



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Politécnica Superior de Gandia

Efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario del
fartet (*A. iberus*) y el samaruc (*V. hispanica*)

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ciencias Ambientales

AUTOR/A: Expósito Roselló, Hugo

Tutor/a: Gallego Albiach, Victor

Director/a Experimental: Blanes Garcia, Marta

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1. Situación actual del fartet y del samaruc.....	4
1.2. La incidencia del cambio climático sobre los ecosistemas acuáticos	6
1.3. El desarrollo embrionario de teleósteos	8
2. OBJETIVOS	10
3. MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1. Recolección de los huevos	10
3.2. Diseño experimental.....	11
3.2.1. Desarrollo embrionario a diferentes temperaturas	11
3.2.2. Cuidado y mantenimiento de las larvas.....	12
4. RESULTADOS	13
4.1. Desarrollo embrionario en fartet y samaruc.....	13
4.1.1. Fartet.....	13
4.1.2. Samaruc.....	15
4.2. Efectos de la temperatura en el desarrollo embrionario.....	17
4.2.1. Comparación del desarrollo embrionario a distintas temperaturas.....	17
4.2.2. Pulsaciones por minuto a distintas temperaturas.....	19
4.2.3. Tiempos de eclosión (<i>hatching rates</i>) a diferentes temperaturas	20
4.2.4. Tasa de eclosión a diferentes temperaturas	22
5. DISCUSIÓN	24
5.1. Desarrollo embrionario en ciprinodóntidos ibéricos	25
5.2. Efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario	28
5.3. Posibles escenarios en relación con el cambio climático.....	31
5.4. Actuaciones para mejorar la conservación de estas especies	33
6. CONCLUSIONES	33
7. BIBLIOGRAFÍA	34
8. ANEXOS	39

RESUMEN

El delicado estado de conservación en el que se encuentran determinadas poblaciones de peces endémicos de la Comunitat Valenciana, como el fartet (*Apricaphtanius iberus*) y el samaruc (*Valencia hispanica*), ha llevado a las administraciones responsables a la implantación de medidas de conservación para preservar sus poblaciones. En este sentido, el objetivo general de este trabajo fue, por una parte, describir el desarrollo embrionario de estas dos especies de peces endémicos de la península ibérica, caracterizando cada uno de los estadios a lo largo del tiempo, desde la fecundación hasta la eclosión final. Además, otra parte del estudio consistió en evaluar el efecto que tiene la temperatura en el desarrollo embrionario de ambas especies, analizando la viabilidad futura de los mismos ante futuros escenarios climáticos.

Los datos obtenidos en este estudio han permitido avanzar en el escaso conocimiento que se tiene sobre la biología reproductiva de estas especies, aumentando toda la información actualmente disponible sobre su ciclo reproductivo. Además, los experimentos realizados a diferentes temperaturas han aportado información de gran utilidad sobre como los futuros escenarios climáticos afectarán a estas especies, y como esta nueva información se podrá utilizar para desarrollar nuevas medidas o actuaciones que permitan tanto su conservación a futuro como la reducción de sus amenazas.

Palabras Clave: Conservación, peces, ciprinodóntidos, especies amenazadas, embriones, cambio climático.

ABSTRACT

The delicate conservation status of certain endemic fish populations in the Valencian Community, such as the fartet (*Apricaphanius iberus*) and the samaruc (*Valencia hispanica*), has led the responsible administrations to implement conservation measures to preserve their populations. In this sense, the general objective of this work was, on the one hand, to describe the embryonic development of these two endemic fish species in the Iberian Peninsula, characterizing each of the stages over time, from fertilization to final hatching. In addition, another part of the study was to evaluate the effect of temperature on the embryonic development of both species, analyzing their future viability in the face of future climate scenarios.

The data obtained in this study has made it possible to advance the scarce knowledge we have on the reproductive biology of these species, adding to all the information currently available on their reproductive cycle. In addition, the experiments carried out at different temperatures have provided very useful information on how future climate scenarios will affect these species and how this new information can be used to develop new measures or actions that will allow both their future conservation and the reduction of the threats they face.

Keywords: Conservation, fish, cyprinodontids, endangered species, embryos, climate change.

1. INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de dos especies endémicas de la Comunitat Valenciana, el fartet (*Apricaphanius iberus*) y el samaruc (*Valencia hispanica*) se encuentran en una situación desfavorable la cual empeora con el paso del tiempo (*Acuicultura, Fisiología y Reproducción: Estudios Con Fartet y Samaruc*, 2019; Blanes-García et al., 2021; Facca et al., 2020). Si bien en la actualidad se han concebido una amplia variedad de medidas para mejorar el estado de sus poblaciones, aún existe una necesidad de desarrollarlas en mayor grado para lograr esta meta. De este modo, la falta de información sobre su ciclo reproductivo puede tener cierta relevancia en este ámbito, pues obtener este tipo de conocimientos favorecería el desarrollo de medidas y permitiría, a su vez, cubrir esta escasez de datos para futuros proyectos (Araguas et al., 2007; Blanes-García et al., 2021). Por otro lado, se puede aprovechar esta iniciativa junto a la creciente problemática del aumento de las temperaturas (Bulege, 2015; Fao, 2011; Giannetto & Innal, 2021), debido al cambio climático, para poder comprobar como su variación en el medio natural afectaría a estas especies.

Por otro lado, este Trabajo Final de Grado, guarda relación con diversos objetivos y estrategias internacionales que se han establecido en las últimas décadas como se va a mencionar a continuación. Considerando los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) de la Agenda 2030 adoptados por Naciones Unidas, la presente propuesta se enmarca claramente en el Objetivo 13 (Acción por el clima) y con el Objetivo 15 (Biodiversidad y ecosistemas). Entre los objetivos de Horizonte Europa, esta propuesta se enmarca también en el pilar denominado “Alimentación, Bioeconomía, Recursos Naturales, Agricultura y Medio Ambiente”. En cuanto a los objetivos y estrategias nacionales, el presente proyecto incluye una serie de tareas de investigación relacionadas con la Prioridad Temática 6 (Alimentación, bioeconomía, recursos naturales y medio ambiente) de la Estrategia Española de Ciencia, Tecnología e Innovación 2021-2027 (EECTI 2021-2027), contribuyendo a la sostenibilidad de las especies endémicas de peces como recurso natural y desarrollando técnicas con potenciales aplicaciones futuras en acuicultura sostenible. El proyecto se enmarca claramente en el marco de las Ciencias de la Vida (CV), y fuertemente relacionado con el Área de Ciencias Agrarias y Agroalimentarias (CAA), y con la Subárea Ganadería y Acuicultura (GYA) abarcando aspectos de investigación básica y aplicada sobre reproducción y fauna silvestre.

En resumen, se ha realizado un seguimiento del desarrollo embrionario de estos peces marismenños a temperaturas concretas (20 °C, 25 °C y 30 °C), para mejorar el conocimiento acerca de su biología reproductiva y comprobar cómo se adaptan a condiciones climáticas adversas. Por lo tanto, este proyecto facilitará la obtención de

información sobre el ciclo reproductivo de estas especies amenazadas y su capacidad de adaptación a futuras situaciones climáticas permitiendo, de esta manera, la utilización de estos datos para el desarrollo de nuevos planes y metodologías que puedan favorecer su conservación o, por el contrario, la recopilación de nuevos conocimientos para comprender aún más sus características biológicas y para su aplicación en futuras investigaciones (López-Solano et al., 2023).

1.1. Situación actual del fartet y del samaruc

El fartet y el samaruc son especies piscícolas marismeñas, endémicas de la península ibérica, que pertenecen al orden de los ciprinodontiformes (*Atlas y Libro Rojo de Los Peces Continentales*, 2011; López-Solano et al., 2023). El fartet (Figura 1A) puede llegar a medir hasta 5 centímetros y habita en una amplia variedad de ecosistemas salinos distribuyéndose por todo el este de la península ibérica. En cuanto al samaruc (Figura 1B), llega hasta los 8 cm y se encuentra en ecosistemas de agua dulce, aunque se ha localizado en ecosistemas con baja salinidad, distribuyéndose en la Comunitat Valenciana y Cataluña (Facca et al., 2020).

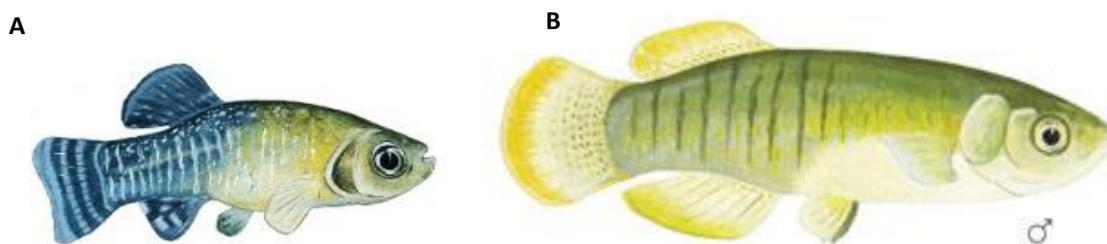


Figura 1. A) Macho de fartet (*A. Iberus*); B) Macho de samaruc (*V. hispanica*).

En este sentido, el estado de conservación de las poblaciones de fartet y samaruc es crítico. En primer lugar, ambos ciprinodontiformes están catalogados como “En peligro de extinción” en el “Catálogo Valenciano de Especies de Fauna Amenazadas” (*Catálogo Valenciano de Especies de Fauna Amenazada - Vida Silvestre - Generalitat Valenciana*, 2022). En segundo lugar, en el “Libro Rojo de los Peces Continentales de España” están catalogados como “En peligro de extinción” (*Atlas y Libro Rojo de Los Peces Continentales*, 2011). Por último, se encuentran en la “Lista Roja” de la “Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza” (UICN) en la cual el fartet ha sido catalogado como “En peligro” (*IUCN Red List of Threatened Species*, 2024) y el samaruc está situado en la categoría de “En peligro crítico”, pues la situación de este último es más grave (*IUCN Red List of Threatened Species*, 2024).

De esta manera, existen cuatro amenazas principales que afectan a las poblaciones del fartet y samaruc. En primer lugar, se encuentra la pérdida de hábitat por modificación y fragmentación. Hay constancia de la instalación de presas y la reducción de las masas de agua donde han establecido sus hábitats, como ocurre en cuanto a la desecación de los humedales, para cubrir usos agrícolas y urbanos provocando el desplazamiento de las poblaciones (*IUCN Red List of Threatened Species*, 2024; Lusher et al., 2017; Ramírez-Martínez et al., 2015). También tiene elevada relevancia la sobreexplotación de los acuíferos que, si bien es importante para los dos, afecta en mayor medida al samaruc debido a que los nacimientos de agua de los acuíferos son lugares con gran preferencia para esta especie (Devitt et al., 2019; *IUCN Red List of Threatened Species*, 2024; Muñoz et al., 2010).

En segundo lugar, se sitúa la presencia de especies exóticas invasoras. Ambas especies se ven desplazadas por la competencia interespecífica por la obtención de recursos contra diversas especies, entre las que se encuentran la perca sol (*Lepomis gibbosus*), la perca americana (*Micropterus salmoides*) y la gambusia (*Gambusia hoolbroki*) (*Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras - Peces*, 2023; *IUCN Red List of Threatened Species*, 2024; Jiménez Prado et al., 2020). Además, existe una depredación directa de la gambusia sobre alevines y puestas dificultando, de esta manera, la reproducción de ambas especies endémicas (*Atlas y Libro Rojo de Los Peces Continentales*, 2011; *Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras - Peces*, 2023; Caiola & De Sostoa, 2005).

En tercer lugar, se ha determinado que los vertidos agrícolas y de silvicultura afectan al fartet y al samaruc, pero esta segunda especie, también se ve afectada por vertidos domésticos y urbanos (Habit et al., 2005; *IUCN Red List of Threatened Species*, 2024; Salazar et al., 2018).

En cuarto y último lugar, se sitúa el cambio climático. De este modo, los cambios bruscos en las temperaturas, como una elevación continuada y abrupta, y procesos climáticos como sequías prolongadas pueden provocar una elevada reducción de sus poblaciones ya que requieren un medio acuático para su supervivencia (Fao, 2011; Giannetto & Innal, 2021; *IUCN Red List of Threatened Species*, 2024).

Debido a la seriedad del estado en el cual se encuentran estas especies amenazadas, se han desarrollado diversas actuaciones y proyectos, desde finales del siglo pasado, con el objetivo de mejorar sus estados de conservación, tanto aumentando las poblaciones como reduciendo las amenazas (Araguas et al., 2007; Blanes-García et al., 2021). En este sentido, el Centro Acuícola de El Palmar (CAEP, El Palmar, Valencia) es

un centro de conservación que dispone de una amplia variedad de instalaciones donde se busca favorecer la reproducción y el seguimiento de diversas especies dulceacuícolas de la Comunitat Valenciana y, a su vez, herramientas de control de especies exóticas invasoras que han afectado de manera beneficiosa a las poblaciones de fartet y samaruc en las últimas décadas. En los últimos años, las diversas actuaciones y esfuerzos para la recuperación del fartet y samaruc en diferentes localizaciones de la Comunitat Valenciana han conseguido un aumento de las poblaciones (Tabla 1).

Tabla 1. Evolución de las poblaciones de fartet (*A. iberus*) y samaruc (*V. hispanica*) desde 2019 basado en el índice de capturas/nasa en diferentes localidades de la C. Valenciana (<0,5: Declive fuerte; 0,5-1: Declive moderado; 1-5: Incremento moderado; >5: Incremento fuerte) (Centro Acuícola de El Palmar - Vida Silvestre - Generalitat Valenciana, 2024).

