

INFORME AVANCE/ INFORME FINAL 2016

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

Resoluciones N° ACG-PI-026-2016, ACT-OR-DR-074-16, ACT-OR-DR-109-16, ACOPAC-INV-019-16, ACOSA-INV-030-16

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 tendencias de la táctica reproductiva alternativa femenina de las hembras de tortuga lora (*Lepidochelys olivacea*)

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

Abril 30 de 2017

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 2016 colectamos muestras de piel de tortugas solitarias en dos playas de arribada (Playa Nancite y Playa Ostional) y en playas solitarias en Costa Rica (ACG: Isla San José, Naranjo; ACT: ninguna; ACOSTA: Barú, Reserva Tortuga; 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 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 tela de fibra de vidrio y resina y 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), 5 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 mejor 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 la análisis de los isótopos estables (ve objetivo #1) y medidas morfométricas. Además el estado reproductivo se confirmara por medio de ultrasonidos (ve objetivo #2). La sangre será más adelante analizado 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 2016 y Diciembre 2016, colectamos 176 muestras de piel, 143 muestras de sangre (bajo permiso de CONAGEBIO), colocamos 5 transmisores de radio y nueve transmisores satelitales a tortugas loras en playas del ACG, ACT, ACOPAC y el ACOSA (Table 1).

Table 1. Actividades realizadas durante el año 2016 en las diferentes Áreas de Conservación MINAE/SINAC en Costa Rica.

Área De Conservación	Playa	Datos morformetricos	Cantidad Muestras de Tejido/ Piel	Cantidad de Muestras de Sangre (bajo CONAGEBIO)	Cantidad de Transmisores de Radio instalados	Cantidad Transmisores Satelitales instalados
ACG	Nancite	13	13	--	--	--
	Isla San José	5	5	--	--	--
ACT	Ostional	100	100	114	5	3
ACOPAC	Barú	3	3	1	--	--
	Reserva Tortuga	4	4	--	--	--
ACOSA	Rio Oro	51	51	28	--	6

El permiso de la exportación y la renovación de importación por parte de CITES (#2016-CR2390/SJ y #16US43484B/9) fue otorgado en el fin de Septiembre de 2016 e nosotros importamos las muestras a los EEUU en Octubre 2016. Desafortunadamente, los inspectores en el aeropuerto de los EEUU no estaban familiares con el proceso de la importación por CITES y las muestras se quedaron en custodia de ellos hasta Marzo 2017. Esto atraso el proceso del análisis. En Marzo 2017 las muestras 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 están almacenadas en Costa Rica en este momento y están esperando el permiso de importación/exportación por parte de CITES. La sangre será más adelante analizado en el laboratorio de la universidad Texas A&M.

