



Con il contributo dello strumento finanziario
LIFE della Comunità Europea



Project LIFE14 NAT/IT/000209

PROGETTO LIFE14 NAT/IT/000209 EREMITA
Coordinated actions to preserve residual and isolated populations of
forest and freshwater insects in Emilia-Romagna

Azione A7

**Piano di restocking di *Graphoderus bilineatus* (De Geer, 1774)
(Arthropoda, Insecta) in Emilia-Romagna**

Ornella De Curtis, Cristina Barbieri, Roberto Fabbri, Giovanni Carotti, Willy Reggioni, Francesca Moretti, Davide Alberti, Massimiliano Costa, Monica Palazzini Cerquetella



Regione Emilia-Romagna - Servizio Aree protette, Foreste e Sviluppo della Montagna
Bologna - Italia

Ringraziamenti

Il presente documento è stato redatto grazie al contributo della squadra di tecnici ed entomologi validamente impegnati nel progetto Life Eremita. L'impostazione generale dei contenuti fondamentali del documento risale al 2018 con la supervisione scientifica del prof. Paolo Audisio dell'Università di Roma e, per la genetica, del prof. Leonardo Congiu dell'Università di Padova. Inoltre, l'impostazione del piano non sarebbe stata possibile, senza la collaborazione di Tommy Karlsson, della County Administrative Board of Östergötland (Svezia), Martina Temunovic dell'Università di Zagabria (Croazia) e Mārtiņš Kalniņš, entomologo, in forze alla organizzazione Latvijas valsts meži, che si sono resi disponibili a collaborare per la individuazione delle popolazioni sorgenti nei rispettivi paesi e a fornire il supporto per l'ottenimento delle specifiche autorizzazioni al prelievo degli animali.

Citazione raccomandata:

De Curtis O., Barbieri C., Fabbri R., Carotti G., Reggioni W., Moretti F., Alberti D., Costa M., Palazzini Cerquetella M., 2019. Piano di restocking di *Graphoderus bilineatus* (De Geer, 1774) (Arthropoda, Insecta) in Emilia-Romagna. Regione Emilia-Romagna, Servizio Aree protette, foreste e sviluppo della montagna, Bologna: 17 pp.

Gli autori Ornella De Curtis, Monica Palazzini Cerquetella, Willy Reggioni, Francesca Moretti, Davide Alberti, Massimiliano Costa, hanno fornito contributi per i rispettivi enti di appartenenza nell'ambito del partenariato di progetto; gli autori Roberto Fabbri, Cristina Barbieri e Giovanni Carotti hanno fornito contributi nell'ambito dei rispettivi contratti di incarico.

Sommario

Premessa	4
1.Introduzione	4
2. Strategia e impostazione del piano di <i>restocking</i>	6
3. Obiettivo del piano di <i>restocking</i>	6
4. Individuazione delle popolazioni sorgenti e numero di esemplari da prelevare	7
4.1 Procedure e tecniche per la cattura e prelievo degli esemplari.....	8
4.2 Procedure e tecniche per il trasporto degli esemplari	9
5. Stoccaggio degli esemplari	10
6. Siti di reintroduzione	11
7. Cronoprogramma	13
8. Gruppo di lavoro e personale impiegato.....	13
9. Informazione e coinvolgimento degli stakeholder	14
Bibliografia.....	15

Premessa

“Re-introduction”: an attempt to establish a species in an area which was once part of its historical range, but from which it has been extirpated or become extinct (“Re-establishment” is a synonym, but implies that the re-introduction has been successful) (IUCN, 1987). Tale concetto è ripreso nell’aggiornamento dell’IUCN del 2013 “Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations”, come “Reintroduction is the intentional movement and release of an organism inside its indigenous range from which it has disappeared”.

Le reintroduzioni sono operazioni complesse e delicate; infatti, per ricostruire una popolazione in grado di autosostenersi è necessario un’attenta pianificazione e programmazione delle attività. Ciò presuppone un’attenta valutazione delle componenti che sono in grado di influenzarne il successo, quali la contemporanea sussistenza delle condizioni ambientali, economiche, politico-amministrative e sociali. Alla definizione del piano di *restocking*, segue la necessaria procedura autorizzativa. Le reintroduzioni delle specie autoctone di cui all’allegato D del D.P.R. n. 357/1997, secondo quanto stabilito all’art. 12 del medesimo D.P.R. n. 357/1997 e modificato ed integrato dal D.P.R. n. 120/2003, devono essere autorizzate sulla base della presentazione di uno specifico “studio che evidenzi che tale reintroduzione contribuisce in modo efficace a ristabilire dette specie in uno stato di conservazione soddisfacente”.

Il presente piano di reintroduzione di *Graphoderus bilineatus* in Emilia-Romagna viene redatto nell’ambito delle attività previste dal progetto LIFE14 NAT/IT/000209 EREMITA “Coordinated actions to preserve residual and isolated populations of forest and freshwater insects in Emilia-Romagna”¹ (<https://progeu.regione.emilia-romagna.it/it/life-eremita>).

1. Introduzione

La Regione Emilia-Romagna, nell’ambito del progetto LIFE14 NAT/IT/000209 EREMITA, promuove, come capofila, la reintroduzione del coleottero acquatico *Graphoderus bilineatus* in alcune stazioni idonee del territorio regionale, in linea con le proprie finalità di tutela e incremento della biodiversità regionale. La specie è inserita negli Allegati II e IV della Direttiva Habitat 92/43/CEE; è considerata dalla IUCN nella Lista Rossa europea come specie vulnerabile (VU) (Foster, 1996b) (tale giudizio è da ritenere attualmente non aggiornato, nota IUCN 2018) e in Italia secondo i criteri IUCN come in Pericolo Critico (CR) (Nardi *et al.*, 2015). In Emilia-Romagna lo *status* di conservazione del *taxon* risulta inadeguato ed è stato valutato come criticamente minacciato (CR) nella Lista Rossa regionale (Agnelli *et al.*, 2010) (Fabbri *et al.*, 2018).

Il piano prevede di trasferire alcuni esemplari, la cui idoneità genetica è stata ritenuta adeguata, da stazioni di presenza della specie con popolazioni vitali (situate in più siti extranazionali) in stazioni ritenute ecologicamente idonee sul territorio della Regione Emilia-Romagna. Prima della loro immissione in natura gli esemplari vengono stoccati in appositi allevamenti per consentire di acclimatarsi ed ambientarsi per poi essere rilasciati in natura successivamente.

