



**Efecte de l'ambient en la plasticitat fenotípica de la gambúsia
(*Gambusia holbrooki*)**

Estudiant: Mar Bo Castellà

Correu electrònic: marudg17@gmail.com

Grau en Ciències Ambientals

Tutor: Emili Garcia Berthou

Cotutor : Carles Alcaraz

Empresa/Institució: Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentària (IRTA)

Vistiplau del tutor (i cotutor, si escau):

Emili Garcia

emili.garcia@udg.edu

Carles Alcaraz

carles.alcaraz@irta.cat

Data de dipòsit de la memòria a secretaria de coordinació: 21/2/2023

AGRAÏMENTS

Abans de res m'agradaria començar donant gràcies a tota aquella gent que ha estat en mi al llarg d'aquest projecte. Primer de tot, a Carles, sense ell no hauria sigut possible realitzar aquest treball. Vaig començar prou atemorida d'estar amb un autèntic analista de dades, però amb el temps m'ha fet veure que l'estadística és molt més que molts conceptes que d'un primer moment no s'entenen i l'ecologia és tot un món extens on endinsar-te t'obre la porta possiblement a un altre univers. Llegint la tesi del Carles, entenc de qui li va venir el de corregir i només veure bolígraf vermell. Emili no et sentis al·ludit. Gràcies a tu també per fer possible aquest vincle entre universitat i l'empresa col·laboradora, que en aquest cas és l'IRTA.

Un cop donades les gràcies als que han fet possible realitzar aquest treball amb tots els trets, passar a donar gràcies al gran equip de treball de l'IRTA, que ha estat en mi en tot moment. Als tècnics de camp, per acompanyar-me tants dies com he necessitat a mostrejar, a les tècniques de laboratori per estar allí cada cop que alguna cosa no funcionava com esperava, a tota aquella gent que dia si i dia també m'han donat ànims amb un; ja queda menys. Gràcies a tot el meu vincle de l'IRTA on m'han fet sentir una més, amb ganes, il·lusió i empatia.

I bé a moments d'ara, quan la meva família o amics em pregunten de què va el TFG encara em quedo pensat d'uns peixets molt petits, però que durant aquests cinc mesos no he tingut prou per començar a saber una mínima part d'ells. Gràcies a tots vosaltres també, per aguantar hores i hores parlant d'una base de dades que no li trobava sentit, un codi que no esperava que arribes i un TFG que pareixia no acabar mai.

Segurament, em deixo molta gent per donar-li gràcies i moltes coses durant aquesta experiència per mencionar, però a moments d'ara cinc mesos enrere tornaria a dir que si al mateix treball, al mateix tutor i a la possibilitat d'aprendre més i més sobre ecologia. He tingut molta sort, de veritat!

ÍNDEX

RESUM.....	4
RESUMEN.....	5
ABSTRACT	6
1. INTRODUCCIÓ	7
2. OBJECTIVES	11
3. MATERIALS I MÈTODES.....	12
3.1. Àrea d'estudi.....	12
3.2. Mètodes de mostreig	13
3.3. Procés al laboratori.....	14
3.4. Anàlisi de la morfometria i estadística de les dades.	15
4. RESULTATS.....	17
4.1. Anàlisi de condició.	17
4.2. Anàlisi de morfometria (contorn).....	20
4.3. Anàlisi de simetria bilateral.....	24
5. DISCUSSIÓ	26
6. CONCLUSIONS	28
REFLEXIÓ SOBRE ÈTICA.....	29
REFLEXIÓ SOBRE PERSPECTIVA DE GÈNERE	29
REFLEXIÓ SOBRE SOSTENIBILITAT	30
BIBLIOGRAFIA	31

RESUM

Les espècies exòtiques suposen una greu amenaça per a la conservació de les espècies natives i dels ecosistemes naturals; i constitueixen un dels principals components del canvi global. D'especial atenció és la gambúsia (*Gambusia holbrooki*), considerada com una de les 100 pitjors espècies invasores a tot el món. A la Península Ibèrica va ser introduïda pel control biològic de postes i larves de mosquit (i.e. per lluitar contra la malària) a l'any 1921. Una de les característiques que segurament explica el gran èxit invasor de la gambúsia és la seva plasticitat fenotípica, ja que li permet ampliar el nínxol ecològic, sobretot després d'un procés de migració, colonització o pertorbació. Tot i això, hi ha molt pocs estudis que se centrin en la plasticitat fenotípica o morfometria en el context de les invasions biològiques, i la informació que es té sobre la gambúsia és pràcticament nul·la. Per aquest motiu, aquest treball té com a objectiu estudiar els canvis morfològics o plasticitat fenotípica de la gambúsia en dos ambients amb condicions ambientals diferents. Els individus es van capturar fent servir diferents tècniques de captura (gànguils i el salabre), es van fotografiar i es van analitzar amb l'ajuda del software TPS i R. L'anàlisi de la condició va mostrar diferències significatives entre els dos llocs de captura, amb un augment de la condició a Riet Vell (bassa) tant per mascles com femelles. A més, es van observar canvis morfològics, amb relació al lloc de captura. Els canvis principals es van localitzar a la zona del tronc del peduncle caudal i la boca. Els individus capturats al riu van presentar una major proporció de la zona caudal, mentre que els capturats a Riet Vell van presentar una boca en posició més súpera. Aquests canvis es poden explicar per les diferències en la hidrologia i disponibilitat de preses que presenten els dos ambients.

RESUMEN

Las especies exóticas suponen una grave amenaza para la conservación de las especies nativas y de los ecosistemas naturales; y constituyen una de las principales componentes del cambio global. De especial atención es la gambusia (*Gambusia holbrooki*), considerada como una de las 100 peores especies invasoras en todo el mundo. A la Península Ibérica estuvo introducida para el control biológico de puestas y larvas de mosquito (i.e. por la lucha contra la malaria) el año 1921. Una de las características que seguramente explica el gran éxito invasor de la gambusia es su plasticidad fenotípica, ya que permite ampliar el nicho ecológico, sobre todo después de un proceso de migración, colonización o perturbación. Aun así, hay muy pocos estudios que se centren en la plasticidad fenotípica o morfometría en el contexto de las invasiones biológicas, y la información que se tiene sobre la gambusia es prácticamente nula. Por este motivo, este trabajo tiene como objetivo estudiar los cambios morfológicos o plasticidad fenotípica de la gambusia en dos ambientes en condiciones ambientales diferentes. Los individuos se capturaron haciendo servir diferentes técnicas de captura (ganglios y “salabre”), se hicieron fotografías y se analizaron a partir del software TPS y R. El análisis de condición mostró diferencias significativas entre los dos sitios de captura. Los cambios principales se localizaron a la zona del tronco del pedúnculo caudal y la boca. Los individuos capturados en el río presentaron una mayor proporción de la zona caudal, mientras que los capturados en Riet Vell, presentaron una boca en posición más supra. Estos cambios se pueden explicar por las diferencias en la hidrología y disponibilidad de las presas que presentan los dos ambientes.

ABSTRACT

Exotic species pose a serious threat to the conservation of native species and natural ecosystems; they are one of the main components of global change. Of special attention is the mosquitofish (*Gambusia holbrooki*), considered as one of the 100 worst invasive species worldwide. It was introduced to the Iberian Peninsula for biological control of mosquito larvae (i.e. to fight against malaria) in 1921. One of the characteristics that surely explains the great invasive success of the mosquitofish is its phenotypic plasticity, since it allows the ecological niche to expand, especially after a process of migration, colonization or disturbance. However, there are very few studies that focus on phenotypic plasticity or morphometry in the context of biological invasions, and the information available on shrimp is practically nil. For this reason, the aim of this work is to study the morphological changes or phenotypic plasticity of the shrimp in two different environmental conditions. The individuals were captured using different capture techniques (ganglins and the “salabre”), photographed and analyzed with the help of TPS and R software. The condition analysis showed significant differences between the two capture sites, with an increase in condition in Riet Vell (pond) for both males and females. In addition, morphological changes were observed in relation to the place of capture. The main changes were located in the area of the trunk of the caudal peduncle and mouth. The individuals captured in the river showed a greater proportion of the caudal area, while those captured in Riet Vell showed a mouth in a higher position. These changes can be explained by the differences in hydrology and availability of prey in the two environments.

