



Università degli Studi della Tuscia di Viterbo

Dipartimento di scienze e tecnologie per l'agricoltura, le foreste, la natura e l'energia (DAFNE)

**Corso di Dottorato di Ricerca in
Scienze delle produzioni animali e vegetali – Ciclo XXXVII**

TITOLO TESI DI DOTTORATO DI RICERCA

Gestione della fertilità dello scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*): analisi dei fattori che influenzano l'assunzione di esche contraccettive e sviluppo di tecniche automatizzate di distribuzione selettiva tramite algoritmo di *object detection*

Settore scientifico-disciplinare **s.s.d. AGRI-09/C**

Tesi di dottorato di:

Dott. Cristiano Tiberi

Coordinatore del corso

Prof.ssa Roberta Bernini

Tutore

Prof. Andrea Vitali

Co-tutore

Prof. Riccardo Primi

A.A. 2024/2025

RIASSUNTO	4
ABSTRACT.....	5
1. INTRODUZIONE.....	6
1.1 Scoiattolo grigio: diffusione e conseguenze.....	7
1.2 Metodi di monitoraggio dello scoiattolo grigio	12
<i>Conteggi visivi da punti di osservazione e transetti lineari</i>	<i>13</i>
<i>Hair-tube</i>	<i>13</i>
<i>Conteggio nidi.....</i>	<i>13</i>
<i>Fototrappolaggio</i>	<i>14</i>
<i>Catture, marcature e ricatture.....</i>	<i>14</i>
1.3 Metodi di controllo dello scoiattolo grigio	15
1.3.1 <i>Soppressione degli effettivi</i>	<i>16</i>
1.3.2 <i>Riduzione della capacità riproduttiva</i>	<i>17</i>
2. OBIETTIVI	22
3. EFFETTO DELL'ETÀ, DEL SESSO E DELLO STATO RIPRODUTTIVO SUL CONSUMO DI ESCHES NELLO SCOIATTOLO GRIGIO	24
3.1 Stato dell'arte.....	24
3.2 Materiali e metodi.....	25
3.2.1 <i>Area di studio</i>	<i>25</i>
3.2.2 <i>Catture Pit-tagging.....</i>	<i>27</i>
3.2.3 <i>Utilizzo degli hoppers per la somministrazione delle esche.....</i>	<i>29</i>
3.2.4 <i>Cattura, abbattimento degli scoiattoli e campionamento del pelo</i>	<i>31</i>
3.2.5 <i>Classificazione degli scoiattoli</i>	<i>32</i>
3.2.6 <i>Realizzazione dei dataset.....</i>	<i>34</i>
3.2.7 <i>Analisi statistica.....</i>	<i>35</i>
3.3 Risultati.....	37
3.3.1 <i>Andamento delle catture</i>	<i>37</i>
3.3.2 <i>Risultati delle analisi di laboratorio.....</i>	<i>38</i>
3.3.3 <i>Analisi della frequenza agli hoppers.....</i>	<i>39</i>
3.3.4 <i>Consumo dell'esca</i>	<i>42</i>
3.4 Discussione.....	43
3.5 Conclusioni	45
4. UTILIZZO DI MODELLI SPAZIALI E TEMPORALI PER LO STUDIO DELLE ABITUDINI ALIMENTARI DELLO SCOIATTOLO GRIGIO	46
4.1 Stato dell'arte.....	46
4.2 Materiali e metodi	49
4.2.1 <i>Analisi spaziale.....</i>	<i>49</i>
<i>Estrazione delle variabili spaziali.....</i>	<i>49</i>
<i>Analisi statistica</i>	<i>52</i>
4.2.2 <i>Analisi statistica descrittiva</i>	<i>52</i>

4.3 Risultati.....	53
4.3.1 Risultati analisi spaziale.....	53
4.3.2 Risultati analisi temporale	55
4.4 Discussione.....	57
4.5 Conclusioni	60
5. SVILUPPO DI UN ALGORITMO PER IL RICONOSCIMENTO VIDEO DELLE SPECIE DI SCOIATTOLO GRIGIO E ROSSO.....	62
5.1 Stato dell'arte.....	62
5.2 Materiali e metodi	64
5.2.1 Architettura di YOLOv8: principio di funzionamento	64
5.2.2 Importanza del set dei dati di addestramento.	65
5.2.3 Raccolta dati.....	65
5.2.4 Procedura di etichettatura	67
5.2.5 Procedura di addestramento	69
5.2.6 Metriche di prestazione	71
5.2.7 Inferenza nei video.....	73
5.3 Risultati.....	73
5.3.1 Performance di output del modello SDM.....	73
5.3.2 Confronto tra metriche dei dati di validazione e dati di test	78
5.3.3 Inferenza	78
5.4 Discussione.....	79
5.5 Conclusioni	81
6. RINGRAZIAMENTI.....	83
7. DICHIARAZIONE ETICA.....	83
8. MATERIALE SUPPLEMENTARE	83
9. BIBLIOGRAFIA	84

RIASSUNTO

Lo scoiattolo grigio è una delle specie aliene invasive maggiormente problematiche in Europa, e sono attualmente in corso numerosi studi finalizzati allo sviluppo di strategie efficaci per contenere la sua diffusione. Tra le soluzioni più promettenti si distingue il controllo della fertilità, ottenuto attraverso l'utilizzo di esche contenenti contraccettivi. L'obiettivo principale di questa ricerca è stato quello di analizzare alcuni aspetti cruciali della distribuzione delle esche nella specie scoiattolo grigio, al fine di fornire indicazioni utili per la pianificazione e l'implementazione di future campagne di riduzione della fertilità. Al fine di raggiungere tale obiettivo, sono stati condotti diversi studi. La prima indagine è stata condotta per verificare se fattori quali sesso, età e stato riproduttivo influenzassero l'assorbimento delle esche nello scoiattolo grigio. Per questa analisi, i dati sono stati raccolti in tre boschi dello Yorkshire durante l'inverno del 2018 e l'estate del 2022, seguendo il metodo generale che prevedeva una prima cattura degli animali per dotarli di pit-tag, una fase di registrazione delle visite degli animali ai distributori e una cattura definitiva per la rimozione degli animali e la loro classificazione in categorie in base a sesso, età e stato riproduttivo. Grazie alle analisi statistiche condotte, è stato possibile concludere che non ci sono differenze nell'assunzione delle esche tra le varie categorie individuate, fatta eccezione per una maggiore variabilità di comportamento negli individui giovani e immaturi sessualmente. La seconda indagine ha previsto un'analisi spaziale dei movimenti degli animali alla ricerca del cibo, considerando le visite ai distributori registrate nel precedente studio. Le variabili spaziali sono state estratte tramite elaborazioni GIS: distanza totale percorsa (m); massima distanza percorsa tra due hoppers consecutivi (m); area di attività (m^2), e confrontate statisticamente con fattori quali sesso, età, stato riproduttivo, stagione e sito di studio. Dall'analisi è emersa una differenza significativa nella mobilità degli animali in estate rispetto all'inverno, suggerendo un posizionamento ideale dei distributori a una distanza massima di 100-150 m durante la stagione fredda. Inoltre, è emersa anche una mobilità ridotta delle femmine sessualmente attive rispetto a tutte le altre categorie. Infine, nell'ultimo studio è stato proposto un algoritmo di object detection per il riconoscimento degli scoiattoli, utilizzato come input per l'apertura automatizzata dei distributori. I dati raccolti, centinaia di immagini provenienti da differenti aree del Regno Unito, sono stati processati per addestrare un modello con YOLOv8. Le performance in output hanno mostrato una buona

capacità di elaborazione dei dati, con buoni valori di accuratezza, precisione e richiamo. Sebbene il modello possa processare dati nuovi con buona qualità, ulteriori indagini e integrazioni sono necessarie per l'utilizzo del modello in attività di campo.

ABSTRACT

The grey squirrel is one of the most problematic invasive alien species in Europe, and numerous studies are currently underway to develop effective strategies to contain its spread. Among the most promising solutions is fertility control, achieved through the use of contraceptive-laced baits. The main objective of this research was to analyze key aspects of bait distribution in grey squirrels, to provide useful guidance for the planning and implementation of future fertility reduction campaigns. To achieve this goal, several studies were conducted: the first investigation aimed to assess whether factors such as sex, age, and reproductive status influenced bait uptake in grey squirrels. Data for this analysis were collected in three woodlands in Yorkshire during the winter of 2018 and the summer of 2022, following a general approach that included an initial capture of animals for PIT-tagging, a phase of recording animal visits to the bait stations, and a final capture for animal removal and classification into categories based on sex, age, and reproductive status. Statistical analyses revealed no significant differences in bait consumption between the identified categories, except for a higher variability in behavior observed in young and sexually immature individuals. The second investigation involved a spatial analysis of the animals' movements in search of food, considering the visits to the bait stations recorded in the previous study. Spatial variables were extracted through GIS processing: total distance traveled (m), maximum distance travelled between consecutive hoppers (m), and activity area (m²), and were statistically compared with factors such as sex, age, reproductive status, season, and study site. The analysis revealed a significant difference in the animals' mobility in summer compared to winter, suggesting an ideal placement of bait stations at a maximum distance of 100-150 meters during the cold season. Additionally, a reduced mobility was observed in sexually active females compared to all other categories. Finally, the last study proposed an object detection algorithm for squirrel recognition, used as input for the automated opening of bait stations. Data collected, including hundreds of images from various areas of the UK, were processed to train a model using YOLOv8. The output performance showed a good ability

to process data, with high accuracy, precision, and recall values. Although the model can process new data with good quality, further investigations and integrations are needed for its use in field activities.

keywords: *fertility control, contraceptives, Pit-tag, hopper, Yolov8.*

1. INTRODUZIONE

Si definisce specie aliena un essere vivente che, per causa diretta o indiretta del comportamento umano, giunge in areali diversi dal proprio superando le barriere biogeografiche e mantenendo la capacità riproduttiva (Richardson et al., 2000; Pyšek et al., 2004). Si definisce invasiva, quando per peculiari condizioni ambientali favorevoli, la specie si riproduce e colonizza velocemente l'areale, rappresentando una concreta minaccia per la biodiversità (Reg. UE 1143/2014; Alfaro & Scovacci, 2015). Le specie aliene invasive sono uno dei principali fattori di perdita di biodiversità e rappresentano una minaccia globale per la sicurezza alimentare e sanitaria (IUCN 2021). Un rapporto recente, datato 2019, riporta che le specie aliene invasive si collocano al 5° posto come fattore di perdita di biodiversità a livello mondiale, precedute solamente dai cambiamenti nell'uso della terra e del mare, lo sfruttamento diretto degli organismi, i cambiamenti climatici e l'inquinamento (Brondizio et al., 2019). La globalizzazione, intesa come veloci e repentini spostamenti di prodotti e persone, causa un esponenziale rischio di diffusione delle specie aliene (Meyerson & Mooney, 2007). Tali specie possono causare problemi di natura economica, ecologica e sanitaria. Il progetto DAISIE (*Delivering alien invasive species inventories in Europe*), finanziato nell'ambito del sesto programma quadro per la ricerca dell'UE, ha individuato oltre diecimila specie alloctone presenti in Europa, (5.789 piante terrestri; 2.481 invertebrati terrestri; 358 vertebrati terrestri; 481 specie di fauna e flora di acqua dolce; 1.071 specie di fauna e flora marine) delle quali 1.094 (11%) causano documentati impatti ecologici, e 1.347 (13%) impatti economici (Vilà et al., 2010).

Come attuazione politica, il Parlamento Europeo e il Consiglio nel 2014, hanno emanato il Regolamento n. 1143/2014, recante disposizioni volte a prevenire e gestire l'introduzione e la diffusione delle specie esotiche invasive. Il Regolamento evidenzia

l'importanza di controllare le specie altamente invasive nel contesto europeo (art. 3, comma 3), prevedendo per queste un'inclusione in un apposito elenco delle specie esotiche invasive di rilevanza unionale (art. 4), che comprende anche lo scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis* Gmelin, 1788), oggetto di studio nell'ambito della presente tesi di dottorato. Le disposizioni del Regolamento stabiliscono che le azioni di contrasto alle specie aliene invasive debbano prioritariamente mirare all'eradicazione precoce delle specie (art. 17); qualora ciò non sia realizzabile, si deve attuare una gestione per le specie già ampiamente diffuse (art. 19). In Italia, i progetti LIFE attualmente in corso includono attività di prevenzione e sensibilizzazione, oltre a interventi mirati alla riduzione delle popolazioni di scoiattoli grigi (Bertolino et al., 2016). Tra le principali misure preventive si annovera il divieto di detenzione e rilascio in ambiente naturale di tali specie. In questo contesto, oltre al Regolamento 1143/2014, il quadro normativo italiano prevede una serie di disposizioni settoriali che, già da tempo, vietano la detenzione e il rilascio di determinate specie (Legge n. 473/1993; Legge n. 150/1992; Legge n. 157/1992; D.P.R. n. 357/1997; D.P.R. n. 120/2003).

Le attività educative rivestono un ruolo cruciale nelle iniziative di divulgazione scientifica. Le campagne di sensibilizzazione, in particolare, costituiscono uno dei pilastri dei progetti di conservazione, contribuendo a costruire una consapevolezza collettiva sul tema. Le attività dirette di monitoraggio e controllo sono essenziali per acquisire dati utili alla gestione delle popolazioni aliene e allo sviluppo di programmi specifici. Tra le principali tecniche utilizzate vi sono il monitoraggio visivo, il fototrappolaggio, la raccolta di campioni di peli e l'impiego di transetti, tutte metodologie che forniscono informazioni fondamentali a supporto delle decisioni gestionali. Le strategie di gestione comprendono sia la soppressione delle popolazioni che la riduzione della capacità riproduttiva, misure particolarmente utili nelle aree in cui la presenza di queste specie ha già causato gravi impatti ambientali.

1.1 Scoiattolo grigio: diffusione e conseguenze

Lo scoiattolo grigio (Figura 1) è un roditore arboricolo appartenente alla famiglia degli Sciuridae, originario del Nord America (Figura 2). Fenotipicamente, presenta una lunghezza totale variabile tra i 38 e i 52 cm, con una coda lunga tra i 15 e i 25 cm,

caratterizzata da un folto pelo grigio argenteo (Koprowski, 1994). La proiezione dorso-ventrale del corpo presenta colore bianco-crema nella parte addominale, con tonalità cannella (Flyger & Gates, 1982), mentre nella parte dorsale il colore è grigio lucido. Sono inoltre presenti sfumature arancio e nere nei contorni e nelle parti terminali delle zampe. Nell'areale nativo, sono stati osservati fenotipi melanici e albin (Koprowski, 1994).



Figura 1. Esemplare di scoiattolo grigio (*Sciurus carolinensis*). https://www.freepik.es/fotos-premium/esquirol-gris-sciurus-carolinensis-tambien-conocido-como-esquirol-gris_58335630.htm

Il peso degli adulti varia da 300 a 710 g (Barkalow & Shorten, 1973; Hall, 1981). Tra le caratteristiche distintive vi sono i grandi occhi e le orecchie arrotondate, prive di peluria. La formula dentaria definitiva è composta da 22 denti (Hench et al., 1984). Non si riscontra un dimorfismo sessuale evidente. La specie è diurna, attiva dalle prime ore del giorno fino al tramonto (Wauters et al., 2005). La specie è poliandrica, con le femmine che attirano fino a 34 maschi (Goodrum, 1961). L'accoppiamento dura circa 30 secondi e avviene dopo un corteggiamento di circa 5 giorni (Thompson, 1977). La gestazione ha una durata di 44 giorni (Webley & Johnson, 1983). I piccoli nascono privi di peluria e con occhi chiusi, con un peso che varia tra 13 e 18 grammi (Koprowski, 1994). Dopo il primo parto, gli 8 capezzoli delle femmine assumono una colorazione grigio-nera (Flyger & Gates, 1982).

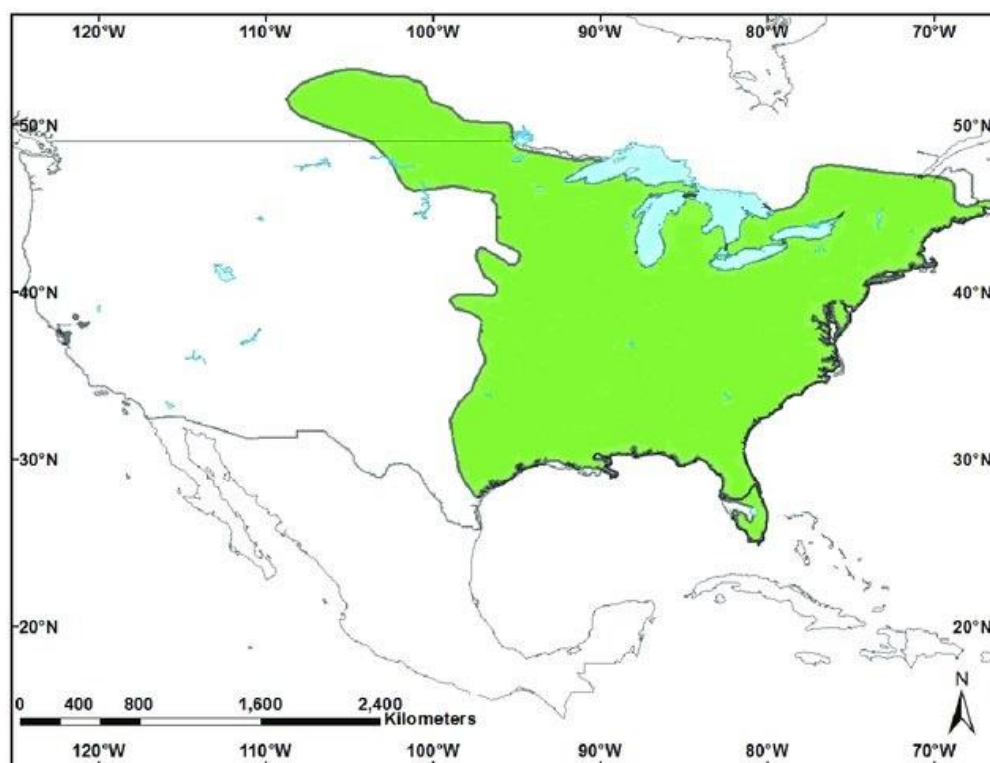


Figura 2. Areale di diffusione originario dello scoiattolo grigio (Nord America). Modificata da Koprowsky et al., 2016.

L'habitat preferito dello scoiattolo grigio è costituito da foreste miste di latifoglie decidue e sempreverdi, con una predilezione per i boschi ricchi di specie produttrici di frutti secchi, come querce, faggi e noci (Whitaker & Hamilton, 2019). Sebbene sia considerato un granivoro e consumatore di sementi di piante, la sua dieta è molto variegata: comprende non solo parti di piante (fiori, foglie, cortecce e frutti), ma anche piccoli invertebrati, anfibi, piccoli mammiferi, uccelli e nidiacei (Korschgen, 1981; Broughton, 2020). Sono stati riportati anche casi di predazione su conspecifici (Holm, 1976). Il comportamento alimentare dello scoiattolo grigio causa ingenti perdite economiche nel settore forestale, sia per il consumo diretto di frutti e semi, sia per l'azione di scortecciamento delle piante. Quest'ultimo comportamento, sebbene insolito nell'areale nativo, è molto frequente e ripetitivo negli areali di introduzione (Huxley, 2003). Le cause di tale comportamento non sono del tutto chiare, ma si ipotizza un elevato fabbisogno di calcio (Nichols et al., 2016).

La presenza dello scoiattolo grigio in Inghilterra e Galles, introdotto nel 1876 (Gurnell, 1996), comporta significative perdite economiche nel settore forestale, stimate attorno ai 37 milioni di sterline (Royal Forestry Society, 2021). Questo impatto è attribuibile principalmente al comportamento di scortecciamento, che provoca un

incremento legnoso limitato, con deformazioni nella crescita dei fusti. Inoltre, le fessure prodotte dal danno corticale facilitano l'ingresso di patogeni che compromettono ulteriormente la salute delle piante (Abbott et al., 1977).

Oltre alle perdite economiche, la presenza dello scoiattolo grigio comporta rilevanti problematiche ecologiche. La specie contribuisce direttamente alla contrazione dell'areale dello scoiattolo comune o rosso (*Sciurus vulgaris*, Linnaeus, 1758), autoctono dell'Europa, che risulta progressivamente in declino in molte delle aree colonizzate (Rushton et al., 2000; Gurnell et al., 2004; Bertolino et al., 2014). La competizione per le risorse alimentari e spaziali (Wauters et al., 2005) e la trasmissione di malattie, tra cui il Parapoxvirus (Sainsbury et al., 2000), sono le principali cause della regressione dello scoiattolo rosso (Chantrey et al., 2014). A partire dalla fine del XIX secolo, lo scoiattolo grigio è stato introdotto in diverse parti d'Europa. Si stima la presenza di oltre 2,5 milioni di scoiattoli grigi, diffusi in gran parte del Regno Unito (Croft et al., 2017). Ad oggi è presente in quasi tutto il Regno Unito, in Irlanda e in alcune aree diffuse e puntiformi dell'Italia (Okubo et al., 1989, Teangana et al., 2000, Martinoli et al., 2010, La Morgia et al., 2017, 2018, 2023) (Figura 3).



Figura 3. Distribuzione Europea dello scoiattolo grigio: Nero scuro in UK e Irlanda; asterisco in Italia. Modificato da Shuttleworth et al., 2016.

Studi britannici riportano che lo scoiattolo grigio, a partire dal 1876 ha rapidamente colonizzato la maggior parte del territorio del Regno Unito, riducendo la distribuzione dello scoiattolo rosso alle sole aree settentrionali dell'Inghilterra, a parti della Scozia e a poche isole britanniche (Hale et al., 2004). In Irlanda, analogamente, lo scoiattolo rosso ha subito una contrazione dell'areale molto marcata (Taengana et al., 2000). In Italia, la distribuzione attuale dello scoiattolo grigio interessa diverse regioni del Nord, tra cui Piemonte, Lombardia, Veneto e Liguria, dove sono presenti popolazioni stabili. È inoltre nota una popolazione isolata in Umbria (Figura 4). Segnalazioni sporadiche sono state registrate in varie province della Toscana, dove è stato accertato anche un nucleo riproduttivo localizzato nella provincia di Siena (Mori et al., 2016).

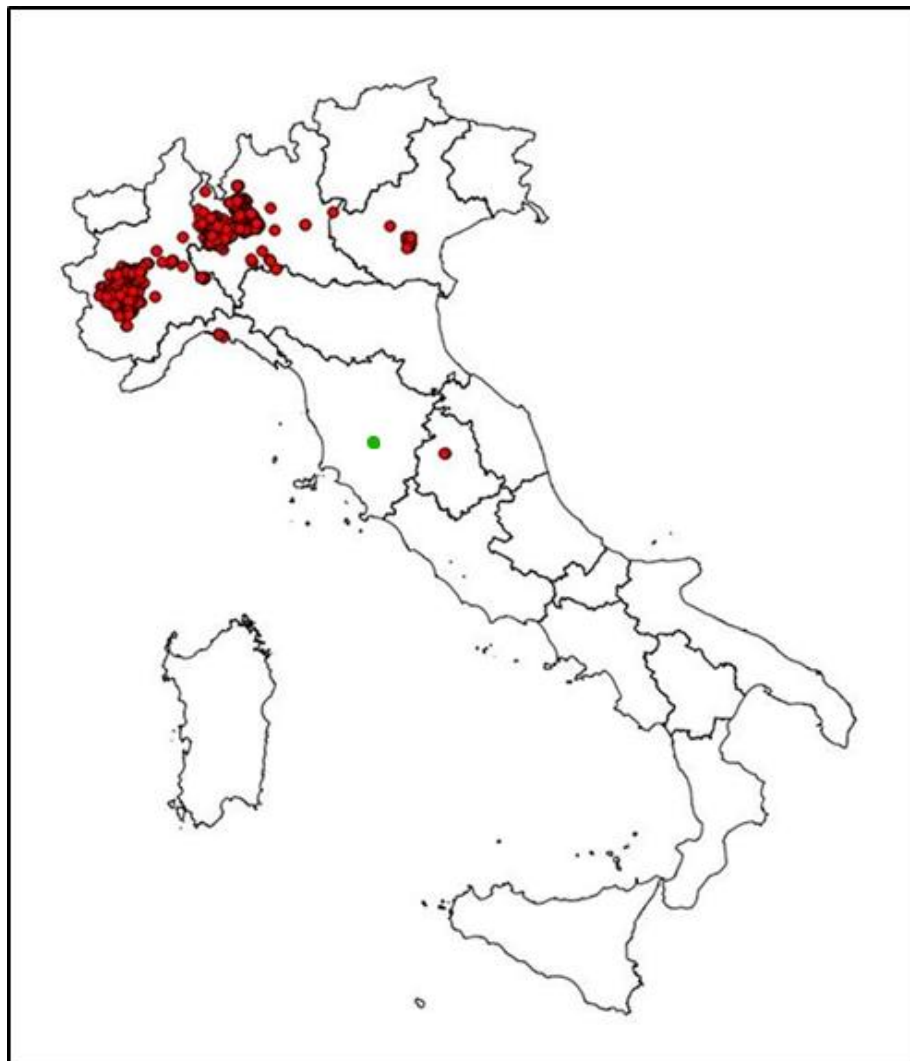


Figura 4. Distribuzione dello scoiattolo grigio in Italia con popolazioni stabili (punti rossi). Nucleo riproduttivo localizzato (punto verde) – Immagine modificata dal Piano nazionale di gestione dello Scoiattolo grigio – MATTM.

Studi pregressi in materia di distribuzione della specie nelle regioni del Nord Italia, suggerivano una progressiva espansione in aree limitrofe con possibili colonizzazioni di aree prealpine (Wauters et al., 2005), con potenziale superamento dei confini nazionali (Tattoni et al., 2006; Martinoli et al., 2010; Bertolino et al., 2014). Ad oggi, mancano studi esaustivi sull'attuale distribuzione dello scoiattolo grigio in Italia.

Programmi di contrasto con tecniche di soppressione degli effettivi o di riduzione della capacità riproduttiva sono già in essere da tempo in tutta Europa, (appendice 3 - Convention on the Conservation of European Wildlife and Natural Habitats), soprattutto in Gran Bretagna. Attualmente, il governo britannico, tramite la compartecipazione fra UK Squirrel Accord e Defra (Department for Environment, Food & Rural Affairs) sta finanziando un progetto sullo sviluppo di un contraccettivo orale che svolga un'azione specifica nella riduzione della fertilità dello scoiattolo grigio. La tecnica del controllo della fertilità sembra essere più efficace nel lungo termine e gode di un ampio sostegno da parte dell'opinione pubblica, che la preferisce nettamente ad alternative più drastiche o cruente. Decine di associazioni ambientaliste e/o di settore collaborano alle attività di campo e finanziano azioni di contrasto alla specie invasiva¹.

1.2 Metodi di monitoraggio dello scoiattolo grigio

La gestione delle popolazioni di specie selvatiche si basa principalmente sull'analisi dei parametri demografici, che comprendono la consistenza numerica, la distribuzione spaziale, la densità e le dinamiche di popolazione. Le tecniche di monitoraggio per il conteggio degli effettivi sono specifiche per ciascuna specie e sono influenzate da caratteristiche intrinseche. In generale, fattori quali l'elusività, la bassa densità, l'attitudine notturna e il comportamento schivo possono rendere difficoltose le operazioni di conteggio. Al contrario, specie che mostrano un facile avvicinamento, comportamento diurno, scarsa neofobia e alta contattabilità facilitano i censimenti, consentendo l'impiego di una gamma più ampia di metodi di monitoraggio. Nel caso specifico dello scoiattolo grigio, è possibile implementare diverse tecniche in funzione degli obiettivi da raggiungere.

Di seguito le principali tecniche di monitoraggio utilizzate:

¹ <https://www.northernredsquirrels.org.uk/contact-us/conservation-organisations/>

- a) conteggi visivi da punti di osservazioni e transetti lineari;
- b) hair-tube;
- c) conteggio nidi;
- d) fototrappolaggio;
- e) cattura - marcatura – ricattura

Conteggi visivi da punti di osservazione e transetti lineari

La tecnica prevede due modalità operative: punti di osservazione fissi o percorsi lineari prestabiliti. Questi metodi permettono di osservare direttamente gli scoiattoli nel loro habitat naturale e sono utili per identificare la specie, oltre che per determinare la consistenza e la distribuzione (Gurnell et al., 2001; La Morgia et al., 2018), mentre non sono adatti a stimare la densità (Rahim, 2016). Le tecniche possono essere applicate in diversi tipi di boschi e strutture forestali, ma gli avvistamenti tendono a essere meno accurati in foreste dense, soprattutto quelle di conifere (Gurnell et al., 2001).

Hair-tube

La tecnica prevede la raccolta indiretta di peli tramite il passaggio degli animali attraverso un tubo provvisto di esche alimentari e rivestito di materiale adesivo che cattura una piccola quantità di pelo ad ogni transito. Questo metodo è utile per confermare la presenza di una specie in una determinata area e per valutarne la consistenza e la distribuzione. Tuttavia, la tecnica non è selettiva, poiché diverse specie possono accedere al tubo, richiedendo analisi microscopiche per una corretta identificazione. Non è particolarmente efficace per stimare la densità delle popolazioni. Sebbene sia facilmente applicabile in vari tipi di habitat, può risultare costosa per via dei materiali e dei costi di installazione (Gurnell et al., 2001). In passato era ampiamente utilizzata, mentre oggi è quasi completamente sostituita dalle fototrappole.

Conteggio nidi

Il conteggio dei nidi può fornire un indicatore della presenza e abbondanza degli scoiattoli; tuttavia, stimare la densità delle popolazioni basandosi su questa tecnica può risultare complesso. Inoltre, le similitudini strutturali dei nidi degli scoiattoli grigi e quelli degli scoiattoli rossi sconsigliano l'utilizzo di questo metodo dove le due specie coesistono. Infine, distinguere un nido attivo da uno abbandonato è difficile, soprattutto in foreste dense e in particolare di conifere monospecifiche. Questa tecnica è invece consigliata in arboricoltura da produzione, dove il conteggio risulta più agevole (Gurnell et al., 2001).

Fototrappolaggio

Il progresso tecnologico nella cattura delle immagini, unito alla riduzione dei costi delle apparecchiature, ha reso possibile l'uso delle fototrappole negli studi sulla fauna selvatica. Questa tecnica è utile per rilevare la presenza/assenza di individui e per condurre studi sulla densità delle popolazioni (Beatham et al., 2023b). Le fototrappole disponibili sul mercato offrono diverse caratteristiche, quelle per il monitoraggio degli scoiattoli devono essere di alta qualità e con elevata velocità di scatto, preferibilmente con modalità video/foto, in grado di catturare il rapido movimento degli animali (La Morgia et al., 2018). Per ottimizzare i risultati, le fototrappole vengono generalmente innescate con esche naturali che attraggono gli animali nel campo visivo dell'apparecchiatura, posizionata a una distanza ottimale. Nel caso dello scoiattolo grigio, come descritto da Beatham et al., (2023b), le fototrappole andrebbero collocate a una distanza di 5-10 metri su supporti naturali o artificiali, inclinate di 45 gradi verso il cumulo di esche, composto da una miscela di semi e frutti secchi. Questo approccio consente di massimizzare la cattura di immagini.

