

RÁPIDA RECUPERACIÓN DE LAS POBLACIONES DE ANFIBIOS EN OCHO LAGOS DE ALTA MONTAÑA VINCULADA A LA ERRADICACIÓN DE PECES EXÓTICOS

Alexandre MIRÓ (1), David O'BRIEN (2), Jan TOMÀS (1), Teresa BUCHACA (1), Ibor SABÁS (1), Victor OSORIO (1), Federica LUCATI (1, 3), Blanca FONT (4), Ismael JURADO (4), Meritxell CASES (4), Eloi CRUSET (4), Quim POU-ROVIRA (4) y Marc VENTURA (1)

1. Grupo de Ecología Integrativa de Aguas Continentales. Centro de Estudios Avanzados de Blanes (CEAB-CSIC). Calle de acceso a la Cala Sant Francesc, 14, 17300 Blanes, Cataluña, España.
2. Scottish Natural Heritage, Great Glen House, Leachkin Road, Inverness IV3 8NW, Scotland, UK.
3. Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes (cE3c). Facultad de Ciencias. Universidad de Lisboa. Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal.
4. Sorelló Estudis al Medi Aquàtic, S. L. Parc Científic de la UdG, 17300, Universitat de Girona, 17003 Girona, Cataluña, España.

RESUMEN

El proyecto LIFE+ LimnoPirineus (2014-2019) tiene como uno de sus objetivos la recuperación de las poblaciones de anfibios en 8 lagos del Parque Nacional de Aiguestortes y Estany de Sant Maurici i del Parque Natural del Alt Pirineu, mediante la erradicación o control de peces exóticos. Durante los veranos de 2014 a 2018, hemos extraído la práctica totalidad de los peces presentes en los lagos. A lo largo del periodo de trabajo, hemos comprobado que la mayoría de las especies de anfibios autóctonos presentes en cada circo han colonizado de forma espontánea los 8 lagos objetivo. Esto muestra la alta capacidad de recuperación de la fauna anfibia de los lagos de alta montaña después de eliminar o mitigar el impacto que representan los peces exóticos.

INTRODUCCIÓN

Las especies de anfibios que viven en los lagos de alta montaña de los Pirineos, como ocurre en muchos otros ecosistemas acuáticos, forman parte de diferentes compartimentos alimentarios y están involucradas en complejas relaciones tróficas que las convierten en especies clave (Wells, 2007). Por un lado, los renacuajos son fundamentalmente herbívoros y se alimentan de las algas y otros microorganismos (bacterias y arqueas principalmente) que crecen sobre las piedras o el sedimento del lecho de los lagos, lo que mantiene la estructura y funcionalidad natural de la comunidad bentónica (Altig *et al.*, 2007; Nyström *et al.*, 2001). Al mismo tiempo, los renacuajos representan una fuente de alimento para depredadores acuáticos naturales, como las larvas y los adultos de escarabajos, las larvas de libélula, los adultos de zapateros y barquerillos, y los tritones adultos (Mc-

Diarmid y Altig, 2000). Por otra parte, los anfibios adultos forman parte del eslabón de los superdepredadores en los lagos naturales. Se encuentran en lo alto de la cadena trófica y se alimentan de diferentes invertebrados, entre los que se encuentran los insectos que depredan a los renacuajos (Wells, 2007). Finalmente, los anfibios en general son depredados por aves, reptiles y mamíferos terrestres que pueden visitar más o menos frecuentemente el lago, lo que supone una entrada de materia y energía para los ecosistemas circundantes (McDiarmid y Altig, 2000; Wells, 2007).

A pesar de su importancia ecológica, los anfibios de los lagos de alta montaña están en declive en todo el mundo debido a diferentes amenazas que reducen o erradican poblaciones enteras (Whittaker *et al.*, 2013). En este sentido, diferentes estudios han mostrado el efecto negativo de los pesticidas, las enfermedades infecciosas emergentes y el aumento global de la temperatura (Bradford *et al.*, 2011; Maxwell y Knapp, 2018; Smith *et al.*, 2017). Sin embargo, la amenaza mejor documentada en multitud de cordilleras, incluida la de los Pirineos, es la presencia de peces exóticos (Miró *et al.*, 2018; Ventura *et al.*, 2017).

