

VALUTAZIONE DELLO STRESS DA CATTURA NELLE LEPRI
(*LEPUS EUROPAEUS PALLAS*)

STRESS EVALUATION IN HARES CAPTURED FOR TRASLOCATION
(*LEPUS EUROPAEUS PALLAS*)

GISELLA PACI ⁽¹⁾, BALDASSARE FRONTE ⁽¹⁾, MARCO FERRETTI ⁽²⁾,
STEFANIA PORRINI ⁽²⁾, MARCO BAGLIACCA ⁽¹⁾

RIASSUNTO

Per valutare lo stress da cattura nella lepre è stato condotto uno studio su 66 soggetti catturati in 14 zone di ripopolamento della provincia di Firenze e su 10 soggetti nati e allevati in gabbia. Gli animali sono stati sottoposti ai seguenti rilievi: controllo del peso, della temperatura corporea, della frequenza respiratoria e cardiaca, determinazione dell'età e prelievo ematico. Sui campioni di sangue sono stati analizzati: glucosio, ALT, AST, CK e cortisolo.

I soggetti selvatici hanno manifestato i livelli glicemici più bassi mentre le lepri di allevamento hanno presentato i valori di glicemia più elevati (153mg/dl, 222mg/dl vs. $P < 0.05$). I valori di AST, così come la frequenza respiratoria, sono risultati costantemente più elevati nelle femmine rispetto ai maschi. Le lepri selvatiche hanno infine presentato livelli significativamente più alti di CK rispetto ai soggetti di allevamento.

I risultati ottenuti mostrano che le lepri selvatiche risentono delle operazioni di cattura ed i parametri più idonei a valutarne lo stato di affaticamento e lo stress subito sono la glicemia e la CK.

Parole chiave: lepre comune, cattura, parametri ematici, stress.

SUMMARY

The research was carried out during the capture of the hares. Sixty-six hares (experimental group), coming from fourteen different protected areas of Central Italy, were subjected to blood drawing, control of body temperature, hearth and respiratory rate. The same parameters were contemporaneously obtained from ten hares (about one year old) born and reared in cages and, therefore, with a reduced man-fear (control group). Blood samples (plasma) were analysed for glucose, AST (GOT), ALT (GPT), CK and cortisol concentrations.

Results showed that the hares reared in cages presented the highest value of glucose while the wild captured hares showed the lowest value (222mg/dl vs. 153mg/dl, $P < 0.05$). These differences were explained by the runs and the escape-attempts during the captures which causes a strong depletion of carbohydrate resources. The level of AST and respiratory rate resulted higher in females than in males. CK, indicator of muscle damage (myopathy), resulted higher

⁽¹⁾ Dipartimento di Produzioni Animali, Direttore Prof. Paolo Verità.

⁽²⁾ Collaboratore esterno, tecnico faunistico dell'ATC5 FI.

in captured hares.

The results obtained during the sanitary monitoring showed that most of captured hares, showing values of glucose and CK differing from the control reared hares, are stressed and, consequently have different potential survivals after traslocation. The pain could probably cause different categories of capture myopathy (peracute, acute, sub-acute and chronic myopathy) which can be graded by the determination of CK and AST.

Key words: brown hare, capture, blood parameters, stress.

INTRODUZIONE

Da alcuni anni l'attenzione dei ricercatori si è incentrata sulle possibili conseguenze che può avere lo stress sui danni muscolari e sulla sopravvivenza degli animali selvatici sottoposti a cattura (Bateson & Bradshaw, 1997; Carragher e coll., 1982; Hanlon e coll., 1995; Paci e coll., 2004). In particolare alcuni studi condotti all'estero sul daino e sulla lepre hanno messo in evidenza che i soggetti possono reagire alla cattura con risposte di varia intensità, che vanno da una miopatia iperacuta, che determina morte improvvisa, ad una miopatia cronica che, pur lasciando vivi gli animali per giorni e anche per mesi, ne compromette la capacità potenziale di sopravvivenza dopo la loro traslocazione.

