

FABRIZIO ONETO, SEBASTIANO SALVIDIO, DARIO OTTONELLO,
STEFANIA D'ANGELO, ELISA ALEO & SALVATRICE VIZZINI

DIETA E COMPETIZIONE IN *EMYS TRINACRIS*: IL CONTRIBUTO DELL'ANALISI ISOTOPICA

RIASSUNTO

La presente ricerca è rivolta alla Testuggine palustre siciliana *Emys trinacris*. Lo studio è stato condotto in due aree: Gorgo Alto, Medio e Basso nella Riserva Naturale WWF “Lago Preola – Gorgi Tondi” (TP); Gorgo Lungo nella Riserva Naturale orientata “Bosco della Ficuzza, Rocca Busambra, Bosco del Cappelliere e Gorgo del Drago” (PA). La ricerca è stata svolta attraverso catture periodiche delle testuggini e delle specie ittiche potenzialmente competitori e prelievo di campioni di tessuto: ematici e cornei per *Emys* e di muscolo per i pesci. L'analisi della dieta è stata effettuata applicando lo studio degli isotopi stabili di carbonio ed azoto su tessuti ematici e cornei dalle testuggini palustri e sul muscolo dorsale delle altre specie. L'esistenza di differenze significative nei livelli isotopici nel sangue e nelle unghie delle testuggini nel periodo giugno-settembre conferma l'esistenza di una strategia trofica opportunista soprattutto a fine estate, prediligendo risorse diverse in funzione della stagione e probabilmente della loro disponibilità. Al contrario, le specie ittiche analizzate, sembrano avere una dieta più spiccatamente erbivora nella carpa e onnivora in gambusia, sovrapponendosi solo in parte con le abitudini alimentari di *Emys*. Nel caso della popolazione del Gorgo Lungo (Riserva Bosco Ficuzza), è stata riscontrata una differenza significativa fra maschi e femmine, non osservata nei Gorgi Tondi, sia per $\delta^{15}\text{N}$ che per $\delta^{13}\text{C}$. In particolare, i maschi presentano valori maggiori per entrambi gli isotopi rispetto alle femmine, indicando una dieta maggiormente carnivora. Questo risultato non è tuttavia confermato dai valori isotopici del materiale corneo, portando a ipotizzare un sostanziale allineamento dei sessi nello spazio trofico. Non sono presenti differenze rispetto ai mesi di campionamento, confermando rispetto a quanto visto nei Gorgi Tondi una dieta più routinaria delle testuggini del Gorgo Lungo.

Parole chiave. *Emys trinacris*, Sicilia, dieta, isotopi

SUMMARY

Diet and competition in Emys trinacris: the contribution of isotopic analysis. The research is focused on the Sicilian pond turtle, *Emys trinacris*. The study was conducted in two areas: Gorgo

Alto, Gorgo Medio and Gorgo Basso in the WWF Nature Reserve “Lago Preola - Gorgi Tondi” (TP); Gorgo Lungo in the Nature Reserve “Bosco della Ficuzza, Rocca Busambra, Bosco del Cappelliere e Gorgo del Drago” (PA). The research was carried out through periodic capture of tortoises and potentially competing fish species and sampling of tissues: blood and horny for *Emys* and muscle for fish. The analysis of the diet was carried out by applying the study of stable isotopes of carbon and nitrogen on blood and horny tissues of marsh turtles and on the back muscles of fishes. The existence of significant differences in isotope levels in the blood and nails of tortoises in the period from June to September confirms the existence of an opportunistic trophic strategy, especially in late summer, entailing a preference for different resources depending on the season and probably on resource availability. On the contrary, the fish species analyzed seem to have a more distinctly herbivorous diet referring to carp and omnivorous diet referring to eastern mosquitofish, overlapping only in part with the eating habits of *Emys*. In the Gorgo Lungo population (Riserva Bosco Ficuzza), a significant difference was found between males and females, not observed in Gorgi Tondi, both for $\delta^{15}\text{N}$ and for $\delta^{13}\text{C}$. In particular, males have higher values for both the isotopes than females, indicating a more carnivorous diet. However, this result is not confirmed by the isotopic values of $\delta^{13}\text{C}$ from the horny material, leading to hypothesize a substantial alignment of the sexes in the trophic space. There are no differences among months of sampling, confirming a more routine diet for Gorgo Lungo tortoises compared to those from Gorgi Tondi.