Fartet	2019	2020	2021	2022	2023
Marjal de Peñíscola	0,50	0,60	0,70	4,2	0,6
P.N. Prat de Cabanes-Torreblanca	6,6	6,1	0,4	1,3	0,5
Marjal dels Moros	4,1	1,8	0,2	0,1	0,03
P.N. El Hondo	0,1	0,00	0,00	4,5	2,2
P.N.Salinas Santa Pola	54,4	16,1	1,2	8,1	3,4
Reserva Fauna Villena Villena	0,50	0,60	0,70	4,2	0,6

Samaruc	2019	2020	2021	2022	2023
Marjal de Peñíscola	0,8	0,7	5,3	0,3	0,9
P.N. Prat de Cabanes-Torreblanca	1,8	0,6	0,00	0,00	0,00
Marjal dels Moros	2,9	0,7	0,03	0,00	0,01
Surgencias P.N. Albufera	1,00	2,9	2,6	2,1	1,9
Malladas P.N. Albufera	23,00	41,4	11,2	12,7	5,2
Nacimiento Riu Verd	3,6	4,8	4,2	1,3	0,7
P.N. Marjal Pego-Oliva	1,8	0,5	1,5	1,5	1,1

1.2. La incidencia del cambio climático sobre los ecosistemas acuáticos

El cambio climático es un proceso natural que siempre ha estado presente en el planeta, pero debido a la influencia del ser humano se ha podido notar un aumento exponencial de las temperaturas en los últimos años que puede afectar en gran medida a una elevada variedad de especies (Arnell et al., 2019). Los ecosistemas acuáticos se tratan de hábitats que dependen en gran medida de las condiciones del entorno (Mugwanya et al., 2022). Si bien es cierto que la temperatura no es el único factor que hay que tener en cuenta, su aumento puede generar una gran diversidad de efectos adversos sobre estos ecosistemas afectando tanto a las condiciones del medio natural como a todos los seres vivos. Los peces, son seres ectotérmicos que dependen de la temperatura del medio en el que se encuentran (Volkoff & Rønnestad, 2020), con lo cual una variación

de esta puede ser fatal para sus poblaciones. Por una parte, la capacidad de adaptación a la variación de las condiciones ambientales es diferente entre las especies. Por tanto, podría darse el caso de que sucedan diversos desplazamientos de poblaciones, que reducirían los recursos necesarios para la supervivencia de las especies endémicas. Además, podrían ocurrir cambios en la alimentación de algunas especies, lo que aumentaría la competencia de los recursos, ya limitados. En este sentido, las especies depredadoras podrían necesitar más alimento, aumentando la presión sobre el fartet y el samaruc, o incluso otras especies omnívoras podrían empezar a depredarlos si escasean sus presas habituales o alimentos vegetales (Jonsson, 2023).

Por otra parte, un aumento de temperatura, ligado a un mayor consumo del oxígeno disuelto en el agua (Beamish & Mookherjee, 2011; Yeong et al., 1995), podría favorecer el crecimiento de las especies invasoras y generar una mayor presión hacia el fartet y el samaruc (Jonsson, 2023). Esto último se debe a que hay varios estudios que han demostrado una mejor capacidad de adaptación de las especies exóticas invasoras en comparación con las especies autóctonas a estos cambios en las condiciones del medio, como los niveles de oxígeno (Byers et al., 2023; Leuven et al., 2011; Zerebecki & Sorte, 2011).

Otros fenómenos que pueden producirse debido al aumento de temperatura son las sequías o la eutrofización de los humedales. Como se ha mencionado, las sequías son una de las principales amenazas que afectan a estos ciprinodóntidos (Figura 2A), y pese a que sean comunes en las localizaciones donde se encuentran debido al clima mediterráneo de la península ibérica, el aumento de temperatura inducido por el cambio climático produciría sequías más prolongadas y con mayor frecuencia, que generaría una mayor presión para sus poblaciones (Giannetto & Innal, 2021). Por otra parte, la eutrofización es un proceso natural que, si bien suele darse por un incremento de los nutrientes en el medio acuático, un aumento de la temperatura en el agua generaría una mayor actividad por parte de plantas acuáticas y algas (Figura 2C) que además de realizar un mayor consumo del oxígeno disuelto, provocaría su reproducción con una mayor frecuencia generando más cantidad de materia orgánica y la eutrofización en este medio (Carrera Villacrés et al., 2018). De esta manera, la falta de luz producida por este proceso y el aumento de materia orgánica acabarían derivando en una prominente pérdida del oxígeno disuelto en el agua favoreciendo el declive de seres vivos.



Figura 2. Humedales con diferentes factores de amenaza: A) Humedal seco. B) Humedal contaminado. C) Eutrofización en ecosistema acuático.

Otro tema de interés se trata de las afecciones hacia las puestas de estas especies. Entre estas las más propensas a ocurrir son la proliferación de hongos, la depredación y los cambios fisiológicos en el embrión o en la larva, una vez haya eclosionado, reduciendo la tasa de eclosión. Por un lado, la proliferación de hongos en sus huevos se trata de un suceso más corriente de lo que podría llegar a considerarse, pues puede darse en temperaturas naturales. Si se produjera un aumento de las temperaturas se favorecería la proliferación de estos organismos sobre los huevos, aunque también puede darse una vez eclosionados, lo cual reduciría en gran medida el número de individuos (Duarte & Maherli, 2022).

Por otro lado, podría aumentar la depredación hacia estos huevos. Dicho esto, si alguna especie cambiara su dieta para alimentarse de estos huevos, o aumentara la cantidad de huevos depredados, afectaría a la supervivencia de la especie a corto plazo, pues al producir una menor cantidad de individuos adultos se volvería más difícil su reproducción provocando un declive elevado de la población (Jonsson, 2023).

1.3. El desarrollo embrionario de teleósteos

Finalmente, existe una considerable falta de información del fartet y del samaruc en cuanto a su desarrollo embrionario se refiere. Si bien existen estudios en especies que disponen fisiologías similares, como el *Valencia robertae* (Kapakos et al., 2024) o el pez cebra (*Danio rerio*) (Orozco-Hernández et al., 2022), se puede comprobar que no hay prácticamente documentación en cuanto al desarrollo de estas dos especies endémicas. Al momento de considerar estudiar el desarrollo embrionario de estos peces dulceacuícolas es necesario centrarse en el desarrollo que presentan los teleósteos. En este sentido, el rango de variación en el desarrollo embrionario dentro de los teleósteos es muy amplio, aunque es cierto que comparten características puntuales durante su desarrollo en los huevos como la formación de los glóbulos de aceite, del eje embrionario o la forma que alcanza el embrión cuando va a eclosionar (Baras et al.,

2018). Por este motivo, la mejor manera de tratar el desarrollo de las especies amenazadas que se han seleccionado es centrarse en el suyo propio y el de especies similares. Los peces elegidos provienen del mismo orden, los ciprinodontiformes, de manera que comparten varias características durante su ciclo reproductivo, pero siguen presentando diferencias claras durante esta etapa.

En este sentido, hay diversos artículos relacionados al pez cebra y al *V. robertae* que pueden servir para acabar de aclarar la información sobre esta etapa del ciclo de vida de los peces escogidos. El pez cebra es una especie perteneciente al orden de los cipriniformes que se encuentra alejado del orden recién mencionado al que pertenecen tanto el fartet como el samaruc, pero incluso con esta característica que los distancia sigue presentando características comunes a estas especies, como las mencionadas previamente, entre las que se puede determinar la forma de los embriones o la presencia de estructuras concretas durante su desarrollo que son generales para muchas especies (Orozco-Hernández et al., 2022).

V. robertae es una especie que pertenece al mismo género que el samaruc. De este modo, se puede apreciar que el desarrollo de sus embriones comienza con la formación de glóbulos de aceite y el eje embrionario. Continúa con la formación de las cavidades oculares y la presencia de células con pigmentación como los melanóforos o los xantóforos a medida que el eje embrionario desarrolla la forma del embrión. Tras unos días, se aprecia que el embrión obtiene un mayor tamaño, la presencia de la red vascular y del corazón y el desarrollo de diversas estructuras como los ojos, la boca o algunas aletas. Un tiempo después, el embrión se encuentra aún más desarrollado alcanzando una forma adecuada, la red vascular está oscurecida debido al paso de la sangre, se puede detectar actividad en las aletas pectorales, en la boca y en el corazón y movimientos del huevo en general. Finalmente, el embrión eclosiona presentando movilidad en las horas próximas a este suceso y una coloración transparente que perderá poco a poco con el paso de los días durante el estado larval a medida que varias estructuras se adaptan hasta presentar la forma adecuada de la larva (Kapakos et al., 2024).

Finalmente, es necesario concluir que la existencia de información de otras especies permite realizar una comparación adecuada entre los distintos estadios. En este sentido, este proyecto resultaría beneficioso para la comunidad científica al comprender en mejor medida el desarrollo de estas especies, aportar más información en cuanto a este ámbito y poder determinar si pueden sobrevivir en estas condiciones climáticas adversas.

2. OBJETIVOS

El objetivo general este trabajo, fue comprobar la capacidad de adaptación de las dos especies amenazadas autóctonas de la Comunitat Valenciana conocidas como el fartet y el samaruc durante su etapa de desarrollo embrionario a tres temperaturas diferentes. Los objetivos específicos que se abordaron durante el estudio fueron:

- ❖ En primer lugar, detallar los estadios del desarrollo embrionario de los huevos de fartet y samaruc a tres temperaturas distintas: 20 °C, 25 °C y 30 °C, para determinar cómo se adaptarían a futuros escenarios climáticos en los cuales se produzca un aumento de la temperatura.
- ❖ En segundo lugar, se buscaría recopilar información sobre las diversas características que presentan los embriones de estas especies como un aporte para la comunidad científica.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

En este apartado se tiene el objetivo de redactar todo el procedimiento que se ha llevado a cabo durante el desarrollo de este proyecto, desde la recolección de los huevos hasta la eclosión de las larvas, incluyendo cada uno de los materiales necesarios y procedimientos relevantes que se han requerido para poder cumplir las metas establecidas.

3.1. Recolección de los huevos

Los huevos de fartet y samaruc se obtuvieron de ejemplares criados *in situ* en el Centro Acuícola de El Palmar (Figura 3A). Tras obtener la suficiente cantidad de huevos (Figura 3B, Figura 3C), fueron llevados a las instalaciones del Instituto de Ciencia y Tecnología Animal (ICTA) del Campus de la Vera de la Universidad Politécnica de Valencia (UPV), lugar donde se llevó a cabo todo el seguimiento.



Figura 3. A) Balsas de cría del Centro Acuícola de El Palmar. B) Proceso de recogida de huevos. C) Huevos en la vegetación sumergida.

3.2. Diseño experimental

En el laboratorio, los huevos de cada especie fueron agrupados en función de los diversos estadios de desarrollo embrionario y los que se encontraban en la fase más temprana fueron repartidos de manera equitativa entre seis placas de Petri, resultando en cuatro huevos de fartet por placa en tres placas y tres de samaruc por placa en las otras tres placas, a excepción del segundo experimento en el cual se depositaron seis huevos de fartet en una placa y cuatro de samaruc en otra. Las placas fueron preparadas con agua a pH 8,2 a la cual se le añadió un 0.02% de azul de metileno para evitar o reducir la proliferación de hongos sobre los huevos (González-Fernández, 2012). Tras esto, se dividieron las placas en tres grupos experimentales, T20, T25 y T30, (Figura 4) y se mantuvieron en estufas de incubación establecidas a $20 \pm 0,2$, $25 \pm 0,1$ o $30 \pm 0,1$ °C respectivamente.

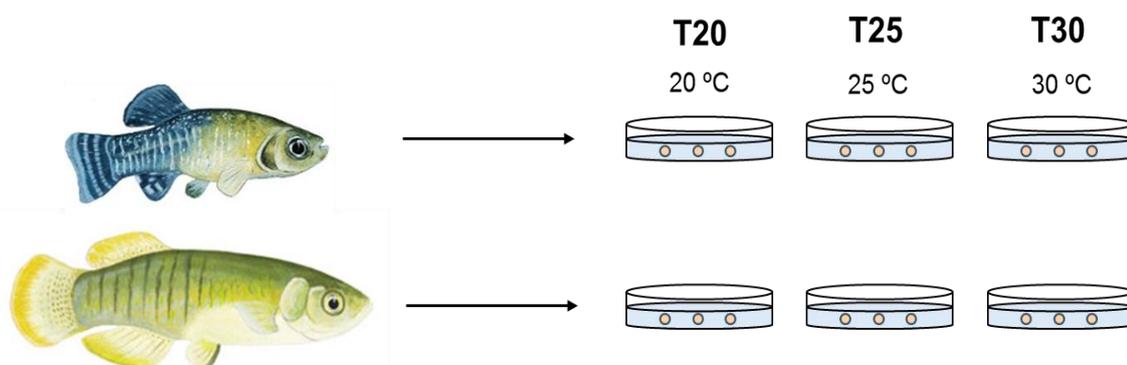


Figura 4. Esquema del diseño experimental para el cual se consideraron tres grupos experimentales (T20, T25 y T30) a tres temperaturas (20, 25 y 30 °C) para cada especie.

3.2.1. Desarrollo embrionario a diferentes temperaturas

Se realizó un estudio diario de las condiciones en las que se encuentra cada placa para comprobar en que estadio se encuentran los huevos, que no surjan riesgos que puedan afectar de manera perjudicial la situación de cada placa y para disponer de un registro de la ocurrencia de las eclosiones o muertes que sucedan. Además, durante varios días se recopilaban las pulsaciones por minuto de varios huevos para cada una de las tres temperaturas a medida que avanzaban sus estadios, de esta manera se dispone de esta información adicional de cómo puede afectar una mayor temperatura a otros aspectos fisiológicos del embrión.

El seguimiento consistió en que diariamente, desde el 27/05 hasta el 06/07 se retiraban las placas de cada una de las tres estufas, se trasladaban a la lupa (Figura 5A, Figura 5B), se obtenía la información necesaria (Figura 5C), y se depositaban de nuevo en la estufa correspondiente. Esta información se trata del material visual, ya sean fotos o

vídeos, mediante la utilización de una lupa Leica que tiene instalada una Moticam 1080N, usando el programa Motic Images Plus 3.1 (Figura 5B). Hay dos medidas principales que se debieron adoptar durante el procedimiento principal. Por una parte, se realizaron cambios de agua diario para renovar el oxígeno disuelto en el agua.



Figura 5. A) Proceso de observación de los embriones y toma de datos. B) Lupa Leica y Moticam 1080N conectada a un ordenador. C) Embriones de samaruc.

