoise (*Testudo graeca graeca*) in westcentral Morocco: Possible effects of over- collecting for the tourist trade. *J Arid Environ*, 62: 55-74.