Catture, marcature e ricatture

I metodi di monitoraggio basati sulla cattura, marcatura e ricattura sono ampiamente impiegati negli studi sulla fauna selvatica, in particolare per stimare la densità delle popolazioni (Ricker, 1948). Gli animali vengono catturati utilizzando gabbie

specifiche, marcati con etichette *ad hoc*, che possono includere marcatori fisici come orecchini o tatuaggi, e successivamente rilasciati nel loro habitat per il monitoraggio. Una seconda campagna di cattura consente di ricattare una parte degli individui, permettendo di confrontare il numero di animali ricatturati con quello degli animali catturati una sola volta. Questo approccio consente di stimare la densità della popolazione attraverso il metodo di Lincoln-Petersen (Figura 5) applicabile a popolazioni chiuse (senza immigrazione o emigrazione) e perfezionabile considerando anche popolazioni aperte (Brownie & Robson, 1983; Pledger et al., 2003).

$$T = \frac{C1 \times C2}{M2}$$

Figura 5. Equazione di Lincoln-Petersen adottata per stimare la densità delle popolazioni tramite la tecnica di cattura marcatura e ricattura. C1= esemplari della specie target catturati e rilasciati nella prima sessione; C2= totale degli esemplari della specie target catturati nella seconda sessione; M2= esemplari catturati nella seconda sessione in possesso di marcatura; T= totale dei soggetti stimati della popolazione.

La marcatura può includere anche l'impiego di specifiche strumentazioni per il monitoraggio degli spostamenti. L'uso di radiocollari per il tracciamento VHF (Very High Frequency) o dispositivi GPS (Global Positioning System) è comune nel monitoraggio degli scoiattoli, permettendo di determinare gli home range degli individui (Connolly, 1979; Stevenson et al., 2013; Lawton et al., 2016). Un'altra tecnica frequentemente utilizzata è l'impiego di Pit-tag, particolarmente utile negli studi sul comportamento alimentare (Beatham et al., 2021; Tiberi et al., 2024).

1.3 Metodi di controllo dello scoiattolo grigio

La crescente necessità di mitigare il conflitto uomo-fauna selvatica richiede sforzi di gestione importanti, soprattutto in ottica di un aumento progressivo di animali in aree densamente popolate. Il contenimento delle popolazioni di specie selvatiche invasive può richiedere interventi diretti, come la soppressione degli effettivi, o indiretti, tramite il controllo della capacità riproduttiva. Tra le tecniche di soppressione più comuni si annoverano l'abbattimento (con sparo; cattura ed eliminazione; avvelenamento) e

l'introduzione di predatori. Quelle indirette includono la sterilizzazione chirurgica, gene drive e la contraccezione.

1.3.1 Soppressione degli effettivi

Abbattimento

L'uccisione diretta degli animali rappresenta una strategia valida alla riduzione degli animali. Nel caso degli scoiattoli grigi può essere effettuata attraverso l'attesa e lo sparo ai punti di foraggio, o tramite la cattura e la soppressione. In Gran Bretagna, fino all'anno 2014, era concessa la distribuzione di esche contenente veleno (Warfarin) che invece è stata sospesa per ragioni legate a casi di avvelenamento secondari e a problemi di rischio per la salute pubblica. L'uccisione è una tecnica di controllo efficace nell'immediato, ma nel lungo periodo risulta inefficace in quanto richiede una elevata quantità di lavoro, è costosa ed è soprattutto considerata eticamente inaccettabile dall'opinione pubblica che preferisce tecniche gestionali alternative che risultino meno cruente (Lawton, 2003; Mayle & Broome, 2013, Dunn et al., 2018). L'attività di abbattimento con sparo, in particolare, non gode di un ampio consenso pubblico e rappresenta un dispendio economico importante dato che necessita di operatori formati e qualificati. La tecnica consiste nell'attesa degli scoiattoli ai distributori di alimento con diretto abbattimento tramite arma ad aria compressa o da fuoco di piccolo calibro (cal. 22). Sono ammessi in alcune situazioni anche i comuni fucili da caccia a pallini. Invece, l'attività di trappolaggio ed eutanasia, sembra essere più tollerata dall'opinione pubblica ma richiede comunque uno sforzo economico importante per i costi associati all'acquisto del materiale (gabbie, supporti, teli oscuranti, cinghie, fasce ed esche) e al lavoro di installazione e di revisione periodica (giornaliera). Le trappole sono a funzionamento meccanico, devono essere ispezionate almeno 2 volte al giorno per garantire il benessere animale ed il rifornimento di esche (solitamente mix di frutti secchi, semi oleosi, burro di arachidi, pasta di nocciole o mais). Inoltre, a cattura avvenuta, gli scoiattoli devono essere abbattuti, azione che richiede personale altamente specializzato. L'eutanasia può avvenire per mezzo di gassificazione con CO₂ in apposite camere o crudelmente con colpo secco

alla nuca con un oggetto contundente. Nel Regno Unito è stato stimato che l'uccisione di un individuo costa in media £ 60/capo².

Introduzione di predatori

L'introduzione della martora (*Martes martes*), un mustelide specializzato nella predazione di piccoli mammiferi, sembra esercitare una pressione predatoria più elevata sugli scoiattoli grigi rispetto a quelli rossi (Sheehy et al., 2018). Questo fenomeno è riconducibile alla coevoluzione tra preda e predatore, che ha determinato strategie adattative specifiche. Studi sull'espansione territoriale dello scoiattolo grigio suggeriscono che la sua colonizzazione possa essere rallentata o impedita in aree già consolidate dalla presenza della martora (Sheehy & Lawton, 2014). L'introduzione di predatori, sebbene possa sembrare una soluzione per il controllo delle popolazioni invasive, richiede una pianificazione accurata poiché comporta rischi ecologici significativi. Tra questi, la predazione su altre specie di interesse conservazionistico che può innescare dinamiche indesiderate e compromettere ulteriormente l'equilibrio degli ecosistemi.

1.3.2 Riduzione della capacità riproduttiva

La crescente necessità di mitigare il conflitto uomo-fauna selvatica richiede sforzi di gestione importanti, soprattutto in ottica di un aumento progressivo di animali in aree densamente popolate.

La riduzione della capacità riproduttiva rappresenta una strategia efficace di lungo termine nel controllo della fauna selvatica (Massei & Cowan, 2014), soprattutto quando è combinata con altri strumenti di intervento (es. abbattimento) (Croft et al., 2021). Inoltre, il controllo della fertilità, sebbene presenti ancora alcuni limiti di applicabilità, gode dell'appoggio dell'opinione pubblica (Dunn et al., 2018; Massei & Cowan, 2014).

² <https://s3-eu-west>

[1.amazonaws.com/media.squirrelaccord.uk/2019/11/UKSA_fertility_control_research_FAQs_November_2019_-_research_-_UK_Squirrel_Accord.pdf](https://s3-eu-west-1.amazonaws.com/media.squirrelaccord.uk/2019/11/UKSA_fertility_control_research_FAQs_November_2019_-_research_-_UK_Squirrel_Accord.pdf)

Le funzionalità riproduttive possono essere ridotte attraverso metodi invasivi come la sterilizzazione chirurgica o con altri meno invasivi e cruenti che prevedono la somministrazione di sostanze che hanno una azione contraccettiva (Croft et al., 2021; Jacoblinnert et al., 2022; Massei, 2023). La tecnica contraccettiva sembrerebbe essere particolarmente promettente nel contrasto di specie altamente prolifiche, non longeve e a ricambio rapido (Bomford, 1990; Caughley et al., 1992; Barlow et al., 1997). Il principio di base su cui si fonda è l'introduzione nell'organismo animale di sostanze in grado di interagire con la fisiologia dell'apparato riproduttore in modo tale da limitare, bloccare o ridurre la capacità riproduttiva della specie target. Le sostanze hanno un'azione diversa in funzione della composizione, del metodo di somministrazione e della frequenza di assunzione.

Sterilizzazione chirurgica

La sterilizzazione chirurgica è una pratica che può essere applicata a situazioni particolari, in cui la popolazione è concentrata in realtà delimitate come ad esempio un parco urbano. È una pratica inapplicabile a causa degli elevati costi nei casi in cui la popolazione presenta densità elevate, ampia superficie di distribuzione ed è continuamente soggetta a emigrazioni e immigrazioni (Bomford, 1990; La Morgia et al., 2018; Scapin et al., 2019).

Gene drive

Il *gene drive* è una tecnica recente che prevede l'introduzione di animali geneticamente modificati in grado di originare prole di un unico sesso che con il passare del tempo genera popolazioni con *sex ratio* sbilanciate fino ad ottenere popolazioni unisessuali. Questo può essere efficace in specie con alti tassi di riproduzione, ma richiede comunque un tempo iniziale piuttosto lungo e può comportare conseguenze negative ancora non del tutto chiare; pertanto, la sua applicazione richiede ulteriori studi (McFarlane et al., 2018; Campbell et al., 2019; Godwin et al., 2019).

Funzionano stimolando il sistema immunitario a produrre anticorpi specifici che interferiscono a “cascata” nel sistema ormonale che regola la fisiologia della riproduzione. Sono stati ampiamente comprovati gli effetti sia sulla fauna domestica che su quella selvatica (Kirkpatrick et al., 2011; Massei & Cowan, 2014; Pinkham et al., 2022). L'effetto della riduzione della fertilità dipende da alcuni fattori quali la specie, l'età, il genere, la risposta individuale, il metodo di somministrazione e il dosaggio (Miller et al., 2009; Kirkpatrick et al., 2011). Il limite maggiore è legato al metodo di somministrazione che prevede un'iniezione intramuscolare (Massei, 2023). Difatti, l'efficacia di questo metodo dipende dalla possibilità di trattare un gran numero di animali, in particolare femmine fertili, che devono essere preventivamente catturate, procedura che risulta essere laboriosa e limitante nell'applicazione di questo metodo (Bomford, 1990; Massei & Cowan, 2014). Inoltre, la somministrazione ad ogni singolo soggetto risulta impossibile da applicare nelle popolazioni ad elevata densità che presentano un elevato tasso di riproduttività e di elusività (Jacoblinnert et al., 2022, Massei, 2023). Infine, ci sono da considerare anche aspetti legati al benessere animale che è ridotto in condizioni di costrizione e con l'utilizzo di dardi (Kirkpatrick et al., 1990, Turner et al., 1992). Attualmente sono in corso studi sulla somministrazione orale di immunocontraccettivi. Il maggior limite nell'applicazione di questo metodo è rappresentato dalla difficoltà di evitare la degradazione nell'apparato digerente del principio attivo. La digeribilità degli immunocontraccettivi orali pur rappresentando un limite nella contraccizione delle specie target, limita il passaggio dell'effetto a specie predatrici (Massei & Cowan, 2014). Gli immunocontraccettivi più impiegati nel controllo della fertilità in specie selvatiche sono:

- a) inibitori del GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone);
- b) vaccino della zona pellucida (ZP).

I vaccini immunocontraccettivi inibitori del GnRH stimolano una risposta immunitaria contro l'ormone GnRH prodotto dall'ipotalamo che determina una riduzione delle gonadotropine ipofisarie, follicolo stimolante (FSH) e luteinizzante (LH), che a cascata inibiscono l'ovulazione nelle femmine e la spermatogenesi nei maschi (Miller & Fagestone, 2000). Solitamente sono iniettati in combinazione con adiuvanti come il VAc

(Vaccine Adjuvant Compound) o il FAc (Freund's Adjuvant - Complete o Incomplete). Gli adiuvanti sono sostanze che migliorano la risposta immunitaria, stimolando l'infiammazione locale e il reclutamento di cellule immunitarie nel sito di iniezione rendendo l'immunocontraccettivo più efficace. Alla categoria di suddetti vaccini appartiene il GonaCon™ (Mammalian Gonadotropin Releasing Hormone) che è stato progettato per ridurre la fertilità nella fauna selvatica con singole iniezioni. È stata comprovata la sua efficacia a lungo termine con una sola somministrazione in diverse specie animali come ad esempio cavalli selvatici, cervi wapiti e cinghiali (Gray et al., 2010; Levy et al., 2011; Powers et al., 2011; Massei et al., 2012).

Nei vaccini immunocontraccettivi della zona pellucida (ZP), la sostanza introdotta nel corpo dell'animale (solitamente un composto derivato dalla ZP dell'ovulo che è combinato con adiuvanti Vac, FCA, QS-21) stimola una risposta immunitaria contro le glicoproteine della zona pellucida dell'ovulo. Gli anticorpi attaccano questo strato glicoproteico rendendo difficoltosa la fecondazione da parte dello spermatozoo. A questa categoria appartiene il vaccino pZP (Porcine Zona Pellucida) derivato dall'estrazione di proteine della zona pellucida dei suini, che è risultato efficace nella riduzione della fertilità in diverse specie selvatiche (Eade et al., 2009; Kitchener et al., 2009; Kirkpatrick et al., 2009, 2011).

Contraccettivi orali

Questa categoria comprende diverse sostanze somministrate per via orale che possono ridurre la capacità riproduttiva degli animali. Generalmente il contraccettivo viene mescolato a un'esca alimentare che viene ingerita dalla specie target. Per garantire l'efficacia del trattamento è necessaria una somministrazione ripetuta nel tempo (Jacoblinnert et al., 2022; Massei, 2023). Pertanto, è cruciale che il composto, costituito dall'esca e dal contraccettivo, sia resistente al deterioramento e attraente per l'animale. Inoltre, è fondamentale assicurarsi che le esche vengano consumate nelle giuste quantità, così da garantire un'efficacia contraccettiva adeguata a livello di popolazione (Carter et al., 2018).

Attualmente, sono in fase di sviluppo contraccettivi orali a base di steroidi (Zhao et al., 2007; Chen et al., 2022; Selemani et al., 2022; Stuart et al., 2022) e contraccettivi a base di composti chimici (Siers et al., 2020; Faruck et al., 2021; Ray, 2022). Un aspetto cruciale della somministrazione orale è lo studio del comportamento alimentare degli

animali, che riveste un ruolo determinante per il successo della metodologia (Cagnacci et al., 2007; Beatham et al., 2023; Tiberi et al., 2024).

Sono stati testati anche gli effetti di estratti di piante e semi (semi di papaia, alberi di neem e piante di cotone) sulla riduzione della fertilità. La loro azione sembra interessare entrambi i sessi delle specie trattate con l'inibizione della spermatogenesi o dell'estro, l'induzione all'aborto e l'inibizione dell'impiantazione in utero dell'embrione (Jacoblinnert et al., 2022).

Chemosterilanti

Sono sostanze chimiche di differente natura che hanno azione contraccettiva. Hanno un'azione diversa in funzione della tipologia di molecola. Nella fauna selvatica i più utilizzati sono il Diazacon e il VCD (Yoder et al., 2007, 2011; Adedara et al., 2017).

Il Diazacon, noto anche come 20,25-diazacholesterol, è una molecola organica che appartiene alla classe dei composti azasteroidi. La sua azione nel controllo della fertilità deriva dalla capacità di inibizione dell'enzima desmosterol-delta24-reductasi coinvolto nella biosintesi del colesterolo. L'inibizione della sintesi del colesterolo determina a sua volta la riduzione degli ormoni steroidei, tra cui anche quelli che agiscono sulla fisiologia della riproduzione e che sono essenziali per la fertilità sia dei maschi che delle femmine. La perdita di peso, le difficoltà respiratorie e la perdita del controllo muscolare sono tra gli effetti collaterali associati alla sua somministrazione negli uccelli (Yoder et al., 2007).

Il VCD (4-vinilcicloesene diepossido) è una sostanza tossica-sterilizzante che provoca nelle femmine la degenerazione dei follicoli ovarici primordiali mentre altera la normale spermatogenesi nei roditori maschi, con effetti collaterali sul fegato e sui reni (Jacoblinnert et al., 2022). È il componente base del composto registrato come ContraPest® che viene aggiunto in esche liquide per diminuire la fertilità nei ratti (Pyzyna et al., 2018).

Steroidi sintetici e composti chimici

L'esposizione agli steroidi ha mostrato effetti anti-fertilità in entrambe i sessi con modifica dell'utero (ingrossamento, gonfiore, edema uterino), riduzione delle cucciolate nelle femmine e riduzione delle dimensioni dei testicoli, dell'epididimo e della motilità

degli spermatozoi nei maschi (Jacoblinnert et al., 2022). Attualmente, i composti più utilizzati sono il progestinico sintetico Levonorgestrel (P) e l'estrogeno sintetico Quinestrol (E), impiegati sia singolarmente che in combinazione (EP-1). Sebbene abbiano buoni effetti contraccettivi a breve termine su maschi e femmine, l'efficacia dipende dalla specie testata, dal metodo utilizzato e dall'appetibilità delle esche somministrate (Jacoblinnert et al., 2022). Ad esempio, nei lemming di Brandt (*Lasiopodomys brandtii*), la somministrazione di questi composti, o una combinazione di entrambi (EP-1), ha rivelato un'efficacia nei maschi solo con il trattamento E, mentre P ed EP-1 non sembrano avere effetti in entrambi i sessi (Zhao et al., 2007). Uno studio simile ha investigato l'efficacia di questi composti nei topi (*Apodemus agrarius*) e i risultati indicano che sia E che EP-1 sono efficaci nei maschi (Chen et al., 2022). Un altro studio sui ratti neri (*Rattus rattus*) ha mostrato buoni effetti contraccettivi sia sui maschi che sulle femmine, specialmente con dosi di E ed EP-1 a 50 ppm (Selemani et al., 2022). Risultati simili sono emersi dallo studio condotto sui ratti delle risaie (*Rattus argentiventer*) con entrambi i sessi condizionati dall'assunzione di esche trattate (Stuart et al., 2022). I risultati promettenti di questi composti in test di laboratorio lasciano immaginare una loro futura applicazione in campo. Un altro composto oggetto di studio è il Polyacrylate-GnRH Peptide, una combinazione tra il polimero poli(metilacrilato) (PMA) e il peptide dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH). Questo composto è stato testato su topi e maiali utilizzando diversi metodi di somministrazione. Sia la somministrazione tramite iniezione sia quella orale mediante sondino hanno dimostrato di indurre alti titoli anticorpali contro il GnRH (Faruck et al., 2021). Tuttavia, sono necessarie ulteriori indagini per valutare l'efficacia della somministrazione orale attraverso esche.

2. OBIETTIVI

L'obiettivo generale della ricerca, che nasce dal cofinanziamento della borsa di dottorato da parte dell'Università degli Studi della Tuscia e della Regione Lazio, è stato rivolto all'individuazione delle migliori tecniche di gestione e controllo delle specie aliene invasive.

L'obiettivo principale della ricerca è stato quello di identificare i fattori che influenzano l'assunzione delle esche contenenti potenziali contraccettivi orali nella fauna selvatica, al fine di promuovere il controllo della fertilità come strumento efficace nella

gestione delle specie problematiche. Questa parte della ricerca è stata condotta in stretta collaborazione con l'APHA (Animal and Plant Health Agency) del Regno Unito, l'Istituto Botstiber per il controllo della fertilità nella fauna selvatica in Europa e l'Università di York.

Lo studio ha analizzato il comportamento alimentare degli scoiattoli grigi al fine di identificare se le variabili sesso, età e stato riproduttivo, influenzassero l'assunzione delle esche. Sulla base di un comportamento apparentemente simile fra le categorie individuate, è stata condotta anche un'analisi spaziale al fine di verificare se questi fattori ai quali sono stati aggiunti stagione e sito, incidessero sullo spostamento degli animali ai distributori. Per ottenere un quadro completo dei modelli temporali di assunzione delle esche, è stata condotta un'analisi descrittiva per individuare quale periodo dell'anno e della giornata favorisca la loro assunzione. Infine, è stato testato un metodo deep learning per il riconoscimento dello scoiattolo grigio da quello rosso da integrare in sistemi selettivi di distribuzione.

L'attività di ricerca è stata suddivisa in tre studi di cui di seguito sono riportati gli obiettivi specifici.

Lo **Studio #1** analizza l'influenza di fattori sesso, età e stato riproduttivo sul comportamento alimentare degli scoiattoli. In particolare, si esamina come questi fattori influenzano la probabilità che gli scoiattoli assumano una sostanza che simuli il contraccettivo e il loro comportamento relativo all'uso dei distributori, che include la frequenza delle visite, il numero di distributori visitati e il tempo trascorso presso di essi.

Lo **Studio #2** si propone di valutare l'effetto di variabili quali sesso, età, stato riproduttivo, sito e stagione sugli spostamenti degli animali nella ricerca del cibo. Sono state analizzate tre variabili spaziali: superficie totale coperta; distanza totale percorsa; massima distanza percorsa tra i distributori, per capire come ciascuna di esse venga influenzata dai predittori selezionati. Inoltre, l'analisi è stata arricchita con uno studio temporale volto a identificare i modelli di consumo delle esche, al fine di rivelare le diverse attività presso i distributori nel corso dell'anno e durante le ore della giornata.

Lo **Studio #3** è rivolto allo sviluppo di un algoritmo di *object detection* per il riconoscimento delle specie *Sciurus carolinensis* e *Sciurus vulgaris* altamente accurato. L'obiettivo è integrare l'algoritmo nei sistemi automatizzati per la distribuzione e la cattura, con l'intento di superare il problema della bassa selettività delle tecnologie attualmente disponibili.

3. EFFETTO DELL'ETÀ, DEL SESSO E DELLO STATO RIPRODUTTIVO SUL CONSUMO DI ESCE NELLO SCOIATTOLO GRIGIO

Questo studio è stato realizzato durante la permanenza presso il Laboratorio APHA (Animal and Plant Health Agency) di York (UK), e si inserisce nel progetto per lo sviluppo e la distribuzione di un contraccettivo orale specifico per scoiattoli grigi. L'APHA è un'agenzia esecutiva del Defra (Department for Environment, Food and Rural Affairs), il dipartimento del governo del Regno Unito responsabile delle politiche ambientali e rurali. L'agenzia si occupa della protezione della salute e del benessere degli animali, nonché della sicurezza alimentare, prevenendo la diffusione di malattie animali e vegetali. Il progetto (<https://squirrelaccord.uk/fertility-control-research/>), cofinanziato dall'UK Squirrel Accord e dal Defra, ha l'obiettivo di sviluppare e somministrare un contraccettivo orale per la popolazione di scoiattolo grigio.

3.1 Stato dell'arte

Il comportamento e la biologia delle specie target, la demografia della popolazione e l'interazione sociale, la disponibilità di cibo alternativo, il tipo di esca, l'assunzione da parte di specie non target e le condizioni ambientali e meteorologiche sono variabili che possono influenzare l'assunzione delle esche nella attività di monitoraggio/cattura della fauna selvatica (Saunders et al., 1993; Saunders & Harris, 2000; Southey et al., 2000; Christensen et al., 2013).

Nelle specie sociali come il tasso europeo (*Meles meles*), gli individui di un gruppo possono competere per le risorse localizzate, come il cibo presso le stazioni di esca (Cagnacci et al., 2007). Negli scoiattoli della California (*Otospermophilus beecheyi*) è stato osservato che gli individui dominanti monopolizzano le stazioni di esca, con una frequenza di visite più alta nei maschi rispetto alle femmine (Whisson & Salmon, 2009). Anche lo stato riproduttivo può influenzare l'assunzione delle esche come testimonia uno studio condotto nel topo domestico (*Mus domesticus*) dove è stato riscontrato che l'assunzione di esche è più elevata nelle femmine di in allattamento rispetto a quelle che non allattano (Jacob et al., 2003).

Studi sul comportamento intraspecifico confermano che gli scoiattoli grigi mostrano una struttura gerarchica definita (Pack et al., 1966; Mosby, 1969). I fattori che influenzano lo status sociale includono sesso, età e parentela tra gli individui (Pack et al., 1966; Thompson, 1978; Allen & Aspey, 1986, Koprowski, 1996), con i maschi adulti tipicamente dominanti sulle femmine adulte, e gli adulti generalmente dominanti sui subadulti e sui giovani (Taylor, 1966). Nello scoiattolo grigio è stato riscontrato che le visite per l'alimentazione e il numero di stazioni di esca visitate sono più elevati nei maschi rispetto alle femmine (Beatham et al., 2021). Il biomarcatore Rhodamine B può essere utilizzato per determinare il grado di assunzione delle esche a livello di popolazione negli scoiattoli grigi, poiché quando viene consumato, causa la fluorescenza dei peli, rilevabile con un microscopio a ultravioletti (UV) (Fisher, 1973, Beatham et al., 2023). L'assunzione individuale delle esche può essere misurata utilizzando transponder passivi integrati (Pit-tag) applicati agli scoiattoli e monitorati con mangiatoie appositamente progettate, dotate di lettori integrati di Pit-tag (Beatham et al., 2021).

3.2 Materiali e metodi

3.2.1 Area di studio

Lo studio è stato condotto in tre boschi dello Yorkshire, nel nord-est dell'Inghilterra (54°N - 0°W) (Figura 6), nell'inverno 2018 (da dicembre '17 a febbraio '18) e nell'estate 2022 (da giugno ad agosto). Per motivi di privacy i nomi dei boschi non possono essere resi pubblici, perciò, saranno indicati nel corso del lavoro con le sigle SC, HW e PW.

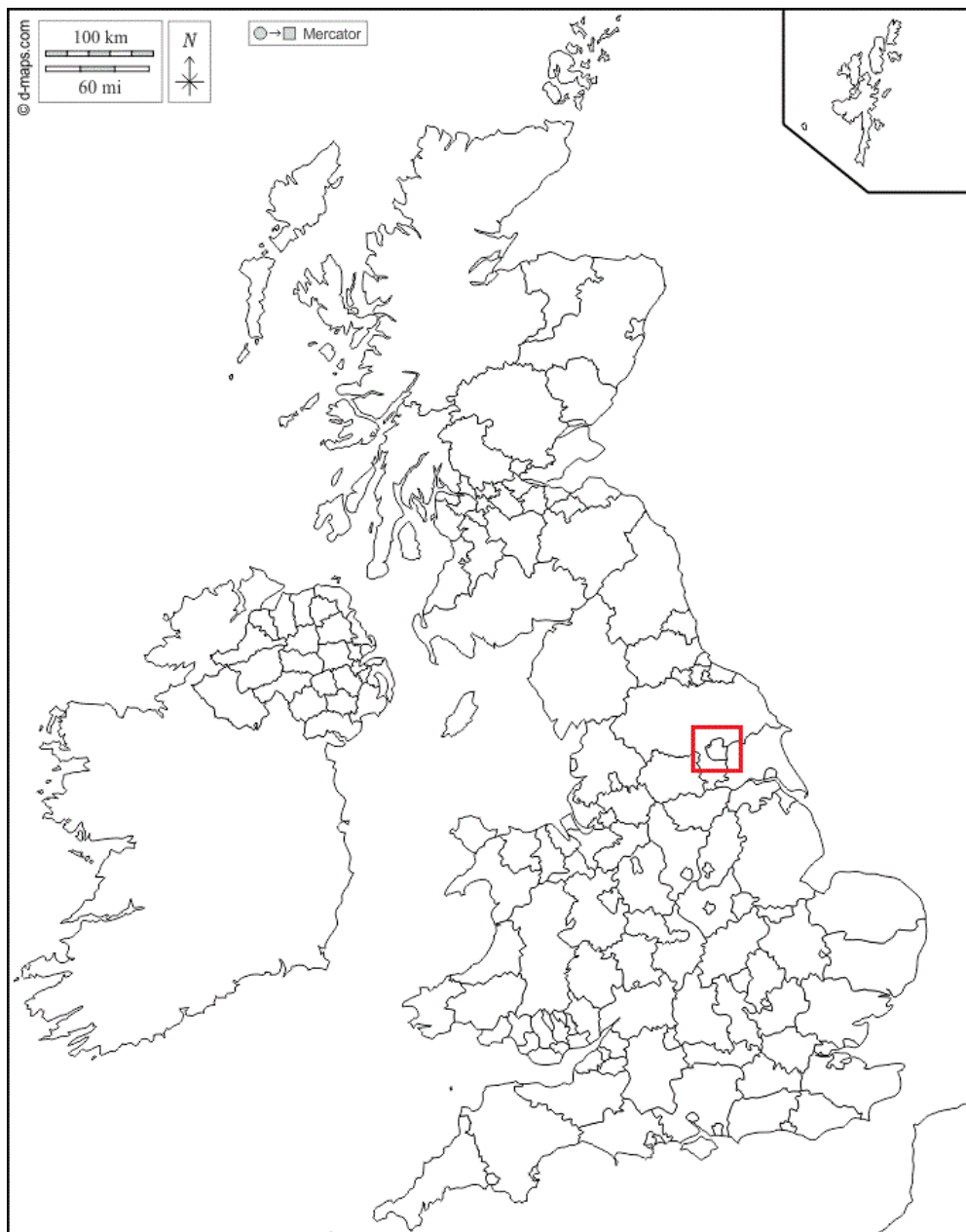


Figura 6. Area geografica del Regno Unito: Yorkshire, sede degli studi condotti.

L'area in cui si trovavano i boschi ha un clima temperato, un'altitudine compresa tra 0 e 50 m sul livello del mare ed è composta principalmente da terreni a pascolo interrotti da piccole aree boschive perlopiù produttive/artificiali.

L'area SC copriva 8 ettari ed era costituita da alberi misti di conifere e latifoglie come *Picea abies*, *Acer pseudoplatanus*, *Carpinus betulus*, *Pinus sylvestris*. L'area PW copriva 7 ettari e aveva una composizione arborea simile a SC, ma includeva anche *Fagus sylvatica* e *Pseudotsuga menziesii*. Infine, l'area HW copriva 8 ettari ed era costituita principalmente da specie di latifoglie, tra cui *Betula pendula*, *Quercus robur*, *Fraxinus*

excelsior e *Acer pseudoplatanus*. Le aree di studio si trovavano a una distanza di almeno 3,8 km l'uno dall'altro ed erano relativamente isolati da altre aree boschive. In Figura 7 sono riportate le 3 aree boschive indagate nella stagione invernale ed estiva.

I boschi sono stati selezionati in base al fatto che erano noti per avere alti livelli di attività degli scoiattoli, erano facilmente accessibili ed erano di dimensioni ed età simili. Il sito SC è stato l'unico studiato durante entrambe i periodi (estate e inverno), tuttavia, la popolazione di scoiattoli è stata completamente rimossa durante il primo periodo in accordo con i proprietari ma il bosco è stato ricolonizzato in breve tempo; pertanto, le due popolazioni sono state considerate indipendenti.