En segundo lugar, como se ha mencionado anteriormente, el azul de metileno es un compuesto que evita o reduce la proliferación de los hongos en las placas (González-Fernández, 2012). Por tanto, cuando se apreciaba la proliferación de hongos en alguno de los huevos, se debía de preparar una nueva placa con el agua a pH 8,2 dispuesta a la temperatura adecuada y añadir un 0,02% de azul de metileno. En el caso de observar huevos muertos, se retiraban de la placa.

3.2.2. Cuidado y mantenimiento de las larvas

A lo largo del estudio se podía dar el caso que los huevos eclosionaran pasado cierto tiempo. En este caso, las larvas eclosionadas eran retiradas de la placa en cuestión y se mantenían en un vaso de precipitados en su estufa correspondiente. Además, se calculó la tasa de eclosión para cada una de las placas de forma que $Tasa\ de\ eclosión\ (\%) = \frac{Número\ de\ eclosiones}{Número\ total\ de\ huevos}$. Este cambio de recipiente se debe a que las larvas requieren de una mayor cantidad de espacio para poder desplazarse y, lo más importante, porque requieren de una mayor cantidad de oxígeno disuelto en el agua al realizar una actividad más elevada que los huevos. Al considerar lo recién mencionado, se puede concluir que las larvas también requerían de cambios de agua diarios. Estos se realizaban, como en el caso de las placas, utilizando el agua a la temperatura adecuada y mediante la retirada y reposición de un volumen concreto del agua del vaso para reponer la concentración de oxígeno. A partir de los 5 días post-eclosión, las larvas eran alimentadas con pienso comercial para peces de tamaño de pellet < 100 μm . Posteriormente los individuos supervivientes se devolverían al Centro Acuícola del Palmar.

4. RESULTADOS

Se han recopilado una amplia variedad de datos para determinar los cambios, inducidos por las temperaturas aplicadas, en las características del desarrollo embrionario de estas dos especies amenazadas. De esta manera, a lo largo de este apartado se va a detallar el desarrollo de los embriones durante el seguimiento, comentando, a su vez, todos los datos obtenidos para poder considerar, a continuación, su implicación en la comunidad científica.

4.1. Desarrollo embrionario en fartet y samaruc

En primer lugar, es necesario conocer el desarrollo de los embriones, desde sus etapas más tempranas hasta la eclosión de las larvas, para poder tratar los resultados obtenidos, por lo que se han decidido utilizar los huevos del grupo T20, al tratarse de la temperatura natural del medio. Dicho esto, como las dos especies presentan diferencias claras es adecuado dividir el contenido de este apartado en dos partes, una para cada especie. Otro punto que es necesario aclarar antes de comenzar consiste en que no se han podido obtener huevos en estadios más tempranos que los que se van a indicar para cada especie, por ello se puede apreciar la falta de estadios previos en estos peces.

4.1.1. Fartet

Todo el desarrollo embrionario del fartet se puede observar con detalle en la Figura 6 (página siguiente). Entre las 0 horas y las 24 horas tras la recolección de los huevos se puede apreciar el “Estadio 1” (Figura 6A), en el cual se encuentra presente el embrión (em) que empieza a desarrollar la cabeza, algunos glóbulos de aceite (ga) que varían para cada huevo, la presencia de diversos melanóforos (mf) a lo largo de la yema del huevo y sobre el cuerpo del embrión y la formación de un corazón (cz) decolorado en una fase temprana, indicando la existencia de una red vascular (rv). Entre las 24 y 48 horas alcanzan el “Estadio 2” (Figura 6B). Se puede comprobar los primeros indicios de la presencia de xantóforos (xf), un aumento de la cantidad de los melanóforos en el embrión, un mayor tamaño de la cabeza con la presencia de copas ópticas (co) y un desarrollo final del corazón. Entre las 48 y 72 horas llegan al “Estadio 3” (Figura 6C). Se aprecia un mayor tamaño y longitud del embrión en general, tanto en la cabeza con las copas ópticas como en el cuerpo, una red vascular que comienza a oscurecerse, un aumento de la cantidad y tamaño de los xantóforos en la yema y los melanóforos más desarrollados. El día 4 alcanzan el “Estadio 4” (Figura 6D). En este se muestra un ligero aumento del tamaño del embrión, la boca y las copas ópticas más desarrolladas, una coloración en zonas concretas del embrión junto a la presencia de pigmentación (pg) a

lo largo de este, se puede vislumbrar la formación de una conexión entre la yema del huevo y la zona ventral del embrión a partir de una pigmentación, los melanóforos han desarrollado un tamaño mayor a lo largo del huevo /y del embrión, también un nuevo patrón en el cuerpo del embrión y comienza a realizar movimientos. El día 5 llegan al “Estadio 5” (Figura 6E). La coloración se ha extendido comenzando a cubrir todo el cuerpo en el cual se vislumbra cierto grado de transparencia, el patrón que forman los melanóforos del cuerpo del embrión comienza a volverse más notable y la red vascular continúa oscureciéndose.

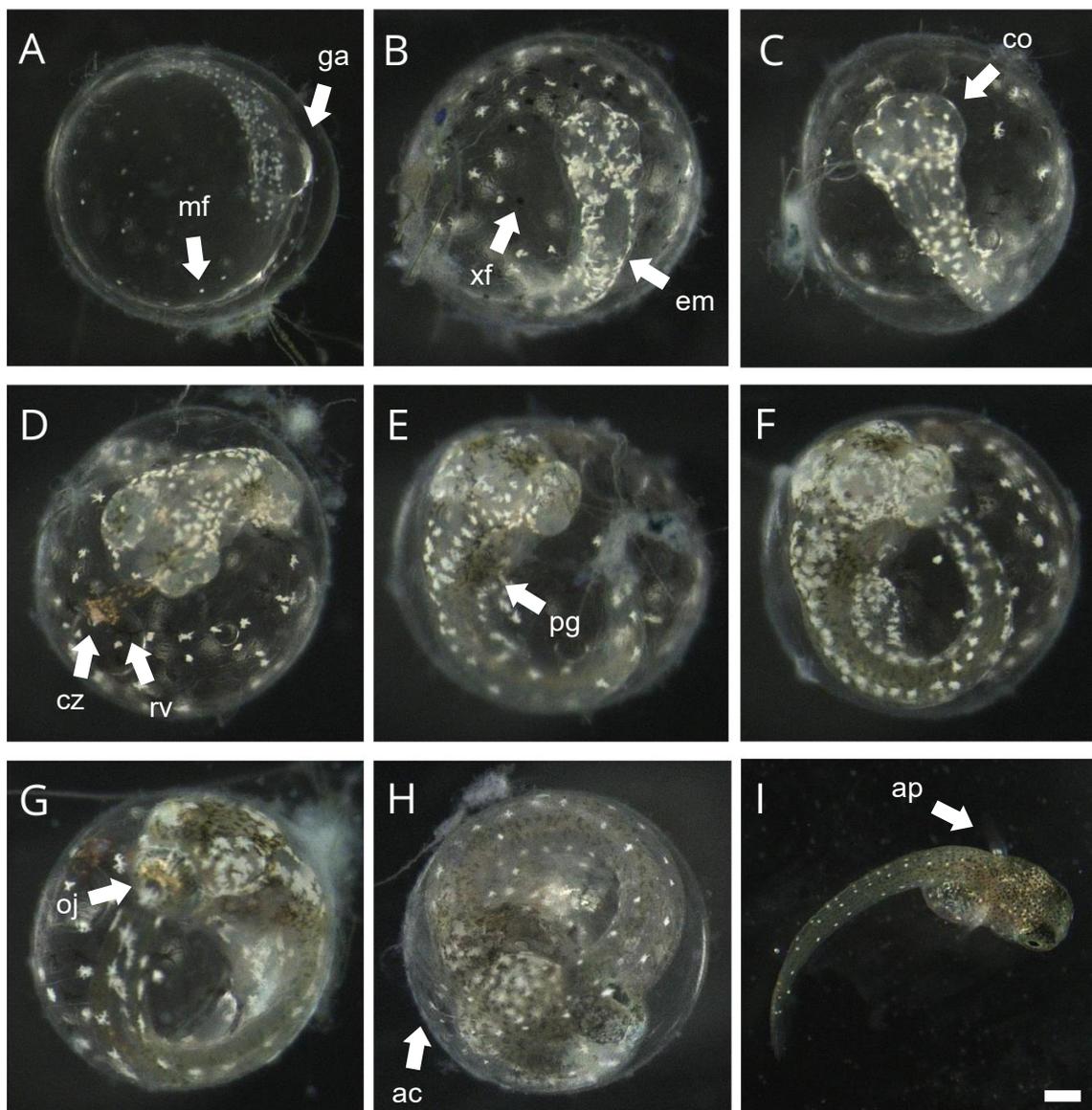


Figura 6. Estadios embrionarios del fartet (*A. Iberus*): A) Estadio 1. B) Estadio 2. C) Estadio 3. D) Estadio 4. E) Estadio 5. F) Estadio 6. G) Estadio 7. H) Estadio 8. I) Eclosión de la larva. Abreviaturas: mf: melanóforos; ga: glóbulo de aceite; xf: xantóforos; em: embrión; co: copas ópticas; cz: corazón; rv: red vascular; pg: pigmentación; oj: ojo; ac: aleta caudal; ap: aleta pectoral. Barra de escala: 0.3 mm

El día 6 llegan al “Estadio 6” (Figura 6F), en el cual la coloración se ha extendido a lo largo del embrión a excepción de algunas zonas en las que se puede apreciar cierta transparencia, la cantidad de pigmentación en el embrión también aumenta, el patrón de los melanóforos es más marcado, también se aprecia el oscurecimiento de la red vascular, un desarrollo casi completo de estructuras como la boca y las copas ópticas, la formación de estructuras de movilidad como la aleta caudal (ac) y un aumento en la actividad. El día 7 pasan al “Estadio 7” (Figura 6G) donde se puede comprobar un aumento en el tamaño y la longitud del embrión, la coloración se ha extendido en mayor medida con transparencia en determinados lugares, se aprecian las aletas pectorales (ap) y la caudal en mejor medida, han desarrollado las copas ópticas en las cuales se pueden discernir los ojos (oj), la red vascular se ha oscurecido un poco más y una mayor actividad por parte del embrión tanto en su movilidad como en las aletas pectorales. A partir del día 9 se ubican en el “Estadio 8” (Figura 6H). El embrión presenta un mayor tamaño en todo el cuerpo con especial mención en la anchura de la cola y de la cabeza, se encuentra prácticamente colorado y pigmentado, la yema se ha pigmentado en buena medida y comienza a palpar, la red vascular se encuentra más oscurecida apreciándose los diversos conductos vasculares, hay una actividad constante del embrión tanto en su movilidad dentro del huevo como en las aletas pectorales y, a veces, intentos para romper el huevo con la cola. Finalmente, entre el día 11 y 12 eclosionan las larvas de fartet (Figura 6I).

4.1.2. Samaruc

Entre las 0 horas y las 24 horas tras la recolección de los huevos se puede apreciar que cada huevo contiene una determinada variedad de glóbulos de aceite (ga) y un eje embrionario (ej) que se encuentra desarrollando la forma del embrión. A esta fase la denominaremos “Estadio 1” (Figura 7A), tal y como se dio en el caso del fartet. Entre las 24 y 48 los huevos llegan al “Estadio 2” (Figura 7B). Se puede comprobar la aparición de xantóforos (xf) y de melanóforos (mf) a lo largo de la yema, la formación de los últimos en el embrión (em) que presenta la longitud adecuada con un mayor tamaño y la presencia de la cabeza diferenciada, también se distinguen las copas ópticas (co). Entre las 48 y 72 horas alcanzan el “Estadio 3” (Figura 7C). El embrión crece en tamaño, los melanóforos y xantóforos se desarrollan más, la red vascular (rv) empieza a oscurecerse, comienza a aparecer pigmentación (pg) en el embrión y se observa un corazón decolorado en fase temprana. Al cuarto día de desarrollo alcanzan el “Estadio 4” (Figura 7D). En este se aprecia como la red vascular se ha oscurecido en mayor medida a lo largo de sus conductos, que los melanóforos se encuentran más desarrollados, como se han desarrollado las copas ópticas en mayor medida, un

aumento en el tamaño y longitud del embrión, una extensión de su pigmentación, el comienzo de su coloración a lo largo del cuerpo, se puede vislumbrar el corazón en una fase final y movimientos espontáneos cada cierto tiempo. Al sexto día llegan al “Estadio 5” (Figura 7E), en el cual se ha extendido la coloración y la pigmentación a lo largo del cuerpo, la red vascular está mucho más oscurecida, se aprecia un leve aumento del tamaño y longitud del embrión, ha aparecido una conexión entre la yema y la zona ventral. En este estado se aprecia la formación de estructuras como las aletas pectorales (ap), las copas ópticas se encuentran desarrolladas del todo diferenciándose los ojos (oj) y presentan una actividad mayor.