1. INTRODUCCIÓ

Les espècies exòtiques suposen una greu amenaça per a la conservació de les espècies natives i dels ecosistemes naturals, i constitueixen un dels principals components del canvi global (Lodge 1993; Vitousek et al. 1997; Mack et al. 2000; Sala et al. 2000; Brooks et al. 2004). L'homogeneïtzació biòtica deguda a la introducció d'espècies invasores i la consegüent extinció d'espècies autòctones, és una de les principals amenaces per a la biodiversitat i el correcte funcionament dels ecosistemes, sobretot els d'aigua dolça (Mack et al. 2000; Holway i Suárez 2006; Marchetti et al., 2006). Recentment, les activitats humanes han accelerat la propagació intencionada i accidental d'espècies a través de les seves barreres naturals de dispersió (Alcaraz et al. 2005; Gido et al. 2004); és per això, que degut als seus efectes perjudicials sobre els processos dels ecosistemes i els greus impactes econòmics que se'n generen, les espècies invasores suposen una preocupació creixent.

Durant el procés d'invasió es poden distingir tres etapes principals: (1) la introducció intencionada o no intencionada a la natura d'una espècie a una regió més enllà de la seva àrea de distribució nativa; (2) l'establiment de poblacions reproductores autosostenibles; i (3) el creixement i la propagació de la població cap a noves zones dins de la nova àrea de distribució (Richardson et al. 2000; Kolar i Lodge 2001). Al definir la transició d'una espècie exòtica a invasora, és millor no fer-ho considerant els seus impactes ecològics o socioeconòmics (Richardson et al. 2000; Kolar i Lodge 2002). Els impactes de les espècies invasores poden ser molt amplis i variats, i afectar a diferents nivells. A escala poblacional, els impactes poden ser directes, per exemple la depredació o el desplaçament d'espècies natives per exclusió competitiva o competència pels recursos; indirectes, com ara la transmissió de noves malalties o patògens; o genètics, causant hibridacions o introgressions genètiques (Lodge 1993; Mack et al. 2000; Sala et al. 2000). A escala d'ecosistema, aquests impactes provoquen canvis en la composició i tipus (grups funcionals) d'espècies, afectant tant l'estructura com els processos dels ecosistemes (Vitousek 1994; Brooks et al. 2004). L'impacte causat per les espècies invasores no té tan sols conseqüències a escala ecològica, sinó que també les té sobre l'economia, la societat i la salut pública (Soulé 1992; Pimentel et al. 2005; Kettunen et al. 2008). Per exemple, la introducció del mosquit tigre a moltes parts del món, a causa del comerç de

pneumàtics usats, ha fet que es reportin casos de febre groga en noves zones on la malaltia no havia estat mai reportada prèviament, ja que el mosquit fa de vector de transmissió d'aquesta malaltia. Alguns exemples recents d'impactes sobre activitats econòmiques els trobem en l'arribada del cranc blau (*Callinectes sapidus*) i el cargol poma (*Pomacea maculata*). A banda dels impactes que tenen sobre el medi, el cranc blau té un efecte directe sobre el sector pesquer, l'elevada depredació que presenta sobre moltes espècies de marisc ha provocat que molts mariscadors hagin hagut de deixar de pescar o canviar les seves espècies objectiu. Per altra banda, el caragol poma s'alimenta de la planta d'arròs afectant la collita i provocant pèrdues econòmiques a l'agricultor.

Els ecosistemes d'aigua dolça són especialment sensibles a rebre espècies invasores, en gran part degut a l'alteració i degradació que pateixen. Segons dades de la FAO (Organització de les Nacions Unides per a l'Agricultura i l'Alimentació), les deu espècies més introduïdes arreu del món són totes peixos d'aigua dolça. D'entre aquestes, una en destaca especialment, la gambúsia (*Gambusia holbrooki*), que tot i que tan sols és nativa de l'est dels Estats Units, ha estat introduïda a més de 50 països arreu del món com a agent de control de mosquits, és probablement el peix d'aigua dolça més àmpliament distribuït a escala mundial, i se la considera com una de les 100 pitjors espècies invasores a tot el món. A la Península Ibèrica, la gambúsia va ser introduïda pel control biològic de postes i larves de mosquit (i.e. per lluitar contra la malària) a l'any 1921. Des de llavors, ha anat envaint gran part de les zones baixes i d'aigua dolça o salobres de Catalunya fins a fer-se possiblement l'espècie invasora més estesa del nostre país. La gambúsia es caracteritza per presentar un aspecte fusiforme, de mida petita, els mascles no superen els 4 cm de longitud i les femelles rarament superen els 6 cm. La boca és súpera, els ulls són molt grans i la coloració és variable, generalment presenten tons grisos que camuflen colors blaus. Les seves aletes són translúcides amb files transversals de punts negres. Les aletes són rodones, amb l'aleta dorsal situada en posició lleugerament endarrerida respecte a l'aleta anal. Presenta dimorfisme sexual, caracteritzat sobretot, pel fet que els mascles presenten una aleta anal modificada per crear un òrgan copulador anomenat gonopodi (Fig. 1). El peduncle caudal és bastant gran i l'aleta caudal és gran i no presenta furca. La reproducció és interna, el que li dona un gran avantatge competitiu davant d'altres espècies.

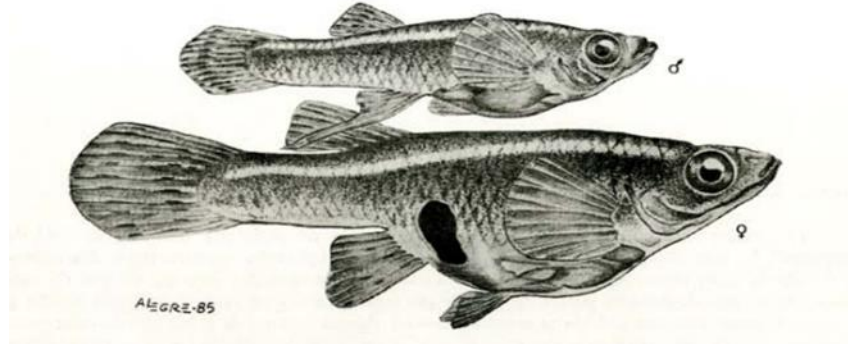


Figura 1. Aspecte de la *Gambusia holbrooki* dependent del sexe. (Font: Domínguez, J., Pena, J.C. (n.d))

La gambúsia viu en aigües lentes, poc profundes i amb molta vegetació, tant dolces com salobres. Tot i que s'alimenta principalment de zooplàncton, també pot consumir insectes, invertebrats, algues, rotífers i inclús peixos o larves d'amfibi. La dieta mostra variació ontogenètica i estacional. La variació ontogenètica ve marcada sobretot per la mida de les preses, en créixer les gambúsies depreden sobre preses de mida més gran i incorporen a la dieta altres preses que no estan disponibles per a les gambúsies més petites. Estacional ja que per exemple a l'estiu abunda més el consum d'insectes (Rodríguez-Jiménez, 1989).

Respecte a la interacció amb altres espècies, les més perjudicades a causa de la competència tròfica i per l'espai, són sobretot les tres espècies de ciprinodòntids nadius de la Península Ibèrica: *Aphanius iberus*, *Aphanius baeticus* i *Valencia hispanica*. Diversos estudis han demostrat efectes de la depredació sobre postes, larves i juvenils d'aquestes espècies. Altres impactes ecològics àmpliament coneguts de la gambúsia són l'alteració del funcionament dels ecosistemes envaïts a través de cascades tròfiques i el declivi de poblacions d'amfibis.