Il piano si basa su alcune premesse fondamentali:

- Il progetto Life prevedeva inizialmente azioni di *captive breeding* di *Graphoderus bilineatus* e successive immissioni in natura a partire da fondatori provenienti dalle popolazioni certe

¹ Il progetto LIFE14 NAT/IT/000209 EREMITA, finanziato dalla DG Ambiente della Commissione Europea, vede come beneficiario la Regione Emilia-Romagna ha lo scopo di assicurare, nel medio e lungo termine, le migliori condizioni per la conservazione, in Emilia-Romagna, delle popolazioni residuali di due insetti saproxilici di prioritario interesse conservazionistico (*Osmoderma eremita* e *Rosalia alpina*) e di due insetti di acque lentiche e lotiche di interesse comunitario (*Graphoderus bilineatus* e *Coenagrion mercuriale castellanii*), agendo essenzialmente sui fattori di minaccia di origine antropica.

di presenza seppure residuale, in funzione dei risultati di una vasta campagna di monitoraggio della specie e del suo habitat.

- Le campagne del monitoraggio *ex ante*, effettuate nel 2016 e 2017, hanno, confermato la presenza in Emilia-Romagna di una sola popolazione di *G. bilineatus*, la cui distribuzione è circoscritta ad un'unica stazione nell'alto Appennino modenese (Lago di Pratignano).
- Questa stazione presenta numeri estremamente bassi. Gli individui contattati nel corso del monitoraggio non hanno consentito infatti di determinare la consistenza della popolazione, pertanto è stata esclusa la possibilità di prelevare i fondatori per l'allevamento *ex situ* (Fabbri *et al.*, 2018).
- Secondo le informazioni acquisite nel corso del progetto LIFE Eremita, questa popolazione risulta essere ad oggi anche l'unica stazione di presenza della specie confermata per l'Italia.
- È stato quindi necessario adottare una strategia alternativa di emergenza, che si basasse sulla possibilità di reperire i fondatori da altre popolazioni europee di *G. bilineatus* che fossero in un buono stato di conservazione, con la possibilità di immissione degli stessi in alcune zone umide, individuate e ritenute idonee sul territorio regionale.
- L'Università degli Studi di Padova (responsabile della ricerca: prof. Congiu) ha tal fine svolto uno studio sulla variabilità genetica del *G. bilineatus* utilizzando campioni provenienti da vari paesi europei (Croazia, Ungheria, Lituania), con l'obiettivo di individuare la popolazione più vicina geneticamente a quella storicamente presente nel Lago Pratignano.
- L'indagine sulla diversità genetica osservata al gene per la COI mitocondriale ha rilevato che la popolazione del Lago di Pratignano ha una diversità genetica estremamente ridotta; nessuna delle popolazioni europee ha mostrato un aplotipo identico a quello rilevato nella popolazione relitta di Pratignano e non c'è una relazione significativa tra distanza genetica e distanza geografica tra popolazioni.

Il Piano ha un obiettivo che temporalmente si dovrà concretizzare con i risultati attesi alla conclusione del progetto LIFE Eremita, che è quello di ottenere, nelle stazioni di immissione (da n. 2 a n. 3 aree umide), una popolazione in grado di riprodursi. Tuttavia, l'obiettivo più ampio per la salvaguardia della specie a livello regionale (e nazionale) è l'ampliamento dell'areale di distribuzione della specie; va quindi oltre l'arco temporale del progetto LIFE. Questo obiettivo potrà essere raggiunto attraverso un'attività *captive breeding* presso gli allevamenti già attrezzati, con specifici piani di rincrocio con conseguente attività d'immissione in natura e attraverso il miglioramento dell'idoneità ambientale della rete ecologica regionale con l'eliminazione dei fattori di minaccia.

Il piano è strutturato in tre fasi:

1. Prima fase

Definisce nel dettaglio in quali aree, quando, chi e come si deve intervenire per prelevare gli esemplari dalle stazioni "sorgente" nei siti europei, nonché le modalità di trasporto degli animali.

2. Seconda fase

Definisce le modalità di stoccaggio temporaneo degli esemplari prelevati nei siti sorgenti per una necessaria attività di acclimatemento ed eventualmente, se i numeri lo consentono, l'avvio di un'attività di allevamento.

3. Terza fase

Individua gli ambienti idonei ad ospitare la specie target in Emilia-Romagna e le necessarie operazioni per consentire l'immissione.

Trasversalmente è importante pianificare opportune attività di informazione rivolte a diversi target, dai gestori e fruitori dei siti di reintroduzione alla più ampia cittadinanza.

Come evidenziato in premessa, senza un dettaglio preciso e puntuale dei tempi, luoghi e metodologie, il progetto potrebbe ottenere risultati inferiori rispetto a quelli attesi. Nella stesura del documento si è tenuto conto delle "Linee guida per l'immissione di specie faunistiche

di Ispra” (2007) e delle “Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations” IUCN (2013). Il piano di *restocking* sarà inviato al Ministero dell’Ambiente e dovrà ottenere un parere positivo da Ispra.

2. Strategia e impostazione del piano di *restocking*

La necessità di intervenire con un piano di *restocking* è stata discussa, già il 18/10/2016, con il responsabile di ISPRA, Dott. Genovesi, e con il prof. Paolo Audisio dell’Università La Sapienza di Roma, a seguito dei primissimi risultati della campagna di monitoraggio realizzata all’avvio del progetto LIFE nella primavera-estate 2016. Per avvalorare questa ipotesi, oltre al proseguo delle attività di monitoraggio (campagna 2017), è stato necessario svolgere uno specifico studio genetico condotto dall’Università di Padova (responsabile della ricerca: prof. Congiu), come già specificato nella introduzione.

La strategia per la salvaguardia della specie in Regione Emilia-Romagna è stata quindi decisa durante un successivo incontro con il dott. Genovesi di Ispra, con il prof. Audisio e con il prof. Congiu, durante il quale sono stati esposti i risultati delle indagini genetiche e confermata la scarsa contattabilità di esemplari di *G. bilineatus* nella stazione del Lago di Pratignano (MO) nella stagione di monitoraggio 2017.

Pertanto, con atto n. 13250 del 13/08/2018 della Regione Emilia-Romagna è stato istituito il gruppo di lavoro “Focus group per la specie target *Graphoderus bilineatus*” per la elaborazione di una tempestiva strategia di emergenza, che preveda la definizione di un piano di *restocking* di *G. bilineatus* e l’analisi della sua fattibilità. L’impostazione del piano in tre fasi: prelievo-stoccaggio-immissione è il risultato dell’operato del gruppo di lavoro, coordinato dal prof. Audisio. I referenti degli Enti territorialmente competenti e partner del progetto LIFE Eremita, Parco Nazionale dell’Appennino Tosco-Emiliano, Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi e i quattro Enti di Gestione delle Macroaree: Emilia Occidentale, Emilia Centrale, Emilia Orientale e Romagna, hanno individuato e verificato le stazioni potenzialmente idonee alla reintroduzione di *G. bilineatus*, mentre i referenti della Regione Emilia-Romagna si sono occupati di attivare un networking con più di 15 gruppi di ricerca in Europa per giungere ad individuare almeno 3 gruppi di ricerca disponibili a collaborare per la fornitura di esemplari di *G. bilineatus* provenienti da popolazioni vitali.