Resultados

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

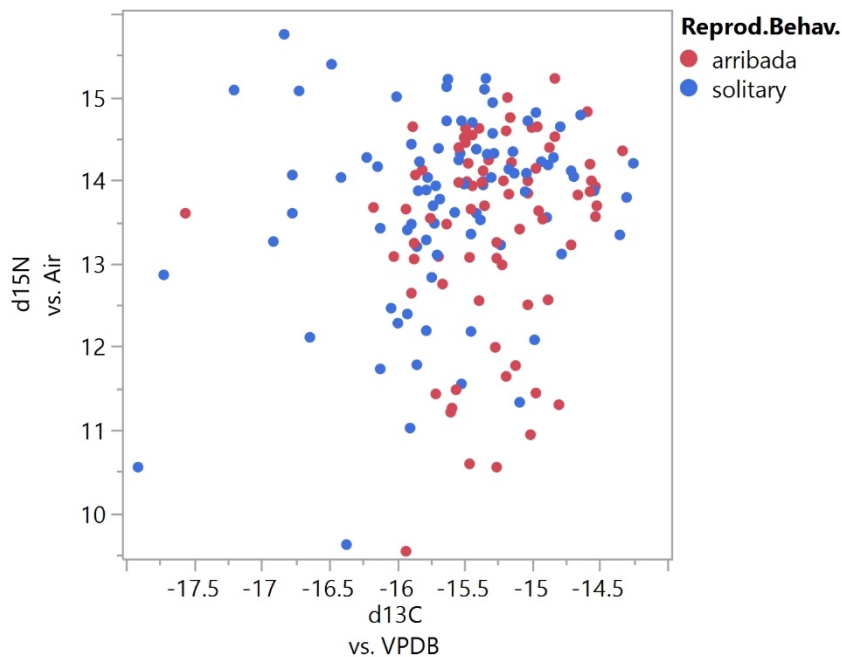
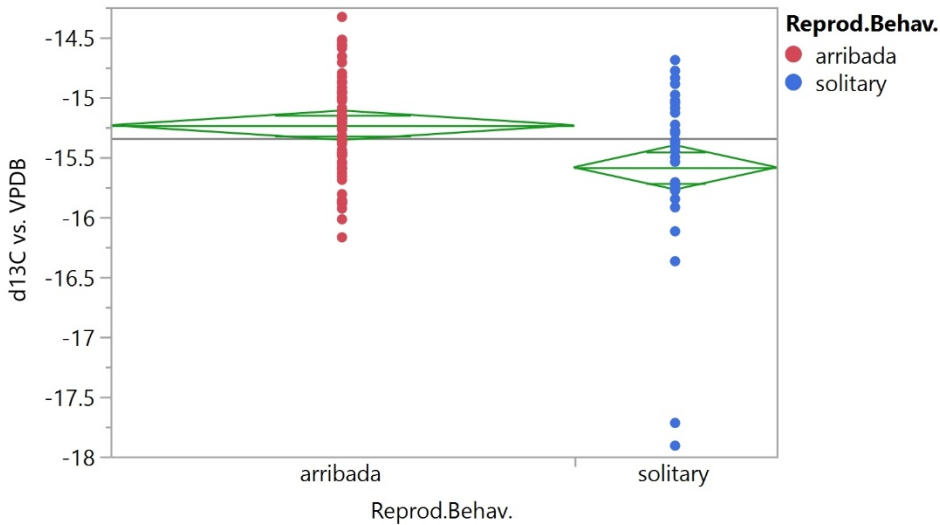


Figure 1. Los valores isotópicos de nitrógeno y carbón de las muestras de piel colectadas en 2016, comparando hembras de arribada y hembras solitarias.

- (2) Comparando los promedios de los valores del isótopo estable de carbono [$\delta^{13}\text{C}$] entre hembras de arribada y hembras solitarias.



Missing Rows 91

Excluded Rows 271

Oneway Anova

Summary of Fit

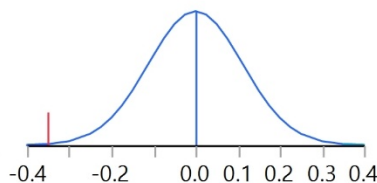
Rsquare	0.08722
Adj Rsquare	0.078358
Root Mean Square Error	0.528496
Mean of Response	-15.3412
Observations (or Sum Wgts)	105

t Test

solitary-arribada

Assuming equal variances

Difference	-0.35152	t Ratio	-3.13721
Std Err Dif	0.11205	DF	103
Upper CL Dif	-0.12930	Prob > t	0.0022*
Lower CL Dif	-0.57373	Prob > t	0.9989
Confidence	0.95	Prob < t	0.0011*



Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Reprod.Behav.	1	2.748984	2.74898	9.8421	0.0022*
Error	103	28.768755	0.27931		
C. Total	104	31.517739			

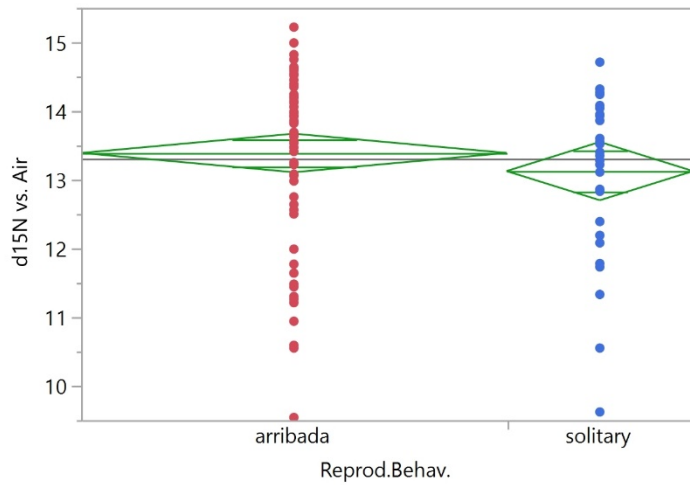
Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
arribada	73	-15.234	0.06186	-15.36	-15.11
solitary	32	-15.586	0.09343	-15.77	-15.40

Std Error uses a pooled estimate of error variance

Figure 2. Comparación estadística de los valores promedios del isotopo estable de carbono [$\delta^{13}\text{C}$] de las muestras colectadas en 2016 entre hembras solitarias y hembras de arribada.