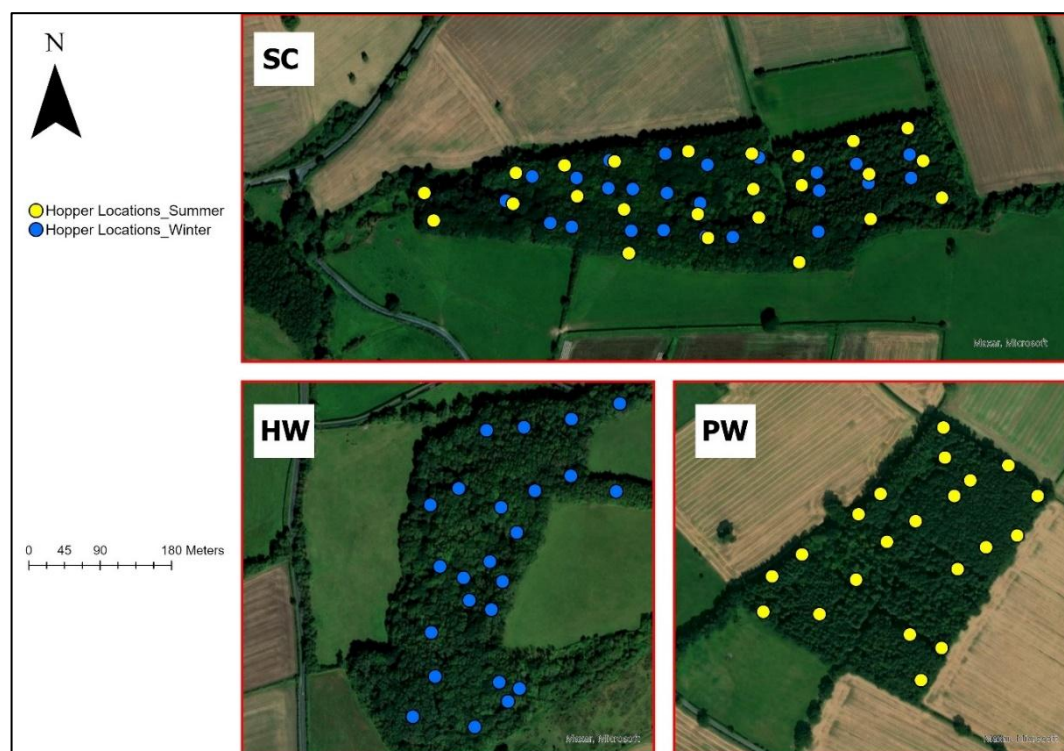


Figura 7. Immagini satellitari dei boschi indagati: in giallo e in blu posizione dei distributori (hoppers) nelle diverse stagioni; giallo – estate / blu – inverno. N.B il bosco SC è stato indagato in entrambe le stagioni.

3.2.2 Catture Pit-tagging

Le trappole del tipo “gabbia a cattura singola” sono state disposte con una densità di 3/ha per ciascun bosco e posizionate su supporto alto un 1 m per renderle maggiormente selettive (Figura 8).

Le campagne di cattura e marcatura (catture Pit-tag) sono avvenute con lo stesso criterio esecutivo sia in inverno (2018) che in estate (2022). Al fine di massimizzare le catture, gli scoiattoli sono stati attirati alle trappole con un mix di semi (arachidi 50%, mais 50% e qualche nocciola). Per garantire il benessere degli animali, il trappolaggio veniva momentaneamente sospeso in condizioni meteo avverse (pioggia intensa, neve, forti venti o temperature sotto i 2°C). La cattura è stata generalmente condotta per giorni consecutivi, dal lunedì al venerdì, e veniva interrotta quando per almeno tre giorni consecutivi si catturava mediamente meno di un animale al giorno.



Figura 8. Trappole per la cattura degli scoiattoli. Modello “gabbia a cattura singola” adescate con mix di semi e frutti secchi e collocate su supporto.

Seguendo una procedura standard e avvalendosi di una postazione temporanea, gli scoiattoli catturati sono stati anestetizzati con isoflurano tramite una macchina anestetica portatile e una maschera (Figura 9). Sotto anestesia, sono stati sottoposti a un controllo sanitario e dotati di un Pit-tag (Identichip®, York, UK) con codice identificativo che veniva inserito sottocute a livello della collottola.



Figura 9. Unità mobile installata per l'anestesia degli scoiattoli.

3.2.3 Utilizzo degli hoppers per la somministrazione delle esche

In ciascun bosco, entro due settimane dalla marcatura con Pit-tag, ogni trappola è stata rimossa e sostituita con un distributore di esca specifico per gli scoiattoli denominato “hopper”. Gli hoppers sono stati disposti in ciascun bosco con una densità di 3/ha (21-24 in totale) collocati sugli stessi supporti delle trappole. Un hopper è sostanzialmente una scatola di alluminio di dimensioni $10 \times 10 \times 55$ cm che presenta all'interno un compartimento per l'esca a cui gli animali possono accedere dopo il sollevamento di una porta. Ogni distributore era dotato di un lettore di Pit-tag per registrare la data e l'ora in cui ogni animale precedentemente marcato visitava l'hopper (Beatham et al., 2021).

L'azione di lavoro degli *hoppers* è stata divisa in fasi di “pre-esca” e fase di “monitoraggio”. Durante la fase di pre-esca, della durata di una settimana, i distributori sono stati riforniti giornalmente e per i primi 5 gg con circa 40 g di pasta di nocciola e la porta del distributore è stata tenuta aperta con un sostegno per incoraggiare le visite (Figura 10). La scelta di utilizzare la pasta di nocciole come attrattivo è dovuta alla maggiore accuratezza nella misurazione delle quantità somministrate e all’annullamento del fenomeno dell’accumulo di semi, notoriamente popolare fra le specie di scoiattoli terricoli (Fitch, 1948; Marsh, 1994).



Figura 10. Hopper aperto in fase “pre-esca”.

Alla fase di pre-esca è seguita quella di “monitoraggio” vera e propria dove le porte dei distributori sono state chiuse per costringere gli scoiattoli a sollevarle per accedere all'esca. La raccolta dei dati sulle visite è stata valutata con i record dei Pit-tag e ha avuto una durata di cinque giorni, dalle 12.00 del 1° giorno alle 12.00 del 5° giorno (tempo effettivo di lavoro 96 h). Il sistema Pit-tag consente di registrare la visita dell’animale taggato ma non fornisce indicazioni sulla reale assunzione dell’esca. Per ovviare a questo problema e confermare l’assunzione dell’esca è stato aggiunto alla pasta di nocciola un biomarcatore, il Rhodamine B (numero CAS 81-88-9, Sigma-Aldrich) nella misura dello

0,18% (peso/peso). L'assunzione di circa 4 g di esca con Rhodamine B consente di incorporare il biomarcatore nella cheratina dei peli che può essere poi rilevato al microscopio UV come bande arancioni/gialli fluorescenti (Figura 11).

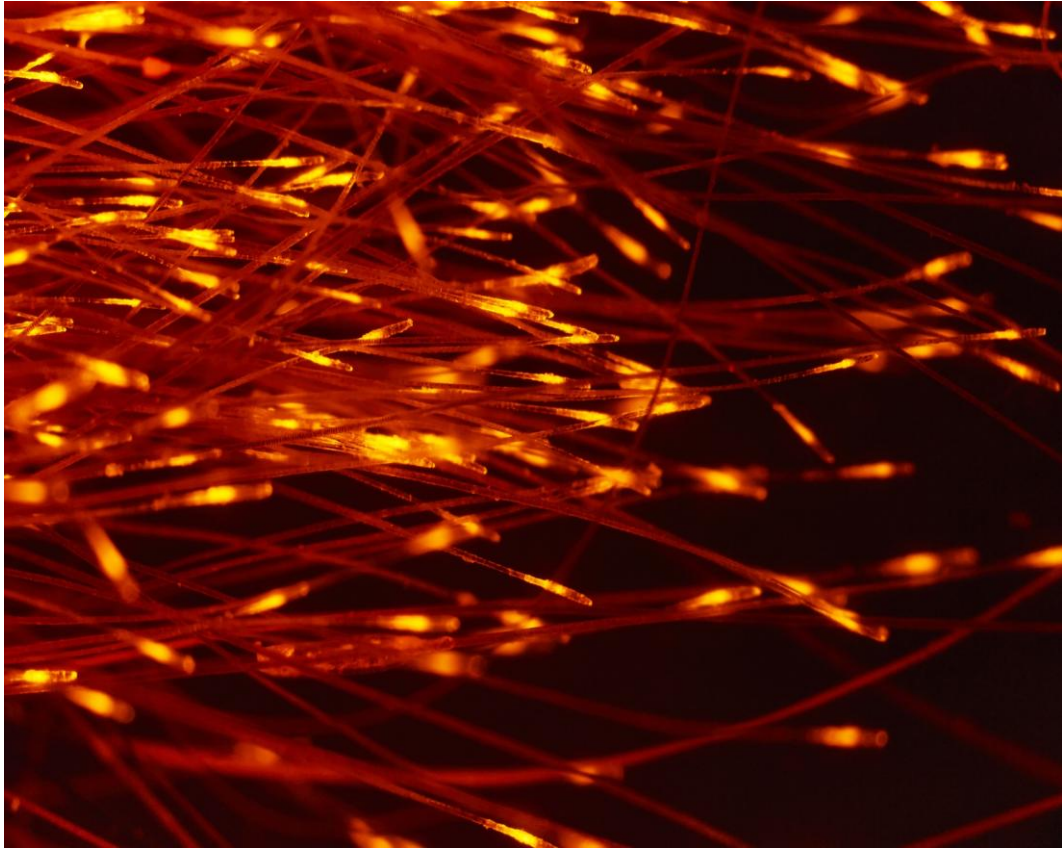


Figura 11. Esame al microscopico in un campione di pelo di scoiattolo grigio positivo alla Rhodamine B.

3.2.4 Cattura, abbattimento degli scoiattoli e campionamento del pelo

In tutte le aree di studio nel periodo successivo di 3-4 settimane alla fase di monitoraggio, il maggior numero di animali sono stati catturati/ricatturati nello stesso modo adottato per la marcatura tag e scansionati dopo l'abbattimento per valutare se fossero dotati di un Pit-tag. La soppressione è avvenuta con tecniche umanamente accettate in conformità dell'Allegato 1 della Legge sugli animali (Procedure scientifiche) del 1986 (Regno Unito). Dagli animali così abbattuti è stata quindi prelevato un campione di pelo (almeno 20 peli) dal fianco dell'animale per la verifica della presenza di Rhodamine B. Le carcasse sono state trasportate in laboratorio e congelate a -20 °C per le successive analisi *post-mortem*.

3.2.5 Classificazione degli scoiattoli

Durante gli esami *post-mortem*, agli scoiattoli è stata assegnata una categoria in base al sesso, età e stato riproduttivo. L'età di ciascuno scoiattolo è stata valutata attraverso l'eruzione, la sostituzione e l'usura dei denti, seguendo il metodo di Hench et al. (1984). Sono state individuate quattro classi di età: A) < 6 mesi; B) tra 6 mesi e 14 mesi; C1) tra 14 e 36 mesi; C2) > 36 mesi.

Lo stato riproduttivo delle femmine è stato valutato sulla base di una combinazione di caratteristiche della vulva e dell'utero. I punteggi della vulva sono stati definiti come: 1 = larghezza < 5mm, nessun gonfiore evidente, rosa pallido; 2 = larghezza 5mm - 7mm, qualche gonfiore, rosa; 3 = > 7mm, molto gonfio, rosa scuro. Lo stato dell'utero è stato definito come piccolo, a forma di nastro, rosa pallido o edematoso, o edematoso con vescicole embrionali, embrioni o feti (Maranesi et al., 2020). La larghezza delle corna uterine (misurata come sezione trasversale del punto medio di un corno) è stata definita come riproduttivamente non attiva se $\leq 2,5$ mm o attiva se $> 2,5$ mm. La presenza di "vescicole vitelline" o placentari che hanno una forma cistica arrotondata con una parete sottile (Alcázar, 2008) testimoniano invece la presenza di una gravidanza. Sulla base di una combinazione dei parametri sopra indicati, le femmine sono state assegnate alle seguenti categorie:

1 – Immaturo o pre-pubere: l'animale presenta una usura dei denti A/B, un punteggio della vulva 1-2, la larghezza del corno uterino < 2,5 mm, l'utero a forma di nastro e rosa pallido (Figura 12a).

2 - Adulto, non attivo riproduttivamente: L'animale presenta una usura dei denti C1/C2, un punteggio della vulva 1-2, la larghezza del corno uterino $\leq 2,5$ mm, l'utero piccolo, rosa scuro e a forma di nastro, l'assenza di edema (Figura 12d).

3 - Adulto, attivo riproduttivamente: L'animale presenta una usura dei denti C1/C2, un punteggio della vulva 1-2-3, l'utero è rotondo, edematoso e rosso sangue, caratteristico di un animale sessualmente attivo (Figura 12b). A volte si osservano vescicole, embrioni e feti che indicano una gravidanza in corso (Figura 12c). Larghezza del corno uterino è $> 2,5$ mm.

Lo stato riproduttivo nei maschi è stato valutato in base al metodo sviluppato da nei seguenti modi (Ferryman et al., 2006): posizione dei testicoli (addominale/scrotale); colore dell'area scrotale (rosa, grigio chiaro, grigio scuro o nero); presenza di peli o

macchie scrotali e periscrotali; lunghezza dei testicoli esterni appaiati. Queste 4 variabili sono state utilizzate per determinare il Visual Breeding Score (VBS) (Ferryman et al., 2006) come indicato in Figura 13.

Sulla base delle suddette variabili, i maschi sono stati assegnati alle seguenti categorie:

1 – Immaturo o pre-pubere: lo scoiattolo non ha raggiunto la maturità sessuale. L'animale presenta usura dei denti A/B. I testicoli possono essere addominali o scrotali. La lunghezza dei testicoli (quando scrotali) è approssimativamente di 1 cm e il colore di solito è rosa/grigio chiaro e completamente coperto di pelliccia. Il valore VBS è 0/1/2. (Figura 13a).

2 - Adulto, non attivo riproduttivamente: gli scoiattoli maschi hanno generalmente un periodo di quiescenza sessuale in estate e una ripresa sessuale (recrudescenza) in autunno. Se la recrudescenza non è prolungata come un singolo picco di attività sessuale, i maschi diventano nuovamente attivi sessualmente in inverno fino a maggio (Dubock, 1979). La recrudescenza e la quiescenza sono caratterizzate da una bassa produzione di sperma con una ridotta dimensione dei testicoli. Durante questi periodi, i testicoli degli scoiattoli sono scrotali o addominali, il colore dello scroto è scuro con una tonalità grigia, la lunghezza dei testicoli esterni è compresa tra 0 cm e 4,4 cm, presenza o assenza di peli scrotali. L'animale presenta usura dei denti C1/C2. Il valore VBS è 2-5 (Figura 13b-c).

3 - Adulto riproduttivamente attivo: i testicoli sono scrotali, lo scroto è di colore scuro con tonalità grigio scuro/nero, assenza di peli scrotali. Il valore VBS è ≥ 6 , confermando un aumento progressivo della concentrazione di spermatozoi e della capacità riproduttiva, la lunghezza dei testicoli è compresa tra 2,3 cm e 6,5 cm (Ferryman et al., 2006) (Figura 13d). Le procedure sugli animali sono state condotte secondo le normative del Regno Unito. Lo studio ha ricevuto l'approvazione del comitato etico congiunto di APHA e Fera Science Ltd (vedi Dichiarazione Etica – punto 7).

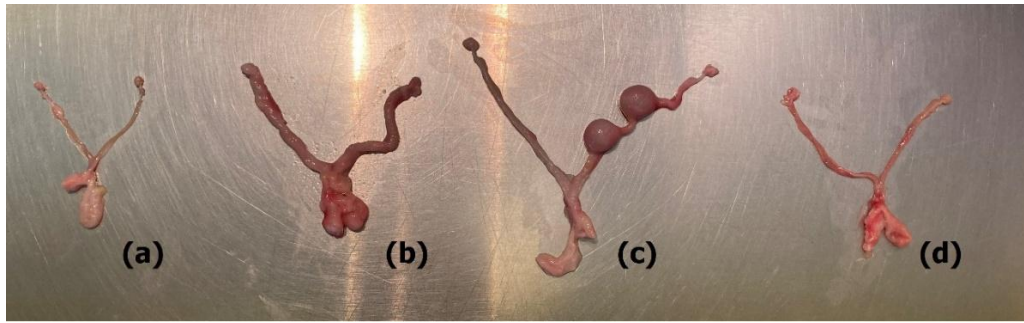


Figura 12. Aspetto dell'utero: a) nastriforme e rosa pallido; b-c) edematoso o con vescicole embrionali, embrioni o feti. d) piccolo, rosa scuro e nastriforme, assenza di edema.



Figura 13. Visual Breeding Score (VBS) de gli scoiattoli grigi maschi catturati e abbattuti (Ferryman et al., 2006) : a = VBS 0: testicoli addominali, scroto assente, presenza di pelo grigio chiaro che ricopre l'area pelvica ; b = VBS 2: testicoli scrotali, il colore dello scroto è rosa, lunghezza dei testicoli scrotali accoppiati fino a 5 cm, colore dei peli scrotali normale ; c = VBS 5: testicoli scrotali, lo scroto è grigio scuro, lunghezza dei testicoli scrotali accoppiati fino a 5 cm, peli scrotali convergenti, radi, la colorazione peri scrotale moderatamente rosata; d= VBS 8: testicoli scrotali, lo scroto è nero, i testicoli scrotali appaiati sono lunghi tra 5 e 6 cm, peli scrotali convergenti scarsi o assenti e colorazione peri scrotale elevata (molto scura)

3.2.6 Realizzazione dei dataset

Dai dati raccolti dai lettori Pit-tag, sono stati estratti due dataset. Il primo set di dati conteneva 174 unità statistiche, scoiattoli catturati a fine studio, catalogati per sesso, età

e stato riproduttivo e relativo esame positivo o negativo alla Rhodamine B. Il secondo set di dati conteneva 94 unità statistiche (scoiattoli dotati di Pit-tag) suddivisi per sesso (F/M) e categorie riproduttiva (1; 2; 3) con relativo: numero di visite; numero di distributori visitati; tempo trascorso negli hoppers, aggregati in 8 periodi di 12 ore nel corso di 5 giorni, (con la registrazione che iniziava alle 12.00 del primo giorno e terminava alle 12.00 del quinto giorno). I dataset possono essere consultati al punto 8 - Materiale supplementare, file denominato “Dataset1.xlsx”.

Il numero di distributori visitati, il numero di visite alimentari e il tempo totale trascorso presso qualsiasi distributore sono stati calcolati per ogni scoiattolo. Una visita alimentare è stata definita come tutti i record Pit-tag rilevati entro 2 minuti consecutivi per lo stesso scoiattolo dallo stesso distributore. Un intervallo di due minuti è stato utilizzato per standardizzare le visite alimentari, poiché gli scoiattoli si spostavano frequentemente dentro e fuori dai distributori all'interno di una visita. Il tempo totale trascorso presso qualsiasi distributore è stato calcolato dal momento del primo record Pit-tag fino al momento dell'ultimo record Pit-tag per quella visita. Nei casi in cui uno scoiattolo veniva rilevato presso il distributore solo una volta, quindi, la durata non poteva essere calcolata, veniva assegnato un tempo minimo di 1 secondo.

3.2.7 Analisi statistica

L'analisi statistica è stata condotta per analizzare l'influenza dei predittori (categorie definite in base a sesso, età e stato riproduttivo – 6 livelli: F1; F2; F3; M1; M2; M3) su 4 variabili di risposta: (1) probabilità di assunzione di Rhodamine B, (2) tempo trascorso negli hoppers, (3) numero di hoppers visitati, e (4) numero di visite di alimentazione. L'intero studio è stato realizzato in ambiente R (version 4.3.1, R Core Team, 2023), interfaccia R studio, utilizzando nimble version 1.0.1 (de Valpine et al., 2017; de Valpine et al., 2023). L'analisi è stata eseguita separatamente per ciascuna variabile dipendente, utilizzando un modello lineare generalizzato (GLM) e un modello misto lineare generalizzato (GLMM) in base all'inclusione di effetti casuali, con approccio bayesiano. Per ogni variabile è stata selezionata una distribuzione appropriata in base ai dati, con una funzione di link idonea, e sono stati impiegati priors non informativi $U(-10, 10)$. La scelta di utilizzare priors non informativi, si è basata sulla

manca di informazioni a priori, lasciando al modello larga capacità interpretativa dei dati. La formula matematica era comune a tutti i modelli:

$$g(y_{i,t}) = \beta_{F1}F1_{i,t} + \beta_{F2}F2_{i,t} + \beta_{F3}F3_{i,t} + \beta_{M1}M1_{i,t} + \beta_{M2}M2_{i,t} + \beta_{M3}M3_{i,t}$$

dove $y_{i,t}$ è la variabile di risposta (e.g. numero di hoppers visitati) per scoiattolo i nel periodo t , regressato utilizzando la rispettiva link function g .

$F1$, $F2$, $F3$, $M1$, $M2$, e $M3$ sono le rispettive categorie, ciascuno con il proprio parametro β_K .

β_K rappresentano i parametri del modello, stimati attraverso la tecnica dell'algoritmo Markov Chain Monte Carlo (MCMC). Per valutare la convergenza del campionatore, sono stati esaminati i traceplot e sono stati monitorati i valori di $\hat{R}$ (con valori inferiori a 1.05 indicanti una buona convergenza), nonché il numero di campioni effettivi (maggiore di 100). Non sono stati rilevati problemi di convergenza in nessuno dei modelli adottati.

Sebbene i modelli fossero strutturati similmente, ogni modello presentava sue particolari caratteristiche. Di seguito:

Il primo modello, utilizzato per determinare la probabilità di assunzione della Rhodamine B, ha utilizzato una GLM con distribuzione bernoulliana ($y_{i,t} \sim \text{Bern}(p_{i,t})$), data la natura dicotomica dei dati (Si/No) e regressato utilizzando link logit. Le unità statistiche considerate erano 174, ed è importante sottolineare che questo modello non ha incorporato una struttura ad effetti casuali, poiché ogni scoiattolo era associato a una singola osservazione. Per la stima dei parametri è stato impiegato il campionatore MCMC con un totale di 10.000 iterazioni per ciascuna catena. Tra queste, le prime 1.000 iterazioni sono state considerate come burn-in.

Il secondo modello, utilizzato per stimare il tempo medio trascorso negli hoppers da ciascun scoiattolo in 12 ore, ha utilizzato una GLM con distribuzione log-Normal ($y_{i,t} \sim \text{lognormal}(\mu_{i,t}, \sigma_2)$) e regressato utilizzando link log. È importante ricordare che anche per questo modello non sono stati inclusi effetti casuali. Tentativi iniziali sono stati fatti per includere una struttura ad effetti casuali nel modello, ma le valutazioni diagnostiche hanno costantemente rivelato indicatori di scarsa performance. I traceplot hanno mostrato un cattivo comportamento di mescolamento, i valori di $\hat{R}$ erano regolarmente ben al di sopra di 1.1 e il numero di campioni effettivi era costantemente

inferiore a 100. Pertanto, si è optato per procedere con la versione del modello che include solo effetti fissi. È importante notare che i dati utilizzati per questo particolare modello includevano solo i casi in cui gli scoiattoli trascorressero del tempo presso i distributori. Gli scoiattoli che non registravano alcun tempo presso i distributori negli 8 periodo di 12 ore, sono stati esclusi dall'analisi. Di conseguenza, i risultati derivati da questo modello sono condizionati al fatto che uno scoiattolo facesse almeno una visita a un distributore. Il campionatore MCMC ha utilizzato un totale di 25.000 iterazioni per ciascuna catena. Tra queste, le prime 2.500 iterazioni sono state considerate come burn-in, applicate a 4 catene. Il terzo e quarto modello, utilizzati per stimare il numero medio di hoppers visitati e il numero di visite alimentari effettuate da ciascun scoiattolo in 12 ore, hanno utilizzato una GLMM con distribuzione di Poisson ($y_{i,t} \sim Pois(\lambda_{i,t})$) e regressati utilizzando link log. In entrambe i casi, nel modello, sono stati inclusi effetti casuali utilizzando l'ID degli scoiattoli, 94 unità statistiche con 752 osservazioni (8 per scoiattolo). Questa struttura ad effetti casuali mirava a tenere conto della variabilità intrinseca e delle dipendenze tra osservazioni ripetute.

Nel modello che valuta il numero di hoppers visitati, il campionatore MCMC è stato eseguito per un totale di 15.000 iterazioni per catena, di cui le prime 1.500 sono state designate come burn-in, ripetute su 4 catene. Analogamente, il modello del numero di visite per l'alimentazione ha utilizzato un totale di 20.000 iterazioni, di cui 2.000 sono state considerate come burn-in, anch'esse ripetute su 4 catene. Nella sezione Materiale supplementare (punto 8) è possibile prendere visione del dataset ufficiale utilizzato (Dataset1.xlsx) e tutti i risultati dell'analisi statistica (Analisi_completa.pdf).

3.3 Risultati

3.3.1 Andamento delle catture

Il numero totale di scoiattoli catturati a fine esperimento (inverno 2018 + estate 2022) è stato di 174. Nell'inverno 2018, 45 dei 77 scoiattoli catturati erano dotati di Pit-tag (24 femmine e 21 maschi). Nell'estate 2022, 49 dei 97 scoiattoli catturati erano dotati di Pit-tag (18 femmine e 31 maschi) (Tab. 1).

Tabella 1. Risultati di tutte le campagne di cattura effettuate nei tre boschi analizzati.

Bosco	Stagione	Catture Pit-tag	Catture finali	Ricatturati con Pit-tag	Ricatturati con Pit-tag agli hoppers
HW	Inverno	21	31	19	18
SC	Inverno	30	46	26	24
PW	Estate	44	47	25	17
SC	Estate	43	50	24	17
	Tot	138	174	94	76

Catture Pit-tag= animali catturati nella prima campagna per collocare i Pit-tag; Catture finali= catture a fine disegno sperimentale. Ricatturati con Pit-tag = aliquota di animali appartenenti alle catture finali in possesso di Pit-tag. Ricatturati con Pit-tag = aliquota di animali pit tag che sono passati per gli hoppers nel periodo di monitoraggio.

Tabella 2. Classificazione degli scoiattoli catturati durante la campagna di impianto dei Pit-tag.

Sito	N° scoiattoli	Femmine	Maschi	Periodo	anno
HW	21	13	8	04/12 – 07/12	2017
SC	30	16	14	06/12 – 21/12	2017
PW	44	24	20	08/06 – 17/06	2022
SC	43	24	19	08/06 – 16/06	2022
Totale	138	77	61	-	-

Tabella 3. Scoiattoli catturati e sacrificati a fine studio (catture finali), suddivisi per sesso e periodo di cattura. Tra parentesi il numero di scoiattoli con Pit-tag, ossia animali ricatturati.

Sito	N° scoiattoli	Femmine	Maschi	Periodo	anno
HW	31 (19)	16 (12)	15 (7)	15/02 – 19/02	2018
SC	46 (26)	22 (12)	24 (14)	19/02 – 07/03	2018
PW	47 (25)	15 (12)	32 (13)	25/07 – 02/08	2022
SC	50 (24)	8 (6)	42 (18)	25/07 – 02/08	2022
Totale	174 (94)	61 (42)	113 (52)	-	-

3.3.2 Risultati delle analisi di laboratorio

In laboratorio, sono state svolte le analisi per la determinazione del sesso, età e stato riproduttivo. A tutti i 174 scoiattoli è stata assegnata la categoria di appartenenza (1-2-3) ed il sesso (F-M) e Rhodamine B (Si/No) (Tab.4).

Tabella 4. Scoiattoli risultati positivi alla Rhodamine B. Il numero in apice indica gli effettivi positivi alla Rhodamine B dotati di Pit-tag rispetto al totale dei positivi della categoria indicata. La terza colonna (#), rappresenta il totale dei soggetti catturati e non dei positivi.

Sito	Stag.	Numero scoiattoli catturati (#)	Numero scoiattoli Rho-positivi	Sesso (F/M)		Cat. 1 (F/M)		Cat. 2 (F/M)		Cat. 3 (F/M)	
HW	Inv.	31 ¹⁹	17 ¹⁵	16 ⁹	15 ⁸	5 ³	3 ²	6 ³	9 ⁵	5 ³	3 ¹
SC	Inv.	46 ²⁶	26 ²²	22 ¹³	24 ¹³	6 ³	6 ⁵	8 ⁵	13 ⁷	8 ⁵	5 ¹

PW	Est.	47 ²⁵	19 ¹⁶	15 ⁶	32 ¹³	-	1 ⁰	9 ¹	17 ⁵	6 ⁵	14 ⁸
SC	Est.	50 ²⁴	24 ¹⁸	8 ⁵	42 ¹⁹	1 ¹	1 ⁰	2 ¹	29 ¹²	5 ³	12 ⁷
TOT		174 ⁹⁴	86 ⁷¹	61 ³³	113 ⁵³	12 ⁷	11 ⁷	25 ¹⁰	68 ²⁹	24 ¹⁶	34 ¹⁷

Cat.1 = Immaturo o pre-pubere; Cat.2 = Adulto, non attivo riproduttivamente; Cat.3 = Adulto, attivo riproduttivamente.
F/M = Femmine – Maschi

3.3.3 Analisi della frequenza agli hoppers

Il 68% (24 femmine e 21 maschi nell'inverno 2018 e 18 femmine e 31 maschi nell'estate 2022) dei 138 scoiattoli taggati nella prima fase sono stati ricatturati e categorizzati per età, sesso e stato riproduttivo (Tab. 5).

Tabella 5. Totale scoiattoli con Pit-tag ricatturati e classificati per categoria.

Sito	Stagione	Totale scoiattoli	Sesso (F/M)		Cat. 1 (F/M)		Cat. 2 (F/M)		Cat. 3 (F/M)	
HW	Inverno	19	12	7	3	1	5	5	4	1
SC	Inverno	26	12	14	4	5	3	7	5	2
PW	Estate	25	12	13	-	-	6	5	6	8
SC	Estate	24	6	18	-	-	2	12	4	6
TOT		94	42	52	7	6	16	29	19	17

Cat.1 = Immaturo o pre-pubere; Cat.2 = Adulto, non attivo riproduttivamente; Cat.3 = Adulto, attivo riproduttivamente.
F/M = Femmine – Maschi

Durante la fase di sperimentazione (monitoraggio), 76 dei 94 scoiattoli ricatturati hanno effettuato un totale di 1.065 visite ai distributori, mentre 18 scoiattoli non sono stati rilevati da alcun distributore, probabilmente a causa di migrazione verso altre aree o di malfunzionamento/smarrimento del Pit-tag.

Il modello non ha rivelato differenze significative tra le categorie di animali considerate nella durata media delle visite che variava da 1 a 6 minuti per scoiattolo nelle 12 ore. Tuttavia, è stata osservata una maggiore variabilità tra gli scoiattoli maschi e

femmine immaturi (Figura 14). Gli scoiattoli maschi immaturi (M1) hanno visitato i distributori 6,41 minuti ogni 12 h (IC 95%: 1,09 – 37,06), seguiti dalle femmine immature (F1) con una durata delle visite di 5,62 minuti ogni 12 h (IC 95%: 0,88 – 34,77).