Il principale problema della popolazione residuale del *G. bilineatus* che si presenta oggi in Regione Emilia-Romagna (e a livello nazionale) alla luce delle indagini genetiche condotte nell’ambito del progetto LIFE Eremita, essendo quella del Lago di Pratignano una popolazione composta da un limitato numero di animali, è la perdita di diversità biologica, attraverso l’*inbreeding* e la deriva genetica.

3. Obiettivo del piano di *restocking*

L’obiettivo generale del piano è quello di incrementare la distribuzione di *Graphoderus bilineatus* nella regione Emilia-Romagna permettendo una successiva naturale e progressiva espansione della specie. Nel breve termine lo scopo è quello di ottenere per ognuna delle stazioni di reintroduzione, una sottopopolazione in grado di riprodursi e autosostenersi con probabilità di sopravvivere nel medio e lungo periodo. Entro la fine del progetto LIFE Eremita previsto per giugno 2022, si giungerà in tal modo all’aumento del 400% della consistenza numerica della specie e l’aumento del 200% dell’attuale area di presenza della specie in Emilia-Romagna e in Italia.

Fondamentale si ritiene anche la sensibilizzazione dell'opinione pubblica nei confronti dei problemi della conservazione di questa specie.

4. Individuazione delle popolazioni sorgenti e numero di esemplari da prelevare

Per acquisire indicazioni utili per la scelta della popolazione sorgente da cui prelevare individui per gli interventi di *restocking* e per individuare i criteri da tenere in considerazione per il recupero della popolazione italiana di *G. bilineatus*, tenendo conto delle "Linee guida per l'immissione di specie faunistiche" (ISPRA, 2007) e delle "*Guidelines for reintroductions and other conservation translocations*" (IUCN/SSC, 2013), ci si è basati sulla caratterizzazione genetica finalizzata alla comparazione tra la popolazione relitta di *Graphoderus bilineatus*, originariamente presente nel sito italiano del Lago di Pratignano, ed altre potenziali popolazioni sorgenti europee (Congiu *et alii*, 2018; Boscari *et alii*, 2020).

Le linee guida nazionali ed internazionali (ISPRA, 2007; IUCN/SSC, 2013) riportano che nel caso di una reintroduzione, gli scrupoli per la salvaguardia dell'integrità del patrimonio genetico originario sono meno stringenti, non essendoci più un pool genico autoctono da salvaguardare. I criteri di scelta della popolazione sorgente devono essere basati sia sui risultati delle indagini genetiche che su considerazioni di tipo ecologico. Nello studio genetico si parte da questo concetto e, sulla base anche dell'evidenza di risultati delle analisi condotte sulla popolazione italiana di Lago di Pratignano, che hanno evidenziato un forte collo di bottiglia e l'isolamento riproduttivo e la conseguente riduzione della variabilità genetica, viene proposto che la selezione della popolazione sorgente da cui trasferire gli animali destinati ad una eventuale reintroduzione nel sito italiano si debba basare prevalentemente su considerazioni ecologiche, di sostenibilità negli habitat prescelti e su uno studio delle comunità esistenti. Dal punto di vista genetico, allo scopo di evitare problemi di *outbreeding* si ritiene opportuno prelevare gli individui fondatori facendo attenzione a garantire una buona diversità genetica, evitando al contempo di introdurre animali provenienti da popolazioni geneticamente troppo differenti tra loro; la popolazione sorgente migliore in questo caso potrebbe essere quella in cui il grado di variabilità è più elevato e la numerosità della popolazione sia tale da consentire un prelievo di tutti gli animali necessari dallo stesso sito. Inoltre, al fine di minimizzare ulteriormente il rischio di *outbreeding*, è preferibile effettuare una campagna di reintroduzione preliminare in siti confinati e controllati. Questo permetterebbe di evitare l'ibridazione di eventuali superstiti della popolazione relitta italiana di Pratignano con individui geneticamente troppo diversi e/o poco adattati al nuovo habitat di introduzione.

Per reperire all'estero le popolazioni sorgenti da cui prelevare i fondatori si è attivato un networking con più di 15 gruppi di ricerca in Europa per giungere ad individuare tre gruppi di ricerca, scelti sulla base dei criteri sopra esposti e sulla base della disponibilità di popolazioni vitali localizzati in Svezia, Lettonia, Croazia che hanno sul proprio territorio siti con popolazioni che possano garantire il prelievo di fondatori di *G. bilineatus*. Hanno dato la loro disponibilità a collaborare al progetto i seguenti referenti dei tre Paesi individuati:

- Per la Svezia il referente è Tommy Karlsson, della County Administrative Board of Östergötland.
- Per la Croazia il referente è Martina Temunovic dell'Università di Zagabria.
- Per la Lettonia il referente è Mārtiņš Kalniņš, entomologo in forze alla organizzazione Latvijas valsts meži.

Per il prelievo degli esemplari è necessario ottenere autorizzazioni in relazione alla rispettiva normativa vigente in questi Paesi. In linea generale le informazioni da produrre per ottenere le necessarie autorizzazioni al prelievo sono le seguenti:

No. of individuals that will be collected.
Names of the person that will do the collection.
If the landowner has approved the collection (in the case of private property).
If the collection will take part in a protected area (Nature reserve and/or Natura 2000).
Description of the collection – method and aim.
When the collection will take place.
How the population(s) will be affected by the collection, both on local and national level.
What measures will take place to prevent negative effects on the population?
Is there other alternatives to reach the aim of the projects, e.g. other places to collect individuals from?
Will the collected individuals be shown public?
Will the collected individuals be captured and transported?
Maps that show the concerned area/sites – both overview and detail maps.

Il numero di esemplari necessari per la reintroduzione in ogni stazione (da 2 a 3 bacini d'acqua) in Emilia-Romagna è stato quantificato in n. 50 individui in rapporto tra sessi 1:1. Rispetto a questo obiettivo di progetto si procederà alla cattura in natura, nei siti idonei, di un numero superiore di individui, quantificabili in una percentuale compresa tra 10–20 %, per prevenire ogni fattore di rischio imponderabile, quali mortalità durante il trasporto o durante lo stoccaggio. Le località di prelievo verranno concordate con i partner europei in funzione della sostenibilità della popolazione sorgente e in funzione degli esiti delle procedure di autorizzazione sopra descritte.

4.1 Procedure e tecniche per la cattura e prelievo degli esemplari

Per il prelievo di *Graphoderus bilineatus* all'estero saranno utilizzate tecniche di cattura standard, varie volte utilizzate recentemente per la specie (Koese & Cuppen, 2006; Sierdsema & Cuppen, 2006; Koese et al., 2008; Hendrich et al., 2012; Volkova et al., 2013; Fabbri et al., 2008).

