



O ABORDARE METODOLOGICĂ
INTEGRATIVĂ PENTRU
MONITORIZAREA ȚESTOASEI
DOBROGENE (*TESTUDO GRAECA*)

RAPORT INTERMEDIAR II



ÎNTOCMIT:
DR. STĂNESCU FLORINA
DR. IOSIF RUBEN
DR. VLAD SABINA ELENA



DECEMBRIE 2023
CONSTANȚA

RAPORT INTERMEDIAR II

pentru perioada 01 August – 05 Decembrie 2023

1. Titlul proiectului: O abordare metodologică integrativă pentru monitorizarea țestoasei dobrogene (*Testudo graeca*)

1.1. Domeniul științific: Științe biologice

1.2. Echipa:

Director de proiect: Dr. Stănescu Florina

Membru: Dr. Iosif Ruben

Membru: Dr. Vlad Sabina Elena

Colaboratori: Dr. Szekely Diana, Drd. Drăgan Ana-Maria, Dr. Cogalniceanu Dan, Dr. Márquez Rafael.

2. Scop și obiective

Proiectul de față își propune să integreze o serie de metode clasice și moderne cu **scopul** de a îmbunătăți programele de monitorizare și conservare a țestoasei dobrogene (*Testudo graeca*) (**Figura 1**). Mai exact, ne-am propus următoarele două obiective:

O.1. Calibrarea metodelor moderne (capturare-marcare-recapturare prin fotoidentificare) cu cele clasice (sclerocronologia) folosite în monitorizarea dinamicii parametrilor populaționali.

O.2. Evaluarea potențialului metodelor acustice pasive și a algoritmilor de detecție automată pentru monitorizarea populațiilor de țestoasă dobrogeană.

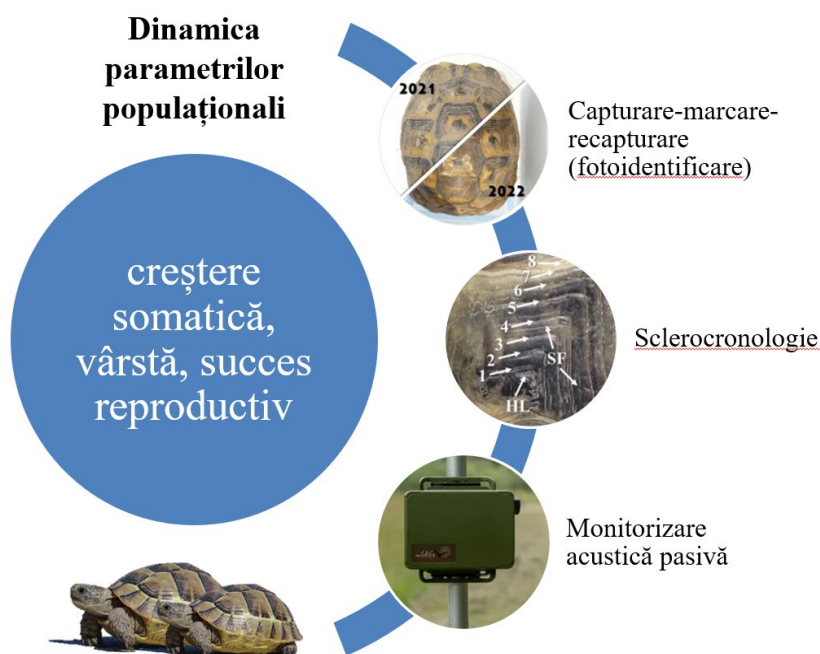


Figura 1. Abordarea metodologică propusă în cadrul proiectului.

3. Activități realizate pentru atingerea obiectivelor

Activitatea 1. Estimarea vârstei. Estimarea vârstei și ratei de creștere somatică a țestoaselor dobrogene s-a realizat prin analiza comparativă a trei metode: (i) estimarea pe baza țesutului osos, (ii) pe baza țesutului cornos și (iii) estimarea prin capturare-marcare-recapturare (CMR) (**Figura 2**). Aceasta activitate a fost realizată și finalizată integral; a fost pregătit un manuscris aflat în prezent în revizie la jurnalul ISI *Amphibia-Reptilia*.