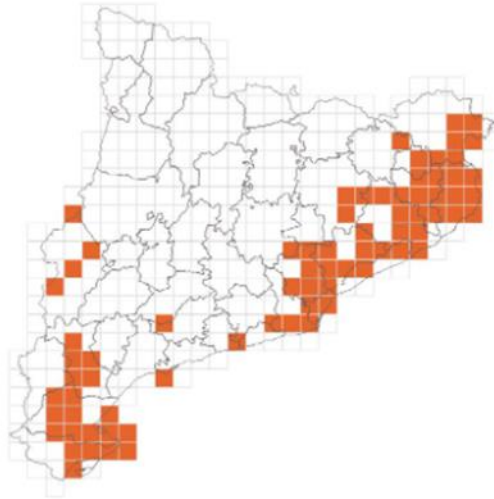


Figura 2. Mapa de distribució de la Gambúsia a Catalunya. (Font: Gencat)

Una de les característiques que segurament explica el gran èxit invasor de la gambúsia és la seva plasticitat fenotípica. La plasticitat fenotípica es defineix com la capacitat d'un genotip per expressar-se en diferents fenotips en diferents entorns. En els darrers anys, diversos estudis han remarcat que la plasticitat fenotípica podria tenir un paper molt important en les invasions biològiques. Particularment, la plasticitat fenotípica ampliaria el nínxol ecològic, ja que els individus podrien expressar fenotips avantatjats en diferents entorns, sobretot després d'un procés de migració, colonització o pertorbació. Tot i això, hi ha molt pocs estudis que és en la plasticitat fenotípica o morfometria en el context de les invasions biològiques, i la informació que es té sobre la gambúsia és pràcticament nul·la (Yavno, S. Et al. 2013). Per aquest motiu, aquest treball té com a objectiu estudiar els canvis morfològics o plasticitat fenotípica de la gambúsia en dos entorns amb una hidrologia i condicions ambientals (una bassa i un tram de riu) molt diferents.

2. OBJECTIVES

The objective of this study is to investigate the morphology (shape and bilateral symmetry) and body condition of the mosquitofish, *Gambusia holbrooki*, in two contrasting locations of the Delta de l'Ebre region in Catalonia (NE Iberian Peninsula), and to assess the effect of hydrological conditions; a lentic habitat in the Ebro Delta (Riet Vell coastal lagoon) and a lotic habitat located in the main Ebro River in Tortosa were selected.

More specifically, the condition analysis aims at identifying the location in which *Gambusia holbrooki* is developing the best (i.e. better fitness). Fish morphometry were examined by body landmarks. While changes in body shape are more related to phenotypic plasticity and habitat adaptation, bilateral asymmetry variations are more related to site-specific stressors factors.

3. MATERIALS I MÈTODES.

3.1. Àrea d'estudi

Per a complir amb els objectius d'aquest treball, es van agafar mostres de *Gambusia holbrooki* a dos punts amb diferents característiques de la conca de l'Ebre, un punt en el tram central del riu, i l'altre en una de les basses del seu delta. El Riu Ebre discorre pel nord-est de la Península Ibèrica amb una longitud d'uns 930 km i 83.093 km² de conca, desemboca en el Mar Mediterrani on forma un gran delta de 325 km². El Delta de l'Ebre és la zona humida més gran de Catalunya i està declarat espai protegit des del 1983. El clima és mediterrani temperat, amb estius molt secs i hiverns molt freds i secs, la temperatura mitjana varia entre 5 i 33 °C, i la precipitació mitjana entre 500 i 600 mm, amb màxims a la tardor. El cabal del riu està molt regulat per les més de 200 preses presents a la conca (principalment per produir energia hidroelèctrica). El cabal anual mitjà a Tortosa (42 km aigües amunt de la desembocadura) és de 425 m³/s, i a conseqüència dels grans canvis abiòtics i biòtics que s'han produït en les darreres dècades, el riu Ebre ha experimentat un canvi d'estat, passat d'un dominat per fitoplàncton a un dominat per macròfits. El Delta de l'Ebre, no obstant això, alberga una gran diversitat d'ecosistemes (per exemple, aiguamolls i llacunes), aus aquàtiques i biodiversitat en general, així com activitats socioeconòmiques (agricultura, turisme, pesca, aqüicultura).



Figura 3. Font: ICGC. Ubicació del Delta de l'Ebre a Catalunya.

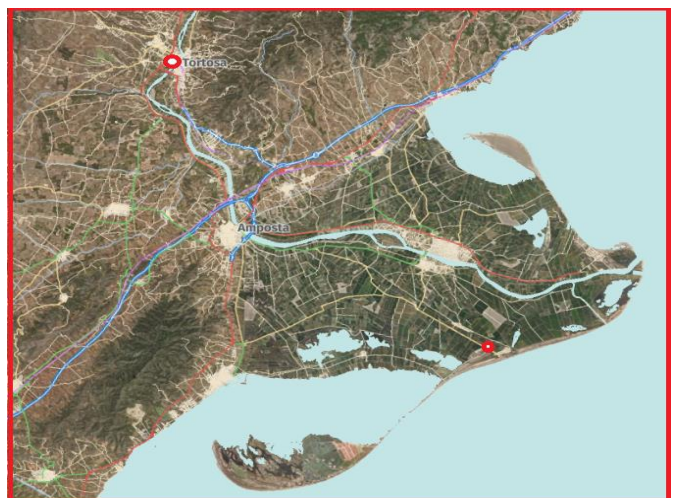


Figura 4. Font: ICGC. Ubicació dels punts de mostreig al Delta de l'Ebre.

3.2. Mètodes de mostreig.

El mostreig dels peixos es va fer l'última setmana de setembre de 2022, en dos ambients clarament diferenciats per la seva hidrologia i característiques fisicoquímiques; Riet Vell, una llacuna situada a la plana Deltaica (Montsià) i l'altre al tram central del Riu Ebre al seu pas per Tortosa (Baix Ebre). Donades les diferències pel que fa a la hidrologia que presenten els dos punts de mostreig, la captura dels individus s'ha fet mitjançant la combinació de diferents tècniques. A Riet Vell (bassa) es van col·locar 6 ganglis organitzats en grups de 3, formant una estrella. Els gànguils es col·loquen la nit abans i es recullen al matí. Les captures es van completar amb pesques extra fetes amb salabre. Al Riu Ebre, donada la profunditat i el corrent, no es poden fer servir gànguils i els peixos es van capturar amb salabre. Un cop capturats, les mostres es van congelar in-situ i es van transportar al laboratori per al seu posterior processat. En total, per a l'estudi de condició es van fer servir 108 femelles i 42 mascles, mentre que per a l'estudi morfològic es van fer servir 80 individus, 20 mascles i 20 femelles de cada punt.



Figura 5. Font: Pròpia. Estri de pesca (gànguil).



Figura 6. Font: Pròpia. Estri de pesca (salabre) i tria de la gambúsia.

3.3. Procés al laboratori.

Un cop al laboratori i per a evitar problemes metodològics, les mostres es van anar descongelant a mesura que es van anar processant. Per donar resposta a l'estudi de la plasticitat morfomètrica, en un primer pas, els individus van ser fotografiats amb l'ajuda d'una càmera connectada a una lupa estereoscòpica binocular (Fig. 7), buscant que es diferenciï amb claredat la boca, els ulls i les aletes. Cadascun dels individus es fotografia pels dos costats (dreta i esquerra) per poder fer amb posterioritat l'anàlisi de la simetria bilateral.

Pel que fa a l'estudi de la condició (relació longitud pes), els individus van ser sexats, mesurats amb un peu de rei digital (longitud total amb una precisió de 0.01 mm) i pesats (pes total amb una precisió de 0.1 mg). Un cop pesats els individus van ser eviscerats i tornats a pesar (pes eviscerat, amb una precisió de 0.1 mg). Com que el mostreig es va fer a finals de setembre, molts dels individus ja no presentaven activitat gonadal, descartant el pes gonadal per a futures anàlisis. Per a les anàlisis posteriors es va decidir treballar amb el pes eviscerat, ja que aquest permet evitar errors en el pes dels individus deguts a la reproducció, alimentació etc.