Per ogni stazione sorgente saranno raccolti i parametri chimico-fisici dell'acqua (pH, conducibilità, durezza, trasparenza, colore), misurati anche con sonda multiparametrica, i parametri morfometrici del bacino (profondità, ampiezza o superficie, spessore del detrito/limo): sarà inoltre svolto un rilievo vegetazionale (idrofiti, elofite, percentuale di ombreggiamento ripariale, ecc.) e sarà valutata la comunità di invertebrati presente.

Le catture saranno realizzate da aprile/maggio a settembre a seconda dell'altitudine e latitudine dei bacini. La durata di ogni sessione di raccolta sarà adeguata secondo la grandezza di ogni bacino. In linea generale si prevedono sessioni di circa una settimana da svolgersi durante tutto l'arco temporale giornaliero dalla mattina alla sera. Le sessioni verranno ripetute nello stesso bacino e sui bacini vicini fino al raggiungimento del numero di catture prefissate.

Gli adulti saranno catturati, dove l'acqua è poco profonda (normalmente inferiore ai 40 cm), attraverso l'utilizzo di un retino immanicato per macroinvertebrati acquatici con lato di 25 cm e rete con maglie di 1 mm di lato e profondità rete di 30 cm (Schauff, 1998; Koese & Cuppen, 2006; Koese et al., 2008; Vahruševs, 2009; Carlos Aguilar, 2011). Un singolo campionamento sarà costituito da 5–10 ampi movimenti in acqua a sinistra e a destra col retino, iniziando dall'acqua aperta e dirigendosi verso la riva. Ogni campionamento sarà ripetuto nello stesso luogo almeno altre 5 volte, spostandosi di qualche metro (questo è definito punto di

campionamento). Devono essere realizzati punti di campionamento ogni circa 10 m per ogni bacino di 50 m. I campionamenti saranno ripetuti dopo circa due ore. Il contenuto del retino sarà versato in una vaschetta di plastica bianca per verificare quanto catturato.

Abbinata alla ricerca con retino per invertebrati acquatici saranno utilizzate delle bottiglie trappole galleggianti innescate (FBBT) per la cattura a vivo. Le trappole devono essere installate in punti lontani almeno 5 m dai punti di campionamento con retino. Queste trappole sono molto utili per la cattura dove la profondità dell'acqua è elevata (*G. bilineatus* preferisce bacini con profondità almeno di 80 cm) e la vegetazione acquatica è densa. Queste sono costituite da bottiglie di plastica (anche biodegradabile) da 1,5–2 L (modificate a formare una nassa) con all'interno esche in piccola quantità a base di carne o pesce (Koese & Cuppen, 2006; Sierdsema & Cuppen, 2006; Koese et al., 2008; Vahruševs, 2009; Hendrich et al., 2012; Temunovic et al., 2016) entro una provetta bucata e con all'interno della bottiglia anche un sughero (privo di colle) per permettere il suo galleggiamento in caso di necessità e per avere sempre una bolla d'aria all'interno. L'imboccatura della trappola deve avere un diametro di circa 2 cm; la bottiglia va tagliata a circa 20 cm dalla base; la porzione superiore viene reinserita rovesciata, con il tappo rimosso. Le trappole vanno collocate verticali, con l'apertura verso il basso, legate a canne in modo che sporga il fondo della bottiglia per qualche cm dalla superficie; nel fondo vanno praticati alcuni fori per permettere all'aria di entrare e ai Ditischi e altri animali di respirare. In alternativa le trappole possono essere collocate ancorate al fondo, quindi legate ad un filo abbastanza lungo da raggiungere il fondo (all'altra estremità ci sarà un peso, es. sasso) oppure legate con filo a supporti naturali (es. alberi, arbusti, ecc.); in questi due ultimi casi è obbligatorio inserirvi almeno 1–2 sugheri per permettere l'emersione parziale. Alle trappole vanno fissate etichette, resistenti all'acqua, realizzate come da schema fornito. Le bottiglie trappola vanno installate lungo tutto il perimetro del bacino, a distanza di 5–10 m tra loro. Si collocheranno per ogni bacino fino a 25 trappole se il perimetro lo consente. Le trappole vanno poste lontano dai punti di campionamento con retino; meglio se si individuano transetti differenti e non sovrapposti, per i due metodi di monitoraggio. Le trappole sono lasciate in azione per circa 6–12 ore, almeno una notte e controllate minimo 2 volte.

Gli esemplari adulti saranno determinati, identificato il sesso, marcati e/o fotografati e posti nei contenitori per il trasporto. La foto-marcatura costituisce un modo univoco per identificare gli esemplari catturati. Accanto alla marcatura fotografica, è bene marcare gli esemplari nella parte superiore del corpo anche con un pennarello con la punta sufficientemente fine per le dimensioni dell'insetto. Il codice scelto per la marcatura deve prevedere un numero sufficiente di combinazioni per poter marcare in modo univoco tutti gli esemplari catturati durante il periodo di monitoraggio.

4.2 Procedure e tecniche per il trasporto degli esemplari

Il trasporto degli esemplari catturati potrà svolgersi o su gomma o via aerea, attraverso corriere. Per quanto riguarda il trasporto su gomma si prevede l'utilizzo di un furgone coibentato, per garantire il controllo della temperatura ed evitare sbalzi termici. Gli animali saranno contenuti in vasche di materiale plastico, dotate di impianto di ossigenazione (seppur non indispensabile, considerato che i ditischi respirano ossigeno atmosferico).

5. Stoccaggio degli esemplari

Gli esemplari prelevati attraverso la campagna di catture presso i siti all'estero verranno trasportati in Italia e temporaneamente stoccati nei centri di conservazione *ex situ* allestiti nell'ambito del progetto Life Eremita, in strutture già allestite per l'allevamento di *G. bilineatus* presso il Parco Nazionale dell'Appennino Tosco-Emiliano e presso l'Ente regionale per la gestione dei Parchi e della Biodiversità della Romagna questo al fine di adattarli alle nuove condizioni acquatiche dei siti target allo scopo di consentirne l'efficace reintroduzione in natura.

La struttura dell'Ente regionale per la gestione dei Parchi e della Biodiversità della Romagna è il Centro AquaeMundi sito a Russi (RA) e convenzionato con l'Ente di Gestione macroarea Romagna, si tratta di un vasto centro in cui sono presenti molteplici acquari e vasche per l'allevamento di anfibi e pesci, con possibilità di controllo della temperatura.

La struttura del Parco Nazionale si trova presso la sede operativa di Ligonchio; è stata realizzata ex novo nell'ambito del progetto life Eremita e consiste in una casa di legno ad un piano delle dimensioni 5x3,5 m e altezza di 2,70 m, con finestre e ampia tettoia su un lato lungo (larga 2,5 m), coibentata nelle pareti e tetto.