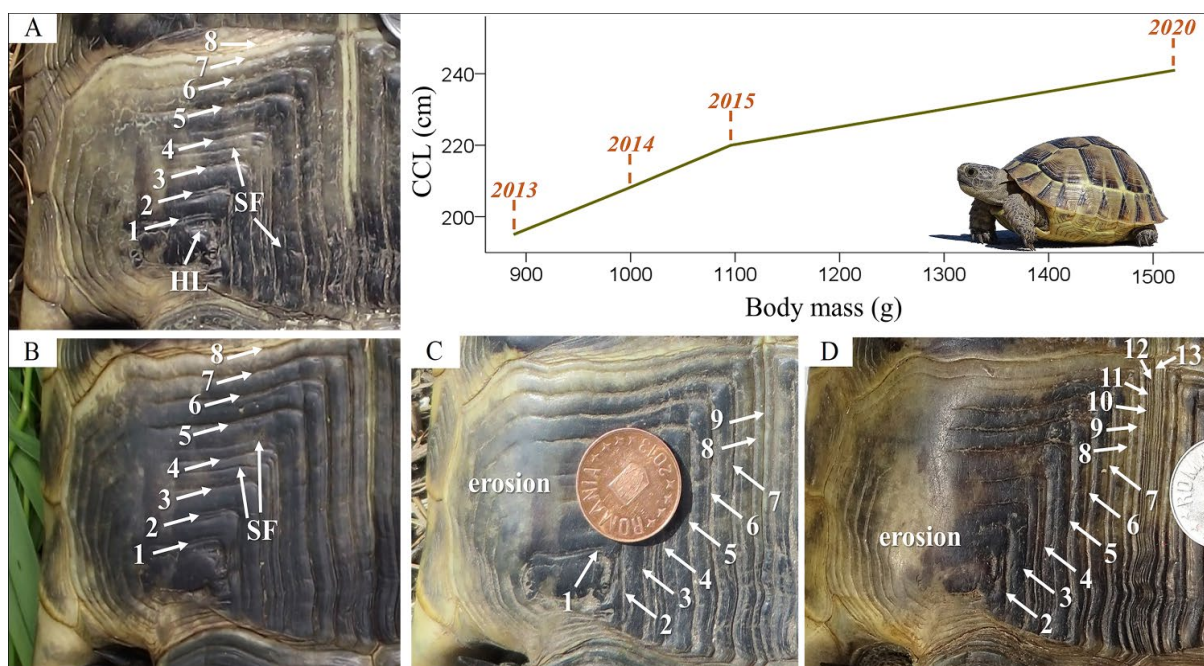


Figura 2. Mascul de *T. graeca* fotografiat, cântărit și măsurat (lungimea curbă a carapacei, CCL) repetat pe parcursul studiului CMR. Marcajul format la eclozare (HL) și formațiuni sub-anulare (SF) pot fi observate pe scuturile abdominale, pe plastron. Fiecare fotografie corespunde unui an diferit în care țestoasa a fost (re)capturată: A - 2013, B - 2014, C - 2015 și D - 2020.

Activitatea 2. Calibrarea parametrilor populaționali cu ajutorul CMR. Fotografiiile realizate pe teren (indivizilor deja marcați sau nemarcați) în perioada studiului de CMR au fost folosite pentru identificarea indivizilor unici și a istoricului capturilor acestora, respectiv numărul de capturi, supraviețuire, rata de creștere. Am estimat supraviețuirea și mărimea populațională cu ajutorul pachetului *RMark* (Laake, 2013), în software-ul R (R Core Team, 2023). Am utilizat parametrizarea POPAN (Schwarz și Arnason, 1996), și modelul Cormack-Jolly-Seber (Pledger și colab., 2013) în baza ipotezei unei superpopulații deschise, din care țestoasele pot migra între arealul populațional și zonele adiacente (Wagner și colab., 2011). Momentele de captură au

fost anii, nu momentele de colectare în teren, care au variat de la un an la altul ca frecvență și ca interval de timp. Astfel un animal figurează ca și capturat într-un an, indiferent dacă a fost capturat o singura dată sau de mai multe ori în cursul aceluși an. Parametrii calculați în cadrul modelului au fost:

- *Phi* - supraviețuirea aparentă, respectiv probabilitatea ca o țestoasă (marcată sau nemarcată) din populația monitorizată să rămână în viață între momentele i și $i + 1$, în intervalul de detecție, unde i corespunde unui an;
- *p* - probabilitatea de capturare, respectiv probabilitatea de a captura o țestoasă (marcată sau nemarcată) în zona de studiu, la momentul i ;
- *pent* - probabilitatea de intrare, respectiv numărul de țestoase care intră în zona de studiu între momentele i și $i + 1$, prin imigrare sau recrutare;
- *N* - mărimea populației, respectiv numărul total de țestoase estimat în zona de studiu.

Am evaluat modelele rezultate cu ajutorul testului Release Goodness of Fit. Acest pas ne-a ajutat să selectăm cele mai bune modele, pe baza criteriului informațional Akaike ajustat pentru eșantioane de dimensiuni mici (AICc, Anderson și Burnham, 2002).

Ne-am propus ca în etapa următoare să utilizăm și modele pentru populații închise (e.g., Sutherland și Royle, 2016), care pot fi de asemenea aplicate în anumite condiții, atunci când putem considera că nu există intrări sau ieșiri în/din populație. Rezultatele acestor modele vor fi comparate cu rezultatele obținute din modelul Cormack-Jolly-Seber aplicat în această etapă, pentru populații deschise.

Activitatea 3. Colectarea datelor audio din teren. Am continuat colectarea datelor din teren în perioada septembrie-octombrie 2023 folosind același protocol (transect fix, fișa standard). În plus, în luna octombrie am realizat un experiment în teren (**Figurile 3-4**), pentru testarea răspunsului comportamental al țestoaselor față de stimulii auditivi și vibrații. Studiul are implicații practice în vederea înțelegerii modului în care țestoasele percep acești stimuli și pentru găsirea unor modalități de diminuare a mortalității cauzate de traficul auto.

Am utilizat stimuli artificiali în domeniul de frecvență 50 - 200 Kz (în incremente de câte 50 Hz) și am urmărit distanța parcursă, direcția și distanța față de emițător a țestoaselor. Echipamentele pentru emisia-recepția stimulilor ne-au fost puse la dispoziție prin bunăvoința dlui. Dr. Rafael Márquez, curatorul Fonotecii Zoologice din cadrul Muzeului Național de Științe Naturale din Madrid (Spania), care ne-a oferit training în utilizarea aparatului și organizarea experimentelor de acest tip.



Figura 3. Amenajarea spațiului pentru realizarea experimentului în cadrul sitului arheologic Histria și derularea testelor.