(3) Comparando los promedios de los valores del isótopo estable de nitrógeno [$\delta^{15}\text{N}$] entre hembras de arribada y hembras solitarias.



Missing Rows 91
Excluded Rows 271

Oneway Anova

Summary of Fit

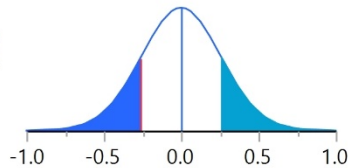
Rsquare	0.010173
Adj Rsquare	0.000563
Root Mean Square Error	1.209807
Mean of Response	13.30848
Observations (or Sum Wgts)	105

t Test

solitary-arribada

Assuming equal variances

Difference	-0.26390	t Ratio	-1.0289
Std Err Dif	0.25649	DF	103
Upper CL Dif	0.24479	Prob > t	0.3059
Lower CL Dif	-0.77260	Prob > t	0.8470
Confidence	0.95	Prob < t	0.1530



Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
Reprod.Behav.	1	1.54944	1.54944	1.0586	0.3059
Error	103	150.75431	1.46363		
C. Total	104	152.30376			

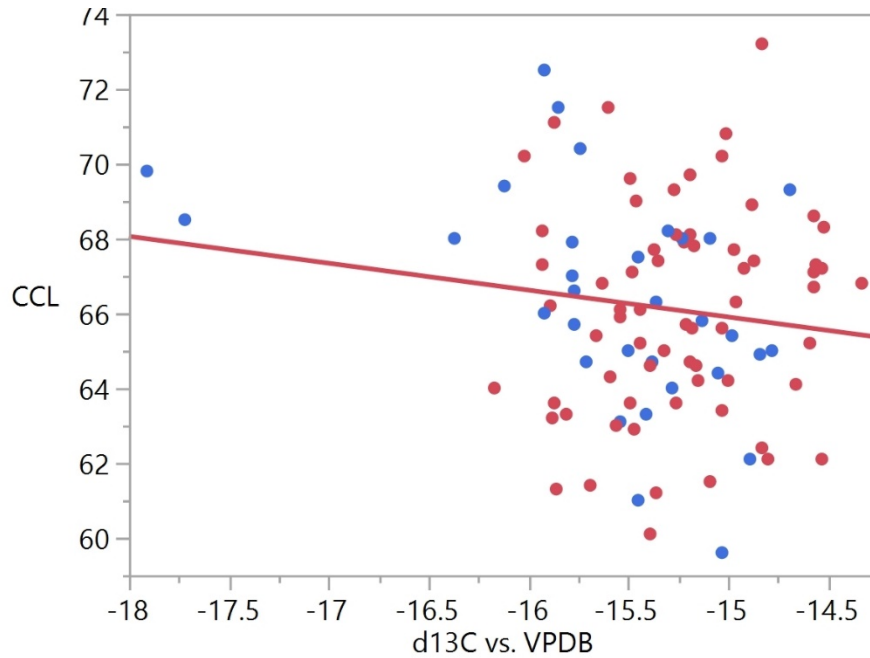
Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
arribada	73	13.3889	0.14160	13.108	13.670
solitary	32	13.1250	0.21387	12.701	13.549

Std Error uses a pooled estimate of error variance

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

(4) Evaluación de correlaciones entre morfología o rendimiento reproductivo y los valores de los isótopos estables en las muestras colectadas.



