

## **Efecte del flux d'aigua en el metabolisme del cranc americà (*Procambarus clarkii*) i les seves aplicacions en la gestió i reducció de les poblacions en rius i rieres**

---

Estudiant: Angel Rubio Martínez

Grau en Ciències Ambientals

Correu electrònic: u1940278@campus.udg.edu

Tutor/a: Dra. Anna Vila Gispert

Empresa/institució: Grup de Recerca d'Ecologia Aquàtica Continental (GRECO),  
Institut d'Ecologia Aquàtica (IEA), Universitat de Girona

Vistiplau tutor (i cotutor\*):

Nom del tutor/a: Dra. Anna Vila Gispert

Empresa / institució: GRECO, IEA, Universitat de  
Girona

Correu(s) electrònic(s): anna.vila@udg.edu

\* si hi ha un cotutor assignat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació:

## Índex

Resum .....	3
Resumen .....	4
Abstract .....	5
Introducció .....	6
Objectives.....	8
Material i mètodes.....	9
Protocol experimental.....	9
Caracterització morfològica .....	11
Obtenció de dades .....	12
Anàlisis estadístiques.....	13
Consideracions ètiques de l'estudi.....	13
Resultats.....	14
Variables fisiològiques.....	14
Variables morfològiques.....	17
Relació entre les variables fisiològiques i morfològiques .....	21
Efecte del flux de l'aigua en la taxa metabòlica .....	22
Causes de la variació de les taxes metabòliques .....	23
Discussió .....	25
Conclusions .....	27
Agraïments .....	28
Referències .....	29

## Resum

El cranc de riu americà, *Procambarus clarkii*, és una espècie de la família dels cambàrids que des de la seva introducció s'ha vist incrementada tant la seva distribució com les seves poblacions gràcies al seu gran potencial invasor i l'impacte antropogènic fins a ser catalogat com a espècie invasora per l'administració. Per millorar el coneixement ecològic de *P. clarkii* s'ha estudiat l'efecte de diferents fluxos d'aigua sobre el metabolisme del cranc, concretament la taxa metabòlica estàndard (SMR), la taxa metabòlica màxima (MMR) i la capacitat aeròbica (AS), els trets morfològics que diferencien mascles de femelles i els quals podrien influenciar a les taxes metabòliques i les causes de la variació d'aquestes. La tècnica de captura emprada per l'obtenció dels crancs, fou la trampa de nansa, posteriorment van ser traslladats a l'estabulari i al finalitzar la seva adaptació en aquaris van ser portats al laboratori. Al laboratori es va determinar el consum d'oxigen (SMR, MMR i AS) de forma experimental mitjançant un túnel de natació acoblat a un respiròmetre de flux intermitent. Els trets morfològics es van determinar mitjançant el programa ImageJ que analitzava les imatges captades de cada individu. Els resultats mostren que no hi havia diferències significatives entre mascles i femelles pel que fa a SMR, MMR i AS, i que hi havia relació lineal entre MMR i la longitud i el pes total, per AS només es va obtenir relació lineal amb la longitud total i pel que fa a la SMR no es va trobar cap relació lineal ni amb la longitud ni amb pes total. Respecte a les variables morfològiques es va determinar que les variables per identificar i distingir mascles de femelles són la llargada de la quela dreta, l'abdomen i el pes del sistema digestiu. Pel que fa a la relació entre variables fisiològiques i morfològiques l'estudi no va trobar cap correlació entre elles. L'estudi de l'efecte de diferents fluxos d'aigua en el metabolisme van determinar que la taxa metabòlica es veu incrementada en augmentar la velocitat del flux. Això té implicacions ecològiques molt rellevants per la gestió i reducció de les poblacions de *P. clarkii*, ja que l'augment de la velocitat de l'aigua i la presència de barreres en els nostres rius i rieres poden evitar la dispersió del cranc. Finalment, les principals causes de la variació en la SMR va ser el pes eviscerat (musculatura i exoesquelet) i la longitud total mentre que per MMR va ser el pes total i la longitud total.

## Paraules Claus

*Procambarus clarkii*; Respirometria; Taxa metabòlica estàndard (SMR); Taxa metabòlica màxima (MMR); Capacitat aeròbica (AS); Espècie invasora

## Resumen

El cangrejo de río americano, *Procambarus clarkii*, es una especie de la familia de los cambáridos que desde su introducción se ha visto incrementada su distribución como sus poblaciones gracias a su gran potencial invasor y el impacto antropológico hasta ser catalogado como especie invasora por la administración. Para mejorar el conocimiento ecológico de *P. clarkii* se ha estudiado el efecto de diferentes flujos de agua sobre el metabolismo del cangrejo, concretamente la tasa metabólica estándar (SMR), la tasa metabólica máxima (MMR) y la capacidad aeróbica (AS), los aspectos morfológicos que diferencian machos de hembras y los cuales podrían influenciar en las tasas metabólicas y las causas de la variación de estas. La técnica de captura empleada para la obtención de los cangrejos, fue la trampa de nansa, posteriormente fueron trasladados al estabulario y al finalizar su adaptación en acuarios fueron llevados al laboratorio. En el laboratorio se determinaron el consumo de oxígeno (SMR, MMR y AS) de forma experimental mediante un túnel de natación acoplado a un respirómetro de flujo intermitente. Los aspectos morfológicos se determinaron mediante el programa ImageJ que analizaba las imágenes captadas de cada individuo. Los resultados muestran que no había diferencias significativas entre machos y hembras por lo que respecta a SMR, MMR y AS, y que había relación entre MMR y la longitud y el peso total, respecto a AS nada más se obtuvo relación lineal con la longitud total y para SMR no se obtuvo regresión lineal ni con la longitud ni con el peso total. Respecto a las variables morfológicas se determinó que las variables para identificar y diferenciar machos de hembras son el largo de la pinza derecha, el ancho del abdomen y el peso del sistema digestivo. Por lo que respecta a la relación entre variables fisiológicas y morfológicas el estudio no ha encontrado ninguna correlación entre ellas. El estudio del efecto de los diferentes flujos de agua en el metabolismo determinó que la tasa metabólica se ve incrementada al aumentar la velocidad de flujo. Esto tiene implicaciones ecológicas muy relevantes para la gestión y reducción de las poblaciones de *P. clarkii*, ya que el aumento de la velocidad del agua y la presencia de barreras en nuestros ríos y rieras pueden evitar la dispersión del cangrejo. Finalmente, las principales causas de la variación de la SMR fueron el peso de las vísceras (músculatura y exoesqueleto) y la longitud total mientras que para MMR fue el peso total y la longitud total.

## Palabras claves

*Procambarus clarkii*; Respirometría; Tasa metabólica estándar (SMR); Tasa metabólica máxima (MMR); Capacidad aeróbica (AS); Especie invasora

## Abstract

The red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, is a species of the family of cambàrids. Since its introduction the distribution and the population have increased thanks to the great invasive potential and the anthropogenic impact until being catalogued as an invasive specie by the administration. To improve the ecological knowledge of *P. clarkii* it has been studied the effect of different water flows on crayfish metabolism, specifically the standard metabolic rate (SMR), the maximum metabolic rate (MMR) and the aerobic scope (AS), the morphological traits to differentiate males from females and they could influence metabolic rates and the causes of this. The technique of capture used to obtained the crayfish was fish trap, afterwards they were translated to the aquarium room and after their adaptation in aquariums they were taken to the laboratory. In the laboratory was determinate the oxygen consume (SMR, MMR and AS) in a experimental way through a swimming tunnel coupled to an intermittent-flow respirometre. The morphological traits were determined by ImagineJ program, which analyzed the images taken of each individual. The results has been observed that there were no significant differences between males and females in lineal relation to SMR, MMR and AS, and that there is a relationship between MMR and the total length and the body mass of the crayfish as to AS was only lineal relation to the total length and for SMR was not lineal relation with total length and body mass. Respect to the variance of the morphological traits that determinate the traits to identify and difference males to females are the right cheliped length, the abdomen width and the digestive system weight. In regard, the different morphological traits do not manifest any correlation with the physiological traits. The study of the effect of the different water flows in the metabolism determinate that the metabolism rate is increases when the flow speed increases. This has ecological implications that are relevant for the management and reduction populations of *P. clarkii* because the increase of the water's speed and the presence of barriers in our rivers and streams can avoid crayfish dispersion. Finally, the principal causes of the variation in SMR were the eviscerated weight (musculature and exoskeleton) and the total length and for MMR it was the total weight and the total length.

## Keywords

*Procambarus clarkii*; Respirometry; Standard metabolic rate (SMR); Maximum metabolic rate (MMR); Aerobic scope (AS); Invasive specie

## Introducció

L'àrea de distribució actual d'una espècie és una expressió complexa de la seva capacitat i història evolutiva, la capacitat adaptativa i colonitzadora per mantenir-se i expandir-se a nous hàbitats. Aquestes capacitats estan determinades per diversos factors que treballen amb intensitats diferents i que es poden classificar en tres grans grups: les condicions abiòtiques, com el clima, més concretament en l'actualitat el canvi climàtic i l'entorn físic que imposa límits fisiològics a les espècies; les condicions biòtiques, és a dir, el conjunt d'habilitats de la mateixa espècie i les interaccions amb altres espècies que modifiquen la capacitat de mantenir-se en un hàbitat i; l'activitat antropogènica, com és l'explotació de l'aigua, contaminació directa i la introducció d'espècies invasores (Soberón i Peterson, 2005).