Key words. *Emys trinacris*, Sicily, diet, isotopes

INTRODUZIONE

La conoscenza del comportamento, delle strategie e delle preferenze alimentari di una specie è una delle pietre miliari per la comprensione della sua storia naturale oltre ad essere elemento fondamentale per la sua tutela e gestione, anche in relazione ai molteplici pericoli derivanti dall'introduzione e dall'espansione delle specie alloctone invasive (LOWE *et al.*, 2000). Le testuggini palustri sono tradizionalmente considerate animali generalisti e opportunisti con una dieta preferenzialmente carnivora da giovani che vira verso una maggiore onnivoria negli adulti (ERNST & BARBOUR, 1989), sebbene esistano casi di specializzazione, come in *Graptemys geographica* verso i molluschi (VOGT & HOLDEN, 1981).

Sebbene siano stati condotti diversi studi sulla co-generica Testuggine palustre europea (ad esempio: Francia, OTTONELLO *et al.*, 2005; Turchia, ÇIÇEK & AYAZ, 2011), i primi studi inerenti la dieta di *Emys trinacris* sono relativamente recenti e relativi alla popolazione del Lago Preola e Gorgi Tondi (Trapani) (OTTONELLO *et al.*, 2021). *E. orbicularis* è considerata tradizionalmente una specie carnivora (STEPHENS & WIENS, 2003) e anche gli elementi morfologici del suo apparato boccale sono quelli tipici di un animale acquatico carnivoro (NATCHEV *et al.*, 2015). Nonostante ciò, una recente revisione (FICETOLA *et al.*, 2006) e alcuni studi (LEBBORONI & CHELAZZI, 1991; OTTONELLO *et al.*, 2005; ÇIÇEK & AYAZ, 2011) hanno evidenziato un'elevata

presenza di materia vegetale nella sua dieta, tanto da far supporre che in alcune aree si possa verificare un ampliamento del suo spettro alimentare che da strettamente carnivoro può diventare onnivoro durante lo sviluppo, come peraltro osservato in altri emididi (es. *Trachemys scripta*: HART, 1983). Partendo da questi studi nel periodo 2018/2020 è stato attivato uno studio specifico su *E. trinacris* con i seguenti obiettivi: 1) descrivere la nicchia isotopica di *Emys trinacris*, anche in relazione al sesso degli animali e ottenere indicazioni sull'ecologia trofica; (2) indagare l'esistenza di schemi temporali o spaziali che determinano la composizione della dieta fra popolazioni diverse; (3) valutare come la presenza di specie aliene competitive possa influenzare la dieta della specie.

Tutte le attività di cattura, manipolazione e raccolta dei tessuti sono state condotte previa acquisizione di autorizzazione in deroga al DPR 357/97 n° 0004221 del 01/03/2018, ottenuta dal Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare, e autorizzazione in deroga ottenuta dalla Regione Sicilia n° 6683 del 23/03/2018.

MATERIALI E METODI

La ricerca è stata condotta in due aree individuate sul territorio siciliano e note per la presenza di popolazioni selvatiche di testuggine palustre:

– Riserva Naturale WWF “Lago Preola – Gorgi Tondi” (Trapani), situata a una quota di circa 4 m slm e caratterizzata da tre stagni (Gorgi Tondi) di cui Gorgo Alto e Medio in collegamento mentre il Gorgo Basso risulterebbe adiacente ma separato (OTTONELLO *et al.*, 2021);

– Riserva naturale orientata “Bosco della Ficuzza, Rocca Busambra, Bosco del Cappelliere e Gorgo del Drago” (Palermo) situata a una quota di circa 850 m slm e caratterizzata dallo stagno Gorgo Lungo.