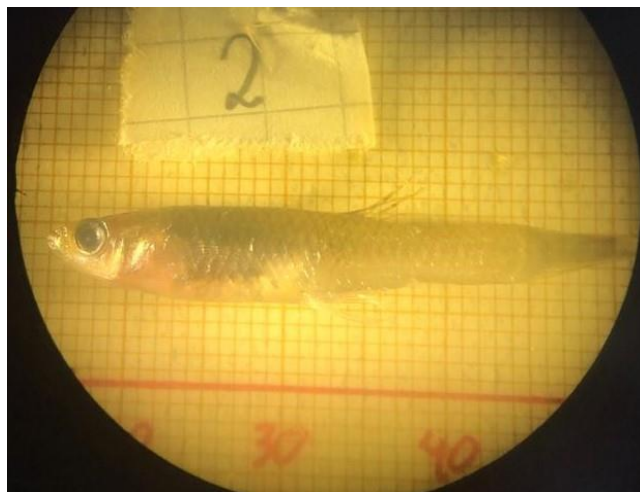


Figura 7. Font: Pròpia. Imatge de la gambúsia amb la lupa.

3.4. Anàlisi de la morfometria i estadística de les dades.

Les diferències en condició (variació del pes eviscerat) entre les dues poblacions estudiades es van analitzar mitjançant una anàlisi de covariància (ANCOVA), fent servir la longitud total com a covariable. Les ANCOVES es van construir fent servir el model més complex possible (incloent-hi, factors, covariables i la seva interacció), quan la interacció amb la covariable va resultar no significativa la vam eliminar del model lineal, simplificant-lo i incrementant la potència estadística del test (Garcia-Bertou i Moreno-Amich 1993). El pes i la longitud es van transformar logarítmicament abans de l'anàlisi per a millorar la seva homoscedasticitat i linealitat. L'estudi de la condició es va fer amb el software R 4.2.2, fent servir la funció `aov()` disponible a la llibreria `car` 3.1-1.

L'anàlisi de la morfometria geomètrica es va basar en l'ús de landmarks. Aquesta tècnica consisteix a agafar diferents coordenades d'una sèrie de punts de referència corporals (és a dir els landmarks) i analitzar –les com un conjunt de variables independents (Cavalcanti, 1999; Sadighzadeh et al. 2014). Aquesta tècnica és més eficient i recomanable que altres opcions, com per exemple Truss Network Data, per a capturar la informació sobre la forma d'un organisme (Zelditch et al. 2012). En una primera fase, cadascuna de les imatges obtingudes es carreguen al software d'anàlisi d'imatges TPS. Inicialment, es van definir 26 landmarks a cada individu i costat (Fig. 8), per analitzar els canvis morfològics i l'asimetria bilateral per sexe i punt de mostreig. Aquests 26 landmarks es van definir d'acord amb altres estudis previs. Un cop definit els landmarks, els fitxers TPS es carreguen a R 4.2.2 per a les posteriors anàlisis. De cadascuna de les imatges es va calcular la matriu procrustes, la qual ens permet rotar i transformar les imatges eliminant l'efecte de la rotació de les imatges i la talla dels individus. Amb la matriu procrustes es va elaborar una anàlisi de components principals (PCA). LA PCA ens permet explorar la variació en el contorn dels individus al llarg de l'espai dels components principals i visualitzar els patrons de variació del contorn. A més, a partir de la matriu procrustes es poden extreure les malles de deformitat de

cada població i comparar els canvis de contorns que puguin aparèixer. La variació en el contorn dels individus entre poblacions, es va analitzar finalment amb una anàlisi multivariant de variància (MANOVA), fent servir com a variable dependent els pesos factorials de cada individu en els components principals seleccionats. La MANOVA és recomanable quan diverses variables dependents (PCs) es mesuren per a cada unitat experimental (individus). Les significacions es van explorar posteriorment amb anàlisis de variància (ANOVA).

L'anàlisi del contorn es va fer mitjançant la llibreria geomorph 4.0.5. L'anàlisi de l'asimetria bilateral es va fer mitjançant la funció bilat.symmetry disponible a la llibreria geomorph. De forma resumida, es combinen les fotografies de les dues cares (dreta i esquerra) de cada individu, i es procedeix a crear la matriu de procrustes, que es farà servir per avaluar l'asimetria. Un cop fet l'anàlisi, de cadascun dels individus s'extreu l'índex d'asimetria individual segons el mètode de Klingenberg i McIntyre (1998). Els valors d'aquest índex es comparen entre poblacions i sexes mitjançant una anàlisi de variància (ANOVA).

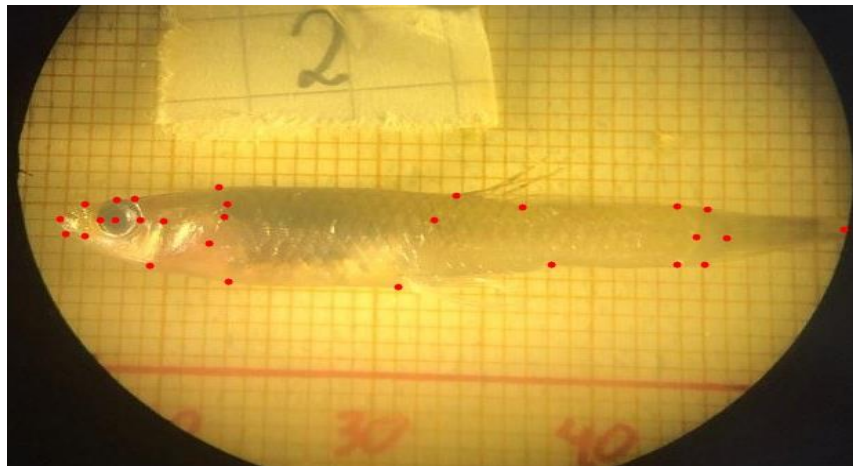


Figura 8. Font: Pròpia. Imatge amb landmarks de la gambúsia.

4. RESULTATS

Donat el clar dimorfisme sexual que presenta la gambúsia, es va decidir separar tots els resultats per mascles i femelles.

4.1. Anàlisi de condició.

Un cop corregit l'efecte de la longitud, la condició somàtica de les femelles de gambúsia va presentar diferències significatives entre punts de mostreig (Taula 1); però no es va observar un efecte de la interacció entre punt \times longitud total ($P > 0.5$). Per a un mateix valor de longitud total, les femelles de Riet Vell presenten un valor més alt de pes eviscerat (Fig. 10), i per tant una millor condició somàtica.

Taula 1. ANCOVA del pes de les femelles per lloc (factor) i longitud total (covariable) .

Anova Table (Type III tests)			
	Df	F	P
(Intercept)	1	544.2	<0.0001
Lloc	1	44.75	<0.0001
Log (Longitud total)	1	416.3	<0.0001
Residus	105		

L'anàlisi de la normalitat dels residus (Test de Shapiro Wilk, $P = 0.09$) mostra que aquests presenten una distribució normal i, per tant, l'adequació de l'anàlisi.

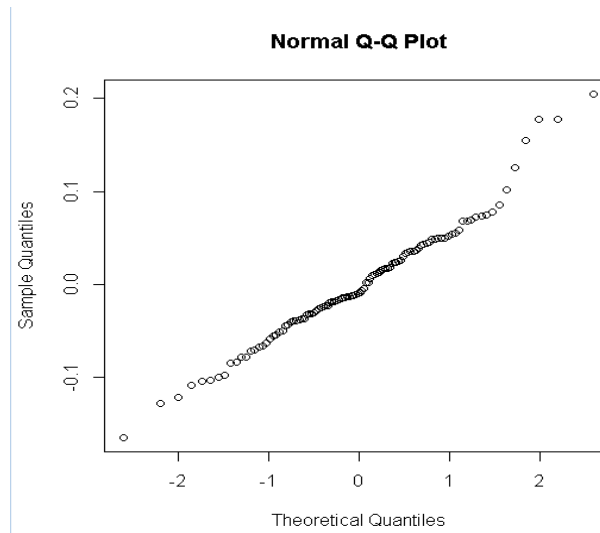


Figura 9. Q-Q de la normalitat dels residus.