— Linear Fit

Linear Fit

$$CCL = 55.127564 - 0.7181662 * d13C \text{ vs. VPDB}$$

Summary of Fit

RSquare	0.020074
RSquare Adj	0.009972
Root Mean Square Error	2.824364
Mean of Response	66.15657
Observations (or Sum Wgts)	99

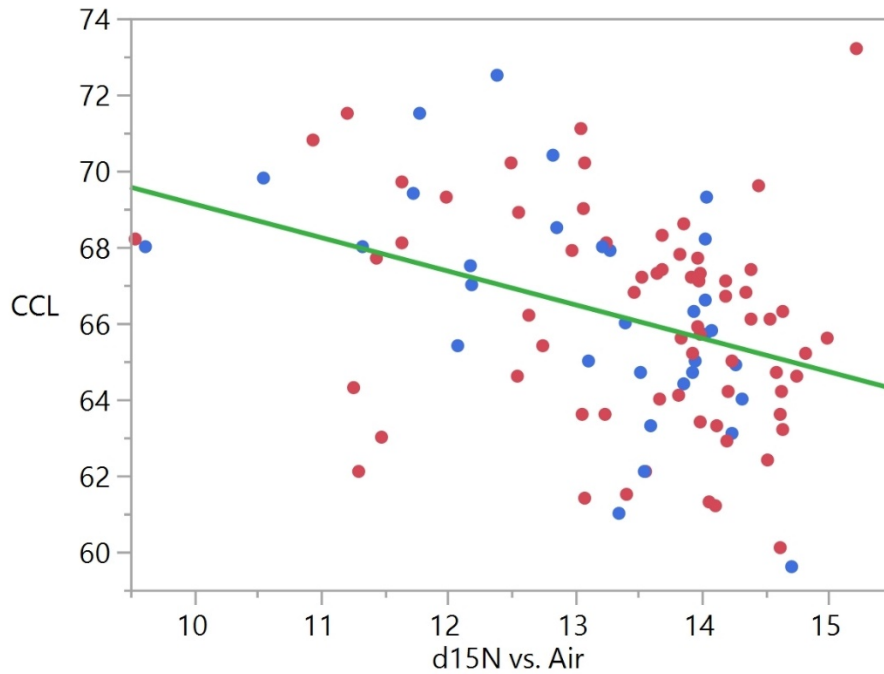
Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	15.85125	15.8512	1.9871
Error	97	773.77198	7.9770	Prob > F
C. Total	98	789.62323		0.1618

Parameter Estimates

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	55.127564	7.82908	7.04	<.0001*
d13C vs. VPDB	-0.718166	0.509464	-1.41	0.1618

Figure 4. Correlación entre las medidas del largo del caparazón curvado y los valores del isótopo estable de carbono de las muestras colectadas en 2016.



— Linear Fit

Linear Fit

$$\text{CCL} = 77.933827 - 0.8809654 \cdot \text{d15N vs. Air}$$

Summary of Fit

RSquare	0.131486
RSquare Adj	0.122532
Root Mean Square Error	2.658964
Mean of Response	66.15657
Observations (or Sum Wgts)	99

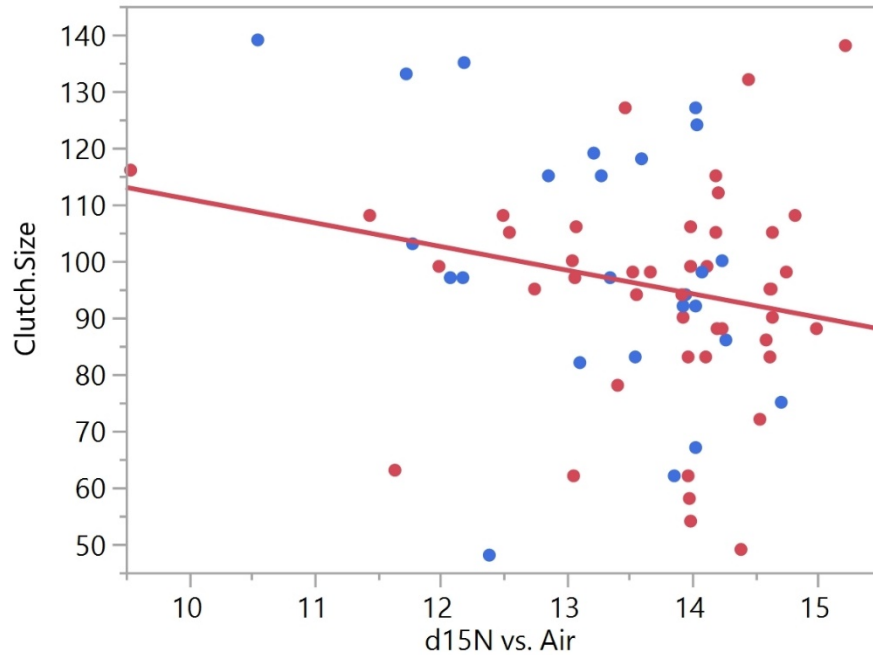
Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	103.82448	103.824	14.6850
Error	97	685.79875	7.070	Prob > F
C. Total	98	789.62323		0.0002*

