

INFORME FINAL

PARA AREAS DE CONSERVACION GUANACASTE, TEMPISQUE, PACIFICO CENTRAL Y OSA.

Resoluciones N°

SINAC-SE-CUSBE-PI-R-0095-2017 (Exp. Dig. N° SINAC-SE-CUSBE-PI-0095-2017)

SINAC-SE-CUS-PI-R-0106-2017

Investigación de las diferencias en las estrategias de alimentación, el uso de hábitat y la utilización de recursos entre individuos como una hipótesis para explicar las causas y consecuencias de la táctica reproductiva alternativa femenina de las hembras de la tortuga lora (*Lepidochelys olivácea*)

Investigadora Principal: Christine Figgner (Profesora - Dra. Pamela Plotkin)

Siete de agosto de 2019

RESUMEN DE LOS OBJETIVOS

Nuestro objetivo general es comparar y caracterizar la estrategia de alimentación (incluyendo las rutas migratorias) y el nicho trófico de las tortugas loras solitarias y tortugas loras de arribada usando análisis de isótopos estables y transmisores satelitales.

Nuestros objetivos en detalles para el estudio son **(1) caracterizar y comparar el comportamiento de alimentación y el nicho trófico** entre tortugas solitarias y tortugas de arribada usando análisis de isótopos estables, **(2) caracterizar y comparar el uso de hábitat** durante la migración entre tortugas solitarias y tortugas de arribada usando transmisores satelitales, **(3) investigar la utilización de recursos** durante la temporada reproductiva usando indicadores para alimentación reciente en la sangre (hormonas y osmolitos, bajo permiso de **CONAGEBIO R-029-2016-OT**) e indicadores del estadio corporal usando ultrasonido.

Esto nos permitirá a determinar si la estrategia de alimentación y el nicho trófico varían entre tortugas solitarias y tortugas de arribadas. Estudios previos encontraron evidencia que hay diferencias entre tortugas solitarias y tortugas de arribada en su fisiología y ciclo vital y nuestra hipótesis es que tortugas solitarias se alimentan principalmente en aguas neríticas y tortugas de arribadas se alimentan predominantemente en aguas pelágicas con consecuencias para su morfología y rendimiento reproductivo.

METODOLOGÍA

Para **(1) caracterizar y comparar el comportamiento de alimentación y el nicho trófico**, en 2017 colectamos 24 muestras de piel de tortugas solitarias en una playa de arribada (Playa Ostional) y en playas solitarias en Costa Rica (ACG: El Jobo; ACT: ninguna; ACOSTA: Playa Hermosa, Barú; ACOSA: Rio Oro) para el análisis de los isótopos estables para determinar las diferencias en la dieta y el nicho trófico entre los dos grupos de hembras en la costa costarricense del Océano Pacifico oriental. Mientras la tortuga estaba poniendo huevos, limpiamos las áreas del muestreo en la tortuga con alcohol y colectamos las muestras de piel de la superficie dorsal del cuello y del caparazón con un punzón de biopsia de 6mm. Las muestras preservamos en 70% etanol analítico.

En los EEUU preparamos las muestras para el análisis de los isótopos estables siguiendo el protocolo estabilizado por el laboratorio trófico de Universidad Texas A&M en Galveston.

Para **(2) caracterizar y comparar el uso de hábitat** instalamos 18 transmisores satelitales a hembras en el fin de su temporada de anidación (sin más folículos vitelogenicos en sus ovarios, confirmado con ultrasonido) después que anidaron.

Bajo luz blanca el caparazón de la tortuga fue limpiado con papel de lija y una base de adhesivo fue aplicada. El transmisor fue colocado en la parte superior de la base. El transmisor fue parcialmente cubierto y fijado con un adhesivo de epoxi. La tortuga fue contenida por mano por dos a tres horas hasta que los adhesivos estaban secos. Después de esto proceso la tortuga fue liberada.

Para **(3) investigar la utilización de recursos** durante la temporada reproductiva, al inicio del pico de la temporada de anidación (julio y agosto), 17 hembras en Ostional solo fueron atrapadas en el agua durante el apareamiento, marcadas y equipadas con un transmisor de radio VHF (Telonics Inc.) para encontrarlas y recapturarlas más adelante durante las arribadas. La colocación seguirá el mismo protocolo como en el objetivo #2. La única diferencia era que llevamos las tortugas del agua en el bote a la costa para tener mejores condiciones mientras instalando los transmisores en tierra firme. Las hembras después fueron liberadas en el mismo sitio donde fueron capturadas usando puntos de GPS previamente colectados.

Cuando capturamos las tortugas por primera vez se tomó una muestra de sangre (bajo el permiso de CONAGEBIO), muestras de epidermis para el análisis de los isótopos estables (ve objetivo #1) y medidas morfométricas. Además, el estado reproductivo se confirmará por medio de ultrasonidos (ve objetivo #2). La sangre será más adelante analizada en el laboratorio de la universidad Texas A&M a cerca de los niveles hormonales y osmolíticos y nos puede ayudar a indicar si las hembras se alimentan (y si se siguen produciendo yema) durante la temporada de anidación o no.

Actividades Realizadas

Entre julio de 2017 y diciembre 2017, colectamos 24 muestras de piel, 133 muestras de sangre (bajo permiso de CONAGEBIO), colocamos 17 transmisores de radio y 18 transmisores satelitales a tortugas loras en playas del ACG, ACT, ACOPAC y el ACOSA (Tabla 1).

Tabla 1. Actividades realizadas durante el año 2017 en las diferentes Áreas de Conservación MINAE/SINAC en Costa Rica.

Área De Conservación	Playa	Datos morfométricos	Cantidad Muestras de Tejido/ Piel	Cantidad de Muestras de Sangre (bajo CONAGEBIO)	Cantidad de Transmisores de Radio instalados	Cantidad Transmisores Satelitales instalados
ACG	El Jobo	4	4	1	--	4
ACT	Ostional	100	8	93	17	4
ACOPAC	Barú	6	3	2	--	2
	Playa Hermosa	6	3	3	--	3
ACOSA	Río Oro	42	5	33	--	5

Todas las muestras de los años 2016 y 2017 fueron preparadas en el laboratorio trófico de la Universidad Texas A&M en Galveston y después analizadas en el laboratorio de isótopos estables de la Universidad Texas A&M en College Station y los resultados están presentados en este reporte.

