



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO

Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali

Corso di Laurea in Analisi e Gestione degli Ambienti Naturali

**Indagine sulla morfologia e la formula
ematica di sei popolazioni di
Podarcis muralis in aree soggette a diverso
livello di contaminazione**

Relatore: Prof. Marco FERRAGUTI

Correlatore: Dott. Stefano SCALI

Tesi di Laurea di:

Emanuele FASOLA

Matr. n. 716489

Anno Accademico 2007/2008

INDICE

INTRODUZIONE.....	3
STORIA DELL'ICMESA.....	6
LA DIOSSINA.....	10
COS'E' LA DIOSSINA.....	11
COME LE DIOSSINE ENTRANO NELL'AMBIENTE.....	12
COSA SUCCEDDE SE LA DIOSSINA ENTRA NEL CORPO DI UN ANIMALE	13
EFFETTI DELLA DIOSSINA SULL'UOMO.....	14
EFFETTI DELLA DIOSSINA SU ALTRI ANIMALI	16
LA LUCERTOLA MURAIOLA.....	18
DISTRIBUZIONE	19
RICONOSCIMENTO.....	19
ECOLOGIA	24
AREA DI STUDIO.....	25
IL BOSCO DELLE QUERCE, SEVESO.....	26
BRUGHIERA DI MOMBELLO, PARCO DELLE GROANE.....	28
INTIMIANO.....	30
CASCINA MORDINA, MARIANO COMENSE, PARCO DELLA BRUGHIERA BRIANTEA	30
CASCINA AMATA, CANTU', PARCO DELLA BRUGHIERA BRIANTEA	31
QUAGLIODROMO, BARLASSINA, PARCO DELLE GROANE.....	32
MATERIALI E METODI.....	33
CATTURA ED ANALISI BIOMETRICHE	34
ANALISI DEGLI STRISCI DI SANGUE	37
INTRODUZIONE.....	37
METODI DI PRELIEVO, PREPARAZIONE ED ANALISI DEGLI STRISCI	42
PARASSITI EMATICI.....	43
ANALISI STATISTICA.....	44
ANALISI MORFOMETRICA	44
ANALISI DEI PARAMETRI EMATICI	44
RISULTATI.....	45
ANALISI DEI PARAMETRI MORFOMETRICI	46
ANALISI DEI PARAMETRI EMATICI	52
ANALISI DEL POLIMORFISMO.....	53
DISCUSSIONE.....	57
MORFOLOGIA.....	58
GLI EMATOCITI.....	59
BIBLIOGRAFIA	61
RINGRAZIAMENTI.....	63

INTRODUZIONE

INTRODUZIONE

Gli inquinanti organici persistenti POP (persistent organic pollutant) sono sostanze chimiche organiche che persistono nell'ambiente per via della loro stabilità chimica e strutturale, perciò costituiscono un grande rischio per la salute degli organismi.

Due effetti spiccano per importanza: la depressione del sistema immunitario e lo stravolgimento delle funzioni riproduttive negli animali che vengono a contatto con questo tipo di inquinanti (Fossi et al., 2004).

I POP sono molto pericolosi soprattutto perché quando entrano in una rete trofica possono andare incontro a processi di biomagnificazione o di bioaccumulazione.

La biomagnificazione è quel processo attraverso il quale le sostanze tossiche si accumulano all'interno degli organismi in concentrazioni crescenti mano a mano che si sale al livello trofico superiore. Sostanze che si trovano a concentrazioni bassissime nell'ambiente, spesso al limite della misurabilità, una volta assunte ai livelli più bassi della rete trofica si troveranno negli organismi in concentrazioni sensibilmente più alte e si trasferiranno di conseguenza ai successivi livelli trofici (Fossi et al., 2002).

In pratica, se un inquinante è presente, anche a basse concentrazioni, nei tessuti di una popolazione di animali erbivori allora i carnivori che si nutrono predando quegli animali introdurranno nel loro organismo delle concentrazioni molto più alte dell'inquinante in questione.

La bioaccumulazione invece è il processo attraverso il quale le sostanze tossiche si accumulano negli organismi nel corso della loro vita (Wells et al., 2005).

Tra i POP si trovano numerosi composti inquinanti diversi, un esempio l'insetticida DDT, gli IPA (idrocarburi policiclici aromatici) oppure le diossine dette CDD (cloro-dibenzo-diossine) che sono composti particolarmente tossici.

La pericolosità della diossina è nota ormai da tempo (AA.VV., 1998) ed i suoi effetti sono stati largamente studiati in tutto il mondo, in Italia ed in particolare in Lombardia, nella zona della Brianza, a causa dell'incidente avvenuto nella fabbrica ICMESA di Seveso del 1976.

In seguito a quell'evento furono liberati nell'ambiente numerosi composti tossici tra cui il più pericoloso era appunto un particolare tipo di diossina: 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-diossina (2,3,7,8-TCDD) che è anche chiamata semplicemente diossina poiché, nonostante faccia parte di una famiglia numerosa di composti chimici, è quella più tossica e pericolosa perciò ci si riferisce a questo particolare composto con il nome che identifica tutta la famiglia (AA.VV., 1998).

In quella occasione la diossina, l'inquinamento che questa può causare e soprattutto le patologie che possono insorgere dopo un'esposizione a questo composto divennero note a tutti gli abitanti della Brianza, tanto che molti ancora si ricordano l'accaduto.

Numerosi furono gli studi compiuti soprattutto a livello medico per studiare le molteplici patologie causate dalla diossina, si può comprendere infatti che l'attenzione fu subito catalizzata dagli effetti dannosi per la salute umana.

Altri studi riguardarono soprattutto la chimica della diossina, il modo in cui questa si diffonde nell'ambiente e come può essere metabolizzata ed eliminata, infatti è provato che una volta che la diossina ricade sul terreno questa poi può passare al biota sovrastante (Zhao et al., 2006).

La concentrazione della diossina nel terreno fu monitorata attentamente nei primi dieci anni successivi all'incidente, i controlli continuano tuttora anche se sono più radi.

Per studiare gli effetti degli inquinanti persistenti vengono utilizzate diverse specie animali come bioindicatori, tra questi purtroppo i rettili non sono molto considerati.

I rettili però posseggono alcune caratteristiche utili a studiare gli effetti degli inquinanti: sono abbastanza longevi per cui possono essere usati per studiare gli effetti di eventi accaduti a distanza di alcuni anni; hanno un metabolismo più lento di quello degli animali omeotermi quindi gli elementi inquinanti permangono nel loro corpo più a lungo.

Tra i rettili la lucertola muraiola *Podarcis muralis* è molto interessante sotto questo punto di vista. Oltre a possedere le caratteristiche generali dei rettili è un animale ampiamente diffuso in Italia e nella maggior parte dell'Europa centro-meridionale; vive anche in ambienti fortemente antropizzati che quindi sono più soggetti ad inquinamento. Un animale ampiamente diffuso e che vive anche in zone inquinate è quindi adatto per studiare gli effetti degli inquinanti stessi.

Per questi motivi si è deciso di investigare gli effetti di un inquinante come la diossina utilizzando come modello la lucertola muraiola.

Scopo di questo studio è ricercare una possibile relazione tra la diossina ricaduta nei terreni di Seveso e dintorni e la struttura delle popolazioni di *Podarcis muralis* che vivono in queste zone.

Sono stati quindi scelti sei siti di campionamento a distanza crescente da Seveso fino a una distanza massima di 13km.

In questi siti si è svolta l'attività di cattura e misurazione degli individui di *Podarcis muralis*; da questi campionamenti sono stati ricavati i dati biometrici per ogni individuo catturato e si è effettuato un prelievo di sangue per preparare degli strisci successivamente analizzati in laboratorio presso il Civico Museo di Storia Naturale di Milano.

Grazie ai siti posti a distanza crescente da Seveso il nostro fine è individuare un eventuale gradiente in qualcuno dei parametri rilevati dalle analisi in modo da suggerire una correlazione tra l'allontanamento da Seveso ed il diminuire di effetti legati all'inquinamento da diossina.

STORIA DELL'ICMESA

LA STORIA DELL'ICMESA DI SEVESO

Tutte le informazioni riportate in questo capitolo sono tratte da “Il Bosco delle Querce di Seveso tra memoria e natura” (Oliva et al., 2008) e dagli atti del convegno “La risposta tecnologica agli inquinanti chimici” (Bonizzoni & Meroni, 1984).

Nel 1945 l'ICMESA presentò al Corpo del Genio Civile dello stato la domanda di costruzione per uno stabilimento di produzione di sostanze farmaceutiche e nel 1947 la fabbrica iniziò l'attività. Nel 1969 la fabbrica cominciò a produrre 2,4,5-triclorofenolo: un prodotto intermedio nella preparazione di un acido i cui derivati venivano poi usati come erbicidi e per la preparazione di antibatterici. A seguito dell'esplosione del 10 luglio 1976 il triclorofenolo e tutte le sostanze di reazione, diossine comprese, che si generarono nell'incidente divennero note al pubblico ma tutti i cicli produttivi della fabbrica erano già a rischio dall'anno d'apertura dello stabilimento.

Già nel 1949 il consiglio comunale del Comune di Seveso si lamentava per l'odore nauseabondo delle acque di scarico dell'ICMESA, denunciando il fatto che le esalazioni rendevano l'aria irrespirabile al di sopra dello scarico e nel primo tratto di confluenza col torrente Certesa.

Sicuramente a quell'epoca i controlli ambientali erano scarsi e la pericolosità delle sostanze trattate era ignota, per cui nulla si sa dei possibili apporti di inquinanti che dalla fabbrica si sono diffusi nell'ambiente negli anni precedenti all'incidente, né delle emissioni nelle acque e nell'atmosfera, mai monitorate.

Servì un grave incidente per attirare l'attenzione: il sabato 10 luglio 1976 alle ore 12:37 un aumento incontrollato nella temperatura di un reattore provocò un'esplosione ed un'emissione atmosferica della durata di almeno 20 minuti, con la conseguente formazione di una nube tossica composta da circa 400 kg di reagenti chimici, per la maggior parte 1,2,4,5-tetraclorobenzene, 2,4,5-triclorofenato di sodio, 2,4,5-triclorofenolo; reazioni minori portarono alla formazione di 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-diossina. La quantità di diossina prodotta dalla reazione fu stimata da vari autori ma le conclusioni non sono univoche ed i valori stimati vanno da 500 g a 130 kg; lo stesso vale per i valori di diossina dispersi nell'aria che vanno, a seconda dell'autore, da 450 g a 3 kg.

Si osservò che i venti prevalenti trascinavano la nube principalmente verso sud est per cui le attenzioni si rivolsero in quella direzione (nulla si sa di eventuali ricadute in altre direzioni non palesemente indicate dalla direzione del vento).

Solo dopo 5 giorni, a seguito della morte di numerosi animali e dei primi casi di lesioni alla pelle furono emanate le prime ordinanze di tutela della popolazione; il fatto che sia passato così tanto tempo dimostra come l'inquinamento causato dai processi industriali fosse tenuto in poco conto e come nulla si sapesse sulla pericolosità delle sostanze impiegate nei processi produttivi.

Da sabato 24 luglio fu stabilito che l'area inquinata maggiormente era di 1810 ha nei comuni di

Seveso, Meda, Cesano Maderno e Desio (ed in misura minore di altri 7 comuni adiacenti); di questi 110 ha, denominati come zona A, comprendevano la zona in cui sorgeva la fabbrica e le zone immediatamente adiacenti; 270 ha, denominati zona B, più distante ed estesa verso sud lungo la traiettoria dei venti prevalenti al momento della fuoriuscita della nube tossica; ed infine una zona di rispetto, zona R, di 1430 ha che circonda ad anello le zone A e B (FIG. 1).

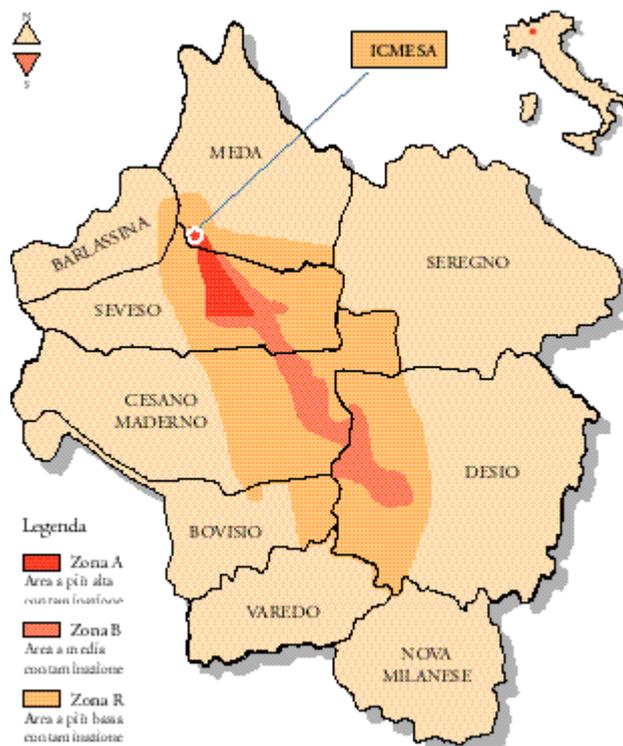


FIG. 1: Mappa indicante l'estensione delle zone A, B ed R; la zona A ora corrisponde al Parco Regionale del Bosco delle Querce di Seveso.

I confini tra le varie zone furono stabiliti misurando la concentrazione di diossina nel suolo: zona A >50 microgrammi al metro quadro, zona B >5 microgrammi al metro quadro, zona R >0,75 microgrammi al metro quadro.

La zona A fu successivamente evacuata ed isolata con una barriera metallica rivestita di vetroresina, alta 4 m, per impedire la dispersione dell'inquinante con l'azione del vento; iniziava a farsi largo la consapevolezza dell'accaduto. Furono evacuati 676 abitanti tra il 26 luglio e la metà di agosto.

Nel gennaio 1977 fu istituito l'Ufficio Speciale per Seveso per monitorare la situazione e trovare una soluzione, purtroppo non si sapeva praticamente nulla degli effetti della diossina e la tesi della decontaminazione spontanea grazie ad agenti naturali dominò fino al 1979 ritardando di due anni le operazioni di bonifica.

Da quel momento si vagliarono numerose ipotesi di bonifica dall'inceneritore all'uso di sostanze chimiche neutralizzanti o condensanti, infine si decise però che l'operazione più efficace su larga scala fosse l'asportazione degli strati superficiali di terreno (scarifica) nella zona A e la costruzione di vasche di contenimento speciali dove depositare il terreno stesso e tutto il materiale inquinato.

Dal 1980, dopo ulteriori analisi si scoprì che l'80% della diossina era contenuta nei primi 30 cm di terreno e si stabilì una soglia di diossina residua di 5 microgrammi al metro cubo, dopodiché si calcolò quanto terreno asportare nelle varie zone in cui era suddivisa a sua volta la zona A.

Vicino alla fabbrica la scarifica fu di circa 90 cm, mentre nelle zone più lontane di circa 30 cm.

In contemporanea tra il 1981 ed il 1984 furono costruite due vasche costituite da vari strati sovrapposti di cemento e membrane impermeabili, così da creare due contenitori totalmente isolati dall'ambiente esterno.

La prima vasca fu costruita al posto della fabbrica Icmesa nel comune di Meda (parte nord della zona A) con una capienza di 80000 m³; la seconda vasca fu collocata nella parte sud-ovest della zona A con una capienza di 200000 m³.

Le vasche contengono per lo più il terreno asportato dalla zona A ma anche tutti i resti delle case demolite in quella zona, tutti i mobili e gli effetti personali degli abitanti evacuati, gli animali morti o abbattuti in seguito all'incidente e parte degli attrezzi di bonifica ormai contaminati.