Per quanto riguarda la metodologia di stoccaggio, presso gli appositi centri, gli adulti prelevati dai paesi fornitori saranno suddivisi in n. 2 grandi acquari aperti di circa 150x100x80 cm, con una profondità dell'acqua pari ad almeno 80 cm, coperti da una rete di plastica di maglia adeguata onde evitare possibili fughe. Gli esemplari saranno nutriti con larve mature di zanzara, di efemerotteri o altre larve di invertebrati acquatici e anche pezzetti di carne o pesce crudi. L'acqua dentro ogni vasca sarà prelevata dai laghi individuati come idonei per l'introduzione; entro ogni vasca saranno poste piante acquatiche (*Hottonia palustris*, *Menyanthes trifoliata*, *Sphagnum* spp., ecc.) presenti nel sito di introduzione. Verrà verificata in itinere l'efficienza degli interventi di stoccaggio *ex situ* e come indice sarà utilizzato il numero di esemplari vivi e in buona salute fino al momento del rilascio sul totale degli stoccati.

Come specificato in introduzione, presso le due strutture si procederà, con il surplus di esemplari (circa 10 maschi e 10 femmine), ad una parallela attività di allevamento. Gli esemplari saranno suddivisi in acquari di dimensioni minori, 74x40x40 cm e con una profondità dell'acqua pari a 35 cm. Tale attività è auspicabile sia allo scopo di mettere a punto le tecniche di riproduzione sia allo scopo di avere una disponibilità ulteriore di individui da reintrodurre, come originariamente previsto dal progetto.

Attività di allevamento

L'allevamento sarà suddiviso nelle seguenti fasi: prelievo di femmine e maschi, collocazione e accoppiamento nella struttura, deposizione femmine in cattività, allevamento larve fino a completo sviluppo, rilascio in natura di larve mature e adulti.

Le piante presenti negli acquari che hanno ospitato gli adulti fondatori, con le uova inserite all'interno dei fusti (la specie ha deposizione endofitica) saranno poste entro apposite vaschette. Una volta che le uova saranno schiuse, si collocheranno le piccole larve entro vaschette idonee, come di seguito descritto. La tecnica che si è scelto di adottare è quella del "open aquarium system" OAS (Inoda & Kamimura, 2004; Inoda, 2012; Inoda & Kitano, 2013). La struttura per l'allevamento, già installata presso il centro di stoccaggio e allevamento di Ligonchio, consiste in una serie di vaschette di plastica bianca impilate (circa 50 vaschette, tipo 30x20x10 cm), una pompa sommersa da 300 L/h (da far funzionare 20 min ogni 6 h), un timer per la pompa, un'unità filtrante (composta da un pre-filtro per le particelle grossolane e un

filtro a carbone), una cisterna da 100 L per la riserva d'acqua, rete fine di plastica per dividere in settori le vaschette e tubi di silicone. L'acqua utilizzata nel OAS sarà ottenuta da una sorgente locale e comunque filtrata. L'acqua passerà tra le vaschette impilate del OAS con un semplice sistema a caduta di "troppo pieno", presente in ogni vaschetta. Ogni 6 ore circa verrà fatta circolare acqua attraverso il sistema del troppo pieno di ogni vaschetta. Essendo *G. bilineatus* una specie di ditiscide predatore, con dispersione in acqua del residuo di cibo, occorre mantenere costantemente acqua dolce filtrata e pulita. È necessario anche evitare l'increspamento della superficie dell'acqua dovuto all'azione delle pompe, onde non ostacolare la respirazione delle giovani larve. Tenendo conto di questo, nelle prime fasi dopo la nascita, le larve di prima età L1 saranno tenute separate in vaschette finché non avranno raggiunto il secondo stadio. Dal secondo stadio saranno poste nel OAS. Per evitare il cannibalismo, saranno collocate solo 2-3 larve per settore della vaschetta, separate da una fitta rete di plastica (tipo zanzariera). Le larve di terza età L3 saranno poste in vaschette con poca acqua e con ampie porzioni affioranti del fondo composto da terriccio sterile e sfagni. Le larve necessitano di una relativamente elevata quantità di cibo durante le tre fasi larvali e il consumo di biomassa è durante il primo, secondo e terzo stadio larvale (L1, L2, L3) in proporzione pari rispettivamente a circa 1:3:20. Alle larve saranno fornite più volte al giorno (secondo la necessità) larve di culicidi in vari stadi (quindi a varie grandezze) e piccoli crostacei come cladoceri, tutti allevati in apposite vasche entro il laboratorio stesso. Per allevare i cladoceri, altri piccoli crostacei e culicidi si utilizzeranno 8 vaschette con le medesime dimensioni di quelle di *Graphoderus*; le vaschette con i culicidi dovranno essere coperte da zanzariera. L'allevamento sarà illuminato da faretti a led con luce di tipo solare.

6. Siti di reintroduzione

Le operazioni di reintroduzione saranno svolte solo in aree incluse nel progetto e di proprietà e a gestione pubblica. L'attività di reintroduzione interesserà immissioni in stagni e laghi con acque lentiche valutate idonee per operazioni di reintroduzione in termini di dimensioni, caratteristiche chimiche dell'acqua, vegetazione e comunità di specie animali presenti. Saranno realizzate immissioni in almeno n. 2 laghi e stagni d'acqua lentiche idonei. Per la valutazione dell'idoneità dei siti è stato richiesto a tutti i referenti degli Enti territoriali coinvolti nel progetto LIFE Eremita di compilare una griglia che prevede per ogni stazione monitorata (area umida/bacino d'acqua come habitat potenzialmente idoneo) l'indicazione dei seguenti parametri:

Parametri considerati per la valutazione della idoneità dei stazioni di reintroduzione e specifiche per la compilazione.

- SIC/ZPS - SI/NO se si indicare codice
- Area protetta - SI/NO se SI indicare l'area protetta
- Proprietà pubblica o disponibilità dell'Ente per un numero di anni almeno pari a 15 dopo la fine del progetto - Indicare SI/NO se Si specificare
- In caso di proprietà privata, disponibilità ad effettuare gli interventi - Indicare SI/NO
- Dimensione contenuta (circa 50 m di diametro) al fine di facilitare il controllo e il monitoraggio della popolazione immessa - Indicare il diametro
- Logistica: distanza da strada e facilità di raggiungimento del sito - Indicare SI/NO se Si specificare
- Compartimentazione: possibilità di isolare porzioni di lago o stagno con comparti di circa 5x5 metri, che includono una porzione di riva o sponda - Indicare SI/NO

- Morfologia della sponda: possibilità di arrivare alla riva facilmente - Indicare SI/NO
- Origine naturale del bacino o bacino di altra origine ma non più in evoluzione- Indicare SI/NO
- Basso disturbo antropico - Indicare SI/NO
- Altitudine
- Media profondità delle acque (1 m) - Indicare SI/NO
- PH delle acque tra 6 e 8,5- Indicare valori
- Temperatura media delle acque: acque fresche per tutto l'anno - Indicare SI/NO - se si specificare (acque di falda, sorgenti, ecc. e temperatura)
- Conducibilità - Indicare valori
- Abbondanza e diversificazione di una vegetazione ripariale - Indicare SI/NO - se si indicare se sono presenti sfagni, cariceti, canneti, tifeti, ecc.
- Abbondanza e diversificazione della vegetazione in acqua - Indicare SI/NO - se si indicare se è presente sfagno, Potamogeton, Phragmites, Ceratophyllum, Chara, ecc.
- Assenza di pesci predatori- Indicare SI/NO
- Assenza di pesci in generale - Indicare SI/NO
- Presenza di invertebrati prede per le larve e per gli esemplari adulti - Indicare SI/NO - Se si indicare elenco degli invertebrati presenti
- Presenza di competitori - Indicare SI/NO

I siti d'immissione sono scelti sulla base:

- assenza/bassa persistenza di minacce per le specie target;
- caratteristiche eco-morfologiche più simili ai siti sorgente;
- la garanzia nel lungo termine del mantenimento di attività di tutela della specie;
- aspetti logistici legati alle operazioni d'immissione.