Parameter Estimates

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	77.933827	3.08491	25.26	<.0001*
d15N vs. Air	-0.880965	0.229891	-3.83	0.0002*

Figure 5. Correlación entre las medidas del largo del caparazón curvado y los valores del isótopo estable de nitrógeno de las muestras colectadas en 2016.



— Linear Fit

Linear Fit

$$\text{Clutch.Size} = 152.60803 - 4.1731668 \cdot \text{d15N vs. Air}$$

Summary of Fit

RSquare	0.045923
RSquare Adj	0.031683
Root Mean Square Error	20.70419
Mean of Response	96.04348
Observations (or Sum Wgts)	69

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Model	1	1382.416	1382.42	3.2249
Error	67	28720.454	428.66	Prob > F
C. Total	68	30102.870		0.0770

Parameter Estimates

Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	152.60803	31.59648	4.83	<.0001*
d15N vs. Air	-4.173167	2.323831	-1.80	0.0770

Figure 1. Correlación entre el rendimiento reproductivo y los valores del isótopo estable de nitrógeno de las muestras colectadas en 2016.

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

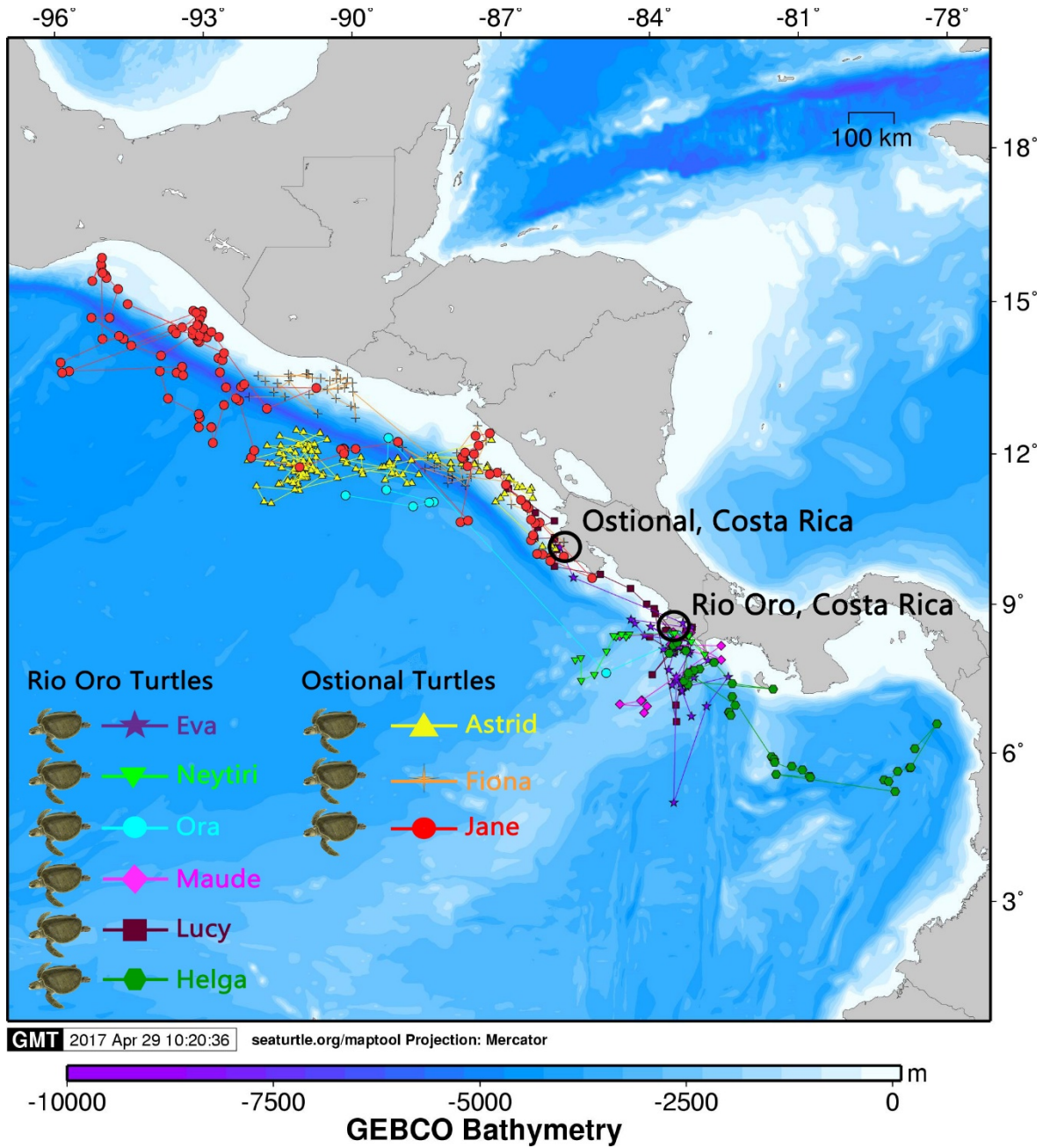


Figure 6. Las rutas migratorias de las nueve hembras de la tortuga lora con transmisores satelitales después de la temporada de anidación en Costa Rica.