Queste due vasche esistono tuttora e sono dotate di strumenti di monitoraggio per un continuo controllo, però questi grandi depositi non sono più visibili perché nella zona A ora sorge il Parco Regionale del Bosco delle querce di Seveso e Meda.

La due vasche ora appaiono come due collinette all'interno del parco che fu istituito nel 1983, i lavori ambientali e forestali si svolsero tra il 1984 ed il 1986; dopo la scarifica fu portato nuovo terreno da altre località della Lombardia ed iniziò un programma di piantumazione ma soprattutto di gestione ambientale che continua tuttora e che dal 2005 ha valso al Bosco delle Querce il titolo di Parco Regionale.

LA DIOSSINA

LA DIOSSINA

COS'E' LA DIOSSINA

La diossine o CDD (cloro-dibenzo-diossine) sono una famiglia di composti organici policiclici alogenati comprendente 75 composti chiamati diossine policlorinate; si tratta di molecole la cui parte principale è costituita da un doppio anello aromatico e sono divise in 8 gruppi in base al numero di atomi di cloro presenti nella molecola che possono essere legati in varie posizioni sugli anelli aromatici (FIG. 2), i 75 composti di cui fa parte la famiglia sono differenti isomeri diversi a seconda del grado di clorurazione.

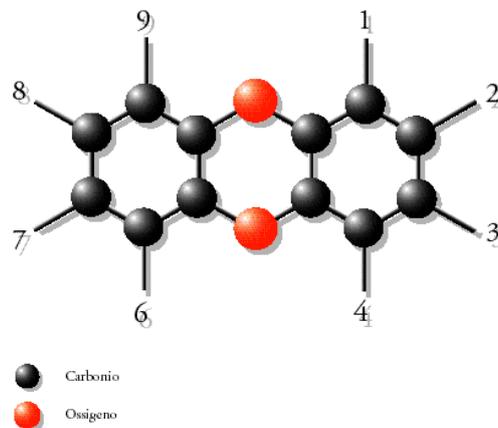


FIG. 2: Molecola di dibenzodiossina con numeri indicanti le posizioni in cui si possono legare atomi di cloro.

Sono composti con proprietà chimiche e fisiche simili: sono solidi con elevati punti di fusione ed ebollizione, scarsamente solubili in acqua e marcatamente lipofili. In forma pura le diossine sono cristalli incolori (la 2,3,7,8-TCDD è anche inodore), entrano nell'ambiente associate ad altri composti e con molte impurità. Tendono ad essere associati al suolo all'aria o a qualsiasi superficie con alto contenuto di materia organica (es: sulle foglie delle piante).

La diossina di Seveso è la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-diossina o TCDD (FIG. 3) la quale possiede 4 atomi di cloro nelle posizioni 2,3,7,8 (AA.VV., 1998).

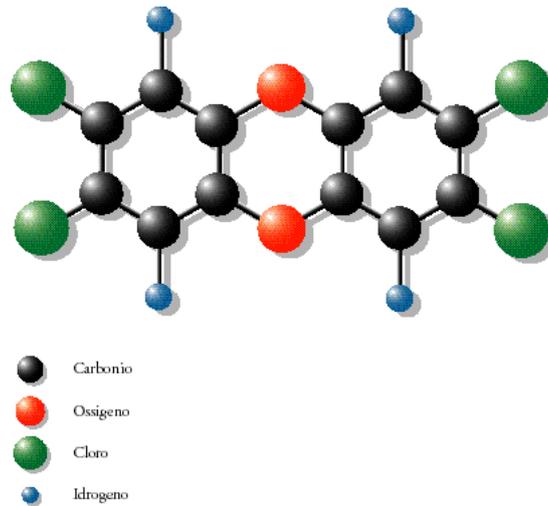


FIG. 3: Molecola di 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-diossina.

COME LE DIOSSINE ENTRANO NELL'AMBIENTE

Le diossine sono naturalmente prodotte dalla incompleta combustione di materiale organico durante gli incendi o l'attività vulcanica; tuttavia la maggior parte della diossina che entra nell'ambiente è un sottoprodotto in processi di combustione da parte di attività industriali e domestiche.

Ora nel mondo l'uso delle CDD è molto ristretto e regolamentato, per esempio il pentaclorofenolo (PCP) è ancora un composto utilizzato (ma con restrizioni) mentre per altri composti, come la 2,3,7,8-TCDD, l'uso è severamente proibito.

Normalmente la maggior parte delle diossine è rilasciata nell'ambiente durante la combustione di combustibili fossili e durante i processi di incenerimento dei rifiuti (una parte delle emissioni deriva dagli scarichi delle autovetture diesel e una minima parte dal fumo di sigarette).

Le diossine formate durante processi di combustione si associano a piccole particelle (es: particelle di cenere) nell'aria. Viaggeranno nell'aria in relazione alla dimensione e al relativo potenziale di dispersione delle particelle cui sono associate. Alcune delle diossine con meno atomi di cloro (da 1 a 3) e alcune tetradiossine possono vaporizzarsi ed essere trasportate a lunghe distanze nell'atmosfera. È stato stimato che dal 20 al 60% della TCDD nell'aria è vaporizzata (AA. VV., 1998).

La luce del sole e gli agenti chimici presenti nell'aria potranno smantellare una piccola porzione della diossina ma la maggior parte ricadrà sul suolo e nell'acqua.

Le diossine scaricate direttamente nell'acqua dalle industrie si degradano ancora meno e la maggior parte, poiché le CDD non si dissolvono in acqua, si legherà fortemente a piccole particelle organiche o di suolo che poi eventualmente sedimenteranno al fondo o saranno trasportate.

Le diossine possono anche associarsi al fitoplancton e zooplancton generando immaginabili processi di bioaccumulazione o di biomagnificazione nei successivi anelli della catena alimentare.

Le diossine depositate sul terreno da fonti di combustione o provenienti dai pesticidi si legano strettamente alle particelle del suolo e possono contaminare l'acqua di falda. L'erosione del suolo può far sì che le CDD finiscano nelle acque di superficie. Alcuni batteri e funghi possono degradare le diossine ma il processo è molto lungo per cui le diossine possono persistere nell'ambiente a lungo.

Nell'atmosfera le TCDD hanno un tempo di dimezzamento massimo di 2 giorni, per altre CDD si va da 0,5 a 9,6 giorni. In acqua la permanenza delle diossine dipende dalla fotolisi (per cui è più alta in inverno e più bassa in estate) in ogni caso il tempo di dimezzamento delle diossine nell'acqua va da 1 a 4 giorni.

Nei suoli la fotolisi è largamente impedita e ciò si ripercuote in un lungo tempo di residenza delle molecole inquinanti, alcuni studi hanno individuato per la TCDD un tempo di dimezzamento dai 9 ai 15 anni negli strati superiori del suolo mentre negli strati profondi da 25 a 100 anni. Il tempo di residenza cambia anche a seconda del terreno, in suoli sabbiosi è minore mentre è maggiore in suoli argillosi (AA.VV., 1999).

In un caso di studio in Cina dopo 14 anni dalla fine dell'esposizione alla diossina ancora si trovarono considerevoli concentrazioni nel suolo ma non solo, fu provato il trasferimento della diossina nel biota associato al suolo, in particolare nelle piante, nei vermi e nelle uova di galline e oche che foraggiano sul suolo contaminato (Zhao et al., 2006).

COSA SUCCEDDE SE LA DIOSSINA ENTRA NEL CORPO DI UN ANIMALE

Le diossine una volta entrate nell'organismo si depositano soprattutto nei tessuti adiposi e nel fegato. Non si sa molto del modo in cui l'essere umano possa demolire la 2,3,7,8-TCDD nel suo corpo ma studi effettuati su altri animali dimostrano che la degradazione della diossina è veramente lenta in un organismo. Per questo tipo di diossina si stimano dai 7 ai 12 anni perché il corpo umano possa degradarne la metà, per altri tipi di diossina meno conosciuti la stima va dai 5 ai 15 anni, scarsi sono gli studi effettuati su altre specie ma si può immaginare un tempo di persistenza nell'organismo simile per tutti i mammiferi mentre potrebbe essere più lungo in animali con metabolismo più lento come per esempio i rettili.

Le diossine fuoriescono dal corpo di un animale soprattutto con le feci, in minor parte con le urine e in minima parte col latte materno ma tutti questi processi richiedono un tempo molto lungo per la completa espulsione di una sostanza come la diossina (AA.VV., 1998).

EFFETTI DELLA DIOSSINA SULL'UOMO

La morte non è uno degli effetti immediati della diossina e non è stato registrato nessun incremento della mortalità negli operai della fabbrica BASF in Germania e ICMESA in Italia nei 10 anni successivi agli incidenti avvenuti nei due impianti; nemmeno tra i veterani del Vietnam (durante la guerra furono sparse tonnellate di erbicidi contenenti diossine per distruggere le colture nemiche) si registrò un incremento della mortalità dopo la fine della guerra; questi furono i tre scenari in cui l'essere umano fu più in contatto con la diossina durante il secolo scorso.

Nonostante la morte non fosse causata direttamente dalla diossina alcuni studi rilevarono un significativo incremento del rischio per malattie cardiovascolari e un incremento del rischio di contrarre il cancro nei tre casi citati in precedenza.

Nel caso di Seveso fu rilevato un significativo aumento della morte a causa di malattie croniche polmonari nei maschi residenti nella zona A e nelle femmine nella zona B; in realtà è provato che la 2,3,7,8-TCDD non colpisce il sistema respiratorio ma lo stress dopo il disastro e l'effetto della diossina nel deprimere il sistema immunitario possono aver causato problemi nei soggetti già a rischio per malattie respiratorie.

Significativi sono gli effetti endocrini con provate disfunzioni degli ormoni della tiroxina (thyroxine T4) e triiodotironina (triiodothyronine T3) nonché nell'ormone stimolatore della tiroide (TSH). In caso di intossicazione da diossina il T3 diminuisce mentre il TSH aumenta.

Un altro effetto delle CDD registra il significativo aumento del diabete mellito e suggerisce un collegamento tra la diossina ed il metabolismo del glucosio nonché la produzione di insulina; 20 anni dopo l'incidente di Seveso si riscontrò un significativo aumento delle morti per diabete nelle donne della zona B.

L'effetto dermatologico più comune dell'esposizione ad alte dosi di CDD nell'uomo è la cloracne, caratterizzato da ipercheratosi follicolare che può associarsi o meno con cisti e pustole. Usualmente si manifesta sul viso ed il collo ma può estendersi su tutto il corpo fino ai genitali; nella maggior parte dei casi la malattia permane per alcuni mesi dopo l'esposizione ma nei casi peggiori può protrarsi anche per 30 anni.

A Seveso i casi di cloracne nei bambini si presentarono 3 settimane dopo l'incidente e durarono dagli 8 ai 26 mesi; in circa un mese dopo l'incidente 447 persone a Seveso svilupparono edemi e lesioni necrotiche, in seguito 34 di loro furono affetti da cloracne. Dal 1976 al 1978 vi furono 193 casi di cloracne infantile, fortunatamente tutti i bambini affetti guarirono entro il 1982. Si osservò che gli stessi alti livelli di TCDD conducevano a cloracne nei bambini e ragazzi ma non negli adulti

(affetti solo dall'acuta esposizione immediatamente dopo l'esplosione) ciò suggerisce che la diossina possa in qualche modo (non conosciuto) interferire o interagire coi processi di crescita e sviluppo dell'organismo.

Sono documentate potenziali alterazione del sistema immunitario per esempio si riscontrò un significativo incremento di malattie causate da virus e parassiti nei lavoratori della fabbrica BASF dopo 35 anni dall'incidente, si pensa che ciò sia dovuto ad un'alterazione funzionale dei linfociti. Negli operai esposti all'incidente della fabbrica si registrò un significativo incremento di cellule NK (natural killers), di anticorpi antinucleari e dei complessi immunitari. I livelli totali di linfociti (B, T, T helper, T suppressor) non erano significativamente aumentati. Tuttavia una analisi a regressione multipla rivelò una correlazione significativa tra l'accresciuto livello di diossina ed un incremento in percentuale di linfociti T.

In generale comunque la maggior parte di questi studi non ha registrato alterazioni significative nei livelli di linfociti e nelle loro capacità di risposta immunitaria (ciò vale anche per Seveso) per cui gli studiosi conclusero che gli effetti di immunodepressione sono causati da una ridotta funzionalità immunitaria in singoli linfociti piuttosto che dalla riduzione del numero totale di linfociti.

Sono documentati anche sintomi neurologici in lavoratori di fabbriche che trattavano le diossine, tali sintomi persistenti per almeno 10 anni dopo l'esposizione alla diossina, includono: insonnia, debolezza, apatia, perdita d'appetito e addirittura disordini mentali e sessuali. Alcuni individui esposti ad eventi particolarmente intensi svilupparono epilessia temporanea ed idrocefalo. Nella maggior parte dei casi da autopsie su individui deceduti si notarono lesioni ai nervi periferici (ciò è vero anche per Seveso dove si registrò un'incidenza di malattie neurologiche con massima incidenza del 16,7% in zona A).

Sembra che l'esposizione alle diossine abbia effetti anche sull'apparato riproduttore, almeno per gli individui di sesso maschile. Fu riscontrata una correlazione significativa tra riduzione della taglia dei testicoli e l'esposizione a TCDD nei veterani del Vietnam.

Studi sugli effetti sulle gravidanze e sui potenziali effetti sui nati non sono conclusivi e nella maggior parte dei casi non mostrano statistiche significative.

È ormai accertato che la 2,3,7,8-TCDD è cancerogena, a Seveso un significativo incremento del rischio di contrarre vari tipi di cancro fu registrato per la zona B (per la zona A si ritiene che il ristretto campione impedì di trovare valori significativi).

Uno studio sui bambini rivelò un aumentato rischio di contrarre il linfoma di Hodgkin o la leucemia mieloide. Comunque il limitato numero di casi registrati e il tempo di latenza relativamente breve (10 anni) limita l'interpretazione dei risultati (AA.VV., 1998).

EFFETTI DELLA DIOSSINA SU ALTRI ANIMALI

In caso di esposizione orale alla diossina (ingestione col cibo): esperimenti su mammiferi (ratti *Rattus norvegicus* e porcellini d'india *Cavia porcellus*) confermano che una dieta contenente pochi microgrammi di diossina per kg di peso dell'animale al giorno, se ripetuta per settimane, aumenta la mortalità in modo significativo.

Un'esposizione con concentrazioni inferiori ma protratta per molto tempo (1 o 2 anni) ha ridotto significativamente la sopravvivenza nei ratti *Rattus norvegicus*.

Se non la morte l'esposizione a diossine ha comunque causato malesseri respiratori, cardiovascolari, gastrointestinali ed epatici (il fegato è l'organo più colpito con varie patologie gravi) sugli animali da laboratorio, nonché effetti negativi sugli ormoni tiroidei, disturbi di iperglicemia ed ipoglicemia, significativa riduzione degli ormoni tiroidei T3 e T4 e deperimento del sistema immunitario.

Si sono manifestati inoltre irregolarità nel ciclo mestruale e nell'ovulazione spesso accompagnati dal fallimento dell'impianto dell'embrione nell'utero materno e dall'aumento degli aborti (in ratti *Rattus norvegicus*, porcellini d'india *Cavia porcellus*, conigli *Oryctolagus cuniculus* e scimmie di specie non indicata).

Nei maschi di ratti *Rattus norvegicus* si misurò un diminuito livello di testosterone accompagnato dalla demascolinizzazione del comportamento sessuale nonché dal ritardo della pubertà accompagnato dalla ritardata discesa dei testicoli. I cuccioli maschi dei ratti crescevano più lentamente del normale e manifestavano un comportamento femminilizzato. Si osservò inoltre la malformazione dei genitali esterni con conseguente diminuita fertilità.