La introducció d'espècies a escala global va en augment i és un dels principals problemes per la biodiversitat, i és considerada la segona causa de destrucció dels hàbitats del nostre planeta (Vedia i Miranda, 2013; Living Planet Report 2018 | WWF 2018; UICN 2018). La meitat de les espècies invasores al nostre territori són peixos i crancs de riu. Aquestes espècies creen problemes en els ecosistemes receptors generant canvis indirectes en l'hàbitat i afectant espècies autòctones per competència o depredació (Maceda-Veiga et al., 2013; Vedia i Miranda, 2013). Un dels majors problemes i amb especial èmfasi en els ecosistemes aquàtics, ja que són més vulnerables pels forts lligams tròfics que s'hi generen (Preston et al., 2012), és l'entrada d'aquestes espècies invasores en la cadena tròfica i depenent del lloc que ocupi l'efecte serà més gran (Vedia i Miranda, 2013; Gallardo et al., 2016).

Aquest estudi se centra en l'estudi del metabolisme i com aquest pot determinar la distribució del *Procambarus clarkii*, espècie invasora, en rius i rieres del nostre territori. El metabolisme consisteix en les reaccions químiques que són fonamentals per al manteniment i la proliferació de la vida (McFeeters et al., 2011). La taxa metabòlica animal és variable i pot estar influenciada per factors endògens, com per exemple la massa corporal i els trets fisiològics i per factors exògens, com la disponibilitat d'oxigen, la llum, la temperatura i la disponibilitat de menjar. Hi ha tres variables metabòliques mesurables; la taxa metabòlica estàndard (SMR), la taxa metabòlica màxima (MMR) i la capacitat aeròbica (AS) que actualment són utilitzades per respondre a aspectes fisiològics i ecològics de les espècies (Rosewarne et al., 2016).

La SMR es defineix com el manteniment mínim o taxa metabòlica en repòs, per tant representa el cost bàsic de la vida i es podria considerar que té una importància ecològica limitada però hi ha situacions excepcionals com períodes d'escassetat d'aliments o hipòxia on un consum reduït d'energia és essencial per la supervivència de l'espècie (Chabot et al., 2016). A l'altre extrem, la MMR proporciona el límit màxim superior del metabolisme aeròbic i representa l'energia total que l'organisme pot utilitzar. AS es mesura com la diferència entre la MMR i la SMR i representa la quantitat total d'energia aeròbica disponible per a l'exigència d'energia en processos com la digestió, la locomoció, el creixement i la reproducció (Rosewarne et al., 2016).

L'espècie en la qual se centra el nostre estudi és el cranc vermell americà (*Procambarus clarkii*) que és un decàpode d'aigua dolça, bentònic, de la família dels cambàrids amb una vida mitjana de 4 anys i una llargada i pes màxim de 14 cm i 76 g, respectivament. En estadis juvenils, la coloració és grisenca i en el màxim de maduresa la coloració és vermella. Al llarg de l'any *P. clarkii* té entre un i dos cicles de reproducció amb postes de fins a 400 ous. La seva alimentació és omnívora que inclou des de plantes, matèria vegetal morta, macroinvertebrats aquàtics, petits crustacis amfibis, peixos i carronya animal. És una espècie endèmica del nord-est de Mèxic i sud-est dels EUA que acostuma a habitar ambient lòtics amb substrats sorrencs on construeixen els seus refugis (Anastácio i Marques, 1993; Dörr et al., 2008; Gherardi, 2007; Maceda-Veiga et al., 2013). Va ser introduït de manera voluntària l'any 1974 al riu Guadalquivir i es va estendre ràpidament per tot el territori (Gutiérrez-Yurrita i Montes, 1999).

El cranc de riu americà té un potencial invasor alt, això fa que la UICN determini que la població de *P. clarkii* estigui en augment (UICN, 2018) i que el Reial Decret RD 630/2013 la catalogui com a espècie invasora (Agricultura i Medio Ambiente, 2013). Aquest potencial invasor recau en aspectes de la seva biologia i millorat per la seva capacitat de dispersió, on s'imposa un comportament nòmada sobre el sedentari, sobretot en entorns uniformes arribant a 3 km de moviment al dia (Gherardi et al., 2000). Mostra característiques d'una estratègia de la *r*, incloent-hi la maduresa primerenca amb tan sols 10 g de pes, creixement ràpid, de fins a 50 g en 3 a 5 mesos (Paglianti i Gherardi, 2004), un gran nombre de descendència i una alimentació generalista i oportunista (Gherardi, 2007). *P. clarkii* és altament tolerant a l'ambient amb una alta adaptabilitat a entorns extrems, com és el cas de la temperatura, on *P. clarkii* és capaç de suportar estressos tèrmics, afavorint que a altes temperatures no requereixi un alt cost energètic pel cranc, permetent que aquesta energia sigui utilitzada pel creixement i la supervivència en contra del cranc de riu autòcton, *Austropotamobius pallipes*, altament dependent de la temperatura (Paglianti i Gherardi, 2004).

El principal perjudicat pel potencial invasor de *P. clarkii* és *A. pallipes* (Maceda-Veiga et al., 2013), única espècie autòctona d'Europa que està veient reduïdes tant les seves poblacions com els seus hàbitats i és per aquest motiu que la UICN la declara com a espècie en perill d'extinció (UICN, 2019). *A. pallipes* en contra del cranc de riu americà no és una espècie oportunista, ni tan veloç i eficaç depredant; a més les preses, com algunes fases larvàries d'amfibis, detecten més de pressa la presència del cranc autòcton i això fa que a la recerca d'aliment sigui superat del cranc invasor (Gherardi et al., 2008). A més, el cranc americà actua com a vector de malalties letals que estan davallant les poblacions del cranc autòcton, com és el cas de l'afanomicosi, produïda pel paràsit obligat *Aphanomyces astaci*, considerada una de les 100 pitjors plagues per la UICN (Gil-Sánchez i Alba-Tercedor, 2002; Gherardi, 2007; Sint et al., 2008; Aquiloni et al., 2011; Benejam et al., 2015)

*A. pallipes* és una espècie clau pels nostres rius i llacs a causa del seu paper ecològic en aquests hàbitats. Ocupen un nínxol únic en els ecosistemes aquàtics sent el

principal component dels nivells intermedis de les xarxes tròfiques. Són al mateix temps consumidors primaris, carnívors primaris i descomponedors, és a dir, són transformadors energètics clau, purifiquen l'aigua, milloren l'heterogeneïtat dels hàbitats i enllacen els ecosistemes aquàtic i terrestre, permeten el flux d'energia entre ells (Taylor i Momot, 1995; Momot et al., 2006; Vedia i Miranda, 2013).

Un estudi recent (Kerby et al., 2005) ha posat en manifest mètodes per controlar la dispersió de *P. clarkii* en els rius i rieres i d'aquesta manera potenciar la recuperació i fer més efectiva les repoblacions de *A. pallipes*. Mesurant amb tests de respirometria es pot obtenir el rang de consum d'oxigen a diferents fluxos d'aigua, en concret els elevats, que poden determinar quina velocitat de l'aigua evita la seva dispersió. Així crear mesures de gestió adients que incrementin el flux d'aigua i així evitar o reduir la dispersió del cranc de riu americà com la recuperació de la hidrologia natural i la millora i creació de barreres naturals i artificials.

### **Objectives**

The objectives of this study have been to determine the effect of several water flows on the metabolism of red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, and to analyze the relationship between metabolic and morphological traits. In addition, we have analyzed which variables could explain the variation in metabolic traits.



## Material i mètodes

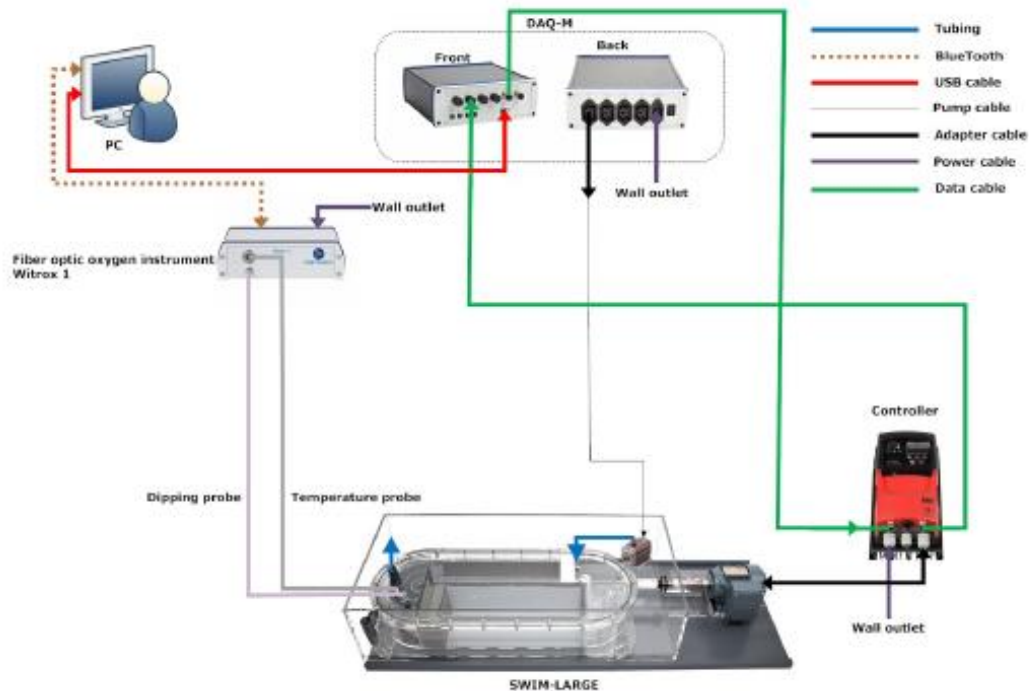
### *Protocol experimental*

Els crancs de riu americans (*Procambarus clarkii*) van ser recol·lectats mitjançant trampes de nansa durant l'octubre de 2018 en rius i rieres de la província de Girona. Els punts de mostreig van ser al riu Manol a Avinyonet de Puigventós (E(X): 492290.2 m - N (Y): 4677183.3 m), la riera de Santa Maria a Caldes de Malavella (E(X): 483183.6 m - N (Y): 4631954.8 m) i la riera de Riudevila a Riudellots de la Selva (E(X): 484419.9 m - N(Y): 4638087.9 m). Els individus capturats van ser transportats a l'estabulari del Grup de Recerca d'Ecologia Aquàtica Continental de la Universitat de Girona per realitzar la corresponent biometria i, posteriorment, van ser col·locats en 14 aquaris d'entre 30 i 60 litres, amb un substrat de grava i roca, un tub de PVC com a refugi, oxigenador, agitador i filtre per aquari, en unes condicions ambientals de  $18 \pm 1$  °C de temperatura. El nombre màxim de crancs per aquari era de 4, excepte els individus de mida petita (<1 cm), per evitar episodis d'agressivitat entre crancs per competència i d'estrès per manca d'espai.