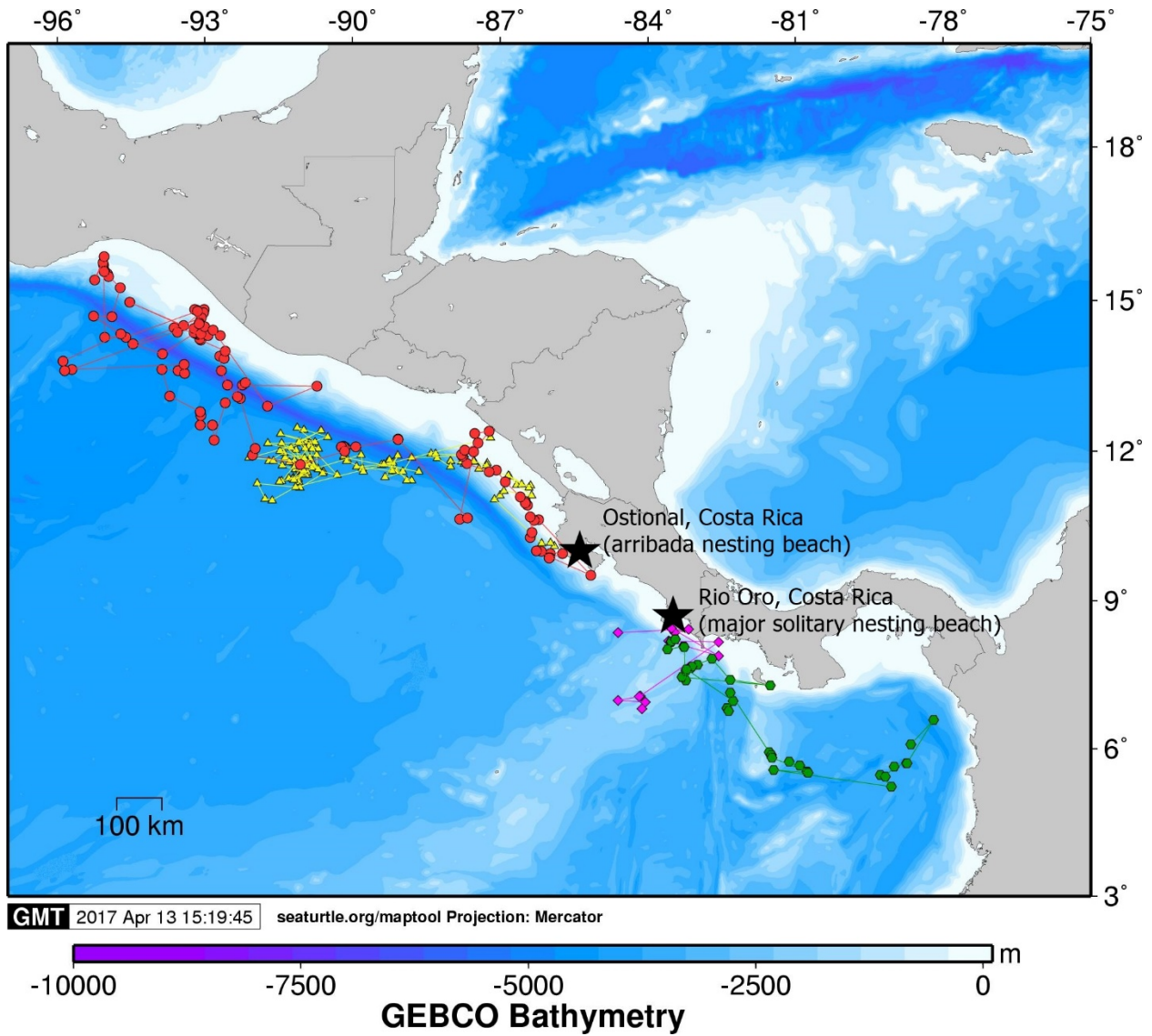


Figure 7. Una tendencia en las rutas migratorias entre hembras de arribada y hembras solitarias de la tortuga lora en Costa Rica 2016.

Discusión

El objetivo intelectual de este proyecto es 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.

Esperábamos ver **diferencias en los perfiles de isótopos estables** entre tortugas loras de arribadas y tortugas loras solitarias y los resultados apoyan nuestra hipótesis: **hay una diferencia estadísticamente significativa en el promedio de los valores del isótopo estable de carbono [$\delta^{13}\text{C}$] entre las hembras solitarias y las hembras de arribada (Fig. 1)**, pero ninguna diferencia estadísticamente significativa en los valores del isótopo estable de nitrógeno [$\delta^{15}\text{N}$] (Fig. 2). Una evaluación de posibles correlaciones entre la morfología y el rendimiento reproductivo y los valores de los dos isótopos estables medidas reveló una correlación significativa entre el nitrógeno y el tamaño de la hembra y también. La correlación del tamaño de la hembra con el carbono y el rendimiento reproductivo con el nitrógeno solamente enseñaron tendencias pero ninguna correlación clara.

La diferencia en los valores de carbono brinda evidencia que hay diferencias en la estrategia de alimentación entre hembras solitarias y de arribada. Todavía tenemos que evaluar la interpretación de los resultados. Todavía nos hacen falta los valores de unas muestras que todavía están en el proceso del análisis y además tenemos que evaluar los datos del año pasado en conjunto con los datos de los años anteriores (2014 y 2015) y nosotros esperamos que la diferencia en la señal isotópica entonces será más pronunciada y la dicotomía más obvia.