Effetti più gravi si manifestavano come malformazioni dei feti, aumento del peso del fegato e contemporanea riduzione del timo nei nati ed aumentata mortalità dei feti.

Si registrarono conteggi ematici alterati soprattutto per animali esposti a dosi letali o quasi letali di 2,3,7,8-TCDD; si trattava di un incremento dei leucociti totale e dei neutrofili e decremento delle piastrine. La riduzione delle piastrine fu osservata anche per esposizioni a dosi molto minori di diossina ma protratte per settimane.

La 2,3,7,8-TCDD influenza i livelli di androgeni, l'espressione dei caratteri sessuali secondari, la spermatogenesi, la fertilità ed il comportamento sessuale negli animali già citati.

Tra gli effetti endocrini della diossina uno dei più vistosi si ha sugli ormoni, per esempio si osservò una riduzione del 29% nel corticosterone in maschi di ratto *Rattus norvegicus* esposti ad una singola dose di 25 microgrammi di diossina per kg di peso dell'animale al giorno. Altri effetti documentati riportano la diminuzione degli ormoni tiroidei T3 e T4; altri studi suggeriscono che la 2,3,7,8-TCDD potrebbe interferire con la secrezione e la sintesi dell'ormone ACTH. In ogni caso questi risultati sono provati soprattutto nei roditori.

È dimostrato che i POP (tra i quali si annoverano le diossine) influenzano le vie enzimatiche nelle femmine di gabbiano *Larus glaucus* causando la conversione del testosterone destinato alle uova in ormoni femminili (Verboven et al., 2008).

Gli effetti sul sistema immunitario in tutte le specie esaminate, per qualsiasi concentrazione e tempo d'esposizione alla diossina, risultano in una riduzione del timo. La depressione dei linfociti risulta nella soppressione delle cellule T. I linfociti T sono sensibili a concentrazioni anche basse di diossina mentre i linfociti B sono alterati solo da alte concentrazioni. Vari autori credono che la diossina alteri l'attivazione dei linfociti T e l'interazione tra linfociti T e B. In ogni caso considerato che i conteggi dei linfociti restavano praticamente invariati o diminuivano in modo non significativo (con l'eccezione dei porcellini d'india *Cavia porcellus*) ad essere alterate o impedito erano le funzioni dei linfociti stessi.

L'effetto cancerogeno della 2,3,7,8-TCDD è dimostrato per molti animali così come è dimostrato per l'uomo.

In caso di esposizione dermica gli effetti sono gli stessi dell'esposizione orale come la riduzione del timo e danni al fegato ma in ogni caso gli effetti sono di minore entità e gli studi effettuati sono comunque pochi per poter avere un quadro completo.

Ovviamente con l'esposizione dermica gli effetti sulla pelle sono preponderanti con ipercheratosi, perdita dei peli, involuzione delle ghiandole sebacee, papillomi e cancro della pelle (AA.VV., 1998).

È documentato il possibile trasferimento delle diossine dalla madre al feto durante la gestazione e l'allattamento (Wells et al., 2005) ma non solo anche con l'ovodeposizione (Verreault et al., 2006): le diossine sono infatti composti lipofili che possono concentrarsi nel latte materno o nel vitello delle uova.

È stato provato che durante la gestazione e l'allattamento le madri eliminano la maggior parte di questi composti tossici scaricandoli sul feto e sul neonato; ciò è vero in numerosi casi nei cetacei (Wells et al., 2005), nei roditori e nell'uomo, è mostrato come anche nei pesci la diossina può passare dalla madre alle uova risultando in una minore concentrazione di diossina nelle femmine adulte rispetto ai maschi (Kajiwara et al., 2007). È noto anche il trasferimento dei POP dalla madre alle uova nei gabbiani *Larus hyperboreus* (Verreault et al., 2006).

Inoltre è noto che gli inquinanti (comprese le diossine) vengono eliminati con la liberazione dei gameti negli invertebrati e specialmente nei bivalvi (Binelli et al., 2001).

Nonostante non vi siano studi simili per i rettili non sembra irragionevole ipotizzare dei meccanismi simili anche per questa classe di vertebrati visti i numerosi esempi riscontrati in numerosi altri taxa.

LA LUCERTOLA MURAIOLA

LA LUCERTOLA MURAIOLA (*Podarcis muralis*)

DISTRIBUZIONE

La lucertola muraiola è un piccolo sauro molto comune e facile da incontrare, in Europa il suo areale va, in latitudine dal sud di Belgio e Olanda fino all'Italia e ai Balcani, ed in longitudine dal nord della Spagna al nord-ovest della Turchia.

RICONOSCIMENTO

Si tratta di un rettile di dimensioni modeste, la lunghezza del corpo (dal muso alla cloaca) può raggiungere un massimo di 7 – 8 cm nei maschi più grossi ma usualmente la taglia è minore, soprattutto nelle femmine. La coda, snella e cilindrica, si affina procedendo verso l'estremità e può raggiungere un massimo di 15 cm (FIG. 4). Il peso può variare dai 4 – 6 g della femmina adulta ai 6 – 9 g del maschio adulto.



FIG. 4: *Podarcis muralis*, maschio adulto.

Podarcis muralis ha una colorazione mimetica sul dorso, usualmente marroncina o verde marcio con barre o macchie nere o verdi sparse in maniera casuale, alcuni individui possono avere una tinta

di fondo più tendente al verde scuro oppure al marrone chiaro, la variabilità di colorazione e ornamentazione del dorso è notevole.

La colorazione del ventre e della gola presenta un polimorfismo dimostrato solo recentemente, infatti in *Podarcis muralis* vi sono almeno tre morfi con colorazioni diverse: bianco, giallo e rosso (FIG. 5, 6, 7). Esistono anche forme intermedie determinate dalle combinazioni dei tre colori di base.



FIG. 5: Morfo bianco.



FIG. 6: Morfo Giallo.



FIG. 7: Morfo rosso.

Questa variabilità di colorazione si manifesta completamente nel secondo anno di vita dell'animale che mantiene la colorazione durante tutta la vita senza cambiamenti stagionali o annuali.

Nelle popolazioni del Nord Italia solitamente il morfo bianco è quello più frequente se consideriamo entrambi i sessi; il morfo rosso invece è più comune nei maschi, mentre quello bianco è più diffuso tra le femmine. Il morfo giallo è egualmente rappresentato sia nei maschi che nelle femmine (Sacchi et al., 2007c).

La differente colorazione non comporta una variazione di taglia nei maschi mentre invece nelle femmine vi è un aumento dimensionale partendo dal morfo bianco, passando per quello giallo ed infine arrivando a quello rosso che è più grande (differenze calcolate in base alla lunghezza dal muso alla cloaca e all'altezza della testa).

Tale differente colorazione potrebbe anche essere correlata con il comportamento riproduttivo dei maschi e la selezione sessuale operata dalle femmine.

Anche se gli studi per questa specie non sono ancora completati si ha evidenza di questo per altri sauri come *Uta stansburiana* (Alonzo & Sinervo, 2001). È, infatti, possibile che i maschi si comportino secondo la strategia denominata sasso-carta-forbice, in cui un morfo è vincente nei confronti di un altro morfo, ma è sconfitto dal terzo, creando così un equilibrio numerico tra le tre forme di colorazione.

Sulla base di quanto osservato sinora è possibile che i maschi gialli si comportino da individui territoriali (individui che difendono un territorio e le sue risorse, comprese le femmine che ci vivono), i rossi da *mate-guarders* (individui con un territorio non ben definito e che difendono un'unica femmina dai contendenti) e i bianchi da *sneakers* (individui privi di territori e di femmine proprie che penetrano nei territori altrui per accoppiarsi).

Una prova indiretta delle diverse strategie territoriali deriva da uno studio delle risposte immunitarie (Sacchi et al., 2007a), che dimostra una minore efficienza per i maschi gialli, probabilmente

correlata ad una maggiore quantità di testosterone nel sangue (Scali S. & Sacchi R., dati non pubblicati).

Se ciò fosse confermato il colore della gola potrebbe essere considerato come l'espressione da parte del maschio di un carattere costoso che ne influenza l'immunocompetenza e che influisce direttamente sulla scelta sessuale femminile esprimendo di fatto in maniera affidabile la qualità del maschio che si dota di questo handicap così da dimostrare la sua prestanza.

Inoltre, colorazioni ed ornamentazioni potrebbero anche risolvere senza una contesa aperta i confronti fra maschi, i quali potrebbero basarsi su questi come indicatori affidabili delle capacità combattive di un rivale. Questa ultima ipotesi potrebbe essere solo parzialmente valida per *Podarcis muralis* poiché finora sembra che le contese tra maschi, osservate in laboratorio, si risolvano a favore dell'individuo più grande indipendentemente dalla colorazione di quest'ultimo.

Vi è anche un'estrema variabilità dell'ornamentazione nera del ventre e della gola, sia per la disposizione delle macchie, sia per la loro estensione, tanto da permettere il riconoscimento individuale sulla base di fotografie digitali ripetute (FIG. 8) (Sacchi et al. 2007b).



FIG. 8: Morfo giallo/rosso con un consistente pigmento nero, confrontare con le figure 6 e 7.

Solitamente le femmine sono meno appariscenti per tutte queste caratteristiche (ma non mancano eccezioni).

Un ornamento espresso in maniera particolare dai maschi è rappresentato da macchie ocellari blu intenso sui fianchi: la qualità e quantità di macchie è diversa per ogni individuo, le femmine ed i giovani presentano comunque tali ornamentazioni anche se sono molto ridotte (FIG. 9).



FIG. 9: Si notino le macchie blu sul fianco di questo maschio di lucertola muraiola.

Un ulteriore carattere di distinzione tra i due sessi è il rigonfiamento alla base della coda dei maschi, dovuto alla presenza delle tasche contenenti gli emipeni in posizione di riposo.

Un altro carattere per la diagnosi del sesso è rappresentato dai pori femorali, piccole escrescenze disposte in fila nelle zone corrispondenti ai femori dell'animale; tali pori servono a produrre sostanze oleose usate per la marcatura del territorio e come feromoni per la comunicazione tra sessi; i maschi hanno pori femorali molto evidenti mentre nelle femmine sono notevolmente ridotti e poco sporgenti (FIG. 10).

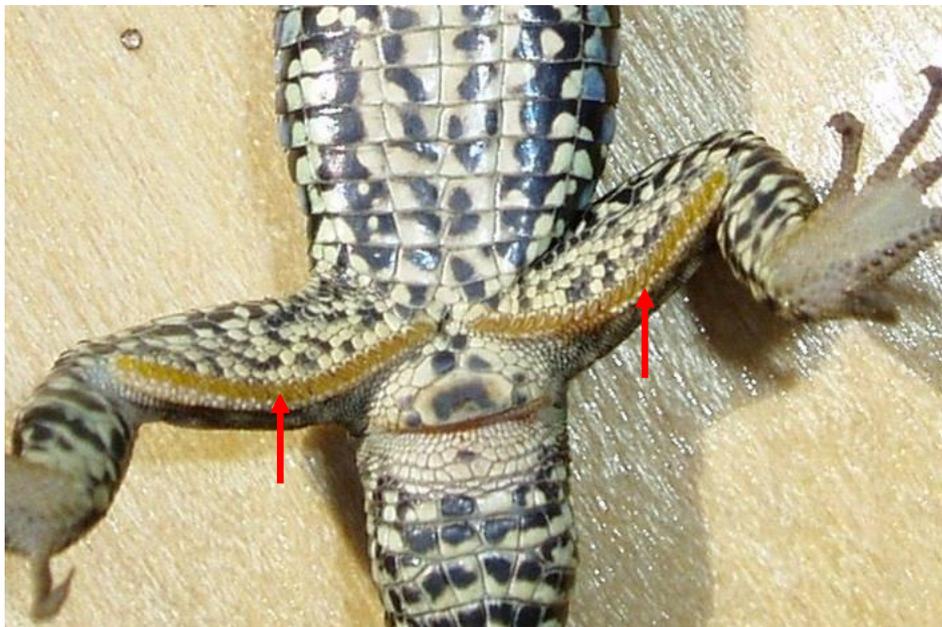


FIG. 10: Si notino i rigonfiamenti ai lati della base della coda ed i pori femorali marrone-giallo (indicati dalle frecce) molto evidenti in questo maschio bianco.

ECOLOGIA

Le femmine possono deporre da due a tre volte l'anno ma spesso depongono solo una volta nelle aree più fredde, arrivando fino a sei deposizioni in aree molto calde; ogni gruppo di uova ne può contenere da due a dieci (solitamente sei) (Arnold & Ovenden. 2002).

Le uova schiudono fra 6 e 11 settimane dopo la deposizione (in modo che schiudano nella stagione favorevole indipendentemente dal periodo in cui sono state deposte); i piccoli appena schiusi misurano circa 2,5 mm dal muso alla cloaca, raggiungono la maturità in circa un anno e possono vivere fino a 7 anni.

Podarcis muralis, nell'area di studio della presente ricerca, è attiva dalla fine di marzo fino alla fine di ottobre ; nei mesi freddi invece si ritira in una tana sotterranea per passare il tempo in uno sorta di letargo durante il quali tutte le funzioni vitali sono rallentate e ridotte al minimo.

Le lucertole muraiole sono carnivore e si nutrono di piccoli invertebrati quali insetti o piccoli lombrichi, la dieta comunque varia in base alla disponibilità di prede nella zona e nel periodo considerati.

In popolazioni del centro Italia la dieta rilevata è composta in prevalenza da imenotteri formicidi (23,6%), coleotteri (15,9%) e ditteri (31%). Per popolazioni montane e dell'Italia settentrionale la dieta comprende soprattutto omotteri e coleotteri (insieme costituiscono il 36%), imenotteri (9,5%), lepidotteri (8,9%), aracnidi (7,5%) ed un ampio assortimento di vari invertebrati terragnoli che suggeriscono una notevole ampiezza dello spettro alimentare della lucertola muraiola in habitat montano. In ambiente urbano la dieta varia e le prede sono prevalentemente rappresentate da isopodi (12,7%), imenotteri formicidi (12,7%), ditteri (11,2%), larve di lepidotteri (8,2%), coleotteri (7,5%) ed aracnidi (6%). Anche in ambito urbano la dieta risulta avere uno spettro molto ampio. (Corti & Lo Cascio, 1999).

Podarcis muralis ama i luoghi caldi ed assolati, è solita esporsi al sole per riscaldarsi il più possibile, durante questa attività, chiamata “*basking*” (dall'inglese: crogiolarsi), allarga le costole in modo da presentare una maggiore superficie al sole.

Questa lucertola si ritrova in tutti gli ambienti sia antropizzati che naturali e tra questi ultimi spazia da zone secche e ricche di pietre isolate a zone arbustive o boschive, per cui possiamo trovare la lucertola muraiola sia su un muro di un'abitazione (cosa che ne ha ispirato il nome scientifico) sia su un sasso che in mezzo agli arbusti, in mezzo al sottobosco, in zone sia secche che moderatamente umide, in zone di brughiera o di bosco a latifoglie; l'unico ambiente che non gradisce è costituito da uno spazio aperto senza alcun riparo come può essere un prato tagliato all'inglese che si azzarderà ad attraversare solo dopo un'attenta verifica di potenziali pericoli.

AREA DI STUDIO

AREA DI STUDIO

Il mio studio si è svolto in 6 siti di campionamento, dislocati nelle province di Como e Monza e Brianza: il Bosco delle Querce di Seveso, la brughiera di Mombello, la zona agricola ai limitari del bosco di Intimiano, le zone umide di Cascina Mordina, la brughiera di Cascina Amata e i boschi del Quagliodromo di Barlassina (FIG. 11).