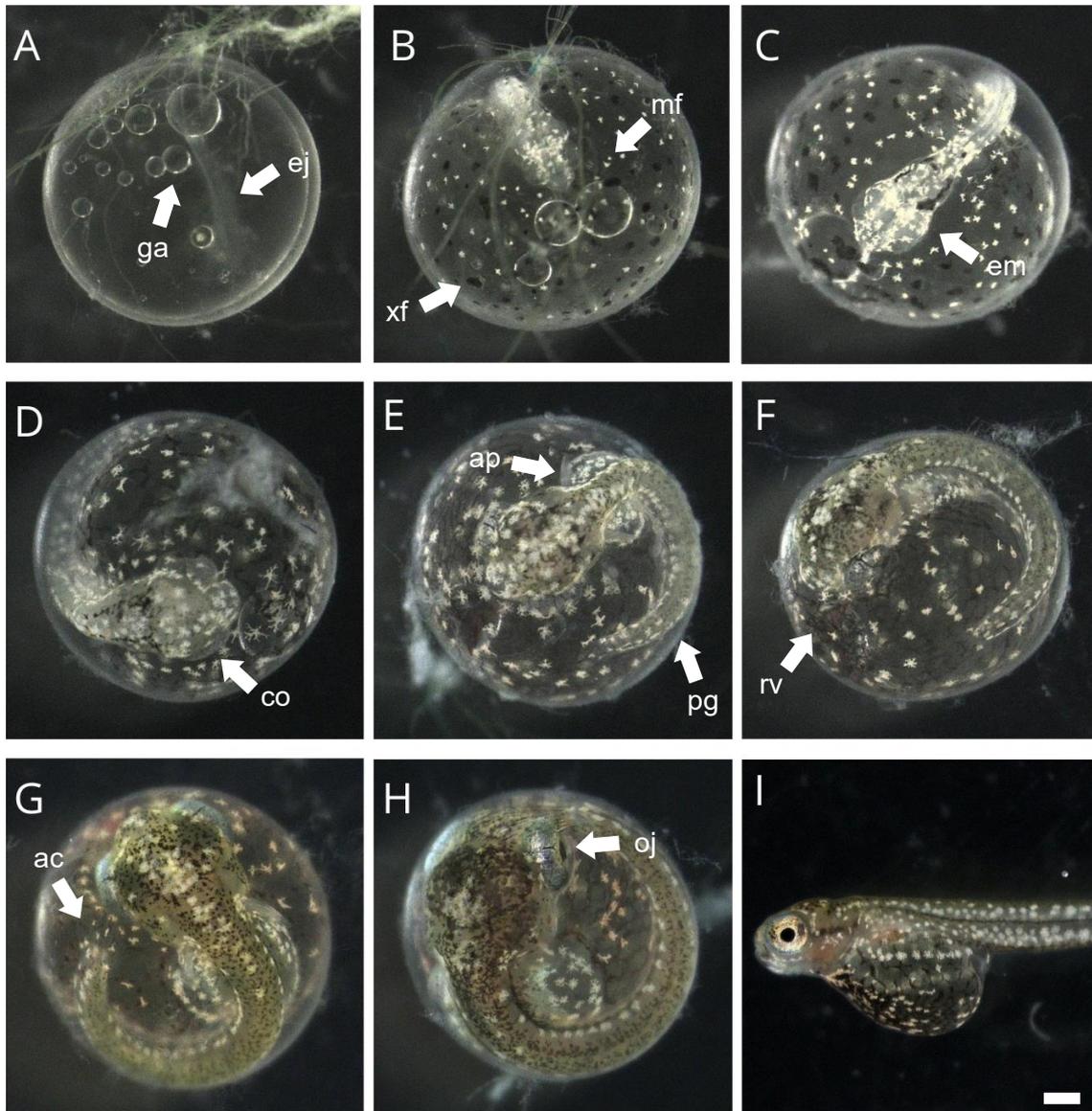


Figura 7. Estadios embrionarios del samaruc (*V. hispanica*): A) Estadio 1. B) Estadio 2. C) Estadio 3. D) Estadio 4. E) Estadio 5. F) Estadio 6. G) Estadio 7. H) Estadio 8. I) Eclósión de la larva. Abreviaturas: ga: glóbulo de aceite; ej: eje embrionario; xf: xantóforos; mf: melanóforos; em: embrión; co: copas ópticas; ap: aleta pectoral; pg: pigmentación; rv: red vascular; ac: aleta caudal; oj: ojo. Barra de escala: 0.5 mm

El día 7 pasan al “Estadio 6” (Figura 7F) donde se puede comprobar un aumento leve en el tamaño y longitud del embrión, se aprecia una mayor actividad en las aletas y en el cuerpo, el patrón de los melanóforos se encuentra más marcado, la red vascular está oscurecida del todo, la pigmentación de la yema se ha extendido y estructuras como las copas ópticas se encuentran desarrolladas al completo. El día 9 se ubican en el “Estadio 7” (Figura 7G), donde se ha producido un leve aumento en el tamaño del embrión, la coloración se ha extendido en mayor medida con un tono más oscuro y la pigmentación también y se aprecia por primera vez la aleta caudal (ac) sin dificultades. El día 14 alcanzan el “Estadio 8” (Figura 7H), donde el embrión ha alcanzado un mayor tamaño en todo el cuerpo resaltando la cabeza y una mayor longitud, ha adoptado una coloración y pigmentación más oscuras que se extenderán con el tiempo, la yema se ha pigmentado en mayor medida y se aprecia una mayor actividad de la larva. Finalmente, entre el día 16 y el día 18 eclosionan las larvas (Figura 7I).

4.2. Efectos de la temperatura en el desarrollo embrionario

4.2.1. Comparación del desarrollo embrionario a distintas temperaturas

En la primera sección se realiza una comparación, para cada especie, del tiempo que tardaron los huevos en alcanzar los diferentes estadios de desarrollo embrionario, determinados en el apartado anterior, para las tres temperaturas aplicadas (20, 25 y 30 °C) en los 3 grupos experimentales (T20, T25 y T30). En el caso del fartet, se pudo determinar que este ciprinodóntido es una especie con un desarrollo embrionario considerablemente rápido, pues el grupo T20 alcanza cada estadio a un ritmo prácticamente diario, hasta alcanzar el “Estadio 8” en el día 9.

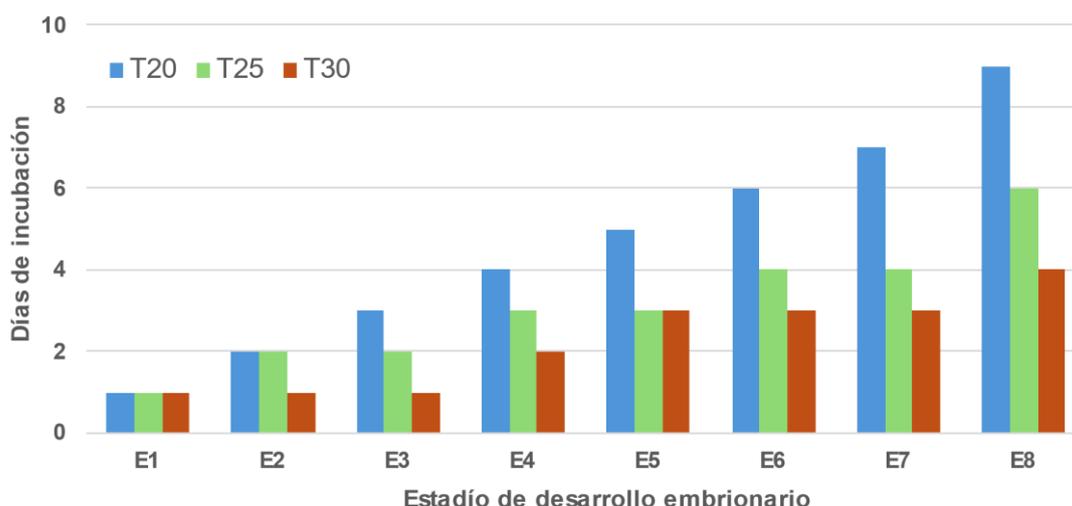


Figura 8. Tiempo en el cual los embriones de fartet de los tres grupos experimentales (T20, T25 y T30) alcanzaron cada estadio a 20 °C, 25 °C y 30 °C, respectivamente.

En la Figura 8 se puede determinar que el fartet es una especie con un desarrollo considerablemente rápido, pues el grupo T20 alcanza cada estadio a un ritmo prácticamente diario, aunque necesitan alrededor de 9 días para alcanzar el “Estadio 8”. Con el aumento de la temperatura consiguen disminuir los días necesarios llegando a ahorrar 3 días a T25 y 5 días a T30, de manera que este último grupo solo requiere la mitad del tiempo que consumen a la temperatura ambiente. A su vez, también se puede apreciar que el grupo T20 muestra una separación temporal notable con el resto de los grupos en comparación a la separación entre T25 y T30.

Por otra parte, en la Figura 9 se puede apreciar que a 20 °C el samaruc tiene un desarrollo rápido en los estadios tempranos, pero a medida que alcanzan fases más tardías requieren de una mayor cantidad de tiempo para llegar a las etapas restantes, como ocurre con el “Estadio 8”. A temperaturas superiores, su ritmo se vuelve más veloz provocando que alcancen cada estadio de manera diaria durante todo el desarrollo y reduciendo el tiempo que necesitan a la mitad. En este sentido, los huevos del grupo T20 necesitaron 5 días para transicionar del estadio 7 al 8, mientras que los huevos del grupo T25 y T30 lo hicieron en 24 horas.

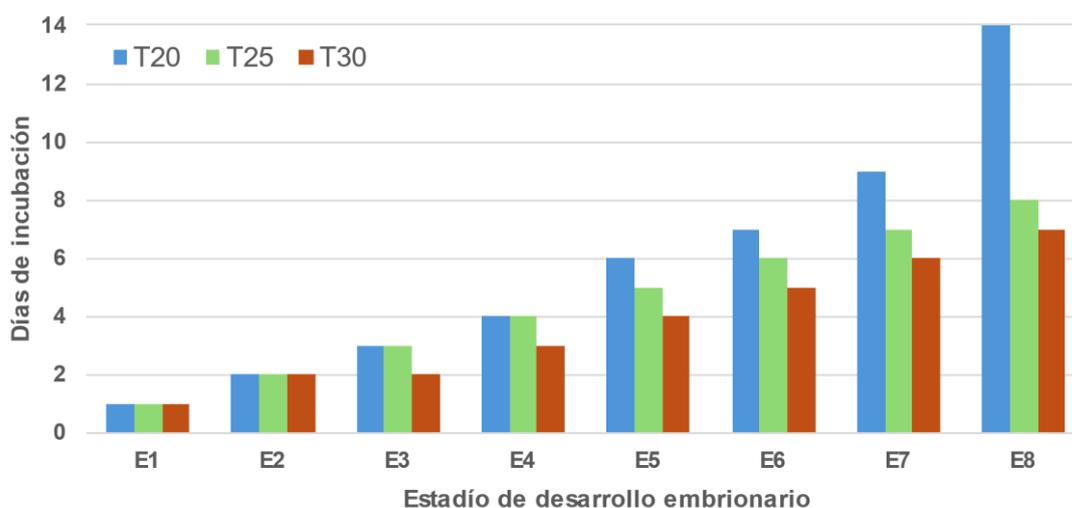


Figura 9. Tiempo en el cual los embriones de samaruc de los tres grupos experimentales (T20, T25 y T30) alcanzaron cada estadio a 20 °C, 25 °C y 30 °C, respectivamente.

Comparando entre ambas especies, el fartet presenta un desarrollo embrionario más rápido que el samaruc. De esta manera, se puede apreciar que elevar las temperaturas permite, independientemente para las dos especies, que estos peces se desarrollen con solo la mitad del tiempo que necesitarían a la temperatura habitual de sus localizaciones, y que se adapten reduciendo el tiempo que consumen para alcanzar cada estadio.

4.2.2. Pulsaciones por minuto a distintas temperaturas

La siguiente sección se trata de una comparación de las distintas pulsaciones por minuto de los corazones de los embriones, las cuales fueron recopiladas a lo largo del seguimiento desde que este era visible en el desarrollo embrionario. Para ello, se contabilizaron (por triplicado) las pulsaciones durante 1 minuto de todos los huevos en la placa si las condiciones, como la visibilidad del corazón, lo permitían.

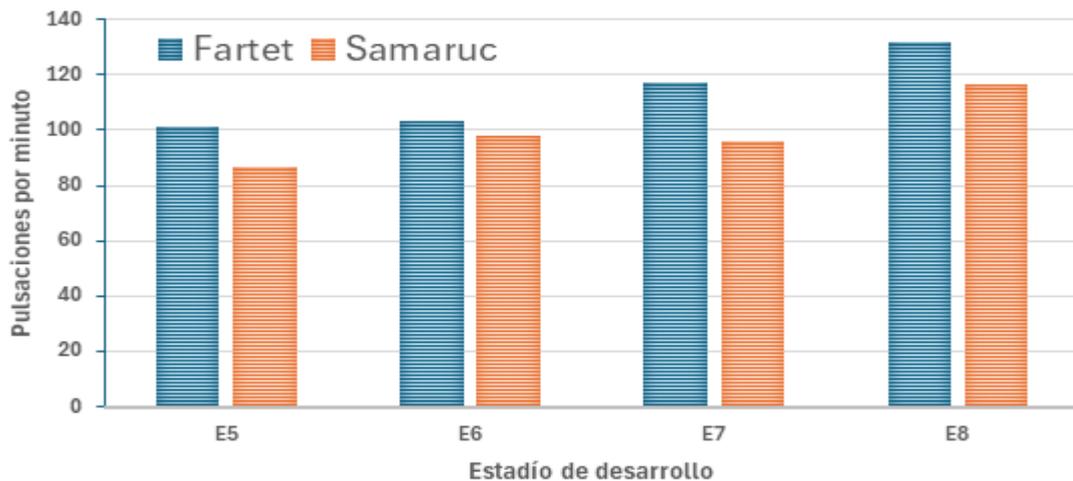


Figura 10. Pulsaciones por minuto de los embriones de fartet y de samaruc en diferentes estadios de desarrollo a una temperatura de 20 °C.

En la figura 10 se muestran las medias obtenidas de las pulsaciones por minuto recopiladas de los embriones de fartet y de samaruc para distintos estadios del desarrollo embrionario en el grupo T20. Como se puede apreciar, los embriones de las dos especies muestran un aumento de estas pulsaciones a medida que avanzan a través de los estadios debido a varios factores como, por ejemplo, su corazón, el cual en los estadios iniciales se encuentra decolorado (Figura 12A) y, a medida que se desarrolla, se va colorando (Figura 12B) al mismo tiempo que gana tamaño hasta que alcanza un estado final (Figura 12C).