Las muestras de sangre ya han llegado a los EEUU y están esperando análisis en el laboratorio de la universidad Texas A&M por Brianna Myre.

RESULTADOS (de todos los años de investigación, 2014-2017)

(1) Valores de los isótopos estables de carbón [$\delta^{13}\text{C}$] y nitrógeno [$\delta^{15}\text{N}$] de las muestras colectadas.

En cuatro temporadas de anidación 2014-2017 logramos coleccionar 519 muestras de piel (267 de hembras solitarias, 226 de hembras de arribada) para análisis de isótopos estables. Nosotros caracterizamos el nicho trófico de la población y de los dos grupos de hembras por medio del nicho isotópico. Usamos el programa SIBER en R.

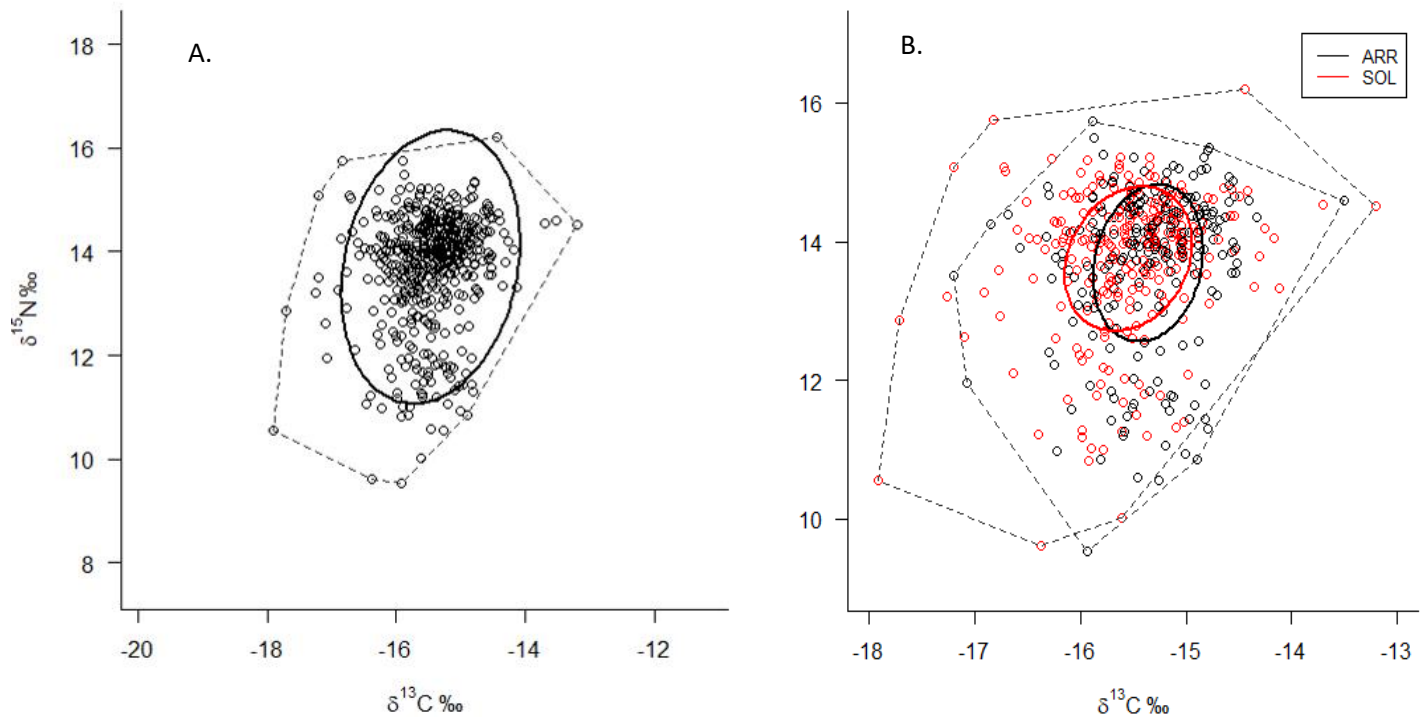


Figure 1. Los valores isotópicos de nitrógeno y carbón de las muestras de piel colectadas de hembras de *L. olivacea* anidando en Costa Rica entre 2014 y 2016. Delineado está el nicho isotópico (una estimación del nicho trófico) de la población entera (A) y de las dos grupos de hembras. El casco convexo (TA, ---) es el nicho entero, la áreas del elipse estándar (SEA_c) es un aproximación del núcleo del nicho isotópico.

(1.i.) Valores promedios de los isótopos estables de carbono [$\delta^{13}\text{C}$] entre hembras de arribada y hembras solitarias.