Los lagos de alta montaña están aislados de los ríos de la parte baja de las cuencas por barreras hidrográficas que impiden la colonización natural por parte de los peces (Pechlaner, 1984; Pister, 2001). Sin embargo, sobre todo durante los últimos siglos y para promocionar la pesca turística deportiva, se ha llevado a cabo un proceso global de introducción de peces, que ha supuesto su presencia en un buen número de estas masas de agua en todo el mundo (p. ej., Miró, 2011; Reissig *et al.*, 2006; Wiley, 2003). En los Pirineos, las introducciones se llevaron a cabo en épocas históricas en algunos casos, pero también en épocas recientes en muchos otros, y han implicado la presencia de diferentes especies de trucha o de piscardado en el 35-85 % de los lagos, dependiendo del valle (Miró y Ventura, 2013; 2015). El impacto que causan los peces exóticos en los lagos radica en que, en estos ecosistemas,

los peces pasan a constituir un nivel trófico superior que anteriormente no existía. Los peces (tanto truchas como piscardos) depredan directamente larvas, juveniles y adultos de anfibios, hasta eliminarlos en la mayoría de casos (Knapp, 2005; Miró *et al.*, 2018; Tiberti y von Hardenberg, 2012), pero también los perjudican indirectamente agotando las larvas de insectos y otros invertebrados que son presas compartidas (Maxwell *et al.*, 2011).

Durante las últimas décadas, diferentes proyectos de conservación combinados con estudios científicos han mostrado que los impactos descritos se pueden revertir (Knapp *et al.*, 2016). En la década de 1990, se llevó a cabo la primera experiencia de erradicación de truchas exóticas en lagos de alta montaña en Sierra Nevada, California (Knapp y Matthews, 1998). Este estudio, junto con otros posteriores en la misma área, han documentado la eficacia de las redes de tipo trasmallo para erradicar poblaciones de truchas exóticas en los lagos de alta montaña y facilitar así la recuperación de poblaciones de anfibios autóctonos en un plazo de entre 1 y 3 años después de empezar la erradicación. En aquellos estudios, se mostró la recuperación de las poblaciones de una rana autóctona amenazada en Sierra Nevada: la *Rana muscosa* (Knapp *et al.*, 2007; Vredenburg 2004). Posteriormente, trabajos más recientes han demostrado la recuperación de otras 2 especies de rana: la *Rana cascadae* en las montañas de Klamath, en el norte de California, y la *Rana temporaria* en los Alpes italianos, en ambos casos en un período de entre 2 y 5 años después de iniciar los proyectos de erradicación (Pope, 2008; Tiberti *et al.*, 2018). Los estudios mencionados también han documentado la dificultad que tienen algunos anfibios de alta montaña para colonizar nuevas localidades, como *R. muscosa*, que está condicionada por una distancia máxima de dispersión de 1 km (Pope *et al.*, 2001).

Las experiencias recientes de California y los Alpes demuestran la rápida recuperación de una especie de rana en cada caso, después de erradicar las truchas exóticas. Sin embargo, las comunidades autóctonas de anfibios en los lagos de alta montaña pueden llegar a tener hasta 4

o 5 especies (Knapp, 2005; Miró *et al.*, 2018), y pueden estar amenazadas por la presencia de piscardos, además de por la presencia de truchas (Miró y Ventura, 2015; Miró *et al.*, 2018). Por lo tanto, es de interés general estudiar hasta qué punto es posible recuperar la comunidad entera de anfibios de un lago mediante la erradicación de peces exóticos, que pueden incluir truchas, pero también piscardo. Responder estos interrogantes es especialmente importante para la conservación de los anfibios de alta montaña, ya que se conocen otros factores negativos adicionales que los perjudican y que añaden incertidumbre a las posibilidades de recuperación. Estamos hablando de los pesticidas, las enfermedades infecciosas emergentes y el aumento global de la temperatura (Bradford *et al.*, 2011; Maxwell y Knapp, 2018; Smith *et al.*, 2017).

El objetivo principal de este estudio ha sido investigar la recuperación de la comunidad de anfibios de 8 lagos de alta montaña de los Pirineos, después de iniciar acciones de erradicación de truchas y piscardos exóticos. Concretamente, hemos querido responder 4 preguntas específicas: 1) ¿Es posible la recuperación natural de la comunidad entera de anfibios a partir de la erradicación de los peces exóticos?; 2) ¿Se puede lograr la recuperación en solo unos pocos años, tal como sabemos que sucede con algunas especies de anuros?; 3) ¿Los individuos y las especies colonizadoras provendrían de localidades cercanas o alejadas?; y 4) ¿Existiría alguna diferencia en la recuperación de los anfibios dependiendo de si los peces exóticos presentes en el lago son truchas o piscardos? Las conclusiones del estudio pueden ser útiles para diseñar, valorar y ejecutar futuros proyectos de conservación con objetivos similares.

MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se ha llevado a cabo en los 8 lagos objetivo del proyecto LIFE+ LimnoPirineus (2014-2019), donde hemos realizado acciones de erradicación y control de tru-

Nombre (código)	Área protegida ^a	Máxima profundidad (m)	Superficie (ha)	Altitud (m s. n. m.)	Especies de peces 2012 ^b	Año de inicio erradicación de peces	Especies de anfibios 2012 ^c	Especies de anfibios 2018 ^c
Dellui Nord (1831)	PNAESM	6,7	0,35	2,306	STR, PPH	2015		Casp
Dellui Mig (1838)	PNAESM	6,2	1,09	2,314	STR, PPH	2015		Rtem, Bspi, Casp
Subenuix (2066)	PNAESM	11	2,64	2,194	SFO	2015		Rtem, Casp
Cap del Port (2213)	PNAESM	31,7	7,35	2,521	STR	2016		Rtem
Cabana (2259)	PNAESM	11,7	2,33	2,376	OMY	2017		Rtem, Casp
Closell (2468)	PNAP	3,7	0,75	2,074	PPH	2013	Bspi	Rtem, Bspi, Lhel
Naorte (2479)	PNAP	14	3,94	2,150	PPH	2015		Rtem, Lhel
Rovinets (2654)	PNAP	5,4	0,37	2,223	PPH	2016	Lhel	Rtem, Lhel

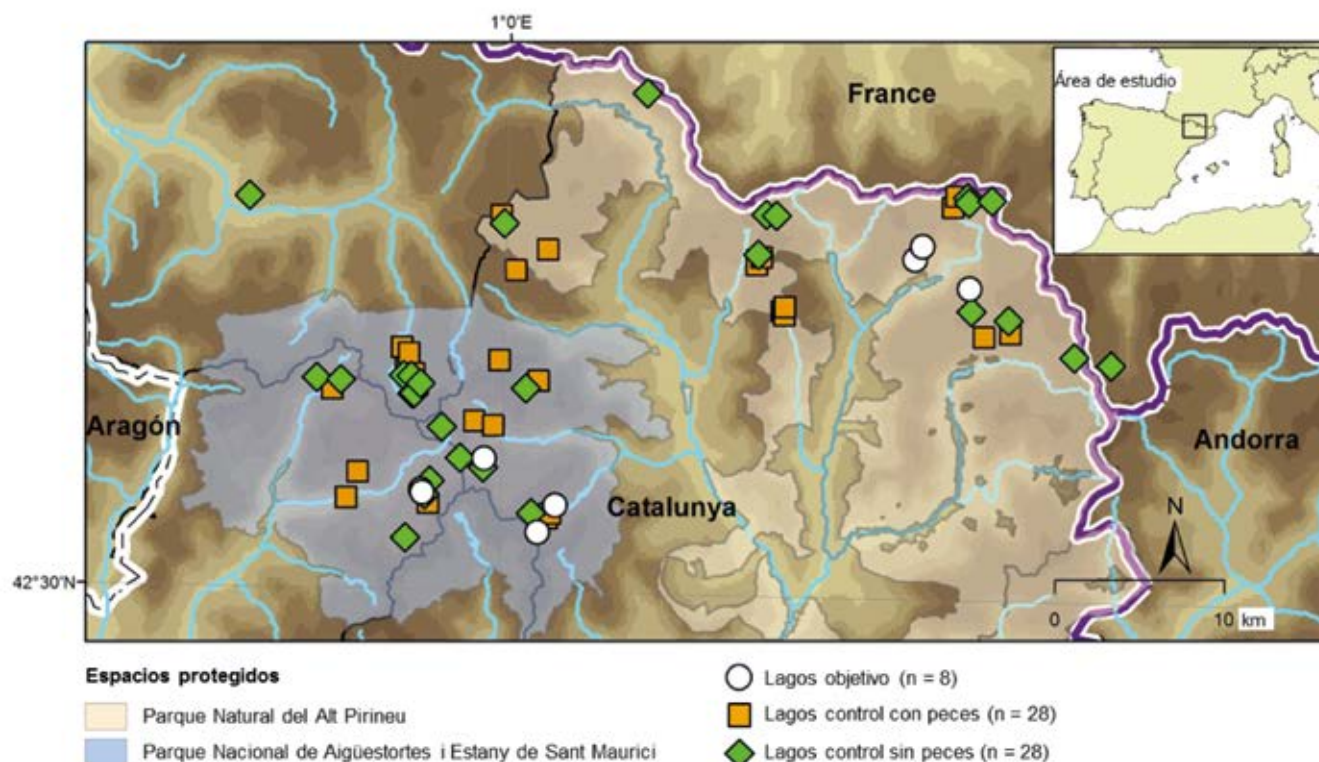
chas y piscardo exóticos (Buchaca *et al.*, 2016). Los 8 lagos están situados dentro de espacios protegidos incluidos en la Red Natura 2000: 5 de ellos en el Parque Nacional de Aigüestortes y Estany de Sant Maurici (Dellui Mig, Dellui Nord, Subenuix, la Cabana y Cap del Port) y los otros 3 en el Parque Natural del Alt Pirineu (Closell, Naorte y Rovinets). En la tabla 1, se encuentran las características topográficas descriptivas de los 8 lagos y las especies de peces y anfibios presentes. Para tener datos comparativos de referencia, escogimos 56 lagos control, con características similares y situados en la misma área de estudio (figura 1). La mitad de los lagos control tenía truchas, piscardo o ambos, y la otra mitad no tenía peces. La mayoría de los lagos control de este estudio coincidían con los lagos control escogidos para el programa de seguimiento limnológico del proyecto LIFE+ LimnoPirineus (Buchaca *et al.*, 2016), a los que añadimos otros lagos con presencia de especies concretas de anfibios. En todos los casos, conocíamos la presencia/ausencia previa de los anfibios por censos realizados en estudios anteriores (Miró *et al.*, 2018).