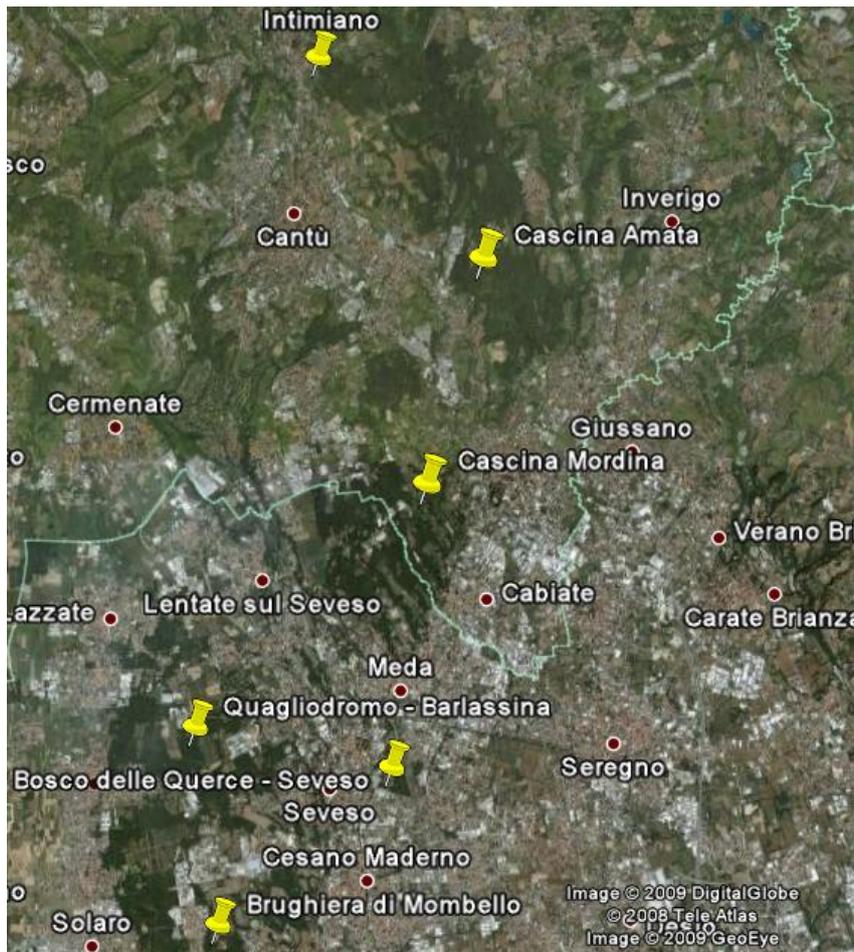


FIG. 11: Cartina della Brianza su cui si possono vedere i sei siti di campionamento indicati dal simbolo della puntina gialla.

Segue una descrizione di ogni singolo sito di campionamento.

IL BOSCO DELLE QUERCE, SEVESO

La zona si trova interamente compresa nel comune di Seveso (MB), a ridosso della superstrada Milano Meda che decorre lungo tutto il lato nord-est del perimetro del parco (FIG. 12).

Il parco del bosco delle querce è un parco cittadino di dimensioni modeste ma contiene una zona

naturalistica di riserva integrale di discreto interesse ed alcune zone umide, ciò fa del parco una zona interessante per i rettili sinantropici.



FIG. 12: Ingresso sud del Bosco delle Querce.

Si tratta di un territorio ben gestito, sia nella zona di riserva integrale, sia nelle zone aperte al pubblico, infatti, è stata eseguita la piantumazione di specie tipiche della nostra regione evitando piante alloctone; vi si trovano infatti tra le piante arboree: quercia *Quercus spp.*, betulla *Betula pubescens*, olmo *Ulmus minor*, acero *Acer campestre*, frassino *Fraxinus excelsior*, carpino bianco *Carpinus betulus* e nero *Ostrya carpinifolia*, faggio *Fagus sylvatica*, sorbo *Sorbus aucuparia*; tra gli arbusti: nocciolo *Corylus avellana*, rovo *Rubus fruticosus*, biancospino *Crataegus monogyna*, rosa canina *Rosa canina*, ginestra *Genista germanica*.

Nelle zone umide si nota una vegetazione di canneto con *Phragmites australis* e sull'acqua ninfee bianche *Nymphaea alba*.

L'interesse del luogo è incentrato soprattutto sul fatto che il parco sorge nella zona dell'esplosione della ditta chimica ICMESA, infatti dopo l'incidente e la ricaduta di nube di diossina sul comune di Seveso vi è stato un lungo processo di bonifica e riqualificazione del territorio che ha portato all'istituzione del parco.

Il parco occupa attualmente il territorio che, dopo l'incidente, fu designato come zona A, ovvero a più alto inquinamento (FIG. 13) (Per una più precisa descrizione della zona A e delle altre zone in cui fu divisa l'area inquinata vedere il capitolo relativo alla storia dell'ICMESA).



FIG. 13: La zona del Bosco delle Querce prima e dopo l'istituzione del parco (tratto da “Il Bosco delle Querce di Seveso tra memoria e natura”, Oliva et al., 2008).

Durante la bonifica furono asportati i primi 30 – 40 cm di terreno nella zona del parco per evitare contaminazioni e fu creata una “vasca” impermeabilizzata da varie barriere nella quale furono ammassate tutte le macerie e tutti gli animali morti ed oggetti contaminati; la vasca fu sigillata ermeticamente ed ora rappresenta un piccolo rilievo nella parte sud-ovest del parco.

BRUGHIERA DI MOMBELLO, PARCO DELLE GROANE

La località di campionamento della Brughiera di Mombello nel comune di Limbiate (MB) si trova esattamente a lato della strada statale Saronno-Monza ed è compresa interamente nel territorio del

Parco delle Groane.

Si tratta di una zona di brughiera alberata, con presenza di alcune porzioni di bosco e di aree umide posizionata nel sito di una ex cava d'argilla; l'argilla è infatti una componente preponderante del suolo e permette di trattenere l'acqua, per cui si è formato uno stagno circondato da piante acquatiche (FIG. 14) come *Phragmites australis* e punteggiato sulle sponde da cespugli di ginestra *Genista germanica*.

Più in là dalla riva crescono abbondanti i giovani pioppi tremoli *Populus tremula* e le robinie *Robinia pseudoacacia* che si sviluppano sul terreno della cava ormai dismessa.



FIG. 14: Lo stagno della cava di Mombello.

Per arrivare alla zona dello stagno bisogna passare dalla strada attraverso la fornace dismessa dove un tempo veniva lavorata l'argilla estratta, qui vi sono molti muretti di mattoni ideali per le lucertole e cumuli di macerie in cui possono nascondersi i serpenti. In questa zona la vegetazione è composta soprattutto da grandi pioppi *Populus tremula* e robinie *Robinia pseudoacacia* e vi sono alcune radure aperte con erba alta, graminacee varie e cespugli di rosa canina *Rosa canina*.

INTIMIANO

la zona di campionamento compresa nel comune di Capiago-Intimiano (CO) e comprende per lo più ambienti rurali coltivati e terrazzati e radure ai limitari del bosco; la vegetazione arborea è composta soprattutto da betulle *Betula pubescens*, querce *Quercus robur*, *Quercus petraea*, robinie *Robinia pseudoacacia* e castagni *Castanea sativa*.

CASCINA MORDINA, MARIANO COMENSE, PARCO DELLA BRUGHIERA BRIANTEA

Cascina Mordina è una località compresa nel comune di Mariano Comense (CO), nella quale si ritrovano alcune cascine contornate da campi coltivati i quali sono posti a loro volta a limitare del bosco, il centro del complesso è occupato da un laghetto artificiale (FIG. 15). Il complesso è parte del Parco della Brughiera Briantea.

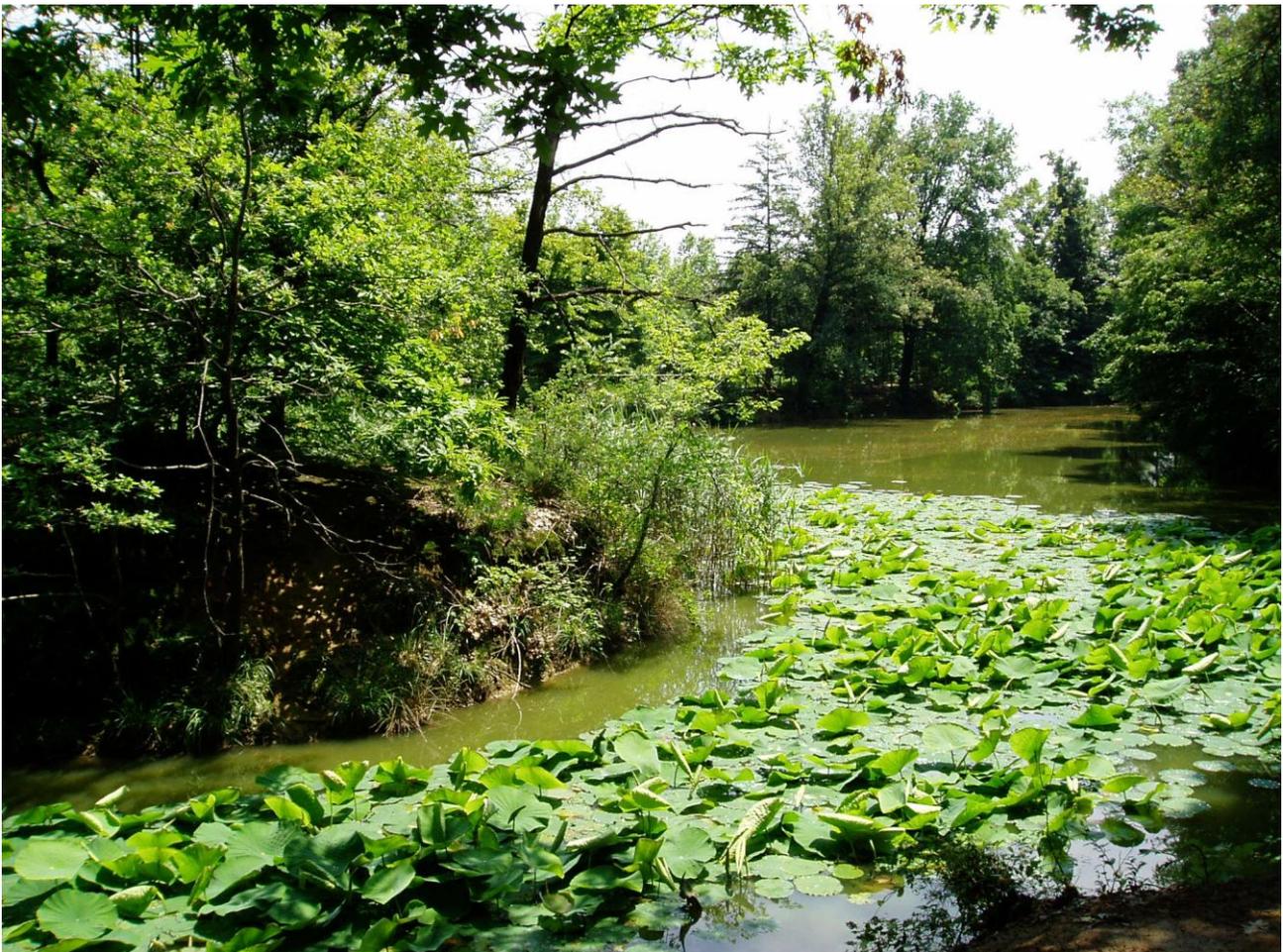


FIG. 15: il laghetto di Cascina Mordina.

Sulle sponde del lago ed ai limiti del bosco, nonché nel bosco stesso, abbondano alberi di frassino *Fraxinus excelsior*, quercia *Quercus spp.*, olmo *Ulmus minor* e robinia *Robinia pseudoacacia*. Le

coltivazioni occupano la maggior parte dello spazio ma negli spazi tra l'una e l'altra possono crescere cespugli di rosa canina *Rosa canina* o rovo *Rubus fruticosus*.

CASCINA AMATA, CANTU', PARCO DELLA BRUGHIERA BRIANTEA

La località di Cascina Amata fa parte del comune di Cantù (CO) ed è compresa all'interno del Parco della Brughiera Briantea; si tratta di un bosco non molto fitto intervallato ad alcune radure, queste ultime sono occupate dalla vegetazione tipica della brughiera.

Per cui troviamo una parte immersa nel bosco dove sono preponderanti querce *Quercus robur*, *Quercus petraea*, *Quercus pubescens*, robinie *Robinia pseudoacacia*, pioppi *Populus tremula* e castagni *Castanea sativa* e nel sottobosco soprattutto rovi *Rubus fruticosus*. Nelle zone di brughiera si trova un fitto tappeto di *Calluna vulgaris*, il brugo appunto, con betulle *Betula pubescens* e pioppi *Populus tremula* che stanno gradatamente invadendo queste zone, secondo la naturale evoluzione della vegetazione (FIG. 16).



FIG. 16: Una radura nel bosco di Cascina Amata.

QUAGLIODROMO, BARLASSINA, PARCO DELLE GROANE

Il cosiddetto quagliodromo è una località sita nel comune di Barlassina (MB) e compresa nel Parco delle Groane.

È attraversato da vari sentieri collocati tra boschi e coltivazioni; nei boschi la vegetazione prevalente è costituita da robinia *Robinia pseudoacacia*, frassino *Fraxinus excelsior*, betulla *Betula pubescens* e quercia *Quercus spp.*.

MATERIALI E METODI

CATTURA ED ANALISI BIOMETRICHE

Ogni individuo analizzato in questa ricerca è stato catturato poi misurato ed infine rilasciato nel luogo di cattura riducendo al minimo i traumi.

Per la cattura delle lucertole si è utilizzata una canna da pesca alla cui estremità è posto un cappio, allungando la canna ci si avvicina all'animale lentamente assicurandosi che non fugga per poi avvicinare il cappio ed infilarlo al collo della lucertola, si tira poi leggermente così da chiudere il cappio catturando la lucertola (Bruno & Maugeri, 1986).

Alcune lucertole reagiscono all'avvicinamento del cappio fuggendo mentre spesso altre cercano addirittura di addentarlo e si avvicinano spontaneamente.

Una volta che l'animale è stato catturato si procede effettuando le seguenti misurazioni biometriche:

- lunghezza dal muso alla cloaca (SVL);
- lunghezza della coda (TL);
- lunghezza del tratto di coda prima della rigenerazione (se presente) (RIG);
- lunghezza della testa (HL);
- larghezza della testa (HW);
- altezza della testa (HH);
- distanza tra occhio e narice (E-N);
- distanza tra i due occhi (E-E);
- Peso (W);

le misurazioni sono effettuate con un calibro a corsoio (FIG. 17) e con una bilancia.



FIG. 17: Misurazioni di una lucertola muraiola con il calibro.

Vengono altresì annotate le seguenti caratteristiche individuali:

- colore della gola per l'identificazione del morfo;
- sesso dell'individuo (SEX);
- numero di squame ventrali (V);
- assenza o presenza di parassiti (se presenti, il tipo di parassiti);

Quindi ogni animale è pesato e fotografato per poterlo identificare in seguito (Sacchi et al., 2007b), inoltre vengono annotate le sue caratteristiche distintive.

Infine si effettua un prelievo di sangue tramite l'uso di un capillare per microematocrito eparinizzato di vetro del diametro di 1 mm (FIG. 18), questo capillare viene inserito sotto la palpebra della lucertola e fatto ruotare fino a dietro l'occhio dove poi con un leggero movimento si procede alla rottura di un piccolo capillare e alla raccolta del sangue. Il metodo è assolutamente non cruento e provoca solo un leggero fastidio alla lucertola.