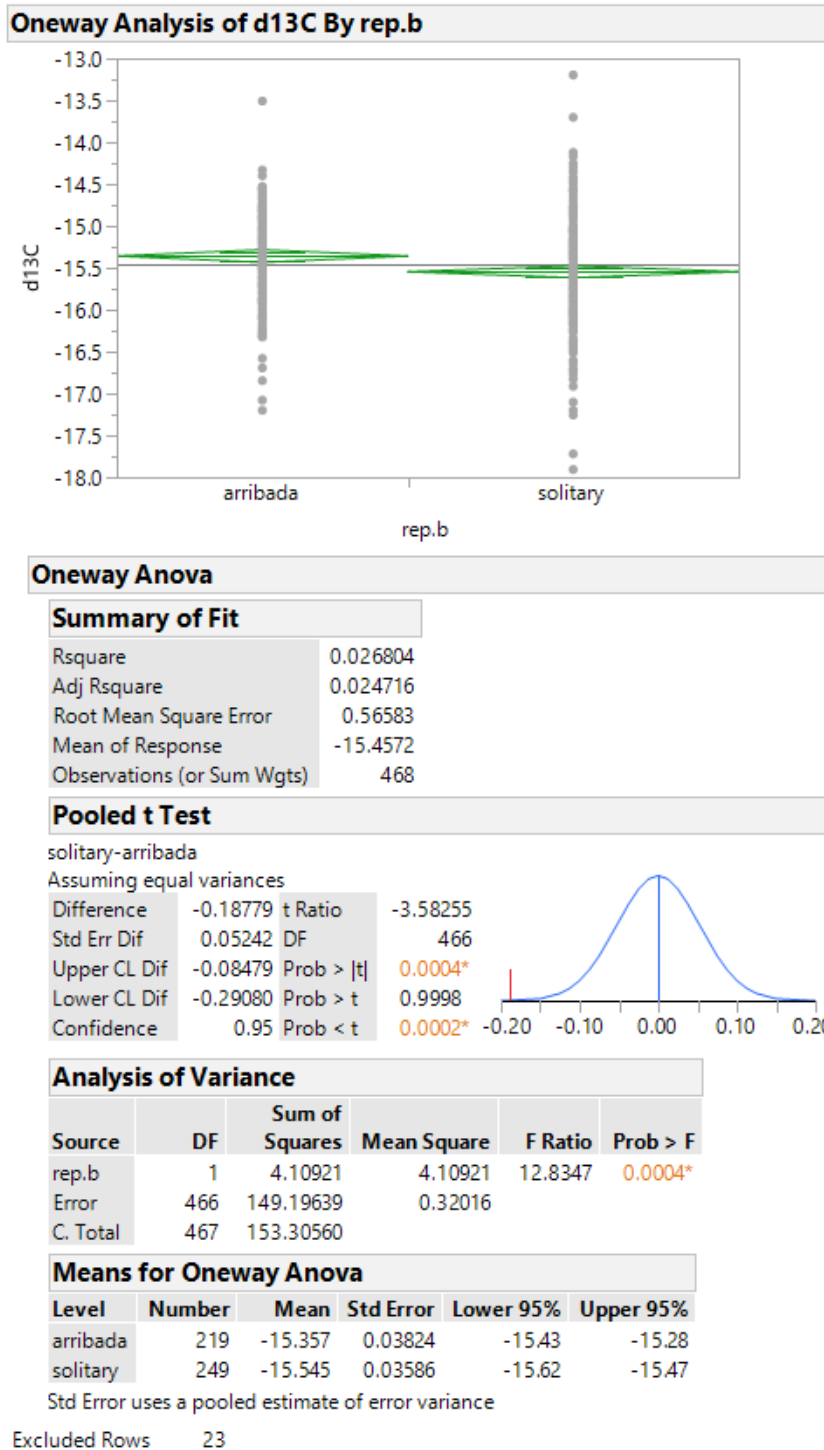


Figure 2. Comparación estadística de los valores promedios del isotopo estable de carbono [$\delta^{13}\text{C}$] de las muestras colectadas entre 2014 y 2017 entre hembras solitarias y hembras de arribada.

(1.ii) Valores promedios de los isótopos estables de carbono [$\delta^{15}\text{N}$] entre hembras de arribada y hembras solitarias.

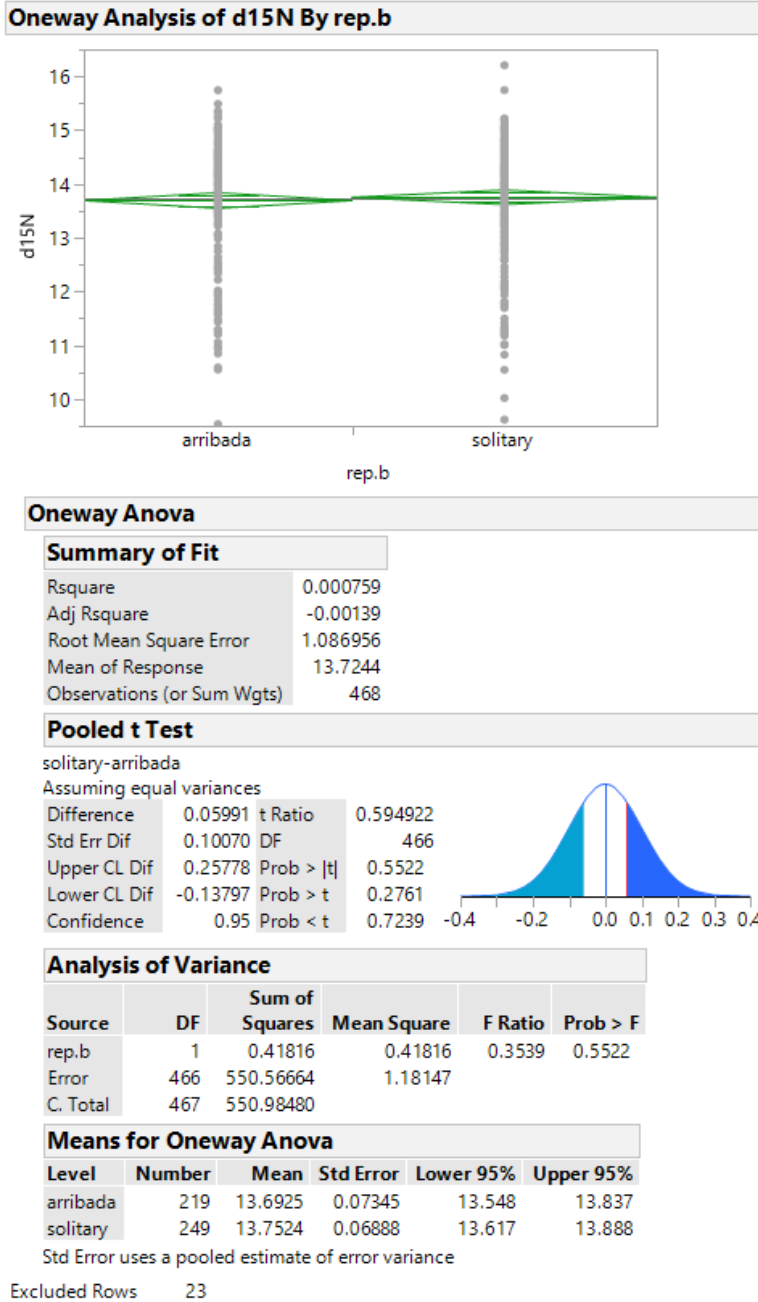
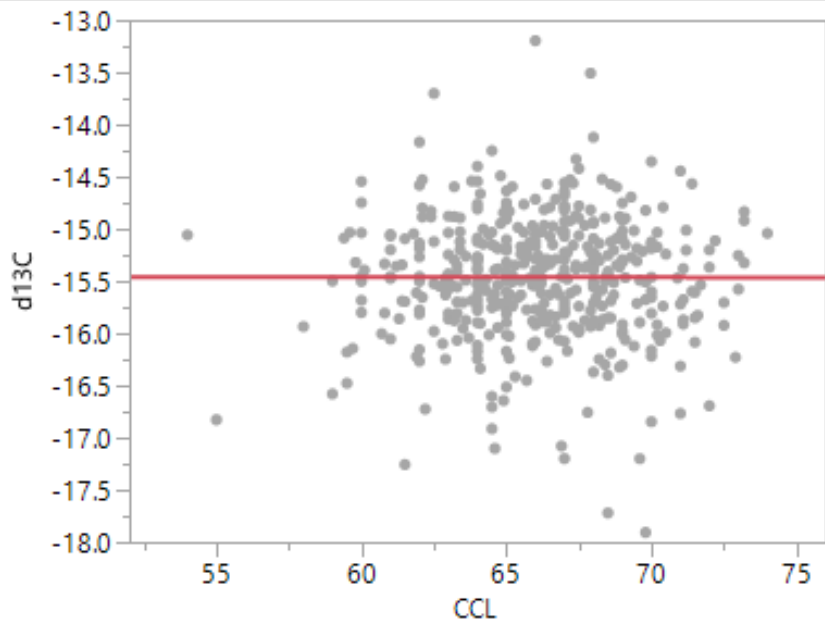