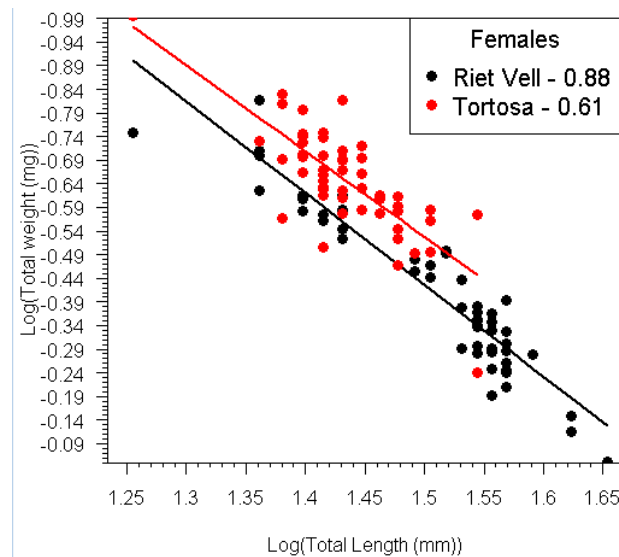


Figura 10. Relació longitud/pes segons el lloc per a les femelles de gambúsia. Al gràfic es mostren els valors de r^2 .

Pel que fa als mascles, un cop corregit l'efecte de la longitud ($F_{1, 38} = 49.6$; $P \ll 0.0001$), la condició va presentar diferències marginalment significatives entre punts de mostreig ($P = 0.058$); tot i que també es van observar diferències marginalment significatives degudes a la interacció longitud x lloc ($P = 0.076$). A la figura (12), s'evidencia un patró molt semblant (però invers) a l'observat per a les femelles. No obstant això, el fet que la interacció sigui significativa mostra un canvi de patró amb la mida dels mascles, les diferències de condició es redueixen amb relació a la mida.

El anàlisi de la normalitat dels residus (Test de Shapiro Wilk, $P = 0.15$) mostra que aquests presenten una distribució normal i l'adequació del anàlisi.

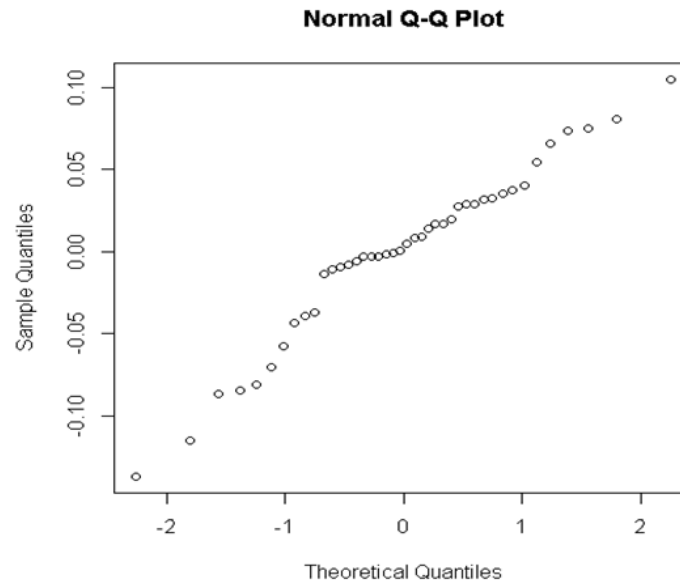


Figura 11. Gràfic de la normalitat dels residus.

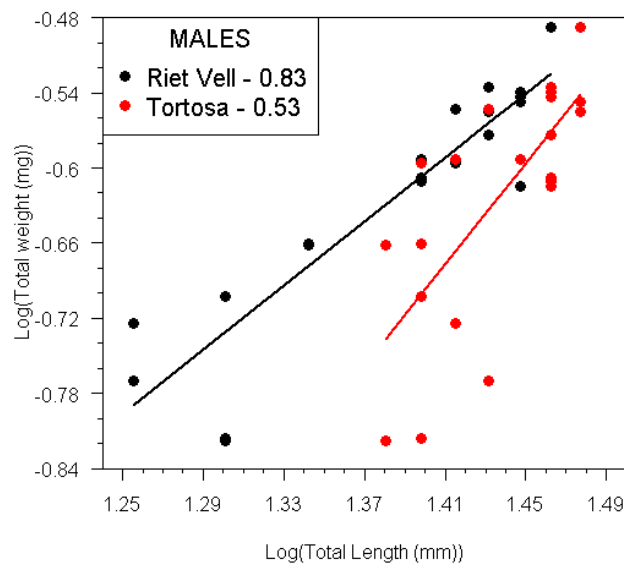


Figura 12. Relació longitud/pes segons el lloc de mostreig.

4.2. Anàlisi de morfometria (contorn).

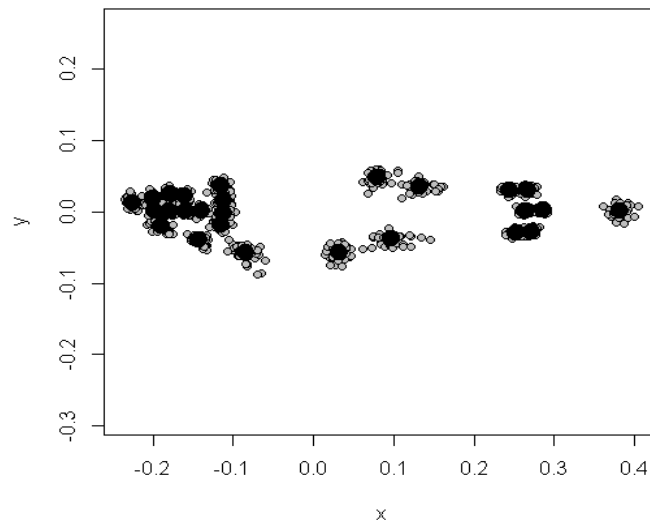


Figura 13. Matriu de procrustes amb tots els landmarks inicials.

El primer pas per observar els canvis en el contorn (morfometria) de les femelles es extreure la matriu de procrustes, que ens permet corregir les variacions observades en els landmarks degudes a la rotació en la presa de les imatges i la longitud dels individus (Fig.14). En una anàlisi exploratòria, es va veure que, els landmarks interiors no milloraven la precisió de l'anàlisi morfomètrica i es van deixar per l'estudi de l'asimetria bilateral. Aquesta anàlisi exploratòria, a més, ens va permetre avaluar que alguns dels landmarks del contorn són redundants i no milloren els resultats obtinguts, de manera que no es van incloure en la resta de les anàlisis. Finalment, l'anàlisi morfomètrica (contorn), es va fer amb 13 landmarks (Fig.14 & 15). Totes les anàlisis es van fer per duplicat (fent servir la imatge del costat esquerre i del costat dret), i es van obtenir resultats semblants, per facilitar la presentació dels resultats, es va seleccionar la imatge esquerra com a model per a presentar els resultats.

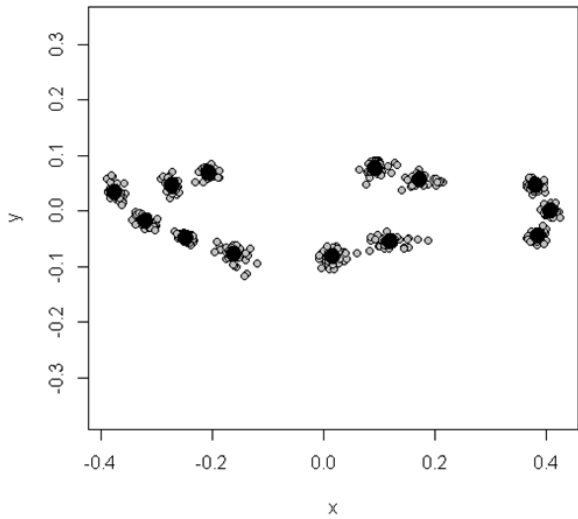


Figura 14. Representació de la matriu de procrustes del perfil esquerra de les femelles de gambúsia.