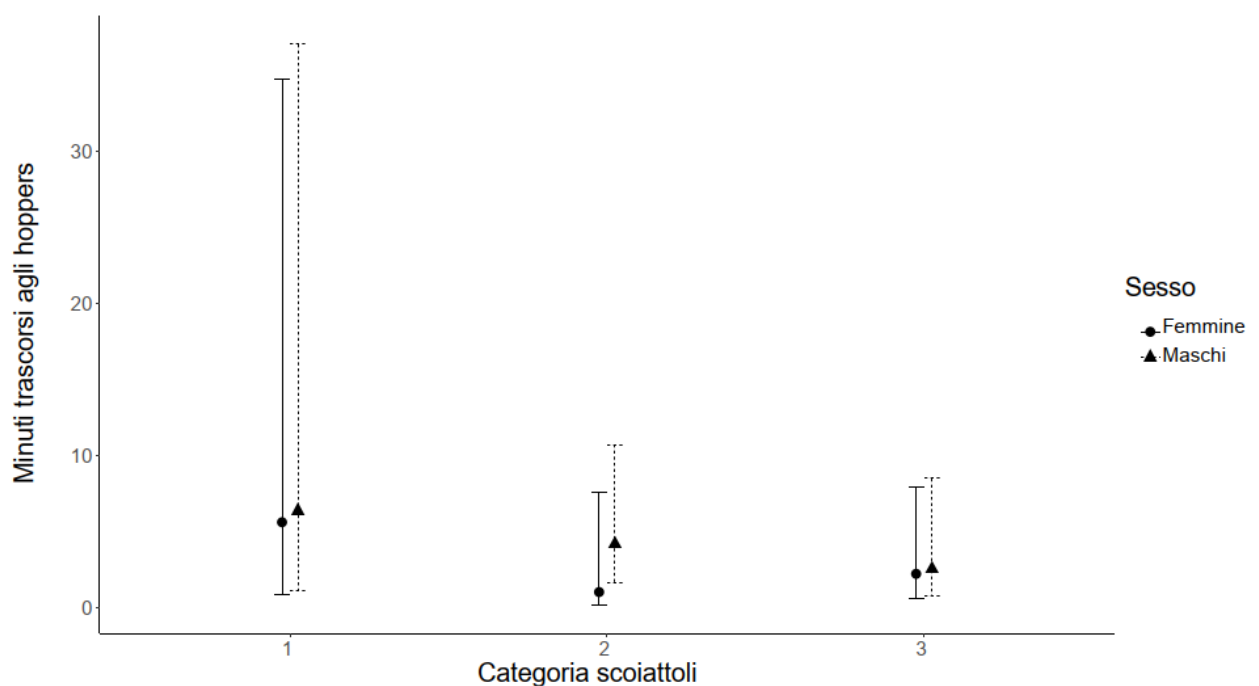


Figura 14. Durata media stimata delle visite ai distributori da parte degli scoiattoli grigi nell'arco di 12 ore, con IC al 95%. Le categorie sono state definite per maschi e femmine come segue: 1 = animali immaturi; 2 = adulti non riproduttivamente attivi; 3 = adulti riproduttivamente attivi.

Il numero di hoppers visitati per animale variava tra 0,22 e 1,77 ogni 12 ore (Figura 15) con differenze tra le categorie. Gli scoiattoli maschi immaturi (M1) hanno visitato in media 1,77 distributori ogni 12 h (IC 95%: 0,78 – 4,06), seguiti dalle femmine immature (F1) con una media di 1,21 (IC 95%: 0,54 – 2,53).

La categoria delle femmine non riproduttivamente attive (F2) ha visitato meno distributori con una media di 0,22 (IC 95%: 0,11 - 0,41).

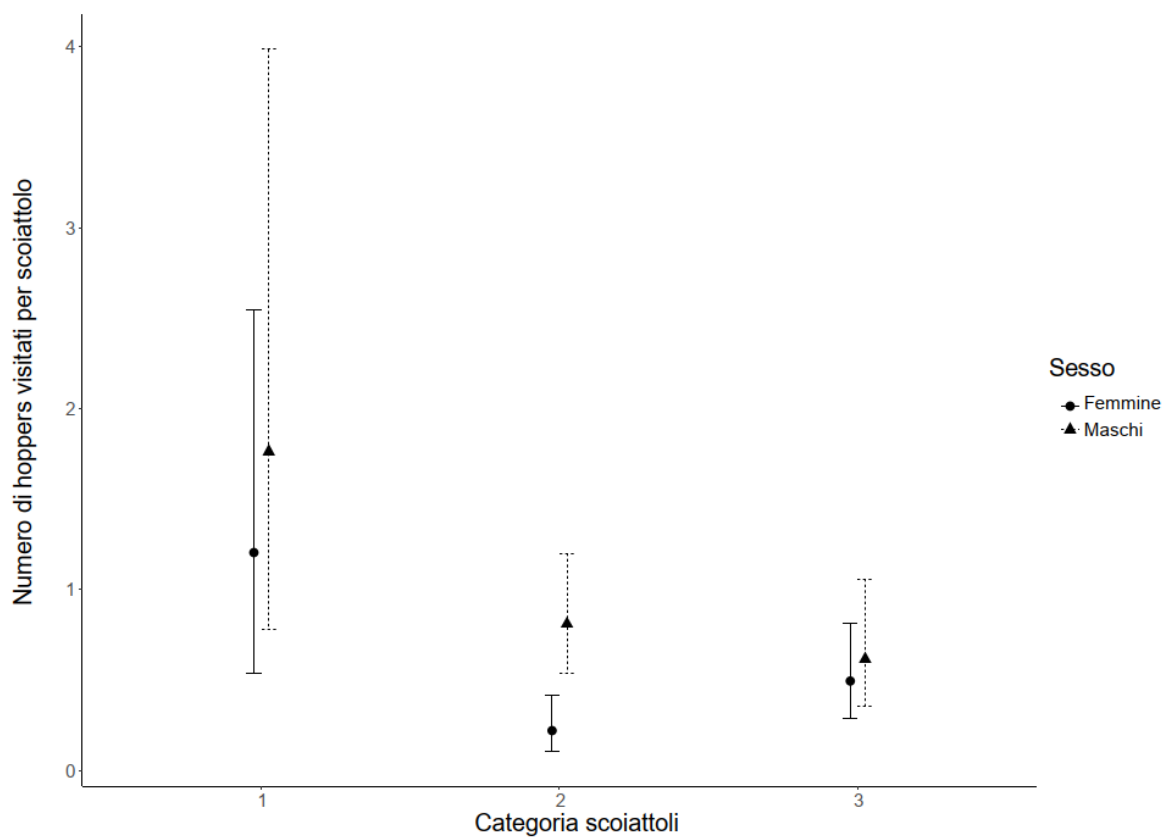


Figura 15. Numero medio stimato di distributori visitati dagli scoiattoli nell'arco di 12 ore, con IC al 95%. Le categorie sono state definite per maschi e femmine come segue: 1 = animali immaturi; 2 = adulti non riproduttivamente attivi; 3 = adulti riproduttivamente attivi.

Il numero di visite di alimentazione variava tra 0,25 e 2,59 ogni 12 ore (Figura 16) ed era più alto nei maschi immaturi (M1) con una media di 2,59 visite ogni 12 h; (IC 95%: 1 – 6,69), seguiti dalle femmine immature (F1) con una media di 1,84; (IC 95%: 0,68 – 4,48). La categoria delle femmine non riproduttivamente attive (F2) ha effettuavano meno visite con media di 0,25 (IC 95%: 0,11 - 0,49).

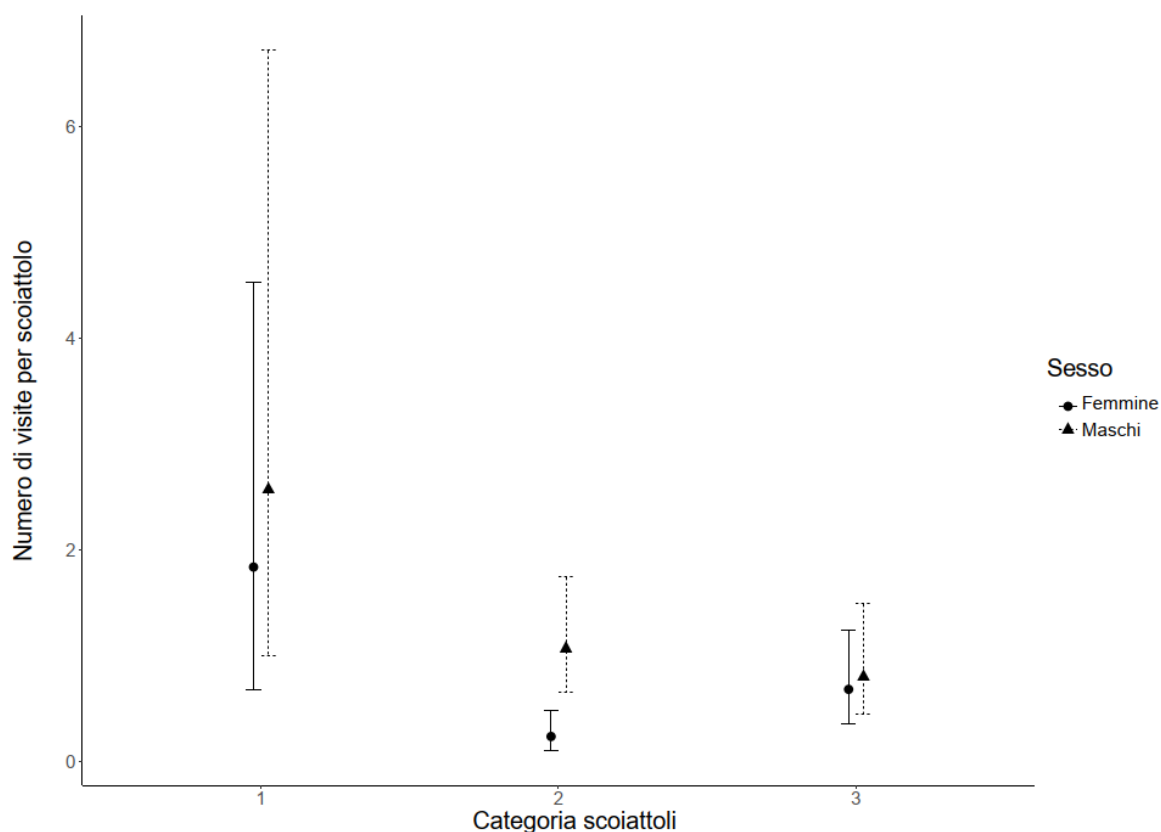


Figura 16. Numero medio stimato di visite ai distributori da parte degli scoiattoli nell'arco di 12 ore, con IC al 95%. Le categorie sono state definite per maschi e femmine come segue: 1 = animali immaturi; 2 = adulti non riproduttivamente attivi; 3 = adulti riproduttivamente attivi.

3.3.4 Consumo dell'esca

Il 49% dei 174 scoiattoli catturati aveva consumato Rhodamine B. Tra le 61 femmine, 33 erano positivi alla Rhodamine B, mentre erano positivi 53 tra i 113 maschi.

L'analisi non ha evidenziato un effetto dell'età, del sesso o dello stato riproduttivo sul consumo dell'esca, con medie comprese tra il 40% e il 67% e con intervalli di credibilità sovrapponibili per tutte le categorie considerate (Figura 17). Tuttavia, è stata registrata una maggiore tendenza da parte delle femmine riproduttivamente attive (F3) ad assumere Rhodamine, con una probabilità di consumo del 67% (IC 95%: 47% – 83%), seguite dai maschi immaturi (M1) con 65% (IC 95%: 35% – 88%) e dalle femmine immature (F1) con 59% (IC 95%: 31% – 83%).

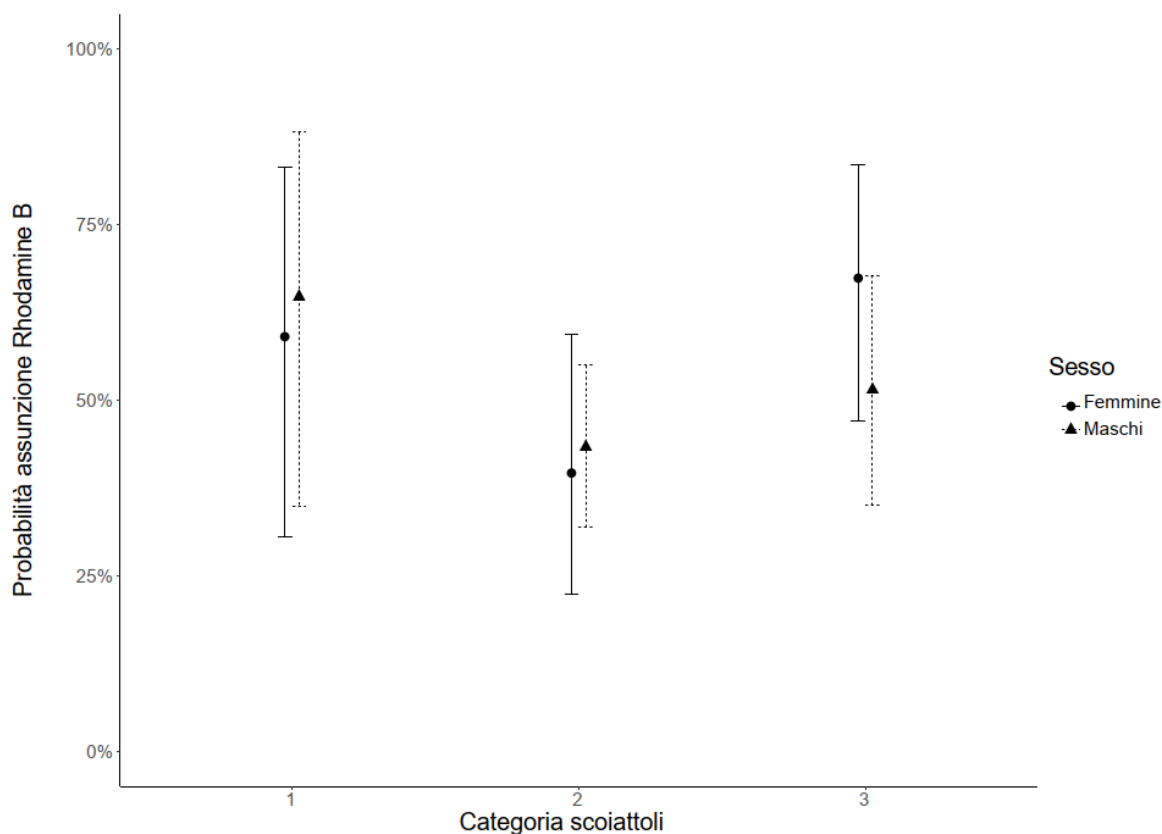


Figura 17. Probabilità media stimata e IC al 95% dell'assunzione di esche da parte degli scoiattoli grigi in base alle rispettive categorie, calcolata rilevando il marcatore Rhodamine B nel pelo degli scoiattoli ricatturati. Le categorie sono state definite per maschi e femmine come segue: 1 = animali immaturi; 2 = non riproduttivamente attivi; 3 = riproduttivamente attivi.

3.4 Discussione

I risultati riscontrati dal presente studio sull'assunzione della Rhodamine B, che simulava la somministrazione di un contraccettivo, suggerisce che nelle condizioni sperimentali circa il 49% delle popolazioni di scoiattoli grigi presenti in tre aree distinte assumeva il farmaco in 5 gg consecutivi di somministrazione libera. Tuttavia, i dati non hanno indicato una categoria di animali in particolare che avesse una maggiore propensione al consumo dell'esca. Questi risultati riflettono quanto già riscontrato dallo stesso gruppo di ricerca (Beatham et al., 2023) in un precedente studio che ha valutato l'assunzione di esche tra scoiattoli grigi maschi e femmine in dieci boschi inglesi. Gli autori hanno impiegato la stessa concentrazione di Rhodamine B nella pasta di nocciola e hanno determinato che uno scoiattolo grigio con un peso corporeo di circa 522 g doveva consumare un minimo di 4 g di esca per ottenere una dose sufficiente di Rhodamine B a

marcare i peli. Alla luce di queste evidenze, è quindi possibile ipotizzare che nel presente studio alcuni scoiattoli non abbiano consumato quantità di esca sufficiente ad assumere la giusta quantità di Rhodamine B. Pertanto, è cruciale stabilire la quantità media di esca ingerita per visita per quantificare l'assunzione effettiva del contraccettivo durante ogni visita. La stima dell'assunzione delle esche potrebbe anche essere stata sottovalutata in quanto si basava solo sugli animali che potevano essere catturati e campionati al termine della prova. Le evidenze provenienti dai dati dei Pit-tag suggeriscono che non tutti gli scoiattoli della popolazione sono stati catturati e campionati. Questa discrepanza potrebbe essere attribuita a fattori come la mortalità degli animali o lo spostamento dall'area tra i periodi di distribuzione dell'esca e di cattura.

I contraccettivi orali di solito richiedono dosi multiple per essere efficaci (Jacoblinnert et al., 2022; Massei, 2023) e alcuni contraccettivi, come ContraPest®, richiedono settimane di assunzione prima di limitare la capacità riproduttiva (Siers et al., 2020; Ray, 2022). In questo caso, è consigliabile distribuire il contraccettivo alcuni mesi prima del picco riproduttivo di una specie. Al contrario, ci sono contraccettivi, come l'EP-1, che hanno un'azione più immediata se somministrati quotidianamente per brevi periodi (Chen et al., 2022; Jacoblinnert et al., 2022). I risultati del nostro studio indicano che approssimativamente la metà della popolazione di scoiattoli trattata riceverebbe dosi multiple di un contraccettivo entro un breve periodo di tempo (5 giorni) indipendentemente dal sesso, dall'età e dallo stato riproduttivo, suggerendo un buon livello di efficacia laddove si utilizzasse un contraccettivo ad azione immediata.

Studi sulla distribuzione dell'esca hanno mostrato che gli individui dominanti possono monopolizzare i distributori escludendo gli animali più giovani (Whisson & Salmon, 2009; Lawton et al., 2016). I risultati di questo studio, suggeriscono che gli scoiattoli immaturi, che potrebbero essere subordinati e meno esperti degli adulti, accederanno comunque alle esche facendo frequenti visite a più distributori, probabilmente come strategia per evitare animali più dominanti. Gli scoiattoli giovani potrebbero anche essere più curiosi e mostrare meno neofobia degli adulti rispetto alle esche e ai distributori, come riscontrato nei ratti norvegesi (Thorsen et al., 2000).

Una delle limitazioni di questo studio, è stata la difficoltà nell'assegnare l'età e lo stato riproduttivo agli scoiattoli, il che potrebbe aver portato a una possibile errata classificazione di alcuni individui. Tuttavia, l'assegnazione degli scoiattoli a ciascuna categoria si basava su una combinazione di indicatori, che dovrebbe aumentare la probabilità di una corretta classificazione. Un'altra limitazione è che i risultati sono stati

estrapolati da un numero limitato di siti di studio e popolazioni di scoiattoli. Pertanto, i risultati sono pertinenti solo alla densità di scoiattoli studiata (tra 3,9 scoiattoli/ha e 6,3 scoiattoli/ha, in base al numero di scoiattoli rimossi) e per la densità di 3 distributori/ha utilizzata in questo studio. Un'altra limitazione dello studio può essere quella di non aver considerato tutte le stagioni. Beatham et al. (2023) hanno trovato che la stagione ha un effetto significativo sull'assunzione di esca. Pertanto, ulteriori prove dovrebbero essere condotte in primavera, estate e inverno per poter valutare l'effetto della stagione nel modello sperimentale.

3.5 Conclusioni

Lo studio ha riscontrato che il consumo di esche dai distributori da parte degli scoiattoli grigi non è influenzato dall'età, dal sesso e dallo stato riproduttivo; quindi, è probabile che la maggior parte degli individui di una popolazione sia influenzata allo stesso modo da contraccettivi, vaccini o altri farmaci somministrati oralmente nelle esche. Inoltre, il presente studio ha dimostrato che è possibile somministrare dosi multiple di un'esca alla maggior parte delle femmine in periodo riproduttivo entro un breve periodo di tempo, 5 giorni, massimizzando così l'efficacia di un contraccettivo orale per la gestione della popolazione di scoiattoli grigi. Questo sistema potrebbe essere adattato per altri piccoli mammiferi e altri scopi di distribuzione dell'esca. Il presente lavoro ha trovato collocazione editoriale sulla rivista scientifica "The Journal of wildlife management" consultabile al link:

<https://wildlife.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jwmg.22687>

DOI: 10.1002/jwmg.22687.

Le pubblicazioni inerenti a questo lavoro sono consultabili anche nella sezione Materiale supplementare (Tiberi et al., 2024 / WFC_Tiberi).

4. UTILIZZO DI MODELLI SPAZIALI E TEMPORALI PER LO STUDIO DELLE ABITUDINI ALIMENTARI DELLO SCOIATTOLO GRIGIO

4.1 Stato dell'arte

Il controllo della fertilità della fauna selvatica rappresenta uno strumento potenzialmente efficace per gestire le popolazioni in sovrannumero. Nella pianificazione di una campagna di distribuzione di contraccettivi, è fondamentale raccogliere quante più informazioni possibili per garantire che un numero adeguato di individui riceva una dose sufficiente, assicurando così una buona efficacia del contraccettivo durante i periodi di massima attività riproduttiva. A tal proposito, è cruciale determinare con precisione la quantità di esca consumata dagli animali in relazione a singole visite, al tempo trascorso per visita, al tempo di visita complessivo giornaliero e nel corso di più giorni consecutivi.

Inoltre, comprendere i modelli di spostamento degli animali alla ricerca del cibo in relazione al tempo e allo spazio può fornire informazioni preziose per una gestione efficace.

Dalla letteratura emerge che il comportamento alimentare degli scoiattoli grigi varia in relazione alla stagione (Beatham et al., 2024) e alla durata delle ore di luce (Thompson, 1978). Studi recenti indicano che la primavera è il periodo in cui le femmine accedono più frequentemente alle esche (Beatham et al., 2024), suggerendo quindi un'opportunità strategica per ottimizzare le campagne di distribuzione di contraccettivi. Tuttavia, ricerche precedenti avevano individuato l'estate come la stagione con maggiore attività agli *hoppers*, basandosi su un'analisi pluriennale condotta in dieci aree boschive durante le stagioni estiva e invernale (Beatham et al., 2023).

Per individuare il periodo ottimale di somministrazione è necessario considerare anche gli aspetti biologici specifici della specie target. Nel caso dello scoiattolo grigio, l'inizio dell'inverno coincide con il primo picco riproduttivo (Hayssen, 2016), rappresentando un momento potenzialmente ideale per la somministrazione di contraccettivi alla popolazione. È quindi fondamentale considerare diversi fattori per definire una strategia di distribuzione delle esche che massimizzi il numero di individui raggiunti e ottimizzi l'efficacia del trattamento in condizioni fisiologiche favorevoli.

Inoltre, poiché gli scoiattoli grigi, come molti altri mammiferi, regolano le loro attività in base al ciclo circadiano, è importante analizzare i *pattern* di assunzione delle esche nelle diverse ore della giornata. In estate, l'attività degli scoiattoli è bimodale, con picchi al mattino e nel tardo pomeriggio; in inverno, al contrario, l'attività è unimodale, concentrata nelle ore centrali della giornata (Thompson, 1978). Identificare gli orari più favorevoli per l'assunzione delle esche è cruciale, in particolare per pianificare interventi di manutenzione sul campo, garantendo che l'interferenza con gli animali sia minima e l'efficacia massima.

Oltre a considerare i ritmi circadiani e stagionali nell'assunzione delle esche, risulta rilevante esplorare anche gli spostamenti spaziali, che influenzano direttamente le strategie di distribuzione dei contraccettivi. La maggior parte degli studi sugli scoiattoli grigi si è concentrata sul comportamento individuale, in particolare sulla determinazione delle dimensioni dell'*home range*. Tuttavia, sono pochi i lavori che hanno indagato i movimenti spaziali in relazione alle esigenze alimentari. Generalmente, queste esigenze vengono soddisfatte all'interno dell'*home range*, poiché la ricerca del cibo contribuisce alla sua estensione (Lawton et al., 2016).

Dalla letteratura emerge che la dimensione dell'*home range*, definito come l'area in cui un animale svolge tutte le attività vitali quotidiane, quali alimentarsi, riposarsi e riprodursi, è influenzata da una varietà di fattori. Tra questi figurano la disponibilità di risorse trofiche, la localizzazione geografica, la densità di popolazione, la struttura sociale, la stagione e la competizione inter e intra-specifica (Tufto et al., 1996; South 1999; Bryce et al., 2002).

Oltre a tali influenze spaziali, i movimenti degli animali nello spazio e nel tempo risentono anche dell'accessibilità al cibo, della presenza di conspecifici, delle condizioni riproduttive, del sesso, della resistenza fisica e delle capacità mnemoniche (Morales et al., 2010). Inoltre, il comportamento sociale, sia a livello di gruppo che individuale, e il periodo riproduttivo incidono sugli spostamenti legati alla ricerca di cibo (McRave et al., 2020).

Studi sui membri della famiglia Sciuridae hanno evidenziato che la maggior parte delle specie condivide l'*home range* con conspecifici (Kenward, 1985; Wauters & Dhondt 1992), ad eccezione di alcune rare specie territoriali, come quelle del genere *Tamiasciurus* (Don, 1983). Per esempio, ricerche sulle interazioni tra lo scoiattolo grigio e quello rosso hanno mostrato un'*home range* maggiore per lo scoiattolo grigio rispetto a quello rosso, con superfici più ampie per i maschi rispetto alle femmine in entrambe le specie (Don,

1983; Koprowski, 1994; Wauters et al., 2002). Nello scoiattolo grigio, la sovrapposizione dell'*home range* con conspecifici è perlopiù marginale e periferica, mentre nelle aree centrali è limitata (Kenward, 1985); tuttavia, si osservano sovrapposizioni tra maschi e femmine (Koprowski, 1996), e l'*home range* varia mediamente intorno ai 5 ha (con variazioni da 0,5 ha a 20 ha) con differenze stagionali pronunciate (Kenward, 1985), con superfici maggiori percorse in estate rispetto all'inverno (Gurnell et al., 2008).

Nonostante la letteratura offra numerosi studi sugli spostamenti degli scoiattoli e sulla determinazione dell'*home range*, mancano informazioni specifiche su come le esche artificiali influenzino i movimenti degli scoiattoli sul territorio. McRae et al., (2020), in uno studio sugli spostamenti dei cinghiali verso stazioni di esche, ha dimostrato che la qualità dell'habitat, intesa come qualità del sito, influisce sugli spostamenti degli animali. La progettazione ottimale della disposizione degli *hoppers*, mirata a massimizzare l'assunzione di esche, rappresenta dunque un obiettivo cruciale per le campagne di distribuzione di contraccettivi negli scoiattoli grigi.

È importante, ad esempio, comprendere i motivi per cui alcune stazioni di esca sono visitate più frequentemente di altre e definire distanze ideali per il collocamento degli *hoppers*. Inoltre, il sesso potrebbe influenzare questi spostamenti, con i maschi percorrere potenzialmente distanze maggiori rispetto alle femmine, a causa del loro comportamento difensivo ed esplorativo (Don, 1983; Koprowski, 1994). Anche i giovani, spesso subordinati agli adulti, potrebbero muoversi su distanze maggiori alla ricerca di cibo, mentre lo stato riproduttivo potrebbe portare a variazioni significative degli spostamenti legati alle esigenze energetiche.

I risultati riportati nel capitolo precedente non hanno evidenziato differenze significative nel numero di *hoppers* visitati in funzione del sesso, dell'età o dello stato riproduttivo degli scoiattoli. Tuttavia, gli scoiattoli della categoria 1 (giovani immaturi sessualmente) hanno mostrato una maggiore probabilità di visitare più *hoppers* e fare un maggior numero di visite rispetto alle altre categorie, suggerendo spostamenti su distanze potenzialmente maggiori.

In questo contesto, l'analisi proposta, che mette in relazione variabili fisiologiche e ambientali con gli spostamenti alla ricerca del cibo, offre spunti preziosi per comprendere meglio l'utilizzo dell'ambiente da parte degli scoiattoli.

Inoltre, lo studio dei modelli di comportamento circadiani può fornire preziose informazioni ai fini gestionali.

L'obiettivo di questo studio è stato quello di analizzare le relazioni tra gli spostamenti alla ricerca del cibo con le variabili fisiologiche (età, sesso, stato riproduttivo), ambientali (sito e stagione) e temporali (giorno e stagione).

4.2 Materiali e metodi

Le analisi sono state eseguite a partire dai dati raccolti come descritto nel capitolo 3.2 che sono stati organizzati a loro volta in due dataset distinti, uno per l'analisi spaziale e l'altro per quella temporale.

4.2.1 Analisi spaziale

Il dataset per l'analisi spaziale è composto dai dati riferiti ai 76 scoiattoli che hanno visitato gli hoppers durante i 5 giorni della fase di monitoraggio. Le registrazioni dei Pit-tag sono iniziate alle 12:00 del primo giorno e sono terminate alle 12:00 del quinto giorno, coprendo un totale di 96 ore. Per ciascuna visita erano disponibili le seguenti informazioni: ID dello scoiattolo, hopper di riferimento, sesso, età, stato riproduttivo, stagione e sito.

Estrazione delle variabili spaziali

Per l'estrazione delle variabili spaziali è stata condotta un'analisi in ambiente GIS (Geographic Information System) con l'utilizzo del software (ArcGIS Pro versione 3.0.1). Le variabili spaziali considerate per ciascuno scoiattolo sono:

- Distanza Totale (TD): stima (in metri lineari) della somma di tutte le distanze percorse fra gli hoppers in ordine cronologico.
- Massima distanza percorsa fra gli hoppers (MOD): definita come la stima (in metri lineari) della distanza massima percorsa tra due hoppers consecutivi, tra tutti gli hoppers visitati.

- Area coperta (AC): stima della superficie coperta (in m²) contenente tutti gli *hoppers* visitati da uno scoiattolo, calcolata con la tecnica del poligono convesso minimo (minimum convex polygon).

A titolo di esempio, sulla procedura adottata per il calcolo delle variabili spaziali, di seguito viene presentato il caso dello scoiattolo identificato con il numero 11100137941. Nella Figura 18 è riportata la cronologia delle visite agli *hoppers* dello scoiattolo in esame. Nella Figura 19 è riportata l'illustrazione grafica delle variabili considerate. La metodica ha previsto in prima battuta la geolocalizzazione degli *hoppers* in ciascun bosco con la creazione di uno *shp* file di punti (Figura 7). A ciascun *hopper* sono state quindi associate le visite di ogni individuo, utilizzando gli *hoppers* come attributi di unione per collegare le informazioni.

Filtrando per ID, è stata ottenuta la distribuzione degli *hoppers* visitati da ciascuno scoiattolo selezionato e per ogni individuo è stata verificata la cronologia degli spostamenti. Sono state calcolate le variabili TD, MOD e AC. La distanza totale (TD) percorsa dallo scoiattolo è stata calcolata seguendo diversi passaggi. Prima, con lo strumento *XY to Line*, è stata creata una linea per ogni spostamento tra due *hoppers* consecutivi. Durante questo processo, è stato utilizzato l'ID dello scoiattolo (PIT-TagID) come campo di raggruppamento, in modo che i segmenti creati venissero associati correttamente a ciascuno scoiattolo. Di seguito, la funzione *Add Geometry Attributes* è stata utilizzata per calcolare la lunghezza in metri di ogni segmento di linea. Infine, per ciascun scoiattolo, i segmenti sono stati sommati per ottenere la distanza totale percorsa attraverso la funzione *Summary Statistics - SUM*. La massima distanza percorsa fra gli *hoppers* (MOD) è stata estratta dai tutti i segmenti percorsi da ciascuno scoiattolo con la funzione *Summary Statistics - MAX*. Infine l'area coperta (AC), è stata calcolata con la tecnica del poligono convesso minimo (minimum convex polygon) mediante la funzione *convex polygon/hull* del pacchetto di strumenti *Minimum Bounding Geometry*.