Dal momento che lo stress genera alterazioni di natura patologica, comportamentale e fisiologica, lo studio di questo fenomeno può essere affrontato attraverso vari tipi di approcci, che si differenziano per la metodologia impiegata. L'approccio funzionale basato sull'impiego di indicatori fisiologici, come livelli ormonali, frequenza cardiaca, respiratoria ed altri, appare tra le metodologie più indicate, perché di più semplice esecuzione, nella valutazione dello stress degli animali selvatici. A tale scopo infatti per la valutazione dello stress da cattura vengono generalmente impiegati il monitoraggio cardiaco per la valutazione dell'attivazione dell'asse simpatico-medullo-surrenale, il monitoraggio ormonale (cortisolo) per la valutazione dell'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-cortico-surrenale, ed in aggiunta il controllo enzimatico dell'aspartato aminotransferasi (AST) e della creatin-fosfo-chinasi (CK) per la valutazione del danno muscolare. Dal momento che per la traslocazione dalle aree di riproduzione protetta alle zone dove la caccia non è interdetta le lepri vengono periodicamente catturate (Paci e coll., 2001) e pertanto sottoposte a stress, è stato condotto uno studio per individuare i migliori indicatori di stress.

MATERIALI E METODI

Per l'esperienza, condotta nel periodo gennaio-febbraio dell'anno 2004, sono state utilizzate 66 lepri provenienti da 14 zone di ripopolamento e cattura dell'ambito territoriale di caccia della provincia di Firenze (ATC5-FI) e 10 soggetti, nati e cresciuti in gabbie di allevamento, come controllo.

Su tutti i soggetti, dopo il prelievo del sangue raccolto dalla vena auricolare, sono stati effettuati i seguenti rilievi: stato sanitario generale, temperatura rettale, frequenza respiratoria e cardiaca, determinazione del sesso e dell'età. L'età è stata ricavata dalla schede di allevamento per i soggetti di controllo e dalla palpazione del tubercolo di Stroh per i soggetti selvatici (Broekhuizen & Maaskamp, 1979). Tutte le lepri di controllo sono state scelte tra quei soggetti che dimostravano una ridotta paura nei confronti dell'uomo ed il prelievo, analogamente a quanto effettuato nei soggetti selvatici, è stato condotto rapidamente, su gli animali bendati.

Sui campioni di plasma, circa 1 ml, ottenuti impiegando provette contenenti Li-eparina e sottoponendo gli stessi ad opportuna centrifugazione, sono state effettuate le seguenti analisi: glicemia, creatinin-fosfochinasi (CK), cortisolo, alaninaminottransferasi (ALT) e aspartato-aminottransferasi (AST). Le relazioni tra parametri ematici, sesso, età, origine e zona di cattura sono state analizzate tramite l'ANOVA (SAS, 2002). La significatività delle differenze è stata testata utilizzando il test di Tukey per le zone di cattura e il t di Student per tutte le altre fonti di variazione.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nella Tab. I sono riportati gli effetti esercitati dal sesso, dall'età e dall'origine sui parametri ematici e fisiologici delle lepri analizzate.

Come si può rilevare dall'osservazione dei dati le lepri allevate in gabbia hanno presentato i valori di glicemia più elevati mentre i soggetti di origine selvatica hanno manifestato i livelli glicemici più bassi (222mg/dl vs. 153mg/dl, $P < 0.05$). Si può evidenziare inoltre che non si rilevano differenze sia tra i maschi e le femmine che fra i giovani e gli adulti. È opportuno sottolineare che le corse ed i tentativi di fuga durante le catture determinano una forte caduta delle fonti energetiche di carboidrati (Bateson & Bradshaw, 1997) che può spiegare le differenze osservate tra gli animali di cattura e quelli di allevamento. Anche i valori medi degli enzimi ALT e particolarmente AST che, come è noto, costituisce un valido indicatore di danni muscolari (Paci & Bagliacca, 2003), risultano tendenzialmente più elevati nelle lepri di cattura rispetto a quelle allevate. Una differenza significativa si rileva però tra i sessi per quanto riguarda l'attività dell'AST. Come osservato durante l'attività venatoria nei confronti di altre specie di mammiferi selvatici, esempio nella caccia al daino, l'attività enzimatica di AST degli animali cacciati e poi abbattuti risulta sempre molto elevata (Bateson & Bradshaw, 1997). E tende a salire anche dopo la fine dell'azione esercitata dal fattore stressogeno. È necessario sottolineare che, all'interno del gruppo di lepri selvatiche controllato, erano presenti soggetti che avevano risposto con particolare intensità allo stress ed altri che avevano manifestato una minore sensibilità. Ciò ha generato una grande variabilità tra i dati e di qui la difficoltà di evidenziare differenze significative tra le popolazioni per questi parametri. Non deve essere inoltre trascurato il fatto che l'eccessiva variabilità di risposta da parte degli animali selvatici può essere legata alla differenziazione delle metodologie e dei tempi di cattura, in quanto i soggetti sono stati catturati in zone diverse e da differenti gruppi cacciatori/battitori.