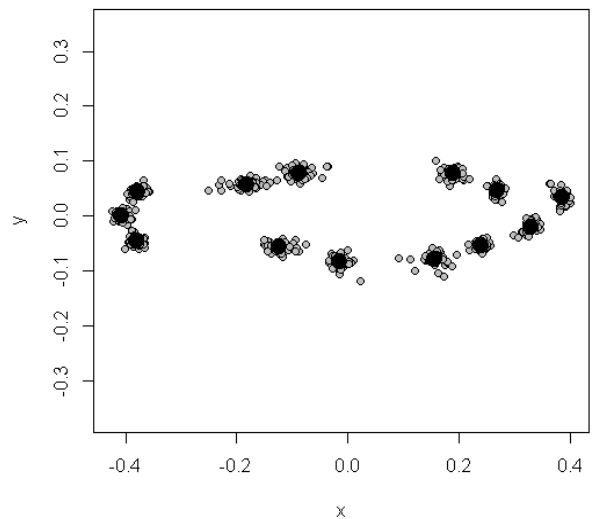


Figura 15. Representació de la matriu de procrustes del perfil esquerra de les femelles de gambúsia.

Amb la matriu de procrustes, es va fer una anàlisi de components principals (PCA), per tal d'analitzar els patrons de variació de forma entre els individus. Els dos primers eixos de la PCA van explicar un 44.05% (24.29 i 19.76 %, respectivament) de la variació total de la forma observada a les femelles de gambúsia. A la (Fig. 16), s'observa que aquests dos eixos de la PCA ens permeten diferenciar les dues poblacions analitzades, amb femelles de Tortosa situant-se principalment a l'esquerra del gràfic, i les de Riet Vell a la dreta; tot i l'elevada variabilitat intra-poblacional que s'observa. Per veure si aquestes diferències es poden associar al lloc de captura, els pesos dels individus per als dos primers eixos de la PCA es van analitzar amb una (MANOVA).

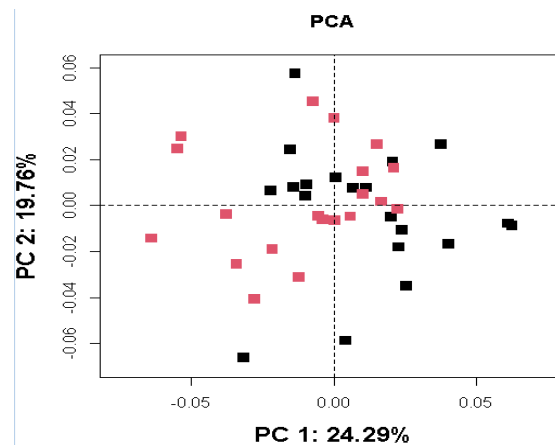


Figura 16. Gràfic de les dues primeres components de la PCA feta amb la matriu de procrustes de les femelles de gambúsia. Els punts negres i vermells corresponen als individus de Riet Vell i Tortosa.

La MANOVA dels factors scores dels dos primers eixos de la PCA, mostra que la variació global observada a la PCA és deguda al lloc de mostreig (Taula 2). A continuació, els testos univariants (ANOVA), mostren que aquestes diferències són sobretot degudes al primer component de la PCA ($P = 0.012$ i $P = 0.59$ per al component 1 i 2, respectivament).

Taula 2. MANOVA dels dos primers eixos de la PCA de les femelles de gambúsia.

	Df	Pillai	approx F	Num Df	Den Df	P
Lloc	1	0.162	3.582	2	37	0.038
Residus	38					

Veient els resultats obtinguts i per poder analitzar els canvis de la forma de les femelles de gambúsia capturades a Riet Vell i Tortosa, es va construir la malla de deformació a partir de les matrius de procrustes de cada localitat. La malla de deformació i els canvis es mostren a la (Fig. 17)

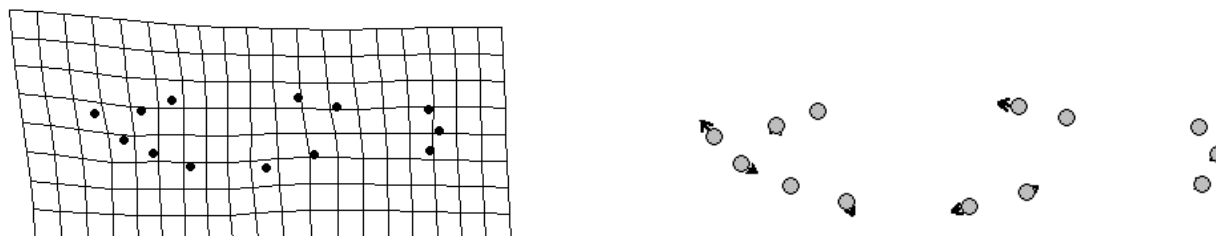


Figura 17. Malla de deformitat per a les femelles capturades a les dos localitat d'estudi. Riet Vell s'agafa com a referència per a construir la malla.

En la malla de deformitat es pot veure que la majoria dels canvis es localitzen en els landmarks situats al cap i al voltant del peduncle. Agafant com a referència la població de Riet Vell (Fig.17), s'observa com les femelles d'aquest punt tendeix a presentar un peduncle caudal més curt, igual que el seu tronc.

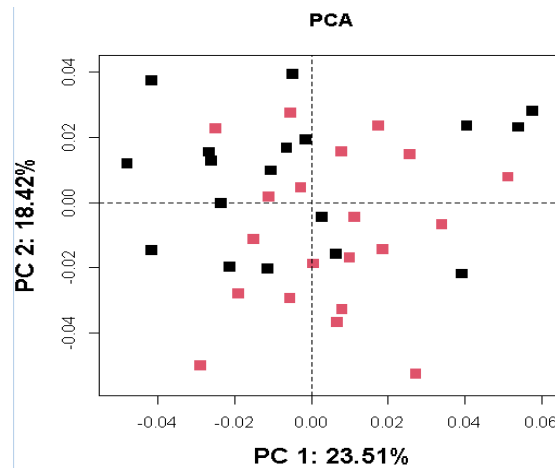


Figura 18. Gràfic de la Comp1 i Comp2, de la PCA per als mascles de gambúsia. En vermell es mostren els mascles de Trotosa i en negre els de Riet Vell.

Amb la matriu de procrustes dels mascles, es va fer una anàlisi de components principals (PCA), els dos primers eixos de la PCA van explicar un 41.92% (23.50 i 18.42 %, respectivament) de la variació total de la forma observada als mascles de gambúsia. A la figura (18), s’observa que aquests dos eixos de la PCA ens permeten diferenciar les dues poblacions analitzades.

La MANOVA dels factors scores dels dos primers eixos de la PCA per lloc de mostreig, mostra que la variació observada és marginalment deguda al lloc de mostreig ($P = 0.07$) . A més els testos univariants (ANOVA), mostren que aquestes diferències són sobretot degudes al segon eix de la PCA ($P = 0.26$ i $P = 0.055$ per a l’eix ú i dos, respectivament).

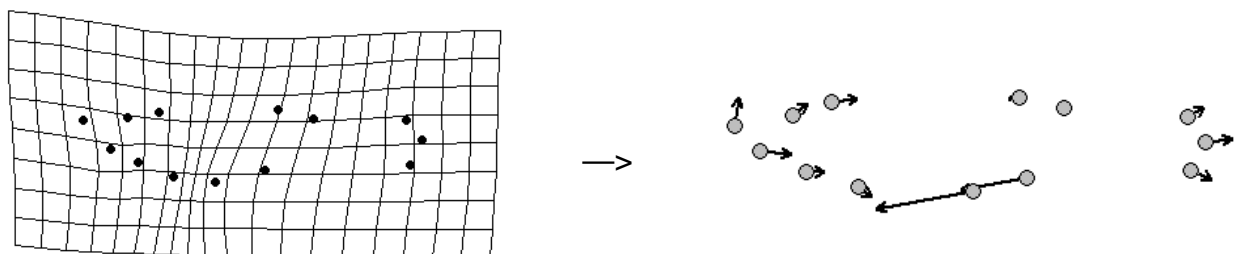


Figura 19. Malla de deformitat per a les femelles capturades a les dos localitat d’estudi. Riet Vell s’agafa com a referència per a construir la malla.