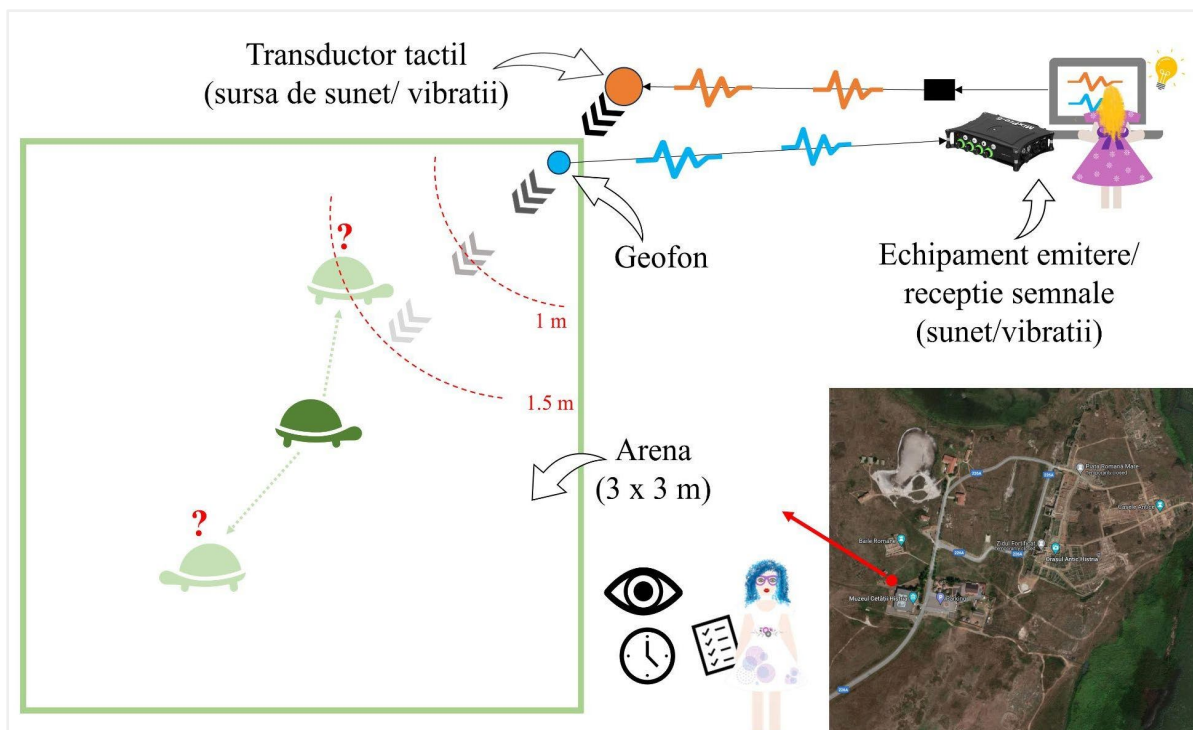


Figura 4. Schema experimentului desfășurat în teren pentru evaluarea răspunsului comportamental la țestoase față de stimulii auditivi și vibrații.

Activitatea 4. Testarea algoritmilor de detecție automată a semnalelor acustice de interes. Fișierele audio au fost analizate prin implementarea algoritmilor de transformare Fourier în softul dedicat Raven Pro v.1.6. (Cornell Lab of Ornithology, <https://ravensoundsoftware.com>). Dintr-un sub-eșantion de înregistrări am extras manual sunetele de interes (rezultate din ciocnirea carapacelor în perioada de reproducere). Acestea au servit drept șabloane pentru testarea funcțiilor de detecție automată. Am aplicat algoritmi de detecție automată implementați în Raven Pro, parametri utilizați fiind benzile de frecvență, energia conținută în semnal și entropia acestora. Eșantioanele folosite pentru teste au variat în rezoluție (nivele diferite de zgomot de fundal).

4. Rezultate preliminare

Parametrii populaționali. Fotoidentificarea semi-automată a permis o determinare mai precisă a parametrilor populaționali comparativ cu metode clasice folosite în CMR. Am arătat că utilizarea concomitentă a CMR și a sclerochronologiei permite creșterea acurateței în evaluarea parametrilor populaționali la țestoasa dobrogeană. În cazul estimării vârstei individuale pe baza marcajelor de pe scuturile carapacei, acuratețea a scăzut pe măsură ce perioada dintre episoadele de capturare a crescut. În ceea ce privește scheletocronologia, am obținut cele mai bune rezultate atunci când am utilizat oase lungi, precum ulna, radius, femur. Cu toate acestea, vârsta estimată prin această metodă a fost subestimată în comparație cu metoda bazată pe formațiunile de creștere de pe scuturi. Estimările au fost însă similare la indivizii cu vârsta până la 17 ani, inclusiv.

Vârsta maximă estimată prin scheletocronologie a fost de 28 ani, pe baza scuturilor 30 ani, iar prin metoda calibrată cu ajutorul CMR, 40 ani. Vârsta minimă la care țestoasele devin capabile să se reproducă este de 6 ani la masculi și 7 ani la femele, însă modelele de creștere sugerează că procesul de creștere poate continua încă 3-4 ani într-un ritm mai accelerat, care este de regulă observat în perioada juvenilă. Concluzionăm că această strategie de creștere somatică permite țestoaselor să atingă dimensiuni mai mari și astfel să maximizeze șansele de supraviețuire și potențialul reproductiv.

