

Estudi de l'edat, el creixement i la demografia de l'espècie  
invasora *Phoxinus sp.* en tres estanys dels Pirineus.

**Estudiant:** Júlia Monclús Gairal

Grau en Ciències Ambientals

**Correu electrònic:** juliang15@gmail.com

**Tutor:** Quim Pou Rovira

**Cotutor \*:** Ramon Moreno Amich

**Empresa / institució:** Sorelló, estudis al medi aquàtic S.L.

Vistiplau tutor (i cotutor\*):

**Nom del tutor:** Quim Pou Rovira

**Nom del cotutor\*:** Ramon Moreno Amich

**Empresa / institució:** Sorelló, estudis al medi aquàtic S.L.

**Correu(s) electrònic(s):** juliang15@gmail.com,

quim.pou@sorello.net, ramon.moreno@udg.edu.

\*si hi ha un cotutor assignat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació: 03/06/2019

## **Resum:**

El Barb Roig (*Phoxinus sp.*) és una espècie invasora de la família dels Ciprínids que habita en aigües dolces, fredes i ben oxigenades. Actualment està distribuïda per quasi tot Europa, Àsia de l'est i central. Aquest estudi se centra en la localització de l'espècie als estanys dels Pirineus, la qual s'hi va introduir a finals del segle XX com a esquer viu per a la pesca de la truita. Aquesta ha causat un gran impacte negatiu, alterant el cicle de nutrients, transformant la xarxa tròfica i provocant una disminució i/o eliminació d'espècies natives. El projecte LIFE+ LimnoPirineus el 2014 s'hi va implicar amb l'objectiu de millorar l'estat de conservació d'espècies i hàbitats aquàtics d'aquests estanys dels Pirineus d'interès europeu.

Aquest estudi pretén caracteritzar les poblacions de *Phoxinus sp.* que hi ha en tres estanys dels Pirineus; Estany de Naorte, Tres Estanys i Bassa Nord de Dellui. Per tal de dur-ho a terme s'analitzarà els patrons de creixement, mitjançant el model de Von Bertalanffy i la demografia, a partir de la taxa de mortalitat instantània, per a cadascuna de les tres poblacions. Aquestes anàlisis es realitzaran gràcies a unes estructures òssies calcificades que presenten, anomenades otòlits. Aquestes estructures permeten analitzar l'edat del peix a partir d'uns anells de creixement, similars als troncs dels arbres. Si hi ha una mala lectura d'aquests anells, posteriorment es cometran errors en les caracteritzacions de les poblacions, és per això que aquest estudi també pretén fer una millora de la metodologia emprada fins al moment per a realitzar la lectura dels otòlits.

Els resultats d'aquest estudi han conclòs que la lectura realitzada amb la nova metodologia dels otòlits de *Phoxinus sp.* ha sigut un gran avens per a la caracterització de les poblacions dels estanys, les quals han presentat unes longevitats elevades i unes taxes de creixement lentes. Pel que fa a la mortalitat s'ha vist que és similarment lenta en els tres estanys, concordant amb les elevades longevitats presentades.

## **Resumen:**

El piscardo (*Phoxinus sp.*) es una especie de la familia de los Ciprínidos que habita en aguas dulces, frías y bien oxigenadas. Actualmente está distribuida por casi toda Europa, Asia del este y central. Este estudio se centra en la localización de la especie en los lagos de los Pirineos, la cual se introdujo a finales del siglo XX como cebo vivo para la pesca de la trucha. Esta ha causado un gran impacto negativo, alterando el ciclo de nutrientes, transformando la cadena trófica y provocando una disminución y / o eliminación de especies nativas. El proyecto LIFE + LimnoPirineus el 2014 se implicó con el objetivo de mejorar el estado de conservación de especies y hábitats acuáticos de estos lagos de los Pirineos de interés europeo.

Este estudio pretende caracterizar las poblaciones de *Phoxinus sp.* que hay en tres lagos de los Pirineos; Naorte, Tres Estanys y Bassa Nord de Dellui. Para llevar-lo a cabo se analizará los patrones de crecimiento, mediante el modelo de Von Bertalanffy y la demografía, a partir de la tasa de mortalidad instantánea, para cada una de las tres poblaciones. Estos análisis se realizarán gracias a unas estructuras óseas calcificadas que presentan llamadas otolitos. Estas estructuras permiten analizar la edad del pez a partir de unos anillos de crecimiento, similares a los troncos de los árboles. Si hay una mala lectura de estos anillos, posteriormente se cometerán

errores en las caracterizaciones de las poblaciones, por lo que este estudio también pretende hacer una mejora de la metodología empleada hasta el momento para realizar la lectura de los otolitos.

Los resultados de este estudio han concluido que la lectura realizada con la nueva metodología de los otolitos de *Phoxinus sp.* ha sido un gran avance para la caracterización de las poblaciones de los estanques, las cuales han presentado unas longevidades elevadas y unas tasas de crecimiento lentas. En cuanto a la mortalidad se ha observado que es similarmente lenta en los tres estanques, concordando con las elevadas longevidades presentadas.

**Abstract:**

The common minnow (*Phoxinus sp.*) is a specie in the family of Cyprinidae that lives in fresh, cold and oxygenated waters. Currently, it is distributed through all Europe, East Asia and Central Asia. This study focuses on the location of the species in the ponds of the Pyrenees, which was introduced at the end of the 20th century as live bait for trout fishing. This has caused an important negative impact, altering the nutrient cycle, transforming the trophic network and causing a diminution and / or elimination of native species. The LIFE + LimnoPirineus project in 2014 was involved with the aim of improving the state of conservation of aquatic species and habitats of these ponds in the Pyrenees of European interest.

This study aims to characterize *Phoxinus sp.* populations which are in three ponds of the Pyrenees; Naorte, Tres Estanys and Bassa Nord de Dellui. In order to carry it out, the growth patterns will be analysed using the Von Bertalanffy model and the demographics, based on the instantaneous mortality rate, for each of the three populations. These analyses will be carried out thanks to calcified bone structures, which are named otoliths. These structures allow to analyse the age of the fish thanks to growth rings, like the trunks of the trees. If there is a bad reading of these rings, later errors will appear in the characterizations of the populations, for this reason, this study also tries to make an improvement of the methodology used until the moment to realize the otoliths reading.

The results of this study have concluded that the reading with the new methodology of the otoliths of *Phoxinus sp.* has been a great progress for the characterization of the populations of the ponds, which have presented high longevity and slow growth rates. Regarding mortality, it has been seen that it is similarly slow in the three ponds, in line with the high longevities presented.

# ÍNDIX

1.	INTRODUCCIÓ.....	5
1.1.	Llacs dels Pirineus.....	5
1.2.	Projecte LimnoPirineus .....	7
1.3.	<i>Phoxinus sp.</i> (Barb Roig).....	7
1.4.	Otòlits.....	8
2.	OBJECTIUS .....	10
3.	METODOLOGIA.....	10
3.1.	Zones d'estudi .....	10
3.2.	Obtenció de mostres i mesures. ....	12
3.3.	Extracció d'otòlits.....	13
3.4.	Lectura.....	13
3.4.1.	Elecció del mètode .....	13
3.4.2.	Procediment.....	14
3.4.3.	Comparativa .....	16
3.5.	Anàlisi de dades i ajustament dels models estadístics.....	16
3.5.1.	Creixement .....	16
3.5.2.	Demografia.....	17
4.	RESULTATS.....	18
4.1.	Elecció de la metodologia de la lectura d'otòlits .....	18
4.2.	Creixement.....	21
4.2.1.	Estany de Naorte.....	21
4.2.2.	Tres Estanys.....	22
4.2.3.	Bassa Nord de Dellui .....	23
4.3.	Demografia.....	24
5.	DISCUSSIÓ .....	25
5.1.	Lectura dels otòlits .....	25
5.2.	Creixement .....	26
5.3.	Demografia.....	27
6.	CONCLUSIONS .....	27
7.	ÈTICA I SOSTENIBILITAT.....	27
8.	BIBLIOGRAFIA.....	28

# 1. INTRODUCCIÓ

Les espècies exòtiques invasores (EEI) segons la llei 42/2007 del 13 de desembre del patrimoni Natural i de la Biodiversitat són, *“aquelles espècies que s'introdueixen o s'estableixen en un ecosistema o hàbitat natural o seminatural i que es un agent de canvi i amenaça per la diversitat biològica nativa, ja sigui pel seu comportament invasor, o pel risc de contaminació genètica”*. Segons el programa de les Nacions Unides per al Medi Ambient, aquestes constitueixen el segon gran problema que actualment amenaça els ecosistemes naturals i la biodiversitat existent en el planeta, essent la primera causa la pèrdua d'hàbitats (Brufao Curiel, P., 2012, p. 3).

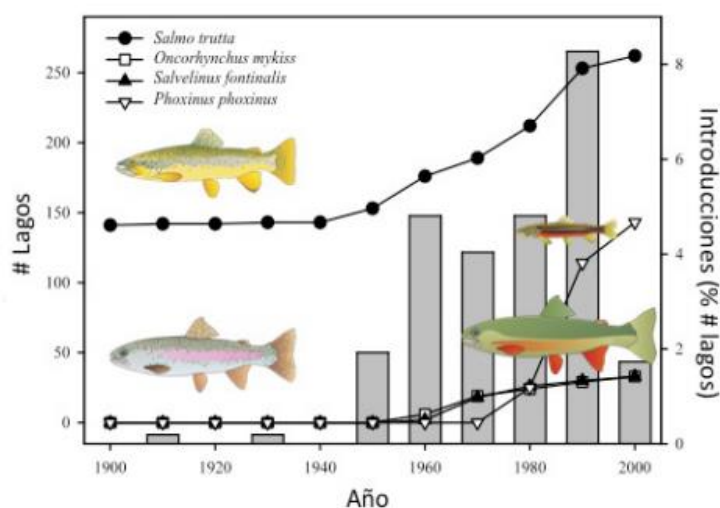
A la península Ibèrica els ecosistemes aquàtics són els que es veuen més afectats per les EEI, això és a causa de la vulnerabilitat a la ràpida naturalització, l'elevada difusió i conseqüentment la colonització, que les espècies invasores presenten als rius. Aquests fets causen; un desplaçament de les espècies natives per l'elevada competitivitat, una depredació sobre les espècies autòctones, una alteració de la xarxa tròfica, produint conseqüentment modificacions en la productivitat de l'ecosistema, i fins i tot poden produir modificacions en les característiques dels hàbitats, tant físiques com químiques (C.H. Duero, s.d). Així doncs la presència d'espècies Exòtiques invasores en les demarcacions hidrogràfiques posa en risc el compliment dels objectius mediambientals establerts per la directiva Marc d'Aigua (2000/60/CE), el qual té entre els seus objectius prevenir el deteriorament, millorar l'estat dels ecosistemes aquàtics i promoure un ús sostenible de l'aigua (C.H. Ebro, 2012).

En l'àmbit estatal, una de les normatives que ha suposat un abans més notable a la lluita contra les espècies exòtiques invasores és la promulgació de la Llei 42/2007, del 13 de desembre, de Patrimoni Natural i de la Biodiversitat, on l'article 52.2, estableix que *“les administracions públiques competents prohibiran la introducció d'espècies, subespècies o races geogràfiques al·lòctones, quan aquestes siguin susceptibles de competir amb les espècies silvestres autòctones, alterar la seva puresa genètica o els equilibris ecològics”* (C.H. Duero, s.d). A través de l'article 61.1 també crea una eina important, el Catàleg Espanyol d'espècies Exòtiques invasores que surt a la llum mitjançant la publicació del Real Decret 28/2011, del 14 de novembre. Aquest decret estableix una sèrie de mesures imprescindibles per intentar combatre la contínua introducció i proliferació d'espècies exòtiques invasores i amb potencial invasor en especial al medi aquàtic, fent especial èmfasi a la pesca recreativa, la qual ha sigut una de les principals problemàtiques en aquests ecosistemes a causa del reiterat alliberament de peixos i crustacis invasors (C.H. Ebro, 2012).