En la malla de deformitat dels mascles es poden veure canvis semblants als observats a la malla de deformitat de les femelles, tot i que els canvis semblen més exagerats.

4.3. Anàlisi de simetria bilateral

Per fer l'estudi de simetria bilateral es va fer un anàlisi previ semblant al de l'apartat anterior, seleccionant finalment 19 landmarks.

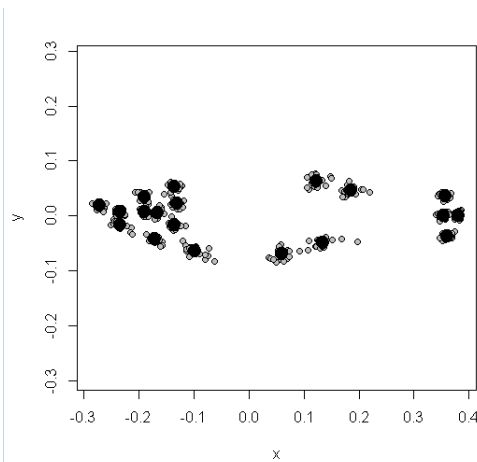


Figura 20. Femella dreta, Riet Vell.

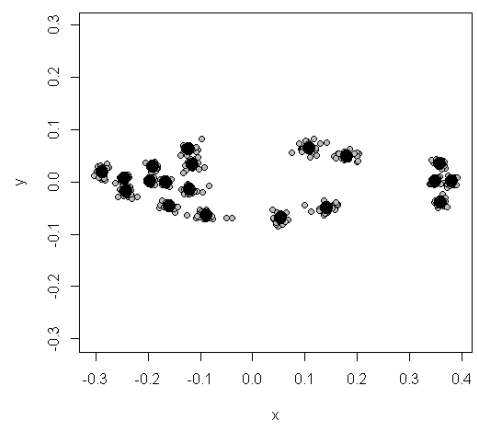


Figura 20. Femella esquerra, Riet Vell.

A partir de la matriu de procrustes es va analitzar el patró d'asimetria bilateral. Aquesta anàlisi va mostrar que tot i la variabilitat entre individus ($P < 0.01$), no es van trobar diferències entre costats ($P > 0.10$). La funció `bilat.symmetry` ens va permetre extreure el valor de l'índex de simetria individual, que vam analitzar per lloc i sexe mitjançant una ANOVA. Aquesta anàlisi va confirmar els resultats anteriors, ja que no es van trobar diferències en els valors de simetria deguts al lloc de captura, sexe o la seva interacció (Taula 5).

Taula 3. ANOVA de l'índex de simetria individual per lloc de captura i sexe.

	Df	F	P
Lloc	1	0.229	0.63
Sexe	1	0.097	0.76

Lloc:Sexe	1	0.410	0.52
Residus	76		

5. DISCUSSIÓ

L'anàlisi de condició va mostrar, que tant per mascles com femelles de Riet Vell es trobaven en millor condició que els individus capturats a Tortosa. Aquesta diferència en la condició es pot explicar a partir de l'estabilitat (des d'un punt de vista hidrològic) i productivitat de les dues localitats estudiades. Les llacunes costaneres (Riet Vell), són sistemes més estables i productius, pe tant, segurament hi ha més disponibilitat d'aliment que al tram central del riu (Tortosa). En els darrers anys, el riu Ebre ha patit un canvi d'estat, d'un estat dominat per fitoplàncton, a un estat dominat per macròfits. A l'article de Ibañez et al. 2012, es mostren aquests canvis que hi ha hagut en els darrers anys en relació a la qualitat de l'aigua, la hidrologia i les comunitats biològiques. Els canvis més destacats, són dràstica reducció observada en el fòsfor, que provoca un descens en la clorofil·la i un gran augment en la transparència de l'aigua, el que desencadena la colonització de macròfits a l'aigua. Aquest procés d'oligotrofització que ha patit el riu en els darrers anys es podria relacionar amb una disminució de la productivitat del sistema i per tant menor disponibilitat d'aliment a Tortosa en comparació a Riet Vell. A més, la inestabilitat deguda a la hidrologia segurament també té un efecte sobre la condició dels individus. A Tortosa, amb un cabal constant del riu, els peixos han de nedar més (per a trobar menjar i mantenir la seva posició al riu), afectant la seva condició.

L'anàlisi de morfometria (plasticitat fenotípica) ens indica que tant per a mascles com femelles de gambúsia, els canvis principals es localitzen a la zona del tronc, peduncle caudal i zona facial. A Riet Vell, els individus són més compactes, amb troncs i peduncles més curts i sembla observar-se un desplaçament de la boca cap a dalt. Aquestes diferències poden ser degudes a la dieta, ja que a la basa hi ha molta més variabilitat que al riu i són sistemes més estables. Els canvis a la zona del cap i boca, segurament es relacionen amb l'estabilitat del sistema, la disponibilitat diferent de preses i la posició a la columna d'aigua on s'alimenta la gambúsia. Normalment, en ambients lentiscs, com les bases costaneres, abunden preses a la columna d'aigua, com per exemple zooplàncton, per tant, la gambúsia es pot alimentar més en zones superficials i d'aigües obertes, traient avantatge d'una boca supera. En canvi, en el riu, amb un major estrès hidrològic a causa del cabal, les gambúsies necessiten reforçar la zona caudal per a poder compensar la força del

caudal i trobar aliment, a més segurament no hi ha tantes presses potencials a la columna d'aigua i s'alimenten més a sobre de la vegetació etc., de manera que no necessiten una boca tan súper com a una bassa. Aquests resultats són semblants als trobats per (Ramler et al., 2017), que a partir de punts de referència (landmarks) sobre *Phoxinus sp.* Va estudiar la variabilitat morfològica en plans dorsals, laterals i ventrals, i va reportar que en punts de trams fluvials els peixos presentaven un cos i un peduncle caudal més profund, amb les aletes pectorals més inserides lateralment que en individus capturats en llacs. Associant aquesta plasticitat fenotípica o diferències morfològiques als diferents tipus de natació i alimentació en els seus respectius hàbitats. Per tant, podríem afirmar que els canvis observats al nostre estudi serien deguts a la dieta i al tipus d'hàbitat en el qual es troben els exemplars capturats, al riu s'adapten per poder nedar més ràpidament i adaptar-se millor als canvis hidrològics mentre que a la bassa presenten adaptacions més relacionades amb la captura de l'aliment.

Finalment, l'anàlisi de simetria bilateral no va mostrar grans diferències entre els exemplars capturats. Normalment, la variació en la simetria bilateral s'associen a canvis bruscos ambientals, o a l'efecte de factors d'estrès com per exemple seria la presència d'un contaminant químic. Per exemple, en un treball de Smith (2020) es mostra com a partir de petites quantitats d'arsènic s'observen canvis endocrins a la gambúsia, que es relacionen en alteracions en vàries vies de senyalització genètica reproductiva masculina, perfils hormonals i posteriorment, característiques sexuals secundàries. Els mascles de gambúsia sota l'efecte de contaminants químics com l'arsènic tenen la capacitat de desenvolupar un òrgan intermitent relacionat amb els andrògens. El nostre estudi, respecte a la simetria bilateral, ens diu que no hi ha simetria i que, per tant, no semblaria que les gambúsies d'ambdues localitats estiguin sotmeses a cap font d'estrès externa com per exemple contaminants d'origen químic.

6. CONCLUSIONS

Both male and female mosquitofish from Riet Vell showed a better condition than the individuals from Ebre River, However, for male mosquitofish, differences in condition were length dependent, showing lower differences in larger males. These differences can be explained by differences in hydrology and prey availability.