Figure 3. Comparación estadística de los valores promedios del isótopo estable de nitrógeno [$\delta^{15}\text{N}$] de las muestras colectadas entre 2014 y 2016 entre hembras solitarias y hembras de arribada.

Bivariate Fit of d13C By CCL



— Linear Fit

Linear Fit

$$d13C = -15.44248 - 0.0002919 \cdot CCL$$

Summary of Fit

RSquare	2.53e-6
RSquare Adj	-0.00219
Root Mean Square Error	0.575117
Mean of Response	-15.4618
Observations (or Sum Wgts)	458

Analysis of Variance

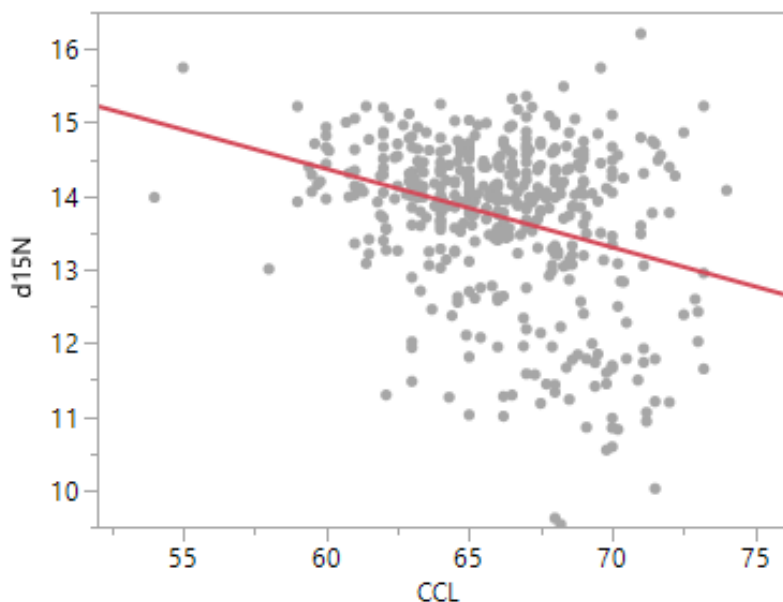
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	0.00038	0.000382	0.0012
Error	456	150.82616	0.330759	Prob > F
C. Total	457	150.82654		0.9729

Parameter Estimates

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	-15.44248	0.568115	-27.18	<.0001*
CCL	-0.000292	0.008593	-0.03	0.9729

Figure 4. Correlación entre las medidas del largo del caparazón curvado y los valores del isótopo estable de carbono de las muestras colectadas entre 2014 y 2017.

Bivariate Fit of d15N By CCL



— Linear Fit

Linear Fit

$$d15N = 20.775994 - 0.1067606 \cdot CCL$$

Summary of Fit

RSquare	0.095233
RSquare Adj	0.093249
Root Mean Square Error	1.031384
Mean of Response	13.72547
Observations (or Sum Wgts)	458

Analysis of Variance

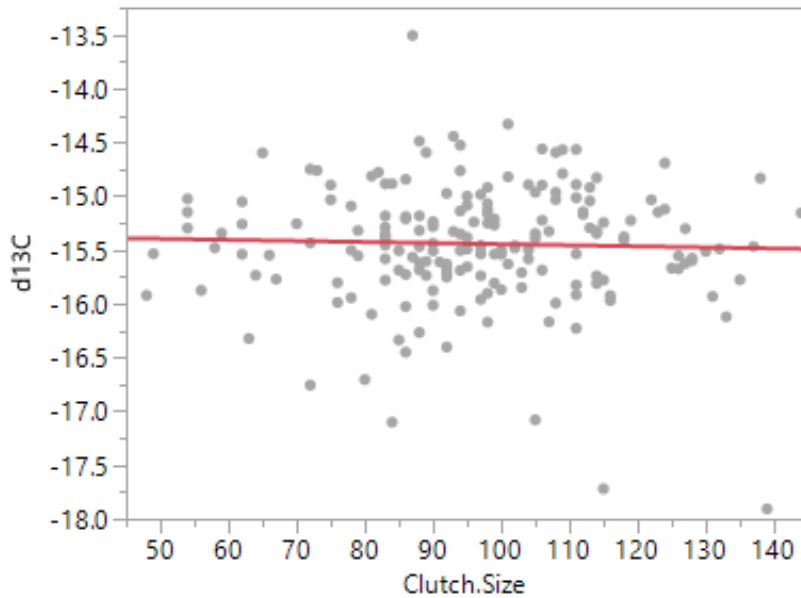
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	51.05705	51.0570	47.9971
Error	456	485.07121	1.0638	Prob > F
C. Total	457	536.12826		<.0001*

Parameter Estimates

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	20.775994	1.018827	20.39	<.0001*
CCL	-0.106761	0.01541	-6.93	<.0001*

Figure 5. Correlación entre las medidas del largo del caparazón curvado y los valores del isótopo estable de nitrógeno de las muestras colectadas entre 2014 y 2017.