## 1.1. Llacs dels Pirineus

Els llacs d'alta muntanya originalment són absents de peixos a causa de l'elevat grau d'aïllament que comporten les barreres geogràfiques, les quals impedeixen que es doni a terme una colonització natural (Miró, A., & Ventura, M., 2015, p.791-803). Tot i això en les últimes dècades les EEI també han arribat a aquests indrets causant elevades conseqüències negatives. Els llacs d'alta muntanya dels Pirineus no n'han sigut una excepció, i s'hi han trobat diverses espècies invasores, sobretot salmònids i ciprínids.

La introducció d'espècies als llacs dels Pirineus es va originar fa segles amb la introducció del Salmó truita (*Salmo trutta*), autòcton dels rius més propers, per a l'autoconsum i el comerç de les poblacions de la zona, però al llarg dels anys la pesca d'aquest va decaure. Per altra banda, les companyies hidroelèctriques van començar a introduir diferents varietats de piscifactoria d'origen europeu de truita comuna, com la truita irisada (*Oncorhynchus mykiss*), la truita de rierol (*Salvelinus fontinalis*), la truita alpina (*Salvelinus alpinus*) i la truita de Clarck (*Salvelinus namayucush*), les dues últimes localitzades als Pirineus francesos (Miró, A., *et al.*, 2015). A banda de les espècies de Salmònids mencionades, també s'hi va introduir una espècie de ciprínid, el Barb roig (*Phoxinus sp.*), aquesta espècie es va introduir a finals del segle XX com a esquer viu per a la pesca de la truita. Tot i que aquesta pràctica estava prohibida al vessant sud de la serralada, no ho estava al vessant nord i en pocs anys el *Phoxinus sp.* es va estendre a gran part dels llacs causant una forta alteració de la biodiversitat natural (CEAB-CSIC, 2015) (Figura 1).



**Figura 1.** Evolució de la introducció d'espècies invasores als llacs dels Pirineus. **Font:** CEAB-CSIC, 2015.

Els efectes que comporten les espècies invasores als llacs de muntanya està poc estudiada en comparació amb la resta de sistemes aquàtics, això és a causa de la seva remota ubicació i a la dificultat en els accessos. Tot i això diversos estudis coincideixen en el fet que les conseqüències de la introducció de peixos en llacs d'alta muntanya deriven principalment del fet que passen a constituir un nivell tròfic superior que anteriorment no existia. Els impactes que aquests causen són l'alteració del cicle de nutrients, la transformació de l'estructura i de les relacions tròfiques i finalment la disminució i l'eliminació d'espècies natives (Ventura, M., *et al.*, 2016, p. 217). L'augment de la recirculació de nutrients també implica un augment en la producció de les algues que hi viuen, aquest fet és a causa de l'alimentació de crustacis per part dels peixos, i l'alimentació d'algues per part d'aquests. Això sumat a les excrecions dels peixos pot donar lloc a una eutrofització de l'aigua. Tots aquests impactes més destacats són els que afecten directament a la fauna autòctona dels llacs (Miró, A., *et al.*, 2015).

## 1.2. Projecte LimmnoPirineus

LimnoPirineus és un projecte LIFE+ Natura destinat a millorar l'estat de conservació d'espècies i hàbitats aquàtics d'interès europeu de l'alta muntanya dels Pirineus. Aquest és un projecte cofinançat pel programa europeu LIFE+, el qual promou accions de conservació i recuperació d'hàbitats i espècies de flora i fauna als espais protegits de la Unió Europea, integrats a la Xarxa Natura 2000. En aquest projecte concretament es realitzaran accions de conservació al Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici, el Parc Natural de l'alt Pirineu, i a Estanho de Vilac situat a la Vall d'Aran.

Les espècies objectiu sobre el que es basa són; una planta aquàtica (*Luronium natans*), alguns amfibis (*Rana temporaria*, *Alytes obstetricans*, *Calotriton asper*), un peix endèmic dels Pirineus (*Cottus hispaniolensis*), alguns mamífers (*Galemys pyrenaicus*, *Lutra lutra*) i dues espècies de ratpenats (*Rhinolophus hipposideros* i *Pleurotus macrobullaris*). Totes elles són espècies que es troben amenaçades per diferents causes, una de les principals és la introducció i proliferació d'espècies al·lòctones, sobretot diverses espècies de peixos, Salmònids i ciprínids, com és el cas del Barb roig. És per això que la principal actuació de conservació per invertir aquesta amenaça és la restauració de l'estat natural d'alguns estanys a través de l'eliminació i control de les espècies al·lòctones de peixos, la qual cosa permetrà la recuperació de les espècies autòctones.

## 1.3. *Phoxinus sp.* (Barb Roig)

El *Phoxinus phoxinus* (Linneaus, 1758), en català anomenat Barb roig, és un peix cipriniforme de la família dels ciprínids. Es tracta d'un peix gregari, de superfície i molt actiu d'aigua dolça que habita en aigües fredes i ben oxigenades (Puigserver, M., *et al.*, 1998, p. 53-66), és per això que troba el seu òptim en els cursos mitjans- alts dels rius, a la zona de transició entre la dominància salmonícola i la ciprinícola, en estanys i llacs poc profunds i marges de llacs fons, amb les aigües netes, fresques i preferiblement de fons pedregosos, tot i que pot viure en substrats molt diversos (Leunda, P.M., *et al.*, 2017).

El barb roig és un ciprínid de mida petita que rarament assoleix els 12-14 cm de longitud total, presenta dimorfisme sexual, essent les femelles una mica més grans que els mascles (Puigserver, M., *et al.*, 1998, p. 53-66). El cos és fusiforme, prim i cobert d'escames molt petites que no s'aprecien a simple vista. La boca és petita, lleugerament subterminal i obliqua. L'origen de les aletes pelvianes es troba avançat respecte a la dorsal, mentre que l'aleta anal neix a la vertical del final de la dorsal. L'aleta caudal està escoltada i el perfil de les aletes dorsals i anal és recte o lleugerament convex (Leunda, P.M., *et al.*, 2017) (*figura 2*). És una espècie diploide que pot arribar a viure fins als 14 anys (Doadrio, 2001, p.193-195). És d'alimentació omnívora, composta principalment per invertebrats aquàtics bentònics però també d'invertebrats terrestres i matèria vegetal (Leunda, P.M. *et al.*, 2017).

L'època de reproducció és d'abril a juny a l'Europa meridional i de maig a juliol al nord d'Europa. Els ous fan eclosió a una temperatura de 15 °C entre els 14 i 17 dies, dipositant entre 200 i 1000 ous per posta. La coloració del *Phoxinus sp.* és variable i sol presentar taques fosques que es disposen transversalment, però en l'època de reproducció la coloració dels mascles es torna més

fosca i la base de les aletes, excepte la dorsal, es tenyeixen de vermell (Doadrio, 2001, p.193-195) (*figura 2*). En aquesta època els mascles també presenten tubercles nupcials a la part dorsal, lateral i ventral del cap, i hi ha una gran variació en la morfologia i la densitat de tubercles dependent de les regions (Puigcerver, M., *et al.*, 1998, p.53-66).



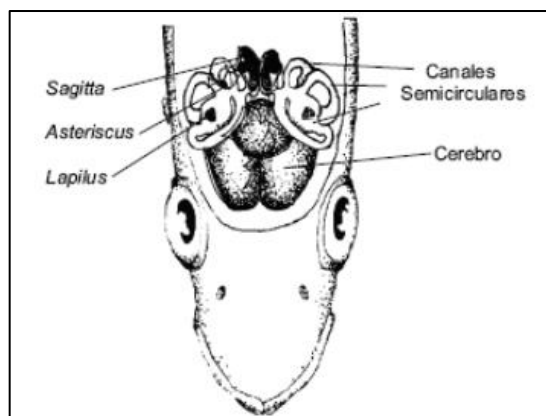
**Figura 2.** Representació de dos *Phoxinus sp.* un mascle i un femella, on s'hi veuen representades les diferències en la època de reproducció. font: <http://combinacionanimal.blogspot.com/2010/05/pescardo-phoxinus-phoxinus.html>.

El Barb roig es distribueix per tot Europa (excepte el sud d'Espanya, sud d'Itàlia, Peloponès, nord-est d'Escandinàvia, Escòcia i Islàndia) i Àsia de l'Est i central. Als països Catalans es troba per alguns rius de la conca de l'Ebre, com també el Besòs, la Tordera, el Ter i la Muga així com a alguns estanys del Pirineu. A la Catalunya central és considerada una espècie exòtica, encara que és autòctona a la Catalunya Nord (França) i a la Cornisa Cantàbrica d'Espanya (Puigcerver, M., *et al.*, 1998, p.53-66), tot i que és difícil saber que quines conques és autòctona i de quines no (Leunda, P.M. *et al.*, 2017).

#### 1.4. Otòlits

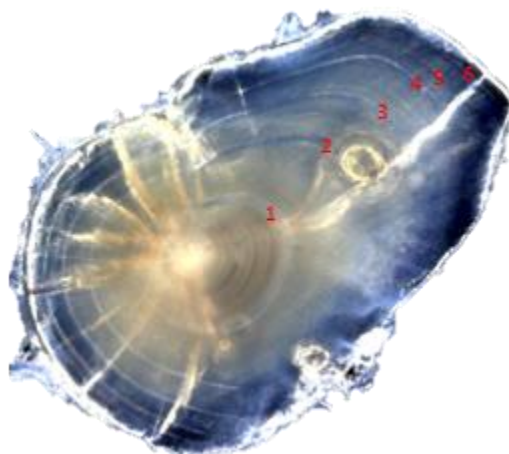
Els otòlits són, estructures de carbonat calci cristal·litzat en forma d'aragonita, inserits en una matriu proteica orgànica. Estan localitzats al laberint membranós de l'oïda interna dels peixos teleostis (Mascareñas, I., *et al.*, 2003) i la seva funció es relaciona amb la situació de l'individu en l'espai. Sota la influència de la gravetat, aquestes concrecions calcàries activen unes determinades cèl·lules sensorials el senyal de les quals informen al cervell sobre la posició relativa del cos en relació a la vertical. Es tracten per tant d'estructures estabilitzadores de posició i també tenen un paper important en el procés auditiu (Morales-Nin, B., s.d.). En els peixos teleostis existeixen tres parells d'otòlits; el Lapillus que es troba a l'utricle, la Sagitta localitzada al sàcul i l'Astericus a la lagena (Hernández García, M., *et al.*, 2004) (*figura 3*).





**Figura 3.** Localització dels otòlits en peixos teleostis. **Font:** Tomado de Volpedo, 2001 ([https://www.researchgate.net/figure/Figura-5-Ubicacion-de-los-tres-pares-de-otolitos-en-un-pez-teleosteo-Tomado-de\\_fig3\\_274512252](https://www.researchgate.net/figure/Figura-5-Ubicacion-de-los-tres-pares-de-otolitos-en-un-pez-teleosteo-Tomado-de_fig3_274512252))

A mesura que el peix creix l'otòlit també ho fa, deixant gravat d'aquesta manera uns anells de creixement a partir dels quals es pot estimar l'edat, similar al tronc d'un arbre. En aquestes estructures s'hi poden diferenciar anells anuals o anells diaris. En el cas del Barb roig, s'hi observaran els anells anuals, aquests es formen a causa de les marcades diferències estacionals típiques de les zones temperades, a les èpoques càlides, on el peix té abundant nutrient i una temperatura òptima creix ràpidament deixant un anell gruixut, mentre que a les èpoques més fredes i amb pocs nutrients, aquest creix molt lentament i deixa un anell molt fi, el conjunt dels dos anells conformen un any de vida. En aquest estudi per tal de determinar l'edat total dels peixos, es farà un recompte tan sols els anells fins que deixa la temporada de fred (*figura 4*).