Le informazioni estratte dal GIS sono state aggregate al database. Per tutti quegli scoiattoli che hanno registrato visite ad un solo *hopper* (11 unità) non è stato possibile calcolare né la distanza né la superficie e pertanto sono stati esclusi dall'analisi, riducendo il numero totale degli scoiattoli nel database a 65. Inoltre, altri 12 scoiattoli hanno visitato solo 2 *hoppers*, impedendo il calcolo della superficie. Pertanto, il numero totale di scoiattoli inclusi nell'analisi per la sola area coperta è stato di 53.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	S	Phase	Seasc	Date	Time	Time peri	Hopper	Ev	TagID_he	PIT-TagID	S	Age (Juvenile/ Adult)	Reproductive status
439	HW	Rhodamine	Winter	11/01/2018	10:33:42	4	HWW1059	228	19D832A253	111001379411	F	A	3
440	HW	Rhodamine	Winter	12/01/2018	8:24:30	1	HWW1014	126	19D832A253	111001379411	F	A	3
441	HW	Rhodamine	Winter	12/01/2018	13:12:41	5	HWW1119	30	19D832A253	111001379411	F	A	3
442	HW	Rhodamine	Winter	12/01/2018	13:22:28	5	HWW1123	89	19D832A253	111001379411	F	A	3
443	HW	Rhodamine	Winter	13/01/2018	14:22:35	5	HWW1014	46	19D832A253	111001379411	F	A	3
444	HW	Rhodamine	Winter	14/01/2018	10:35:36	4	HWW1014	158	19D832A253	111001379411	F	A	3

Figura 18. Ordine cronologico delle visite agli hoppers dello scoiattolo n° 111001379411 (femmina (F) adulta (A) attiva sessualmente (3).

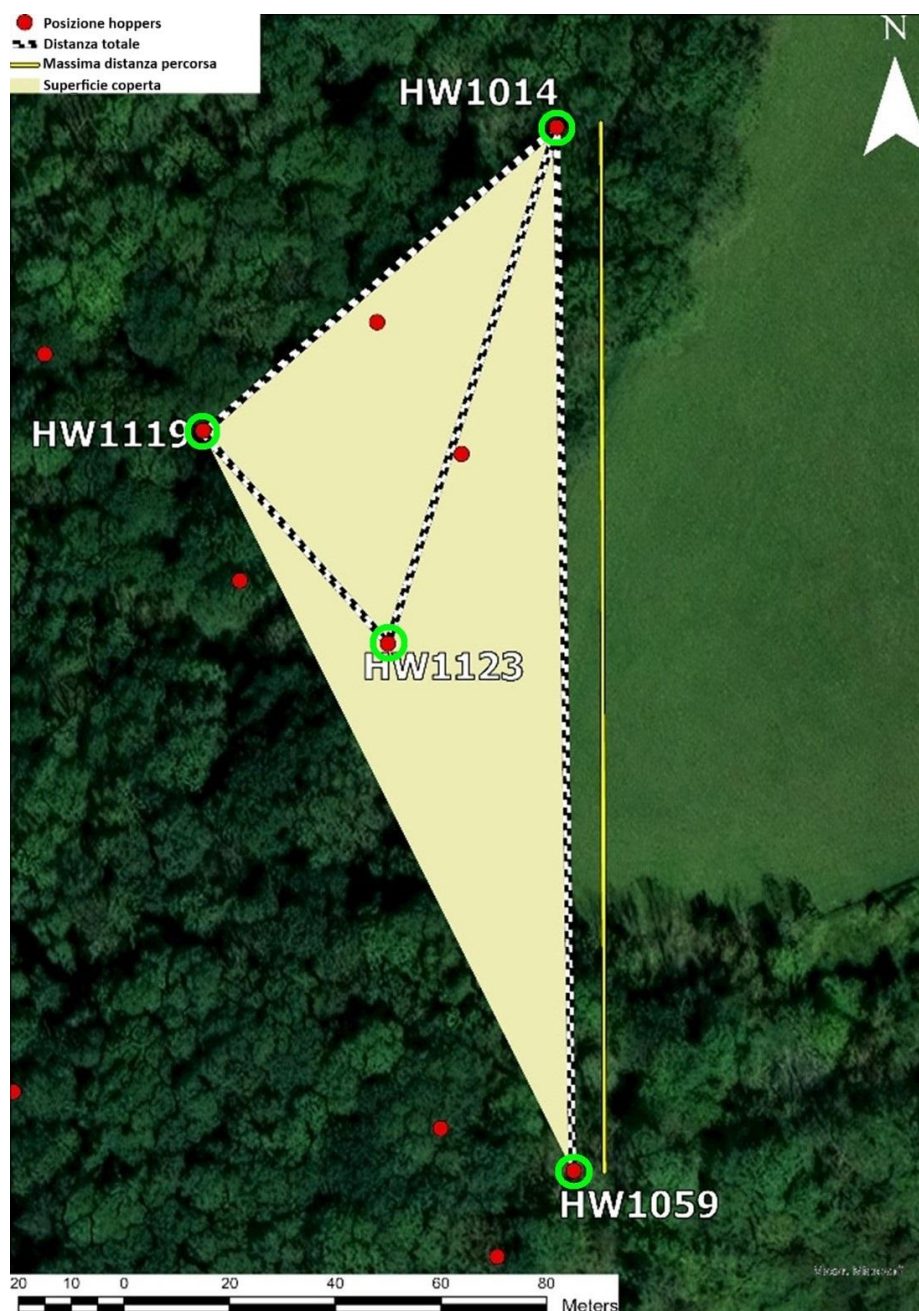


Figura 19. Rappresentazione grafica delle variabili spaziali estratte dal ArcGis per il caso dello scoiattolo 11100137941. (Cronologia degli spostamenti visibili in figura 18). I punti rossi rappresentano la geolocalizzazione degli hoppers. I punti rossi cerchiati di verde rappresentano gli hoppers visitati dallo scoiattolo in esame. La linea tratteggiata nero-bianca rappresenta la distanza totale (TD) percorsa dallo scoiattolo. La linea gialla rappresenta la massima distanza percorsa fra tutti gli hoppers visitati (MOD); Il triangolo color panna rappresenta la superficie coperta (AC).

Analisi statistica

Il database è stato caricato in R (versione 4.2.2) utilizzando l'ambiente di sviluppo interattivo RStudio (versione 2022.12.0). La significatività statistica è stata valutata utilizzando il test F, con un livello di significatività fissato al 95% ($\alpha = 0,05$).

Per ciascuna misura di risposta, ossia la Distanza Totale (TD), la Distanza Massima Osservata tra gli *hoppers* (MOD) e l'Area Coperta (AC), è stato impiegato un modello lineare generalizzato (GLM) con distribuzione gamma e funzione log-link.

La scelta della distribuzione gamma si è rivelata opportuna in quanto le variabili TD, MOD e AC presentavano una distribuzione "spostata a destra", evidenziando una maggiore frequenza di scoiattoli che visitavano *hoppers* a distanze relativamente brevi (100-200 m) nei percorsi individuali e per la distanza totale complessiva (<1 km), suggerendo un raggio di alimentazione relativamente contenuto (0-600 m²).

In ciascun GLM, le variabili di risposta sono state analizzate in relazione a diversi fattori: il sito (3 livelli: HW, PW, SC), la stagione (2 livelli: Estate, Inverno), il sesso (2 livelli: Maschio, Femmina), l'età (2 livelli: Adulto, Giovane) e lo stato riproduttivo (6 livelli: M1, M2, M3, F1, F2, F3), considerati esclusivamente come effetti principali, senza includere termini di interazione. In presenza di un effetto principale statisticamente significativo, sono stati effettuati confronti post-hoc utilizzando il pacchetto *emmeans* (versione 1.10.1), che permette di confrontare le stime osservate (ottenute dai dati) con le stime previste (derivate dal modello).

4.2.2 Analisi statistica descrittiva

Il dataset utilizzato per l'analisi descrittiva coincide con quello impiegato per l'analisi spaziale. In primo luogo, sono state effettuate analisi statistiche descrittive per fornire una panoramica generale degli eventi, tenendo conto sia della stagione sia dell'orario in cui si sono verificati. Le visite sono state suddivise per stagione e, successivamente, è stata calcolata la media.

Per approfondire l'andamento giornaliero delle visite e dei visitatori, la durata del giorno è stata segmentata in fasce orarie di due ore. Le visite complessive registrate, insieme al numero di visitatori osservati nei cinque giorni di analisi, sono state quindi distribuite in base alla fascia oraria di appartenenza.

4.3 Risultati

4.3.1 Risultati analisi spaziale

I modelli sviluppati per l'analisi spaziale hanno mostrato un effetto non significativo per la maggior parte dei predittori. Di seguito sono presentati esclusivamente i risultati dei predittori che hanno mostrato un effetto significativo sulle rispettive variabili dipendenti. Tutti i risultati dell'analisi sono riportati nella sezione Materiale supplementare (Spatial_analysis.docx).

Stagione: il modello ha identificato un effetto significativo della stagione nella previsione AC con gli scoiattoli che coprono in media una superficie maggiore in estate rispetto all'inverno (estimate = 1,39; ratio = 4,04; $p < 0,001$). La media osservata e la media predetta dal modello ($\pm 95\%$ IC) sono riportati in Tabella 6.

Tabella 6. Media osservata e media stimata dal modello (unità di misura in metri quadrati), con relativi valori degli intervalli di confidenza al 95%, relativi alla relazione fra stagione e superficie ricoperta (AC).

Stagione	Osservata (Media [95% CI])	Predetta (Media stimata [95% CI])
Estate	20101,5 [13253,6; 26949,4] m ²	22785,3 [13465,5; 38555,6] m ²
Inverno	7051,2 [5398,2; 8704,2] m ²	5639,3 [4030,7; 7889,9] m ²

Relativamente alla MOD, il modello ha identificato un effetto significativo della stagione, con gli scoiattoli che percorrevano distanze in media maggiori durante il periodo estivo (estimate = 0,81; ratio = 2,26; $p = 0,000048$). La media osservata e la media predetta dal modello ($\pm 95\%$ IC) sono riportati in Tabella 7.

Tabella 7. Media osservata e media stimata dal modello (unità di misura in metri lineari), con relativi valori degli intervalli di confidenza al 95%, relativi alla relazione fra stagione e massima distanza percorsa tra gli hoppers (MOD).

Stagione	Osservata (Media [95% CI])	Predetta (Media stimata [95% CI])
Estate	240,4 [180,3; 300,5] m	238,0 [175,9; 322,1] m
Inverno	138,4 [120,2; 156,6] m	105,0 [85,9; 128,5] m

Il modello ha identificato un effetto significativo dello stato riproduttivo sulla distanza totale percorsa (TD). Nello specifico, la relazione significativa è emersa confrontando femmine attive sessualmente (F3) e machi adulti attivi (M3) e non attivi sessualmente (M2). Nel primo caso il confronto fra F3 e M2 ha riportato il seguente risultato (estimate = -0,92; ratio = 0,39; p = 0.0059), nel secondo caso fra F3 e M3 quanto segue (estimate = -0,87; ratio = 0,41; p = 0,031). La media osservata e la media predetta dal modello ($\pm$ 95% IC) sono riportati in Tabella 8.

Tabella 8. Media osservata e media stimata dal modello (unità di misura in metri lineari), con relativi valori degli intervalli di confidenza al 95%, relativi alla relazione fra stato riproduttivo e distanza totale percorsa (TD).

Stato riproduttivo	Osservata (Media [95% CI])	Predetta (Media stimata [95% CI])
<i>F1</i>	815,3 [384,6; 1246,0] m	716,8 [408,4; 1258,0] m
<i>F2</i>	991,1 [311,9; 1670,4] m	790,1 [410,4; 1521,2] m
<i>F3</i>	458,3 [251,2; 665,5] m	416,4 [280,4; 618,5] m
<i>M1</i>	995,9 [385,4; 1606,3] m	990,1763 [529,5; 1851,4] m
<i>M2</i>	1041,3 [768,1; 1314,5] m	1047,6 [774,8; 1416,5] m
<i>M3</i>	1016,9 [362,4; 1671,5] m	999,3 [655,0; 1524,6] m

F1= femmine immature sessualmente; F2= femmine adulte non attive sessualmente; F3= femmine adulte attive sessualmente; M1= maschi immaturi sessualmente; M2= maschi adulti non attivi sessualmente; M3= maschi adulti attivi sessualmente.

Sempre in relazione alla distanza totale percorsa (TD), il modello ha identificato un effetto significativo del sito, nello specifico nel sito HW è emersa una maggiore attività degli scoiattoli rispetto al sito PW (estimate = 1,08; ratio = 2,95; p = 0,011), lo stesso è stato riscontrato confrontando l'attività fra PW e SC (estimate = -0,64; ratio = 0,52; p = 0,036). La media osservata e la media predetta dal modello ($\pm$ 95% IC) sono riportati in Tabella 9.

Tabella 9. Media osservata e media stimata dal modello (unità di misura in metri lineari), con relativi valori degli intervalli di confidenza al 95%, relativi alla relazione fra sito di studio e distanza totale percorsa (TD).

Sito	Osservata (Media [95% CI])	Predetta (Media stimata [95% CI])
<i>HW</i>	1035,2 [775,2; 1295,2] m	1335,4 [832,3; 2142,5] m
<i>PW</i>	632,8 [297,0; 968,6] m	452,2 [278,3; 734,8] m
<i>SC</i>	933,3 [663,5; 1203,0] m	858,6 [634,0; 1162,6] m

4.3.2 Risultati analisi temporale

Degli scoiattoli dotati di Pit-tag, nella stagione invernale il 93% (42 individui) si è presentato agli hoppers, mentre in estate si è registrato un accesso del solo 69% (34 individui). Il numero di visite avvenute, in termini assoluti, è più del doppio in inverno rispetto all'estate (Figura 20). La media delle visite in funzione della stagione è rappresentata in Figura 21.

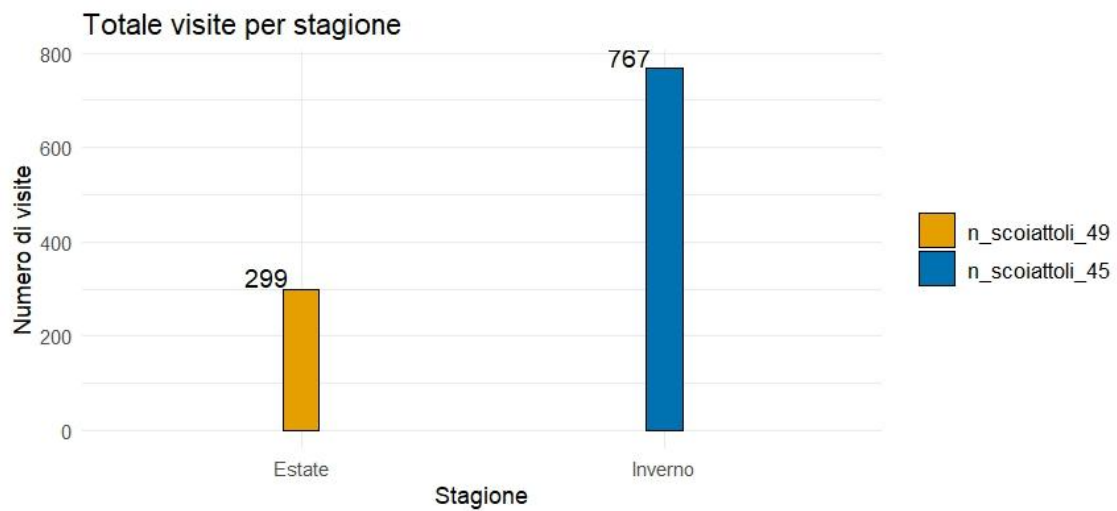


Figura 20. Numero di visite assolute ripartite tra le due stagioni analizzate.

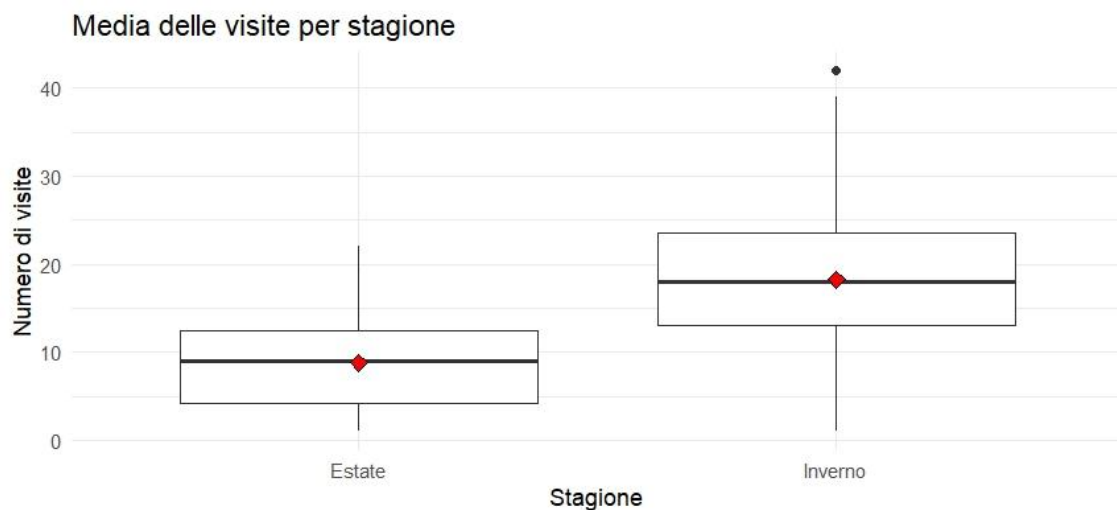


Figura 21. Media delle visite per scoiattolo suddivisa per stagione.

Analizzando la distribuzione delle visite in funzione delle fasce orarie della giornata, è emersa una chiara differenza tra le due stagioni (Figura 22) confermando un comportamento distinto fra estate inverno, con attività unimodale in inverno concentrata nelle prime ore del mattino dopo il sorgere del sole, e attività bimodale in estate con due picchi registrati rispettivamente nella media mattinata e tardo pomeriggio. Inoltre, è stata calcolata e rappresentata la percentuale di scoiattoli che hanno avuto accesso agli hoppers, suddivisa per fasce orarie e per stagione (Figura 23).

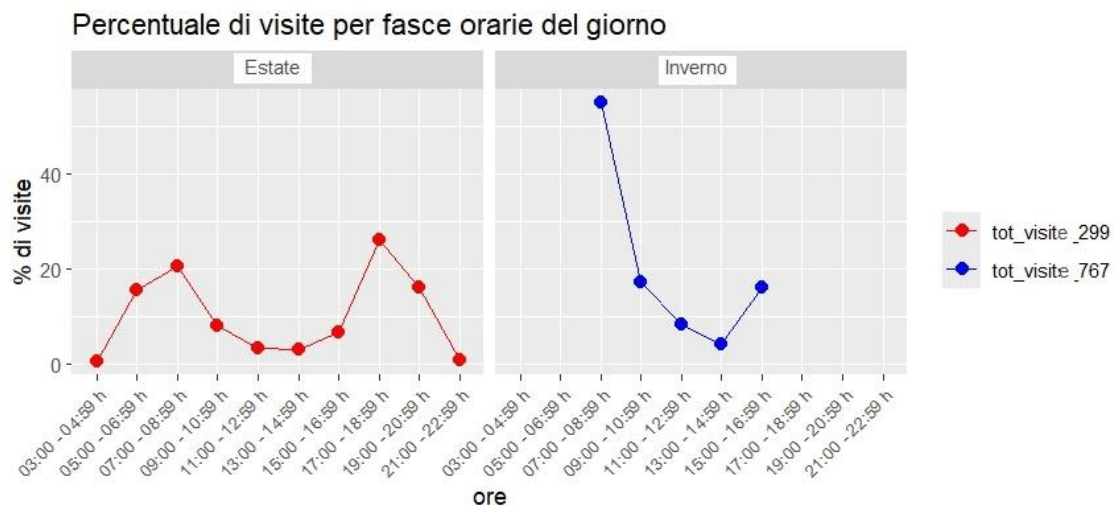


Figura 22. Percentuale del numero totale di visite suddivisa per fasce orarie e per stagione.

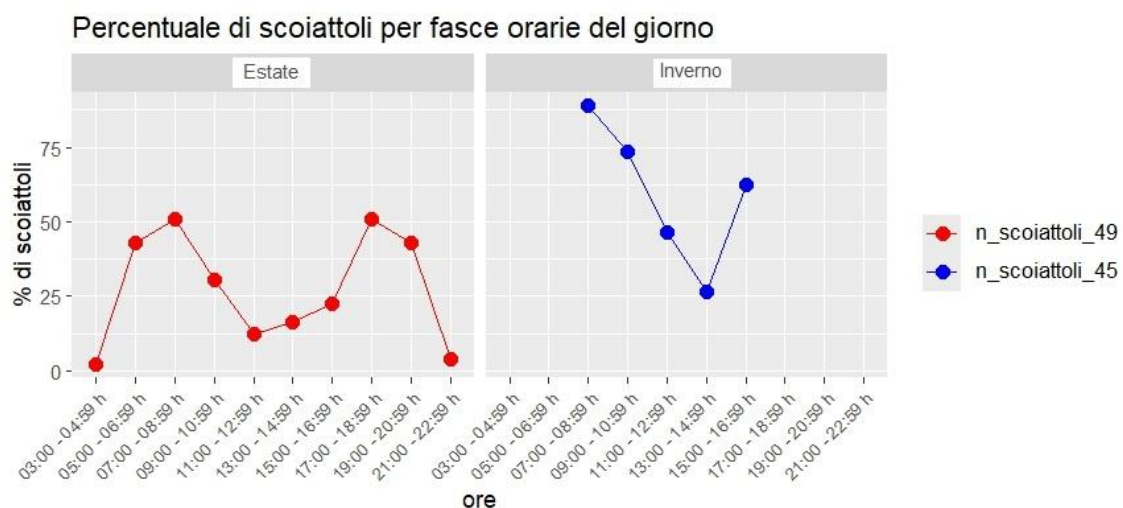


Figura 23. Percentuale di scoiattoli con accesso agli hoppers suddivisa per fasce orarie e per stagione.

In estate, la prima visita è stata registrata alle 4:50 il 1° luglio 2022, mentre l'ultima è avvenuta alle 21:15 il 27 giugno 2022. In inverno, invece, la prima visita si è verificata alle 7:27 il 25 gennaio 2018, e l'ultima alle 16:49 il 22 gennaio 2018. Tutte le visite si sono svolte durante le ore di luce. Gli orari delle visite sono stati confrontati con i dati meteorologici ufficiali relativi al periodo e al luogo di raccolta, disponibili sul sito timeanddate.com, confermando l'attitudine diurna della specie (Wauters et al., 2005).

4.4 Discussione

Il comportamento alimentare degli scoiattoli è stato analizzato considerando sia le variazioni spaziali che quelle temporali.

Dall'analisi spaziale emerge che i movimenti degli scoiattoli alla ricerca di cibo sono influenzati dalla stagione. Il modello ha evidenziato una forte correlazione tra l'area coperta (AC) e la stagione, indicando una attività in estate quattro volte superiore rispetto a quella invernale (media predetta in estate 22785.3 m²; media predetta in inverno 5639.3 m²). I dati indicano che gli scoiattoli coprono aree più ampie durante l'estate, mentre in inverno tendono a spostarsi su superfici inferiori. L'attività invernale in particolare si distingue per un numero elevato di visite a corto raggio, che, se sommate, restituiscono una distanza totale simile a quella osservata durante la stagione estiva, caratterizzata però da spostamenti più lunghi ma meno frequenti. Ne consegue una AC ridotta in inverno e un'assenza di relazione significativa fra distanza totale (TD) e stagione. A supporto di quanto osservato, il modello predittivo per la MOD ha evidenziato un effetto dell'estate per le lunghe distanze percorse. Questo vuol dire che in estate i movimenti sono più a lungo raggio. Probabilmente, per una questione legata all'ottimizzazione del dispendio energetico, gli scoiattoli tendono a ridurre le distanze in inverno, quando il fabbisogno energetico è maggiore (Ducharme et al., 1989) e la disponibilità trofiche alternative sono scarse, attingendo a fonti alimentari altamente energetiche più vicine e sicure. La maggiore attività estiva può essere in parte supportata da una maggiore propensione a "girovagare" per il bosco, trascorrendo più tempo nelle parti superiori degli alberi (Wauters et al., 2002). Questo comportamento può essere attribuito alla loro partecipazione a una varietà più ampia di attività e all'accesso a fonti alimentari diversificate.

Sulla base di questo ragionamento, è possibile concludere che il posizionamento ottimale degli hoppers dovrebbe, almeno nella stagione invernale coprire distanze ideali di circa 100 m.

Per la distanza totale percorsa (TD) e lo stato riproduttivo, è emerso un risultato significativo tra le femmine sessualmente attive (F3) e i maschi adulti (M2-M3). In particolare, la distanza media predetta per i maschi adulti (M2 - 1047 m; M3 - 999 m) risulta essere circa il doppio rispetto a quella delle femmine attive (F3 - 416 m). Sebbene i modelli non abbiano evidenziato significatività in relazione al sesso e all'età, i maschi in generale, in accordo con quanto riportato da Beatham et al., (2021), sembrano essere più attivi rispetto alle femmine.

Secondo la letteratura, i maschi adulti (M2 e M3), indipendentemente dal loro stato riproduttivo, tendono a compiere spostamenti maggiori per vigilare sui propri territori prevenendo intrusioni da parte di individui sconosciuti (Thompson, 1978). Tuttavia, i dati dell'analisi condotta non hanno confermato un maggiore spostamento totale dei maschi adulti rispetto a tutte le altre categorie bensì, è emersa una minore mobilità generale delle femmine sessualmente attive (F3) rispetto a tutte le altre categorie con particolare significatività rispetto ai maschi adulti. Questo comportamento potrebbe essere legato alla necessità di ottimizzare il consumo energetico da parte delle femmine sessualmente attive che, durante il periodo riproduttivo, tenderebbero a spostarsi meno per conservare energia.

Infine, anche il sito sembra avere un effetto sull'attività degli scoiattoli.

Sebbene i boschi studiati fossero pressoché identici per composizione e struttura e distanti meno di 5 km in linea d'aria, risulta comunque difficile attribuire le differenze osservate a caratteristiche specifiche del sito.

Premesso che il comportamento alimentare degli scoiattoli potrebbe, al pari di altre specie, dipendere dalla qualità dell'habitat, la quale influisce sulla motivazione degli animali ad utilizzare le stazioni di alimentazione (McRae et al., 2020), potrebbero esserci molteplici fattori che determinano la diversa TD riscontrata tra i vari siti monitorati. Pertanto, tali risultanze suggeriscono che la diversa attività riscontrata ai distributori nei siti potrebbe derivare da fattori ambientali non considerati come: competizione interspecifica, disponibilità idrica, microclima e da comportamenti intrinseci degli individui quali: tendenze esplorative, gerarchia sociale o predisposizione genetica. Anche la MOD sembra essere condizionata dal sito, probabilmente anch'essa dovuta agli stessi

fattori. Inoltre, sia la TD che la MOD potrebbero risentire di un effetto della stagionalità, non correttamente e adeguatamente considerato come possibile effetto secondario.

Lo studio attuale evidenzia alcune limitazioni nella comprensione degli effetti del sito di studio sui movimenti degli scoiattoli verso i distributori, sottolineando la necessità di ampliare il campo di indagine per ottenere risultati più chiari ed esaustivi. In particolare, sarebbe utile estendere la ricerca a un numero maggiore di siti in tutte le stagioni, includendo una varietà diversificata di strutture forestali.

Dall'analisi stagionale è emerso che la percentuale più alta di scoiattoli che hanno visitato gli *hoppers* si è registrata durante l'inverno, raggiungendo il 93% degli individui, rispetto al 69% osservato in estate.

In termini di frequenza, gli scoiattoli hanno effettuato un numero assoluto di visite più che doppio durante l'inverno rispetto all'estate, con una media di visite per individuo doppia nella stagione fredda. Poiché l'inverno coincide con la principale stagione riproduttiva dello scoiattolo grigio (Hayssen, 2016) e la disponibilità di risorse alimentari nel bosco è più limitata, gli animali sono naturalmente più inclini a frequentare i distributori. Da questo sembrerebbe possibile concludere che l'inverno sia la stagione ottimale per una campagna di distribuzione di contraccettivi. Tuttavia, è importante considerare che i risultati, pur confermando una maggiore attività agli *hoppers* durante l'inverno, si basano su un campione limitato, con osservazioni condotte in soli due siti e due stagioni.

Questo approccio non tiene conto delle possibili variazioni annuali nel comportamento alimentare degli scoiattoli, che possono essere influenzate da fluttuazioni nella produzione di semi e da cambiamenti stagionali (Wauters et al., 2002). Pertanto, per ottenere un quadro più completo dell'andamento stagionale delle visite e della percentuale di scoiattoli che accedono alle esche, sarebbe utile integrare l'analisi con dati primaverili e autunnali, nonché includere più anni consecutivi di studio. Secondo Beatham et al., (2023), uno studio condotto su 10 boschi nell'arco di 3 anni (comprendente 3 inverni e 3 estati) ha rivelato che, contrariamente alle aspettative basate su dati precedenti, la percentuale di scoiattoli con accesso alle esche era più alta in estate rispetto all'inverno. Successivi studi di Beatham et al., (2024) hanno esaminato il comportamento alimentare considerando tre stagioni: primavera, estate e inverno. I risultati hanno confermato che in primavera la probabilità di accesso alle esche da parte delle femmine è risultata la più alta tra le stagioni analizzate. Pertanto, nella scelta del periodo più idoneo per una campagna di somministrazione di contraccettivi, è fondamentale considerare non

solo la percentuale di scoiattoli con accesso alle esche, ma anche diversi altri fattori. Questi fattori includono il numero medio di visite, il tempo medio di permanenza per visita, il numero medio di visite per singolo giorno di somministrazione, lo stato fisiologico degli animali e il principio di funzionamento del contraccettivo utilizzato. Ad esempio, se fosse sufficiente una sola dose per rendere gli scoiattoli infertili, sarebbe opportuno condurre la campagna nella stagione con il maggior numero di animali raggiunti. Tuttavia, se il contraccettivo richiedesse dosi multiple in breve tempo, sarebbe necessario considerare sia il numero di scoiattoli con accesso alle esche sia il numero medio di visite effettuate nel periodo di studio. Infine, se il contraccettivo dovesse essere assunto quotidianamente per almeno 3-4 giorni consecutivi, sarebbe fondamentale determinare il numero medio di visite per ciascun giorno, tenendo conto della loro consecutività.

Dall'analisi degli eventi distribuiti durante le ore della giornata, è possibile confermare un andamento bimodale in estate e unimodale in inverno. Sebbene l'inverno presenti lo svantaggio di condizioni meteorologiche avverse per gli interventi in campo, rimane comunque una stagione prioritaria da considerare, in quanto coincide con l'inizio della principale attività riproduttiva degli scoiattoli (Hayssen, 2016). Le ridotte ore di luce del giorno concentrano, infatti, le attività degli scoiattoli nelle prime ore, lasciando spazio per gli interventi manutentivi (controllo hoppers, rifornimento esche) durante le ore centrali di luce. La fascia oraria invernale tra le 7:00 e le 8:59 ha registrato il 54% delle visite e l'88% dei visitatori. Pertanto, la manutenzione ordinaria dei distributori dovrebbe iniziare a partir dalle ore 10:30, per minimizzare il disturbo e massimizzare l'assunzione delle esche.

4.5 Conclusioni

Questo studio ha analizzato i modelli di comportamento alimentare degli scoiattoli in funzione dello spazio e del tempo. Dall'analisi temporale è emerso che l'inverno è la stagione più indicata per una campagna di distribuzione di contraccettivi, con un numero maggiore di scoiattoli coinvolti e un numero maggiore di visite effettuate.

Sempre in inverno, l'attività degli scoiattoli è concentrata nelle prime ore della giornata. Ciò consente agli operatori di svolgere le attività di campo nelle ore centrali (10:30 - 14:30) senza interferire con il periodo di massima assunzione di esche.