L'alimentació diària es va realitzar mitjançant larves de mosquit (*Bloodworms de OceanNutrition*) que els proporcionaven els nutrients necessaris per al seu metabolisme. Els individus recentment capturats no s'alimentaven durant les primeres 24 hores. Els crancs que estaven en procés de muda eren transferits a un aquari on no s'alimentaven durant 3 dies. Els individus que havien de realitzar els testos de respirometria no s'alimentaven durant les 24 hores prèvies a l'experiment.

Els tests de respirometria, es van realitzar mitjançant un respiròmetre amb tecnologia LoligoSystems®. El respiròmetre consisteix en un tanc de 20 litres de volum amb una obertura pel disc rotor de l'hèlix i amb un túnel de natació al seu interior de 5 litres de volum. Aquest túnel consta de diferents obertures; la placa d'entrada i sortida per l'organisme, la de l'hèlix, la de la sonda d'oxigen, la d'entrada d'aigua mitjançant una bomba i la sortida d'aigua.

Tot el sistema està controlat informàticament des d'un PC. El PC està connectat mitjançant un cable USB a l'aparell DAQ-M, que controla les diferents velocitats i l'entrada d'aigua a la cambra automàticament. L'altre aparell del sistema és el Witrox 1 connectat al PC mitjançant Bluetooth, que controla les sondes d'oxigen i temperatura i enregistra les mesures d'oxigen i temperatura durant l'experiment (Figura 1).



**Figura 1.** Sistema automatitzat i informatitzat del respiròmetre, el túnel de natació, el PC, el DAQ-M, el motor, el Witrox 1 connectat a les sondes d'oxigen i temperatura i la bomba d'aigua i tots els connectors per cable i sense fils. Font: User Manual AutoResp™ de Loligo Systems®

Cada setmana les sondes d'oxigen i temperatura s'havien de calibrar amb dues solucions conegudes. Per calibrar el màxim d'oxigen (*LockHI*) es col·locaven les dues sondes en un recipient amb aigua del respiròmetre amb l'oxigenador fins que arribava al 100 % de saturació d'oxigen. Pel que fa al valor mínim d'oxigen (*LockLO*), les dues sondes es col·locaven en un tub de centrifugadora (*Falcon*) amb una solució de sulfat de sodi ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  de molaritat 0.141) fins que la concentració d'oxigen arribava a 0 %.

Per tenir en compte el consum d'oxigen microbià del respiròmetre (*background oxygen consumption*) es realitzava un blanc. Aquest procés es portava a terme sense cap individu i es realitzava abans dels tests de velocitats i després de la mesura de la taxa metabòlica estàndard (SMR).

Prèviament als tests amb les diferents velocitats, el cranc era traslladat de l'estabulari al respiròmetre. Aquest procés produeix un estrès a l'individu, pel que es procedia a aclimatar el cranc durant 1 hora dins el túnel de natació a una velocitat de flux de 0 cm/s perquè recuperes els nivells de consum d'oxigen en repòs.

Un cop finalitzada l'aclimatació es procedia a realitzar els tests de consum d'oxigen a diferents velocitats del flux d'aigua. Es mesurava el consum d'oxigen per part de l'individu en el tub de natació amb velocitat de flux de 0 cm/s durant 20 minuts, posteriorment hi havia un període de 2 minuts amb la bomba d'aigua i la clau de pas del sistema d'entrada del túnel de natació oberta per recircular l'aigua i arribar a nivells d'oxigen inicials. Posteriorment, es procedia a incrementar la velocitat del flux d'aigua mitjançant un controlador manual de velocitats i s'apagava la bomba d'aigua per

eliminar la recirculació i així estabilitzar els nivells d'oxigen. Aquest procés es realitzava amb diferents velocitats 10, 25, 35 i 50 cm/s. Aquestes velocitats van ser seleccionades perquè representen el rang de velocitats del flux d'aigua que hi ha present en els rius i rieres de la Mediterrània i que els crancs poden resistir (Buffagni et al., 2010).

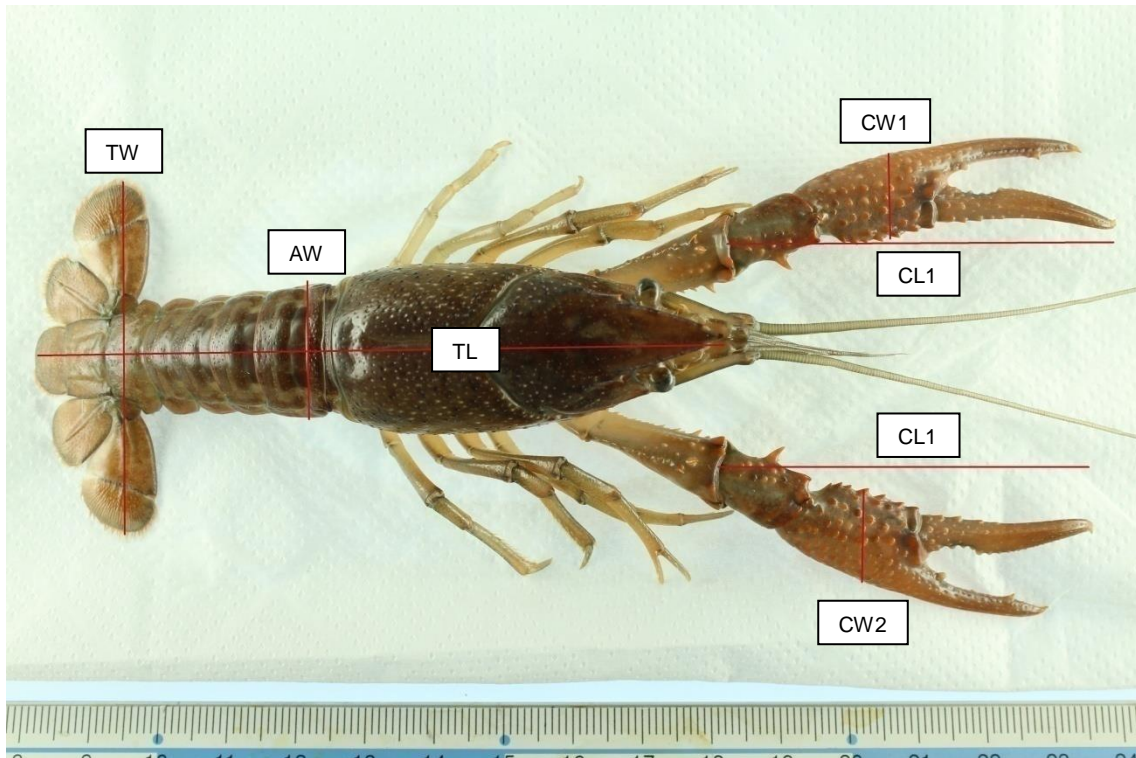
Després de la realització de les mesures de consum d'oxigen amb tots els fluxos d'aigua es deixava en repòs l'individu durant tota la nit dintre del tub de natació, perquè arribés al seu estat metabòlic basal. L'endemà es realitzava una mesura del consum d'oxigen durant 30 minuts per obtenir la taxa metabòlica estàndard (SMR).

Finalment, un cop obtinguda la mesura de SMR es procedia a sacrificar els crancs en una solució d'oli de clau que actuava com una sobredosi d'anestèsia (Gardner, 1997).

### ***Caracterització morfològica***

Els crancs sacrificats es pesaven, per obtenir la massa corporal (BM) i es prenen fotografies que mitjançant el programa *ImageJ* ens permetia mesurar diferents trets morfològics.

Els trets morfològics que es van determinar van ser: la longitud total (TL), de la punta del rostre a l'extrem del telson; l'amplada màxima de cada una de les dues queles (CW1 i CW2); la longitud màxima des del carp fins al final de cada una de les dues queles (CL1 i CL2); l'amplada màxima de l'abdomen (AW) i l'amplada màxima del telson (TW) (Figura 2). Seguidament, el cranc era traspasat a una proveta amb un volum conegut i es mesurava el desplaçament de l'aigua per determinar el volum de l'individu. Finalment, el cranc era disseccionat amb una incisió a la part superior de la carcassa, amb bisturí, des del final del tòrax (perèon) fins a l'inici del cap (cèfalon) on es dividia el tall per separar en dos l'exoesquelet del tòrax. Un cop realitzat el tall es procedia a l'extracció i pesatge de les brànquies (GW) i dels òrgans més importants del sistema digestiu (DW), l'estómac i glàndules digestives.



**Figura 2.** Esquematzació dels diferents trets morfològics mesurats: longitud total (TL), amplada de les dues queles (CW1 i CW2), longitud de les dues queles (CL1 i CL2), amplada de abdomen (AW) i amplada del tèlson (TW). Font: Angel Rubio Martínez

### Obtenció de dades

Els tests de respirometria es van dur a terme amb un total de 25 individus (14 femelles i 11 mascles).