Bivariate Fit of d13C By Clutch.Size



— Linear Fit

Linear Fit

$$d13C = -15.34666 - 0.0010059 * Clutch.Size$$

Summary of Fit

RSquare	0.001179
RSquare Adj	-0.00413
Root Mean Square Error	0.555831
Mean of Response	-15.4434
Observations (or Sum Wgts)	190

Analysis of Variance

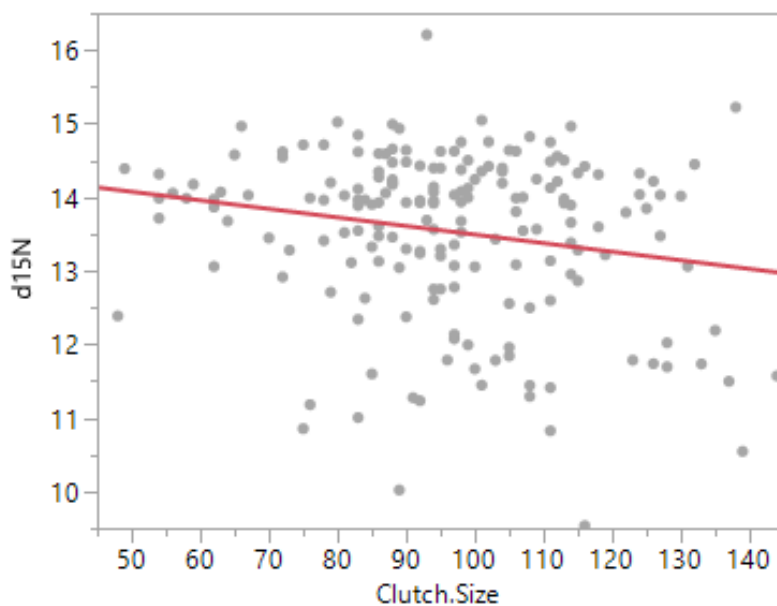
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	0.068532	0.068532	0.2218
Error	188	58.082181	0.308948	Prob > F
C. Total	189	58.150713		0.6382

Parameter Estimates

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	-15.34666	0.209237	-73.35	<.0001*
Clutch.Size	-0.001006	0.002136	-0.47	0.6382

Figure 6. Correlación entre el rendimiento reproductivo y los valores del isótopo estable de carbono de las muestras colectadas entre 2014 y 2017.

Bivariate Fit of d15N By Clutch.Size



— Linear Fit

Linear Fit

$$d15N = 14.656566 - 0.0116415 * Clutch.Size$$

Summary of Fit

RSquare	0.03855
RSquare Adj	0.033436
Root Mean Square Error	1.103492
Mean of Response	13.53745
Observations (or Sum Wgts)	190

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	9.17898	9.17898	7.5380
Error	188	228.92671	1.21770	Prob > F
C. Total	189	238.10569		0.0066*

Parameter Estimates

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	14.656566	0.415398	35.28	<.0001*
Clutch.Size	-0.011641	0.00424	-2.75	0.0066*

Figure 7. Correlación entre el rendimiento reproductivo y los valores del isótopo estable de nitrógeno de las muestras colectadas entre 2014 y 2017.

(2) Análisis de las rutas migratorias de las hembras con transmisores satelitales

En dos temporadas de anidación (2016 y 2017) instalamos un total de 27 transmisores satelitales.

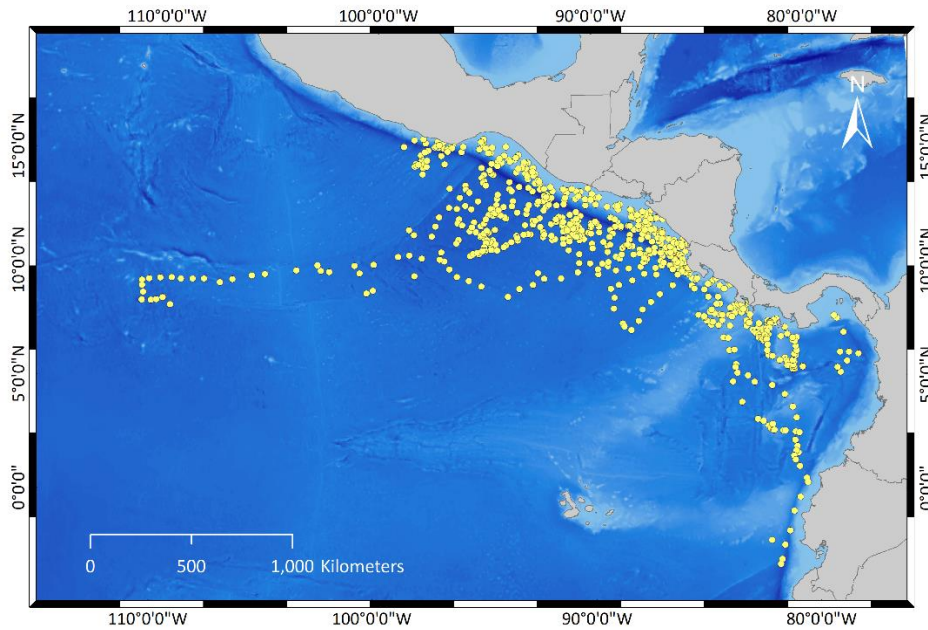


Figure 6. Las locaciones registradas durante la migración post-anidación de las 27 hembras de la tortuga lora con transmisores satelitales después de las temporadas de anidación 2016 y 2017 en Costa Rica.