FIG. 18: Prelievo di sangue ad una lucertola muraiola *Podarcis muralis*.

Le lucertole possono essere marcate con una combinazione di colori univoca sul dorso tramite dei semplici pennarelli tipo Uniposca.

Nel mio caso non ho marcato ogni lucertola con una combinazione distintiva poiché per questa ricerca non serviva un riconoscimento individuale, mi sono limitato ad applicare un segno colorato sul dorso degli animali catturati per evitare ricatture e rendere indipendenti i campionamenti. La colorazione scompare dopo alcune settimane o dopo la prima muta della pelle.

Tutti i dati sono riportati su apposite schede di campo (TAB. 1) e poi informatizzate in un apposito database.

NUM	SEX	MORFO	SVL	TL	RIG	HL	HW	HH	E-N	E-E	W	PARASSITI	FOTO	V	SANGUE	DATA
16 int	M	giallo	65,4	140	/	17,7	11,7	8,2	7,6	7,2	7,5	no	sì	23	sì	22/02/2008
17 int	M	bianco	56,6	94	21	14,4	9,2	7	6,7	6,5	5	no	sì	20	sì	26/06/2008
18 int	M	bianco	60,7	109	28	15,9	12	7,5	7	6,7	7,5	no	sì	22	sì	29/02/2008
19 int	M	bianco	57	96	/	14,7	10	7,2	6,8	6,7	5,5	no	sì	20	sì	29/02/2008
20 int	M	giallo	59,2	124	32	15	11,8	7,3	8	6,5	7	no	sì	24	sì	02/03/2008
21 int	M	giallo	64,3	140	/	17	11,5	9	7,1	7,2	8,5	no	sì	21	sì	02/03/2008
22 int	M	bianco	57,6	124	89	18	10	8,5	7	6,5	7	no	sì	22	sì	02/03/2008
23 int	M	giallo	60	137	60	16,4	10	9,5	6,1	5,7	7,5	no	sì	20	sì	12/03/2008
24 int	M	rosso/bianco	60,1	70	29	16,7	9,6	8,9	6,4	6,5	6	no	sì	21	sì	12/03/2008
25 int	F	rosso/giallo	60,3	98	31	13,4	8	7,5	6,5	5,8	5	no	sì	23	sì	12/03/2008
26 int	juv	bianco	43	89	/	11,5	7,7	5,1	5	4,5	2	no	sì	20	sì	14/03/2008
27 int	F	bianco/giallo	57,8	78	21	13,1	10,2	7,1	5,3	5,6	5,5	no	sì	25	sì	22/03/2008
28 int	F	giallo	52,9	119	/	13,4	7,7	6,5	4,9	5,5	5	no	sì	23	sì	25/03/2008
29 int	M	giallo	63,4	136	/	17,8	10,4	8	7,3	6,8	8,5	no	sì	20	sì	25/03/2008
30 int	M	bianco	70,1	133	/	18,9	11	9,2	8,5	7	8,5	sì	no	20	sì	06/04/2008
31 int	M	giallo/rosso	50,5	113	/	12,4	7,6	5	4,5	4,4	5,5	no	sì	25	sì	16/04/2008
32 int	F	bianco	53,9	112	/	12	8	5,5	5,5	5,3	5,5	no	no	22	sì	16/04/2008
33 int	M	rosso/giallo	58,2	125	/	14,9	9,7	6,8	6,8	5,5	6	no	sì	20	sì	20/04/2008
34 int	M	giallo	67,2	134	/	18	9,4	7,5	7,6	6,5	8,5	no	sì	19	sì	20/04/2008
35 int	M	rosso/bianco	62,6	127	/	16,8	9,4	7,6	6,3	5,2	6,5	no	sì	20	sì	25/04/2008
36 int	M	rosso/bianco	61,1	136	/	16,8	8,9	8,1	7	7,2	7	no	sì	20	sì	01/05/2008
37 int	F	bianco	54,8	110	/	12,6	7,9	5,5	5,3	5,6	5	no	sì	25	sì	06/05/2008
38 int	M	bianco	61,1	107	30	17,7	9,4	8,4	7,3	7	7	no	sì	21	sì	06/05/2008
39 int	M	bianco	53,7	107	/	14,5	8	6	6,1	5,8	5	sì	sì	20	sì	15/05/2008
40 int	F	bianco	47,9	107	/	12,4	6,8	5,2	5,2	6	3,5	no	sì	21	sì	28/07/2008

TAB. 1: Esempio di scheda di campo utilizzata per annotare tutti i dati relativi agli individui catturati di *Podarcis muralis*, le lunghezze sono espresse in millimetri ed il peso in grammi.

ANALISI DEGLI STRISCI DI SANGUE

INTRODUZIONE

La determinazione dei parametri ematici rappresenta un valido strumento per valutare lo stato di salute di un animale e l'influenza che su di esso esercita l'ambiente in cui vive, come ad esempio, la presenza di parassiti e malattie (Canfield, 1998).

Uno dei principali parametri ematici usati in medicina veterinaria per la diagnosi di molte patologie è la determinazione della formula leucocitaria, che consiste nella definizione delle percentuali dei diversi tipi di leucociti presenti nel sangue.

In assenza di patologie evidenti, è possibile definire per ogni specie dei valori di riferimento tali per cui scostamenti significativi di uno o più parametri della formula leucocitaria possono essere interpretati come indice di presenza di patologie (Campbell, 1996). A seconda dell'elemento cellulare che varia numericamente e della direzione della variazione (aumento/diminuzione) si parla di leucofilie (neutrofilia, eosinofilia ecc.), quando un elemento specifico del sangue eccede significativamente i valori di riferimento e di leucopenia quando, al contrario, il numero di cellule di un tipo cellulare è inferiore (Mader, 2000). L'aumento percentuale di un particolare tipo leucocitario può essere conseguenza di un reale aumento numerico di tale tipo cellulare, in tal caso si parlerà di neutrofilia assoluta, linfocitosi assoluta etc. oppure può essere relativo per contemporanea riduzione di altra categoria di leucociti; in tali casi si parlerà di neutrofilia relativa, eosinofilia relativa etc.

Nella maggior parte dei casi (in particolare per la maggior parte dei parassiti) esiste una relazione specifica tra il tipo di patologia e la alterazione dei valori normali dei leucociti (Mader, 2000). Inoltre il rapporto eterofili su linfociti (H/L), per i rettili, o il rapporto neutrofilo su linfociti (N/L), per i mammiferi, può essere utilizzato come indice di stress (Davis et al., 2008) in particolare se il valore di questi rapporti aumenta si avrebbe una condizione di stress maggiore.

La formula leucocitaria può essere calcolata mediante l'osservazione al microscopio ottico di una goccia di sangue strisciata su un vetrino, dopo colorazione con appositi coloranti che reagiscono in modo diverso con i costituenti delle cellule del sangue. Conoscendo il valore dell'emocromo (cioè il numero totale di leucociti, eritrociti e piastrine), la formula leucocitaria permette di determinare il numero assoluto di cellule appartenenti alle diverse classi di leucociti del sangue (Mader, 2000).

CARATTERISTICHE DELLE VARIE CELLULE

Nei Vertebrati il volume di sangue è compreso tra 5-8% del peso corporeo totale; gli eritrociti ne costituiscono circa il 45% e i leucociti e le piastrine l'1%; la frazione rimanente è rappresentata dal plasma.

Gli eritrociti: hanno forma di disco ovale e sono privi di nucleo nei Mammiferi, mentre negli altri Vertebrati ne posseggono uno ovoidale e in posizione centrale (FIG. 19). La loro funzione principale è quella di trasportare l'ossigeno dai polmoni ai tessuti e il biossido di carbonio dai tessuti ai polmoni.

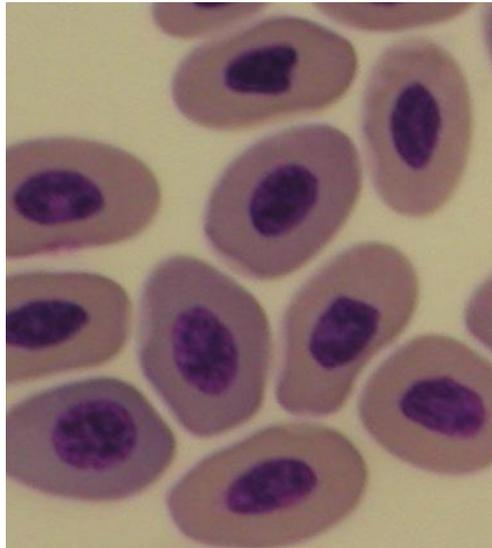


FIG. 19: Gruppo di eritrociti in *Podarcis muralis*.

I leucociti: intervengono nelle infezioni e in generale nei processi infiammatori; si dividono in granulociti, così chiamati per la presenza di granuli nel citoplasma, e in cellule non granulate. Le cellule non granulate (dette anche cellule mononucleate) comprendono linfociti e monociti.

I linfociti: nei Rettili sono generalmente simili a quelli dei Mammiferi, sono di piccole o medie dimensioni, con nucleo in genere rotondeggiante compatto e ben distinguibile che occupa quasi tutto il volume cellulare per cui il citoplasma, leggermente basofilo, risulta molto ridotto (FIG. 20).

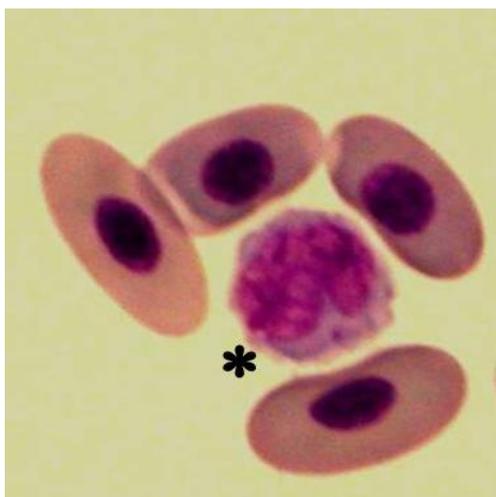


FIG. 20: Linfocita in *Podarcis muralis*.

I monociti: hanno forma rotondeggiante, con nucleo tondo e poco inciso, si riconoscono per le grandi dimensioni rispetto a tutte le altre cellule del sangue e si distinguono dai linfociti anche per la presenza di citoplasma molto abbondante rispetto al nucleo, contengono pochi fini granuli azzurrofilati.

I granulociti sono suddivisi in base alla loro affinità per i coloranti acidi o basici.

Granulociti eterofili: questa classe di leucociti è tipica dei Rettili ed è caratterizzata da una forte variabilità morfologica sia tra i diversi generi, sia tra le diverse specie all'interno dello stesso genere. Gli eterofili dei Rettili intervengono nelle infezioni e nei processi infiammatori. La loro funzione primaria è di tipo fagocitario. In individui sani appartenenti a diverse specie di Lacertidi gli eterofili costituiscono il 30-40% dei leucociti totali e un aumento dei livelli circolanti in genere si verifica in risposta alle infiammazioni o alle infezioni dei tessuti. L'aspetto di questi leucociti nei lacertidi è tipico e facile da riconoscere per il colore rosa salmone e spesso per l'abbondanza di numerosi piccoli granuli viola scuro a forma di bastoncino nel citoplasma (FIG. 21).

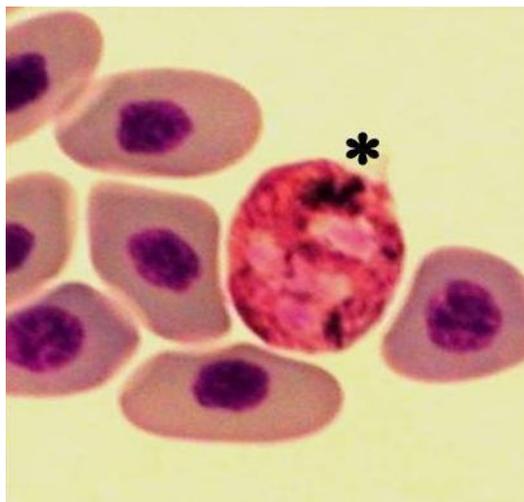


FIG. 21: Eterofilo in *Podarcis muralis*.

Granulociti eosinofili: questi leucociti sono presenti sia nei Mammiferi, sia nei Rettili. La loro dimensione è la stessa dei neutrofili. Il nucleo è generalmente bilobato, ma è possibile trovare nuclei con 3 o 4 lobi. Il citoplasma è pieno di granuli che spesso coprono il nucleo confondendone il contorno, gli eosinofili hanno spesso un colore porpora caratteristico nei lacertidi (FIG. 22). Gli eosinofili aggrediscono parassiti e fagocitano i complessi antigene-anticorpo.

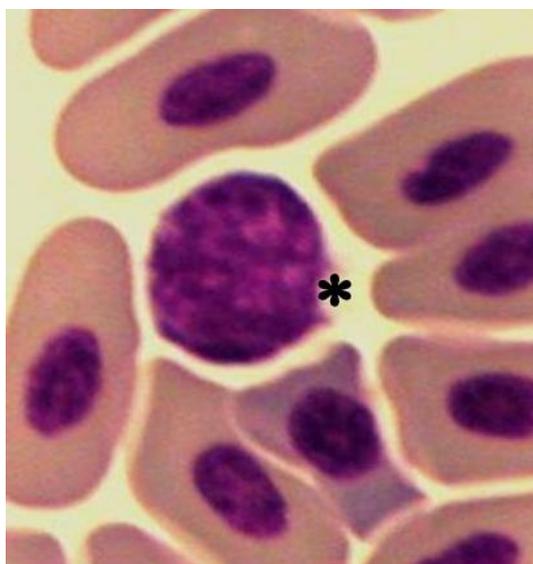


FIG. 22: Eosinofilo in *Podarcis muralis*.

Granulociti neutrofili: questa classe è tipica dei Mammiferi e presenta in genere un nucleo polilobato e un citoplasma rosa pallido, pieno di granuli grigio-azzurri, difficilmente distinguibili tra di loro. Secondo alcuni autori (Saint Girons, 1970; Frye, 1991) vi sono due tipi di granulociti acidofili anche nei rettili: eosinofili e neutrofili, durante le mie analisi ho incontrato dei granulociti che potrebbero corrispondere a neutrofili ma, finché non verranno effettuati studi approfonditi

sull'argomento, si è scelto di assimilare queste cellule agli eosinofili, in accordo con la maggior parte degli autori (FIG. 23).

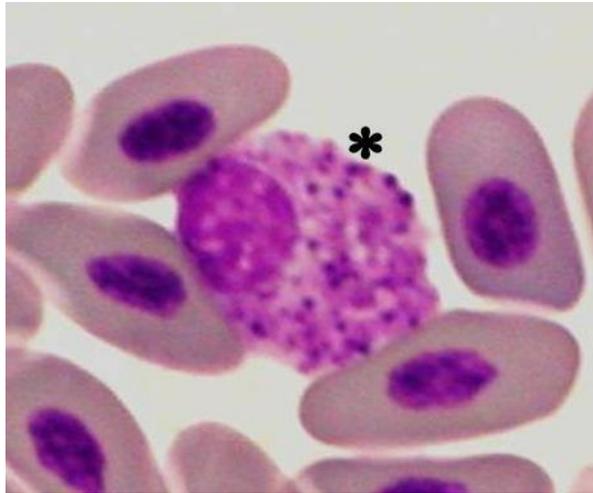


FIG. 23: Possibile neutrofilo in *Podarcis muralis*, meglio assimilabile ad un eosinofilo.