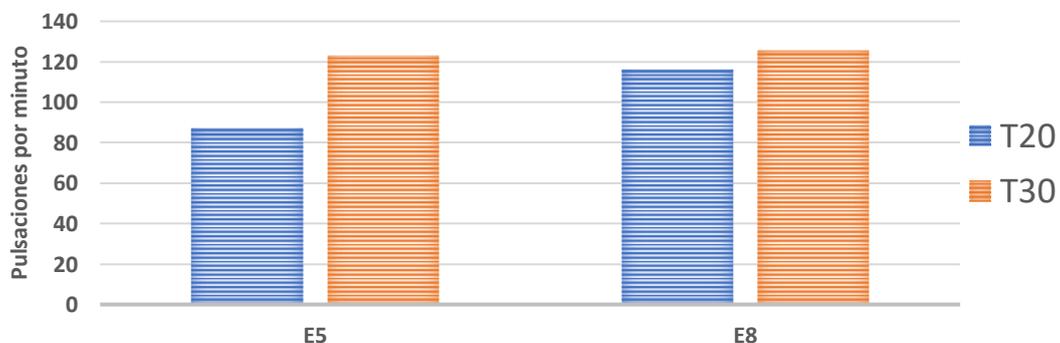


Figura 11. Pulsaciones por minuto de los embriones de fartet y de samaruc en diferentes estadios de desarrollo a una temperatura de 20 °C.

En la Figura 11 se pueden comprobar las medias de las pulsaciones en dos estadios distintos para los grupos T20 y T30 de los embriones de fartet y samaruc. Dicho lo anterior, las pulsaciones a 20 °C aumentan considerablemente a medida que los embriones se desarrollan hasta que alcanzan los valores de las pulsaciones a 30 °C, las cuales se mantienen constantes a lo largo del desarrollo.

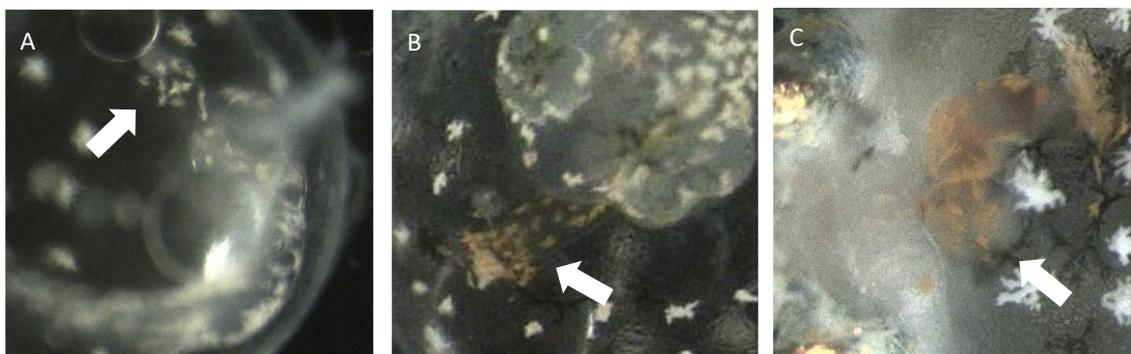


Figura 12. A) Corazón de fartet recién formado. B) Corazón de fartet en desarrollo. C) Corazón de fartet desarrollado.

En el caso del fartet se aprecia que las temperaturas no provocan un aumento de las pulsaciones de manera considerable, pues, por ejemplo, las pulsaciones a T30 son inferiores en comparación al resto de grupos. Por parte del samaruc, se aprecia que cada temperatura engloba un rango de pulsaciones, de manera que al aumentar la temperatura las pulsaciones se vuelven superiores incluso antes de alcanzar los últimos estadios. Al comparar entre ambas especies, los embriones de fartet muestran una mayor actividad cardíaca que los de samaruc. De igual manera, se puede ver que las dos especies manifiestan un aumento de pulsaciones a lo largo de su desarrollo, y el samaruc muestra cierto incremento a medida que se elevan las temperaturas.

4.2.3. Tiempos de eclosión (*hatching rates*) a diferentes temperaturas

La tercera sección se basa en una comparación de los tiempos de eclosión de los embriones para cada una de las tres temperaturas. Por otro lado, también se busca realizar una comparación del tiempo de eclosión entre las dos especies.

En la figura 13, se puede apreciar que los huevos de fartet incubados a 30 °C eclosionaron en primer lugar 3 días antes que los de 25 °C y 8 días de diferencia con los de 20 °C. De este modo, los huevos a 30 °C tardaron 4 días en eclosionar, los de 25 °C en 7 días y los de 20 °C 11 días. En el caso del samaruc, se puede comprobar que los huevos incubados a 30 °C eclosionaron 1 día antes que los de 25 °C y 7 días antes en comparación con los de 20 °C. De esta manera, los huevos a 30 °C tardaron 10 días en eclosionar, los de 25 °C en 11 días eclosionaron y los de 20 °C en 17 días.

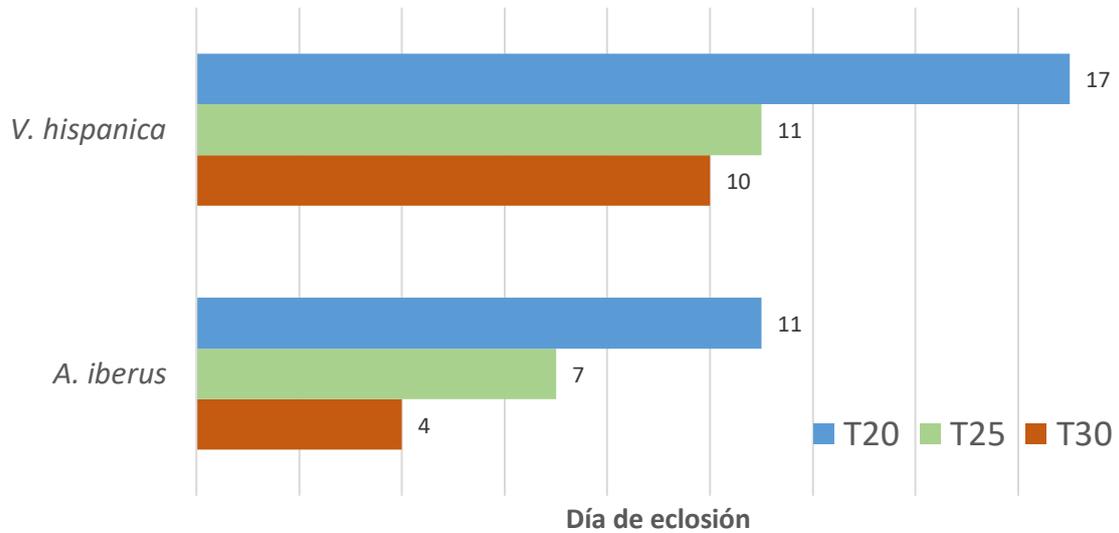


Figura 13. Días en los que eclosionaron los huevos de fartet y de samaruc a 20, 25 y 30 °C.

Este “periodo de eclosión” comienza cuando la larva empieza a realizar esfuerzos para romper el huevo (Figura 14A), pasando por la pre-eclosión (Figura 14B) y dejando atrás el huevo vacío (Figura 14C) una vez ha eclosionado.

Para ambas especies existe un patrón de eclosión inducido por la variación de las temperaturas, de manera que los de 30 °C eclosionan primero, seguidos por los de 25 °C y finalizando con los de 20 °C. Finalmente, al revisar los tiempos de eclosión, se puede detectar que los huevos de las dos especies presentan una amplitud temporal pequeña entre los grupos T30 y T25 que se vuelve mayor entre los grupos T25 y T20. En este sentido, para el fartet la primera separación temporal es de 3 días y la segunda de 4 días, mientras que para el samaruc la primera separación es de 1 día y la segunda es de 6 días.

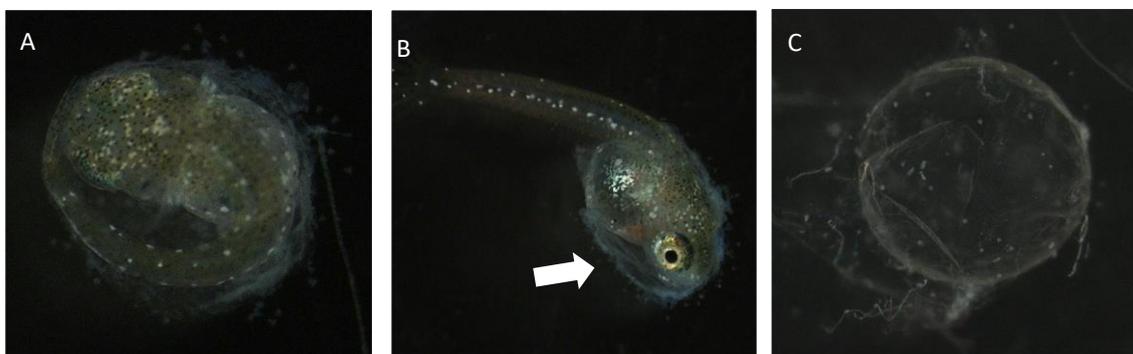


Figura 14. A) Larva de fartet en periodo de eclosión. B) Larva de fartet en estado pre-eclosión con la parte caudal fuera del huevo y el resto dentro del huevo. C) Huevo de fartet vacío tras la eclosión.

4.2.4. Tasa de eclosión a diferentes temperaturas

Por último, se evaluó el éxito de tasa de eclosión de los huevos tanto de fartet (*A. iberus*) como de samaruc (*V. hispanica*). En la Figura 15 se muestran las tasas de eclosión de los embriones de fartet y samaruc en cada grupo (T20, T25 y T30) a partir de los porcentajes de eclosión y muertes que han ocurrido a lo largo del seguimiento. Se puede apreciar que tanto para T20 como para T25 no se produjeron eclosiones fallidas y, por ende, llegaron a eclosionar todos los huevos, incluso con la presencia de hongos en alguna de las placas que pueden provocar las muertes de los embriones. En T30 se aprecia una tasa de eclosión inferior del 33% debido a que la mayoría de los huevos en estas placas murieron, lo cual se debe a que la incubación a 30 °C es más propensa a favorecer la muerte de los embriones ya que, por ejemplo, en todas las placas a esta temperatura han surgido hongos reduciendo en gran medida las posibilidades de eclosión. En relación con el samaruc (*V. hispanica*), las incubaciones a diferentes temperaturas han mostrado que mientras que a 20°C la tasa de eclosión fue del 100%, a medida que las temperaturas fueron superiores (T25 y T30) el éxito en la eclosión fue disminuyendo al 50% (25°C) y 14% (30°C). Estos datos mostrarían como los embriones de samaruc tienen una menor tolerancia a altas temperaturas de incubación.

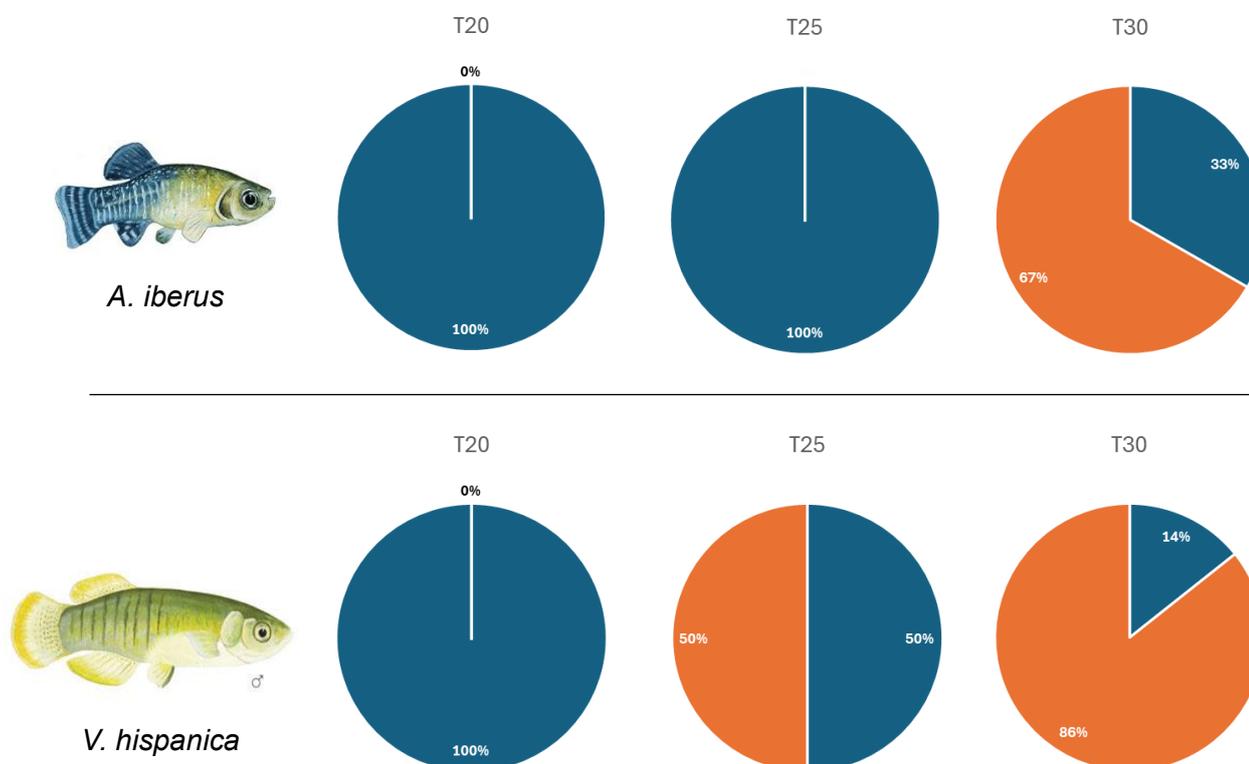


Figura 15. Tasas de eclosión de los embriones de fartet y de samaruc de los tres grupos experimentales (T20, T25 y T30) a 20 °C, 25 °C y 30 °C, respectivamente. El color azul es el porcentaje de eclosiones en las placas y el naranja el porcentaje de muertes.

Por lo que respecta a la tasa de eclosión del samaruc, a T20 han eclosionado todos los huevos sin inconvenientes, pero debido, principalmente, a la proliferación de hongos (Figura 16A, Figura 16B) a T25 han eclosionado la mitad de los huevos y a T30 solo llegó a eclosionar una larva de todos los huevos que se han incubado durante el proyecto, teniendo una tasa de eclosión del 14%.