Il *restocking* verrà effettuato in almeno due bacini, uno con caratteristiche eco-morfologiche e climatiche simili ai siti della Croazia da cui provverrà un primo campione di fondatori, da individuarsi probabilmente nel settore orientale della Regione Emilia-Romagna, e uno nella fascia più alto-appenninica (sopra i 1.000 metri) con caratteristiche eco-morfologiche più simili ai siti svedesi, da cui si preleveranno il secondo campione di fondatori, da individuarsi nel settore più occidentale della regione. Nel piano di recupero si è considerato la collaborazione con la Lettonia secondaria e subordinata al non raggiungimento dei numeri necessari (min. 50) di esemplari fondatori provenienti dalla Svezia.

I siti scelti, anche alla luce di opportuni sopralluoghi svolti con il supervisore scientifico prof. Paolo Audisio, sono:

- Lago del Coccio, con eventuali due possibili alternative, Lago Sfondato e Capanna Biancani, nel territorio del Parco Nazionale dell'Appennino Tosco-Emiliano;
- Lago Terzo nel territorio della macroarea Emilia Centrale
- Laghetto di Metaletto in territorio toscano, nel territorio del Parco Nazionale delle Foreste Casentinesi, all'interno della Riserva Biogenetica di Camaldoli, con alternativa il laghetto della ZSC La Martina, Monte Gurlano nel territorio nella macroarea Emilia orientale.

Per le attività da svolgersi nel Laghetto di Metaletto sarà necessario anche il coinvolgimento del Reparto Carabinieri Biodiversità di Pratovecchio, proprietario e gestore dell'area per conto dello Stato, e la relativa autorizzazione ad operare da parte degli stessi uffici.

Come riserva è stato individuato anche uno stagno nel territorio della macroarea Romagna, laghetto golenale di Laguna, in comune di Borgo Tossignano (BO), nel sito IT4090011, in caso i numeri di esemplari disponibili catturati lo consentano e subordinatamente alla realizzazione di interventi di miglioramento dell'habitat da parte dell'ente partner.

Compartimentazione

Dove le caratteristiche morfologiche e logistiche lo consentiranno verrà realizzata una compartimentazione di una parte del bacino, isolandola con una fitta rete che non faccia passare adulti e larve, ma soltanto l'acqua. La parte isolata di circa 6 metri quadri comprenderà una parte della sponda del bacino per permettere alla specie il compimento dell'intero ciclo. La rete sarà infossata nel fondo del lago e sposterà dall'acqua per almeno 50 cm. Per realizzare tale struttura sarà necessario scegliere un lago in cui la variazione del livello idrico nel periodo estivo sia minimo e comunque non superiore ai 30 cm. La compartimentazione del bacino consentirà un più semplice monitoraggio della specie in condizioni molto simili a quelle naturali e si potrà verificare tra l'altro l'avvenuta riproduzione.

7. Cronoprogramma

Il cronoprogramma di progetto prevede le seguenti fasi di attività:

ATTIVITA'	2020				2021				2022	
	1T	2T	3T	4T	1T	2T	3T	4T	1T	2T
1° PRELIEVO		■	■							
STOCCAGGIO TEMPORANEO		■	■							
1° RILASCIO		■	■							
2° PRELIEVO						■	■			
STOCCAGGIO TEMPORANEO						■	■			
2° RILASCIO						■	■			
MONITORAGGIO		■	■	■	■	■	■	■	■	■

Gli esemplari verranno liberati in due stagioni, nei periodi di aprile e settembre del 2020 e del 2021. Il monitoraggio partirà nel 2020 e si svolgerà anche nel 2021 e nel 2022. Il monitoraggio 2020 è funzionale anche alla valutazione dell'efficacia del *restocking* e alla possibilità di migliorare il piano. Il termine del progetto è previsto entro il 30/06/2022.

Sulla base del cronoprogramma del progetto e delle indicazioni tecniche descritte si stimano le seguenti giornate di lavoro:

- per le campagne di cattura all'estero presso le aree sorgenti: minimo n. 30 gg (considerando anche eventuali condizioni metereologiche avverse) con una media di circa n.10 giornate per Paese (Svezia, Croazia, Lettonia);
- per le operazioni di immissione in Emilia-Romagna si valuta un impegno di circa n. 60 giornate di lavoro (30 per due operatori), comprensive dei giorni di stabulazione degli esemplari, del lavoro per il confinamento di parte dei due bacini idrici, degli effettivi rilasci e dei controlli che devono essere necessariamente realizzati.

8. Gruppo di lavoro e personale impiegato

Le attività saranno svolte dagli Enti territorialmente interessati e partner di progetto, in particolare dai tecnici e dagli entomologi incaricati, sotto il coordinamento del supervisore scientifico, prof. Paolo Audisio.

Per quanto riguarda il Parco Nazionale dell'Appennino Tosco-Emiliano il gruppo di lavoro per le attività di cattura e trasporto sarà formato da Giovanni Carotti (entomologo progetto Life Eremita), Willy Reggioni e Francesca Moretti dell'ufficio conservazione natura del parco.

Per quanto riguarda l'Ente di gestione per i Parchi e la Biodiversità Romagna il gruppo di lavoro per le attività di cattura e trasporto sarà formato da Massimiliano Costa referente tecnico dell'ente, Roberto Fabbri (entomologo progetto Life Eremita), Raffaele Gattelli del Centro AquaeMundi di Russi.