Granulociti basofili: i basofili sono leucociti con citoplasma molto ricco di granuli sferici che presentano una colorazione porpora o viola scuro; la loro quantità e dimensione è tale da nascondere il nucleo e spesso da dare alla cellula una tinta così scura da essere praticamente nera (FIG. 24). I basofili secernono sostanze anticoagulanti, vasodilatatrici come l'istamina e la serotonina e possiedono capacità fagocitaria.

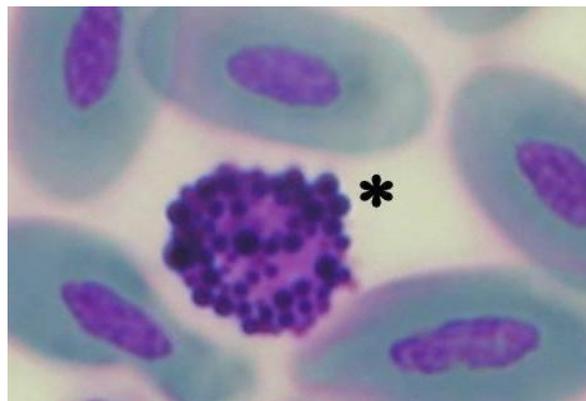


FIG. 24: Basofilo in *Podarcis muralis*.

Le piastrine: sono elementi figurati del sangue specializzate nei fenomeni di emostasi (impedire la perdita di sangue dopo una lesione) e concorrono nel processo di coagulazione del sangue.

Nei Mammiferi sono prive di nucleo e hanno forma di disco biconvesso; nei Vertebrati ectotermi e negli Uccelli si presentano come cellule piccole, basofile, ellissoidali o fusate con un grosso nucleo

centrale basofilo. Nei rettili il citoplasma della maggior parte dei trombociti è senza granuli con colorazione variabile da una quasi totale trasparenza al blu pallido. Nei preparati istologici, queste cellule hanno la tendenza ad aderire le une alle altre e a formare aggregati (FIG. 25).

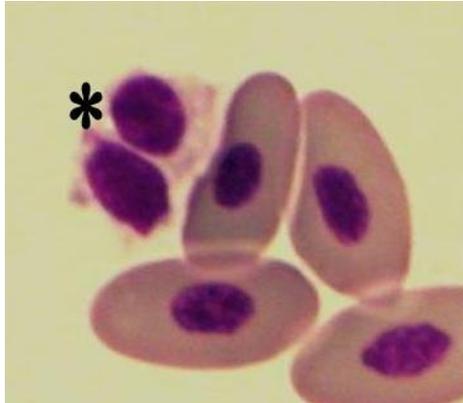


FIG. 25: Due trombociti in *Podarcis muralis*.

Al contrario di Uccelli e Mammiferi, le informazioni di base sulle caratteristiche morfologiche e sul significato funzionale dei leucociti dei Rettili sono scarse e generalmente basate su un numero limitato di specie (Campbell, 1996; Frye, 1991; Mader, 2000). Nei Rettili, inoltre, si riscontrano forti differenze tra i diversi gruppi e spesso anche forti differenze tra specie appartenenti allo stesso gruppo, soprattutto tra i Sauri.

Ad ora in Italia questo dovrebbe essere uno dei pochi studi in cui si analizzino la formula leucocitaria e le caratteristiche morfologiche degli ematociti di un rettile per cui i dati pregressi non sono molti (Binda, 2007) ed è difficile valutare il risultato ottenuto.

METODI DI PRELIEVO, PREPARAZIONE ED ANALISI DEGLI STRISCI

Il prelievo di sangue è stato eseguito dal seno post-orbitale e raccolto in capillari per microematocrito eparinizzati; una goccia del sangue prelevato è stata quindi utilizzata per realizzare uno striscio su vetrino.

Gli strisci sono stati colorati con il metodo May-Grunwald-Giemsa, un tipo di colorazione a base di blu di metilene ed eosina, in grado di evidenziare in rosso le componenti acidofile ed in blu le componenti basofile.

Il conteggio dei leucociti è stato effettuato tramite ricerca su vetrino, con un microscopio ad ingrandimento 100x in immersione a olio e osservando il vetrino seguendo un percorso a E per analizzarne tutte le parti. Questo sistema ha permesso di visionare il vetrino nella sua superficie con uniformità e tecnica costante ottenendo così un valore confrontabile tra vetrini diversi.

Per il conteggio dei leucociti totali sono stati considerati 50 campi in cui furono contati tutti gli eritrociti e i leucociti presenti, mentre la formula leucocitaria è stata misurata classificando tutti i leucociti presenti in ogni campo, fino al raggiungimento di 150 leucociti.

Attraverso una proporzione la concentrazione totale di leucociti (*White total cells* - WTC) è stata espressa come numero di leucociti ogni 10.000 eritrociti, mentre la formula leucocitaria è stata espressa in termini percentuali (l'abbondanza di ciascuna classe di leucociti viene espressa come percentuale rispetto al totale dei leucociti).

PARASSITI EMATICI

Durante l'analisi degli strisci di sangue di *P. muralis* ho rilevato numerosi parassiti intraeritrocitari: gregarine (*Apicomplexa*) appartenenti al genere *Haemoproteus* (Laison & Naiff, 2003).

Gli eritrociti parassitati erano ipertrofici rispetto al normale e ciascuno di esso presentava il nucleo schiacciato al margine del citoplasma cellulare, che a sua volta appariva scarsamente acidofilo e ridotto ad un alone intorno al parassita (FIG. 26).

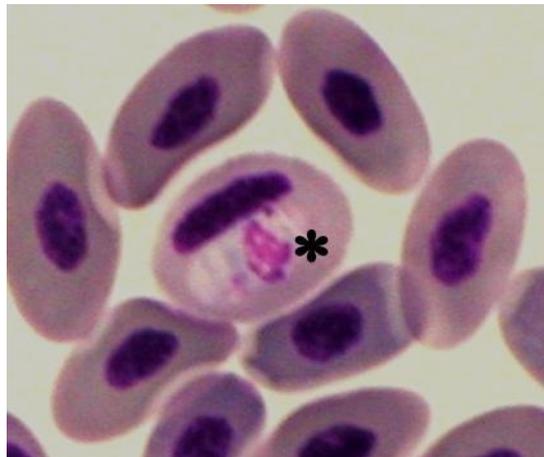


FIG. 26: Parassita intraeritrocitario del genere *Haemoproteus* in *Podarcis muralis* presente nel globulo rosso centrale di questo gruppetto di eritrociti, notare il nucleo del globulo rosso parassitato schiacciato alla periferia della cellula.

Haemoproteus sembra avere effetti negativi soprattutto durante il periodo riproduttivo, in particolare i maschi risultano più infetti rispetto alle femmine, probabilmente per l'effetto immunodepressivo dato dal testosterone (Amo et al., 2004).

ANALISI STATISTICA

ANALISI MORFOMETRICA

Tutti i parametri morfometrici inizialmente registrati sulle schede di campo sono stati archiviati utilizzando il programma Microsoft Excel per Windows, versione 2003. Per le analisi statistiche si è utilizzato il programma SPSS per Windows versione 13.0.

Al fine di testare l'ipotetica correlazione tra le diverse variabili morfometriche si è utilizzato il test di correlazione di Pearson.

Poiché le diverse variabili morfometriche sono risultate correlate, si è deciso di ridurre il numero, accorpando quelle relative al capo in fattori comuni mediante un'analisi delle componenti principali (PCA).

I punteggi ottenuti da quest'analisi sono stati salvati in nuove variabili, utilizzate come indicatori della taglia della testa. Queste sono state inserite insieme alle altre variabili morfometriche non incluse nella PCA in un'analisi discriminante condotta separatamente per i due sessi, mirata a verificare l'esistenza di eventuali differenze tra i siti.

In questo caso è stata utilizzata come variabile discriminante l'identificativo dei siti e come variabili dipendenti le misure morfometriche.

Per poter evidenziare le affinità tra i vari siti, infine, è stata utilizzata la cluster analysis gerarchica (metodo UPGMA con distanze euclidee), per la quale sono state preventivamente calcolate le medie delle diverse misure entro sito, inserite poi in una matrice avente come numero di righe complessivo il numero di siti analizzati.

ANALISI DEI PARAMETRI EMATICI

Anche tutti i conteggi degli ematociti sono stati archiviati utilizzando il programma Microsoft Excel per Windows, versione 2003.

Per questa parte di analisi si è utilizzato il programma statistico R con cui si è condotta una ANOVA multifattoriale per indagare eventuali differenze sui conteggi totali dei vari tipi di ematociti per ogni individuo e differenze nel rapporto H/L in modo da cercare un eventuale indice di stress (Davis et al., 2008).

RISULTATI

RISULTATI

ANALISI DEI PARAMETRI MORFOMETRICI

Le statistiche descrittive per tutte le variabili morfometriche di tutti gli individui catturati, differenziati per sito di provenienza, sono riportate nella tabella seguente (TAB. 2).

Cascina Amata (N=26)	Peso	SVL	HL	HW	HH	E-E	E-N	V
Media	6,59	58,61	16,08	9,76	7,59	6,11	6,69	19,91
Minimo	4,00	49,30	14,20	8,00	6,40	4,90	5,30	18,00
Massimo	8,50	67,00	18,50	12,20	9,10	7,00	8,20	22,00
Varianza	2,39	36,91	1,94	1,51	0,65	0,48	0,70	1,69
Dev. Standard	1,55	6,07	1,39	1,22	0,80	0,69	0,83	1,30
Cascina Mordina (N=28)	Peso	SVL	HL	HW	HH	E-E	E-N	V
Media	7,08	62,88	15,45	9,80	7,58	6,40	6,75	21,67
Minimo	5,00	50,00	13,90	8,00	7,00	4,80	5,90	20,00
Massimo	8,50	70,60	17,50	11,30	8,00	7,20	7,60	25,00
Varianza	1,74	63,23	2,83	1,54	0,13	0,76	0,47	3,46
Dev. Standard	1,32	7,95	1,68	1,24	0,36	0,87	0,68	1,86
Intimiano (N=29)	Peso	SVL	HL	HW	HH	E-E	E-N	V
Media	6,71	59,33	16,30	10,29	8,15	6,48	6,29	21,43
Minimo	5,00	56,60	14,40	9,20	7,00	5,70	6,10	20,00
Massimo	7,50	61,10	18,00	12,00	9,50	7,00	8,00	24,00
Varianza	0,82	2,75	1,75	1,31	0,84	0,16	0,39	1,95
Dev. Standard	0,91	1,66	1,32	1,14	0,92	0,39	0,62	1,39
Mombello (N=22)	Peso	SVL	HL	HW	HH	E-E	E-N	V
Media	6,83	60,70	16,50	9,76	6,96	6,26	7,16	21,33
Minimo	6,00	53,60	15,70	8,30	5,80	5,60	6,50	21,00
Massimo	8,00	69,50	17,40	11,50	7,70	6,70	8,00	22,00
Varianza	1,08	65,37	0,73	2,61	1,04	0,34	0,58	0,33
Dev. Standard	1,04	8,09	0,85	1,61	1,02	0,58	0,76	0,57
Quagliodromo (N=21)	Peso	SVL	HL	HW	HH	E-E	E-N	V
Media	6,21	60,39	15,77	8,84	6,25	6,10	6,91	19,57
Minimo	4,50	51,60	13,80	7,90	5,10	5,20	6,00	18,00
Massimo	8,50	69,20	18,50	10,00	7,70	7,00	8,00	21,00
Varianza	2,99	46,84	2,90	0,65	1,15	0,35	0,52	0,95
Dev. Standard	1,73	6,84	1,70	0,80	1,07	0,58	0,72	0,97
Seveso (N=25)	Peso	SVL	HL	HW	HH	E-E	E-N	V
Media	6,25	59,53	15,67	9,51	6,96	6,03	6,70	19,50
Minimo	5,00	55,30	15,00	8,90	6,40	5,50	6,30	18,00
Massimo	7,00	63,30	16,60	10,00	7,90	6,60	7,20	22,00
Varianza	0,78	8,35	0,51	0,22	0,27	0,20	0,13	1,90
Dev. Standard	0,88	2,89	0,71	0,47	0,51	0,44	0,36	1,37

TAB. 2: Statistiche descrittive di tutti gli individui di *Podarcis muralis* catturati; per ogni sito di campionamento sono indicati media, massimo, minimo, varianza e deviazione standard per i parametri morfometrici indicati; dove SVL = lunghezza totale del corpo, HL = lunghezza del capo, HW = larghezza del capo, HH = altezza del capo, E-E = distanza tra gli occhi e E-N = distanza tra occhio e narice.

Per le seguenti analisi si è utilizzato il programma statistico SPSS ove non specificato diversamente. Poiché i vari parametri morfometrici sono solitamente correlati tra di loro (tutte le parti del corpo dell'animale crescono in proporzione alle altre) (Sacchi et al., 2007c), si è utilizzato il test per calcolare il coefficiente di correlazione di Pearson per verificare tale ipotesi (non sono stati inclusi in tale analisi il peso e i parametri della coda poiché possono variare in maniera dipendente da effetti contingenti, come l'alimentazione e l'autotomia, non è stato incluso il numero di squame ventrali poiché non varia durante la crescita).

Per i maschi il test ha evidenziato tra tutti i parametri morfometrici considerati (SVL, HL, HW, HH, E-N, E-E) una correlazione significativa (TAB. 3).

	SVL	HL	HW	HH	E-E	E-N
SVL		0,676**	0,506**	0,449**	0,545**	0,409**
HL	0,676**		0,496**	0,682**	0,549**	0,571**
HW	0,506**	0,496**		0,593**	0,501**	0,437**
HH	0,449**	0,682**	0,593**		0,512**	0,491**
E-E	0,545**	0,549**	0,501**	0,512**		0,432**
E-N	0,409**	0,571**	0,437**	0,491**	0,432**	

TAB. 3: Coefficienti di correlazione di Pearson relativi ai parametri morfometrici nei maschi catturati (N=83), dove * indica una correlazione significativa a $P < 0,05$ e ** indica una correlazione significativa a $P < 0,01$.

Per le femmine la correlazione tra tutti i parametri morfometrici (SVL, HL, HW, HH, E-E) è risultata significativa; mentre per il parametro E-N non è risultata nessuna correlazione significativa (TAB. 4).

	SVL	HL	HW	HH	E-E	E-N
SVL		0,361**	0,576**	0,453**	0,579**	0,059
HL	0,361**		0,201	0,335**	0,372**	0,195
HW	0,576**	0,201		0,606**	0,481**	0,093
HH	0,453**	0,335**	0,606**		0,385**	0,121
E-E	0,579**	0,372**	0,481**	0,385**		-0,031
E-N	0,059	0,195	0,093	0,121	-0,031	

TAB. 4: Coefficienti di correlazione di Pearson relativi ai parametri morfometrici nelle femmine catturate (N=65), dove * indica una correlazione significativa a $P < 0,05$ e ** indica una correlazione significativa a $P < 0,01$.

Successivamente, accertata la loro correlazione, con una PCA (principal component analysis) si è cercato di ridurre i parametri morfometrici ad uno o più componenti principali.

Per i maschi la PCA ha raggruppato i parametri morfometrici della testa (HL, HW, HH, E-N, E-E) ottenendo un singolo fattore H (autovalore > 1) in relazione alla variabilità morfometrica della testa dei maschi, tale fattore spiega il 62,31% della varianza (TAB. 5 e 6).

Componenti Autovalori			
	Totale	% di Varianza	% Cumulativa
1	3,116	62,317	62,317
2	0,603	12,069	74,386
3	0,521	10,418	84,804
4	0,476	9,528	94,332
5	0,283	5,668	100,000

TAB. 5: Autovalori e percentuale di varianza delle componenti estratte dalla PCA per i parametri morfometrici misurati nei maschi catturati.