La taxa metabòlica ( $\text{mg O}_2/\text{h}$ ) per cada individu en els diferents fluxos i l'estàndard (x) es va determinar:

$$MR_x = (MO_2 - background) \times V \times 60$$

On  $MO_2$  representa el consum d'oxigen del cranc, extret de la regressió lineal entre la concentració d'oxigen dissolt en l'aigua i el temps, el background representa el consum d'oxigen microbià del respiròmetre, el V representa el volum del túnel de natació menys el volum que ocupa el cranc dins del túnel i el 60 representa la conversió d'hores a minuts.

La taxa metabòlica màxima (MMR) es va determinar com la taxa màxima de consum d'oxigen entre els diferents fluxos. Cal tenir en compte, que la MMR no sempre es trobava en la màxima velocitat de flux però es considerava com a MMR, ja que és on l'organisme havia patit un estrès fisiològic més elevat.

Finalment, es va determinar la capacitat aeròbica de cada individu (AS):

$$AS = MMR - SMR$$

### **Anàlisis estadístiques**

Primerament, es varen realitzar regressions lineals entre les variables dependents (SMR, MMR i AS) i les covariables (BM i TL). Si hi havia regressió, es procedia a realitzar una anàlisi de la covariància (ANCOVA) i si no n'hi havia, es realitzava una anàlisi de la variància (ANOVA) per determinar si hi havia diferències significatives entre sexes.

Seguidament es varen realitzar diversos test d'ANOVA per determinar si hi havia diferències morfològiques entre sexes. Es varen utilitzar les ràtios dels trets morfològics respecte a la TL per tal d'eliminar l'efecte de les diferents mides dels crancs: l'amplada de les dues queles (CW1 i CW2); la longitud de les dues queles (CL1 i CL2); l'amplada de l'abdomen (AW), l'amplada del telson (TW). En el cas del pes de les brànquies (GW) i el pes del sistema digestiu (DSW) es va eliminar l'efecte de les diferències de pes entre els individus dividint aquestes variables pel BM dels individus.

Per tal de determinar les possibles relacions entre els trets morfològics dels crancs i el metabolisme es va realitzar una anàlisi de correlació de Pearson.

A fi i efecte de comprovar si hi havia diferències en el consum d'oxigen de mascles i femelles en els diferents fluxos d'aigua es va realitzar una anàlisi de la covariància (ANCOVA).

Finalment, es va realitzar una anàlisi jerarquizada de partició de la variància (HP) per determinar quin percentatge de la variància de les variables fisiològiques (SMR, MMR i AS) explicaven de forma independent els diferents predictors com ara la TL, el BM, el pes de les brànquies, el pes del sistema digestiu i el pes eviscerat.

Totes les variables, excepte les ràtios morfològiques, es varen transformar logarítmicament ( $\log_{10}$ ) a fi i efecte de què es complissin els supòsits de normalitat i homoscedasticitat. Totes les anàlisis estadístiques es varen realitzar amb el paquet estadístic R (R Core Team 2018).

### **Consideracions ètiques de l'estudi**

En matèria d'ètica de l'estudi, tots els procediments descrits en aquest treball; la captura, el manteniment i els tests de natació han respectat tots els codis ètics d'experimentació científica amb animals i no ha suposat cap dany als organismes més enllà de l'estrès associat amb la manipulació.

El manteniment dels crancs al llarg de l'experiment ha sigut el més semblant a les condicions del seu hàbitat natural i han sigut periòdicament alimentats.

El seu sacrifici ha intentat ser sempre el més ràpid i indolor possible, respectant el RD 630/2013 Catálogo español de especies invasoras que obliga a sacrificar els organismes d'espècies invasores (Agricultura i Medio Ambiente, 2013) i amb els

permisos adients de captura, transport i experimentació de la Generalitat de Catalunya.

En matèria de sostenibilitat de l'estudi, l'experiment ha requerit un consum d'aigua, energia i material fungible moderat. S'ha intentat sempre reduir i reutilitzar els recursos en la mesura del possible, evitant consums excessius i innecessaris i el malbaratament de recursos.

## Resultats

### *Variables fisiològiques*

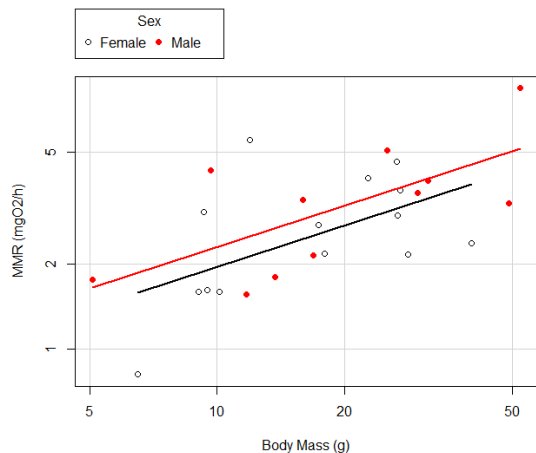
La variable SMR no presentava regressió lineal ni amb el BM ni el TL dels individus ( $P > 0.05$ ), per tant es va procedir a realitzar una ANOVA per determinar si hi havia diferències entre sexes.

Els resultats de l'ANOVA van determinar que no hi havia diferències significatives pel SMR entre mascles i femelles del *Procambarus clarkii* (Taula 1).

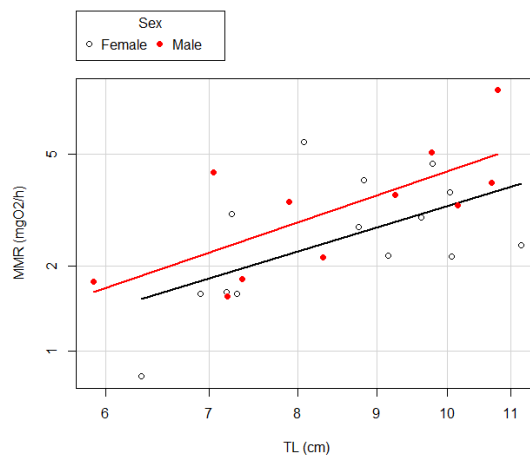
**Taula 1.** Resultats de l'ANCOVA per la taxa metabòlica estàndard (SMR) en funció de la TL i el BM per mascles i femelles de *Procambarus clarkii*.

Analysis of Variance for SMR					
Response: SMR					
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	<i>P</i>
Sex	1	0.0029	0.00293	0.034	0.855
Residuals	23	1.9702	0.08566		

Les variables MMR i AS presentaven regressió lineal (Figures 3, 4, 5 i 6) tant amb el BM com amb la TL dels individus ( $P < 0.05$ ), per tant, es va procedir a realitzar ANCOVAs per determinar si hi havia diferències entre sexes per aquestes dues variables utilitzant com a covariables la TL i el BM.



**Figura 3.** Regressió lineal entre MMR i BM per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

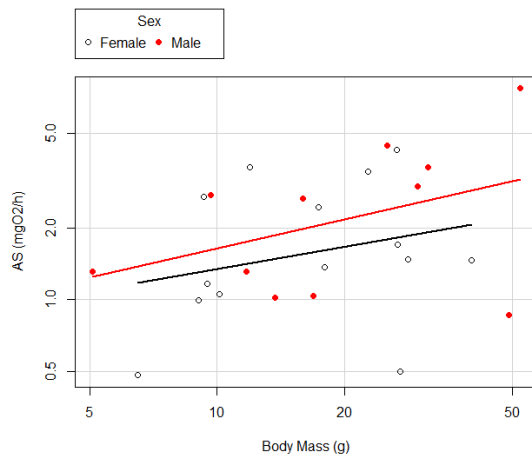


**Figura 4.** Regressió lineal entre MMR i TL per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

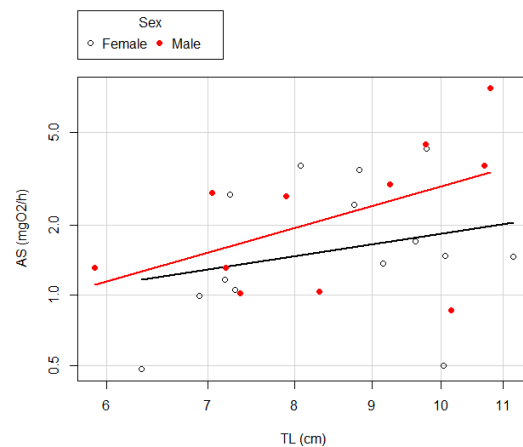
Els resultats de les ANCOVAs van determinar que no hi havia diferències significatives pel MMR en funció de la TL i el BM entre mascles i femelles de *Procambarus clarkii* (Taula 2).

**Taula 2.** Resultats de l'ANCOVA per la taxa metabòlica màxima (MMR) en funció de la TL i el BM per mascles i femelles de *Procambarus clarkii*.

Analysis of Variance for MMR				
Response: MMR				
	Df	Sum Sq	F value	P
log10 (BM)	1	0.41161	12.3733	0.0019**
Sex	1	0.02916	0.8765	0.35932
Residuals	22	0.73185		
log10 (TL)	1	18.451	9.247	0.0059**
Sex	1	4.061	2.0352	0.167731
Residuals	22	43.899		



**Figura 5.** Regressió lineal entre AS i BM per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.



**Figura 6.** Regressió lineal entre AS i BM per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

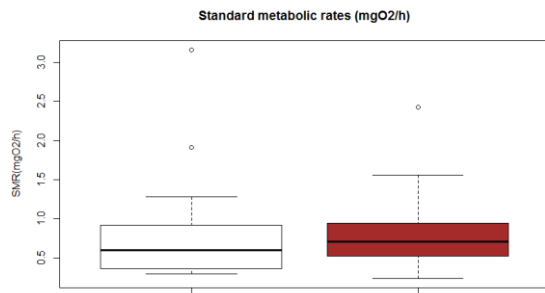
Els resultats de les ANCOVAs van determinar que no hi havia diferències significatives per AS en funció de la TL i el BM entre mascles i femelles de *Procambarus clarkii* (Taula 3).