Monitorizare pe baza căreia am realizat modelele populaționale reprezintă o continuare a studiului de CMR început în 2010. În perioada 2020 - 2022, 394 de adulți au fost capturați în zona de studiu de 44 ha (**Figura 5**). Modelul populațional care a fost cel mai adecvat pentru estimarea abundenței în populația studiată (AICc Weight = 0.246, Δ AICc = 0) este cel care are o supraviețuire aparentă a țestoaselor, probabilitate de detectare și probabilitate de intrare dependente de timp (**Tabelul 1**).

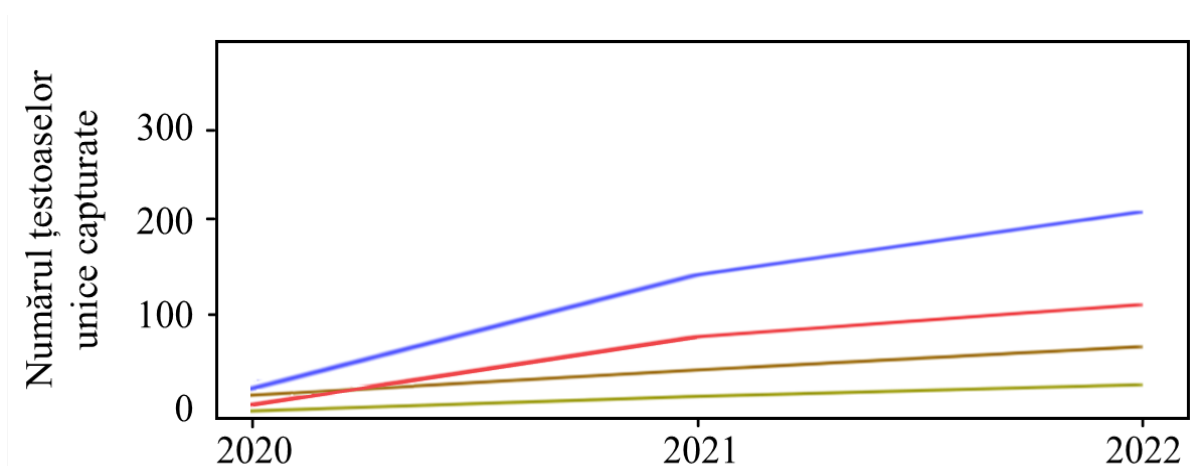


Figura 5. Curba de acumulare pentru țestoasele unice (albastru - masculi, roșu - femele, maro - subadulți și oliv - juvenili) capturate în perioada 2010 - 2022 în populația monitorizată.

Modelul a estimat populația ca având 420 ± 23 indivizi nemarcați pe lângă cei 394 identificați deja în teren. Aceasta corespunde unei densități estimate de 18.5 adulți/ha, spre deosebire de densitatea observată pe baza datelor colectate în teren, de doar 8.9 adulți/ha. Supraviețuirea aparentă între evenimentele de capturare (i.e., ani) a scăzut de la 0.62 ± 0.08 în 2020 la 0.26 ± 0.02 în 2022, la fel ca și probabilitatea de captură, care a scăzut de la 1 la 0.86 ± 0.09 . Probabilitatea ca noi indivizi să pătrundă în populația studiată a fost mai mică odată cu trecerea timpului (i.e., a scăzut de la 0.66 ± 0.04 în 2020, la 0.16 ± 0.03 în 2022).

Tabelul 1. Modele candidate pentru estimarea mărimii populației de țestoase, folosind parametrizarea POPAN. Phi - supraviețuirea aparentă, p - probabilitatea de detectare, pent - probabilitatea de intrare, N - mărimea, sunt parametrii constanți în timp (c) sau dependenți de timp (t). K - numărul de parametri, AICc - criteriul informațional Akaike corectat pentru eșantioane mici, $\Delta AICc$ - diferența în AICc între modelul actual și cel mai adecvat, AICc Weight - ponderea dovezilor în favoarea modelului. Cel mai bun model este marcat în bold.