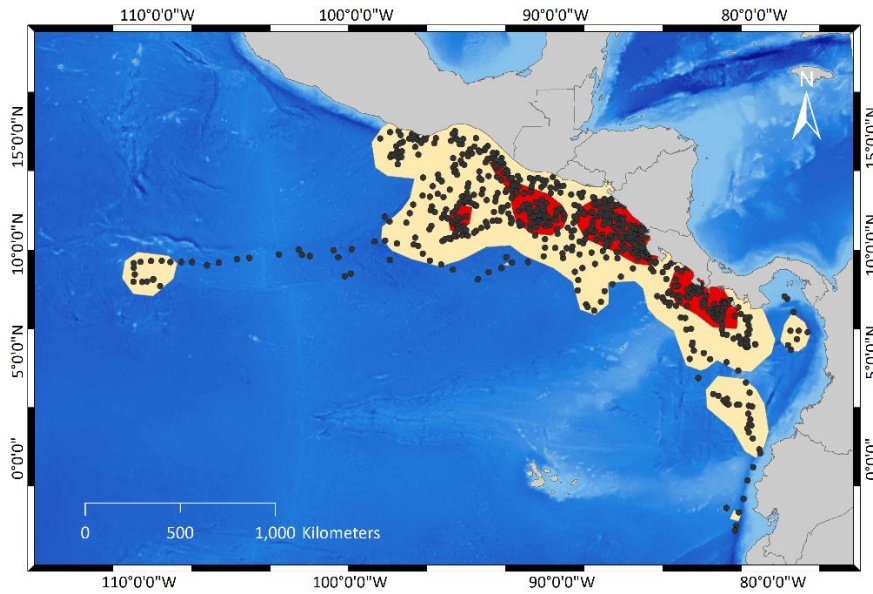


Figure 7. El hábitat crítico post-anidación de las 27 hembras de la tortuga lora en el Pacífico Occidental por medio de análisis de Kernel Density (KDE). Las áreas nucleas son en roja y son el 50 Percent Volume Contour (50 PVC) que incluye 50% de las locaciones registradas. Las áreas amarillas es el 95 PVC que incluye 95% de las locaciones registradas.

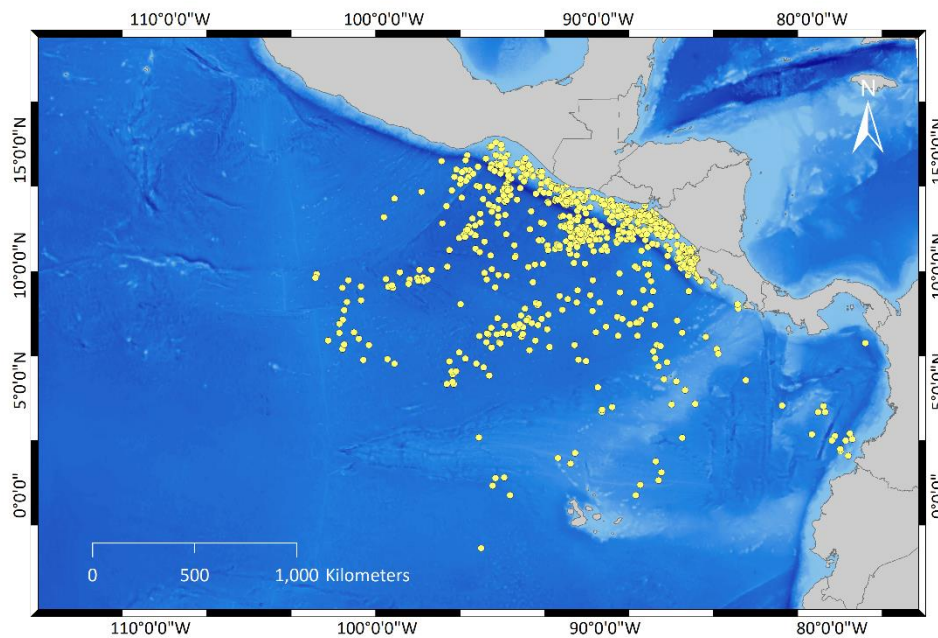


Figure 8. Las locaciones registradas durante la migración post-anidación de las hembras de arribada con transmisores satelitales después de las temporadas de anidación 2016 y 2017 en Costa Rica

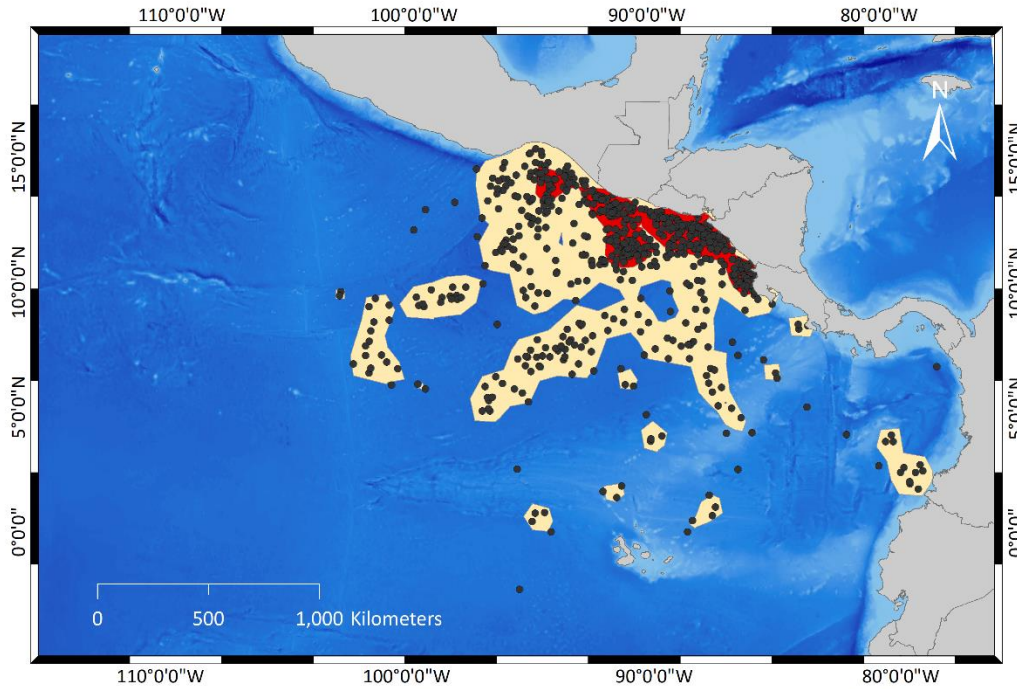


Figure 9. El hábitat crítico post-anidación de las hembras de arribada en el Pacífico Occidental por medio de análisis de Kernel Density (KDE). Las áreas nucleas son en roja y son el 50 Percent Volume Contour (50 PVC) que incluye 50% de las locaciones registradas. Las áreas amarillas es el 95 PVC que incluye 95% de las locaciones registradas.