Tab. I. Parametri fisiologici ed ematici di lepri di cattura e di allevamento.
Physiological and haematological parameters of the captured and reared hares.

	Sesso - <i>sex</i>		Età - <i>Age</i>		Origine - <i>Origin</i>		
	Femmine <i>Females</i>	Maschi <i>Males</i>	Giovani <i>Young</i>	Adulti <i>Adults</i>	Selvatici <i>Captured</i>	Allevamento <i>Reared</i>	
Glicemia - <i>mg/</i> <i>Glucose</i>	dl	185	189	191	183	153 b	222 a
	s.e.	14,4	13,6	11,3	17,0	8,8	21,0
GOT/AST	UI/I	173 a	113 b	137	150	181	106
	s.e.	26,1	24,6	20,9	30,2	15,0	39,3
GPT/ALT	UI/I	77,07	65,69	68,89	73,87	79,07	63,69
	s.e.	5,7	5,3	4,4	6,7	3,5	8,2
CK	UI/I	3347	1814	2596	2564	4274 a	887 b
	s.e.	738,9	693,9	577,1	871,2	450,2	1072,4
Cortisolo - <i>Cortisol</i>	μ l	12,1	9,8	12,8	9,1	12,0	9,8
	s.e.	1,64	1,57	1,30	1,94	0,99	2,43
T	°C	38,3	38,2	38,1	38,4	38,2	38,4
	s.e.	0,12	0,10	0,10	0,11	0,08	0,20
Frequenza respiratoria <i>Respiratory</i>	n/'	77 a	67 b	69	76	71	7
	s.e.	3,5	3,0	3,1	3,4	2,3	5,8
Frequenza cardiaca <i>Heart rate</i>	n/'	113	98	97	113	103	97
	s.e.	6,3	5,3	5,5	6,1	4,0	10,2

Nota: lettere diverse indicano differenze significative per $p < 0,05$. *Note: means with different superscripts differ per $p < 0,05$.*

I valori di CK, che tra gli enzimi risulta essere quello più sensibile nell'indicare danni e forti affaticamenti muscolari, nonostante una elevata variabilità, hanno presentato differenze sempre significative tra le lepri allevate e quelle di cattura.

I livelli di cortisolo, che come è noto rappresenta una misura della intensità di risposta della corteccia surrenale e pertanto impiegato come indicatore dello stress, sono risultati sempre più elevati negli animali catturati piuttosto che in quelli di allevamento, pur non raggiungendo mai la minima differenza significativa a causa dell'elevata variabilità. Il cortisolo è comunemente riportato come "ormone dello stress" poiché la sua produzione è associata a molti tipi di cambiamenti fisici ed emozionali, come l'attività, l'isolamento sociale, la perdita dello status sociale e l'ipoglicemia (Broom & Johnson, 1993). Nel caso presente il cortisolo non ha mostrato alcuna differenza tra i due gruppi considerati e pertanto non appare particolarmente

indicato nell'individuare situazioni di stress nella lepre. Broom & Johnson (1993) riportano infatti che situazioni che potrebbero essere riferibili ad un particolare stato di sofferenza sono talvolta, ma non sempre, associate ad un incremento dei glicocorticoidi. Inoltre non può essere trascurato il fatto che la bassa risposta registrata potrebbe essere legata al tempo trascorso tra il rilascio di glicocorticoidi ed il prelievo ematico. I glicocorticoidi vengono rilasciati in circolo con un certo ritardo rispetto ad altri ormoni indicatori di stress (adrenalina e noradrenalina); il prelievo di sangue è stato per questo motivo sempre effettuato entro 1-2 minuti dal momento in cui gli animali venivano estratti dalla cassetta di contenimento o dalla gabbia allo scopo di misurare effettivamente il cortisolo prodotto in risposta allo stress da cattura e non dalla manipolazione e dal contenimento per il prelievo del sangue. Il cortisolo ritorna però ai valori basali molto rapidamente e, non si deve dimenticare che le lepri, dopo le operazioni di cattura con le reti, vengono alloggiati nelle cassette di contenimento prima di essere esaminate per tempi variabili, talvolta piuttosto lunghi (1-3 h).