I campionamenti sono stati effettuati fra giugno e settembre 2018 e fra luglio e settembre 2019, attraverso sessioni standard di cattura di tre giorni ciascuna con ausilio di nasse. Ogni testuggine catturata è stata marcata individualmente, sono stati catalogati i dati morfometrici di base e prelevato sangue e materiale corneo (BALZANI *et al.*, 2016). Per quanto riguarda le testuggini palustri, sono stati prelevati da ciascun individuo circa 0,5 ml di sangue attraverso la vena sopracaudale e due campioni di unghie (una dalle zampe anteriori e una dalle zampe posteriori). I campioni di sangue una volta prelevati sono stati diluiti con EDTA all'interno di provette Eppendorf e mantenuti, insieme alle unghie, a temperatura stabile e controllata in congelatore (PEARSON *et al.*, 2012; BALZANI *et al.*, 2016).

Per quanto riguarda le specie di pesci rinvenute nei laghi, gli individui

catturati sono stati rimossi dall'ambiente naturale e dopo la soppressione mantenuti a temperatura controllata.

I campioni di tessuto sono stati preparati presso i laboratori del Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare dell'Università di Palermo per la successiva analisi degli isotopi stabili del carbonio ($\delta^{13}\text{C}$) e dell'azoto ($\delta^{15}\text{N}$).

Tutte le analisi sono state svolte con l'ausilio dei pacchetti disponibili nel software R4.04 (R Core Team 2021). Per l'analisi è stata applicata l'ANOVA one way e il Tukey's test per i confronti a coppie nell'analisi post hoc o, in presenza di distribuzioni non normali, si è proceduto con il Kruskal Wallis test e l'analisi post hoc relativa (Dunn's Test e Nemenyi's Test). $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ di *E. trinacris* e delle specie compresenti negli ambienti campionati sono stati comparati con una Linear Discriminant Analysis (LDA), come descritto da VENABLES & RIPLEY (2002).

RISULTATI

Durante le cinque sessioni di cattura nel 2018/19 sono state catturate complessivamente 109 testuggini nella Riserva Lago Preola – Gorgi Tondi e 42 testuggini nella Riserva di Bosco Ficuzza. Per ciascun individuo sono stati quantificati i livelli degli isotopi stabili $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ del sangue e delle unghie.

Per quanto riguarda le specie ittiche presenti al momento delle catture, sono stati prelevati 84 pesci appartenenti a due specie alloctone (44 *Cyprinus carpio* e 40 *Gambusia holbrooki*) solo nella Riserva Lago Preola – Gorgi Tondi, precisamente nel Gorgo Medio e Gorgo Alto mentre nel Gorgo Basso non sono stati catturati pesci confermando quanto già osservato da OTTONELLO *et al.* (2016).

Considerando i campioni di unghie di *Emys* prelevati ai Gorgi Tondi (Riserva Lago Preola – Gorgi Tondi), si osservano differenze significative nei contenuti isotopici solo fra le 2 specie ittiche, mentre non emergerebbero differenze fra *Emys* e i pesci ($\delta^{15}\text{N}$ Kruskal-Wallis $\chi^2 = 85,446$, gdl = 2, $p < 2,2e-16$; $\delta^{13}\text{C}$ Kruskal-Wallis $\chi^2 = 46,503$, df = 2, $p = 7,979e-11$). Il confronto fra le tracce isotopiche nei due sessi in *Emys* non mostra differenze significative fra maschi e femmine né rispetto a $\delta^{15}\text{N}$ (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 0,0019$, gdl = 1, $p = 0,9647$) né per $\delta^{13}\text{C}$ (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 1,1417$, gdl = 1, $p = 0,2853$). Considerando la variabile stagionale nel periodo giugno/settembre, le differenze sono significative ($\delta^{15}\text{N}$: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 22,61$, gdl = 2, $p = 1,231e-05$; $\delta^{13}\text{C}$: Kruskal-Wallis $\chi^2 = 14,786$, gdl = 2, $p = 0,0006$), indicando una maggiore variabilità fra giugno e settembre per $\delta^{15}\text{N}$ e fra luglio e settembre per $\delta^{13}\text{C}$. Passando infine alla verifica delle differenze fra i contenuti isotopici nel materiale corneo prelevato dalle *Emys* nei tre Gorgi (Basso, Medio e Alto),