**Figura 4.** Otòlit de *Phoxinus sp.* capturat a Tres estanys, on s'hi aprecien els anells anuals, concretament 6. Per fer-ne el recompte en aquest projecte, és tindran en compte els assenyalats a la figura. **Font:** Elaboració pròpia.

Els otòlits no tan sols indiquen l'edat d'un individu sinó que també permet saber en quines situacions s'ha desenvolupat, quines han sigut les condicions ambientals, si hi ha hagut algun dèficit nutritiu al llarg de la seva vida o si s'ha posat en contacte amb algun element contaminant (Morales-Nin, B., s.d.). A banda de tot això, també són estructures considerades caràcters taxonòmics, ja que presenten una alta especificitat morfològica que permet la determinació d'espècies íctiques (Hernández García, M., *et al.*, 2004).

## 2. OBJECTIUS

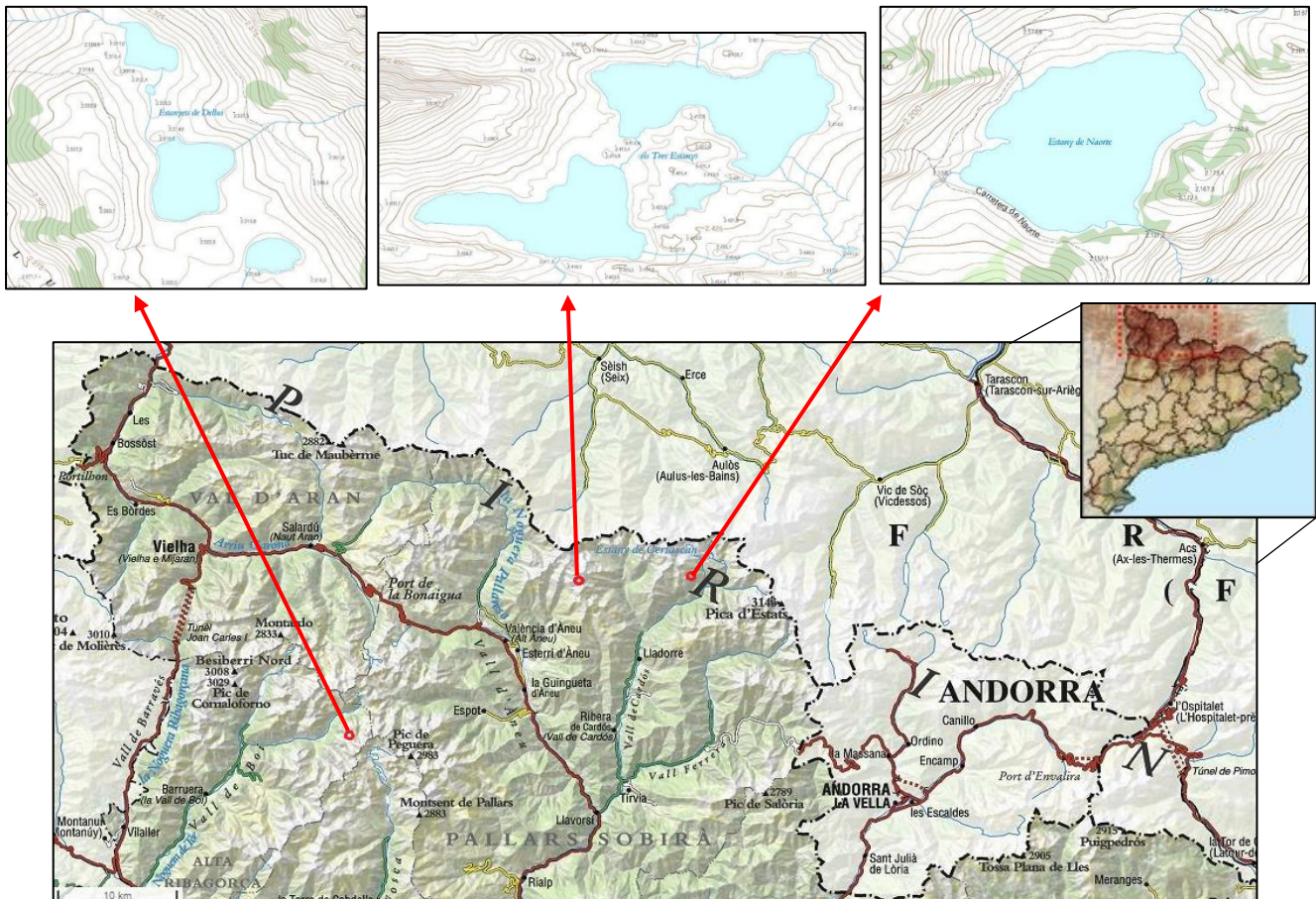
This study is based on two major objectives;

- Make an improvement in the methodology used previously to make the age reading of the otoliths of *Phoxinus* sp.
- Characterize the populations of common minnow (*Phoxinus* sp.) of three ponds in high mountain of the Pyrenees; Naorte, Tres Estanyes and the Bassa Nord de Dellui, through:
  - Analyse the individual growth of each population based on the non-linear model of Von Bertalanffy.
  - Study the demographics of the three populations based on their mortality rate.

## 3. METODOLOGIA

### 3.1. Zones d'estudi

L'estudi del creixement, la demografia del Barb Roig i la millora metodològica dels anells de creixement, es realitza a partir de mostres recollides en tres estanys d'alta muntanya dels Pirineus; Naorte, els Tres Estanyes i la Bassa Nord dels estanys de Dellui (*figura 5*).



**Figura 5.** Mapa topogràfic amb la localització dels estanys de Dellui, Tres Estanyes i Naorte a una escala 1:500.000. Incloses tres fotografies ampliatades a escala 1:5.000 de cadascun. **Font:** Elaboració pròpia a partir del ICGC

### **Estany de Naorte**

L'estany de Naorte és un estany glacial situat a la Vall de Cardós, dins del municipi de Lladorre (Pallars Sobirà), es troba a una altitud de 2.020 m i presenta una extensió de 4,0 ha (*figura 6*).

L'emissari de l'estany, el riu Naorte, afluïx a la Noguera de Cardós per la dreta al pla de Boavi. Està comunicat per un canal subterrani amb el riu de Cartescan i amb la central elèctrica de Tavascan. A causa de la presència de *Phoxinus sp.* que aquest presenta, el projecte LimnoPirineus s'hi ha implicat amb l'objectiu d'erradicar aquesta espècie de la zona, per tal de portar-ho a terme s'ha implantat un pla de regulació de pesca a més de l'eliminació i control de les poblacions de Barb Roig. Les mostres utilitzades en aquest estudi pertinents a aquest estany van estar recollides el juliol del 2014.



**Figura 6.** Estany de Naorte. **Font:** LIFE+ LimnoPirineus.

### **Tres Estanys**

Tres Estanys situat al Parc Natural de l'alt Pirineu, dins del municipi de la Guingueta d'Àneu (Pallars Sobirà), es troba a una altitud de 2.420 m i presenta una extensió de 3,5 ha (*figura 7*). En aquest estany també s'hi presencia el Barb Roig, és per això que també és objecte d'estudi per al projecte LimnoPirineus. Les mostres que s'utilitzen en aquest estudi van estar recollides el juliol del 2014.



**Figura 7.** Tres Estanys. **Font:** Wikiloc.



### **Bassa Nord dels Estanyets de Dellui**

Els Estanyets de Dellui estan compostos per petits estanys, aquest estudi es centra en la Bassa Nord la qual està situada al Parc Nacional D'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici al municipi de la Vall de Boí (Alta Ribagorça), a una altitud de 2.307 m i una superfície de 0,38 ha (*figura 8*). Aquest estany presenta majoritàriament poblacions de *Phoxinus sp.* i les mostres que aquest estudi utilitza van estar recollides a l'agost del 2014.



**Figura 8.** Estanyets de Dellui. **Font:** Wikiloc

### 3.2. Obtenció de mostres i mesures.

El recull de mostres de Barb roig realitzat per l'empresa de Sorelló estudis del medi aquàtic S.L, s'inicia durant el període d'estiu i tot i que en aquest estudi no s'ha participat en aquest procediment, és important fer-ne referència.

El mostreig de captura es realitza a partir de xarxes soltes multimalla i trampes tipus gànguil, les quals es deixen entre 24 i 48 hores després de la seva instal·lació (Lapedra, A., 2016). Un cop extretes les mostres de *Phoxinus sp.* S'agafaven dades individuals de cada peix sobre la llargada furcal (mesura de la llargada des de la boca de l'individu fins al punt central de l'aleta caudal) a partir d'un ictòmetre, el pes a partir d'una balança i per últim se n'intenta descobrir el sexe mitjançant caràcters fenotípics (Fernández, I., 2016). Un cop realitzades les mesures corresponents es guarden les mostres en bosses hermètiques correctament etiquetades per posteriorment congelar-les i que es mantinguin intactes fins a la seva anàlisi al laboratori.

Un cop les mostres arriben al laboratori es repeteixen les mesures realitzades al camp; llargada furcal, pes i sexe. Per tal d'estar segurs del sexe de l'individu, no ens podem basar tan sols amb les diferències morfològiques, ja que aquestes depenen molt del període reproductiu del peix, així doncs, es realitza una extracció de l'estómac i de les gònades per estar-ne segurs.

### 3.3. Extracció d'otòlits

En el procés d'extracció d'otòlits, primerament es selecciona el de més interès per al projecte, ja que com s'ha mencionat anteriorment els teleostis posseeixen 3 otòlits, aquest és la Sagitta que és el de major mida i per tant el més útil a l'hora de determinar l'edat dels individus, aquest està situat al sàcul de la part interna de l'oïda (*Figura 3*). Per a la seva extracció es procedeix a fer un tall transversal al cap amb un bisturí, una mica darrere dels ulls i de la suficient profunditat per poder-la obrir, retirar la massa cerebral i la sang i extreure l'otòlit (*figura 9*) (Holden, M.J., Raitt, D.F.D., 1975).

Un cop realitzada l'extracció de l'otòlit s'ha de netejar conscientment i conservar en sec, és per això que es dipositen en tubs Eppendorf correctament etiquetats, amb el número d'individu i la seva procedència.



**Figura 9.** Procés d'extracció d'otòlits a partir d'un tall transversal, en aquest cas en l'espècie *Trachurus trachurus* **Font:** <https://cobmedits2011.wordpress.com/2011/06/18/la-edad-de-los-peces/>

### 3.4. Lectura

En aquest estudi, tal com s'ha mencionat anteriorment, un dels objectius principals és fer una millora de la metodologia emprada fins al moment per fer la lectura d'edat dels otòlits de *Phoxinus sp.* A continuació aquest apartat exposa com s'ha realitzat aquesta millora.

#### 3.4.1. Elecció del mètode

Per realitzar la lectura dels otòlits se segueixen diferents processos depenen de l'espècie que es vol analitzar, ja que cada una té una estructura òssia diferent, tant en la forma, la mida, el tipus de solc, la presència o absència de depressió areal o l'opacitat, la qual cosa resulta molt útil per a la determinació d'espècies (Hernández García, M., *et al.*, 2004) però dificulta l'elecció de la metodologia a seguir.