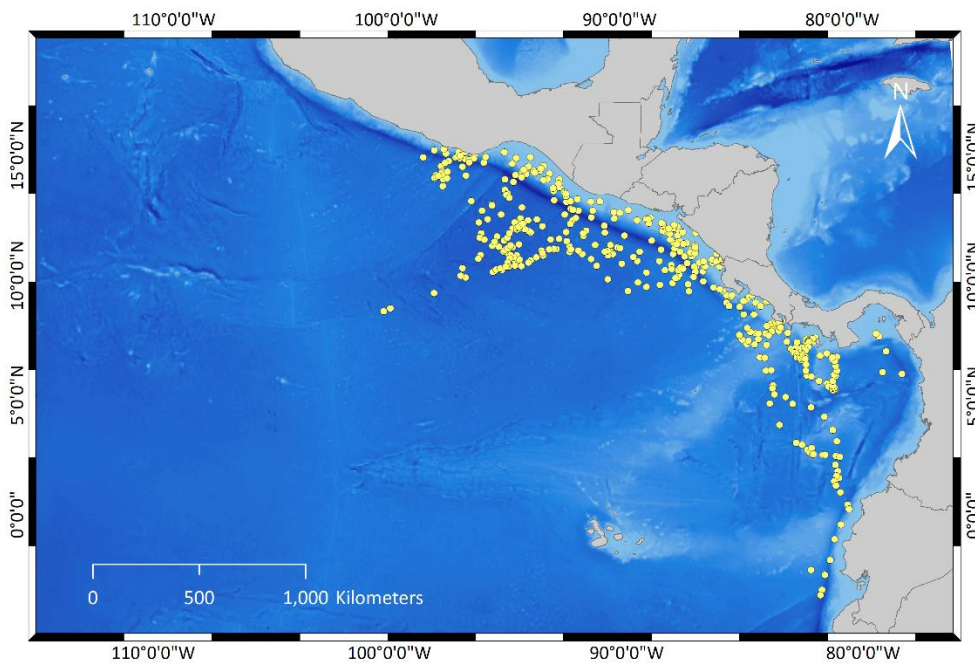


Figure 10. Las locaciones registradas durante la migración post-anidación de las hembras solitarias con transmisores satelitales después de las temporadas de anidación 2016 y 2017 en Costa Rica

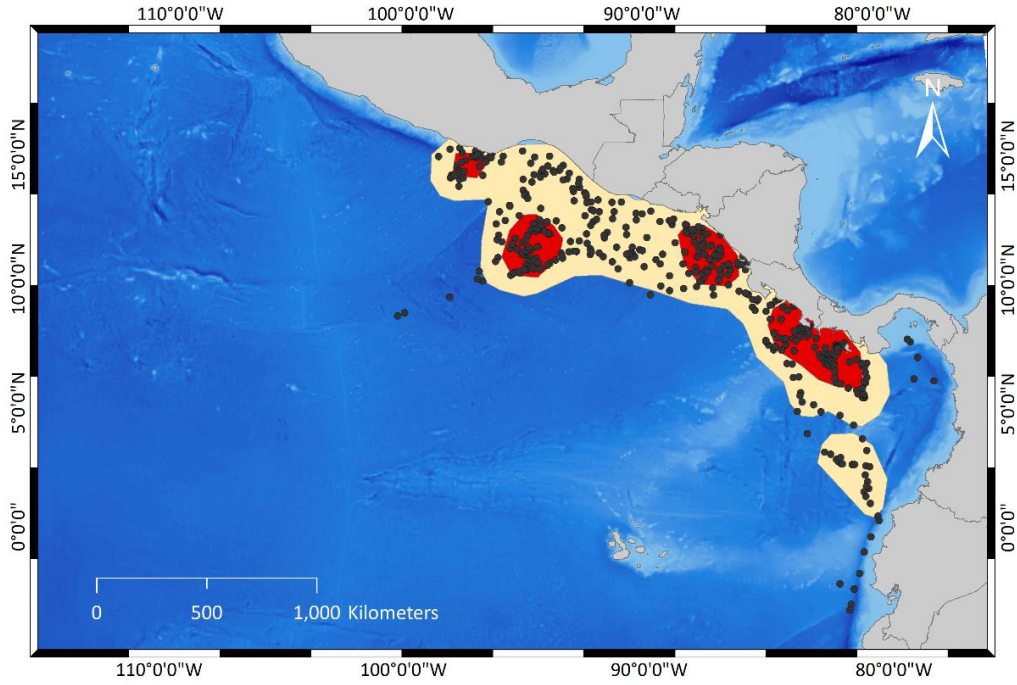


Figure 11. El hábitat crítico post-anidación de las hembras solitaria en el Pacífico Occidental por medio de análisis de Kernel Density (KDE). Las áreas nucleas son en roja y son el 50 Percent Volume Contour (50 PVC) que incluye 50% de las locaciones registradas. Las áreas amarillas es el 95 PVC que incluye 95% de las locaciones registradas.

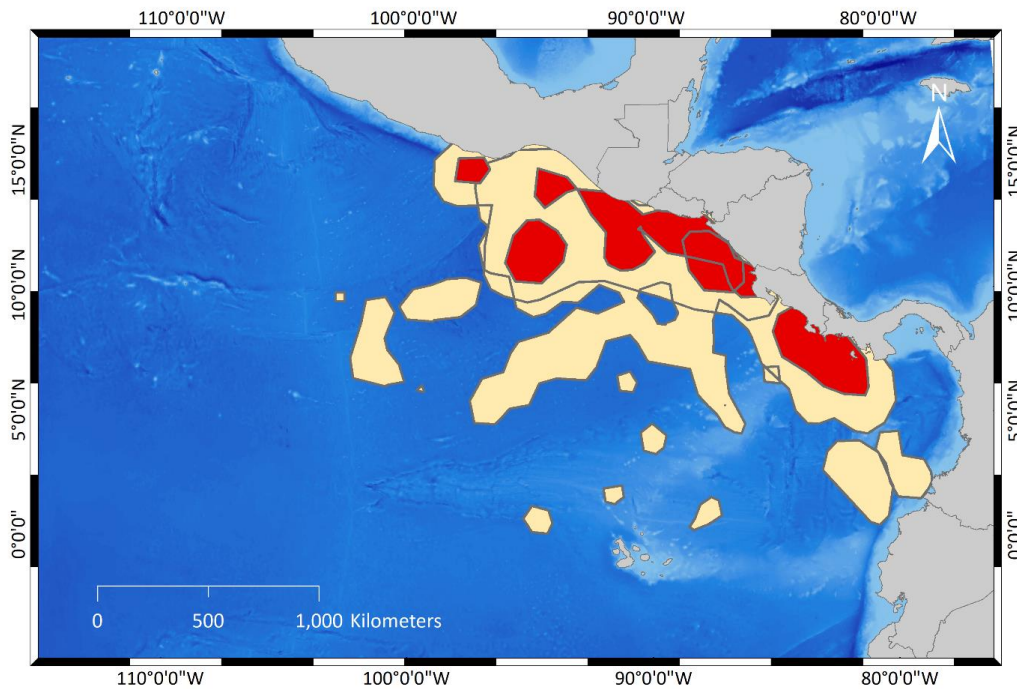


Figure 12. El traslapo de las áreas de utilización (KDE) en el Pacífico Occidental entre hembras solitarias y de arribada.