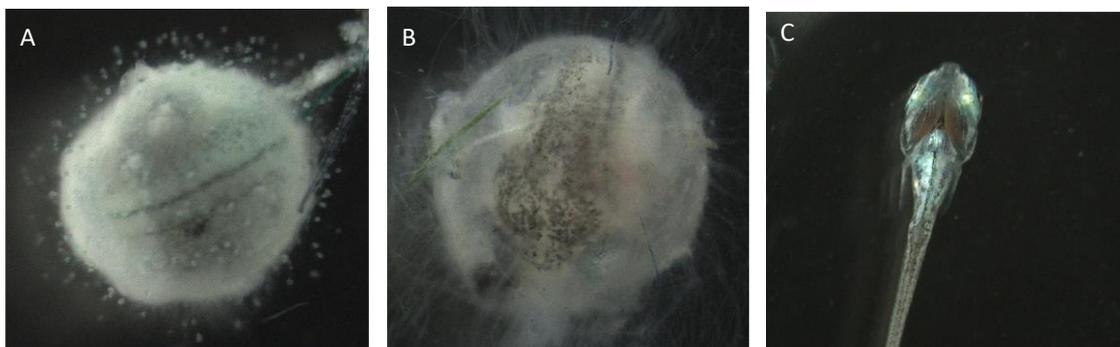


Figura 16. A) Primera proliferación de hongos infestando un huevo de samaruc. B) Segunda proliferación de hongos infestando un huevo de samaruc. C) Larva de samaruc en proceso de defunción.

Un punto que se puede mencionar está relacionado con las larvas eclosionadas. Aunque no presentaron deficiencias físicas, algunas mostraban actitudes singulares, como una movilidad muy reducida, que derivaron en su decoloración, transparencia (Figura 16C) e incluso la aparición de hongos a medida que pasaba el tiempo, características que son indicadores de su muerte. De esta manera, se puede apreciar que hay diversas causas que provocaron la muerte de los individuos estudiados.

En cuanto a la comparación entre ambas especies, se puede determinar que el caso de los embriones de fartet ha resultado más favorable que el de los embriones de samaruc, pues la primera especie ha tenido un porcentaje de eclosión más elevado en cada grupo. Para finalizar, las tasas de éxito de la eclosión de los huevos de fartet han resultado en valores bastante positivos presentando una media total de huevos eclosionados del 77%, mientras que el caso del samaruc ha tenido resultados peores debido a que su porcentaje de eclosión general es del 54%. La de fartet se puede considerar como un valor bastante positivo al solo presentar muertes en el grupo T30 y el samaruc se puede considerar positivo, en menor medida, porque en general un poco más de la mitad de los huevos utilizados han llegado a eclosionar, lo cual es bastante favorable para la especie.

5. DISCUSIÓN

Finalmente, se va a realizar una discusión en la cual se busca desarrollar todos los datos recopilados y enfrentarlos a otros temas de interés relacionados a estas dos especies amenazadas para poder determinar la implicación que tiene este seguimiento en la comunidad científica. El contenido de este documento se relaciona a una amplia variedad de estrategias y planes de nivel internacional entre las cuales se deben considerar los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Dentro de los 17 objetivos el proyecto guarda relación con dos en concreto, el Objetivo 13 (Acción por el clima) y el Objetivo 15 (Biodiversidad y ecosistemas). Por un lado, se conecta al Objetivo 13 debido a que el cambio climático es una de las principales temáticas abarcadas en este trabajo, teniendo una elevada importancia durante su desarrollo al tener el objetivo de conseguir resultados en base a la variación de la temperatura para su aprovechamiento en futuras actuaciones. Por el otro lado, se conecta al Objetivo 15 porque se busca mejorar el estado de conservación tanto del fartet como del samaruc que son especies de peces dulceacuícolas y, por lo tanto, sus hábitats se encuentran en las aguas continentales, ecosistemas incluidos junto a los ecosistemas terrestres en el Objetivo 15.

La situación en la cual se encuentran las poblaciones de estos peces dulceacuícolas sigue situada en un estado frágil, pues las diversas actuaciones desarrolladas para favorecer su conservación no consiguen evitar que sus ejemplares se vean afectados por la presencia de las distintas amenazas que los oprimen con sus efectos perjudiciales (*Acuicultura, Fisiología y Reproducción: Estudios Con Fartet y Samaruc*, 2019; Blanes-García et al., 2021; Facca et al., 2020). La problemática que deben de superar estos seres dulceacuícolas es el aumento continuo de las presiones ejercidas por sus amenazas y que las actuaciones no son suficientes para ejercer una fuerza opuesta que frene esta reducción constante y ascendente que sufren estos ciprinodontiformes (*IUCN Red List of Threatened Species*, 2024).

De esta manera, es adecuado aprovechar los resultados obtenidos para poder determinar cómo se verán afectados los estados de estas especies a largo plazo, plantear cualquier medida adecuada para mejorarlos y reducir, en el proceso, los efectos adversos que generan estas amenazas. Para lograr este objetivo, es conveniente dividir la discusión en diversos apartados en torno a variados ámbitos que se relacionan a estos animales como las diferencias embrionarias de estas especies, su capacidad de adaptación a la variación de las temperaturas en comparación con otros estudios y la disposición de una serie de actuaciones que favorezcan su conservación.

5.1. Desarrollo embrionario en ciprinodóntidos ibéricos

El fartet y el samaruc son dos especies que presentan una considerable escasez de información en cuanto a las etapas tempranas de su desarrollo. Pueden existir varias razones detrás de esta situación, como que no hubiera un requerimiento para realizar los seguimientos o que supongan un gasto innecesario debido a la necesidad de hacer muestreos y de consultar constantemente el estado de los huevos, pero nunca se ha considerado un inconveniente debido a que existen otros seguimientos que se pueden utilizar como base para determinar las diversas características, comportamientos y procesos que ocurren durante esta etapa y por qué se tratan de dos especies de interés gracias a sus estados de conservación. Mediante estos estudios, se han podido corroborar los datos recopilados favoreciendo el llenado de este vacío de información, pues el aumento de los conocimientos que se disponen sobre las etapas del ciclo de vida de cualquiera de estas especies es de gran utilidad (López-Solano et al., 2023).

En primer lugar, la primera característica que se va a considerar es el desarrollo embrionario, más concretamente el tiempo requerido para completarlo en cada especie. En el caso del fartet, se puede comprobar que su desarrollo es rápido y directo, pues supera cada estadio de manera diaria, al contrario que el samaruc que presenta un desarrollo más lento al requerir de una mayor cantidad de tiempo para avanzar a través de los estadios más complejos hasta que necesita varios días para alcanzar la siguiente etapa. El tiempo que requiere cada especie puede verse influenciado por sus diferencias biológicas como ocurre en el caso del fartet que presenta una mayor actividad embrionaria en comparación al samaruc o en el caso del samaruc al requerir de un mayor tiempo para desarrollarse al completo en comparación al fartet.

En segundo lugar, se encuentran las pulsaciones por minuto de los corazones de los embriones. Antes de comenzar a detallar la información obtenida, es necesario comentar que esta característica en cuestión fue la más complicada de determinar y la que dispone de una mayor escasez de datos por diversos factores como la ubicación del corazón que, por la posición del huevo, dificultaba su visualización, la visibilidad reducida del corazón por la presencia de estructuras obstruyendo su visualización, los errores al contar las pulsaciones o la falta de huevos debido a su muerte previa, que dificultaba obtener los datos suficientes para obtener la media del estadio. Estos factores provocaron la ausencia de datos y la poca precisión en determinados estadios, lo cual genera desconfianza a la hora de apreciarlos en los gráficos.

Por un lado, se puede corroborar que para las dos especies se produce un aumento de las pulsaciones a medida que avanzan a través de los estadios, teniendo en cuenta que

el "Estadio 8" presenta un aumento considerablemente elevado en comparación a los anteriores. Esto se debe a que cada estadio que se supera supone una etapa más desarrollada del embrión provocando que tenga que realizar esfuerzos superiores y que presente una actividad mayor cuanto más cerca se encuentra de la eclosión, por lo que la actividad cardíaca se ve incrementada y, por consiguiente, las pulsaciones también. En cuanto al comparar las pulsaciones entre las dos especies, se puede comprobar que el fartet presenta un rango de pulsaciones por minuto mayor que las del samaruc, teniendo en cuenta que en algunos estadios no hay datos y que otros presentan una precisión baja, lo cual se puede deber a la actividad superior que presenta el fartet, tal y como se ha comentado anteriormente, pues el samaruc presenta un aumento de las pulsaciones mucho más pausado que el incremento directo del fartet.

El tercer punto que se va a considerar son los tiempos en los cuales los embriones eclosionaron. Se puede comprobar que el fartet eclosiona el día 11, a 6 días de las eclosiones que presenta el samaruc, esto se correlaciona al desarrollo rápido que se ha avistado en los embriones de fartet y, también, al elevado tiempo que requieren los huevos de samaruc para alcanzar las últimas etapas. Junto a las eclosiones se deben ver las tasas de eclosión que se tratan de los porcentajes de eclosión que se han producido en cada grupo. Las tasas de éxito en el grupo T20 para el fartet y el samaruc es del 100% en los dos casos, pues han llegado a eclosionar todas las larvas en este grupo debido a que las condiciones eran favorables. Dicho esto, tampoco se apreciaron condiciones que pudieran provocar la muerte de los huevos a excepción de la proliferación de hongos en unos pocos casos, que no llegaron a cubrir los huevos antes de su eclosión.

Es adecuado comentar la mortalidad que ha ocurrido en las placas, dicho esto se va a considerar la muerte de los huevos y de las larvas. Hay tres factores que pueden provocar la muerte de los individuos: la proliferación de hongos, las afecciones provocadas por las altas temperaturas o una mala adaptación a las temperaturas y la falta de oxígeno; pero no siempre van a suceder en las placas, como se ha visto con los hongos, y para algunos su presencia no es un indicio de muerte inmediata. Esto se debe a que los tres factores requieren de ciertas condiciones para ocurrir y, por ejemplo, en algunos casos los huevos han llegado a eclosionar antes de su inminente muerte. Para el grupo T20 los factores que se han apreciado son: la proliferación de hongos, la falta de oxígeno y una mala manipulación en su traslado. En primer lugar, se va a tratar la proliferación de los hongos. Como se ha mencionado, no se han producido muertes de los embriones a 20 °C por parte de los hongos, pero sí que han llegado a sufrir su proliferación, la cual es un factor relacionado en gran medida con la muerte de los

huevos debido a que siempre que sucede el huevo acaba muriendo u ocurre cuando se encuentran en un estado que favorece su muerte. También es cierto que las larvas eclosionadas no han muerto por la proliferación de hongos, aunque han llegado a surgir en unas pocas que presentaban indicios de un estado perjudicial, el cual terminó derivando en su muerte.

En segundo lugar, a T20 las larvas fueron los únicos individuos que pudieron sufrir la muerte debido a un nivel insuficiente de oxígeno en el agua, pues requieren de cambios del agua al contrario que los huevos, de manera que un consumo elevado del oxígeno que fuese incapaz de reponerse mediante la renovación o un cambio tardío podría provocar que sucediera este caso. También es adecuado mencionar que, a excepción de los hongos, no es posible determinar la veracidad de los factores mencionados al no presentar cambios físicos en los embriones, aunque en el caso de las larvas sí que se ha podido apreciar que sus muertes venían determinadas por un factor distinto a los hongos al no haber perecido por culpa de estos.

Al considerar otros ciprinodóntidos se puede comenzar con uno que ha sido mencionado en varias ocasiones a lo largo de este proyecto, el *V. robertae*. Esta especie pertenece al mismo género que el samaruc y, por ello, se podría comparar únicamente con este, pero también se va a comparar con el fartet. El *V. robertae* en general presenta las mismas características que los huevos de estas dos especies desarrollan durante sus estadios embrionarios y solo se aprecian diferencias en la coloración y la pigmentación en comparación con el samaruc, pues este tiene un tono más oscuro y una pigmentación ligeramente diferente, y con el fartet, aunque con este último está claro que también difiere en tamaño y forma. Además, se debe mencionar que es posible que presente diferencias en el comportamiento y en la actividad durante su desarrollo y en su fase larval, pero debido a su cercanía genética con el samaruc se puede considerar que estas características serán similares a las que ha presentado esta especie. En cuanto a su eclosión, el fartet eclosiona varios días más temprano al tener un desarrollo más elevado y el samaruc solo eclosiona 1 día antes, también debido a proximidad entre las dos especies (Kapakos et al., 2024).

Otra especie cuyo desarrollo embrionario ha sido estudiado es el “pez kili mediterráneo” (*Aphanius fasciatus*). Esta especie presenta una similitud considerable con el fartet, pues hasta hace poco se incluía dentro del género “*Aphanius*”, y, por ello, se puede comparar su desarrollo con el del fartet y el del samaruc. Dicho esto, se aprecian las mismas características en su desarrollo embrionario en comparación con el del fartet, diferenciándose en rasgos concretos como una pigmentación ligeramente distinta, y con el del samaruc, aunque con este último presenta más diferencias como el tamaño y la

forma del embrión. También presenta el estado pre-eclosión que se ha apreciado en alguna larva de fartet durante el seguimiento, mostrando la cercanía biológica que hay entre las dos especies. Por último, se puede tratar la eclosión, la cual es bastante más temprana que la del samaruc, ocurriendo 5 días antes, y se acerca en gran medida a la del fartet, pues se produce solo 1 día después (Cavraró et al., 2014).

Para finalizar este apartado, se pueden comparar a otras especies con mayores diferencias genéticas que también tengan estudios en base a su desarrollo embrionario. En este sentido, comparando con otros teleósteos como puede ser el pez cebra tienen en común la formación y el desarrollo del embrión y algunos rasgos de los estadios, pero presentan características totalmente distintas al no pertenecer ni al mismo orden. Entre estos aspectos se encuentran la forma y el tamaño del embrión, el tiempo de eclosión, la forma del huevo que a veces cambia en base a la especie y varias características concretas como el comportamiento o la pigmentación Haga clic o pulse aquí para escribir texto..

5.2. Efecto de la temperatura en el desarrollo embrionario

Una vez se ha podido tratar el desarrollo embrionario a la temperatura natural de los ecosistemas dulceacuícolas, se puede comprobar la influencia del aumento de este factor en esta etapa de su ciclo de vida. Para ello, se comparan las dos especies y, además, se realizará otra comparación con estudios de especies similares para poder determinar los cambios que sucedan.