El procediment més utilitzat per a la lectura d'otòlits consisteix a introduir l'otòlit en una matriu de resina per després tallar-lo pel centre, això és important per tal que es visualitzin tots els anells i no subestimar l'edat del peix. Un cop inclòs dins la resina es poleix fins a obtenir una làmina d'unes 20-40 micres de gruix, la qual ja serà apta per fer la lectura d'edat (Sánchez García-Pozuelo, M., 2018, p.2). Aquest procediment és vàlid quan la mida de l'otòlit és suficientment gran per dur-ho a terme, en el cas del *Phoxinus sp.* Al ser d'una mida molt reduïda, de 0,5 a 2 mm, aquest no es pot executar i es realitza una lectura directa de l'otòlit sencer. Aquesta

metodologia consisteix a posar l'otòlit dins d'una placa de vidre totalment submergida amb oli d'oliva, el qual augmenta la qualitat de visualització dels anells de creixement a partir de la filtració de la llum incident i la reducció de l'enlluernament (Lapedra, A., 2016), i posteriorment observar-ho amb una lupa binocular de 40 augments.

Per assolir l'objectiu de millora en la tècnica emprada per la lectura dels otòlits de barb roig, el fonament base que proposa aquest estudi és aconseguir fer un polit de l'estructura calcària abans de procedir al recompte per veure amb més exactitud els anells formats. La problemàtica presentada amb la tècnica de visualització directa és principalment la pèrdua de visibilitat dels anells externs, els quals a causa de la disminució del ritme de creixement del peix, es troben molt més junts i no es poden apreciar bé, obtenint un resultat molt més estimat i subjectiu per part de l'observador.

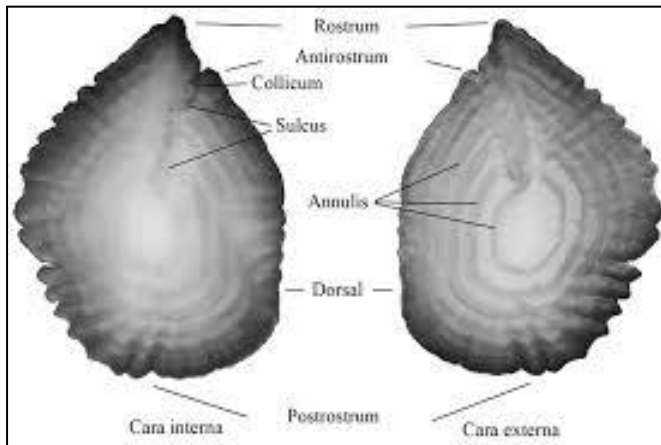
### 3.4.2. Procediment

La familiarització amb els otòlits de *Phoxinus sp.* és essencial per tal de realitzar la nova metodologia. Així doncs el primer pas que s'ha dut a terme en aquest procés ha sigut l'observació d'un abundant nombre d'estructures calcàries, amb ajuda d'oli i sense, per tal de conèixer bé la forma, la mida i les característiques que aquestes presenten.

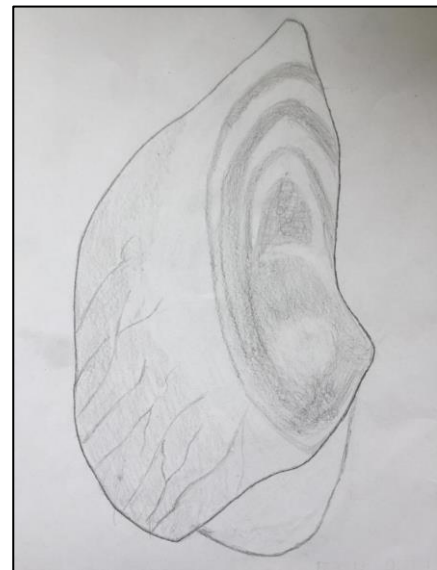
Un cop familiaritzats amb els otòlits, s'ha procedit a buscar un substitut de la resina que ens permeti fer una subjecció de l'otòlit però que a la vegada es pugui polir fàcilment sense haver de recórrer a una polidora mecànica. Es decideix utilitzar cianoacrilat, el qual és resistent a l'aigua i adherent al vidre, dues característiques que seran útils per subjectar l'otòlit al portaobjectes i polir-lo amb facilitat.

Després de realitzar un seguit de proves i comprovar l'efectivitat d'aquest mètode, es procedeix a escollir quina banda és més eficaç per polir per tal que els anells es visualitzin millor sense perdre estructura calcària i per tant pèrdua de fiabilitat en el mètode. Tal com s'observa en la *figura 10 i 11*, els otòlits de *Phoxinus sp.* presenten dues cares, una rugosa des de la qual no es poden visualitzar els anells i una més clara i llisa on es veu la presència d'aquests i és des de la que es realitza l'observació directa de l'otòlit a partir d'oli. En la millora de la metodologia, es procedeix a fer diverses proves polint diferents otòlits per cadascuna de les bandes. Els resultats indiquen que és més eficaç llimar la part rugosa, perquè tot i que requereix més temps, evita la pèrdua d'anells que es dona molt sovint llimant la part llisa.

Tenint en compte la metodologia anterior, el procés final serà el següent; primerament es posicionarà l'otòlit al portaobjectes amb la banda rugosa dalt, s'hi afegirà una gota de cianoacrilat, com més petita menys temps es requerirà en polir-la, i per tant més s'agilitzarà el procés. Es deixarà un dia sencer per tal que s'assequi i quedi ben subjecte, i es procedirà a llimar manualment a partir d'una llima d'aigua de gra P 800 (molt fina), molt a poc a poc i observant en tot moment a una lupa Dino-Lite la deterioració de l'otòlit fins al punt on la visualització dels anells sigui màxima (*Figura 12 i 13*). Per obtenir una millor qualitat en l'observació li afegirem una gota d'esmail.



**Figura 10.** Cara interna i externa del otòlit Sagitta, en aquest cas d'un besugo *E. crassicaudus*. **Font:** <https://scielo.conicyt.cl/pdf/revbiolmar/v44n2/art15.pdf>



**Figura 11.** Dibuix del perfil d'un otòlit de *Phoxinus sp.* on s'hi pot observar les dues cares que presenten, una més rugosa i l'altre més llisa. **Font:** elaboració pròpia



**Figura 12.** Materials utilitzats en el procediment lectura i pre-lectura dels otòlits. En la figura s'hi observa; una lupa Dino-Lite, una llum Dino-Lite, un tub Eppendorf d'on procedeix l'otòlit observat, un tub de cianocrilat, una llima de gra P800, un pot d'esmalt i el portaobjectes amb l'otòlit. **Font:** elaboració pròpia.



**Figura 13.** Procediment de la lectura d'edat d'un otòlit de *Phoxinus sp.* a partir d'una llum i una lupa DinoLite connectada a l'ordinador. **Font:** Elaboració pròpia.

### 3.4.3. Comparativa

Descrit el procés que seguirà en la nova metodologia, s'ha de demostrar que aquest és més eficaç i precís que la visualització directa a partir l'oli, ja que suposa un esforç i uns costos més elevats. Així doncs, es realitza una comparativa de les dues metodologies en 25 otòlits per 3 estanys diferents, és a dir un total de 75 otòlits.

Per tal de realitzar la comparació, primerament s'observen les 25 mostres de cada estany amb la metodologia directa i s'anoten els anells visualitzats, d'aquests se'n prenen dos valors, l'edat 1 en la qual es comptaran aquells anells que s'observen clarament i no presenten cap dubte, i l'edat 2, que són tots els anells segurs junt amb aquells que es dedueixen però no s'aprecien bé. D'aquesta visualització també se'n fa un índex de confiança amb un interval del 0 al 2, essent 0 una visualització molt estimada i gens segura, i 2 una visualització molt precisa i clara. Aquest índex de confiança es realitza pel fet que hi ha otòlits que per raons alienes no es veuen amb precisió i no presenten uns resultats fiables.

Un cop realitzada la visualització directa de les 75 mostres, es procedeix a fer la nova metodologia amb les mateixes, indicant també els anells comptats a l'edat 1 i a l'edat 2 i l'índex de confiança pertinent. D'aquesta manera s'obté una taula amb tots els resultats que han presentat les dues metodologies, els quals permeten comparar i decidir quina és més efectiva i si val la pena realitzar els esforços que requereix el nou procediment.

## 3.5. Anàlisi de dades i ajustament dels models estadístics

Els resultats obtinguts a partir de les lectures d'anells dels individus de *Phoxinus sp.* S'han treballat juntament amb les dades preses al camp de longituds furcals de cada individu i s'han utilitzat una sèrie de models estadístics per tal d'obtenir informació sobre el creixement i la demografia de les tres poblacions dels Pirineus i poder comparar-les. Per realitzar aquestes anàlisis estadístics s'utilitza el programa IBM SPSS.

### 3.5.1. Creixement

A partir de les edats observades es realitza una corba de creixement per a cada població per tal de conèixer-les i diferenciar-les, aquestes es realitzen a partir del model matemàtic de regressió no lineal de Von Bertalanffy, el qual relaciona l'edat amb la longitud furcal del peix, i segueix la següent funció:

$$L_t = L_\infty(1 - e^{-K(t-t_0)})$$

#### **Equació 1**

On  $L_t$  és la longitud furcal a l'edat  $t$  i  $L_\infty$ ,  $K$  i  $T_0$  són els paràmetres que determinen la forma de la funció.  $L_\infty$  representa la longitud màxima assolible o longitud asimptòtica,  $K$  la velocitat en què s'hi acostava i  $T_0$  l'edat teòrica en què la longitud és zero (Pou-Rovira, Q., 2004, p. 97). En aquest projecte es considera que  $T_0 = 0$  degut al baix nombre d'individus joves que s'han mostrejat, els quals provoquen un ajustament erroni del model i donen lloc a estimacions biològicament inversemblants dels paràmetres de creixement. Així doncs, s'obté la següent funció:



$$L_t = L_\infty(1 - e^{-K(t)})$$

### **Equació 2**

Amb aquest model ja es pot conèixer les diferències de creixement de les poblacions, i la taxa de creixement a partir del paràmetre K.

#### 3.5.2. Demografia

Per conèixer la demografia de les diferents poblacions, es farà un estudi de la taxa de mortalitat (Z) i consegüentment de la supervivència de cada cadascuna d'elles.