Le attività potranno beneficiare del contributo del personale volontario appositamente addestrato e formato. Nelle attività di stoccaggio presso gli allevamenti, il contributo del personale volontario risulta importante per la buona riuscita dell'azione che infatti comporta un quotidiano intervento di manutenzione e gestione delle strutture di allevamento. I volontari, dopo una fase di addestramento, assicureranno infatti i necessari e quotidiani interventi in affiancamento al personale di progetto ed in piena autonomia dopo una prima fase di formazione. L'attuazione del Piano sarà seguita dal Focus group appositamente istituito (con atto n. 13250 del 13/08/2018). Di seguito i nominativi dei componenti del *focus group*:

- Monica Palazzini Cerquetella (RER), responsabile del progetto Life Eremita
- Elena Chiavegato (RER), supporto al responsabile del progetto Life Eremita;
- Ornella De Curtis (RER), supporto scientifico nella definizione e attuazione del piano;
- Paolo Audisio (Università di Roma), supervisore scientifico nella definizione e attuazione del piano;
- Leonardo Congiu (Università di Padova), responsabile scientifico delle indagini genetiche
- Massimiliano Costa (MAR), David Bianco (MEOR), Davide Alberti (PNFC), Fausto Minelli (MEC), Renato Carini (MEOC), Willy Reggioni and Francesca Moretti (PNATE), responsabili tecnici per la definizione e attuazione del piano nei rispettivi territori di competenza;
- Cristina Barbieri, con funzioni di coordinamento tecnico generale;
- Roberto Fabbri, con funzioni di supporto entomologico al coordinatore tecnico nelle diverse fasi di definizione e attuazione del piano;
- Gianluca Nardi e Giovanni Carotti: entomologi di supporto nelle fasi di definizione e attuazione del piano.

In fase attuativa si prevede di valutare l'opportunità di aggiornare la composizione del gruppo di lavoro in funzione delle effettive collaborazioni attive.

9. Informazione e coinvolgimento degli stakeholder

Riconoscendo il ruolo fondamentale della cittadinanza in generale e, nello specifico degli stakeholder, primari nella tutela e gestione delle aree naturali protette, è necessario programmare una mirata attività di comunicazione e disseminazione dell'attività di *restocking* al fine di:

- garantire la corretta attuazione delle azioni di conservazione e il raggiungimento dei risultati attesi nel breve e lungo termine;
- coinvolgere la cittadinanza e gli stakeholders in azioni e attività che possano contribuire e/o favorire la tutela e l'espansione dell'area di distribuzione di *G. bilineatus*.
- Verranno realizzate, soprattutto nei territori interessati dalle attività di *restocking*, alcuni workshop tematici rivolti ai seguenti gruppi di interesse:
- gestori diretti ed indiretti del territorio (Enti, imprese e cooperative consorzi di amministrazione dei beni di Uso Civico, cooperative e imprese agricole, associazioni agricole...),
- volontari, associazioni ambientaliste
- cittadinanza.

Bibliografia

- Boscari E., Koese B., Palazzini Cerquetella M., Fabbri R. & Grapputo A., 2020. To Analyses of rare collection samples as conservation tool for the last known Italian population of *Graphoderus bilineatus* (Insecta: Coleoptera). The European Zoological Journal, 2020, 131-137 Vol. 87, No. 1, <https://doi.org/10.1080/24750263.2020.1732487>
- Carlos Aguilar J., 2011. Methods for catching beetles. Baits, traps, habitats, methods, organized by families, subfamilies and genera. Jorge Barrett Viedma editor, 320 pp.
- Chatenet du G., 2005. Coléoptères d' Europe. Carabes, Carabiques et Dytiques. Volume 1 Adepaga. N. A. P. Editions, 639 pp.
- Congiu L., Boscari E., Grapputo A., Koese B., Temunovic M., Turic N., Csabai Z., Bastytè D., 2018. Analisi genetiche finalizzate alla comparazione tra la popolazione relitta di *Graphoderus bilineatus* del Lago di Pratignano (Mo) ed altre potenziali popolazioni sorgenti europee. In: De Curtis O., Barbieri C., Fabbri R., Palazzini Cerquetella M. (ed), 2018. Azioni coordinate per la conservazione in Emilia-Romagna di *Osmoderma eremita* (Scopoli, 1763), *Rosalia alpina* (Linnaeus, 1758), *Coenagrion mercuriale castellanii* (Roberts, 1948), *Graphoderus bilineatus* (De geer, 1774). Progetto LIFE14 NAT/IT/000209 EREMITA. Servizio Aree protette, Foreste e Sviluppo della Montagna. Regione Emilia-Romagna, Bologna: 80 pp.
- Cuppen J., Koese B. & Siedsema H., 2006. Distribution and habitat of *Graphoderus bilineatus* in the Netherlands (Coleoptera: Dytiscidae). Nederlandse Faunistische Mededelingen, 24: 29-40.
- Cuppen J.G.M. & Koese B., 2005. De gestreepte waterriifkever *Graphoderus bilineatus* in Nederland: een eerste inhaalslag. European Invertebrate Survey. Nederland, Leiden.
- Fabbri R., 2018. Aspetti della biologia, ecologia e stato di conservazione di *Coenagrion mercuriale castellanii* Roberts, 1948 e *Graphoderus bilineatus* (De Geer, 1774). In: De Curtis O., Barbieri C., Fabbri R., Palazzini Cerquetella M. (ed.), 2018. Azioni coordinate per la conservazione in Emilia-Romagna di *Osmoderma eremita* (Scopoli, 1763), *Rosalia alpina* (Linnaeus, 1758), *Coenagrion mercuriale castellanii* Roberts, 1948, *Graphoderus bilineatus* (De Geer, 1774). Progetto LIFE14 NAT/IT/000209 EREMITA. Servizio Aree protette, Foreste e Sviluppo della Montagna. Regione Emilia-Romagna, Bologna: 57-62 pp.
- Fabbri R., Barbieri C., De Curtis O., Biondi I., Carotti G., Giangregorio P., Malavasi D., Monterastelli E., Norbiato M., Stefanelli S., Carchini G., 2018. Aggiornamento sulla presenza di *Graphoderus bilineatus* (De Geer, 1774) in Emilia-Romagna. In: De Curtis O., Barbieri C., Fabbri R., Palazzini Cerquetella M. (ed), 2018. Azioni coordinate per la conservazione in Emilia-Romagna di *Osmoderma eremita* (Scopoli, 1763), *Rosalia alpina* (Linnaeus, 1758), *Coenagrion mercuriale castellanii* (Roberts, 1948), *Graphoderus bilineatus* (De geer, 1774). Progetto LIFE14 NAT/IT/000209 EREMITA. Servizio Aree protette, Foreste e Sviluppo della Montagna. Regione Emilia-Romagna, Bologna: 80 pp.
- Foster G.N., 1996. *Graphoderus bilineatus* (De Geer, 1774). In: Helsdingen P.J. van, Willemse L. & Speight M.C.D. (eds.). Background information on invertebrates of the Habitats Directive and the Bern Convention. Part I - Crustacea, Coleoptera and Lepidoptera. European Invertebrate Survey: 40-48.
- Franciscolo M.E., 1979. Fauna d' Italia. Coleoptera Haliplidae, Hygrobiidae, Gyrinidae, Dytiscidae. Vol 14. Calderini, Bologna, 804 pp.
- Galewski K., 1975. Descriptions of the unknown larvae of the genera *Hydaticus* Leach and *Graphoderus* Dejean (Coleoptera, Dytiscidae) with some data on their biology. Annales Zoologici, Polska Akademia Nauk, Instytut Zoologii, Warszawa, 32 (11): 249-268.
- Galewski K., 1990. The larvae of Central European species of *Graphoderus* Dejean (Coleoptera, Dytiscidae). Polskie Pismo Entomologiczne, 60: 25-44.
- Hájek J., 2004. The distribution of the diving beetles *Dytiscus latissimus* and *Graphoderus bilineatus* (Coleoptera: Dytiscidae) in the Czech Republic. Klapalekiana, 40: 13-23.
- Hendrich L. & Spitzenberg D., 2006. Kriterien zur Bewertung des Erhaltungszustandes der Populationen des Wasserkäfers *Graphoderus bilineatus* (De Geer, 1774), Allgemeine Bemerkungen und Bewertungsschema. Berichte des Landesamtes für Umweltschutz SachsenAnhalt Halle, Sonderheft, 2: 149-150.