i test risultano debolmente significativi ($\delta^{15}\text{N}$ Kruskal-Wallis $\chi^2 = 10,718$, gdl = 2, $p = 0,004$; $\delta^{13}\text{C}$ Kruskal-Wallis $\chi^2 = 13,159$, gdl = 2, $p = 0,0013$), con analisi in questo caso che confermerebbero differenze significative per $\delta^{15}\text{N}$ (Gorgo Medio vs Gorgo Basso $p = 0,0812$; Gorgo Alto vs Gorgo Basso $p = 0,0052$) meno evidenti per $\delta^{13}\text{C}$ (Gorgo Medio vs Gorgo Basso $p = 0,0647$; Gorgo Alto vs Gorgo Basso $p = 0,0011$), mentre non ci sarebbero differenze significative fra Gorgo Medio e Gorgo Alto ($\delta^{15}\text{N}$: $p = 0,812$; $\delta^{13}\text{C}$: $p = 0,518$)

Nel caso della popolazione del Gorgo Lungo (Riserva Bosco Ficuzza), il sito apparentemente è colonizzato solo da individui di *E. trinacris*, e non sarebbero presenti potenziali competitori. Utilizzando i campioni cornei prelevati da questa popolazione, considerando le relazioni intraspecifiche rispetto al sesso e le eventuali differenze nell'arco della stagione di monitoraggio, non esisterebbe una correlazione fra sesso e contenuto isotopico ($\delta^{15}\text{N}$: $p = 0,119$; $\delta^{13}\text{C}$: $p = 0,986$) così come fra il mese di campionamento e contenuto isotopico ($\delta^{15}\text{N}$: $p = 0,301$; $\delta^{13}\text{C}$: $p = 0,369$).

Infine, mettendo a confronto le tracce isotopiche nei campioni cornei prelevati dalle popolazioni di *E. trinacris* delle due aree campionate (Gorghi Tondi vs Gorgo Lungo), i valori di $\delta^{15}\text{N}$ risulterebbero differenti considerando il Gorgo Lungo e gli altri corpi idrici (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 47.04$, gdl = 3, $p = 3.408e-10$). Analogo risultato è fornito dal $\delta^{13}\text{C}$ (Kruskal-Wallis $\chi^2 = 50.173$, gdl = 3, $p = 7.341e-11$).

DISCUSSIONE

La strategia trofica delle popolazioni di Testuggine palustre siciliana nelle aree indagate rispecchia quanto già indicato per *Emys orbicularis* (FICETOLA *et al.*, 2006; OTTONELLO *et al.*, 2021), seguendo uno schema sostanzialmente opportunistico e generalista.

Nel caso delle *Emys* provenienti dalla Riserva Lago Preola – Gorghi Tondi, analizzando i contenuti isotopici del materiale corneo di maschi e femmine non sono state rilevate significative differenze, mentre come era ipotizzabile c'è una certa variabilità rispetto alla stagione nel contenuto di $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ fra giugno e settembre, confermando quanto osservato attraverso l'analisi dei contenuti fecali delle testuggini di questa popolazione (OTTONELLO *et al.*, 2021).

In questo caso, però, è interessante osservare come il modello restituisca una differenza ai limiti della significatività nelle tracce isotopiche nelle unghie delle testuggini fra i diversi siti. Soprattutto Gorgo Basso si differenzia sia da Gorgo Alto sia da Gorgo Medio, mentre Alto e Medio risultano simili. Questo è valido soprattutto per $\delta^{15}\text{N}$, meno evidente invece la variabilità per $\delta^{13}\text{C}$.

Tali indicazioni ricalcano in parte le ipotesi e i risultati ottenuti da OTTONELLO *et al.* (2021) analizzando i contenuti fecali delle *Emys* dei tre Gorghi e i tassi di crescita nelle tre subpopolazioni.