Dall'analisi spaziale, possiamo concludere che gli scoiattoli presentano un comportamento diverso a seconda della stagione, mostrando superfici ricoperte nettamente inferiori in inverno rispetto all'estate. Inoltre, anche la distanza massima percorsa tra gli hoppers è inferiore durante la stagione fredda, il che suggerisce che i distributori dovrebbero essere posizionati su distanze ideali di 100 m.

Per quanto riguarda lo stato riproduttivo possiamo concludere che, in generale, le femmine sessualmente attive si muovono su distanze inferiori rispetto a tutte le categorie esaminate. Questo comportamento suggerisce spostamenti conservativi, orientati all'ottimizzazione del dispendio energetico.

Infine, per comprendere al meglio gli effetti del sito sugli spostamenti degli animali verso gli hoppers, è consigliabile impostare un modello che consideri più siti di studio, diversificati per composizione e struttura forestale, considerando stagione e annualità come termini di interazione.

5. SVILUPPO DI UN ALGORITMO PER IL RICONOSCIMENTO VIDEO DELLE SPECIE DI SCOIATTOLO GRIGIO E ROSSO

5.1 Stato dell'arte

In una campagna di distribuzione di contraccettivi orali è essenziale che l'esca venga assunta esclusivamente dalla specie target. Le esche attualmente disponibili, però, non combinano un'alta appetibilità con una selettività specifica per una singola specie e risultano spesso attrattive per una vasta gamma di animali (Shore & Coeurdassier, 2018). Questo rappresenta un problema rilevante, che solitamente, quando possibile, viene contenuto con metodi di distribuzione mirati (Massei et al., 2010; Massei & Cowan, 2014). La questione della selettività si pone in modo critico nella distribuzione dei contraccettivi per lo scoiattolo grigio. Sebbene i sistemi attuali, come gli *hoppers*, offrano un certo grado di selettività grazie al loro design e alla collocazione su supporti sopraelevati, non garantiscono una selezione efficace in presenza di più specie di scoiattoli (Beatham et al., 2021).

Per esempio, in alcune aree del Yorkshire e in Cumbria, dove gli habitat dello scoiattolo grigio e dello scoiattolo rosso si sovrappongono, è essenziale garantire che solo la specie invasiva possa accedere alle esche contenenti contraccettivi. Questo principio potrebbe essere esteso a una campagna di distribuzione di vaccini contro il paropoxivirus, limitando l'accesso esclusivamente allo scoiattolo rosso e impedendone l'accesso al grigio. Nel progetto di conservazione dello scoiattolo rosso nel Regno Unito, sono in fase di sviluppo distributori meccanici selettivi basati sulla differenza di peso tra le due specie. Sebbene il prototipo dimostri una buona affidabilità, esiste ancora una zona di sovrapposizione non risolta, in cui i pesi delle due specie coincidono (<450 g). Tale sovrapposizione è influenzata da variazioni stagionali, dall'endemicità locale, da condizioni ambientali e dalla crescita fisiologica degli individui (Wauters & Dhondt, 1989; Beliniak et al., 2022).

Le recenti tecnologie di intelligenza artificiale (AI) stanno trovando applicazione in numerosi settori, tra cui sorveglianza, spedizione, diagnostica medica, biologia e commercio (Cheng & Han, 2016; Thombre et al., 2020; Arora et al., 2021).

Una delle principali branche dell'AI è il *Machine Learning* (ML), che si concentra su sistemi capaci di sviluppare algoritmi a partire dai dati di addestramento. In pratica, i modelli creati apprendono dai dati forniti, individuando pattern ricorrenti e utilizzandoli per riconoscere schemi simili in nuovi dati mai visti prima (Alpaydin, 2020). Il *Deep Learning* (DL), una sottoclasse del ML, sviluppa algoritmi complessi grazie all'uso di reti neurali profonde (Goodfellow, 2016).

Oggi, numerosi modelli di DL vengono applicati nella gestione della fauna selvatica per una vasta gamma di scopi, tra cui la classificazione e il riconoscimento delle specie (Eikelboom et al., 2019; Peng et al., 2020; Delplanque et al., 2022), l'elaborazione dei dati delle fototrappole (Choe & Kim, 2020; Moallem et al., 2021; Vélez et al., 2023), il riconoscimento dei dettagli individuali (He et al., 2019; Clapham et al., 2020; Ferreira et al., 2020), il rilevamento delle azioni e dei comportamenti degli animali (Schindler et al., 2021; Van Gils, 2022) e la previsione degli incidenti stradali (Antônio et al., 2019).

Gran parte del lavoro sull'analisi delle immagini provenienti dalle fototrappole è svolto con l'ausilio di modelli di DL, utilizzando reti neurali convoluzionali (CNN) come AlexNet, VGGNet, GoogLeNet, ConvNet e ResNet. Queste architetture sono specializzate nel riconoscimento delle immagini e offrono tempi di analisi ridotti e un'alta affidabilità dei sistemi sviluppati, anche se non sempre raggiungono velocità di processamento ideali (Chen et al., 2014; Villa et al., 2017; Norouzzadeh et al., 2018; Carl et al., 2020; Gousaria et al., 2022).

Nel campo del rilevamento in tempo reale di oggetti, i modelli più utilizzati includono YOLO (You Only Look Once) e Faster R-CNN (Fast Region-based Convolutional Network method). YOLO è un algoritmo di DL che impiega una rete neurale convoluzionale (CNN) per identificare e localizzare oggetti in un'immagine o in un fotogramma video, ed è noto per la sua capacità di eseguire il rilevamento degli oggetti in modo rapido ed efficiente, con prestazioni eccellenti (Redmon et al., 2016; Redmon & Farhadi 2017, 2018; Bochkovskiy et al., 2020). Il successo di YOLO deriva dalla sua efficienza computazionale, grazie a un'architettura single-stage e a un approccio *end-to-end*, in cui localizzazione e classificazione avvengono simultaneamente in un'unica fase. YOLO suddivide l'immagine in una griglia e fornisce simultaneamente i riquadri di delimitazione e le classi di oggetti per ciascuna cella della griglia (Redmon et al., 2016).

Diverse versioni di YOLO sono state sviluppate nel corso degli anni, dimostrando una crescente affidabilità nei risultati (Terven & Cordova-Esparza, 2023). Alcune di queste versioni sono state specificamente impiegate nella gestione della fauna selvatica (Mamat et al., 2022; Li et al., 2023; Lu et al., 2023; Roy et al., 2023).

Il modello Faster R-CNN può offrire una maggiore accuratezza nel rilevamento degli oggetti, ma ha un tempo di inferenza più lungo a causa del suo approccio "two-stages", che suddivide il processo di rilevamento in due fasi distinte (Girshick, 2015; Ren et al., 2016).

YOLOv8 è stato testato sulla fauna selvatica in tre diversi modelli, tra cui YOLOv8m, YOLOv8l e YOLOv8x (Dave et al., 2023). In questo contesto, l'intelligenza artificiale può essere utilizzata per affrontare l'invasione degli scoiattoli grigi. L'approccio suggerito prevede l'impiego di YOLOv8 per sviluppare un algoritmo efficace in grado di identificare con precisione i soggetti appartenenti alle due specie di scoiattoli (grigi e rossi) durante le ore diurne per essere integrato in sistemi di distribuzione automatizzati (e.g: distributori per esche e farmaci) per mezzo di dispositivi "edge" che elaborano il dato direttamente alla fonte di acquisizione, ossia in campo e in tempo reale.

5.2 Materiali e metodi

5.2.1 Architettura di YOLOv8: principio di funzionamento

YOLOv8 è una delle versioni più recenti e avanzate nel campo del rilevamento di oggetti in tempo reale. La sua principale caratteristica è l'elevata precisione e velocità nell'identificazione degli oggetti all'interno delle immagini. Il funzionamento si basa sulla suddivisione dell'immagine in celle, che vengono analizzate simultaneamente dalla rete neurale per classificare e localizzare gli oggetti di interesse.

Quando un oggetto viene rilevato, esso viene identificato tramite una bounding box (BB), accompagnata da un valore di probabilità che indica il livello di confidenza che il modello ha attribuito all'oggetto rilevato. Nel linguaggio YOLO, questa informazione è rappresentata da un vettore a cinque dimensioni, che include la classe dell'oggetto, le coordinate del centro della BB, oltre alla sua larghezza e altezza e il suo confidence score (Ortenzi et al., 2024).

Se in una determinata cella non vengono individuati oggetti, non viene generata alcuna BB, lasciando quella parte dell'immagine neutra. Tuttavia, poiché lo stesso oggetto può essere identificato con più BB sovrapposte, si applica un'operazione di post-elaborazione chiamata Non-Maximum Suppression (NMS). Questo algoritmo elimina le bounding box duplicate, mantenendo solo quella con la probabilità più alta, garantendo un'unica identificazione dell'oggetto.

Grazie a una capacità di elaborazione di 30-50 frame al secondo (FPS), YOLOv8 opera praticamente in tempo reale, con tempi di risposta nell'ordine di 10-30 millisecondi per immagine.

5.2.2 *Importanza del set dei dati di addestramento.*

Per ottenere un buon modello di *object detection* con YOLOv8, e più in generale con qualsiasi sistema di machine learning, è fondamentale una selezione accurata dei dati di addestramento. Un dataset ben scelto consente al modello di identificare pattern rilevanti e di applicare le conoscenze apprese a nuovi esempi in modo efficace, evitando sia il rischio di overfitting (adattamento eccessivo ai dati di addestramento) sia quello di underfitting (un modello troppo semplice per cogliere la complessità del problema) (Alpaydin, 2020; Goodfellow, 2016).

È quindi essenziale che il dataset sia, da un lato, bilanciato, in modo da rappresentare correttamente il fenomeno da modellare, e dall'altro, sufficientemente vario, per evitare squilibri e ridondanze. Un dataset sbilanciato potrebbe infatti portare il modello a sovrarappresentare alcune caratteristiche e ignorarne altre, compromettendo così la sua capacità di generalizzazione.

5.2.3 *Raccolta dati*

La raccolta dei dati è stata condotta in dieci boschi distinti: sette situati nel nord e nord-est dello Yorkshire, Inghilterra (54°N, 0°W); due in Cumbria, Inghilterra (54.5°N, 2.9°W); e uno nel Denbighshire, Galles (53°N, 3°W). I boschi coprono superfici variabili, dai 6 ai 28 ettari, e presentano una composizione e una struttura forestale eterogenea. Tale diversità ambientale si è resa necessaria affinché i dati raccolti potessero essere

rappresentativi di una varietà di habitat in diversi periodi dell'anno. Le foto sono state scattate in periodi diversi e su più anni (dal 2018 al 2024).

Le consociazioni forestali prevalenti erano:

- boschi misti di latifoglie, con prevalenza di specie quali *Betula pendula*, *Quercus robur*, *Fraxinus excelsior*, *Fagus sylvatica* e *Acer pseudoplatanus*;
- boschi misti di conifere, *Picea abies*, *Pinus sylvestris* e *Pseudotsuga menziesii*;
- boschi misti di latifoglie e conifere, che presentano un'associazione di entrambe le tipologie.

La raccolta dati è stata effettuata utilizzando un totale di 37 fototrappole, distribuite nei suddetti boschi per un periodo complessivo di 84 giorni di registrazioni attive. Le fototrappole, appartenenti a diversi modelli (Reconyx™ HC500 o HS2X; Browning® BT-5; Bushnell 119739 Natureview), sono state installate in conformità a quanto descritto da Beatham et al. (2023). La disposizione delle fototrappole è stata pianificata strategicamente per monitorare la presenza di scoiattoli grigi e scoiattoli rossi, con l'obiettivo di catturare il maggior numero possibile di individui in una varietà di contesti ambientali, registrando le varietà fenotipiche e strutturali degli esemplari.

Per aumentare la probabilità di rilevamento, all'interno del campo visivo delle fototrappole sono stati collocati cumuli di esche. Questi cumuli comprendevano un mix di semi di girasole, mais e arachidi (Figura 24). Le esche venivano rifornite ogni 2-3 giorni, a causa dell'intensa attività di consumo sia delle specie target che di altre specie non target.



Figura 24. Mix di esche per attirare gli scoiattoli nel campo visivo della fototrappola

Ogni fototrappola è stata impostata con alto livello di sensibilità per scattare foto in rapida successione, restando attiva 24 ore su 24. Al termine di ciascun periodo di monitoraggio, le immagini raccolte sono state estratte e analizzate tramite il software Reconyx MapView Professional™, per costruire un database contenente esclusivamente le foto di scoiattoli grigi e scoiattoli rossi. Dal set iniziale di 5000 immagini, sono state filtrate le fotografie in base a criteri di qualità, selezionando solo quelle che garantivano una buona definizione, un posizionamento ottimale dei soggetti e una distanza ravvicinata adeguata. Questo processo ha ridotto il database a un totale di 1100 foto. Successivamente, per aumentare la diversità dei dati in input, al fine di rappresentare situazioni reali, in conformità al principio di omogeneità e variabilità dei dati, sono state aggiunte 128 immagini, di foto “vuote” (prive di oggetti) e/o immagini di altre specie.

Per aumentare la variabilità del dataset, sono state aggiunte ulteriori 402 immagini HD di scoiattoli grigi e rossi scaricate dalla rete, che ritraevano individui in primissimo piano. Per garantire un bilanciamento adeguato nel dataset, il numero di foto per ciascuna categoria è stato reso uguale. Ciò è fondamentale per evitare il problema dello sbilanciamento delle classi, che si verifica quando esiste una differenza significativa nel numero di istanze. Al termine di queste integrazioni, il database finale contava un totale di 1.630 immagini (Tab. 10).

Tabella 10. Distribuzione delle foto per categoria nei set di training, validation e testing

Categoria	Totale	Train (70%)	Validation (20%)	Test (10%)
<i>Grigio</i>	752	527	150	75
<i>Rosso</i>	750	524	148	78
<i>Mark null</i>	128	89	25	14
Tutti	1630	1140	323	167

5.2.4 Procedura di etichettatura

Le immagini sono state elaborate utilizzando un software di annotazione e etichettatura delle immagini (<https://roboflow.com/>). Ogni immagine è stata processata da un operatore esperto, che ha etichettato, delimitando l'area contenente l'animale

tramite bounding boxes (BBs), confermando la specie presente nella foto (categoria dell'oggetto). Le categorie erano le seguenti: categoria 0 (scoiattolo grigio); categoria 1 (scoiattolo rosso); categoria mark-null (foto vuota o con presenza di altre specie) (Figura 25).



Figura 25. Mostra le tre categorie del database. A-B Categoria 0 (scoiattolo grigio); D-E Categoria 1 (scoiattolo rosso); C-F-G-H-I Mark-null (foto vuota o con presenza di altre specie).

Le immagini sono state adattate alla dimensione di 640×640 pixel tramite scalatura proporzionale e regolazione automatica del contrasto. Il dataset, estratto da Roboflow, è stato suddiviso automaticamente in tre sottoinsiemi: training set (70%, $N=1140$), validation set (20%, $N=323$) e test set (10%, $N=167$). Questa suddivisione è fondamentale per assicurare l'intero processo: il training set viene utilizzato per addestrare il modello, il validation set serve per valutare le prestazioni del modello, il set di test consente di

verificare la capacità del modello di generalizzare su nuovi dati mai visti prima. Il dataset è stato estratto da Roboflow in un formato compatibile con YOLOv8 pronto per l'addestramento.

5.2.5 *Procedura di addestramento*

Lo Squirrel Discrimination Model (SDM) è stato addestrato per rilevare due specie di scoiattoli, grigio e rosso, utilizzando il modello YOLOv8n. YOLOv8 rappresenta un'evoluzione di YOLOv5, sviluppato da Ultralytics (www.ultralytics.com), con prestazioni migliorate in termini di velocità e accuratezza. In particolare, la variante YOLOv8n è stata scelta per il suo equilibrio tra leggerezza e performance, adattandosi efficacemente alle esigenze di rilevamento rapido.

Per addestrare un modello di object detection con YOLOv8, sono necessari dispositivi adeguati (hardware e software) e una corretta scelta degli iperparametri, da cui dipenderanno le prestazioni del modello. Sono richiesti una CPU performante, una GPU potente con almeno 8 GB di RAM, un sistema operativo compatibile, come Windows 11, e un framework come PyTorch, supportato da YOLOv8.

Gli iperparametri fondamentali includono il numero di epoche, la batch size e il learning rate, mentre IoU threshold e confidence threshold sono valori opzionali, che possono essere preimpostati o regolati manualmente.

Il numero di epoche rappresenta il numero di volte che l'intero dataset di training viene passato attraverso il modello durante il processo di addestramento. Solitamente è un numero compreso tra 50 e 200, a seconda del volume del dataset e della complessità del problema. Ogni epoca consente al modello di “apprendere” meglio dai dati, aggiornando i pesi per ridurre l'errore. Se il numero di epoche fosse troppo basso o troppo alto, il modello potrebbe andare incontro a problemi di underfitting o overfitting rispettivamente, per cui la scelta del numero di epoche è un aspetto importante per un corretto addestramento.

La batch size rappresenta il numero di immagini dopo le quali il modello “aggiorna i suoi pesi”, ossia migliora la sua capacità di fare previsioni. La scelta della batch size dipende da vari fattori, come la memoria disponibile della GPU, la stabilità dell'addestramento e la velocità. Comunemente è un valore compreso tra 8 e 64, ma può essere maggiore. È anche possibile lasciare al framework la possibilità di scegliere

automaticamente la batch size in base alla disponibilità di memoria durante il processo (AutoBatch). Sarà il framework a selezionare un valore ottimale, evitando problemi di insufficienza di memoria.

Il learning rate è l'iperparametro che determina la velocità con cui il modello apprende dai dati. Un valore troppo alto può impedire la convergenza, mentre uno troppo basso rallenta l'apprendimento.

Il valore di IoU (Intersection over Union) threshold è definito come la percentuale di sovrapposizione tra una bounding box predetta e una bounding box di ground truth. È un valore compreso tra 0 e 1 e permette di considerare solo le predizioni che superano una certa soglia di sovrapposizione, scartando quelle al di sotto di essa.

La confidence threshold rappresenta il valore di confidenza attribuito a una previsione ed è un valore compreso fra 0 e 1. Permette di considerare solo le previsioni con valore di confidenza superiore alla soglia stabilita.

La fase di addestramento prevede il passaggio delle immagini attraverso la rete neurale convoluzionale (CNN), suddivise in batch e processate per un numero definito di epoche. La velocità di apprendimento del modello è regolata dal learning rate, che influisce su quanto velocemente il modello aggiorna i suoi parametri per migliorare le prestazioni.

Ad ogni passaggio, il modello fa delle previsioni confrontandole con i dati reali (ground truth) e calcolando un errore, chiamato funzione di perdita. Durante il passaggio dei blocchi di immagini, la funzione di perdita viene progressivamente minimizzata tramite l'ottimizzazione con discesa del gradiente stocastico, mentre i pesi del modello vengono aggiornati. Questo processo continua fino a quando la funzione di perdita raggiunge un valore per il quale ulteriori tentativi non comportano una variazione significativa. A questo punto, si dice che il modello ha raggiunto la convergenza, ovvero il miglior risultato possibile, oltre il quale ulteriori iterazioni non portano benefici e un prolungamento dell'addestramento potrebbe causare overfitting. È quindi il momento di considerare conclusa la fase di addestramento.

Nel caso dell'SDM l'addestramento è stato completato con successo in 150 iterazioni, suddivise su 100 epoche, utilizzando l'algoritmo di discesa del gradiente stocastico. Durante il processo, il learning rate è stato impostato a 0,01 e la batch size a - 1 e un valore di IoU threshold di 0,7.

Tutto il processamento video è stato condotto su un laptop equipaggiato con una GPU NVIDIA® RTX™ 3070 Ti con 8 Gb di vRAM, operante sul sistema operativo

WINDOWS 11 e Python 3. Al termine dell'addestramento, il modello è stato testato sui dati di test per valutare la sua capacità di generalizzare su nuovi dati. Successivamente, il modello è stato impiegato per l'inferenza su video.

5.2.6 Metriche di prestazione

Le prestazioni del modello SDM sono state valutate utilizzando Accuratezza (A), Precisione (P) e Richiamo (R), definiti come segue (Figura 26):

$$\bullet A = \frac{TD+TU}{(TD+TU+FD+FU)} \times 100 \quad \bullet P = \frac{TD}{(TD+FD)} \quad \bullet R = \frac{TD}{(TD+FU)}$$

Figura 26. A = Accuratezza; P = Precisione; R = Richiamo; TD veri positivi (oggetti correttamente rilevati); TU veri negativi (immagini in cui non sono stati rilevati oggetti perché non presenti); FD falsi positivi (oggetti erroneamente rilevati); FU falsi negativi (mancato rilievo di oggetti presenti).

L'accuratezza (A), espressa in percentuale, riflette la capacità del modello di identificare correttamente gli oggetti presenti nell'immagine in relazione al numero totale di oggetti definiti nel ground truth. Ad esempio, un valore di accuratezza del 95%, indica che il modello ha identificato correttamente il 95% degli oggetti presenti nelle immagini basate sulle etichette del ground truth.

La precisione (P) rappresenta la capacità del modello di determinare quanti degli oggetti rilevati siano effettivamente corretti, considerando il totale degli oggetti che il modello ha segnalato, inclusi quelli errati. È un valore compreso tra 0 e 1. Più il valore è prossimo ad 1 e maggiore sarà il livello di precisione.

Il richiamo (R) misura il numero di oggetti effettivamente presenti nell'immagine che sono stati correttamente identificati dal modello. È un valore compreso tra 0 e 1. Più il valore è prossimo ad 1 maggiore sarà il livello di R e minori saranno i falsi negativi detectati.

P e R sono due parametri fondamentali che sono inversamente correlati tra loro. In generale, migliorando uno, l'altro tende a peggiorare. Idealmente la qualità di un modello si riflette nell'equilibrio massimo fra P e R. Non è sempre possibile massimizzare contemporaneamente entrambi i valori, e la loro ottimizzazione dipende dalla scelta della

confidence threshold (soglia di confidenza), che determina il livello di fiducia necessario per accettare una previsione come corretta.

Questa relazione può essere esplorata tramite i grafici generati dal modello: la Precision-Confidence Curve (PCC) e la Recall-Confidence Curve (RCC). La PCC mostra come varia la precisione all'aumentare del livello di confidenza. Idealmente, la curva dovrebbe essere ascendente, indicando che la precisione aumenta con l'aumento della confidenza, fino a quando il modello raggiunge una precisione del 100% in tutte le classi. Tuttavia, per valori troppo severi di confidenza si avrebbero riduzioni di R, poiché il modello sarà più selettivo e potrebbe non rilevare molti oggetti.

La RCC, d'altra parte, mostra come il richiamo cambia con la soglia di confidenza. A valori bassi di confidenza, il modello tende a rilevare un numero maggiore di oggetti (alto recall), ma con una alta probabilità di detectare falsi positivi (bassa precisione).

Se il valore massimo di precisione e recall dipende dalla soglia di confidenza è fondamentale scegliere il valore corretto. Tale valore è espresso dal F1 score. L'F1 rappresenta la media armonica fra P e R al variare del valore di confidenza.

Un altro parametro fondamentale per valutare le prestazioni del modello è la Precision-Recall Curve (PRC), che rappresenta la relazione tra precisione (asse y) e recall (asse x). L'area sotto la curva (Area Under the Precision-Recall Curve, AUC-PRC) è un indicatore chiave della qualità del modello: maggiore è questa area, migliore sarà la capacità predittiva del modello (Figura 31).

La AP (Average Precision) è calcolata combinando i valori di precisione (P) e richiamo (R) per diverse soglie di IoU (Intersection over Union). La IoU rappresenta il grado di sovrapposizione tra due bounding box: quella predetta dal modello e quella di ground truth (vera). I valori di IoU sono compresi fra 0 e 1. Ad esempio, un valore impostato di IoU di 0.5 permette di considerare valide tutte quelle bounding box predette che si sovrappongono almeno del 50% con le bounding box di ground truth.

La media delle precisioni medie (mAP), è poi calcolata come la media delle AP su tutte le classi (cioè, le specie animali) da rilevare. La mAP per una confidenza di rilevamento di 0.5 IoU e per una confidenza di rilevamento progressiva tra 0.5 e 0.95 IoU, sono indicate rispettivamente come $mAP@0.5$ e $mAP@0.5:0.95$. Sono considerate le metriche più importanti nella valutazione delle prestazioni del modello. Valori prossimi a 1 sono indice di qualità di previsione del modello.

La matrice di confusione, sia nella sua forma normale (Figura 27) che normalizzata (figura 28), esprime le istanze corrette e non corrette per ciascuna classe del modello. In

particolare, la matrice di confusione normale mostra il numero assoluto di previsioni corrette ed errate per ogni classe.

La matrice di confusione normalizzata mostra la percentuale di previsioni corrette ed errate per ogni classe.

5.2.7 Inferenza nei video

L'inferenza su video (predict) è il processo di analisi dei fotogrammi da parte dell'algoritmo. A differenza dell'addestramento, che avviene su un dataset statico, l'inferenza video si concentra sull'analisi in tempo reale dei fotogrammi di un video per rilevare e identificare gli oggetti in movimento. Questo processo prevede che il modello esegua predizioni sui singoli fotogrammi del video, identificando oggetti, con posizione e relativo valore di probabilità.

È stato creato un video combinando frammenti di alcune decine di secondi di riprese in HD di scoiattoli grigi e rossi scaricati dalla rete. Poiché il modello calcola la probabilità di presenza di un oggetto in un intervallo da 0 a 1, è stata fissata una soglia di confidenza $\geq 0,6$ per escludere tutte le rilevazioni con probabilità inferiore a questo valore. Inoltre, è stata condotta una seconda inferenza su un breve video, ottenuto da riprese sul campo che ritraevano uno scoiattolo grigio nei pressi di un hopper.

Questo passo è stato compiuto per verificare l'efficacia dell'algoritmo in relazione agli obiettivi del progetto.

5.3 Risultati

5.3.1 Performance di output del modello SDM

L'addestramento con YOLOv8 ha prodotto un valore di accuratezza del modello pari al 92.1%. I dati di performance parametrica per ciascuna categoria sono riportati nella Tabella 12.

Tabella 11. Risultati delle metriche di output per categoria dei dati di validazione. .Precision = capacità del modello di identificare correttamente le interpretazioni definite come corrette; Recall = capacità del modello di rilevare tutti gli oggetti positivi; mAP@0.5 - mAP@0.5:0.95 = Media delle precisioni medie (confidenza di rilevamento pari a 0.5 IoU e confidenza di rilevamento compresa tra 0.5 e 0.95 IoU).

Categoria	Precision (P)	Recall (R)	mAP@0.5	mAP@0.5:0.95
Tutti	0.97	0.94	0.98	0.82
<i>Grigio</i>	0.96	0.94	0.98	0.82
<i>Rosso</i>	0.98	0.94	0.98	0.81

La matrice di confusione standard (Figura 27) illustra le prestazioni del modello nella classificazione degli scoiattoli. Il modello ha classificato correttamente 148 scoiattoli grigi e 141 scoiattoli rossi (veri positivi). Ha rilevato erroneamente 11 scoiattoli grigi e 5 scoiattoli rossi in immagini vuote (falsi positivi). Ha identificato in modo errato 2 scoiattoli grigi e 2 scoiattoli rossi in immagini prive di oggetti (falsi negativi) e ha commesso 5 errori di classificazione, assegnando erroneamente la classe "grigi" a 5 scoiattoli appartenenti alla classe "rossi".

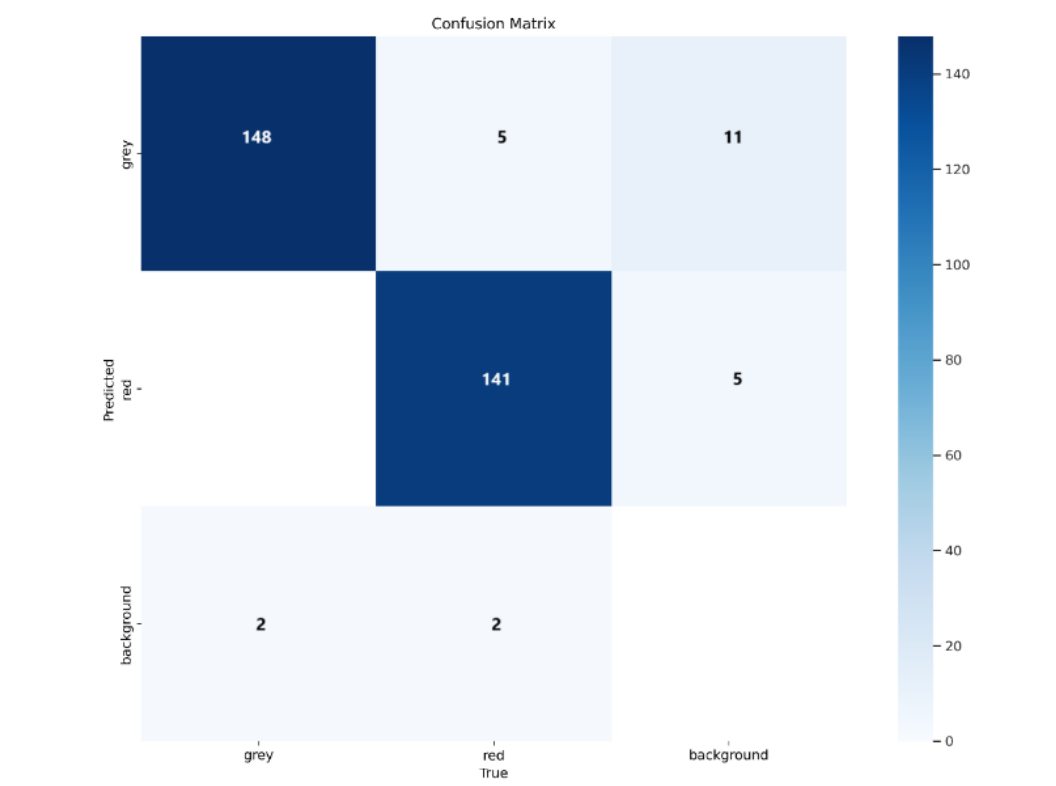


Figura 27. Matrice di confusione estratta dai dati di validazione del modello SDM. 148 e corrette rilevazioni di scoiattoli grigi e rossi (veri positivi); rilievo di 11 scoiattoli grigi e 5 scoiattoli rossi su foto vuote (falsi positivi). Mancate rilevazioni di 2 scoiattoli grigi e 2 rossi (falsi negativi); 5 scoiattoli grigi che in realtà erano rossi (misclassificazioni).

La matrice di confusione normalizzata illustra le prestazioni del modello nella classificazione degli scoiattoli. Il modello ha classificato in percentuale il 99% degli scoiattoli grigi correttamente, così come il 95% dei rossi. Di rilievo spicca il 69% di scoiattoli grigi in foto vuote e il 31% di rossi in foto vuote (Figura 28).