**Taula 3.** Resultats de l'ANCOVA per la capacitat aeròbica (AS) en funció de la TL i el BM per a mascles i femelles de *Procambarus clarkii*.

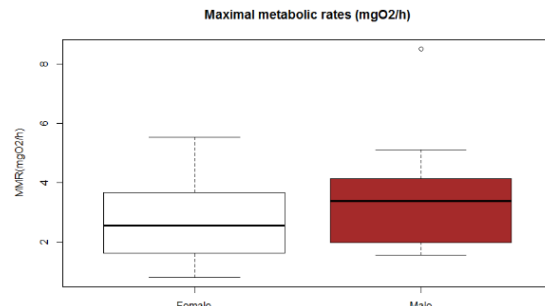
Analysis of Variance for AS				
Response: AS				
	Df	Sum Sq	F value	P
log10 (BM)	1	0.22841	2.6942	0.1149
Sex	1	0.07516	0.8865	0.3567
Residuals	22			
log10 (TL)	1	10.932	4.765	0.04*
Sex	1	4.097	1.7859	0.1951
Residuals	22			

A les gràfiques de les mitjanes de SMR, MMR i AS de mascles i femelles es pot observar que els mascles consumeixen lleugerament més oxigen que les femelles (Figures 7, 8 i 9) però les diferències entre sexes no són significatives (Taulas 1, 2 i 3).

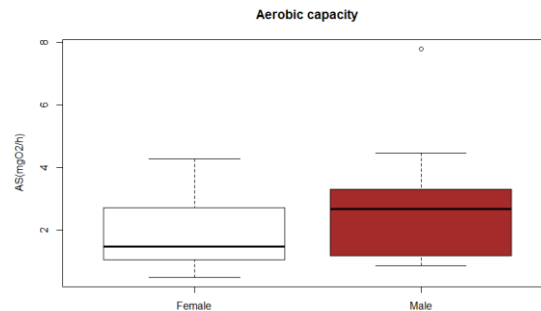




**Figura 7.** Diagrama de caixes amb les mitjanes i errors estàndard de SMR per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.



**Figura 8.** Diagrama de caixes amb les mitjanes i errors estàndard de MMR per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.



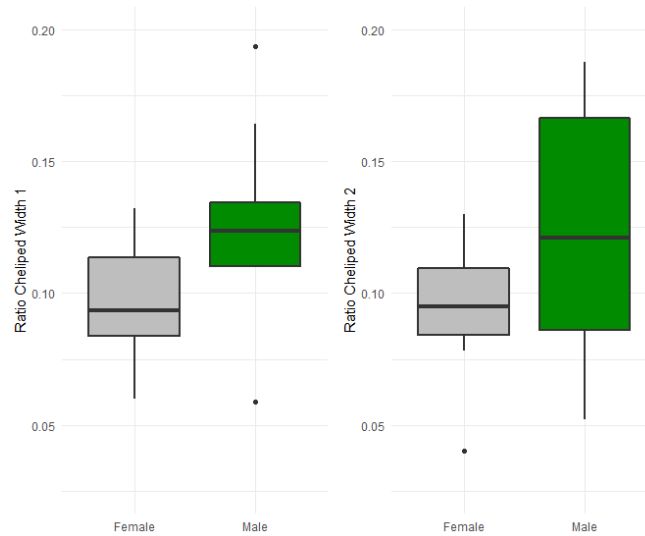
**Figura 3.** Diagrama de caixes amb les mitjanes i errors estàndard de AS per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

### Variables morfològiques

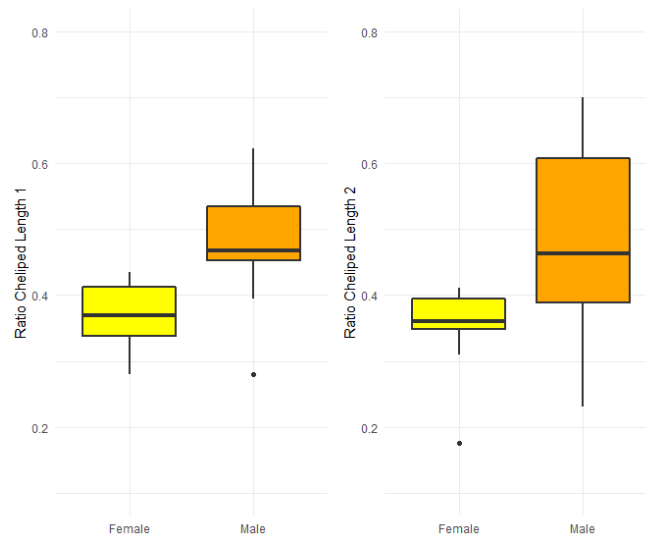
Els resultats de les ANOVAs (Taula 4) respecte a les queles, van determinar que no hi havia diferències entre sexes pel que fa a l'amplada de les queles (Figura 10) i la llargada de la quela esquerra (Figura 11), excepte en el cas de la quela dreta que és lleugerament més llarga en els mascles (Figura 11).

**Taula 4.** Resultats de l'ANOVA per a les ràtios de llargada i amplada de les queles (CL i CW) respecte mascles i femelles de *Procambarus clarkii*.

	Ratio CL1 (dreta)				Ratio CL2 (esquerra)			
	Sum Sq	Df	F value	P	Sum Sq	Df	F value	P
Sex	0.009	1	7.733	0.014 *	0.04345	1	3.704	0.0735
Residuals	0.17971	15			0.17598	15		
	Ratio CW1 (dreta)				Ratio CW2 (esquerra)			
	Sum Sq	Df	F value	P	Sum Sq	Df	F value	P
Sex	0.003977	1	3.636	0.0759	0.00025	1	0.049	0.828
Residuals	0.016409	15			0.07561	15		



**Figura 4.** Diagrama de caixes de les ràtios per l'amplada de la quela dreta 1 (esquerra) i de la quela esquerra 2 (dreta) per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

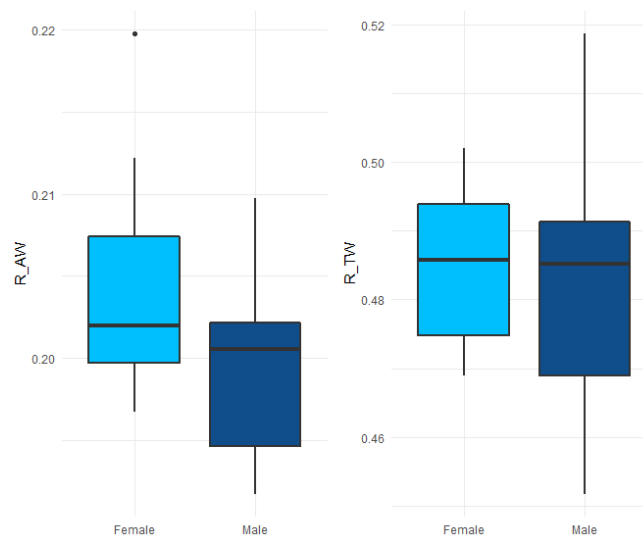


**Figura 5.** Diagrama de caixes de les ràtios per la llargada de la quela dreta 1 (esquerra) i de la quela esquerra 2 (dreta) per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

Pel que fa a l'amplada de l'abdomen (AW) i el telson (TW), els resultats de les ANOVAs (Taula 5) mostraven com per AW hi havia diferències significatives entre mascles i femelles però aquestes diferències no eren significatives per TW (Figura 12).

**Taula 5.** Resultats de les ANOVAs per a l'amplada de l'abdomen (AW) i tèlson (TW) respecte mascles i femelles de *Procambarus clarkii*.

	Ratio AW				Ratio TW			
	Sum Sq	Df	F value	P	Sum Sq	Df	F value	P
Sex	0.00017	1	4.793	0.0448 *	0.000001	1	0.002	0.963
Residuals	0.00055	15			0.00433	15		

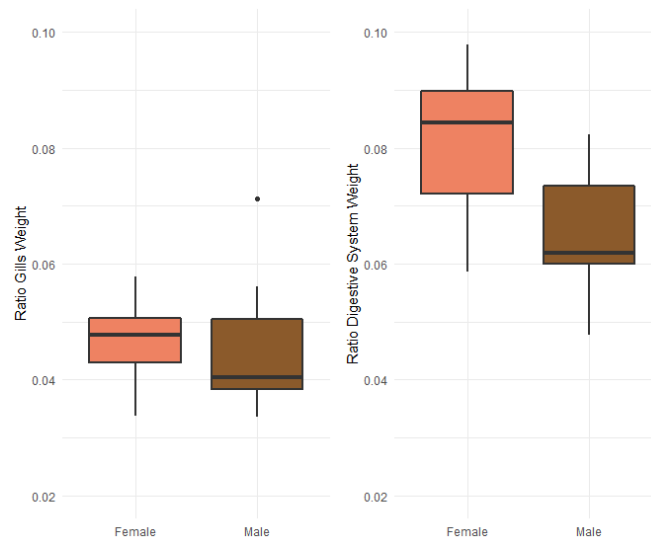


**Figura 6.** Diagrama de caixes de l'amplada del abdomen (esquerra) i del tèlson (dreta) per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

Finalment, pel pes de les brànquies (GW) i de l'aparell digestiu (DSW), els resultats de les ANOVAs (Taula 6) indicaven que no hi havia diferències significatives entre sexes pel que fa a GW, però sí per DSW. A la representació gràfica es pot observar com les femelles tenen un pes més elevat del DSW que els mascles però només lleugerament més elevat en el cas de les GW (Figura 13).

**Taula 6.** Resultats de les ANOVAs pel pes de les brànquies (GW) i de l'aparell digestiu (DSW) respecte mascles i femelles de *Procambarus clarkii*.