También esperábamos ver **diferencias en las rutas migratorias** entre tortugas loras de arribadas y tortugas loras solitarias. Los primeros resultados enseñan una tendencia (Fig. 7), pero los resultados en total son todavía no concluyente (Fig. 6).

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 y 2016) 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, colectamos muestras de tortugas en Ostional en 2016, que no habíamos hecho antes. En 2016 incluimos estudios del uso de hábitat entre las hembras de arribada y hembras solitarias por vía de transmisores satelitales, pero esta técnica es muy caro y no pudimos instalar la cantidad de transmisores necesaria para tener conclusiones suficientes seguros. También 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), pero por el parte de la recaptura de hembras durante la temporada de anidación no hemos logrado colectar suficiente muestras de sangre para un tamaño estadísticamente significativa. Los dos temas están conectados con la estrategia de alimentación y pueden ayudarnos en contestar nuestras preguntas acerca de los mecanismos y consecuencias del polimorfismo de anidación en la tortuga lora.

Recomendaciones y Razones para la Renovación del Permiso de la Investigación

Nos gustaría seguir con nuestra investigación en los dos años que vienen con un énfasis en los objetivos #2 y #3, e instalar más transmisores satelitales en playas de anidación de arribada y de anidación solitaria, especialmente de las playas ubicadas más al sur de Costa Rica, más alejadas a las dos playas de arribada (Ostional y Nancite). Además, nos gustaría colocar más transmisores de radio para recapturar hembras varias veces durante la temporada de anidación y colectar más muestras de sangre de los dos grupos de hembras y especialmente de hembras recapturadas en Ostional.