Sampling point also affected fish morphology, showing the phenotypic-plasticity ability of mosquitofish. Mainly, morphological differences when Ebre River fish were compared to Riet Vell, observed include changes in trunk length, a reduction in caudal peduncle area, as well as a displacement of the mouth towards the top (a more upper mouth). As observed for fish condition, these differences can be explained by different prey availability and hydrological conditions.

Differences in bilateral symmetry were not observed between sampling points or sex, which probably means that the two aquatic systems were not under extreme environmental conditions.

REFLEXIÓ SOBRE ÈTICA

La *Gambusia holbrooki*, és una de les espècies invasores més extenses al llarg del món de medi aquàtic, per tant hi ha molts llocs que es pot trobar com és el cas del Delta de l'Ebre. Per realitzar l'estudi s'han dut a terme les activitats de mostreig, estudi de les mostres de laboratori i resultats. Aquestes actuacions comporten implicacions ètiques com ara és:

- Captura dels peixos amb diferents tècniques de mostreig: el mètode de mostreig causa la mort dels individus però com és una espècie invasora tampoc importa no conservar tota la població. Des d'un punt de vista animalista, pot haver-hi repercussions per la causa de la mort de l'individu però és maten per un tret científic i no de benestar humà.
Tots aquells individus que han sortit i no han sigut gambúsies s'han retornat al medi amb vida.
- Estudi de les mostres al laboratori i resultats : S'ha de tenir en compte que l'animal ha sigut congelat in situ per a que no tingues cap tipus de patiment. Tenint en compte la integritat científica, s'ha de ser honest i veraç amb la recopilació, l'ús i la conservació de les dades, així com l'anàlisi i la comunicació de resultats. Per tant, s'ha de ser honest amb la veracitat dels resultats, si surt algo que no esperàvem o simplement no s'ha pogut obtenir cap resultat, el més adient és trobar un perquè dels nostres resultats i no manipular-los.

REFLEXIÓ SOBRE PERSPECTIVA DE GÈNERE

L'IRTA és un centre d'investigació on en un principi s'espera que gran part de l'equip siguin homes, ja que molts cops les persones en càrrecs dalt nivell són homes. No obstant, l'empresa es compon de 695 treballadors arreu de Catalunya on hi ha més dones que homes. El 55% del personal són dones. Al centre de la Ràpita són 39 dones i 31 homes.

El rang d'edat on hi ha més dones treballant és entre els 30 i 40 anys, mentre que el rang que hi ha més homes treballant és entre els 40 i 50 anys.

Dins el mateix centre, s'observa que aquells llocs de treball que requereixen més força o que hi ha més treball al camp ho duen a terme normalment els homes i l'encarregat d'aquestes feines és un noi, mentre que les dones solen estar més al laboratori o surten al camp ocasionalment i l'encarregada de les feines de laboratori és una noia. Per altra banda, molts cops és a les pròpies dones que no els hi agrada la feina de camp. A l'apartat d'aqüicultura la majoria són nois ja que solen ser feines on es requereix més força i activitat física que la resta, encara que la encarregada és una noia. Finalment, els tècnics de manteniments són tots nois.

Per tant, per molt que sigui una empresa on hi treballen més dones que nois, els seus càrrecs encara estan completament distingits i per redistribuir en un futur on es puguin observar tècniques de camp o d'aqüicultura o de manteniment, a parts iguals que al laboratori. Per altra banda, realment tothom està molt content amb el seu lloc de treball i no hi ha hagut la intencionalitat de canviar els rols perquè no s'ha proposat.

Finalment, estic contenta de veure tantes dones al món de la ciència i veure que realment hi ha un futur darrere encara que ens quedi per progressar i lluitar per ser on volem ser realment, ja sigui al camp o dalt de tot del cim.

REFLEXIÓ SOBRE SOSTENIBILITAT

Aquest treball ha nascut de l'intriga de com una espècie invasora pot arribar a desenvolupar-se segons el lloc on es troba i la facilitat que té d'adoptar canvis respecte altres espècies que els hi pot costar més ja que són concretes d'un hàbitat. Tot i així per a que aquest estudi sigui bo per al medi ambient, s'haurien de trobar tècniques o mètodes de reducció per aquesta espècie. No obstant, l'estudi d'aquesta per a poder saber com actua en funció al medi ja és un gran pas per la conservació d'altres espècies que es poden veure afectades.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, D. C., & Otárola-Castillo, E. (2013). Geomorph: An R package for the collection and analysis of geometric morphometric shape data. *Methods in Ecology and Evolution*, 4, 393–399.
- Alcaraz, C., & García-Berthou, E. (2007). Life history variation of invasive mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) along a salinity gradient. *Biological Conservation*, 139, 83–92.
- Andreu, J., Pino, J., Rodríguez-Labajos, B. & Munné, A. (2011). Avaluació de l'estat i el risc d'invasió per espècies exòtiques dels ecosistemes aquàtics de Catalunya Implantació del Pla sectorial de cabals de manteniment.
- Cabrera Páez, Y. (2007). Alteraciones de indicadores biológicos de *Gambusia puncticulata* (Poey, 1854) en sitios muy contaminados del río Almandares.
- Compte, J., Muñoz-Mas, R., Antón-Pardo, M. & Gascón, S. (2018). Guia bàsica d'ús d'R amb Rstudio en l'àmbit d'Anàlisi Avançada de Dades.
- Díez-del-Molino, D., García-Berthou, E., Araguas, R. M., Alcaraz, C., Vidal, O., Sanz, N., & García-Marín, J. L. (2018). Effects of water pollution and river fragmentation on population genetic structure of invasive mosquitofish. *Science of the Total Environment*, 637, 1372–1382.
- Domènech i Masons, R. (2007). Invasions biològiques: una amenaça per a les espècies natives?
- Pena, J.C. & Domínguez, J., (1985). Contribución al conocimiento de la ictiofauna leonesa: La *Gambusia* (*Gambusia affinis holbrooki* Girard 1859). *Tierras de León*, 25, 103-114.
- Gallardo, B., Clavero, M., Sánchez, M. I., & Vilà, M. (2016). Global ecological impacts of invasive species in aquatic ecosystems. *Global Change Biology*, 22, 151-163.
- García-Berthou, E., Moreno-Amich, R., & Moreno, R. (1993). Multivariate Analysis of Covariance in Morphometric Studies of the Reproductive Cycle For personal use only, 50, 1394-1399.
- Ibáñez, C., Alcaraz, C., Caiola, N., Rovira, A., Trobajo, R., Alonso, M., Duran, C., Jiménez, P. J., Munné, A., & Prat, N. (2012). Regime shift from phytoplankton to macrophyte dominance in a large river: Top-down versus bottom-up effects.

Science of the Total Environment, 416, 314–322.

Navarro-Garcia, JR. (2013). La familia de Buen y la introducción de la “Gambusia”: consecuencias medioambientales de la lucha contra la malaria en España. *El Hombre de la Ciencia*, 53.

Ramler, D., Palandačić, A., Delmastro, G. B., Wanzenböck, J., & Ahnelt, H. (2017). Morphological divergence of lake and stream Phoxinus of Northern Italy and the Danube basin based on geometric morphometric analysis. *Ecology and Evolution*, 7, 572–584.

Riesch, R., Martin, R. A., Diamond, S. E., Jourdan, J., Plath, M., & Langerhans, R. B. (2018). Thermal regime drives a latitudinal gradient in morphology and life history in a livebearing fish. In *Biological Journal of the Linnean Society*, 125.

Rodríguez-Climent, Sílvia, Nuno Caiola, and Carles Ibáñez. Salinity as the main factor structuring small-bodied fish assemblages in hydrologically altered Mediterranean coastal lagoons. *Scientia Marina* 77, 37-45.

Schlager, S. (2017). Morpho and Rvcg - Shape Analysis in R: R-Packages for Geometric Morphometrics, Shape Analysis and Surface Manipulations. *Statistical Shape and Deformation Analysis: Methods, Implementation and Applications*, 217–256.

Smith, R. (2020). Mosquitofish, gambusia affinis, as a model for endocrine disruption: the impacts of arsenic exposure on reproduction and development.