La primera característica que se va a considerar es el tiempo necesario para realizar todo el desarrollo embrionario. En el caso del fartet, se puede comprobar que elevar las temperaturas permite a los embriones aumentar el ritmo de desarrollo de manera que pueden alcanzar varios estadios en tan solo 24 horas, como ocurre en T30 al necesitar únicamente cuatro días para alcanzar la eclosión. Para el samaruc, se aprecia como, a medida que ocurre este aumento de temperaturas, se incrementa de manera más pausada su ritmo de desarrollo, pues al comparar los estadios de los tres grupos se verifica que para completar su desarrollo solo se reduce un día del tiempo que consumen, debido a que a mayores temperaturas el tiempo que necesitan es menor. También se puede comprobar como este cambio de ritmo influencia la disminución del tiempo que requieren para alcanzar los últimos estadios. Dicho esto, se aprecia como, para las dos especies, en T20 requieren más de 24 horas para alcanzar el “Estadio 8” o la eclosión, pero en los demás grupos se reduce este tiempo. Otra razón para considerar podría ser que la capacidad para resistir las temperaturas sea superior en el caso del

samaruc o, por el contrario, que el fartet sea más susceptible a los cambios en las condiciones del medio.

Así como el desarrollo embrionario incrementó por el aumento de las temperaturas, las pulsaciones de los corazones de los embriones también se vieron afectadas. Se aprecia que las pulsaciones del T20 disponen de un valor considerablemente reducido en los estadios sencillos, pero llegan a acercarse a las pulsaciones del T30 cuando alcanzan estadios más complejos. Las pulsaciones del T30 muestran como desde los estadios iniciales tienen un valor bastante elevado, de manera que cuando llegan a los estadios finales sufren un cambio ínfimo. Esto se debe a las temperaturas elevadas bajo las que se han incubado los huevos del grupo T30, pues provocar un desarrollo tan rápido genera que las pulsaciones sean elevadas desde las etapas más tempranas y, además, no se aprecia un aumento elevado en el "Estadio 8" de estas pulsaciones debido a que se situarán en torno al límite que pueden alcanzar las especies, el cual fue alcanzado en estadios anteriores.

Otra característica que se debe comentar se trata de los tiempos en los cuales los embriones eclosionaron, que también se ven influenciados por los cambios inducidos en la temperatura. Se muestra como las dos especies presentan un patrón de eclosión derivado de las temperaturas, pues primero eclosionaron los huevos incubados a 30 °C, después los que se encontraban a 25 °C y finalmente los que se desarrollaron a 20 °C. Este patrón se ve provocado por la variación de las temperaturas porque estas provocan un desarrollo embrionario más rápido, de manera que a mayores temperaturas más temprano eclosionarán los huevos. Otro punto de interés es que el fartet presenta cierta estabilidad temporal entre los tres grupos al tener una diferencia temporal similar al llegar a la eclosión, mientras que el samaruc tiene una separación más notable entre T20 y las otras temperaturas, llegando hasta los siete días de diferencia. Lo anterior se puede relacionar a lo mencionado al comienzo del apartado, el fartet puede ser más vulnerable a un aumento continuo de las temperaturas, al mostrar una reducción mayor de tiempo entre T30 y T25, mientras que los tiempos del samaruc pueden ser un efecto de su capacidad de adaptación a temperaturas más elevadas, pues el tiempo entre T30 y T25 no difiere tanto en comparación con el de T20. También se puede mencionar que las eclosiones que más tiempo necesitaron para producirse en los huevos de fartet, las que ocurrieron a T20, tardaron un día más que las de menor duración para los embriones de samaruc, las que sucedieron a T30, mostrando de nuevo como el fartet es una especie que tiene un desarrollo mucho más rápido que el samaruc.

El siguiente punto para tratar son las tasas de eclosión de los huevos para cada grupo determinada por el porcentaje de eclosión que se haya dado en las placas, también se

considerarán las muertes porque se ven influenciadas por los cambios de temperatura. Al comparar las tasas determinadas a partir de los datos recopilados se puede comprobar que la tasa de eclosión del fartet a T25 es superior que la del samaruc a T25, debido a que en el último se ha producido una mayor proliferación de hongos en las placas, y la tasa para el fartet a T30 también es superior que la del samaruc a T30 porque, aunque la mortalidad ha sido elevada para las dos especies, en el caso del fartet han llegado a eclosionar más huevos. Esto quiere decir que el fartet tiene una tasa de eclosión bastante más elevada que el samaruc, lo cual puede deberse a su capacidad para eclosionar más pronto evitando que los hongos proliferen lo suficiente para provocar la muerte de los huevos y a que se incubaron más huevos de fartet por placa que de samaruc. Este caso no indica que en cualquier situación vayan a darse estos resultados, sino que las condiciones dadas en las placas de fartet fueron mejores que en las placas de samaruc. De esta manera, en todas las placas ha llegado a darse como mínimo una eclosión, indicando que, aunque se aprecie una determinada cantidad de muertes en algunas placas, la eclosión suele ocurrir en mayor o menor medida siendo tasas positivas para las dos especies: el porcentaje del fartet es del 77% y el del samaruc es del 54% corroborando que las dos superan el 50% de huevos eclosionados.

Como se ha comentado en el apartado anterior, se va a detallar la mortalidad que ha ocurrido en las placas mediante la muerte de los huevos y de las larvas. En los grupos T25 y T30 se han considerado los siguientes factores: la proliferación de hongos, las afecciones provocadas por las altas temperaturas o una mala adaptación a las temperaturas y la falta de oxígeno. En primer lugar, se comenzará con la proliferación de los hongos. Como se puede ver, a T30 se ha producido una mayor cantidad de muertes ya que en estas placas los hongos han surgido y proliferado en mayor medida, pues su actividad se ve influenciada debido al aumento de las temperaturas. A su vez, se puede corroborar lo anterior sabiendo que a T25 han aparecido en gran cantidad, pero con una mortalidad mucho más reducida, y que a T20 se han presenciado en menor medida. En el caso de las larvas solo se dio su muerte por culpa de los hongos debido a que ocurrió una proliferación considerable entre el 23 y el 24 de junio.

En segundo lugar, se puede dar el caso que al incubar los embriones a temperaturas más elevadas que la del hábitat natural les produjese malformaciones o afecciones fisiológicas que a largo plazo provocarían su muerte y la proliferación de hongos en el proceso, pues es posible que no todos los individuos puedan adaptarse a las temperaturas inducidas como se puede ver con el fartet al ser más susceptible a los cambios de estas condiciones. Para las larvas también puede haberse dado este caso, pues se encuentran a una exposición más prolongada que los huevos y puede provocar

que no puedan adaptarse de manera adecuada durante el resto de su desarrollo derivando en su muerte. En tercer lugar, para los embriones es bastante probable que el aumento de la temperatura haya producido un agotamiento más rápido de los niveles necesarios de oxígeno en las placas y que no se pudieran renovar mediante los cambios de agua al no proporcionar el aporte necesario o que pasara demasiado tiempo desde el último cambio realizado, provocando la muerte de los huevos en el proceso que, posteriormente, podrían sufrir la proliferación de los hongos. Para las larvas sucedería lo mismo, pues requieren de cambios del agua mucho más elevados que los de los embriones, de manera que es probable que sucediera esta situación.

En cuanto a la comparación con otras especies, la temperatura es un factor que puede afectar a muchas condiciones de los ecosistemas acuáticos, por esto se puede aprovechar para considerar como otras especies se pueden adaptar a la variación de tanto la temperatura como las condiciones que se vean alteradas. Hay varios estudios que utilizan de base al pez dorado (*C. auratus*) para comprobar como cambios en la temperatura del agua afectan a la actividad de la ictiofauna al provocar la variación de otras condiciones del medio, como ocurre con los niveles del oxígeno disuelto en el agua. De esta manera, a mayores temperaturas se producía un aumento del consumo del oxígeno debido al aumento de la actividad (Beamish & Mookherjee, 2011).

También hay estudios que muestran la variación en los procesos ocurridos durante el desarrollo embrionario de determinadas especies al aumentar la temperatura durante su incubación. De esta manera, en todos estos artículos se muestra como la duración del desarrollo embrionario y los tiempos de eclosión se reducen a medida que aumenta la temperatura. Esto muestra cómo, al ser animales que dependen de la temperatura, su desarrollo puede sufrir las mismas variaciones que se han apreciado a lo largo de este trabajo (Ortega et al., 2024; Soman et al., 2021).

5.3. Posibles escenarios en relación con el cambio climático

A largo plazo la situación del fartet y del samaruc puede empeorar en gran medida y uno de los motivos serían los cambios provocados en sus hábitats por el aumento de la temperatura (Arnell et al., 2019; Bulege, 2015). Si bien se ha demostrado que este incremento no es totalmente perjudicial para estos peces, pues se pueden adaptar sin mayores inconvenientes, muchos factores entrarían en juego a la hora de determinar que la situación de estas especies pueda mejorar hasta un estado favorable para su conservación. Dicho esto, estos factores no son únicamente de origen externo, pues existe la posibilidad de que los individuos puedan sufrir afecciones por ser incapaces de adaptarse al cambio considerable en las temperaturas del medio.

La mayoría de los factores que se deberían de tener en cuenta están relacionados a sus amenazas. Por ende, se trataría de la fragmentación prolongada de sus ecosistemas, la contaminación de las masas de agua en las que se encuentran, la presión sin límites de las especies exóticas invasoras, que deriva en su desplazamiento y depredación, y las sequías derivadas del clima de la península (*IUCN Red List of Threatened Species*, 2024). Dicho lo anterior, se podrían desarrollar soluciones en mayor o menor medida para cada una, pero las que supondrían un mayor riesgo debido a que se verían favorecidas por este aumento de la temperatura son las afecciones por parte de las especies exóticas invasoras y las sequías.

Se ha demostrado que las especies exóticas invasoras tienen una mejor capacidad de adaptación al cambio en las condiciones del medio que las especies autóctonas (Jewett et al., 2005; Leuven et al., 2011; Zerebecki & Sorte, 2011). Teniendo en cuenta lo anterior, junto a la capacidad de adaptación que presentan los peces al desarrollarse cuando se produce un aumento de las temperaturas (Ortega et al., 2024; Soman et al., 2021), solo supone un riesgo mayor hacia estas especies amenazadas debido a que las especies invasoras se verían favorecidas en mayor medida por las nuevas condiciones. También está presente el hecho de que algunas de estas especies llegan a depredar los huevos y los alevines de fartet y de samaruc, como se aprecia con el claro ejemplo de la gambusia (*Atlas y Libro Rojo de Los Peces Continentales*, 2011; *Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras - Peces*, 2023). De manera que, si las temperaturas aumentan la actividad de estos seres, la depredación también aumentará provocando el declive de las especies estudiadas. Este aumento de la presión por parte de las especies invasoras generaría un aumento de la mortalidad de los huevos y larvas de fartet y de samaruc que, si la situación ocurre como en el laboratorio, se vería favorecida, a su vez, por una mayor proliferación de hongos y otras afecciones derivadas de las altas temperaturas.

Por otro lado, al aumentar la temperatura del medio es muy probable que las sequías se prolonguen en mayor medida (Fao, 2011; Giannetto & Innal, 2021). En este caso, si las especies no llegan a adaptarse a este cambio brusco puede que se vean altamente afectadas por el aumento de estos procesos naturales que provocarán que pierdan sus respectivos hábitats. De esta manera, la fragmentación de sus ecosistemas se vería incrementada y, por consiguiente, su mortalidad provocando que alcancen un momento crítico hasta que puedan adaptarse o se consiga mejorar el estado de sus poblaciones mediante la realización de actuaciones externas, en, por ejemplo, centros de conservación, para evitar un mayor declive.

5.4. Actuaciones para mejorar la conservación de estas especies

Si la situación que enfrentan estos peces sigue empeorando, pueden alcanzar un momento crítico, como su extinción en el medio natural, en tan solo unos años. Por esto, es crucial continuar desarrollando más actuaciones que puedan mejorar su estado actual y avanzar en la biología reproductiva de estas especies, por lo que la información obtenida en este proyecto es de gran utilidad para poder desarrollar nuevas medidas o mejorar las ya existentes. Para ello en las últimas décadas se han realizado una gran variedad de planes y actuaciones con el objetivo de mejorar su estado de conservación. Por ejemplo, el Centro Acuícola de El Palmar se dedica a realizar una crianza *ex situ* de estas especies, realizando diferentes tipos de acciones para su reintroducción y refuerzo poblacional con el objetivo de mejorar las poblaciones en el medio natural.

Por ello, lo adecuado sería considerar medidas para reducir estos efectos perjudiciales y, a su vez, favorecer la conservación de sus poblaciones. La crianza *ex situ* en diversos centros es una medida que facilita el aumento de individuos en gran medida y su capacidad para adaptarse a las temperaturas permite que se pueda seguir realizando en los años venideros. Por el otro lado, para frenar las amenazas sería necesario reducir la fragmentación de los hábitats de origen antropogénico, evitar en la medida de lo posible la contaminación de estos ecosistemas, realizar controles intensivos de las especies invasoras que les afecten directamente y asegurarse que las sequías, o cualquier otro efecto climático, no causen afecciones irreversibles.

6. CONCLUSIONES

La situación climática futura a la que se enfrentan las poblaciones de fartet y samaruc favorece la realización de seguimientos para poder comprender su biología y facilitar el desarrollo de actuaciones que eviten que este estado de conservación empeore.

Los datos obtenidos en este estudio han permitido avanzar en el escaso conocimiento que se tiene sobre la biología reproductiva de estas especies, aumentando toda la información actualmente disponible sobre su ciclo reproductivo, especialmente mediante la descripción detallada del desarrollo embrionario de ambas especies.