Componente 1	
HL	0,845
HH	0,840
HW	0,765
E-E	0,755
E-N	0,736

TAB. 6: Matrice di correlazione delle componenti estratte dalla PCA per i maschi catturati, sono evidenziati i parametri morfometrici facenti parte della sola componente estratta.

Per le femmine la stessa analisi ha ottenuto due fattori (autovalore >1) (TAB. 7): il fattore H1 che raggruppa i parametri HW, HH e E-E e spiega il 44,70% della varianza. Il secondo fattore H2 raggruppa i parametri HL e E-N e spiega il 21,11% della varianza (TAB. 8).

Componenti Autovalori			
	Totale	% di Varianza	% Cumulativa
1	2,235	44,703	44,703
2	1,056	21,111	65,814
3	0,816	16,330	82,144
4	0,554	11,090	93,233
5	0,338	6,767	100,000

TAB. 7: Autovalori e percentuali di varianza delle componenti estratte dalla PCA per i parametri morfometrici misurati nelle femmine catturate.

	Componente 1	Componente 2
HH	0,805	-0,048
HW	0,796	-0,195
E-E	0,737	-0,279
HL	0,604	0,336
E-N	0,216	0,908

TAB. 8: Matrice di correlazione delle componenti estratte dalla PCA per le femmine catturate, sono evidenziati i parametri morfometrici facenti parte dei due componenti estratti.

Si è quindi proceduto ad effettuare una analisi discriminante, divisa per sessi, utilizzando come fattori: SVL, peso e H per i maschi, sostituito da H1 e H2 per le femmine. Tale analisi ha lo scopo di evidenziare se alcuni siti si raggruppano in base alle caratteristiche morfometriche degli individui, tutto ciò, in relazione alla distanza da Seveso, potrebbe evidenziare eventuali effetti dati dalla diossina.

L'analisi discriminante che coinvolgeva i parametri morfometrici per i maschi ha generato una funzione discriminante significativa (TAB. 9 e 10).

Funzione	Autovalore	% di Varianza	% Cumulativa	Lambda di Wilks	Chi-quadro	gdl	P
1	0,265	69,064	69,064	0,705	26,393	15	0,034*
2	0,091	23,634	92,698	0,892	8,642	8	0,373
3	0,028	7,302	100,000	0,973	2,087	3	0,555

TAB. 9: Tabella delle funzioni generate dall'analisi discriminante per i maschi catturati.

	Funzione 1	Funzione 2	Funzione 3
H	0,79*	0,27	0,56
Peso	0,58	0,78*	0,23
SVL	0,18	0,75*	0,64

TAB. 10: Matrice di struttura delle funzioni generate dall'analisi discriminante per i maschi catturati.

La funzione significativa, in relazione al fattore H, spiega il 69,1% della variabilità e consente di raggruppare in un gruppo gli individui provenienti da Seveso, Mombello e Quagliodromo (che hanno il capo più piccolo) e in un altro gli individui di Intimiano e Cascina Mordina (con capo più grande) mentre gli individui provenienti da Cascina Amata non si raggruppano con nessun altro sito. Sulla base dell'analisi, quindi si è appurato che i maschi di lucertola muraiola catturati a Seveso e nei siti vicini hanno un capo più piccolo rispetto a quello dei maschi trovati negli altri siti più lontani da Seveso (FIG. 27).

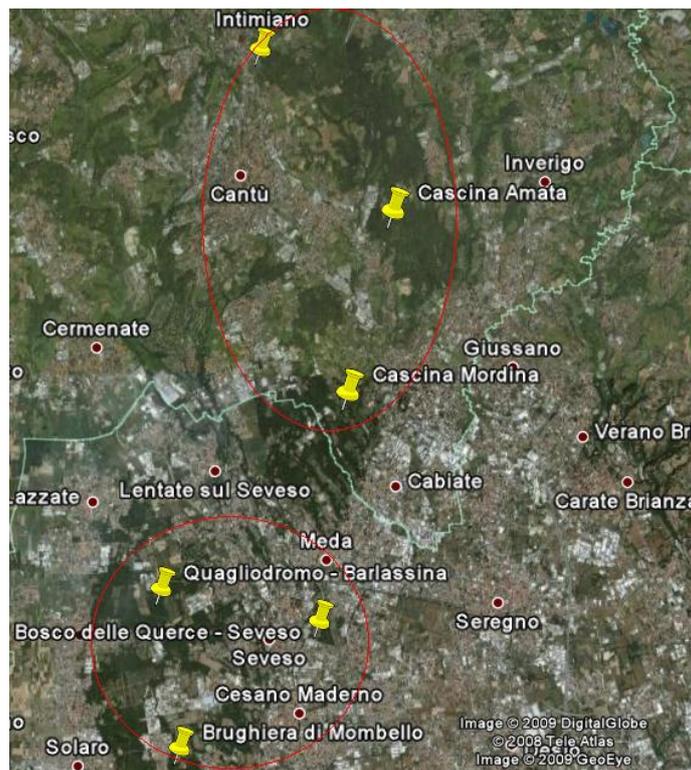


FIG. 27: Mappa dei sei siti di campionamento, i due cerchi rossi evidenziano i due diversi gruppi di siti; a sud Seveso, Mombello e Quagliodromo dove i maschi hanno il capo più piccolo, a nord Intimiano, Cascina Mordina e Cascina Amata.

La seconda funzione discriminante è correlata alle variabili SVL e peso e spiega il 23,6% della variabilità e non appare discriminare in modo significativo le popolazioni.

Per le femmine sono state trovate due funzioni discriminanti significative (TAB. 11 e 12).

Funzione	Autovalore	% di Varianza	% Cumulativa	Lambda di Wilks	Chi-quadro	gdl	P
1	0,38	47,51	47,51	0,49	41,60	20,00	0,00*
2	0,23	29,22	76,73	0,68	22,67	12,00	0,03*
3	0,14	18,11	94,84	0,84	10,33	6,00	0,11
4	0,04	5,16	100,00	0,96	2,38	2,00	0,30

TAB. 11: Tabella delle funzioni generate dall'analisi discriminante per le femmine catturate.

	Funzione 1	Funzione 2	Funzione 3	Funzione 4
H1	0,66*	0,44	0,60	-0,09
H2	-0,13	0,83*	0,00	0,54
Peso	0,15	0,23	0,94*	0,20
SVL	-0,15	0,65	0,65*	-0,36

TAB. 12: Matrice di struttura delle funzioni generate dall'analisi discriminante per le femmine catturate.

La prima funzione significativa, correlata con il fattore H1, spiega il 47,5% variabilità; la seconda funzione significativa, dettata dal parametro H2 spiega il 29.2% della variabilità.

In ogni caso nessuna di queste funzioni ha permesso di poter raggruppare in qualche modo le femmine provenienti dai vari siti di campionamento.

Si è poi continuata l'analisi calcolando la media per ciascun sito per ogni parametro morfometrico da utilizzarsi poi col programma statistico MVSP col quale è stata effettuata una analisi cluster gerarchica (metodo UPGMA con distanze euclidee) per cercare di evidenziare dei raggruppamenti tra le lucertole dei vari siti di campionamento.

L'analisi cluster, divisa per sessi, ha permesso di evidenziare, per i maschi, come i siti di campionamento più vicini tra di loro siano effettivamente più simili: gli individui di Mombello e Quagliodromo sono più simili tra di loro e più simili a quelli di Seveso; gli individui di Intimiano e Cascina Amata sono più simili tra loro e più simili quelli di Cascina Mordina (FIG. 28).

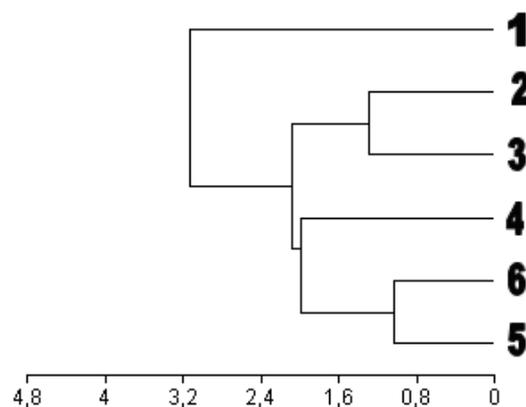


FIG. 28: Dendrogramma che rappresenta come si raggruppano i siti di campionamento per i maschi di *Podarcis muralis*, dove la numerazione crescente rappresenta siti a distanza crescente da Seveso (1 = Seveso, 2 = Quagliodromo di Barlassina, 3 = Mombello, 4 = Cascina Mordina, 5 = Cascina Amata, 6 = Intimiano).

È possibile quindi notare come i siti di campionamento più vicini a Seveso mostrino una notevole affinità e come, di contro, i siti più lontani formino un gruppo distinto.

Per le femmine non è stato possibile individuare nessuna associazione tra siti coerente all'aumentare della distanza da Seveso del sito di campionamento nel quale ogni singola femmina è stata catturata (FIG. 29).

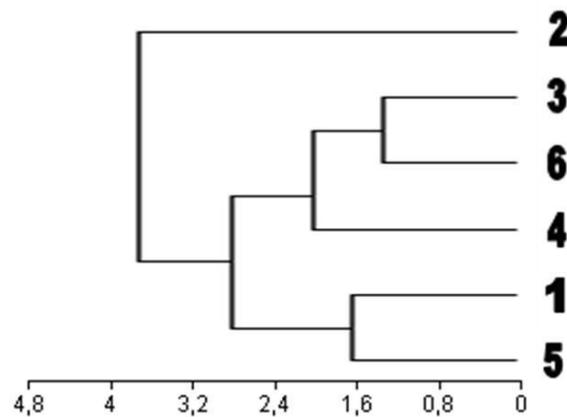


FIG. 29: Dendrogramma che rappresenta come si raggruppano i siti di campionamento per le femmine di *Podarcis muralis*, dove la numerazione crescente rappresenta siti a distanza crescente da Seveso (1 = Seveso, 2 = Quagliodromo di Barlassina, 3 = Mombello, 4 = Cascina Mordina, 5 = Cascina Amata, 6 = Intimiano).

ANALISI DEI PARAMETRI EMATICI

Per questa parte di analisi si è utilizzato il programma statistico R con cui si è condotta una ANOVA multifattoriale per svolgere un'indagine in relazione a tutti i conteggi di ogni tipo di cellula ematica, ai conteggi dei parassiti e al rapporto H/L in modo da cercare un eventuale indice di stress (Davis et al., 2008).

Tutti questi parametri sono stati utilizzati per indagare le eventuali differenze tra sessi, tra morfi e tra differenti siti di campionamento. Di seguito sono riportati solamente i risultati per i parametri che hanno evidenziato una qualche significatività (TAB. 13).

Parametro	Variabile Dipendente	F	gdl	P
Eosinofili	Sito	2,76	5	0,02*
Parassiti	Sito	2,53	5	0,03*

TAB. 13: Tabella che riporta le variabili risultate significative a seguito dell'ANOVA, dove * = $P < 0,05$.

Il numero di eosinofili e di parassiti riscontrati negli individui catturati è significativamente diverso tra i vari siti di campionamento; poiché una infestazione parassitaria dipende in larga parte da eventi contingenti non è possibile attribuirvi alcuna correlazione con la distanza da Seveso; lo stesso discorso vale per il conteggio degli eosinofili poiché un loro aumento è spesso associato alla presenza di parassiti (Davis et al., 2008).

In ogni caso l'ANOVA non ha evidenziato alcuna tendenza alla crescita o diminuzione del numero di eosinofili o nel numero di ogni altro tipo di cellula ematica presa in considerazione in relazione

alla distanza da Seveso.

Per esplicitare la variabilità tra popolazioni diverse di *Podarcis muralis*, è stata calcolata la formula leucocitaria per i maschi (TAB. 14) e le femmine (TAB. 15) di tutti i siti di campionamento; la formula esprime i valori medi delle percentuali delle varie classi di leucociti calcolati sulla concentrazione totale di leucociti WTC (*White total cells*) che è espressa come numero di leucociti su 10.000 eritrociti.

Sito	WTC	Eterofli (%)	Eosinofili (%)	Neutrofilii (%)	Basofili (%)	Linfociti (%)	Monociti (%)
Cascina Amata	258,15	3,35	4,81	0,94	5,13	85,37	1,06
Cascina Mordina	230,75	7,74	6,12	0,80	5,60	79,44	1,06
Intimiano	233,36	5,65	4,55	1,52	4,20	82,99	1,33
Mombello	407,66	5,61	2,47	0,73	5,74	84,62	0,83
Quagliodromo	211,30	6,37	3,72	0,89	7,37	81,24	0,66
Seveso	276,81	4,18	4,83	0,99	5,70	83,09	1,20

TAB. 14: Tabella riassuntiva delle formule leucocitarie negli individui maschili di *Podarcis muralis*, i dati sono divisi per ogni sito di campionamento.

Sito	WTC	Eterofli (%)	Eosinofili (%)	Neutrofilii (%)	Basofili (%)	Linfociti (%)	Monociti (%)
Cascina Amata	222,80	10,11	4,53	0,43	5,62	79,28	0,84
Cascina Mordina	225,10	4,89	4,15	0,89	6,67	82,46	0,84
Intimiano	288,50	5,82	4,40	2,10	7,14	80,35	0,59
Mombello	269,58	9,40	4,56	0,74	5,33	79,56	0,51
Quagliodromo	229,40	4,97	2,00	0,83	6,90	84,46	1,04
Seveso	286,00	11,27	5,88	1,82	5,71	74,89	1,25

TAB. 15: Tabella riassuntiva delle formule leucocitarie negli individui femminili di *Podarcis muralis*, i dati sono divisi per ogni sito di campionamento.

ANALISI DEL POLIMORFISMO

È noto che la lucertola muraiola mostra un polimorfismo significativo (Corti & Lo Cascio, 1999; Arnold & Ovenden, 2002; Sacchi et al., 2007c); inoltre le percentuali di presenza dei vari morfi possono differire largamente tra diverse popolazioni e, considerando una singola popolazione, possono cambiare in maniera consistente tra un anno e quello successivo in relazione a fattori ambientali che possono determinare una selezione preferenziale per un determinato morfotipo (Sacchi et al., 2007c).

Appare dunque utile presentare un resoconto delle percentuali di presenza dei vari morfi registrate per le popolazioni dei siti presi in esame durante il periodo in cui si è condotto questo studio (TAB.

16).

Sono stati distinti i tre morfi principali: bianco, giallo e rosso; inoltre sono stati distinti i tre morfi ibridi: bianco/rosso (FIG. 30), giallo/rosso e bianco/giallo.

Morfo	Cascina Amata	Cascina Mordina	Intimiano	Mombello	Quagliodromo	Seveso
Bianco	35%	29%	48%	14%	38%	41%
Giallo	31%	25%	14%	32%	29%	25%
Rosso	0%	7%	0%	0%	0%	0%
Bianco/Rosso	15%	11%	10%	40%	5%	13%
Giallo/Rosso	4%	7%	7%	5%	14%	4%
Bianco/Giallo	15%	21%	21%	9%	14%	17%

TAB. 16: Tabella riassuntiva riportante tutte le percentuali dei 6 diversi morfi di *Podarcis muralis* registrate durante lo svolgimento di questa tesi.

Females



WW

YY

RR

WR

YR

WY

WY



Males

FIG. 30: Prospetto dei morfotipi esistenti di *Podarcis muralis* per entrambi i sessi. Da sinistra verso destra: Bianco, Giallo, Rosso, Bianco/Rosso, Giallo/Rosso e Bianco/Giallo (illustrato con le due tipologie di colorazione più diffuse).