Per quanto riguarda i cambiamenti fisiologici, frequenza respiratoria, temperatura corporea e frequenza cardiaca, che potrebbero essere facilmente misurati dagli operatori, recando poco disturbo agli animali, non è stata evidenziata alcuna differenza tra i due gruppi. Un significativo incremento della frequenza respiratoria è stato rilevato a carico delle femmine rispetto ai maschi, denotando nuovamente una maggiore reattività e attività muscolare già sottolineata dall'incremento di AST osservato sempre nello stesso sesso.

Nella Tab. II vengono riportati i valori relativi ai parametri ematici e fisiologici per zona esaminata. La glicemia, AST e CK presentano differenze significative tra le zone. In particolare la glicemia più elevata si rileva nei soggetti di cattura della zona di Montepaldi mentre i tassi glicemici più bassi compaiono in quelli della zona di Petriolo. Per quanto riguarda i valori di AST e CK gli animali di cattura, che fanno registrare i valori enzimatici più elevati, appartengono alla zona di Rimorti mentre quelli che presentano i tassi ematici più bassi sono i soggetti catturati nella zona di Sotterra. Le differenze osservate fanno supporre che le risposte fornite dagli animali possano essere fortemente condizionate dagli operatori e dalle modalità e dai tempi impiegati nelle catture.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti attraverso il monitoraggio sanitario dimostrano che la maggior parte delle lepri di cattura risentono in maniera, talvolta, anche incisiva dello stress esercitato dalla tecnica adottata. Lo stato di sofferenza manifestato sembra doversi porre principalmente in relazione ai danni muscolari conseguiti. Le corse e le fughe e le manipolazioni impiegate per liberare le lepri dalle reti possono essere causa di miopatie talvolta anche gravi. Non è raro infatti assistere alla morte improvvisa degli animali di cattura in caso di miopatia iperacuta, o trovare animali morti nei giorni successivi alla cattura per miopatia acuta e subacuta.

Tab. II. Parametri fisiologici ed ematici delle lepri catturate in diverse zone di ripopolamento della provincia di Firenze. *Physiological and haematological parameters of the hares captured in the different protected areas of the province of Florence.*

Zona Ripopolamento: Protected area name:	Chianti					Elsa					Arno				P
	Sotterra	Monte paldi	Spedaleto- Chiesanova	Petriolo Lucia	Santa Lucia	Castagneto Petroio	Gugnani	Rimorti	Le Bartoline	Pratelli Quintole	Pieve a Pitiana	San Donato a Gaville			
Glicemia - Glucose	201	258	187	74	86	89	182	144	153	194	129	147	160	178	<0,05
	s.e.	22,3	31,5	20,0	20,0	25,8	25,8	44,6	22,3	22,3	25,8	20,0	31,5	25,8	NS
GOT/AST	66	163	285	173	196	137	290	230	340	133	123	119	147	143	<0,05
	s.e.	43,7	48,9	69,1	43,7	56,4	56,4	97,7	48,9	48,9	56,4	43,7	69,1	56,4	
GPT/ALT	596	66,8	72,5	89,2	99,2	73,0	93,7	86,0	90,8	64,8	80,7	76,8	78,5	53,3	NS
	s.e.	11,19	12,51	17,69	11,19	14,45	14,45	25,02	12,51	12,51	14,45	11,19	17,69	14,45	
CK	1262	2582	3801	5550	6583	2181	6086	-	8153	2352	5128	1248	1842	2874	<0,05
	s.e.	1122	1254	1774	1122	1448	1448	-	1254	1254	1448	1122	1774	1448	
Cortisolo - Cortisol	105	17,4	23,4	13,0	6,8	10,9	8,9	8,5	7,8	11,8	14,2	9,8	20,7	9,2	NS
	s.e.	3,23	3,61	4,17	2,73	3,23	4,17	7,22	3,61	3,61	4,17	3,23	5,11	4,17	
T	38,2	38,2	38,6	38,0	38,0	38,2	38,4	38,5	38,3	38,0	37,6	39,1	38,0	38,4	NS
	s.e.	0,26	0,26	0,29	0,22	0,26	0,24	0,59	0,26	0,26	0,29	0,26	0,29	0,29	
Frequenza respiratoria	66	65	83	64	70	64	71	67	74	71	72	71	75	96	NS
	n'														
Frequenza cardiaca	89	98	98	114	125	93	105	95	127	84	90	79	98	145	NS
	n'														
Heart rate	14,4	14,4	16,1	12,2	14,4	14,4	13,1	22,7	14,4	14,4	16,1	14,4	16,1	16,1	
	s.e.														