	Ratio GW				Ratio DSW			
	Sum Sq	Df	F value	P	Sum Sq	Df	F value	P
Sex	0.00004	1	0.819	0.38	0.00092	1	5.438	0.034 *
Residuals	0.00083	15			0.00255	15		



**Figura 7.** Diagrama de caixes del pes de les brànquies (esquerra) i del sistema digestiu (dreta) per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

### **Relació entre les variables fisiològiques i morfològiques**

Els resultats de les correlacions entre les variables fisiològiques i morfològiques indiquen que no hi ha correlació lineal entre les diferents variables. Tot i això, sí que hi havia una correlació lineal elevada entre les variables fisiològiques, com per exemple entre la MMR i AS ( $r = 0.91$ ), i entre les variables morfològiques, en concret R\_CW1 i R\_CL1 ( $r = 0.84$ ) (Taula 7).

**Taula 7.** Resultats de les correlacions lineals de Pearson entre les variables morfològiques i les variables fisiològiques amb p-valors significatius ( $P < 0.05$ ) per a l'espècie *Procambarus clarkii*: taxa metabòlica estàndard (SMR), taxa metabòlica màxima (MMR), capacitat aeròbica (AS), ràtio de l'amplada de la quela dreta (R\_CW1), ràtio de la llargada de la quela dreta (R\_CL1), ràtio de la llargada de la quela esquerra (R\_CL2), ràtio de l'amplada del telson (R\_TW), ràtio del pes de les brànquies (R\_GW) i ràtio del pes del sistema digestiu (R\_DSW). Valors propers a 1 indiquen elevada correlació positiva, per contra els valors propers a -1 indiquen elevada correlació negativa. Valors propers a 0 indiquen baixa correlació. Els p-valors s'indiquen sota la r de Pearson.

	SMR	MMR	AS	R_CW1	R_CL1	R_CL2
AS		0.91 $3.59 \times 10^{-10}$				
R_CL1				0.84 $2.09 \times 10^{-6}$		
R_CL2				0.72 $1.04 \times 10^{-6}$	0.68 $2.41 \times 10^{-3}$	
R_TW	-0.4 $4.79 \times 10^{-2}$	-0.44 $2.62 \times 10^{-2}$				
R_GW	0.43 $3.04 \times 10^{-2}$					
R_DSW				-0.48 $2.81 \times 10^{-2}$	-0.51 $1.85 \times 10^{-2}$	-0.49 $2.93 \times 10^{-2}$

### **Efecte del flux de l'aigua en la taxa metabòlica**

Pel que fa a l'efecte dels diferents fluxos de l'aigua sobre les taxes metabòliques de l'espècie *Procambarus clarkii*, es va observar que com més elevat és el flux d'aigua més consum d'oxigen i, per tant, una taxa metabòlica més elevada (Taula 8). Per contra, l'efecte del flux de l'aigua en mascles i femelles no presenta diferències significatives (Taula 8).

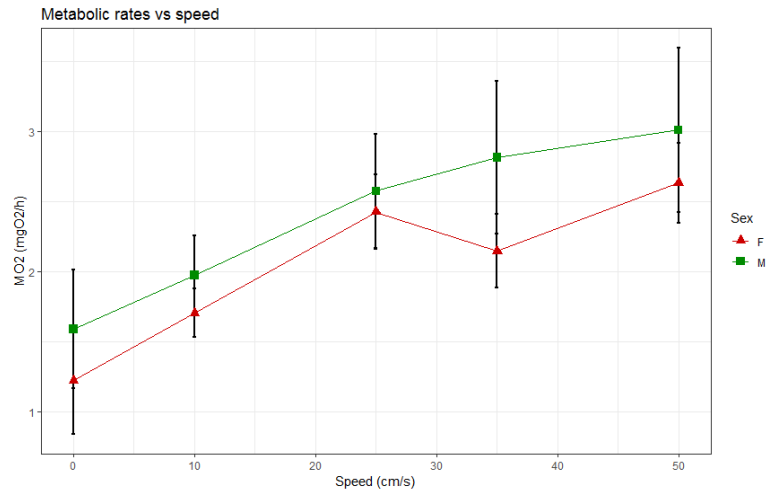
**Taula 8.** Resultats de l'ANOVA de la taxa metabòlica respecte als diferents fluxos d'aigua i el sexe per l'espècie *Procambarus clarkii*.

Analysis of Variance for MO <sub>2</sub>				
	Sum Sq	Df	T value	P
Flow	0.0082	1	4.697	6.67*10 <sup>-6**</sup>
Sex	0.0889	1	1.202	0.232
Flow*Sex	-0.0014	1	-0.567	0.571
Residuals	23.26	129		

La tendència en les mitjanes de les taxes metabòliques pels diferents fluxos d'aigua tant per mascles com per femelles es poden observar a la Taula 9 i a la Figura 14, on es veu que els mascles tenen tendències de consum d'oxigen lleugerament elevades respecte a les femelles.

**Taula 9.** Taxes metabòliques mitjanes mesurades en els diferents fluxos per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

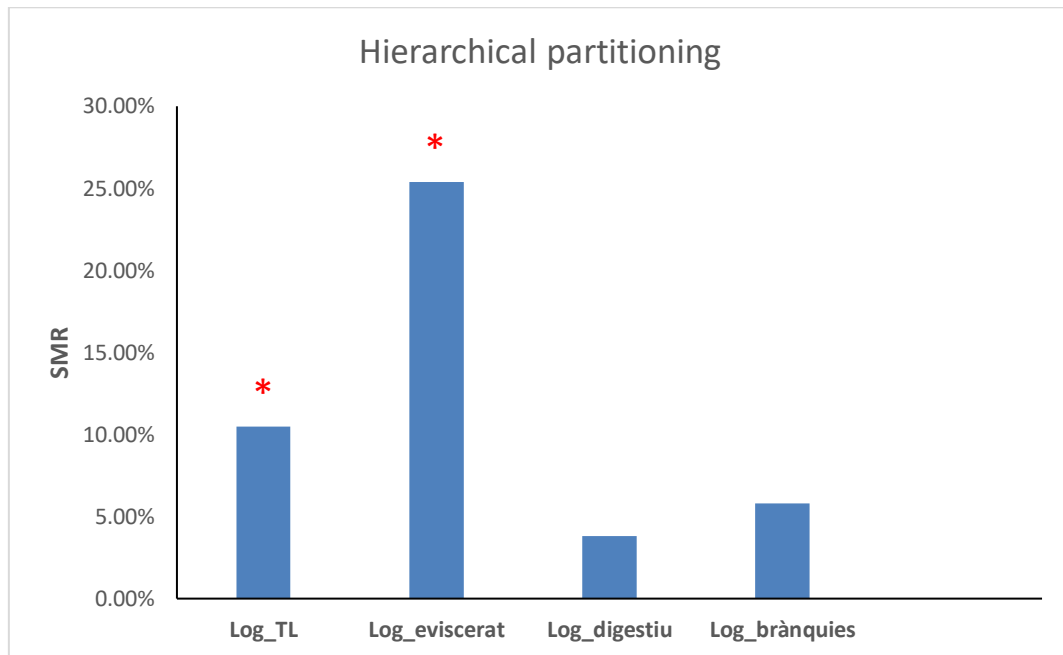
Sex	Flow (cm/s)	MO2 (mean)
Male	0	1.589
	10	1.974
	25	2.574
	35	2.813
	50	3.001
Female	0	1.222
	10	1.703
	25	2.424
	35	2.146
	50	2.479



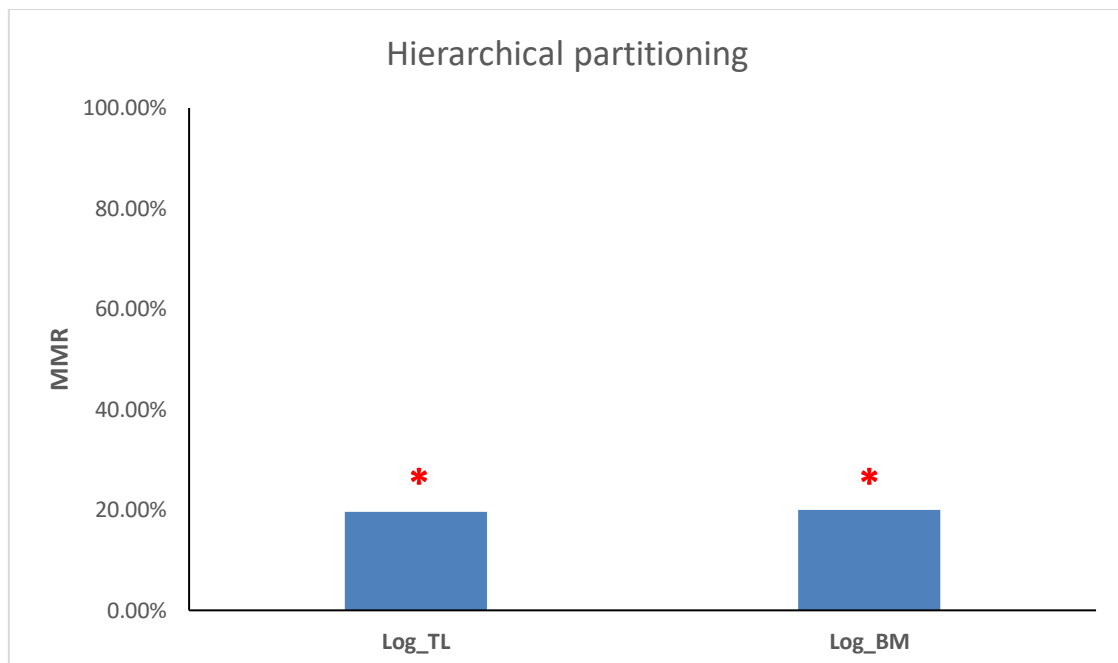
**Figura 8.** Mitjanes i errors estàndard de les taxes metabòliques mesurades en els diferents fluxos per a mascles i femelles de l'espècie *Procambarus clarkii*.