Además, los experimentos realizados a diferentes temperaturas han aportado información de gran utilidad sobre como los futuros escenarios climáticos afectarán a estas especies, y como esta nueva información se podrá utilizar para desarrollar nuevas medidas o actuaciones que permitan tanto su conservación a futuro como la reducción de sus amenazas.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Acuicultura, Fisiología y Reproducción: Estudios con fartet y samaruc.* (2019, July 2). Estudios Con Fartet y Samaruc. <https://acuiculturaenvalencia.blogspot.com/2019/07/estudios-con-fartet-y-samaruc.html>
- Araguas, R. M., Roldán, M. I., García-Marín, J. L., & Pla, C. (2007). Management of gene diversity in the endemic killifish *Aphanius iberus*: revising Operational Conservation Units. *Ecology of Freshwater Fish*, 16(2), 257–266. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0633.2006.00217.X>
- Arnell, N. W., Lowe, J. A., Challinor, A. J., & Osborn, T. J. (2019). Global and regional impacts of climate change at different levels of global temperature increase. *Climatic Change*, 155(3), 377–391. <https://doi.org/10.1007/s10584-019-02464-z>
- Atlas y Libro Rojo de los peces continentales.* (2011). https://www.miteco.gob.es/es/biodiversidad/temas/inventarios-nacionales/inventario-especies-terrestres/inventario-nacional-de-biodiversidad/ieet_peces_atlas.html
- Baras, E., Arifin, O. Z., Slembrouck, J., Subagja, J., Kristanto, A. H., & Legendre, M. (2018). Oil globule size in fish eggs: A matter of biome and reproductive strategy. *Fish and Fisheries*, 19(6), 996–1002. <https://doi.org/10.1111/faf.12307>
- Beamish, F. W. H., & Mookherjii, P. S. (2011). Respiration of fishes with special emphasis on standard oxygen consumption: i. influence of weight and temperature on respiration of goldfish, *Carassius auratus* L. <https://doi.org/10.1139/Z64-015>, 42(2), 161–175. <https://doi.org/10.1139/Z64-015>
- Blanes-García, M., Risueño, P., Pérez, L., Asturiano, J. F., & Gallego, V. (2021). Sperm quality parameters of Iberian toothcarp (*Aphanius iberus*) and Valencia toothcarp (*Valencia hispanica*): New conservation tools from a gamete perspective. *Aquaculture*, 530, 2–38. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735819>
- Bulege, W. (2015). Biodiversidad y Cambio Climático. *Apuntes de Ciencia & Sociedad*, 05(01), 4–5. <https://doi.org/10.18259/acs.2015001>
- Byers, J. E., Blaze, J. A., Dodd, A. C., Hall, H. L., & Gribben, P. E. (2023). Exotic asphyxiation: interactions between invasive species and hypoxia. *Biological Reviews*, 98(1), 153–161. <https://doi.org/10.1111/brv.12900>

- Caiola, N., & De Sostoa, A. (2005). Possible reasons for the decline of two native toothcarps in the Iberian Peninsula: evidence of competition with the introduced Eastern mosquitofish. *Journal of Applied Ichthyology*, 21(4), 358–363. <https://doi.org/10.1111/J.1439-0426.2005.00684.X>
- Carrera Villacrés, D., Guerrón Varela, E., Cajas Morales, L., González Farinango, T., Guamán Pineda, E., & Velarde Salazar, P. A. (2018). Relación de temperatura, pH y CE en la variación de concentración de fosfatos en el Río Grande, Cantón Chone. *Congreso de Ciencia y Tecnología ESPE*, 13(1), 37–40. <https://doi.org/10.24133/cctespe.v13i1.807>
- Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras - Peces*. (2023). https://www.miteco.gob.es/es/biodiversidad/temas/conservacion-de-especies/especies-exoticas-invasoras/ce_eei_peces.html
- Catálogo Valenciano de Especies de Fauna Amenazada - Vida Silvestre - Generalitat Valenciana*. (2022). <https://mediambient.gva.es/es/web/biodiversidad/catalogo-valenciano-de-especies-de-fauna-amenazada>
- Cavraro, F., Varin, C., & Malavasi, S. (2014). Lunar-induced reproductive patterns in transitional habitats: Insights from a Mediterranean killifish inhabiting northern Adriatic saltmarshes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 139, 60–66. <https://doi.org/10.1016/J.ECSS.2013.12.023>
- Centro Acuícola de El Palmar - Vida Silvestre - Generalitat Valenciana*. (2023). <https://mediambient.gva.es/es/web/biodiversidad/centro-de-conservacion-de-especies-dulceacuicolas-de-la-cv>
- Devitt, T. J., Wright, A. M., Cannatella, D. C., & Hillis, D. M. (2019). Species delimitation in endangered groundwater salamanders: Implications for aquifer management and biodiversity conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(7), 2624–2633. https://doi.org/10.1073/PNAS.1815014116/SUPPL_FILE/PNAS.1815014116.SAPP.PDF
- Duarte, A. G., & Maherali, H. (2022). A meta-analysis of the effects of climate change on the mutualism between plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology and Evolution*, 12(1), 1–10. <https://doi.org/10.1002/ece3.8518>
- Facca, C., Cavraro, F., Franzoi, P., & Malavasi, S. (2020). Lagoon resident fish species of conservation interest according to the habitat directive (92/43/CEE): A review on

- their potential use as ecological indicator species. In *Water (Switzerland)* (Vol. 12, Issue 7, pp. 1–20). <https://doi.org/10.3390/w12072059>
- Fao. (2011). Cambio climático, pesca y acuicultura en América Latina. Potenciales impactos y desafíos para la adaptación en America Latina. In *Taller FAO/Centro de Investigación Oceanográfica en el Pacífico Sur Oriental (COPAS) Universidad de Concepción 5–7 de Octubre de 2011 Concepción, Chile*.
- Fry, F. E. J., & Hart, J. S. (1948). The relation of temperature to oxygen consumption in the goldfish. *https://Doi.Org/10.2307/1538211*, 94(1), 66–77. <https://doi.org/10.2307/1538211>
- Gallego, V., Yoshida, M., Kurokawa, D., Asturiano, J. F., & Fraser, G. J. (2017). Embryonic development of the grass pufferfish (Takifugu niphobles): From egg to larvae. *Theriogenology*, 90, 191–196. <https://doi.org/10.1016/J.THERIOGENOLOGY.2016.12.005>
- Giannetto, D., & Innal, D. (2021). Status of endemic freshwater fish fauna inhabiting major lakes of turkey under the threats of climate change and anthropogenic disturbances: A review. *Water (Switzerland)*, 13(11), 1–14. <https://doi.org/10.3390/w13111534>
- González-Fernández, J. G. (2012). Parasitofauna en variedades del pez ornamental *Carassius auratus* y descripción del ciclo biológico de *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliata ichthyophthiriidae), causante de mortalidades en un criadero de lima, Perú, 2007. *Neotropical Helminthology*, 6(1), 85–93. <https://doi.org/10.24039/rnh201261999>
- Habit, E., Parra, O., & Valdovinos, C. (2005). Ictiofauna de un sistema fluvial receptor de aguas servidas: respuestas a una nueva planta de tratamiento (Rio Quilque, Chile central). *Gayana (Concepción)*, 69(1), 94–101. <https://doi.org/10.4067/s0717-65382005000100010>
- IUCN Red List of Threatened Species*. (2024). <https://www.iucnredlist.org/species/1846/8299534>
- Jewett, E. B., Hines, A. H., & Ruiz, G. M. (2005). Epifaunal disturbance by periodic low levels of dissolved oxygen: native vs. invasive species response. *Marine Ecology Progress Series*, 304, 31–44. <https://doi.org/10.3354/MEPS304031>
- Jiménez Prado, P. J., Vásquez, F., Rodríguez-Olarte, D., & Taphorn, D. (2020). Efectos de la especie invasora (Cyprinodontiformes: Poeciliidae) sobre *Pseudopoecilia fria*

- en ríos costeros de la región del Chocó, Ecuador. *Revista de Biología Tropical*, 68(1), 122–135. <https://doi.org/10.15517/rbt.v68i1.36000>
- Jonsson, B. (2023). Thermal Effects on Ecological Traits of Salmonids. In *Fishes* (Vol. 8, Issue 7, pp. 1–13). <https://doi.org/10.3390/fishes8070337>
- Kapakos, Y., Barbieri, R., Zimmerman, B., Miliou, H., Karakatsouli, N., & Kalogianni, E. (2024). Embryonic and larval development of a highly threatened killifish: ecological and conservation implications. *Environmental Biology of Fishes*, 107(3), 293–305. <https://doi.org/10.1007/s10641-024-01529-y>
- Leuven, R. S. E. W., Hendriks, A. J., Huijbregts, M. A. J., Lenders, H. J. R., Matthews, J., & van der Velde, G. (2011). Differences in sensitivity of native and exotic fish species to changes in river temperature. *Current Zoology*, 57(6), 852–862. <https://doi.org/10.1093/CZOOLO/57.6.852>
- López-Solano, A., Nester, T. L., Perea, S., & Doadrio, I. (2023). Complete mitochondrial genome of the Spanish toothcarp, *Aphanius iberus* (Valenciennes, 1846) (Actinopterygii, Aphaniidae) and its phylogenetic position within the Cyprinodontiformes order. *Molecular Biology Reports*, 50(4), 2953–2962. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-08236-w>
- Lusher, A., Hollman, P., & Mendoza-Hill, J. (2017). Microplastics in fisheries and aquaculture. In *Microplastics in fisheries and aquaculture Status of knowledge on their occurrence and implications for aquatic organisms and food safety*. <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/a9a298e0-9db6-4769-beac-37325be3e280/content>
- Mugwanya, M., Dawood, M. A. O., Kimera, F., & Sewilam, H. (2022). Anthropogenic temperature fluctuations and their effect on aquaculture: A comprehensive review. In *Aquaculture and Fisheries* (Vol. 7, Issue 3, pp. 223–243). <https://doi.org/10.1016/j.aaf.2021.12.005>
- Muñoz, C., Helena, G., Rivero, E., Gabriela, Á., Nieto, S. H., & Rivera, J. (2010). Explotación racional de acuíferos y conservación de humedales. *Instituto Nacional de Ecología Semarnat*, 178–179. https://www.biodiversidad.gob.mx/pais/cien_casos/pdf/Cien%20casos.pdf
- Orozco-Hernández, J. M., Gómez-Oliván, L. M., Elizalde-Velázquez, G. A., Heredia-García, G., Cardoso-Vera, J. D., Dublán-García, O., Islas-Flores, H., SanJuan-Reyes, N., & Galar-Martínez, M. (2022). Effects of oxidative stress induced by environmental relevant concentrations of fluoxetine on the embryonic development

- on Danio rerio. *Science of The Total Environment*, 807, 151048–151048.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.151048>
- Ortega, A., Reglero, P., de la Gándara, F., Mourente, G., & Blanco, E. (2024). Effects of temperature on embryonic development of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*, L 1758) and Atlantic bonito (*Sarda sarda*, Bloch 1793). *Fisheries Research*, 277, 1–5. <https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2024.107066>
- Ramírez-Martínez, C., Naranjo, E., Caspeta, J. M., Barba, R., & Espinosa-Pérez, H. (2015). Calidad de los ecosistemas acuáticos en la subcuenca del río Lacantún. *Conservación y Desarrollo Sustentable En La Selva Lacandona*, 275–286. https://ceiba.org.mx/publicaciones/Centro_Documentacion/Conservacion&DS_SelvaLacandona/4.3_Calidad.Ecosistemas.Acuaticos_SubLacantun.pdf
- Salazar, S. K., Alfonsi, C. Y., Gómez, B., Bello, J. A., Senior, W., & Troccoli, L. (2018). Estado de conservación del sistema hidrográfico del río Manzanares, región Caribe Oriental de Venezuela. *Ríos En Riesgo de Venezuela. Volumen II, II*, 126–135. <https://doi.org/ISBN 978-980-12-9274-6>
- Soman, M., Chadha, N. K., Madhu, K., Madhu, R., Sawant, P. B., & Francis, B. (2021). Optimization of temperature improves embryonic development and hatching efficiency of false clown fish, *Amphiprion ocellaris* Cuvier, 1830 under captive condition. *Aquaculture*, 536, 736417–736417. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2021.736417>
- Volkoff, H., & Rønnestad, I. (2020). Effects of temperature on feeding and digestive processes in fish. In *Temperature* (Vol. 7, Issue 4). <https://doi.org/10.1080/23328940.2020.1765950>
- Yeong, J., Il-Nam, K., Young-Jin, C., & Kwon. (1995). The Patterns of Oxygen Consumption In Six Species of Marine Fish. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 28(3), 373–381. <https://koreascience.kr/article/JAKO199523607676987.page>
- Zerebecki, R. A., & Sorte, C. J. B. (2011). Temperature Tolerance and Stress Proteins as Mechanisms of Invasive Species Success. *PLOS ONE*, 6(4), 1–6. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0014806>

8. ANEXOS

ANEXO I. Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2020

Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

Objetivos de Desarrollo Sostenibles	Alto	Medio	Bajo	No Procede
ODS 1. Fin de la pobreza.				X
ODS 2. Hambre cero.				X
ODS 3. Salud y bienestar.				X
ODS 4. Educación de calidad.				X
ODS 5. Igualdad de género.				X
ODS 6. Agua limpia y saneamiento.				X
ODS 7. Energía asequible y no contaminante.				X
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico.				X
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras.				X
ODS 10. Reducción de las desigualdades.				X
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles.				X
ODS 12. Producción y consumo responsables.				X
ODS 13. Acción por el clima.	X			
ODS 14. Vida submarina.				X
ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres.	X			
ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas.				X
ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.				X

Descripción de la alineación del TFG/M con los ODS con un grado de relación más alto.

El contenido de este documento se relaciona a una amplia variedad de estrategias y planes de nivel internacional entre las cuales se deben considerar los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). Dentro de los 17 objetivos el proyecto guarda relación con dos en concreto, el Objetivo 13 (Acción por el clima) y el Objetivo 15 (Biodiversidad y ecosistemas). Por un lado, se conecta al Objetivo 13 debido a que el cambio climático es una de las principales temáticas abarcadas en este trabajo, teniendo una elevada importancia durante su desarrollo al tener el objetivo de conseguir resultados en base a la variación de la temperatura para su aprovechamiento en futuras actuaciones. Por el

otro lado, se conecta al Objetivo 15 porque se busca mejorar el estado de conservación tanto del fartet como del samaruc que son especies de peces dulceacuícolas y, por lo tanto, sus hábitats se encuentran en las aguas continentales, ecosistemas incluidos junto a los ecosistemas terrestres en el Objetivo 15.