- Hendrich L., Müller R., Schmidt G. & Frase T., 2012. Aktuelle und historische Funde des Schwimmkäfers *Graphoderus bilineatus* (De Geer, 1774). (Coleoptera, Dytiscidae) in Brandenburg. Märkische Ent. Nachr., 14 (2): 285–294.
- Inoda T. & Kamimura S., 2004. New Open Aquarium System to breed larvae of water beetles (Coleoptera: Dytiscidae). The Coleopterists Bulletin, 58 (1): 37–43.
- Inoda T. & Kitano T., 2013. Mass breeding larvae of the critically endangered diving beetles *Dytiscus sharpi sharpi* and *Dytiscus sharpi validus* (Coleoptera: Dytiscidae). Applied Entomology and Zoology, 48 (3): 397–401.
- Inoda T. 2012. Predaceous diving beetle, *Dytiscus sharpi sharpi* (Coleoptera: Dytiscidae) larvae avoid cannibalism by recognizing prey. Zool. Sci., 29: 547–552.
- Inoda T., 2003. Mating and reproduction of predaceous diving beetles, *Dytiscus sharpi*, observed under artificial breeding conditions. Zoological Science, 20: 377–382.
- IUCN/SSC (2013). Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations. Version 1.0. Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission, viiii + 57 pp.
- Johansson A. & Nilsson A.N., 1992. *Dytiscus latissimus* and *Dytiscus circumcinctus* (Coleoptera, Dytiscidae) larvae as predators on three case-making caddis larvae. Hydrobiologia, 248: 201213.
- Jolly G.M., 1965. Explicit estimates from capture–recapture data with both death and immigrationstochastic model. Biometrika, 52: 225–247.
- Koese B. & Cuppen J.G.M., 2006. Sampling methods for *Graphoderus bilineatus* (Coleoptera: Dytiscidae). Nederlandse Faunistische Mededelingen, 24: 41–47.
- Koese B., de Boer E.P., Cuppen J.G.M., Schut J. & Tienstra J., 2008. De Gestreepte waterroofkever in Zuidoost-Friesland: inhaalslag 2008. EIS-Nederland, Leiden, 35 pp.
- Mazzoldi P., Pederzani F., Rocchi S., Schizzerotto A. & Toledo M., 2009. La Coleotterofauna acquatica del Lago di Pratignano (Modena) (Insecta Coleoptera: Haliplidae, Noteridae, Dytiscidae, Helophoridae, Hydrochidae; Hydrophilidae, Sphaeridiidae, Hydraenidae). Atti dell' Accademia roveretana degli Agiati, serie VIII, IX, B, 259: 81–90.
- Nilsson A.N. & Holmen M., 1995. The aquatic Adephaga (Coleoptera) of Fennoscandia and Denmark. II. Dytiscidae. Fauna Entomologica Scandinavica, vol. 32. Scandinavian Science Press, Leiden–Copenhagen, 195 pp.
- Oertli B., et al. 2005. PLOCH: a standardized method for sampling and assessing the biodiversity in ponds. Aquatic Conserv: Mar. Freshw. Ecosyst. 15: 665–679 (2005). DOI: 10.1002/aqc.744.
- Schauff M.E., 1998. Collecting and Preserving Insects and Mites: Techniques and Tools. Systematic Entomology Laboratory, USDA National Museum of Natural History, Washington, 69 pp.
- Seber G.A.F., 1982. The estimation of animal abundance. Second edition. Griffin, London, 653 pp.
- Seber G.A.F., 1965. A Note on the Multiple–Recapture Census. Biometrika, 52 (1–2): 249–259.
- Sierdsema H. & Cuppen J.G.M., 2006. A predictive model for *Graphoderus bilineatus* in the Netherlands (Coleoptera: Dytiscidae). Nederlandse Fanistische Mededelingen, 24: 49–54.
- Trizzino M., Audisio P., Bisi F., Bottacci A., Campanaro A., Carpaneto G.M., Chiari S., Hardersen S., Mason F., Nardi G., Preatoni D.G., Vigna Taglianti A., Zauli A., Zilli A. & Cerretti P. (eds), 2013. Gli artropodi italiani in Direttiva Habitat: biologia, ecologia, riconoscimento e monitoraggio. Quaderni Conservazione Habitat, 7. CFS–CNBFVR, Centro Nazionale Biodiversità Forestale. Cierre Grafica, Sommacampagna, Verona, 256 pp.
- Turic et al., 2017. A comparison of method for sampling aquatic insects (Heteroptera and Coleoptera) of different body size, in different habitats using different baits. Eur. J. Entomol - 114: 123–132. ISSN: 1802–8829.
- Vahruševs V.G., 2009. The Experimental Notes on the Area of Keeping and Breeding of a Broadest Diver *Dytiscus latissimus* Linnaeus, 1758 (Dytiscidae: Coleoptera) in a Closed Aqua–system Conditions of a Laboratory]. Materials of the International Scientific and Practical Conference on Aquarium Science. Aquaculture Problems, Mosca, 3: 16–31.
- Vahruševs V.G., 2011. Technological Aspects of Keeping *Dytiscus latissimus* Linnaeus, 1758 (Coleoptera: Dytiscidae) in Laboratory Conditions. Acta Biologica Universitatis Daugavpiliensis, 11 (2): 201–218.

- Volkova P., Dzhafarova A., Fedorova D., Gladchenko M., Karnayeva A., Pozdnyakov O., Slobodkina Y., Tilipman D. & Petrov P., 2013. Effect of two types and different quantities of bait on the efficiency of funnel traps for diving beetles (Coleoptera: Dytiscidae), with special emphasis on *Graphoderus bilineatus* DeGeer, 1774. Latvijas Entomologs, 52: 119-129.
- White G.C. & Burnham K.P., 1999. Program MARK: Survival estimation from populations of marked animals. Bird Study, 46: 120-138.
- Yamaguchi H., 1992. *Dytiscus sharpi*, observation and breeding. Ettcyu, 23: 6-24.