L'índex de mortalitat (Z) calculat a partir de la següent equació, es basa en el nombre de captures analitzades a cada edat:

$$N_t = N_0 \times e^{-Zt}$$

### **Equació 3**

On  $N_t$  és l'abundància de peixos a l'edat t,  $N_0$  és l'abundància a l'edat zero, Z és la taxa de mortalitat i t l'edat de l'individu. Per tal de conèixer la Z de les poblacions analitzades s'ha de transformar l'equació 3 en una regressió lineal, per aconseguir-ho es realitza el logaritme neperià de  $N_t$  essent la variable dependent, t la variable independent i Z el pendent de la recta obtinguda. Així doncs l'equació final serà la següent:

$$\ln N_t = Zt + N_0$$

### **Equació 4**

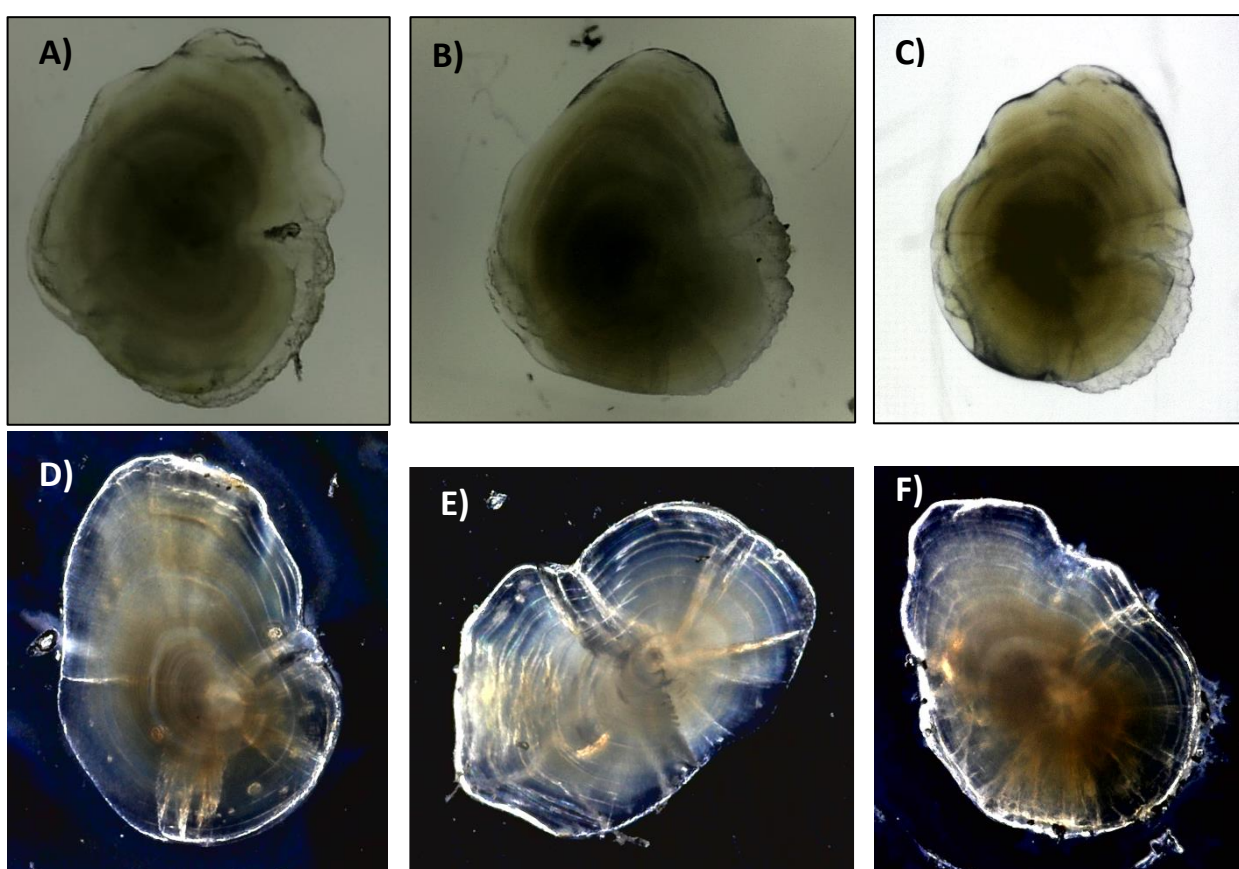
En ajustar les dades obtingudes a aquest model, s'ha observat que a causa de la nul·la o baixa captura o anàlisis d'individus joves en tots tres estanys es dificultava molt l'ajustament d'una recta de regressió que permetés calcular la taxa instantània de mortalitat (Z). Considerant que aquesta és independent de l'edat, és a dir, que tots els individus tenen la mateixa probabilitat de morir i aquesta és constant al llarg del temps, s'ha vist que si l'anàlisi del nombre d'individus no és proporcional, la taxa de mortalitat no és representativa de la real. Així doncs, per tal d'estimar la taxa de mortalitat, s'ha realitzat un ajustament de totes les mostres capturades als estanys (no només les analitzades) a partir del model de creixement obtingut anteriorment. D'aquesta manera s'ha estimat una edat per cada individu i s'ha realitzat la recta de regressió representada a l'equació 4 per tots tres estanys. Tot i això, a causa de la baixa captura d'individus joves per diferents factors, el nombre d'aquests no s'ajusten a la realitat, és per això que s'obvien aquestes edats i s'ajusta la recta a les edats que es consideren plenament representades a la mostra obtinguda.

## 4. RESULTATS

### 4.1. Elecció de la metodologia de la lectura d'otòlits

Per tal d'assolir l'objectiu de la millora en la metodologia de lectura dels otòlits de *Phoxinus sp.* s'han analitzat els resultats obtinguts en la comparativa de les metodologies esmentada anteriorment i s'han fet un seguit d'anàlisis. Partint de dues hipòtesis, la hipòtesi nul·la: No hi ha diferències en les metodologies i la hipòtesi alternativa: Sí que hi ha diferències en les metodologies.

Primerament, abans de realitzar les anàlisis, s'ha fet una comparativa a partir de la qualitat de les imatges que s'han anat obtenint al llarg del procediment. Aquestes tal com es pot veure en la *figura 14* ens fan suposar que la hipòtesi més acceptada és l'alternativa.



**Figura 14.** Sis fotografies d'otòlits de *Phoxinus sp.* de Naorte, Tres Estanys i Bassa Nord de Dellui respectivament. A, B i C realitzades amb la metodologia original de visualització directe i D, E i F realitzades a partir de la nova metodologia de polir l'otòlit. **Font:** Elaboració pròpia.

Per confirmar la primera impressió d'acceptar la hipòtesi alternativa que s'ha donat a partir de les imatges, s'han realitzat anàlisis de confiança i precisió d'ambdós mètodes.

L'anàlisi de confiança en les dues metodologies s'ha realitzat primerament a partir de la mitjana entre els índexs de confiança obtinguts de cada mostra, que com s'ha esmentat anteriorment representa la seguretat en el recompte dels anells de creixement, obtenint valors de 0, 1 i 2 essent respectivament gens de confiança, bona confiança i molt bona confiança. Els resultats

obtinguts, representats a les *taules 1, 2 i 3*, indiquen que en els tres estanys els valors són més pròxims a 2 amb la nova metodologia que no pas amb la metodologia original de visualització directa. Així doncs, de moment ja es pot assegurar que la nova metodologia ens aporta més confiança a l'hora de fer la lectura.

L'anàlisi de precisió s'ha realitzat a partir de la diferència entre els anells obtinguts a la lectura de l'edat 1 (E1) i l'edat 2 (E2) en totes les mostres analitzades i s'ha fet una mitjana d'aquestes per obtenir un únic valor, aquest procediment s'ha realitzat en les dues metodologies. D'aquesta manera es pot estimar quina és més precisa a l'hora de fer la lectura. Els resultats representats a les *taules 1, 2 i 3*, mostren que en els tres estanys la mitjana en la diferència de les dues edats és molt inferior en la nova metodologia, indicant un augment important en la precisió de la lectura.

**Taula 1.** Mitjana de l'índex de confiança i el nivell de precisió per les dues metodologies comparades en el projecte en mostres capturades a l'estany de Naorte. **Font:** Elaboració pròpia a partir del Excel.

<i>ESTANY DE NAORTE</i>	<b>Sencer (S)</b>	<b>Polit (P)</b>
<b>Mitjana índex de confiança</b>	1,250	1,348
<b>Nivell de precisió (P-S)</b>	1,130	0,696

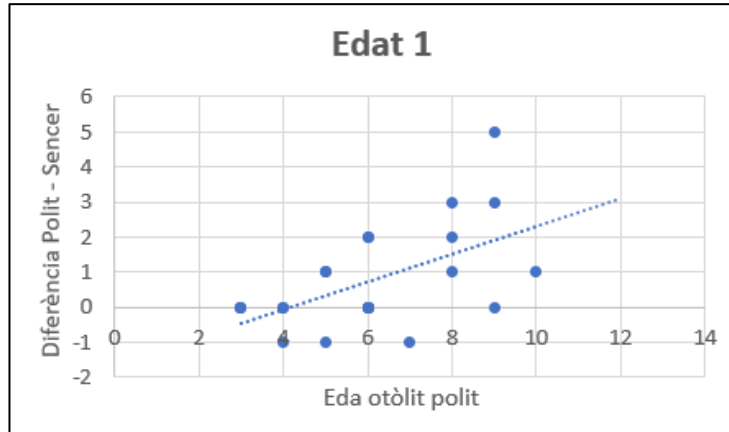
**Taula 2.** Mitjana de l'índex de confiança i el nivell de precisió per les dues metodologies comparades en el projecte en mostres capturades a Tres Estanys. **Font:** Elaboració pròpia a partir del Excel.

<i>TRES ESTANYS</i>	<b>Sencer (S)</b>	<b>Polit (P)</b>
<b>Mitjana índex de confiança</b>	1,042	1,292
<b>Nivell de precisió (P-S)</b>	1,917	0,870

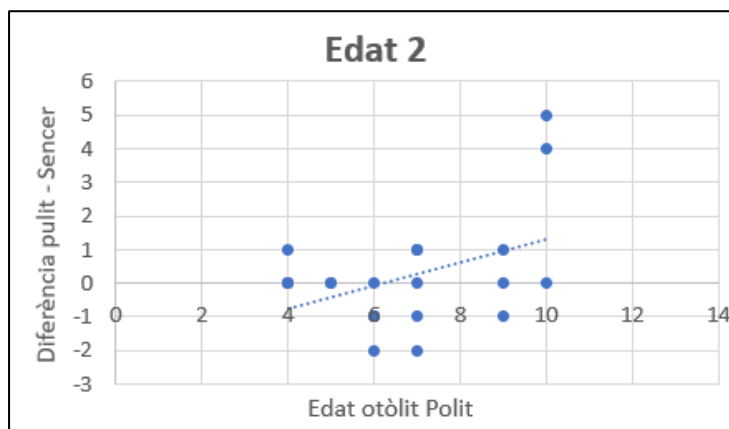
**Taula 3.** Mitjana de l'índex de confiança i el nivell de precisió per les dues metodologies comparades en el projecte en mostres capturades a la Bassa Nord dels Estanyets de Delluí. **Font:** Elaboració pròpia a partir del Excel.

<i>BASSA NORD DE DELLUÍ</i>	<b>Sencer (S)</b>	<b>Polit (P)</b>
<b>Mitjana índex de confiança</b>	1,115	1,44
<b>Nivell de precisió (P-S)</b>	2,346	0,72

Posterior a les anàlisis de confiança i precisió, s'ha realitzat una comparativa entre; les edats observades dels otòlits polits i la diferència entre els anells comptats en cada metodologia (diferència Polit – Sencer), per l'edat 1 i l'edat 2. Obtenint d'aquesta manera les *figures 15 i 16* mostrades a continuació.



**Figura 15.** Gràfic de comparació entre la edat de l'otòlit polit i la diferència entre la edat del mateix per les dues metodologies. Tenint en compte les dades de l'edat 1. **Font:** elaboració pròpia a partir d'Excel.



**Figura 16.** Gràfic de comparació entre la edat de l'otòlit polit i la diferència entre la edat del mateix per les dues metodologies. Tenint en compte les dades de l'edat 2. **Font:** Elaboració pròpia a partir de l'Excel.

En els dos gràfics, tant per l'edat 1 com per la 2, la diferència de les edats en les dues metodologies té tendència a augmentar a mesura que ho fa l'otòlit, indicant que en la nova metodologia s'hi aprecien més anells, això és degut com ja s'ha mencionat anteriorment, a la disminució del creixement del peix quan és adult, la qual cosa provoca que els anells es trobin més junts i per tant siguin més difícils de veure amb la metodologia de la visualització directa, subestimant l'edat. Tot i això cal esmentar perquè en el gràfic 2 la tendència a augmentar no és tan inclinada com la del gràfic 1. Això és pel fet que en la metodologia de visualització de l'otòlit sencer, com ja s'ha esmentat és menys precisa, i per tant s'han estimat més anells dels que hi havia realment, obtenint un valor més gran en aquesta metodologia que en la nova.