Pur essendo chiaro che i valori isotopici sono influenzati anche dalla tipologia di tessuto che viene utilizzato per le analisi (JACKSON *et al.*, 2011; BALZANI *et al.*, 2016), è stato possibile in questa sede provare un confronto delle tracce isotopiche nelle unghie di *E. trinacris* e delle specie potenziali competitori nei siti della Riserva Lago Preola e Gorghi Tondi. OTTONELLO *et al.* (2016) ipotizzano che le evidenti differenze sia biometriche sia nella produttività e nell'accrescimento delle testuggini rilevabili fra Gorgo Basso e il sistema Gorgo Alto e Gorgo Medio possano essere ricondotte alla presenza solo nel Gorgo Alto e Gorgo Medio di specie ittiche quali *Carpa specchio* e *Gambusia*, specie che possono avere un impatto rilevante sulla componente macrobentonica dei corpi idrici colonizzati (CAGLE, 1946; GIBBONS, 1982; MACCULLOCH & SECOY, 1983; DUNHAM & GIBBONS, 1990; OTTONELLO *et al.*, 2016).

In questo caso l'approccio dell'analisi isotopica e soprattutto l'indagine della nicchia isotopica potrebbe restituire informazioni sul livello di competizione nei Gorghi.

Considerando per prima cosa i contenuti di $\delta^{15}\text{N}$ e $\delta^{13}\text{C}$ nelle unghie, le differenze sarebbero significative fra *Emys* e le specie ittiche, mentre sarebbero simili i valori di carpa e gambusia. Tale differenza è meno netta considerando i livelli di $\delta^{13}\text{C}$ fra testuggini e carpa. Gli stessi risultati sono ottenuti considerando le tracce isotopiche del sangue di *Emys*.

Nel caso della popolazione del Gorgo Lungo (Riserva Bosco Ficuzza), considerando il sangue delle testuggini catturate, vi sarebbe una differenza significativa fra maschi e femmine, non osservata nei Gorghi Tondi, sia per $\delta^{15}\text{N}$ sia per $\delta^{13}\text{C}$. In particolare, i maschi presentano valori maggiori per entrambi gli isotopi rispetto alle femmine, indicando una dieta maggiormente carnivora. Questo risultato non è tuttavia confermato dai valori isotopici del materiale corneo (che generalmente fornisce indicazioni sulla dieta relativa ad un periodo di tempo maggiore rispetto al sangue), portando a ipotizzare un sostanziale allineamento dei sessi nello spazio trofico. Allo stesso modo non sono presenti differenze rispetto ai mesi di campionamento, confermando, rispetto a quanto visto nei Gorghi Tondi, una dieta più routinaria delle testuggini del Gorgo Lungo.

Interessante infine il dato che emerge dal confronto fra il Gorgo Lungo e il gruppo del Gorghi Tondi. I dati in questo caso confermerebbero una netta distinzione fra le tracce isotopiche delle due popolazioni. Tali analisi dovranno essere approfondite attraverso lo studio delle nicchie isotopiche (LAYMAN

et al., 2007) per poter studiare la sovrapposizione fra i diversi gruppi considerati e permettere un approccio alla strategia trofica di questi animali.