Nota: NS = valori non significativi. Note: NS = no statistically significant differences.

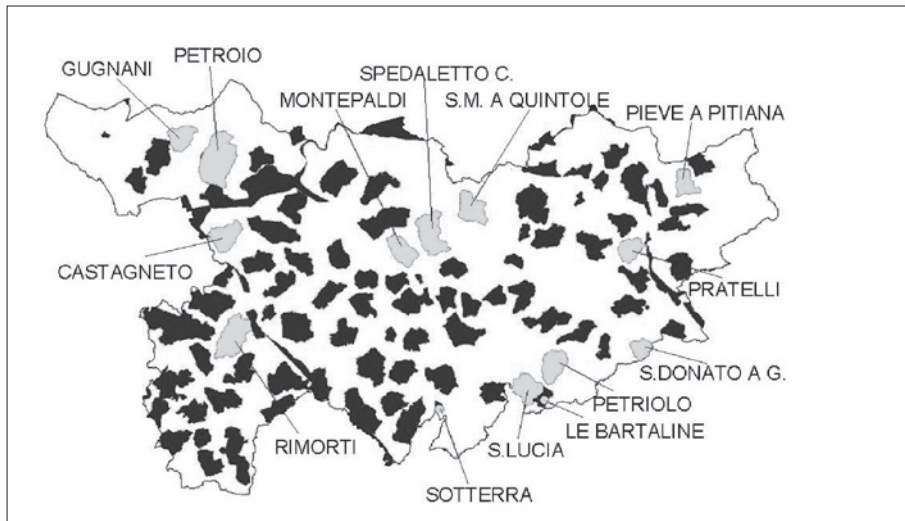


Fig.1. Zone di ripopolamento della provincia di Firenze in cui è stato effettuato il monitoraggio. *Geographic positioning of the different protected areas for the wild reproduction of the hares.*

L'uso dell'indagine sanitaria, adottata di routine su un campione della popolazione catturata, potrebbe fornire utili indicazioni per valutare la minore o maggiore capacità operativa degli operatori e quindi permettere di migliorare le tecniche adottate. Non deve essere sottovalutato il fatto che una buona tecnica di cattura non solo risponde alle esigenze di benessere animale ma migliora anche i risultati di sopravvivenza degli animali traslocati.

BIBLIOGRAFIA

- BATESON P., BRADSHAW E.L. (1997). Physiological effects of hunting red deer (*Cervus elaphus*). Proc. Royal Soc. London B, 264: 1707-1714.
- PACI G., BAGLIACCA M. (2003). La lepre e l'ambiente agricolo. Large Anim. Rev., 9(2): 47-55.
- PACI G., BAGLIACCA M., FRONTE B., LAVAZZA A. (2004). Stress evaluation in hares (*Lepus europaeus* Pallas) captured for traslocation and monitored for European Brown Hare Syndrome. World Lagomorph. Conf., Vairao, Portugal, July 26-31, 2: 188-189.
- PACI G., LAVAZZA A., PROFUMO A., FERRETTI M., BAGLIACCA M. (2001). Relationship between habitat traits, census and haematic parameters of brown hares. Symp. Decline of the European Hares: an Interdisciplinary European Research Task', Berlin, April 2001, Abst. # 14.
- BROEKHUIZEN S., MAASKAMP F. (1979). Age determination in the European hare (*Lepus europaeus* Pallas) in the Netherlands. Zeitschrift für Säugetierkunde, 44: 162-175.

- BROOM D.M., JOHNSON K.G. (1993). Stress and animal welfare. Ed. Chapman & Hall, London.
- CARRAGHER J.F., INGRAM J.R., MATTHES L.R. (1982). Effects of yarding and handling procedures on stress responses of red deer stags (*Cervus elaphus*). Appl. Anim. Behav. Sci., 51:143-158.
- HANLON A.J., RHIND S.M., REID H.W., BURRELLS C., LAWRENCE A.B. (1995). Effects of repeated changes in group composition on immune response, behaviour, adrenal activity and liveweight gain in farmed red deer yearlings. Appl. Animal Beh. Sc., 44: 57-64.
- SAS (2002). JMP® Statistical and Graphics Guide. SAS Institute Inc. Cary NC. USA. ISBN 1-59047-070-2.