Finalment s'afirma que la hipòtesi acceptada és l'alternativa, ja que per tots les anàlisis la nova metodologia és millor a l'hora de fer la lectura dels anells de creixement.

Una vegada s'ha elegit la millor metodologia a seguir, s'ha procedit a decidir quina edat (E1 o E2) s'adequava més a la realitat per posteriorment realitzar les anàlisis de creixement i demografia. S'ha considerat l'edat 2 pel fet que en aquesta es tenen en compte tots els anells que possiblement té l'otòlit però que a causa d'una mala qualitat de visualització d'aquest o un excés de polit no s'observen clarament, tot i això gràcies a l'experiència creada en aquest estudi es pot considerar que aquesta és una edat més fiable.

## 4.2. Creixement

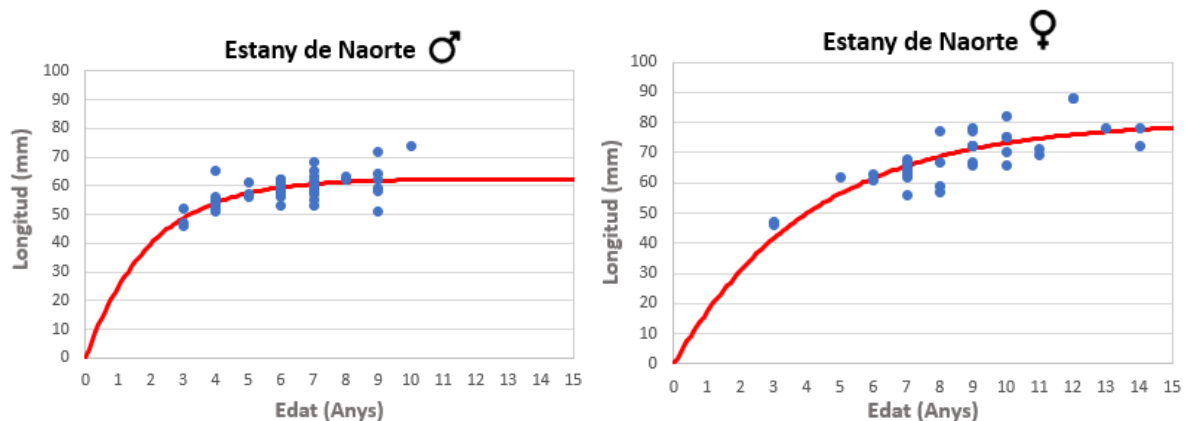
Després d'ajustar les dades de les poblacions estudiades a partir del model de Von Bertalanffy expressat anteriorment a l'equació 2, es pot comparar i observar les diferències entre el creixement que aquestes presenten. Per tal de fer-ho s'ha realitzat una taula resum (taula 4, 5 i 6) de cada població amb la longitud infinita ( $L_{\infty}$ ), la taxa de creixement (K) i el coeficient de determinació ( $R^2$ ) per als mascles i les femelles. En el cas de Tres Estanys i la Bassa Nord de Dellui, també es farà una comparativa amb els resultats obtinguts, a partir de la metodologia de visualització directa, procedents d'un estudi anterior (Fernández, A., 2015) el qual permetrà veure les diferències que una millora de la metodologia suposa per tot l'estudi.

### 4.2.1. Estany de Naorte

**Taula 4.** Resultats obtinguts per la longitud màxima ( $L_{\infty}$ ), la taxa de creixement (K) i amb el coeficient de determinació ( $R^2$ ) de la població de Naorte en la regressió no lineal que s'observa en la figura 17 per ambdós sexes (mascles i femelles).

NAORTE	Sexe	$L_{\infty}$	K	$R^2$
METODOLOGIA DE L'OTÒLIT POLIT	Mascles	62,421	0,504	0,402
	Femelles	80,401	0,242	0,630

Els resultats expressats a la taula 4 s'observen representats en la figura 17, en forma de regressió no lineal.



**Figura 17.** Gràfics on s'observen les dues regressions no lineals del model de creixement de Von Bertalanffy pels mascles (gràfic esquerra) i les femelles (gràfic dreta) de la població de *Phoxinus sp.* del estany de Naorte. Obtinguts a partir de la metodologia de l'otòl lit polit. **Font:** elaboració pròpia a partir d'Excel.

En primer lloc, a partir de la taula i els gràfics obtinguts en l'Estany de Naorte, s'observa que s'han analitzat individus de 3 anys fins als 14 en el cas de les femelles i que en ambdós gràfics es pot apreciar una relació directament proporcional entre l'edat i la longitud de l'individu.

Pel que fa a les longituds màximes expressades dels dos sexes, s'hi observa que la de la femella és molt més superior, això es causa del ja esmentat dimorfisme sexual que aquesta espècie presenta, assolint valors màxims de 62 mm als mascles i de 80 a les femelles.

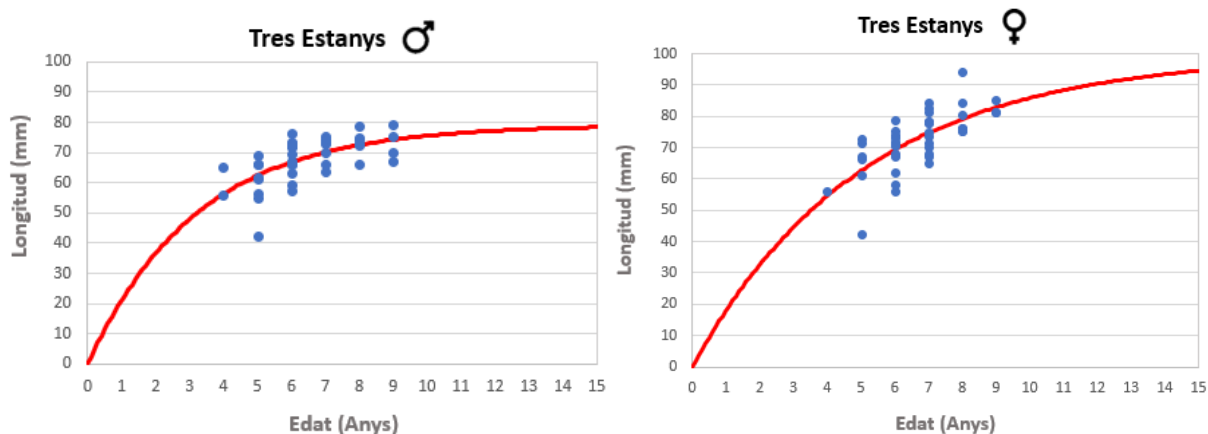
Pel que fa a la taxa de creixement (K) de *Phoxinus sp.* s'observa que és baixa per ambdós sexes, tot i que en els mascles és una mica més alta pel fet que aquests tenen una menor mida i s'estabilitza abans la relació Edat/Longitud que no pas les femelles, les quals creixen més.

#### 4.2.2. Tres Estanys

**Taula 5.** Resultats obtinguts per la longitud màxima ( $L_{\infty}$ ), la taxa de creixement (K) i amb el coeficient de determinació ( $R^2$ ) de la població de Tres Estanys en la regressió no lineal que s'observa en la figura 18 per ambdós sexes (mascles i femelles) en les dues metodologies.

3 ESTANYS	SEXE	$L_{\infty}$	K	$R^2$
METODOLOGIA DE L'OTÒLIT SENCER	Mascles	69,445	0,831	0,798
	Femelles	74,194	0,696	0,775
METODOLOGIA DE L'OTÒLIT POLIT	Mascles	79,136	0,310	0,382
	Femelles	99,699	0,198	0,467

Els resultats expressats a la *taula 5* s'observen representats en la *figura 18*, en forma de regressió no lineal.



**Figura 18.** Gràfics on s'observen les dues regressions no lineals del model de creixement de Von Bertalanffy pels mascles (gràfic esquerra) i les femelles (gràfic dreta) de la població de *Phoxinus sp.* de Tres Estanys. Obtinguts a partir de la metodologia de l'otòlit polit. **Font:** elaboració pròpia a partir d'Excel.

En el cas de Tres Estanys s'hi observa que les mostres analitzades es concentren en edats més intermèdies que no pas l'estany de Naorte, des dels 4 als 9 anys. També s'hi observa un evident dimorfisme sexual, essent les femelles d'una mida molt superior als mascles, en aquest estany però les longituds presentades tant en les femelles com en els mascles és superior envers al cas anterior.

Pel que fa a les longituds màximes ( $L_{\infty}$ ) s'observa que són molt elevades, això és a causa de la manca d'individus superiors a 10 anys mostrejats en aquest estudi per aquest estany, el que fa que no es vegi l'estabilització de la longitud envers l'edat i fa sobreestimar la longitud màxima.

Pel que fa a la taxa de creixement (K), igual que en el cas de Naorte és molt baixa.

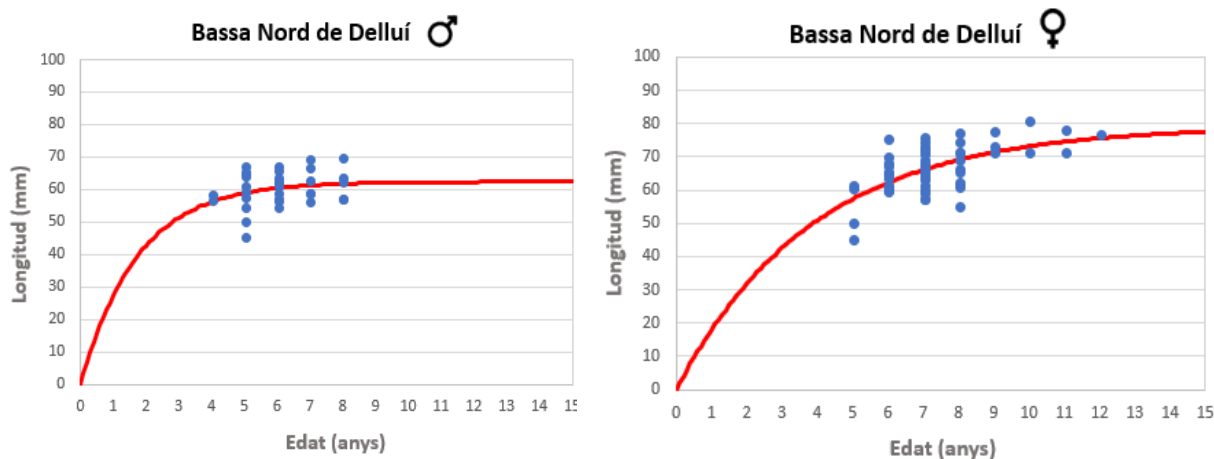
En el cas de Tres Estanyes s'ha fet una comparativa amb la metodologia de visualització directa de l'otòlit a partir dels resultats obtinguts en un estudi anterior (Fernández, A., 2015). En aquest s'observa que els resultats obtinguts tenen una Longitud màxima ( $L_{\infty}$ ) inferior i una taxa de creixement (K) molt superior en comparació dels resultats obtinguts en aquest estudi.

#### 4.2.3. Bassa Nord de Dellui

**Taula 6.** Resultats obtinguts per la longitud màxima ( $L_{\infty}$ ), la taxa de creixement (K) i amb el coeficient de determinació ( $R^2$ ) de la població de la Bassa Nord de Dellui en la regressió no lineal que s'observa en la figura 19 per ambdós sexes (mascles i femelles) en les dues metodologies.