### ***Causes de la variació de les taxes metabòliques***

La contribució de la talla (TL) i pes (BM) dels individus i del pes de les brànquies, del sistema digestiu i del pes eviscerat en explicar la variació de les variables fisiològiques (SMR, MMR i AS) es va analitzar mitjançant una anàlisi jerarquizada de partició de la variància. El pes eviscerat i la TL explicaven significativament una part important de la variació de SMR (25.4%,  $P < 0.05$ ; 10.5%,  $P > 0.05$ , respectivament) (Figura 15), mentre que la contribució individual de la TL (19.6%) i del BM (20%) resultaven significatives ( $P < 0.05$ ) a l'hora de predir el MMR (Figura 16). Contràriament, el percentatge individual de variació explicada pels diferents predictors no va resultar significativa ( $P > 0.05$ ) per AS.



**Figura 9.** Histograma del Hierarchical partitioning de SMR per les variables TL, pes eviscerat, pes del sistema digestiu i pes de les brànquies. Les barres amb un asterisc representen que el percentatge d'explicació de la variància del SMR és significatiu.



**Figura 10.** Histograma del Hierarchical partitioning de MMR per les variables TL i BM. Les barres amb un asterisc representen que el percentatge d'explicació de la variància del MMR és significatiu.



## Discussió

Pel que fa a la relació lineal de les variables fisiològiques (SMR, MMR i AS) amb el pes i la longitud total dels individus, no s'ha trobat relació amb SMR, mentre que s'ha observat una relació lineal positiva entre el MMR i la capacitat aeròbica i la longitud total, mentre que només MMR ha presentat una relació lineal amb el pes dels individus. Això és degut al fet que la longitud i el pes són factors que afecten el consum d'oxigen tal com s'ha observat en altres estudis previs (Gutiérrez-Yurrita i Montes 1998; Gutiérrez-Yurrita i Montes 1999).

No s'han trobat diferències significatives ni pel SMR, MMR i AS entre mascles i femelles. Per SMR els valors de consum d'oxigen eren molt semblants entre sexes, mentre que pel que fa a MMR i AS, els mascles presentaven valors més elevats que les femelles, tot i que les diferències no eren significatives. En estudis previs, contràriament als nostres resultats, si es van observar diferències sexuals significatives que es varen atribuir al fet que els mascles són més actius perquè han de cercar i competir amb altres mascles per les femelles i han de defensar el seu territori mitjançant contactes físics directes (Wilson et al., 2009).

En relació a les variables morfològiques estudiades, els trets que permetien diferenciar més fàcilment els mascles de les femelles eren les queles, tal com es va observar en altres estudis (Mariappan i Balasundaram, 2004; Sint et al., 2008; Wilson et al., 2009; Chybowski, 2014). Els mascles tenien, en general, queles més grans, sent la llargada la que presentava més diferències. Això es pot explicar pel fet que els mascles resolen la majoria de les disputes territorials i d'aparellament amb un contacte físic directe, de manera que una grandària superior de les queles implica certs avantatges que assegurin el domini sobre altres mascles i, per tant, representa un bon predictor d'aparellament (Dörr et al., 2008; Wilson et al., 2009). D'altra banda, també es va observar que les femelles tenien una amplada de l'abdomen i pes digestiu superior als mascles, tal com també es va descriure en altres estudis (Sint et al., 2008) i això es pot deure al fet que l'abdomen de les femelles és l'espai on s'ubiquen les postes d'ous i a major amplada de l'abdomen, major nombre d'ous per posta (Oluoch, 1990; Ando i Makioka, 1998).

Quant a la relació entre variables fisiològiques i morfològiques en aquest estudi no s'ha observat que hi hagi relació entre elles com s'ha descrit en altres grups taxonòmics com ara els peixos on la relació entre la morfologia i el metabolisme és fonamental per a l'adaptació de les espècies (Lauder, 1996; Donovan i Carefoot, 1997). La morfologia corporal determina la despesa energètica durant la natació en el cas dels peixos (Pettersson i Hedenström, 2000; Hölker i Breckling, 2002; Ohlberger et al., 2006; Ohlberger et al., 2005), però en el cas dels crancs les variables morfològiques mesurades en aquest estudi no ens han permès observar aquesta relació.

Sobre l'efecte del flux sobre el cranc de riu americà, s'ha determinat que a major velocitat del flux d'aigua hi ha un increment significatiu de la taxa metabòlica. Això es pot explicar pel fet que *P. clarkii* sol viure en trams baixos de rius, rierols i embassaments on generalment el flux d'aigua és baix, ja que evolutivament la seva

estratègia ha sigut reduir el consum d'energia per ser utilitzada per augmentar el seu creixement i la seva supervivència (Plagianti et al., 2004). Les taxes metabòliques en els diferents fluxos no presentaven diferències significatives entre mascles i femelles, encara que el consum d'oxigen dels mascles ha sigut lleugerament més elevat a causa de l'activitat més gran que presenten tal com s'ha mencionat anteriorment.

Aquests resultats tenen importants implicacions ecològiques i en matèria de conservació. Com determinen altres estudis, l'augment de la taxa metabòlica de *P. clarkii* quan augmenta el flux d'aigua és un aspecte clau per la contenció i reducció de les poblacions del cranc, ja que la seva eliminació és molt difícil (Acosta i Perry, 2001; Light, 2003; Kerby et al., 2005). Aquests estudis permeten suggerir propostes de gestió per tal d'evitar la dispersió d'aquesta espècie invasora com ara la recuperació i millora de les barreres naturals, la construcció de barreres artificials amb superfícies llises que dificultin el pas dels crancs i la recuperació de la hidrologia natural de rius i rieres. Els hàbitats envaïts per aquesta espècie solen ser aigües avall on s'origina la invasió, ja que barreres de velocitat d'aigua i alçada redueixen considerablement el seu moviment (Kerby et al., 2005).

Finalment, els resultats obtinguts per determinar les causes de la variació de les taxes metabòliques han determinat que les variables que explicarien la major part de la variació del SMR són el pes eviscerat (pes sense els òrgans interns) i el TL. Això implicaria que el metabolisme basal o de manteniment depèn en gran mesura de la longitud del cranc i del pes d'estructures metabòlicament menys actives com ara l'exoesquelet i la musculatura resultats idèntics que la carpa (*Cyprinus carpio*) on la musculatura va representar el cost energètic més gran (Goolish i Adelman, 2009). Contràriament als nostres resultats, hi ha estudis amb altres grups taxonòmics que van determinar que el pes dels òrgans digestius és la variable que contribueix més a SMR, fins a un 20% del total (Peterson et al., 1990; Rolfe i Brown, 1997), no trobar correlació en l'estudi entre SMR i el pes dels òrgans és a causa del fet que el pes representa un tant per cent baixos sobre el pes total (Norin i Malte, 2012). Pel que fa a MMR, les variables que expliquen la major part de la variació són el pes total i la longitud de l'individu. Això implicaria que la capacitat metabòlica màxima dependria de la longitud i del pes total de l'individu que inclou tots els òrgans que intervenen en la digestió, la locomoció, el creixement i la reproducció (Rosewarne et al., 2016). En altres espècies s'ha determinat que com més grans són els òrgans interns, més elevada és la capacitat metabòlica màxima (Burton et al., 2011). El percentatge de variació del SMR i MMR no explicada pot ser deguda a factors que no s'han tingut en compte en el nostre estudi com per exemple la temperatura que és el tercer factor amb més influència en la taxa metabòlica dels crancs (Gutiérrez-Yurrita i Montes, 1998; Plagianti et al., 2004).

## Conclusions

The results obtained in this study determinate the effect of the different water flows in the metabolic rates of *Procambarus clarkii* and the ecological implications that the results have, given that:

- Standard metabolic rate (SMR), maximum metabolic rate (MMR) and aerobic scope (AS) was not significantly different between males and females.
- Standard metabolic rate (SMR) was not correlated with the body mass and the total length of crayfish, aerobic scope (AS) was correlated only with total length and maximum metabolic rate (MMR) was correlated with the body mass and the total length.
- Metabolic rates increase relation to water flow, males tend to have higher consumption than females.
- The greatest variation in the standard metabolic rate (SMR) was explained by the weight of the exoskeleton, musculature and total length. For the maximum metabolic rate (MMR), the body mass and the total length of the individuals was explained the greatest variation.
- Right cheliped length, abdomen width and digestive system weight are the morphological traits which vary more between males and females, therefore, they are the most reliable traits to differentiate between sexes.

## **Agraïments**

Vull agrair a totes les persones que han ajudat i participat en l'hora de realitzar aquest estudi per la seva implicació i col·laboració, sense la qual, el resultat no hagués estat possible.

A,

Dra. Anna Vila Gispert, com a tutora, per la seva confiança, seguiment, dedicació, persistència i sobretot ajuda acadèmica durant la realització d'aquest treball.

Bernat Martí Alsina per la seva gran empenya inicial en el projecte amb la captura de cranc, preparació del laboratori i l'obtenció d'una part de les dades i sense ell no hauria començat amb tan bon port la feina al laboratori ni les anàlisis estadístics.

Cristina Galobart per la seva ajuda durant hores al laboratori i durant dies de pesca entre converses que em van donar molt bones idees pel treball.

A totes les persones que no han estat esmentades però que m'han fet costat i aguantat durant aquest temps.

A tots,

Moltes gràcies.