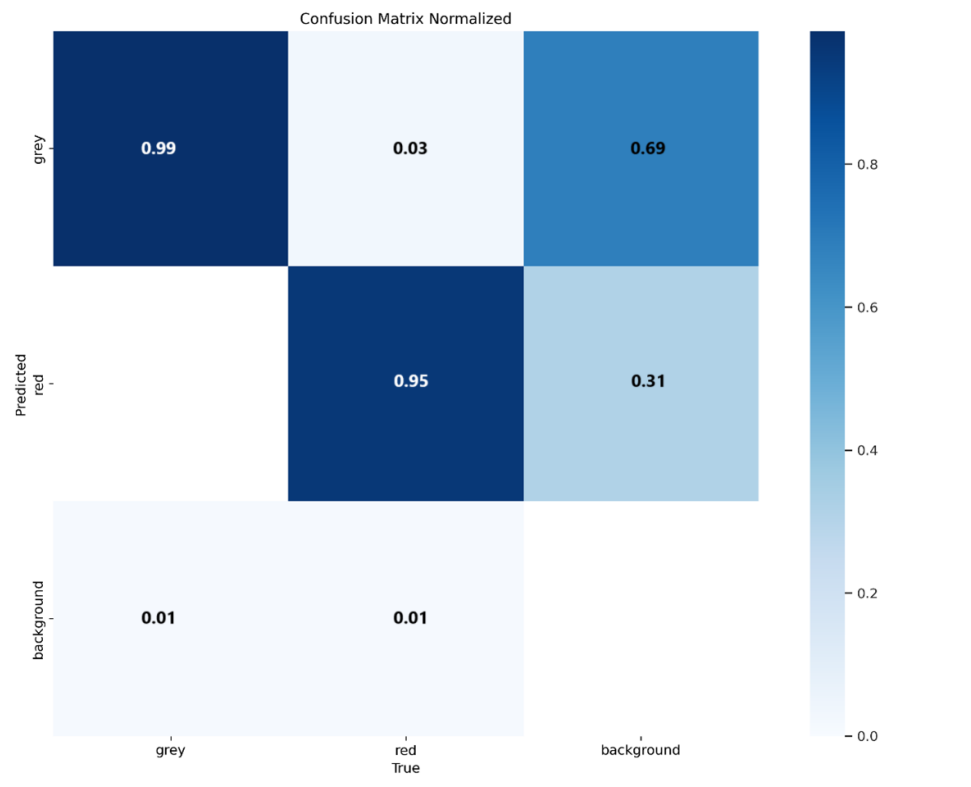


Figura 28. Matrice di confusione normalizzata estratta dai dati di validazione del modello SDM. 99% di rilevazioni corrette di scoiattoli grigi; 95% di corrette rilevazioni di scoiattoli rossi; 69% di errate rilevazioni di scoiattoli grigi in foto vuote; 31% di errate rilevazioni di scoiattoli rossi in foto vuote. 3% di classificazioni errate (grigi per rossi), 1 % di falsi negativi.

La curva di precision-confidence (Figura 29) presenta la massima precisione in entrambe le categorie ad un livello di confidenza del 0.901.

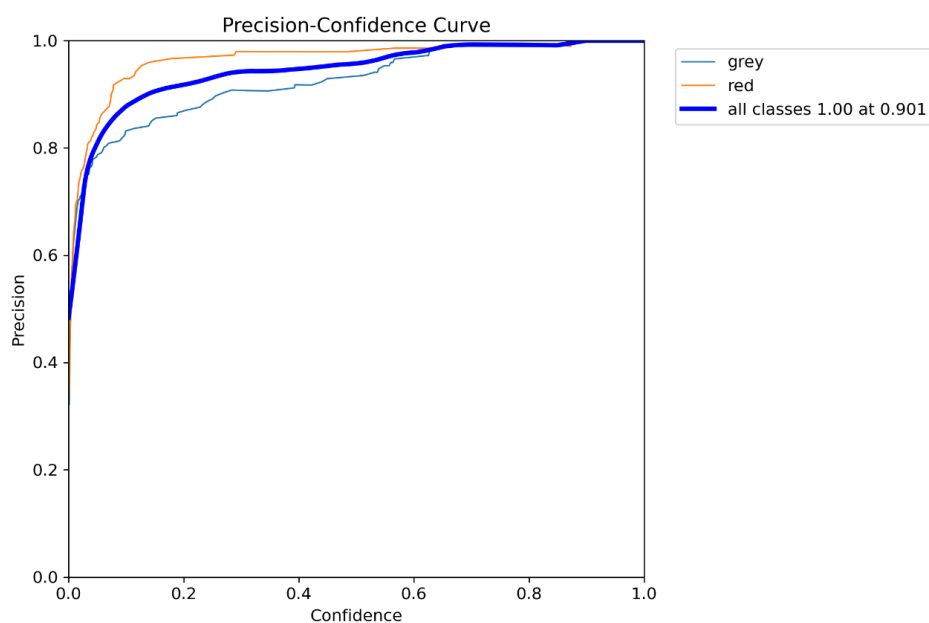


Figura 29. Curva di precision-confidence estratta dai dati di validazione del modello SDM. Massimo livello di precisione raggiunto in entrambe le classi a livelli di confidenza di 0.901

la curva recall-confidence (Figura 30) presenta il massimo richiamo raggiunto in entrambe le categorie di 0.99 ad una soglia di confidenza di 0.

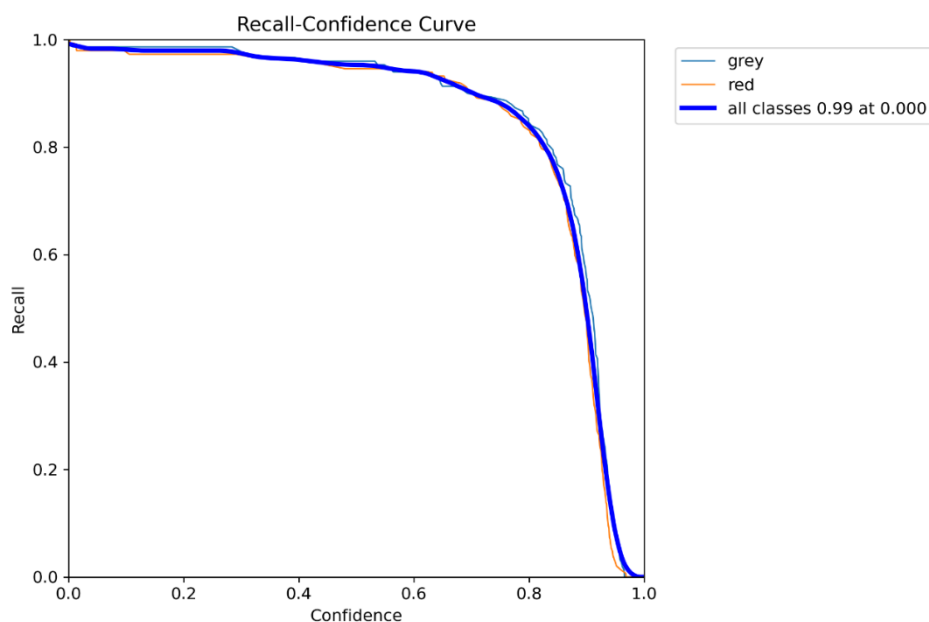


Figura 30. Curva recall-confidence estratta dai dati di validazione del modello SDM. Massimo livello di richiamo in entrambe le classi ad una soglia di confidenza di 0.

La curva precision-recall (Figura 31) esprime un ampio valore sotteso alla curva con valore di $mAP@0.5$ in entrambe le classi di 0.986.

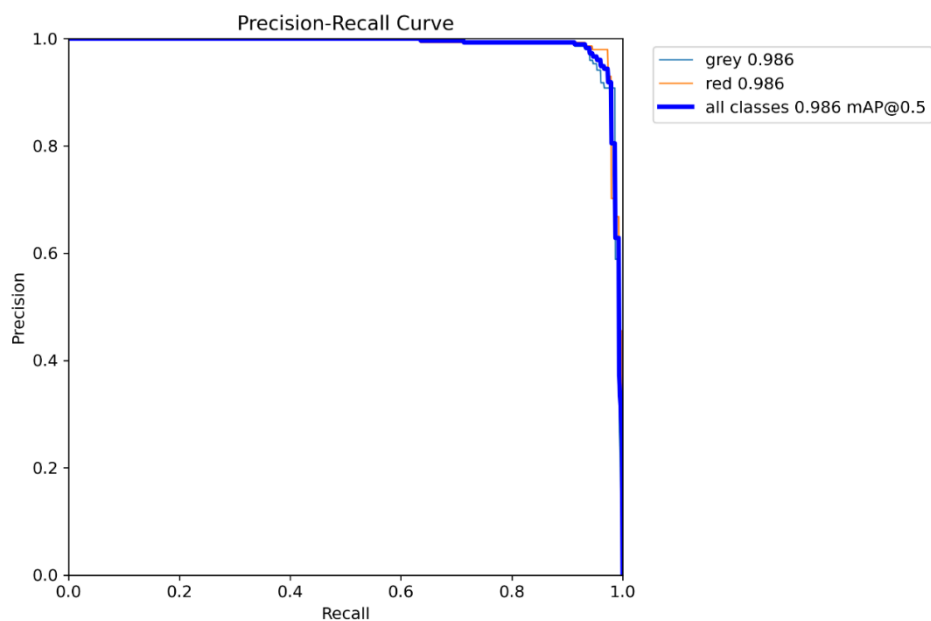


Figura 31. Curva precision-recall estratta dai dati di validazione del modello SDM. Ampio spazio sotteso alla curva con valori di mAP@0.5 in entrambe le classi di 0.986.

La curva F1 – score (Figura 32) esprime la media armonica della P e del R raggiunta per entrambi le classi a 0.96 per un valore di confidenza di 0.608.

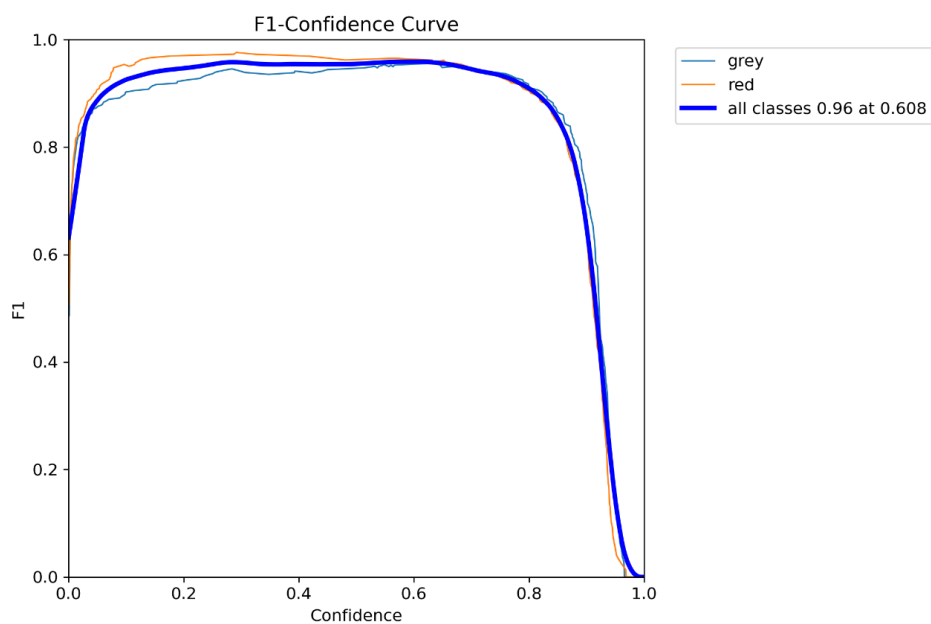


Figura 32. F1-score estratto dai dati di validazione del modello SDM. Media armonica dell'andamento della P e del R in funzione del valore di confidenza. Equilibrio massimo 0.96 di entrambe le classi ad una soglia di confidenza di 0.608.

Tutti i parametri di output sono consultabili nella cartella “SDM_result” nella sezione Materiale supplementare.

5.3.2 Confronto tra metriche dei dati di validazione e dati di test

Di seguito viene riportato il confronto tra le metriche di performance ottenute dai dati di validazione e quelle sui dati di test (Tab. 13 – 14).

Tabella 12. Metriche di performance del modello SDM sui dati di validazione. Per ciascuna classe sono indicate le immagini totali esaminate, le istanze presenti e rispettivo valore di Precisione (P), Richiamo (R), media delle precisioni medie al 0.5 IoU (mAP@0.5) e al 0.5- 0.95 IoU (mAP@0.5:0.95).

Categoria	Immagini	Istanze	P	R	mAP@0.5	mAP@0.5:0.95
Tutti	323	298	0.977	0.942	0.986	0.82
<i>Grigio</i>	149	150	0.969	0.940	0.986	0.826
<i>Rosso</i>	148	148	0.986	0.943	0.986	0.814

Tabella 13. Metriche di performance del modello SDM sui dati di test. Per ciascuna classe sono indicate le immagini totali esaminate, le istanze presenti e rispettivo valore di Precisione (P), Richiamo (R), media delle precisioni medie al 0.5 IoU (mAP@0.5) e al 0.5- 0.95 IoU (mAP@0.5:0.95).

Categoria	Immagini	Istanze	P	R	mAP@0.5	mAP@0.5:0.95
Tutti	167	153	0.981	0.964	0.991	0.821
<i>Grigio</i>	75	75	0.975	0.987	0.995	0.827
<i>Rosso</i>	78	78	0.987	0.942	0.987	0.815

5.3.3 Inferenza

L'analisi video mostra come l'algoritmo sia in grado di processare i frame in tempo reale con elevata rapidità, individuando le due specie di scoiattoli (Figura 33) mantenendo un buon livello di confidenza e garantendo, nel complesso, sia un'efficacia che

un'efficienza soddisfacenti. I video sono consultabili nella cartella “Predict”, contenuta nella sezione Materiale supplementare.

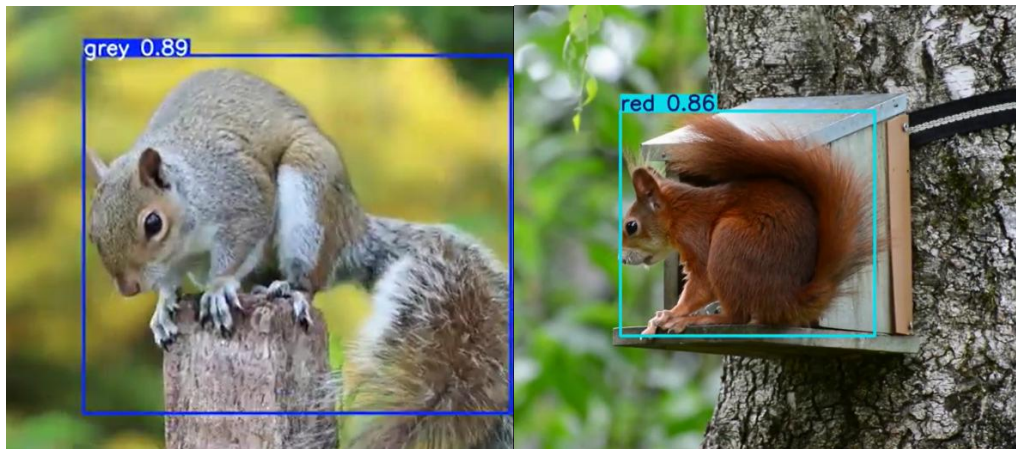


Figura 33. Estrazione di due fotogrammi processati dal SDM. A Sx scoiattolo grigio con bounding box e valore di confidence score di 0.89. A Dx scoiattolo rosso con bounding box e valore di confidence score 0.86.

5.4 Discussione

Il presente lavoro aveva l'obiettivo di sviluppare un algoritmo per il riconoscimento delle specie di scoiattoli, grigio e rosso, da utilizzare come sistema di identificazione per dispositivi automatizzati di distribuzione. Il confronto tra le metriche di output dei dati di validazione con quelli di test evidenzia che il modello è in grado di processare nuove immagini in modo efficace, dimostrando una buona capacità di generalizzazione e un basso livello di overfitting.

Le metriche di output indicano che l'algoritmo è in grado di identificare entrambe le specie con buona precisione, sebbene la precisione per identificare scoiattoli rossi sia leggermente superiore a quella degli scoiattoli grigi. Questo lo rende potenzialmente applicabile in contesti pratici come il riconoscimento degli scoiattoli agli hoppers. Tuttavia, nonostante i buoni risultati nell'elaborazione di immagini e video, emergono alcune criticità da considerare.

Il modello performa bene nel riconoscere gli scoiattoli delle due specie, ma presenta alcune lacune significative, come evidenziato dalla matrice di confusione normale e normalizzata. In particolare, la matrice normalizzata mostra un evidente deficit nel riconoscimento della categoria background rispetto agli scoiattoli grigi e rossi, con un elevato numero di falsi positivi (69% per gli scoiattoli grigi e 31% per quelli rossi).

Questo significa che il modello tende a classificare erroneamente come scoiattoli parti di foto vuote, il che porta a rilevazioni errate. Inoltre, seppur in misura ridotta (3%), si verificano errori di classificazione tra le due specie di scoiattoli. Questo tipo di errore, sebbene limitato, è il più indesiderato nel nostro contesto. Se non corretto, anche un errore minimo potrebbe diventare problematico in ambito gestionale, poiché potrebbe attivare i sistemi di distribuzione con lo scoiattolo non desiderato, compromettendo così la corretta somministrazione dei contenuti nei distributori.

Per minimizzare tali errori, è essenziale sviluppare un algoritmo eccellente in termini di prestazioni. Sebbene l'obiettivo di ottenere prestazioni perfette al 100% sia più una meta ideale che un traguardo realistico, è possibile apportare miglioramenti per ridurre al minimo il numero di rilevazioni errate (falsi positivi), agendo preferibilmente con approcci mirati all'aumento della precisione. Nel caso dell'SDM, si potrebbero seguire alcune strategie con l'intento di migliorarne la precisione.

Un primo approccio suggerito consiste nell'agire sui parametri di addestramento. Modificando i valori di questi parametri e ripetendo l'addestramento, è possibile ottimizzare le performance del modello. A tal fine, si potrebbe valutare l'opportunità di aumentare il numero di epoche, passando da 100 a 150, e di innalzare la soglia di confidenza (confidence threshold), ad esempio da 0.5 a 0.7, così da migliorare la precisione complessiva del modello, a discapito di altre metriche di performance.

Inoltre, sarebbe consigliato aggiungere alcune istanze Mark-null al database (foto vuote), con l'intento di fornire al modello maggiori contesti vuoti su cui addestrarsi al fine di ridurre falsi positivi. Ripetere l'addestramento con queste accortezze, aumenterebbe i livelli di precisione, ma comporterebbe anche un peggioramento delle performance generali. È possibile, infatti, che si verifichi una riduzione del richiamo, con conseguente abbassamento dei valori di $mAP@0.5$ e $mAP@0.5:0.95$. Pertanto, è fondamentale considerare queste modifiche come tentativi, agendo su piccole variazioni dei parametri per massimizzare la precisione senza sacrificare troppo altri parametri.

Una seconda strategia consiste nell'applicare la tecnica del filtro di confidenza durante l'inferenza video. Premesso che il valore di confidenza espresso dal grafico F1 score dovrebbe essere considerato ideale per massimizzare l'equilibrio tra precisione e recall (0.608 nel caso dell'SDM), impostare una soglia di confidenza maggiore escluderebbe le previsioni con affidabilità inferiori garantendo una precisione maggiore a discapito del recall. Ad esempio, impostando un livello di confidenza molto alto (0.75 - 0.8) per un periodo prolungato di alcuni secondi, si otterrebbe un riconoscimento più

preciso. Questo approccio permetterebbe all'algoritmo di identificare correttamente gli scoiattoli durante l'inferenza video, evitando fraintendimenti occasionali e puntuali. Tuttavia, se la soglia di confidenza è troppo severa, è possibile che non venga mai raggiunta, soprattutto se mantenuta per lunghi periodi, il che potrebbe limitarne l'efficacia. D'altro canto, va considerato anche il comportamento degli scoiattoli di fronte agli *hoppers*, che tendono a sostare a lungo mentre cercano un possibile ingresso. Ciò offre all'algoritmo più opportunità di rilevamento, aumentando così la probabilità di un riconoscimento corretto.

Infine, premesso che i dati di addestramento devono rappresentare correttamente il fenomeno da modellare e sufficientemente vari per evitare squilibri e ridondanze, si potrebbe tentare di costituire un database di addestramento *ex-novo* con immagini che riflettano le condizioni specifiche in cui l'algoritmo dovrà operare, ossia scoiattoli agli *hoppers*. Raccogliere immagini di scoiattoli che tentano di accedere ai distributori, diversificando per quanto possibile parametri come distanza, angolazione e ambiente circostante, permetterebbe un addestramento specifico con possibili performance di riconoscimento superiori. Tuttavia, potrebbero verificarsi problemi di *overfitting*, probabilmente mitigabili attraverso tecniche di *data augmentation*.

Dal punto di vista applicativo, gli approcci proposti potrebbero migliorare significativamente la qualità predittiva del sistema, rendendolo ancora più efficace in scenari concreti. Implementare l'algoritmo SDM in sistemi di *edge computing*, come l'*NVIDIA Jetson Nano*, permetterebbe di trasferire direttamente la tecnologia sul campo.

Il passo successivo consisterà nello sviluppo di un sistema di comando elettronico che consenta l'apertura dei distributori in risposta agli input dell'algoritmo, garantendo una selettività della strumentazione prossima al 100%.

5.5 Conclusioni

Questo studio ha sviluppato un valido algoritmo per il riconoscimento delle specie di scoiattolo grigio e rosso, sebbene ci siano margini di miglioramento. Il modello ha mostrato una notevole capacità di generalizzazione e un basso livello di *overfitting*, ma permangono problematiche legate alla presenza di elevati falsi positivi, sebbene possano

essere mitigati con le tecniche proposte. Un primo prototipo potrebbe essere testato sul campo, integrando l'SDM su un dispositivo NVIDIA Jetson Nano e applicando il filtro di confidenza durante l'inferenza video, al fine di proporre uno strumento di distribuzione specie-specifico.

6. RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia il "UK Squirrel Accord" e il "Defra" che hanno finanziato lo studio, il Dott. M. Brash MRCVS che ha fornito supporto veterinario e i proprietari terrieri che hanno fornito i siti di studio sul campo. La Regione Lazio per il cofinanziamento della borsa del Dr. Tiberi. Si ringraziano i colleghi, particolarmente Dr.ssa Massei Giovanna e Dr.ssa Sarah Beatham per il supporto e l'aiuto prestato al dottorando nel periodo di ricerca presso APHA e università di York. Si ringrazia il tutor Prof. Vitali e il co-tutor Prof. Primi, per il supporto alla stesura della tesi e le indicazioni al Dottorando.

7. DICHIARAZIONE ETICA

Questo studio è stato approvato dal comitato etico congiunto dell'Animal and Plant Health Agency (APHA) e della Fera Science Ltd (Animal Welfare and Ethical Review Body - AWERB) (numeri di approvazione: ES00190 e ES00254). Tutti gli studi sugli animali sono stati condotti in stretta conformità con le Linee guida del Regno Unito sull'applicazione della legge sugli Animali (Procedure scientifiche) del 1986 (modificata nel 2012).

8. MATERIALE SUPPLEMENTARE

Al seguente link:

<https://drive.google.com/drive/folders/13RFIhWHGbNdhlWfv1Gc6CtLRsRYe8too>

è possibile prendere visione dei contenuti di seguito elencati.

- Dataset1.xlsx
- Analisi_completa.pdf
- Spatial_analysis.docx
- SDM_result
- Predict
- Tiberi et al., 2024 / WFC_Tiberi

9. BIBLIOGRAFIA

- Abbott, R. J., Bevercombe, G. P., & Rayner, A. D. M. (1977). Sooty bark disease of sycamore and the grey squirrel.
- Adedara, I. A., Abolaji, A. O., Ladipo, E. O., Fatunmibi, O. J., Abajingin, A. O., & Farombi, E. O. (2017). 4-Vinylcyclohexene diepoxide disrupts sperm characteristics, endocrine balance and redox status in testes and epididymis of rats. *Redox Report*, 22(6), 388-398.
- Alcázar, J. L. (2008). Valoración ecográfica de la gestación precoz anómala. *Progresos de obstetricia y ginecología*, 51(4), 224-231.
- Alpaydin, E. (2020). *Introduction to machine learning*. MIT press.
- Alfarè, L.T. & Scovacricchi, T., (2015). Metodologia per il coinvolgimento degli enti locali nella lotta alle specie aliene invasive. Pubblicazione realizzata con il contributo finanziario di Arco Latino (www.arcolatino.org) nell'ambito del progetto Azioni di informazione e comunicazione finalizzate al rafforzamento delle capacità di gestione locale delle specie aliene invasive (LOCAL-IAS).
- Allen, D. S., & Aspey, W. P. (1986). Determinants of social dominance in eastern gray squirrels (*Sciurus carolinensis*): a quantitative assessment. *Animal Behaviour*, 34(PART 1), 81–89. [https://doi.org/10.1016/0003-3472\(86\)90009-6](https://doi.org/10.1016/0003-3472(86)90009-6)
- Antônio, W. H., Da Silva, M., Miani, R. S., & Souza, J. R. (2019). A proposal of an animal detection system using machine learning. *Applied Artificial Intelligence*, 33(13), 1093-1106.
- Arora, G., Joshi, J., Mandal, R. S., Shrivastava, N., Virmani, R., & Sethi, T. (2021). Artificial intelligence in surveillance, diagnosis, drug discovery and vaccine development against COVID-19. *Pathogens*, 10(8), 1048.
- Barkalow, F. S., JR., and M. Shorten (1973). *The world of the gray squirrel*. J. B. Lippincott Company, Philadelphia, 160 pp.
- Barlow, N. D., Kean, J. M., & Briggs, C. J. (1997). Modelling the relative efficacy of culling and sterilisation for controlling populations. *Wildlife Research*, 24(2), 129-141.
- Beatham, S. E., Goodwin, D., Coats, J., Stephens, P. A., & Massei, G. (2021). A PIT-tag-based method for measuring individual bait uptake in small mammals. *Ecological Solutions and Evidence*, 2(2). <https://doi.org/10.1002/2688-8319.12081>
- Beatham, S. E., Coats, J., Stephens, P. A., & Massei, G. (2023). Factors affecting bait uptake by the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) and the future delivery of oral contraceptives. *Wildlife Research*. <https://doi.org/10.1071/WR22159>
- Beatham, S. E., Stephens, P. A., Coats, J., Phillips, J., & Massei, G. (2023b). A camera trap method for estimating target densities of grey squirrels to inform wildlife management applications. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 11, 1096321.
- Beatham, S. E., Stephens, P. A., Goodwin, D., Coats, J., Thomas, E., Rochester, I., & Massei, G. (2024). An assessment of seasonal bait uptake by individual grey squirrels to develop a delivery system for oral contraceptives. *Pest Management Science*.
- Beliniak, A., Gryz, J., Klich, D., Jasińska, K., & Krauze-Gryz, D. (2022). Body condition and breeding of urban red squirrels: comparison of two populations affected by different levels of urbanization. *Animals*, 12(23), 3246.

- Bertolino, S., di Montezemolo, N. C., Preatoni, D. G., Wauters, L. A., & Martinoli, A. (2014). A grey future for Europe: *Sciurus carolinensis* is replacing native red squirrels in Italy. *Biological Invasions*, 16(1), 53–62. <https://doi.org/10.1007/s10530-013-0502-3>
- Bertolino, S., Lurz, P. W., Shuttleworth, C. M., Martinoli, A., & Wauters, L. A. (2016). 25. The management of grey squirrel populations in Europe: evolving best practice.
- Bochkovskiy, A., Wang, C. Y., & Liao, H. Y. M. (2020). YOLOv4: Optimal speed and accuracy of object detection. arXiv preprint arXiv:2004.10934.
- Bomford, M. (1990). *A role for fertility control in wildlife management*.
- Bradley, M. P., Eade, J., Penhale, J., & Bird, P. (1999). Vaccines for fertility regulation of wild and domestic species. In *Journal of Biotechnology* (Vol. 73). www.elsevier.com/locate/jbiotec
- Bryce, J., Johnson, P. J., & Macdonald, D. W. (2002). Can niche use in red and grey squirrels offer clues for their apparent coexistence?. *Journal of Applied Ecology*, 39(6), 875–887.
- Brondizio, E. S., Settele, J., Díaz, S., & Ngo, H. T. (eds) (2019). Global Assessment Report on Biodiversity and Ecosystem Services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. IPBES Secretariat, Bonn
- Broughton, R. K. (2020). Current and future impacts of nest predation and nest-site competition by invasive eastern grey squirrels *Sciurus carolinensis* on European birds. *Mammal Review*, 50(1), 38–51.
- Brownie, C., & Robson, D. (1983). Estimation of time-specific survival rates from tag-resighting samples: a generalization of the Jolly-Seber model. *Biometrics*, 437–453.
- Cagnacci, F., Massei, G., Cowan, D. P., Walker, N., & Delahay, R. J. (2007). Effects of bait type and deployment strategy on uptake by free-living badgers. *Wildlife Research*, 34(6), 454–460.
- Campbell, K. J., Saah, J. R., Brown, P. R., Godwin, J., Howald, G. R., Piaggio, A., ... & Shiels, A. (2019). A potential new tool for the toolbox: assessing gene drives for eradicating invasive rodent populations.
- Carl, C., Schönfeld, F., Profft, I., Klamm, A., & Landgraf, D. (2020). Automated detection of European wild mammal species in camera trap images with an existing and pre-trained computer vision model. *European journal of wildlife research*, 66, 1–7.
- Carter, S. P., Robertson, A., Palphramand, K. L., Chambers, M. A., McDonald, R. A., & Delahay, R. J. (2018). Bait uptake by wild badgers and its implications for oral vaccination against tuberculosis. *PLoS ONE*, 13(11). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206136>
- Caughley, G., Pech, R., & Grice, D. (1992). Effect of fertility control on a population's productivity. *Wildlife Research*, 19(6), 623–627.
- Chantrey, J., Dale, T. D., Read, J. M., White, S., Whitfield, F., Jones, D., & Begon, M. (2014). European red squirrel population dynamics driven by squirrelpox at a grey squirrel invasion interface. *Ecology and Evolution*, 4(19), 3788–3799.
- Chen, G., Han, T. X., He, Z., Kays, R., & Forrester, T. (2014), October. Deep convolutional neural network based species recognition for wild animal monitoring. In 2014 IEEE international conference on image processing (ICIP) (pp. 858–862). IEEE.
- Chen, R., Little, R., Mihaylova, L., Delahay, R., & Cox, R. (2019). Wildlife surveillance using deep learning methods. *Ecology and evolution*, 9(17), 9453–9466.