	Model	K	AICc	$\Delta AICc$	AICc Weight
1	Phi(c) p(c) pent(c) N(c)	3	291.135	51.252	0.000
2	Phi(c) p(c) pent(t) N(c)	5	247.606	7.723	0.005
3	Phi(c) p(t) pent(c) N(c)	6	240.646	0.763	0.168
4	Phi(c) p(t) pent(t) N(c)	6	240.482	0.599	0.182
5	Phi(t) p(c) pent(c) N(c)	5	283.521	43.638	0.000

6	Phi(t) p(c) pent(t) N(c)	6	240.078	0.195	0.223
7	Phi(t) p(t) pent(c) N(c)	6	240.565	0.682	0.175
8	Phi(t) p(t) pent(t) N(c)	6	239.883	0.000	0.246

Sensibilitatea țestoaselor la stimuli audio și vibrații. Testele preliminare sugerează că stimulii utilizați (domeniul de frecvență 50-500 Hz) nu influențează comportamentul țestoaselor. Aceste rezultate au evidențiat necesitatea unor teste mai amănunțite cu privire la pragul de percepție a sunetelor și vibrațiilor la această specie, aspect relevant și important de luat în considerare în designul unor protocoale eficiente de monitorizare. În acest sens, am inițiat colaborarea cu un expert în domeniu, dl. Dr. Jakob Christensen-Dalsgaard, University of Southern Denmark (Odense). Împreună, vom evalua pragul de sensibilitate acustică la această specie, prin analiza răspunsului auditiv al trunchiului cerebral.

Detecția audio automată. Până în prezent nu s-a atins un nivel satisfăcător de calibrare, acuratețea nedepășind pragul de 95%. Rezultatele preliminare indică faptul că monitorizarea audio nu este fezabilă în zona de studiu, în special datorită condițiilor climatice specifice (vant), în pofida gradului ridicat de conservare a habitatului și a accesului limitat al persoanelor.

Activități de diseminare. Rezultatele obținute până în prezent au fost prezentate în cadrul unui workshop internațional și al unei manifestări științifice naționale. De asemenea, a fost pregătit și submis un manuscris:

Vlad, S.E. 2023. Age estimations: capture-mark-recapture and histological approaches. [International Workshop on Age Estimations in the Wild](#), 17 octombrie 2023, St. George's College, Aruvithura, India (online).

Vlad, S.E., Cogălniceanu, D., Drăgan, A.M., Iosif, R., **Stănescu, F.** 2023. Monitorizarea țestoaselor dobrogene printr-o abordare metodologică integrativă. In: Book of Abstracts, ISSN 2601 - 5102, [Conferința națională științifică de toamnă a AOSR 2023](#), Știința pentru o societate sănătoasă, 21-23 septembrie 2023, Universitatea Ovidius Constanta.

Vlad, S.E., **Stănescu, F.**, Cogălniceanu, D. 2023. Age assessment in tortoises: an evaluation of methods for the spur-thighed tortoise (*Testudo graeca*). Amphibia-Reptilia - în evaluare.

Bibliografie

- Anderson, D. R., & Burnham, K. P. (2002). Avoiding pitfalls when using information-theoretic methods. *The Journal of wildlife management*, 912-918.
- Laake, J.L. (2013) RMark: An R interface for analysis of capture-recapture data with MARK. Alaska Fisheries Science Center, Seattle, USA.
- Pledger, S., Pollock, K.H., Norris, J.L. (2003) Open capture-recapture models with heterogeneity: I. Cormack-Jolly-Seber model. *Biometrics* 59:786-794
- R Core Team (2023). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Schwarz, C. J., & Arnason, A. N. (1996). A general methodology for the analysis of capture-recapture experiments in open populations. *Biometrics*, 860-873.
- Sutherland, C., & Royle, J. A. (2016). Estimating abundance. *Reptile Ecology and Conservation: A Handbook of Techniques* (CK Dodd, Jr., ed.). Oxford University Press, UK, 388-401.
- Wagner, N., Pellet, J., Lötters, S., Schmidt, B. R., & Schmitt, T. (2011). The superpopulation approach for estimating the population size of prolonged breeding amphibians: Examples from Europe. *Amphibia-Reptilia*, 32(3), 323-332.