In tutti i siti tranne Mombello il morfo più diffuso è il bianco che costituisce da un terzo alla metà della popolazione, per secondo viene il morfo giallo che costituisce da un quarto a un terzo della popolazione mentre il morfo rosso, che è il più raro, è presente solo nel sito di Cascina Mordina e comunque con una bassa percentuale (7%).

In generale i morfi ibridi sono sempre numericamente inferiori ai morfi puri e non superano quasi mai il 21% presi singolarmente (con l'eccezione del morfo bianco/rosso che nel sito di Mombello raggiunge il 40%). Tra gli ibridi il morfo più raro è il giallo/rosso mentre i due ibridi del morfo bianco più o meno si equivalgono.

Se però sommiamo insieme le percentuali dei tre morfi ibridi in ogni sito ci si accorge che questi costituiscono una parte considerevole della popolazione, infatti gli ibridi costituiscono dal 34% al 54% del totale.

DISCUSSIONE

DISCUSSIONE

MORFOLOGIA

In una popolazione di lucertola muraiola le differenze dimensionali tra maschio e femmina sono la base del normale dimorfismo sessuale della specie (Corti & Lo Cascio, 1999; Arnold & Ovenden, 2002), in particolare i maschi adulti sono solitamente più grandi delle femmine per quanto riguarda la lunghezza del corpo coda esclusa (SVL) ed inoltre hanno il capo più grande rispetto alle femmine sia in lunghezza (HL) che larghezza (HW).

I test statistici condotti hanno evidenziato come nei siti di Seveso, Mombello e Quagliodromo di Barlassina il capo dei maschi sia significativamente più piccolo rispetto alle misure registrate negli altri siti, ciò determina un minore dimorfismo sessuale in questi tre siti.

Mombello e Barlassina sono i due siti più vicini a Seveso e ciò, unitamente agli accertati effetti demascolinizzanti della diossina (AA.VV., 1998) mi ha portato a formulare un'ipotesi.

Innanzitutto è necessario precisare che la diossina è un potente interferente endocrino; quindi l'esposizione alla diossina nei maschi può causare effetti di demascolinizzazione come: diminuzione del livello di testosterone e riduzione dei caratteri sessuali secondari (AA.VV., 1998).

Alla luce di questi effetti la mia ipotesi è la seguente: le popolazioni di *Podarcis muralis* di Seveso e siti vicini furono esposte all'epoca del disastro dell'ICMESA ad alte concentrazioni di diossina; ciò potrebbe avere causato un effetto demascolinizzante che ha indotto una diminuzione delle dimensioni del capo nei maschi di Seveso e zone limitrofe (Quagliodromo e Mombello).

Tutti i maschi, che avrebbero dovuto sviluppare un capo più grande, possedevano invece un capo più piccolo a causa della demascolinizzazione indotta dalla diossina.

Anche se le concentrazioni di diossina rilevate nel terreno sono ormai basse (Antoniotti & Pastorelli, 2003) potrebbero essere comunque sufficienti a provocare effetti demascolinizzanti poiché la diossina è un interferente endocrino così potente da causare effetti anche se assunto in concentrazioni di pochi picogrammi (AA.VV., 1998).

Dato che la diossina produce un effetto demascolinizzante ovviamente questo effetto non è evidente sulle femmine che, infatti, come evidenziano i risultati di questo studio, non mostrano differenze morfometriche significative tra i diversi siti di campionamento.

Inoltre, a ulteriore sostegno della mia ipotesi, è risaputo che la diossina viene trasferita dalla madre ai figli durante l'ovodeposizione (Verreault et al., 2006), le diossine sono infatti composti lipofili per cui si concentrano nel vitello delle uova.

Perciò, dato che le femmine diminuiscono la concentrazione di diossina presente nel loro corpo ad

ogni evento riproduttivo (Binelli et al., 2001; Kajiwara et al., 2007; Wells et al., 2005; Verreault et al., 2006) sembra ragionevole che non si riscontrino effetti registrabili a livello dei loro parametri morfometrici.

Inoltre l'embrione all'interno delle uova entra a contatto con la diossina che può quindi agire con il suo effetto demascolinizzante già nei primi stadi di sviluppo della lucertola.

Per questi motivi è ragionevole ipotizzare che i maschi risentano fin da prima della nascita di questi effetti e che la diossina possa agire come interferente endocrino con effetti tali da ridurre la dimensione del capo nei maschi presenti in zone altamente inquinate anche a distanza di anni dall'evento di contaminazione.

Sicuramente però per avvalorare questa ipotesi dovranno essere condotte nuove e più approfondite ricerche sia effettuando campionamenti più estesi nelle zone limitrofe a Seveso sia studiando gli effetti della diossina sui rettili non solo a livello morfometrico ma anche a livello fisiologico concentrandosi sugli ormoni sessuali.

GLI EMATOCITI

Per quanto riguarda i conteggi degli ematociti non vi sono variazioni significative nell'area più vicina a Seveso, infatti i test statistici non hanno evidenziato nessuna relazione tra la distanza da Seveso e il numero di ematociti conteggiati.

In relazione alla formula leucocitaria è necessario specificare che gli studi in cui si calcola la formula leucocitaria della lucertola muraiola sono solamente questo e una precedente tesi di laurea (Binda, 2007) (TAB. 17) perciò mancano informazioni dettagliate sui valori standard per la specie.

Sesso	WTC	Eterofli (%)	Eosinofili (%)	Basofili (%)	Linfociti (%)	Monociti (%)
Maschi	209	11,4	11,5	8,8	67,9	0,2
Femmine	118	19,5	17,6	12,3	50	0,6

TAB. 17: Tabella della formula leucocitaria ottenuta negli studi precedenti a questa tesi per i maschi(N=33) e le femmine (N=12) di *Podarcis Muralis*, catturati nell'area limitrofa a Pavia (adattata da: Binda, 2007).

Se confrontiamo questi valori con quelli ricavati dal presente studio (TAB. 18 e 19) possiamo notare che: la WTC e le percentuali di linfociti e monociti registrate per questa tesi sono più alte; le percentuali di eterofili, eosinofili e basofili sono più basse, nulla si può dire dei neutrofili che non erano stato conteggiati nello studio precedente a questo.

Sito	WTC	Eterofli (%)	Eosinofili (%)	Neutrofli (%)	Basofili (%)	Linfociti (%)	Monociti (%)
Cascina Amata	258,15	3,35	4,81	0,94	5,13	85,37	1,06
Cascina Mordina	230,75	7,74	6,12	0,80	5,60	79,44	1,06
Intimiano	233,36	5,65	4,55	1,52	4,20	82,99	1,33
Mombello	407,66	5,61	2,47	0,73	5,74	84,62	0,83
Quagliodromo	211,30	6,37	3,72	0,89	7,37	81,24	0,66
Seveso	276,81	4,18	4,83	0,99	5,70	83,09	1,20

TAB. 18: Tabella delle formule leucocitarie negli individui maschili di *Podarcis muralis* catturati in questo studio.

Sito	WTC	Eterofli (%)	Eosinofili (%)	Neutrofli (%)	Basofili (%)	Linfociti (%)	Monociti (%)
Cascina Amata	222,80	10,11	4,53	0,43	5,62	79,28	0,84
Cascina Mordina	225,10	4,89	4,15	0,89	6,67	82,46	0,84
Intimiano	288,50	5,82	4,40	2,10	7,14	80,35	0,59
Mombello	269,58	9,40	4,56	0,74	5,33	79,56	0,51
Quagliodromo	229,40	4,97	2,00	0,83	6,90	84,46	1,04
Seveso	286,00	11,27	5,88	1,82	5,71	74,89	1,25

TAB. 19: Tabella delle formule leucocitarie negli individui femminili di *Podarcis muralis* catturati in questo studio.

Nonostante i valori registrati siano sostanzialmente differenti non possiamo azzardare ipotesi particolari poiché servirebbero ulteriori dati da un maggior numero di siti per poter effettuare un'analisi statistica attendibile.

Allo stato attuale delle nostre conoscenze è più ragionevole pensare che questa differenza sia data dalla normale variabilità tra le popolazioni di *Podarcis muralis* piuttosto che da altri fattori.

BIBLIOGRAFIA

- Amo L., Lòpez P. & Martin J. (2004). Prevalence and intensity of haemogregarinid blood parasites in a population of the Iberian rock lizard, *Lacerta monticola*. *Parasitol Res*, 94: 290-293.
- Antoniotti D., Pastorelli G., (2003). Analisi di rischio relativa alla presenza di diossina residua nella zona B di Seveso. Fondazione Lombardia per l'Ambiente, Gessate (MI).
- Arnold N., Ovenden D., (2002). *Reptiles & Amphibians of Britain & Europe*, Collins Field Guide. London.
- AA.VV., (1998). Toxicological Profile for Chlorinated Dibenzo-*p*-Dioxins. Prepared by: Research Triangle Institute for: U.S. Department of Health and Human Services (Public Health Service; Agency for Toxic Substances and Disease Registry).
- Binda A. (2007). Morfologia delle cellule ematiche in tre specie di sauri. Tesi di laurea in Analisi e Gestione delle Risorse Naturali. Università dell'Insubria di Varese.
- Binelli A., Galassi S., Provini A., (2001). Factors affecting the use of *Dreissena polymorpha* as bioindicator: The PCB pollution in Lake Como (N. Italy). *Water, Air and Soil Pollution*, 125: 19-32.
- Bonizzoni P., Meroni S., (1984). Atti del convegno "La risposta tecnologica agli inquinanti chimici". Milano 20-21-22 settembre 1984), Regione Lombardia, Ufficio Speciale di Seveso, Milano.
- Bruno S, Maugeri S. (1986). *Tartarughe e Sauri d'Italia*. Firenze: Giunti-Martello. 260 p.
- Campbell T. W. (1996). *Clinical pathology in Reptile medicine and surgery*. Ed. D. R. Mader. Philadelphia, W. B. Saunders Company: 248-257.
- Canfield P. D. (1998). Comparative cell morphology in the peripheral blood film from exotic and native animals. *Australian Veterinary Journal*, 76: 793-800.
- Corti C., Lo Cascio P., (1999). *I lacertidi italiani*, L'Epos. Palermo.
- Davis A. K., Maney D. L., Maerz J. C., (2008). The use of leukocyte profile to measure stress in vertebrate: a review for ecologists. *Functional Ecology*, 22: 760-772.
- Fossi M.C., Casini S., Marsili L., Ancora S., Mori G., Neri G., Ausili A., Romeo T., Moscatelli A., Notarbartolo di Sciara G., (2002). Biomarkers of exposure and effects for assessing toxicological risk of endocrine disrupters in top predators of the Mediterranean Sea. *Marine Ecology* 23(1): 184-189.
- Fossi M.C., Casini S., Marsili L., Ancora S., Mori G., Neri G., Romeo T., Ausili A., (2004). Evaluation of ecotoxicological effects of endocrine disrupters during a four-year survey of the Mediterranean population of swordfish (*Xiphias gladius*). *Marine Environmental Research* 58:

425-429.

- Frye F. L., (1991). Hematology as applied to clinical reptile medicine. In Biomedical and surgical aspect of captive reptile husbandry. Ed. F. L. Frye. Malabar, Florida, Krieger Publishing Co. 325 p..
- Lainson R., Naiff R. D., (1998). *Haemoproteus* (Apicomplexa: Haemoproteidae) of tortoises and turtles. Proc. R. Soc. Lond. B, 265: 941-949.
- Mader, D. R., (2000). Normal haematology of Reptiles. In Veterinary haematology. Eds B. F. Feldman J. G. Zinkl N. C. Jain. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. pp. 1126-1132.
- Oliva O., Colombo P., Crovetto G. M., Fratter M., Mariani R., (2008). Il Bosco delle Querce di Seveso tra memoria e natura, Fondazione Lombardia per l'Ambiente, Gessate (MI).
- Kajiwara Y., Kashiwagi N., Kadokami K., (2007). Nationwide study of dioxins in the freshwater fish *Carassius auratus* (gibelio) *langsdorfii* (crucian carp) in Japan: Concentrations and estimation of source contribution ratios. Chemosphere, 69: 1177–1187.
- Sacchi R., Rubolini D., Gentili A., Pupin F., Razzetti R., Scali S., Galeotti P. & Fasola M., (2007a). Morph-specific immunity in male *Podarcis muralis*. Amphibia-Reptilia, 28: 408-412.
- Sacchi R., Scali S., Fasola M. & Galeotti P., (2007b). The numerical encoding of scale morphology highly improves photographic identification in lizards. Acta Herpetologica, 2 (1): 27-35.
- Sacchi R., Scali S., Pupin F., Gentili A., Galeotti P. & Fasola M., (2007c). Microgeographic variation of colour morph frequency and biometry of common wall lizards. Journal of Zoology, 273: 389-396.
- Saint Girons M. C., (1970). Morphology of the circulating blood cells. In Biology of the Reptilia. Ed C. Gans. New York, Academic Press. pp. 73-91.
- Verreault J., Villa R. A., Gabrielsen G. W., Skaare J. U., Letcher R. J.,(2006). Maternal transfer of organohalogen contaminants and metabolites to eggs of Arctic-breeding glaucous gulls. Environmental Pollution, 144: 1053 – 1060.
- Wells R. S., Tornero V., Borrell A., Aguilar A., Rowles T. K., Rhinehart L. H., Suzanne Hofmann S. Jarman W. M., Hohn A. A., Sweeney J. C., (2005). Integrating life-history and reproductive success data to examine potential relationships with organochlorine compounds for bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Sarasota Bay, Florida. Science of the Total Environment, 349: 106– 119.
- Zhao X., Zheng M., Zhang B., Zhang Q., Liu W., (2006). Evidence for the transfer of polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins, and polychlorinated dibenzofurans from soil into biota. Science of the Total Environment, 368: 744–752.

RINGRAZIAMENTI

Il primo ringraziamento va alle lucertole, animali molto più belli e sorprendenti di quanto non si possa immaginare, mi hanno fatto sputare sangue ma catturarne una ed ammirarne la colorazione è una bella soddisfazione.

Ma non avrei mai potuto catturare una lucertola senza gli insegnamenti del mio correlatore Dott. Stefano Scali, dal quale ho imparato davvero tante cose sia sul campo che alla tastiera di un pc, per me è stato, più che un correlatore, quasi come un fratello maggiore con tanta esperienza: grazie!

Ringrazio anche il mio relatore il prof. Marco Ferraguti, sempre attento e interessato al mio lavoro, mi ha seguito un po' nell'ombra come relatore interno ma è sempre stato presente e disponibile.

Un sincero grazie al Dott. Roberto Sacchi dell'Università di Pavia, grazie a lui ho imparato tutto quello che so sugli ematociti.

Un ringraziamento particolare alle direzioni dei parchi naturali dove ho svolto la parte sul campo della mia tesi: il Parco delle Groane, Parco della Brughiera Briantea ed il Parco del Bosco delle Querce di Seveso e Meda; in particolare ringrazio il direttore Emiliano Fratter così disponibile e gentile.

Ancora un grazie ai miei colleghi naturalisti, ma soprattutto amici, che mi hanno accompagnato durante il lavoro sul campo e la stesura della tesi: Chiara Ilaria Luisa Patti, Luca Landoni e Mario Ballerini. Grazie a tutti gli amici e ai miei genitori che mi hanno dato forza nei momenti difficili.



FIG. 31: Tavola raffigurante i rettili tratta dal *Kunstformen der Natur* di Ernst Haeckel.

“La vita [...] si è evoluta e si evolve, partendo da inizi così semplici, fino a creare infinite forme bellissime.” Charles Darwin, *L'origine delle Specie*.