- Chen, X., Hou, X., Feng, T., Han, N., Wang, J., & Chang, G. (2022). Anti-fertility effect of levonorgestrel and/or quinestrol on striped field mouse (*Apodemus agrarius*): evidence from both laboratory and field experiments. *Integrative Zoology*, 17(6), 1041–1052. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12568>
- Cheng, G., & Han, J. (2016). A survey on object detection in optical remote sensing images. *ISPRS journal of photogrammetry and remote sensing*, 117, 11-28.
- Christensen, P. E. S., Ward, B. G., & Sims, C. (2013). Predicting bait uptake by feral cats, *Felis catus*, in semi-arid environments. In *Ecological Management and Restoration* (Vol. 14, Issue 1, pp. 47–53). <https://doi.org/10.1111/emr.12025>
- Choe, D. G., & Kim, D. K. (2020). Deep learning-based image data processing and archival system for object detection of endangered species. *Journal of information and communication convergence engineering*, 18(4), 267-277.
- Clapham, M., Miller, E., Nguyen, M., & Darimont, C. T. (2020). Automated facial recognition for wildlife that lack unique markings: A deep learning approach for brown bears. *Ecology and evolution*, 10(23), 12883-12892.
- Connolly, M. S. (1979). Time-tables in home range usage by gray squirrels (*Sciurus carolinensis*). *Journal of Mammalogy*, 60(4), 814-817.
- Croft S, Chauvenet ALM, Smith GC (2017) A systematic approach to estimate the distribution and total abundance of British mammals. *PLoS ONE* 12(6), e0176339. doi:10.1371/journal.pone.0176339
- Croft, S., Aegerter, J. N., Beatham, S., Coats, J., & Massei, G. (2021). A spatially explicit population model to compare management using culling and fertility control to reduce numbers of grey squirrels. *Ecological Modelling*, 440. <https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2020.109386>
- Dave, B., Mori, M., Bathani, A., & Goel, P. (2023). Wild Animal Detection using YOLOv8. *Procedia Computer Science*, 230, 100-111.
- Delplanque, A., Foucher, S., Lejeune, P., Linchant, J., & Théau, J. (2022). Multispecies detection and identification of African mammals in aerial imagery using convolutional neural networks. *Remote Sensing in Ecology and Conservation*, 8(2), 166-179.
- De Valpine, P., D. Turek, C.J. Paciorek, C. Anderson-Bergman, D. Temple Lang, and R. Bodik. (2017). Programming with models: writing statistical algorithms for general model structures with NIMBLE. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 26: 403-413. <DOI:10.1080/10618600.2016.1172487>.
- De Valpine P, Paciorek C, Turek D, Michaud N, Anderson-Bergman C, Obermeyer F, Wehrhahn Cortes C, Rodriguez A, Temple Lang D, Paganin S (2023). *_NIMBLE: MCMC, Particle Filtering, and Programmable Hierarchical Modeling_*. doi:10.5281/zenodo.1211190 <<https://doi.org/10.5281/zenodo.1211190>>, R package version 1.0.1, <<https://cran.r-project.org/package=nimble>>.
- Don, B. A. C. (1983). Home range characteristics and correlates in tree squirrels. *Mammal review*, 13(2-4), 123-132.
- Dubock, A. C. (1979). Male Grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) reproductive cycles in Britain. *Journal of Zoology*, 188(1), 41–51. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.1979.tb03391.x>
- Ducharme, M. B., Larochelle, J., & Richard, D. (1989). Thermogenic capacity in gray and black morphs of the gray squirrel, *Sciurus carolinensis*. *Physiological Zoology*, 62(6), 1273-1292.

- Dunn, M., Marzano, M., Forster, J., & Gill, R. M. (2018). Public attitudes towards “pest” management: Perceptions on squirrel management strategies in the UK. *Biological Conservation*, 222, 52-63.
- Eade, J. A., Roberston, I. D., & James, C. M. (2009). Contraceptive potential of porcine and feline zona pellucida A, B and C subunits in domestic cats. *Reproduction*, 137(6), 913-922.
- Eikelboom, J. A., Wind, J., van de Ven, E., Kenana, L. M., Schroder, B., de Knecht, H. J., ... & Prins, H. H. (2019). Improving the precision and accuracy of animal population estimates with aerial image object detection. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(11), 1875-1887
- Faruck, M. O., Koirala, P., Yang, J., D'Occhio, M. J., Skwarczynski, M., & Toth, I. (2021). Polyacrylate-GnRH peptide conjugate as an oral contraceptive vaccine candidate. *Pharmaceutics*, 13(7), 1081.
- Ferreira, A. C., Silva, L. R., Renna, F., Brandl, H. B., Renoult, J. P., Farine, D. R., ... & Doutrelant, C. (2020). Deep learning-based methods for individual recognition in small birds. *Methods in Ecology and Evolution*, 11(9), 1072-1085.
- Ferryman, M., Mayle, B. A., & Morgan, G. W. (2006). Visual method for evaluating the state of sexual development in male grey squirrels (*Sciurus carolinensis*). *Reproduction, Fertility and Development*, 18(3), 383–393. <https://doi.org/10.1071/RD05129>
- Fisher, P. (1973). Review of Using Rhodamine B as a Marker for Wildlife Studies. In *Bulletin* (Vol. 27, Issue 2). <https://about.jstor.org/terms>
- Fitch, H. S. (1948). Ecology of the California ground squirrel on grazing lands. *American Midland Naturalist*, 513-596.
- Flyger, V., and J. E. Gates. (1982). Fox and gray squirrels. Pp, 209-229 in *Wild mammals of North America* (J. A. Chapman and G. A. Feldhamer, eds.). Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1147 pp.
- Girshick, R. (2015). Fast r-cnn. In *Proceedings of the IEEE international conference on computer vision* (pp. 1440-1448).
- Godwin, J., Serr, M., Barnhill-Dilling, S. K., Blondel, D. V., Brown, P. R., Campbell, K., ... & Thomas, P. (2019). Rodent gene drives for conservation: opportunities and data needs. *Proceedings of the Royal Society B*, 286(1914), 20191606.
- Goodfellow, I. (2016). Deep learning.
- Goodrum, P. D. (1961). The gray squirrel in Texas. *Texas Parks and Wildlife Department Bulletin*, 42: 1-43.
- Gourisaria, M. K., Singh, U., Singh, V., & Sharma, A. (2022, October). Performance enhancement of animal species classification using deep learning. In *International Conference on Computing, Communication and Learning* (pp. 208-219). Cham: Springer Nature Switzerland.
- Gray, M. E., Thain, D. S., Cameron, E. Z., & Miller, L. A. (2010). Multi-year fertility reduction in free-roaming feral horses with single-injection immunocontraceptive formulations. *Wildlife Research*, 37(6), 475-481.
- Gurnell, J. O. H. N. (1996). The grey squirrel in Britain: problems for management and lessons for Europe. In *European Mammals: Proceedings of the I European Congress of Mammalogy. Museu Bocage* (pp. 67-81).

- Gurnell, J., Lurz, P., & Pepper, H. (2001). Practical techniques for surveying and monitoring squirrels.
- Gurnell, J., Wauters, L. A., Lurz, P. W. W., & Tosi, G. (2004). Alien species and interspecific competition: Effects of introduced eastern grey squirrels on red squirrel population dynamics. *Journal of Animal Ecology*, 73(1), 26–35. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2004.00791.x>
- Gurnell J, Kenward RE, Lurz PWW (2008). Grey squirrel *Sciurus carolinensis*. In Harris S, Yalden DW (eds) *Mammals of the British Isles: Handbook*, 4th edition. The mammal Society, Southampton.
- Hale, M. L., Lurz, P. W. W., & Wolff, K. (2004). Patterns of genetic diversity in the red squirrel (*Sciurus vulgaris* L.): Footprints of biogeographic history and artificial introductions. In *Conservation Genetics* (Vol. 5). www.jnc.uk/ukbg/bap/species
- Hall, E. R. (1981). *The mammals of North America*. John Wiley and Sons, New York, 1:1-600 + 90.
- Hayssen, V. (2016). Reproduction in grey squirrels: from anatomy to conservation. The grey squirrel: ecology & management of an invasive species in Europe'. (Eds CM Shuttleworth, PWW Lurz, J Gurnell) pp, 115-180.
- He, Q., Zhao, Q., Liu, N., Chen, P., Zhang, Z., & Hou, R. (2019). Distinguishing individual red pandas from their faces. In *Pattern Recognition and Computer Vision: Second Chinese Conference, PRCV 2019, Xi'an, China, November 8–11, 2019, Proceedings, Part II 2* (pp. 714-724). Springer International Publishing.
- Hench, J. E., Kirkland, G. L., Setzer, H. W., & Douglass, L. W. (1984). Age Classification for the Gray Squirrel Based on Eruption, Replacement, and Wear of Molariform Teeth. In *Source: The Journal of Wildlife Management* (Vol. 48, Issue 4). <https://about.jstor.org/terms>
- Holm, R. F. (1976). Observations on a cannibalistic gray squirrel. *Natural History Miscellanea* 197: 1-2.
- Huxley, L. (2003). The Grey Squirrel Review. Profile of an invasive alien species. Grey squirrel (*Sciurus carolinensis*). ESI Dorset
- IUCN (2021). Website IUCN issues briefs: Twitter: @IUCN iucn.org iucn.org/issues-briefs IUCN (International Union for Conservation of Nature)-INVASIVE ALIEN SPECIES AND CLIMATE CHANGE. (2021).
- Jacob, J., Ylönen, H., Runcie, M. J., Jones, D. A., & Singleton, G. R. (2003). What Affects Bait Uptake by House Mice in Australian Grain Fields? In *Source: The Journal of Wildlife Management* (Vol. 67, Issue 2).
- Jacobinnert, K., Jacob, J., Zhang, Z., & Hinds, L. A. (2022). The status of fertility control for rodents—recent achievements and future directions. In *Integrative Zoology* (Vol. 17, Issue 6, pp. 964–980). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12588>
- Kenward, R. E. (1985). Ranging behaviour and population dynamics in grey squirrels. *Behavioural ecology*, 319-330.
- Kirkpatrick, Jay F., and John W. Turner (1990). "Remotely-delivered immunocontraception in feral horses." *Wildlife Society Bulletin (1973-2006)* 18.3 (1990): 326-330.

- Kirkpatrick, J. F., Rowan, A., Lamberski, N., Wallace, R., Frank, K., & Lyda, R. (2009). The practical side of immunocontraception: zona proteins and wildlife. *Journal of Reproductive Immunology*, 83(1-2), 151-157.
- Kirkpatrick, J. F., Lyda, R. O., & Frank, K. M. (2011). Contraceptive vaccines for wildlife: a review. *American journal of reproductive immunology*, 66(1), 40-50.
- Kitchener, A. L., Kay, D. J., Walters, B., Menkhorst, P., McCartney, C. A., Buist, J. A., ... & Rodger, J. C. (2009). The immune response and fertility of koalas (*Phascolarctos cinereus*) immunised with porcine zonae pellucidae or recombinant brushtail possum ZP3 protein. *Journal of reproductive immunology*, 82(1), 40-47.
- Koprowski, J. L. (1994). *Sciurus carolinensis*. Mammalian species, (480), 1-9.
- Koprowski, J. L. (1996). Natal philopatry, communal nesting, and kinship in fox squirrels and gray squirrels. *Journal of Mammalogy*, 77(4), 1006-1016.
- Koprowski, J. L., Munroe, K. E., & Edelman, A. J. (2016). Gray not grey: Ecology of *Sciurus carolinensis* in their native range in North America. The Grey Squirrel: ecology & management of an invasive species in Europe. Woodbridge, Suffolk UK: European Squirrel Initiative, 1-18.
- Korschgen, L. J. (1981). Foods of fox and gray squirrels in Missouri. *The Journal of Wildlife Management*, 45(1), 260-266.
- La Morgia, V., Paoloni, D. and Genovesi, P., (2017). Eradicating the grey squirrel *Sciurus carolinensis* from urban areas: an innovative decision-making approach based on lessons learnt in Italy. *Pest management science*, 73(2), pp.354-363.
- La Morgia V, Aragno P, Paoloni D, Bertolino S, Martinoli A, Wauters L, Genovesi P (2018). Nuclei di scoiattoli alloctoni: dal rilevamento alla gestione. Documento elaborato dall'Alien Squirrel Emergency Team (ASET), Progetto LIFE U-SAVEREDS, Azione F.3.
- La Morgia, V., Mazzamuto, M.V. and Adriaens, T. (2023). Ecology, impact, and management of squirrel invasions. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 11, p.1253922.)
- Lawton, C. (2003). Controlling grey squirrel damage in Irish broadleaved woodlands.
- Lawton C, Shuttleworth CM, Kenward RE (2016) Ranging behaviour, density and social structure in grey squirrels. In 'The grey squirrel: ecology and management of an invasive species in Europe'. (Eds CM Shuttleworth, PWW Lurz, J Gurnell) pp. 133–152. (European Squirrel Initiative: Stoneleigh Park, Warwickshire, UK)
- Levy, J. K., Friary, J. A., Miller, L. A., Tucker, S. J., & Fagerstone, K. A. (2011). Long-term fertility control in female cats with GonaCon™, a GnRH immunocontraceptive. *Theriogenology*, 76(8), 1517-1525.
- Li, S., Zhang, H., & Xu, F. (2023). Intelligent Detection Method for Wildlife Based on Deep Learning. *Sensors*, 23(24), 9669.
- Lu, X., & Lu, X. (2023). An efficient network for multi-scale and overlapped wildlife detection. *Signal, Image and Video Processing*, 17(2), 343-351.
- Mamat, N., Othman, M. F., & Yakub, F. (2022, November). Animal intrusion detection in farming area using YOLOv5 approach. In 2022 22nd International Conference on Control, Automation and Systems (ICCAS) (pp. 1-5). IEEE.
- Maranesi, M., Bufalari, A., Dall'aglio, C., Paoloni, D., Moretti, G., Crotti, S., Manuali, E., Stazi, M., Bergamasco, F., Cruciani, D., Di Meo, A., Boiti, C., Zerani, M., & Mercati, F. (2020).

- Reproductive traits of an invasive alien population of grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) in central Italy. *Animals*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/ani10040738>
- Marsh, R. E. (1994). Current (1994) ground squirrel control practices in California. In *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference* (Vol. 16, No. 16).
- Martinoli, A., Bertolino, S., Preatoni, D. G., Balduzzi, A., Marsan, A., Genovesi, P., Tosi, G., & Wauters, L. A. (2010). Headcount 2010: Il proliferare delle popolazioni di scoiattolo grigio introdotte in Italia. *Hystrix*, 21(2), 127–136. <https://doi.org/10.4404/Hystrix-21.2-4463>
- Massei, G., Coats, J., Quay, R., Storer, K., & Cowan, D. P. (2010). The boar-operated-system: a novel method to deliver baits to wild pigs. *The Journal of Wildlife Management*, 74(2), 333–336.
- Massei, G., Cowan, D. P., Coats, J., Bellamy, F., Quay, R., Pietravallo, S., ... & Miller, L. A. (2012). Long-term effects of immunocontraception on wild boar fertility, physiology and behaviour. *Wildlife Research*, 39(5), 378–385.
- Massei, G., & Cowan, D. (2014). Fertility control to mitigate human-wildlife conflicts: A review. In *Wildlife Research* (Vol. 41, Issue 1, pp. 1–21). CSIRO. <https://doi.org/10.1071/WR13141>
- Massei, G. (2023). Fertility Control for Wildlife: A European Perspective. In *Animals* (Vol. 13, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ani13030428>
- Mayle, B. A., & Broome, A. C. (2013). Changes in the impact and control of an invasive alien: the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) in Great Britain, as determined from regional surveys. *Pest management science*, 69(3), 323–333.
- McFarlane, G. R., Whitelaw, C. B. A., & Lillico, S. G. (2018). CRISPR-Based Gene Drives for Pest Control. *Trends in Biotechnology*, 36(2), 130–133. <https://doi.org/10.1016/J.TIBTECH.2017.10.001>
- McRae, J. E., Schlichting, P. E., Snow, N. P., Davis, A. J., VerCauteren, K. C., Kilgo, J. C., ... & Pepin, K. M. (2020). Factors affecting bait site visitation: area of influence of baits. *Wildlife Society Bulletin*, 44(2), 362–371.
- Meyerson, L. A., & Mooney, H. A. (2007). Invasive alien species in an era of globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5(4), 199–208.
- Miller, L. A., & Fagerstone, K. A. (2000). Induced fertility as a wildlife management tool. In *Proceedings of the Vertebrate Pest Conference* (Vol. 19, No. 19).
- Miller, L. A., Fagerstone, K. A., Wagner, D. C., & Killian, G. J. (2009). Factors contributing to the success of a single-shot, multiyear PZP immunocontraceptive vaccine for white-tailed deer. *Human-Wildlife Conflicts*, 3(1), 103–115.
- Moallem, G., Pathirage, D. D., Reznick, J., Gallagher, J., & Sari-Sarraf, H. (2021). An explainable deep vision system for animal classification and detection in trail-camera images with automatic post-deployment retraining. *Knowledge-Based Systems*, 216, 106815.
- Morales, J. M., Moorcroft, P. R., Matthiopoulos, J., Frair, J. L., Kie, J. G., Powell, R. A., ... & Haydon, D. T. (2010). Building the bridge between animal movement and population dynamics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1550), 2289–2301.

- Mori, E., Amerini, R., Mazza, G., Bertolino, S., Battiston, R., Sforzi, A., & Menchetti, M. (2016). Alien shades of grey: new occurrences and relevant spread of *Sciurus carolinensis* in Italy. *European Journal of Ecology*, 2(1), 13-20.
- Mosby, H. S. (1969). The Influence of Hunting on the Population Dynamics of a Woodlot Gray Squirrel Population. In Source: The Journal of Wildlife Management (Vol. 33, Issue 1). <https://about.jstor.org/terms>
- Nguyen, H., Maclagan, S. J., Nguyen, T. D., Nguyen, T., Flemons, P., Andrews, K., ... & Phung, D. (2017). Animal recognition and identification with deep convolutional neural networks for automated wildlife monitoring. In 2017 IEEE international conference on data science and advanced Analytics (DSAA) (pp. 40-49). IEEE.
- Nichols, C. P., Drewe, J. A., Gill, R., Goode, N., & Gregory, N. (2016). A novel causal mechanism for grey squirrel bark stripping: The Calcium Hypothesis. *Forest Ecology and Management*, 367, 12-20.
- Norouzzadeh, M. S., Nguyen, A., Kosmala, M., Swanson, A., Palmer, M. S., Packer, C., & Clune, J. (2018). Automatically identifying, counting, and describing wild animals in camera-trap images with deep learning. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(25), E5716-E5725.
- Okubo, A., Maini, P. K., Williamson, M. H., & Murray, J. D. (1989). On the Spatial Spread of the Grey Squirrel in Britain (Vol. 238, Issue 1291). <https://www.jstor.org/stable/2410605>
- Ortenzi, L., Aguzzi, J., Costa, C., Marini, S., D'Agostino, D., Thomsen, L., ... & Chatzievangelou, D. (2024). Automated species classification and counting by deep-sea mobile crawler platforms using YOLO. *Ecological Informatics*, 82, 102788.
- Pack, J. C., Mosby, H. S., McGinnes, B. S., & Siegel, P. B. (1966). INFLUENCE OF THE SOCIAL HIERARCHY ON GRAY SQUIRREL BEHAVIOR.
- Palanisamy, V., & Ratnarajah, N. (2021). Detection of wildlife animals using deep learning approaches: a systematic review. In 2021 21st International Conference on Advances in ICT for Emerging Regions (ICter) (pp. 153-158). IEEE.
- Peng, J., Wang, D., Liao, X., Shao, Q., Sun, Z., Yue, H., & Ye, H. (2020). Wild animal survey using UAS imagery and deep learning: modified Faster R-CNN for kiang detection in Tibetan Plateau. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 169, 364-376.
- Pinkham, R., Eckery, D., Mauldin, R., Gomm, M., Hill, F., Vial, F., & Massei, G. (2022). Longevity of an immunocontraceptive vaccine effect on fecundity in rats. *Vaccine: X*, 10. <https://doi.org/10.1016/j.jvacx.2021.100138>
- Pledger, S., Pollock, K. H., & Norris, J. L. (2003). Open capture-recapture models with heterogeneity: I. Cormack-Jolly-Seber model. *Biometrics*, 59(4), 786-794.
- Powers, J. G., Baker, D. L., Davis, T. L., Conner, M. M., Lothridge, A. H., & Nett, T. M. (2011). Effects of gonadotropin-releasing hormone immunization on reproductive function and behavior in captive female Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus nelsoni*). *Biology of Reproduction*, 85(6), 1152-1160.
- Pyšek, P., Richardson, D. M., Rejmánek, M., Webster, G. L., Williamson, M., & Kirschner, J. (2004). Alien plants in checklists and floras: towards better communication between taxonomists and ecologists. *Taxon*, 53(1), 131-143.

- Pyzyna, B. R., Trulove, N. F., Mansfield, C. H., McMillan, R. A., Ray, C. N., & Mayer, L. P. (2018). ContraPest®, a new tool for rodent control. In Proceedings of the Vertebrate Pest Conference (Vol. 28, No. 28).
- R Core Team. (2023). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org>
- Rahim, M. (2016). Comparisons of line transect and point count survey methods by estimating density of grey squirrel *Sciurus carolinensis*. *J. Environ. Ecol*, 7, 9287.
- Ray, C. N., & Pyzyna, B. (2022). Controlling Roof Rats on Poultry Farms using ContraPest, A Contraceptive Bait. In Proceedings of the Vertebrate Pest Conference (Vol. 30, No. 30).
- Ravoor, P. C., & Sudarshan, T. S. B. (2020). Deep learning methods for multi-species animal re-identification and tracking—a survey. *Computer Science Review*, 38, 100289.
- Redmon, J., Divvala, S., Girshick, R., & Farhadi, A. (2016). You only look once: Unified, real-time object detection. In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition (pp. 779-788).
- Redmon, J., & Farhadi, A. (2017). YOLO9000: better, faster, stronger. In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition (pp. 7263-7271).
- Redmon, J., & Farhadi, A. (2018). Yolov3: An incremental improvement. arXiv preprint arXiv:1804.02767.
- Reg. (UE) N. 1143/2014 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 22 ottobre (2014) - Recante disposizioni volte a prevenire e gestire l'introduzione e la diffusione delle specie esotiche invasive - chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgltclfindmkaj/https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32014R1143
- Ren, S., He, K., Girshick, R., & Sun, J. (2016). Faster R-CNN: Towards real-time object detection with region proposal networks. *IEEE transactions on pattern analysis and machine intelligence*, 39(6), 1137-1149.
- Richardson, D. M., Pyšek, P., Rejmanek, M., Barbour, M. G., Panetta, F. D., & West, C. J. (2000). Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. *Diversity and distributions*, 6(2), 93-107.
- Ricker (1948). Methods of estimating vital statistics of fish populations. Indiana University Publication, Science Series No. 15, 101 p
- Roy, A. M., Bhaduri, J., Kumar, T., & Raj, K. (2023). WilDect-YOLO: An efficient and robust computer vision-based accurate object localization model for automated endangered wildlife detection. *Ecological Informatics*, 75, 101919.
- Royal Forestry Society (2021). The cost of grey squirrel damage to woodland in England and Wales. <https://www.rfs.org.uk/media/848494/grey-squirrel-impact-report-overview.pdf>
- Rushton, S. P., Lurz, P. W. W., Gurnell, J., & Fuller, R. (2000). Modelling the spatial dynamics of parapoxvirus disease in red and grey squirrels: A possible cause of the decline in the red squirrel in the UK? *Journal of Applied Ecology*, 37(6), 997–1012. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2664.2000.00553.x>
- Sainsbury, A. W., Nettleton, P., Gilray, J., & Gurnell, J. (2000). Grey squirrels have high seroprevalence to a parapoxvirus associated with deaths in red squirrels. In *Animal conservation forum* (Vol. 3, No. 3, pp. 229-233). Cambridge University Press.

- Saunders, G., Kay, B., Nicol, H. (1993). Factors affecting bait uptake and trapping success for feral pigs (*Sus scrofa*) in Kosciuszko National Park, *Wildlife Research*, 20(5):653-665
- Saunders, G., and Harris, S. (2000). Evaluation of attractants and bait preferences of captive red foxes (*Vulpes Vulpes*). *Wildlife Research*, 27:237-243
- Scapin, P., Ulbano, M., Ruggiero, C., Balduzzi, A., Marsan, A., Ferrari, N., & Bertolino, S. (2019). Surgical sterilization of male and female grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) of an urban population introduced in Italy. *Journal of Veterinary Medical Science*, 81(4), 641–645. <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0319>
- Schindler, F., & Steinhage, V. (2021). Identification of animals and recognition of their actions in wildlife videos using deep learning techniques. *Ecological Informatics*, 61, 101215.
- Selemani, M., Makundi, R. H., Massawe, A. W., Mhamphi, G., Mulungu, L. S., & Belmain, S. R. (2022). Impact of contraceptive hormones on the reproductive potential of male and female commensal black rats (*Rattus rattus*). *Integrative Zoology*, 17(6), 991-1001.
- Sheehy, E., & Lawton, C. (2014). Population crash in an invasive species following the recovery of a native predator: the case of the American grey squirrel and the European pine marten in Ireland. *Biodiversity and conservation*, 23, 753-774.
- Sheehy, E., Sutherland, C., O'Reilly, C., & Lambin, X. (2018). The enemy of my enemy is my friend: Native pine marten recovery reverses the decline of the red squirrel by suppressing grey squirrel populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 285(1874). <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.2603>
- Shore, R. F., & Coeurdassier, M. (2018). Primary exposure and effects in non-target animals. *Anticoagulant rodenticides and wildlife*, 135-157.
- Shuttleworth, C., Lurz, P. W., & Gurnell, J. (2016). The grey squirrel: ecology & management of an invasive species in Europe. *European Squirrel Initiative*.
- Siers, S., Sugihara, R. T., Leinbach, I., Pyzyna, B. R., & Witmer, G. (2020). Laboratory evaluation of the effectiveness of the fertility control bait ContraPest® on wild-captured black rats (*Rattus rattus*).
- South, A. (1999). Extrapolating from individual movement behaviour to population spacing patterns in a ranging mammal. *Ecological Modelling*, 117(2-3), 343-360.
- Southey, A. K., Sleeman, D. P., Prendergast, J., O'Sullivan, R. F., and Mulcahy, M. F. (2000). Use of biomarkers to assess the feasibility of delivering a vaccine to badgers (*Meles meles*). *Journal of Zoology*, 253, 133–139.
- Stevenson, C. D., Ferryman, M., Nevin, O. T., Ramsey, A. D., Bailey, S., & Watts, K. (2013). Using GPS telemetry to validate least-cost modeling of gray squirrel (*Sciurus carolinensis*) movement within a fragmented landscape. *Ecology and Evolution*, 3(7), 2350-2361.
- Stuart, A. M., Herawati, N., Aini, Risnelli, Sudarmaji, Liu, M., Zhang, Z., Hongjun, L. I., Singleton, G. R., & Hinds, L. A. (2022). Reproductive responses of rice field rats (*Rattus argentiventer*) following treatment with the contraceptive hormones, quinestrol and levonorgestrol. *Integrative Zoology*, 17(6), 1017–1027. <https://doi.org/10.1111/1749-4877.12598>
- Tattoni, C., Preatoni, D. G., Lurz, P. W., Rushton, S. P., Tosi, G., Bertolino, S. & Wauters, L. A. (2006). Modelling the expansion of a grey squirrel population: implications for squirrel control. *Biological Invasions*, 8, 1605-1619.

- Taylor, J. C. (1966). Home range and agonistic behaviour in the grey squirrel. *Symposium of the Zoological Society of London* 18: 229-235
- Teangana, D. Ó., Reilly, S., Montgomery, W. I., & Rochford, J. (2000). Distribution and status of the Red Squirrel (*Sciurus vulgaris*) and Grey Squirrel (*Sciurus carolinensis*) in Ireland. *Mammal Review*, 30(1), 45–56. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2907.2000.00054.x>
- Terven, J., & Cordova-Esparza, D. (2023). A comprehensive review of YOLO: From YOLOv1 to YOLOv8 and beyond. *arXiv preprint arXiv:2304.00501*.
- Thombre, S., Zhao, Z., Ramm-Schmidt, H., García, J. M. V., Malkamäki, T., Nikolskiy, S., ... & Lehtola, V. V. (2020). Sensors and AI techniques for situational awareness in autonomous ships: A review. *IEEE transactions on intelligent transportation systems*, 23(1), 64-83.
- Thompson, D. C. (1977). Reproductive behavior of the grey squirrel. *Canadian Journal of Zoology*, 55(7), 1176-1184.
- Thompson, D. C. (1978). The social system of the grey squirrel. *Behaviour*, 64(3-4), 305-328.
- Thorsen, M., Shorten, R., Lucking, R. and Lucking, V., (2000). Norway rats (*Rattus norvegicus*) on Fregate Island, Seychelles: the invasion; subsequent eradication attempts and implications for the island's fauna. *Biological Conservation*, 96(2), pp.133-138.
- Tiberi, C., Beatham, S., Coats, J., Rochester, I., Roos, D., Primi, R., ... & Massei, G. (2025). An assessment of whether age, sex, and reproductive status affect bait uptake by grey squirrels. *The Journal of Wildlife Management*, 89(2), e22687.
- Tufto, J., Andersen, R., & Linnell, J. (1996). Habitat Use and Ecological Correlates of Home Range Size in a Small Cervid: The Roe Deer. In *Source: Journal of Animal Ecology* (Vol. 65, Issue 6).
- Turner Jr, J. W., Liu, I. K., & Kirkpatrick, J. F. (1992). Remotely delivered immunocontraception in captive white-tailed deer. *The Journal of Wildlife Management*, 154-157.
- Van Gils, J. (2022). Recognition of wildlife behaviour in camera-trap photographs using machine learning.
- Vélez, J., McShea, W., Shamon, H., Castiblanco-Camacho, P. J., Tabak, M. A., Chalmers, C., ... & Fieberg, J. (2023). An evaluation of platforms for processing camera-trap data using artificial intelligence. *Methods in Ecology and Evolution*, 14(2), 459-477.
- Vilà, M., Basnou, C., Pyšek, P., Josefsson, M., Genovesi, P., Gollasch, S., ... & DAISIE partners. (2010). How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 8(3), 135-144.
- Villa, A. G., Salazar, A., & Vargas, F. (2017). Towards automatic wild animal monitoring: Identification of animal species in camera-trap images using very deep convolutional neural networks. *Ecological informatics*, 41, 24-32
- Wauters, L., & Dhondt, A. A. (1992). Spacing behaviour of red squirrels, *Sciurus vulgaris*: variation between habitats and the sexes. *Animal Behaviour*, 43(2), 297-311.
- Wauters, L. A., Gurnell, J., Martinoli, A., & Tosi, G. (2002). Interspecific competition between native Eurasian red squirrels and alien grey squirrels: Does resource partitioning occur? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 52(4), 332–341. <https://doi.org/10.1007/s00265-002-0516-9>

- Wauters, L., Tosi, G., & Gurnell, J. (2005). A review of the competitive effects of alien grey squirrels on behaviour, activity and habitat use of red squirrels in mixed, deciduous woodland in Italy. *Hystrix*, 16(1).
- Webley, G. E., & Johnson, E. (1983). Reproductive physiology of the Grey squirrel (*Sciurus carolinensis*). *Mammal Review*, 13(2-4), 149-154.
- Whisson, D. A., & Salmon, T. P. (2009). Assessing the effectiveness of bait stations for controlling California ground squirrels (*Spermophilus beecheyi*). *Crop Protection*, 28(8), 690–695. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2009.04.002>
- Whitaker, J. O., & Hamilton, W. J. (2019). *Mammals of the eastern United States*. Cornell University Press, Ithaca, New York, USA
- Yoder, C. A., Avery, M. L., Keacher, K. L., & Tillman, E. A. (2007). Use of DiazaCon™ as a reproductive inhibitor for monk parakeets (*Myiopsitta monachus*). *Wildlife Research*, 34(1), 8-13.
- Yoder, C. A., Mayle, B. A., Furcolow, C. A., Cowan, D. P., & Fagerstone, K. A. (2011). Feeding of grey squirrels (*Sciurus carolinensis*) with the contraceptive agent DiazaCon™: effect on cholesterol, hematology, and blood chemistry. *Integrative Zoology*, 6(4), 409-419.
- Zhao, M., Liu, M., Li, D., Wan, X., Hinds, L. A., Wang, Y., & Zhang, Z. (2007). Anti-fertility effect of levonorgestrel and quinestrol in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*) . *Integrative Zoology*, 2(4), 260–268. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2007.00059.x>