BIBLIOGRAFIA

- BALZANI P., VIZZINI S., SANTINI G., MASONI A., CIOFI C., RICEVUTO E. & CHELAZZI G., 2016. Stable isotope analysis of trophic niche in two co-occurring native and invasive terrapins, *Emys orbicularis* and *Trachemys scripta elegans*. *Biol. Invasions*, 18(12): 3611-3621.
- CAGLE F.R., 1946. The growth of the slider turtle, *Pseudemys scripta elegans*. *Amer. Midi. Nat.*, 29: 257-512.
- ÇIÇEK K. & AYAZ D., 2011. Food composition of the European pond turtle (*Emys orbicularis*) in Lake Sülüklü (Western Anatolia, Turkey). *J. Freshwater Ecol.*, 26: 1-8.
- DUNHAM A.E. & GIBBONS J. W., 1990. Growth of the slider turtle. Pp. 135-145 in: Gibbons J.W. (ed.), Life history and ecology of the slider turtle. *Smithsonian Inst. Press*, Washington, D.C.
- ERNST C.H. & BARBOUR R.W., 1994. Turtles of the World. *Smithsonian Inst. Press*, Washington, D.C.
- FICETOLA G.F. & DE BERNARDI F., 2006. Is the European “pond” turtle *Emys orbicularis* strictly aquatic and carnivorous? *Amphibia-Reptilia*, 27: 445-447.
- GIBBONS M.R., 1982. Multivariate tests of financial models: A new approach. *J. Financ. Econ.*, 10(1): 3-27.
- JACKSON A.L., INGER R., PARNELL A.C. & BEARHOP S., 2011. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER—Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *J. Anim. Ecol.*, 80: 595–602.
- LAYMA, C.A., ARRINGTON D.A., MONTANA C.G. & POST D.M., 2007. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure? *Ecology*, 88: 42-48.
- LEBBORONI M. & CHELAZZI G., 1991. Activity patterns of *Emys orbicularis* L. (Chelonia Emydidae) in Central Italy. *Ethol. Ecol. Evol.*, 3: 257-268.
- LOWE S., BROWNE M., BOUDJELAS S. & DE POORTER M., 2000. 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database. *Invasive Species Specialist Group*, Auckland.
- MACCULLOCH R.D. & SECOY D. M., 1983. Movement in a River Population of *Chrysemys picta bellii* in Southern Saskatchewan. *J. Herpetol.*, 17(3): 283-285.
- NATCHEV N., TZANKOV N., WERNEBURG I. & HEISS E., 2015. Feeding behaviour in a ‘basal’ tortoise provides insights on the transitional feeding mode at the dawn of modern land turtle evolution. *Peer J.*, 3:e1172; DOI 10.7717/peerj.1172.
- OTTONELLO D., SALVIDIO S. & ROSECCHI E., 2005. Feeding habits of the European pond terrapin *Emys orbicularis* in Camargue (Rhône Delta, Southern France). *Amphibia-Reptilia*, 26: 562-565.
- OTTONELLO D., D'ANGELO S., ONETO F., MALAVASI S. & ZUFFI M.A.L., 2016. Feeding ecology of the Sicilian pond turtle *Emys trinacris* (Testudines, Emydidae) influenced by seasons and invasive alien species. *Ecol. Res.*, (2017) 32: 71-80.
- OTTONELLO D., D'ANGELO S., MARRONE F., ONETO F., SPADOLA F., ZUFFI M.A.L. & FRITZ U., 2021. *Emys trinacris* Fritz, Fattizzo, Guicking, Tripepi, Pennisi, Lenk, Joger & Wink (2005) Sicilian Pond Turtle, Testuggine Palustre Siciliana. Pp. 1–13 in: Rhodin A.G.J., Iverson J.B., van Dijk P.P., Stanford C.B., Goode E.V., Buhlmann K.A. & Mittermeier R.A. (Eds.), Conservation Biology of Freshwater Turtles and terrapins: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. *Chelon. Res. Monogr.*, 5(15): 112.

- PEARSON J.C., WATSON J.D. & CREWS S.T., 2012. *Drosophila melanogaster* Zelda and Single-minded collaborate to regulate an evolutionarily dynamic CNS midline cell enhancer. *Dev. Biol.*, 366(2): 420-432.
- STEPHENS P.R. & WIENS J.J., 2003. Explaining Species Richness from Continents to Communities: The Time for Speciation Effect in Emydid Turtles. *Am. Nat.*, 161(1): 112-128.
- VENABLES W.N. & RIPLEY B.D., 2002. Modern applied statistics with S. 4th edn. *Springer*, Berlin.
- VOGT P.R. & HOLDEN J. C., 1981. Extinctions: The democratic solution. *Eos Trans.*, 62(24): 537-537.

Indirizzo degli autori — F. ONETO, S. SALVIDIO, DISTAV, Università di Genova, Corso Europa, 26 - 16132 Genova (I); e-mail: oneto.fabrizio@alice.it; D. OTTONELLO, ARPAL – Agenzia Regionale Protezione Ambiente Ligure, Via Bombrini, 8 - 16149 Genova (I); S. D'ANGELO, WWF Italia, via Po, 25/c - 00195 Roma (I); E. ALEO, S. VIZZINI, DISTEM, Università degli Studi di Palermo, Via Archirafi, 22 - 90123 Palermo (I).