## Referències

- Acosta, Charles A., i Sue A. Perry. 2001. «Impact of hydropattern disturbance on crayfish population dynamics in the seasonal wetlands of Everglades National Park, USA». *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 11(1): 45-57.
- Agricultura, Ministerio DE, i Alimentación Y Medio Ambiente. 2013. *Disposición 8565 del BOE núm. 185 de 2013*.
- Anastácio, P.M., i J.C. Marques. 1993. «Crayfish (*Procambarus clarkii*) condition Throughout the year in the lower Mondego river valley, Portugal.» 6(2): 103.
- Ando, Hitoshi, i Toshiki Makioka. 1998. «Structure of the Ovary and Mode of Oogenesis in a Freshwater Crayfish , *Procambarus clarkii* ( Girard )». 901: 893-901.
- Aquiloni, L., M. P. Martín, F. Gherardi, i J. Diéguez-Urbeondo. 2011. «The North American crayfish *Procambarus clarkii* is the carrier of the oomycete *Aphanomyces astaci* in Italy». *Biological Invasions* 13(2): 359-67.
- Benejam, Lluís et al. 2015. «Could electric fish barriers help to manage native populations of European crayfish threatened by crayfish plague (*Aphanomyces astaci*)?» *Management of Biological Invasions* 6(3): 307-10.
- Buffagni, Andrea, Æ Stefania Erba, i Æ David G Armanini. 2010. «The lentic – lotic character of Mediterranean rivers and its importance to aquatic invertebrate communities». : 45-60.
- Burton, T., S. S. Killen, J. D. Armstrong, i N. B. Metcalfe. 2011. «What causes intraspecific variation in resting metabolic rate and what are its ecological consequences?» *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 278(1724): 3465-73.
- Chabot, D., J. F. Steffensen, i A. P. Farrell. 2016. «The determination of standard metabolic rate in fishes». *Journal of Fish Biology* 88(1): 81-121.
- Chybowski, Lucjan. 2014. «Morphometric differentiation in four populations of signal crayfish, *Pacifastacus leniusculus* (Dana), in Poland». *Archives of Polish Fisheries* 22(3): 229-33.
- Donovan, i Carefoot. 1997. «Locomotion in the abalone *Haliotis kamtschatkana*: pedal morphology and cost of transport». *The Journal of experimental biology* 200(Pt 7): 1145-53. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9318976>.
- Dörr, A. J.M., G. La Porta, G. Pedecillo, i M. Lorenzoni. 2008. «Biology of *Procambarus Clarkii* (Girard, 1852) in Lake Trasimeno». *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* (380-381): 1155-68.
- Gallardo, Belinda, Miguel Clavero, Marta I. Sánchez, i Montserrat Vilà. 2016. «Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems». *Global Change Biology* 22(1): 151-63.
- Gardner, Caleb. 1997. «Options for humanely immobilising and killing crabs». *Shellfish Research* 16(January): 219-24.

- Gherardi, F., B. Renai, i C. Corti. 2008. «Crayfish Predation on Tadpoles: a Comparison Between a Native (*Austropotamobius Pallipes*) and an Alien Species (*Procambarus Clarkii*).» *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* (361): 659-68.
- Gherardi, Francesca. 2007. «Marine and Freshwater Behaviour and Physiology Crayfish invading Europe: the case study of *Procambarus clarkii* Crayfish invading Europe: the case study». (April 2013): 37-41.
- Gherardi, Francesca, Silvia Barbaresi, i Gabriele Salvi. 2000. «Spatial and temporal patterns in the movement of *Procambarus clarkii*, an invasive crayfish». 62: 179-93.
- Gil-Sánchez, José M., i Javier Alba-Tercedor. 2002. «Ecology of the native and introduced crayfishes *Austropotamobius pallipes* and *Procambarus clarkii* in southern Spain and implications for conservation of the native species». *Biological Conservation* 105(1): 75-80.
- Goolish, Edward M., i Ira R. Adelman. 2009. «Tissue-specific allometry of an aerobic respiratory enzyme in a large and a small species of cyprinid (Teleostei)». *Canadian Journal of Zoology* 66(10): 2199-2208.
- Gutiérrez-Yurrita, Pedro J., i Carlos Montes. 1999. «Bioenergetics and phenology of reproduction of the introduced red swamp crayfish, *Procambarus clarkii*, in Donana National Park, Spain, and implications for species management». *Freshwater Biology* 42(3): 561-74.
- Hölker, F., i B. Breckling. 2002. «Influence of activity in a heterogeneous environment on the dynamics of fish growth: An individual-based model of roach». *Journal of Fish Biology* 60(5): 1170-89.
- Joaquín Gutiérrez-Yurrita, Pedro, i Carlos Montes. 1998. «Environmental factors controlling crayfish *Procambarus clarkii* activity in the Donana National Park freshwater marsh (SW-Spain)». *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology* 120(4): 713-21.
- Kerby, Jacob L, Seth P D Riley, Lee B Kats, i Paul Wilson. 2005. «Barriers and flow as limiting factors in the spread of an invasive crayfish (*Procambarus clarkii*) in southern California streams». 126: 402-9.
- Lauder, G. V. 1996. *The argument from design. In Adaptation.* ed. M. R. Rose i G. V. Lauder. San Diego, CA: Academic Press.
- Light, Theo. 2003. «Success and failure in a lotic crayfish invasion: The roles of hydrologic variability and habitat alteration». *Freshwater Biology* 48(10): 1886-97.
- «Living Planet Report 2018 | WWF». 2018. [https://wwf.panda.org/knowledge\\_hub/all\\_publications/living\\_planet\\_report\\_2018/](https://wwf.panda.org/knowledge_hub/all_publications/living_planet_report_2018/) (15 maig 2019).
- Maceda-Veiga, A., A. De Sostoa, i S. Sánchez-Espada. 2013. «Factors affecting the establishment of the invasive crayfish *Procambarus clarkii* (Crustacea, Decapoda) in the Mediterranean rivers of the northeastern Iberian Peninsula». *Hydrobiologia* 703(1): 33-45.

- Mariappan, Pitchaimuthu, i Chellam Balasundaram. 2004. «Studies on the morphometry of *Macrobrachium nobilii* (Decapoda, Palaemonidae)». *Brazilian Archives of Biology and Technology* 47(3): 441-49.
- McFeeters, Bryan J. et al. 2011. «Intraspecific mass-scaling of field metabolic rates of a freshwater crayfish varies with stream land cover». *Ecosphere* 2(2): 1-10.
- Momot, Walter T., Howard Gowing, i Patricia D. Jones. 2006. «The Dynamics of Crayfish and Their Role in Ecosystems». *American Midland Naturalist* 99(1): 10.
- Norin, Tommy, i Hans Malte. 2012. «Intraspecific Variation in Aerobic Metabolic Rate of Fish: Relations with Organ Size and Enzyme Activity in Brown Trout». *Physiological and Biochemical Zoology* 85(6): 645-56.
- Ohlberger, J., G. Staaks, i F. Hölker. 2006. «Swimming efficiency and the influence of morphology on swimming costs in fishes». *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 176(1): 17-25.
- Ohlberger, Jan, Georg Staaks, Peter L.M. Van Dijk, i Franz Hölker. 2005. «Modelling energetic costs of fish swimming». *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology* 303(8): 657-64.
- Oluoch, A. 1990. «Breeding biology of the Louisiana red swamp crayfish *Procambarus clarkii* Girard in Lake Naivasha , Kenya». : 85-92.
- Paglianti, Annalisa, i Francesca Gherardi. 2004. «Combined effects of temperature and diet on growth and survival of young-of-year crayfish: a comparison between indigenous and invasive species». *Journal of Crustacean Biology* 24(1): 140-48. <http://booksandjournals.brillonline.com/content/10.1651/c-2374>.
- Peterson, C. C., K. A. Nagy, i J. Diamond. 1990. «Sustained metabolic scope.» *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87(6): 2324-28.
- Pettersson, Lars B., i Anders Hedenström. 2000. «Energetics, cost reduction and functional consequences of fish morphology». *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 267(1445): 759-64.
- Paglianti, A., G. Messana, i F. Gherardi. 2004. «Oxygen consumption at different temperatures in yoy Crayfish: A comparison between indigenous and invasive species». 14: 147-52.
- Preston, Daniel L, Jeremy S Henderson, i Pieter T J Johnson. 2012. «Community ecology of invasions: direct and indirect effects of multiple invasive species on aquatic communities.» *Ecology* 93(6): 1254-61. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22834365>.
- Rolfe, D. F. S., i G. C. Brown. 1997. «Cellular Energy Utilization of Standard Metabolic and Molecular Origin Rate in Mammals». *Physiological Review* 77(3): 732-53.
- Rosewarne, P J, J M Wilson, i J C Svendsen. 2016. «Measuring maximum and standard metabolic rates using intermittent-flow respirometry : a student laboratory investigation of aerobic metabolic scope and environmental hypoxia in aquatic breathers». : 265-83.
- Sint, D., J. Dalla Via, i L. Füreder. 2008. «Morphological Variations in *Astacus Astacus*

- L. and Austropotamobius Pallipes (Lereboullet) Populations». *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* (376-377): 637-52.
- Soberón, J., i A. Townsend Peterson. 2005. «Soberon Interpretation of Models 2005.Pdf». *Biodiversity Informatics* 2: 1-10.
- Taylor, Publisher, i Walter T Momot. 1995. 3 Reviews in Fisheries Science *Reviews in Fisheries Science Redefining the role of crayfish in aquatic ecosystems Redefining the Role of Crayfish in Aquatic Ecosystems*.
- UICN. 2018. «Procambarus clarkii. The IUCN Red List of Threatened Species 2010». <https://www.iucnredlist.org/es/species/153877/4557336> (9 maig 2019).
- UICN. 2019. «Austropotamobius pallipes (White-clawed Crayfish)». <https://www.iucnredlist.org/species/2430/9438817> (14 maig 2019).
- Vedia, Iván, i Rafael Miranda. 2013. «Review of the state of knowledge of crayfish species in the Iberian Peninsula». *Limnetica* 32: 269-86.
- Wilson, R. S., R. S. James, C. Bywater, i F. Seebacher. 2009. «Costs and benefits of increased weapon size differ between sexes of the slender crayfish, *Cherax dispar*». *Journal of Experimental Biology* 212(6): 853-58.