BASSA NORD DELLUÍ	SEXE	$L_{\infty}$	K	$R^2$
METODOLOGIA DE L'OTÒLIT SENCER	Mascles	60,597	1,197	0,483
	Femelles	67,935	0,743	0,567
METODOLOGIA DE L'OTÒLIT POLIT	Mascles	62,418	0,575	0,065
	Femelles	79,199	0,257	0,369

Els resultats expressats a la taula 6 s'observen representats en la figura 19 en forma de regressió no lineal.



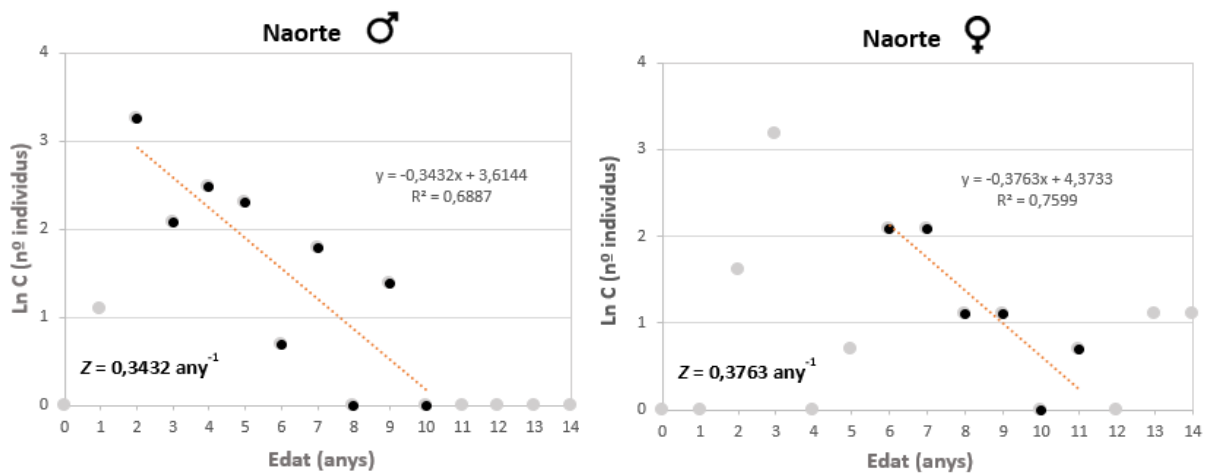
**Figura 19.** Gràfics on s'observen les dues regressions no lineals del model de creixement de Von Bertalanffy per mascles (gràfic esquerra) i les femelles (gràfic dreta) de la població de *Phoxinus sp.* de la Bassa Nord de Dellui. Obtinguts a partir de la metodologia de l'otòlit polit. **Font:** elaboració pròpia a partir d'Excel.

En el cas de la Bassa Nord de Dellui, els intervals d'edats analitzades varia en els mascles i les femelles, anant de 4 a 8 anys en els mascles i de 5 a 13 anys en les femelles. Tot i això, en general segueix la mateixa pauta de creixement que en els dos casos anteriors, obtenint longituds més elevades en les femelles (dimorfisme sexual), presentant una  $L_{\infty}$  elevada, essent superior en les femelles que en els mascles i una baixa taxa de creixement (K) en ambdós sexes, però una mica superior en els mascles.

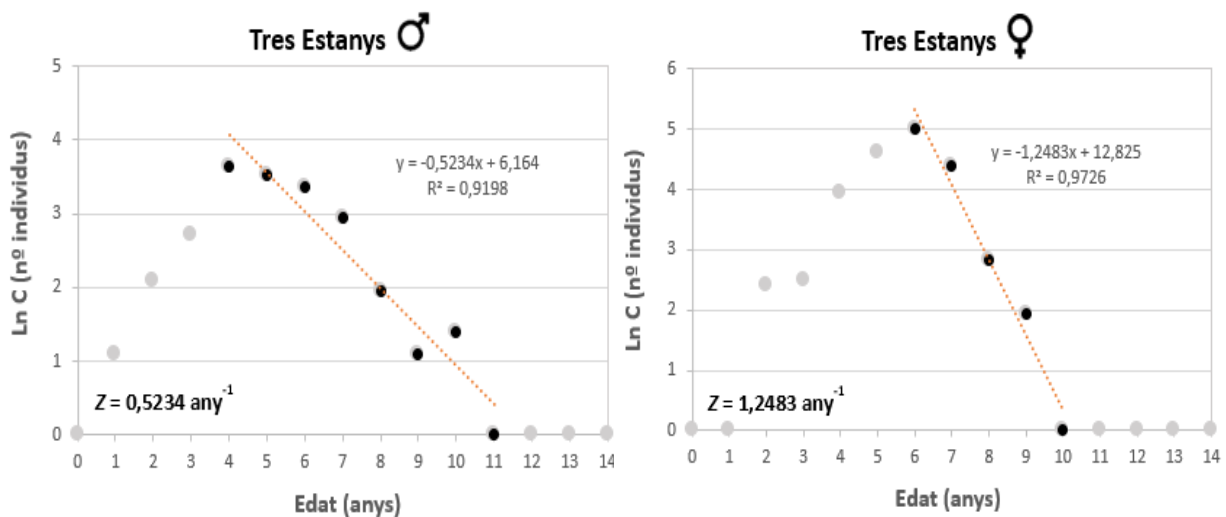
Gràcies als resultats obtinguts d'un estudi anterior (Fernàndez, A., 2015) sobre de les mateixes mostres però a partir de la metodologia de la visualització directa, ens han permès comparar-les amb les dades obtingudes aquest any amb la nova metodologia. Obtenint els mateixos patrons que en la comparació amb Tres Estanys, una longitud màxima ( $L_{\infty}$ ) inferior i una taxa de creixement (K) molt superior en comparació dels resultats obtinguts en aquest estudi.

### 4.3. Demografia

Mitjançant la recta de regressió expressada en l'equació 4 i seguint el procediment descrit en el mateix apartat on es troba aquesta, s'ha pogut fer una estimació de la taxa de mortalitat dels tres estanys que ha analitzat l'estudi pels individus mascles i femelles, aquesta s'ha representat gràficament en les figures 20, 21 i 22, on es pot observar la mortalitat i per tant la supervivència de les tres poblacions a partir de la recta obtinguda, la qual correspon a la taxa de mortalitat (Z).

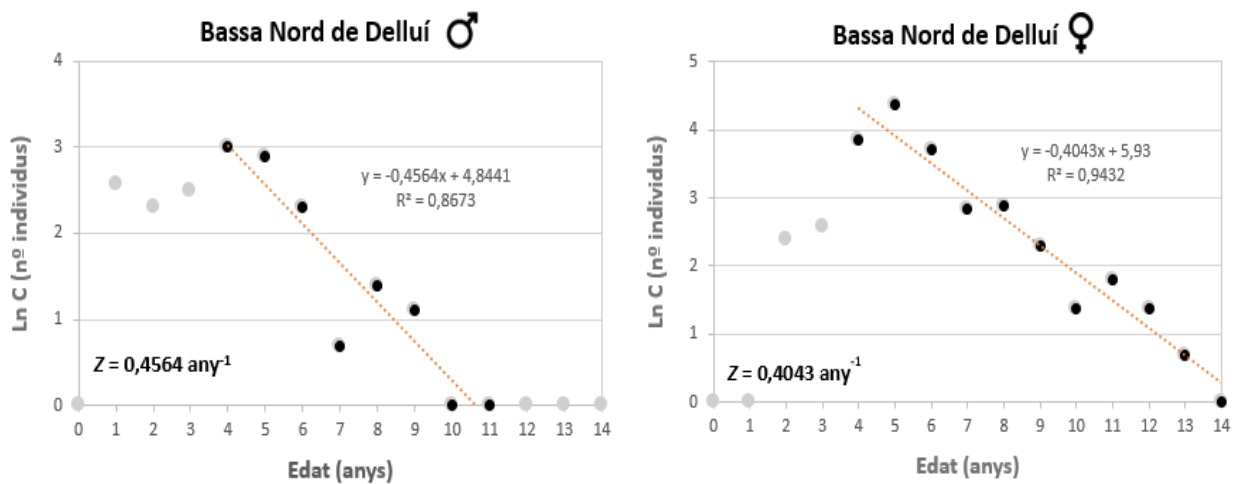


**Figura 20.** Rectes de regressió corresponent a la taxa de mortalitat de l'espècie *Phoxinus sp.* a l'estany de Naorte pels mascles (gràfic esquerra) i les femelles (gràfic dreta). **Font:** elaboració pròpia a partir d'Excel.



**Figura 21.** Rectes de regressió corresponent a la taxa de mortalitat de l'espècie *Phoxinus sp.* a Tres Estanys pels mascles (gràfic esquerra) i les femelles (gràfic dreta). **Font:** elaboració pròpia a partir d'Excel.





**Figura 22.** Rectes de regressió corresponent a la taxa de mortalitat de l'espècie *Phoxinus sp.* a la Bassa Nord de Dellui pels mascles (gràfic esquerra) i les femelles (gràfic dreta).

Observant els gràfics s'hi distingeixen dades expressades de dues formes diferents, uns punts grisos i uns punts negres. Les que estan representades amb punts grisos no s'han tingut en compte a l'hora de realitzar la recta perquè es considera que les mostres d'aquestes edats no són representatives.

Analitzant els gràfics mostrats a les figures 20, 21 i 22, es localitza baix a l'esquerre, la taxa de mortalitat  $Z$  calculada en cada estany i per cada sexe. Aquesta en principi ha de ser semblant per ambdós sexes, tal com es pot observar en l'estany de Naorte i en la Bassa Nord de Dellui, obtenint valors de 0,3432 morts per any en els mascles i 0,3763 en les femelles en el primer estany i 0,4564 morts en els mascles i 0,4043 morts per anys per les femelles en el segon estany. En el cas de Tres estanys, però s'obtenen dos valors molt diferents entre els dos sexes, obtenint un valor de 0,5234 en els mascles i 1,2483 en les femelles, segons els valors obtinguts en els altres dos estanys, hi ha una coherència biològica, fa pensar que el valor dels mascles s'adequa més a la realitat que no pas les femelles, les quals tenen un pendent molt abrupte a causa de la manca de dades d'individus superiors a 10 anys, la qual cosa ha fet que el pendent no decreixi lentament fins a edats més superiors. Per la posterior discussió doncs, es farà referència a la mortalitat de Tres Estanys a partir del valor obtingut en els mascles.

## 5. DISCUSSIÓ

### 5.1. Lectura dels otòlits

Pel que fa a les diferències entre les dues lectures comparades en aquest estudi; visualització de l'otòlit sencer i visualització de l'otòlit polit, tal com s'havia suposat a l'inici s'ha acceptat la hipòtesi alternativa, hi ha diferències en la lectura de les dues metodologies, essent més fiable i precisa la nova. En realitzar un polit de l'estructura calcària, s'han apreciat els últims anells de creixement els quals en la visualització directa no es contemplaven, fet que dificultava el

recompte i es tendia a subestimar-ne l'edat. Tot i que la millora en la metodologia ha sigut clara, s'ha de tenir en compte que aquesta també té punts en contra, com la pèrdua d'alguns otòlits per l'excés de polit o la pèrdua d'aquest a causa de la separació per part del cianoacrilat al portaobjectes, fet que provoca la pèrdua de mostres. Tot i això, és evident segons els resultats mostrats en l'apartat 4 de l'estudi, que la millora en la metodologia ha esdevingut un gran punt a favor a l'hora de predir el creixement i la demografia de l'espècie *Phoxinus sp.*

## 5.2. Creixement

A partir dels resultats obtinguts, en l'apartat 4.2, del creixement presentat en les tres poblacions estudiades, se'n poden extreure diverses conclusions.