Table 2. Comparación de las áreas de utilización (KDE) y su traslapo en el Pacífico Occidental entre hembras solitarias y de arribada.

	ARR	SOL
MEAN # DAYS OF TRANSMISSION	158	80
AREA PVC_50 [KM²]	174,423.50	240,711.60
AREA PVC_95 [KM²]	1,181,288.50	1,051,760.30
OVERLAP OF PVC_50 [%]	19.7	14.3
MEAN DEPTH* [M] (±SD)	-2,071.7 (±1,940.1)	-2,467.7 (±1,544.2)
MEAN SLOPE* (±SD)	2.9 (±2.6)	2.7 (±3.1)
MEAN SLOPE VARIATION* (±SD)	0.9 (±1.0)	1.2 (±1.3)
MEAN DISTANCE TO COAST* [KM] (±SD)	99.0 (±73.0)	153.5 (±150.6)

DISCUSIÓN

Estrategia de Alimentación

El objetivo intelectual de este proyecto era evaluar la estrategia de alimentación como mecanismos subyacentes para explicar las tácticas reproductivas alternativas de tortugas loras. Este proyecto tiene como objetivo revelar los mecanismos del polimorfismo intraespecífico del comportamiento de anidación de las hembras de la tortuga lora y también quiere contestar la pregunta cómo esta variación se ha mantenido y cuáles son las consecuencias para los individuos. Este estudio contribuirá al conocimiento de la evolución de tácticas reproductivas alternativas femeninas.

Nuestra hipótesis establece que existen diferencias en la característica isotópica, el uso de hábitat y la utilización de recurso durante la temporada de anidación entre las tortugas solitarias y las tortugas de arribada debido a una estrategia diferente de la alimentación entre los dos grupos.

En cuatro temporadas de anidación 2014-2017 logramos coleccionar 519 muestras de piel (267 de hembras solitarias, 226 de hembras de arribada) para análisis de isótopos estables.

Esperábamos ver **diferencias en los perfiles de isótopos estables** entre tortugas loras de arribadas y tortugas loras solitarias. Los resultados preliminares apoyaron nuestra hipótesis, y ahora con la muestra final todavía **hay una diferencia estadísticamente significativa en el promedio de los valores del isótopo estable de carbono [$\delta^{13}\text{C}$] per NO para los valores de nitrógeno [$\delta^{15}\text{N}$] entre las hembras solitarias y las hembras de arribada (Fig. 1)**. La diferencia en los valores de carbono brinda evidencia que **hay diferencias en la estrategia de alimentación por el parte espacial** entre hembras solitarias y de arribada, sin embargo no hay una diferencia en el nivel trófico (estimado por los valores de nitrógeno). El tamaño de las hembras y sus rendimientos reproductivos son correlatos negativos con nitrógeno indicando una diferencia en nivel trófico entre hembras más grandes y más pequeñas.

Rutas Migratorias

En dos temporadas de anidación (2016 y 2017) instalamos un total de 27 transmisores satelitales.

Deliñamos áreas de alto uso en Pacífico Occidental para la población de *L. olivacea* durante sus viajes alimenticios.

Esperábamos ver **diferencias en las rutas migratorias y áreas de alto uso entre hembras de arribadas y hembras solitarias**. Los resultados enseñan que las áreas nucleos son significativamente diferente entre los dos grupos de hembras. Hembras de arribada tienen sus áreas nucleos (PVC_50) más al norte (en aguas neríticas en frente de Nicaragua, Honduras y Guatemala) mientras hembras solitarias tenían sus áreas nucleos más al sur y cerca a Costa Rica (Panamá norte) con extensiones en aguas más oceánicas.

LIMITACIONES, IMPREVISTOS Y SUGERENCIAS

En la primera parte de nuestro estudio (2014) colectamos solamente muestras de tortugas de arribada de Nancite y de tortugas solitarias muy cerca de las dos playas de arribada en Costa Rica (Nancite y Ostional). En la segunda parte (2015, 2016, y 2017) colectamos muestras de tortugas solitarias más lejos de Nancite y Ostional. Aumentar la distancia geográfica entre las playas de arribadas y las playas de anidación solitaria aseguro que las tortugas que muestreamos de verdaderamente eran solitarias y no de arribada. Además, empezamos coleccionar muestras de hembras en Ostional en 2016, que no habíamos hecho antes. En 2016 empezamos a investigar el tema de las estrategias de la utilización de recursos para la reproducción entre los dos grupos de hembras (bajo permisos de CONAGEBIO, Brianna Myre) y seguimos en las temporadas 2017 y 2018. Logramos recapturar seguidamente suficientes hembras durante la temporada de anidación para coleccionar suficientes muestras de sangre para un tamaño estadísticamente significativa. Las muestras de sangre todavía no están analizadas, pero deberían estar listos en unos 12 meses.

RECOMENDACIONES Y RAZONES PARA LA RENOVACIÓN DEL PERMISO DE LA INVESTIGACIÓN

Usando la nueva tecnología basado en la constelación satelital IRIDIUM en dos hembras (Figgenger et al. 2018, juntado al reporte) nos enseñó que tienen una resolución espacial mucho más alta que ARGOS. Y Nos gustaría seguir con una investigación con el objetivo de **evaluar los movimientos de hembras durante la temporada de anidación para delinear áreas de alto uso en aguas costeras para identificar peligros potenciales por lado de la pesquería comercial (captura incidental) y tráfico marítimo (colisión con barcos)**. Vamos a solicitar un permiso nuevo para un estudio usando los transmisores satelitales IRIDIUM en hembras empezando su temporada de anidación en playas de anidación de arribada y de anidación solitaria, en toda la costa Pacífica de Costa Rica.