Primerament s'observa que en les tres poblacions hi ha una manca de mostres d'edats inferiors a 3 anys. Això pot esdevenir per diferents causes; la sobreestimació de l'edat en la lectura de l'otòlit, que realment l'estany presenti un baix nombre d'individus d'aquesta edat, o bé l'opció més possible, que hi ha hagut una baixa captura d'aquests individus a causa de la vida gregària que aquesta espècie presenta sobretot en individus més joves, els quals s'amaguen i són difícils de capturar, junt amb la mida de les cel·les de la reixa que s'usa, la qual és més gran que aquests individus i se'n poden escapar fàcilment. Aquesta manca de dades ha suposat un inici de la corba erroni, ja que se sap que els individus d'un any ja assoleixen uns 30 mm, més del que ens prediu la corba en els tres casos.

També es troba que les poblacions presenten taxes de creixement (K) relativament baixes i longevitats ( $L_{\infty}$ ) elevades, aquestes es poden explicar a partir de l'hàbitat on es localitza l'espècie, el qual és un ambient molt estable, fred i amb un baix contingut de nutrients, fet que comporta una elevada competència intraespecífica, això sumat a la falta de depredadors provoca un estany saturat de *Phoxinus sp.* els quals no poden créixer igual de ràpid que en ambients oberts i amb molts nutrients però els i proporciona les condicions per tal de sobreviure un elevat nombre d'anys. Aquesta competència intraespecífica, també pot ser una explicació de l'esmentada manca de dades d'individus inferiors als 3 anys, ja que pot ser que degut a la falta de nutrients els individus joves els hi costi sobreviure i s'hagin de desplaçar als litorals de l'estany per alimentar-se i ocultar-se.

Finalment, pel que fa a la comparació que es realitza amb els resultats obtinguts a partir d'un estudi anterior (Fernández, A., 2015) en Tres Estanys i la Bassa Nord de Dellui amb la metodologia de visualització de l'otòlit sencer, s'hi observa que la  $L_{\infty}$  és inferior a la dels resultats obtinguts en aquest estudi. Això és degut la subestimació de l'edat que es dona amb l'anterior metodologia, la qual cosa ha comportat una subestimació de la longitud màxima per ambdós sexes. Aquesta errònia estimació de l'edat ha comportat també una sobreestimació de la taxa de creixement (K), presentant un creixement molt més ràpid del que realment pertoca per l'espècie *Phoxinus sp.* estabilitzant la longitud a partir dels 3 anys, quan realment s'ha vist en aquest estudi que poden arribar fins a longituds molt més elevades i edats de fins a 14 anys.

### 5.3. Demografia

En relació a la demografia estudiada a partir de la mortalitat i conseqüentment, la supervivència dels Estanys de Naorte, Tres Estanys i la Bassa Nord de Dellui, s'ha de tenir en compte un factor molt important; el *Phoxinus sp.* és una espècie que no es veu influenciada per la pesca. Aquest factor és rellevant a l'hora de dictar quina és la mortalitat, ja que tenint en compte que la formula a partir de la qual s'obté la Z és,  $Z = M + F$ , on la M és la mort natural dels individus i F la mortalitat a partir de l'activitat pesquera, és pot afirmar que la mort en els 3 estanys és a partir de causes naturals. També s'ha de tenir en compte que el 2014 (any de captura dels individus) encara no s'havia realitzat cap mena d'eliminació o gestió de l'espècie *Phoxinus sp.* en aquests estanys.

Pel que fa la mortalitat doncs, tenint en compte els factors esmentats, té una coherència biològica que en els tres estanys s'obtinguin valors similars (Naorte = 0.3, Tres estanys = 0,5, BN Dellui = 0,4). Aquests valors són relativament baixos, la qual cosa concorda amb les elevades longevitats presentades en l'apartat anterior, les quals es poden associar a l'estabilitat de condicions i factors externs que presenten els estanys dels Pirineus.

## 6. CONCLUSIONS

Finally, after discussing the results obtained on the three populations object of this study, the following conclusions have been obtained:

- The reading with the new methodology of the otoliths of *Phoxinus sp.* Get a more reliable and accurate results than the direct visualisation used until now.
- The methodology of direct visualization of the whole otolith caused a high underestimation of age.
- The *Phoxinus sp.* presents a high longevity and a slow growth rate.
- The mortality of the species in the three lakes studied is relatively low.
- Control and management of the invasive specie *Phoxinus sp.* are needed in order to eliminate it from the lakes of the Pyrenees and recover native species.

## 7. ÈTICA I SOSTENIBILITAT

L'estudi realitzat que forma part del projecte LIFE+ LimnoPirineus, és d'important rellevància per tal de mantenir i conservar els ecosistemes i les espècies autòctones d'alta muntanya dels Pirineus. És per això que realitzar una eliminació de les espècies invasores que s'han introduït en aquests hàbitats i han provocat una alteració i desestabilització de la xarxa tròfica és un procés que afavoreix a la sostenibilitat.

Tot i que es podria considerar que no és ètic provocar la mort dels individus, el projecte ho fa de manera ràpida i el menys dolorosa possible, sempre per afavorir el medi ambient. Així doncs, és pot concloure que aquest projecte promou la sostenibilitat i la ètica.

## 8. BIBLIOGRAFIA

Brufao Curiel, P. (2012). Especies exóticas invasoras y el derecho, con especial referencia a las especies acuáticas, la pesca recreativa y la acuicultura. *Revista catalana de dret Ambiental, Vol III (Núm. 1)*, 1-54. Recuperat de:  
<https://www.raco.cat/index.php/rcda/article/view/322721/413347>

CEAB-CSIC (2015). Centre d'Estudis Avançats de Blanes. LIFE+ LimnoPirineus. Recuperat 25/04/2019 des de <http://www.lifelimnopirineus.eu/ca>

C.H. Duero. Confederación hidrográfica del Duero. (s.d.). *Gestión de la cuenca. Conservación y restauración ambiental. Especies exóticas invasoras en aguas continentales*. Ministerio de Transición Ecológica. Gobierno de España. Recuperat el 02/04/2019 des de:  
<http://www.chduero.es/Inicio/Gesti%C3%B3ndelaCuenca/Conservaci%C3%B3nyrestauraci%C3%B3nambiental/Especiesex%C3%B3ticasinvasorasenaguascontinentales/tabid/604/Default.aspx>

C.H. Ebro. Confederación Hidrográfica del Ebro (2012). *Control del estado de masas de agua (C.E.M.A.S). Informe de situación (2011). Cap. 7. Especies exóticas invasores de aguas continentales*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Gobierno de España. Recuperat de:  
[http://195.55.247.234/webcalidad/cemas/informes/2011\\_cemas/07\\_especies\\_exoticas.pdf](http://195.55.247.234/webcalidad/cemas/informes/2011_cemas/07_especies_exoticas.pdf)

Doadrio, I. (Ed.), (2001). *Atlas y libro rojo de los peces continentales de España*. Madrid: Dirección General de Conservación de la Naturaleza y Museo Nacional de Ciencias Naturales. Recuperat de:  
[https://www.researchgate.net/profile/Ignacio\\_Doadrio/publication/248658934\\_Atlas\\_y\\_Libro\\_Rojo\\_de\\_Los\\_Pesces\\_Continental\\_de\\_Espana/links/5853a3bf08ae95fd8e1d86bc/Atlas-y-Libro-Rojo-de-Los-Pesces-Continental-de-Espana.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ignacio_Doadrio/publication/248658934_Atlas_y_Libro_Rojo_de_Los_Pesces_Continental_de_Espana/links/5853a3bf08ae95fd8e1d86bc/Atlas-y-Libro-Rojo-de-Los-Pesces-Continental-de-Espana.pdf)

Fernàndez, A. (2015). Creixement i demografia de l'espècie invasora *Phoxinus sp.* en estanys d'alta muntanya dels Pirineus. (Treball de fi de Grau, Universitat de Girona, Catalunya).

Fernández Ventura, I., (2016). Creixement i demografia del barb roig ( *Phoxinus phoxinus* ) en estanys d'alta muntanya dels Pirineus. (Treball de fi de Grau, Universitat de Girona, Catalunya).

Hernández García, M., Martínez Pérez, J., Bautista López, T., & Reséndiz Rodríguez, J. (2004). Descripción morfológica de los otolitos de las familias Engraulidae, Haemulidae y Achiridae del sistema estuarino de Tecolutla, Veracruz. *Revista de Zoología*, (15), 7-13. Recuperat de: <http://www.redalyc.org/pdf/498/49801502.pdf>

Holden, M.J., & Raitt, D.F.D. (1975). Determinación de la edad y composición por edades: Obtención de otolitos y escamas. *Manual de ciencia pesquera: Parte 2 – Métodos para investigar los Recursos y su Aplicación*. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. Recuperat el 21/04/2019 des de: <http://www.fao.org/3/f0752s/F0752S00.htm#toc>

Lapedra, A. (2016). Estudi i comparació del creixement i demografia de l'espècie *Phoxinus sp.* En estanys d'alta muntanya del Pirineu i del riu Brugent. (Treball de fi de Grau, Universitat de Girona, Catalunya).

Leunda, P. M., Miranda, R., & Oscoz, J. (2017). Piscardo – *Phoxinus bigerri*. En: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Sanz, J. J., Oliva Paterna, F. J. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. Recuperat de: <http://www.vertebradosibericos.org/peces/phobig.html>

Mascareñas I., Aburto O., & Balart E., (2003), Otolitos de peces de arrecife del Golfo de California, Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, México B.C.S., p. 120

Miró, A., Buchaca, T., & Ventura, M. (2015). LAS ESPECIES INVASORAS EN LOS LAGOS DE ALTA MONTAÑA. Recuperat de: <http://www.lifelimnopirineus.eu/sites/default/files/lifelimnopirineus-boletin01.pdf>

Miró, A. & Ventura, M. (2015). Evidence of exotic trout mediated minnow invasion in Pyrenean high mountain lakes. *Biological invasions*, volume 17 (2), 791-803. Recuperat de: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10530-014-0769-z#citeas>

Morales-Nin, B. (s.d.). Quan l'art ha de deixar pas a la ciència. IMEDEA-CSIC. Recuperat el 23/05/2019 de: [http://www.uib.eu/digitalAssets/127/127896\\_71\\_otolits.pdf](http://www.uib.eu/digitalAssets/127/127896_71_otolits.pdf)

Puigcerver, M. (1998). El barb roig (*Phoxinus phoxinus* L.) un ciprínid introduït als estanys de Malniu (Cerdanya, Pirineu oriental). *Revista de l'Alguer*, 9, 53-66. Recuperat de: <http://revistes.iec.cat/index.php/RdA/article/viewFile/33441/33923>

Sánchez García-Pozuelo, M. (2018). Desarrollo de software de conteo de anillos en otolitos (treball de fi de grau, Escuela técnica superior de ingeniería, Universidad de Sevilla, Andalucía). Recuperat de: <http://bibing.us.es/proyectos/abreproy/5868/fichero/PFC-5868-SANCHEZ.pdf>

Ventura, M., Buchaca, T., Buñav, D., Larsen, T., Pla-Rabes, S., Sebas, I., Vila-Costa, M., & Miró, A., (2016). Efecto de la introducción de peces en la conservación de anfibios y crustáceos de lagos de alta montaña. *Proyectos de investigación en parques nacionales: convocatoria 2011-2014*. Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. (215-230). Recuperat de: [https://www.miteco.gob.es/es/red-parques-nacionales/programa-investigacion/12-efectosintroduccionpeces216-231\\_tcm30-66014.pdf](https://www.miteco.gob.es/es/red-parques-nacionales/programa-investigacion/12-efectosintroduccionpeces216-231_tcm30-66014.pdf)