▼ **Figura 1.** Mapa de situación de los lagos objetivo y de los lagos control del plan de seguimiento de anfibios del proyecto LIFE+ LimnoPirineus.

Erradicación de peces exóticos

A partir del año 2015, hemos llevado a cabo, en los 8 lagos objetivo, las tareas de erradicación de truchas y piscardo exóticos previstas en el proyecto LIFE+ LimnoPirineus. Tres de los lagos objetivo tenían solo poblaciones de piscardo, otros 3 tenían una especie diferente de trucha cada uno y los 2 últimos tenían ambos grupos de peces (tabla 1). Dado que al comienzo de las tareas de erradicación se captura la mayoría de los peces y se genera un gran volumen de trabajo, las operaciones de extracción no se pueden iniciar en todas las localidades al mismo tiempo. Por lo tanto, las iniciamos en 2015 en los primeros lagos y, durante los años siguientes, empezamos a trabajar en los demás, progresivamente (tabla 1; primer capítulo de ésta memoria). Excepcionalmente, en el caso del lago Closell, iniciamos los trabajos de erradicación el año 2013, en el contexto de un proyecto experimental específico para evaluar las posibilidades y métodos más adecuados para afrontar la erradicación del piscardo en lagos de alta montaña (tabla 1).

En las campañas de erradicación de peces exóticos se han utilizado 3 métodos: las redes tipo trasmallo (luces de malla de 5 a 43 mm), la pesca eléctrica en la franja litoral y las nasas de luz de malla pequeña (de 4 mm). Los 2 primeros métodos ya se habían probado previamente



◀ **Tabla 1.** Características descriptivas de los 8 lagos objetivo del proyecto LIFE+ LimnoPirineus y especies de peces y anfibios presentes.

- a) PNAESM: Parque Nacional de Aigüestortes i Estany de Sant Maurici. PNAP: Parque Natural del Alt Pirineu.
- b) STR: trucha común (*Salmo trutta*). OMY: trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*). SFO: trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*). PPH: piscardo (*Phoxinus sp.*).
- c) Rtem: rana bermeja (*Rana temporaria*). Bspi: sapo común (*Bufo spinosus*). Casp: tritón pirenaico (*Calotriton asper*). Lhel: tritón palmeado (*Lissotriton helveticus*).

en lagos de alta montaña de California y los Alpes, y conocíamos su eficacia para la captura de truchas (Knapp y Matthews, 1998; Tiberti *et al.*, 2018). Las nasas tubulares, montadas casi sumergidas y apoyadas sobre el lecho rocoso o fangoso de la franja litoral, habían sido bastante eficaces para capturar piscardos en un proyecto previo desarrollado en el lago Closell. La revisión y el vaciado de las redes y las trampas se efectuaron con frecuencia diaria al iniciar las tareas en cada lago y con frecuencia semanal una vez que disminuyeron las capturas.

Seguimiento de anfibios

Al mismo tiempo que avanzábamos en la erradicación de peces, documentábamos los cambios en las poblaciones de anfibios de los lagos objetivo, tanto con respecto a la presencia como a la abundancia. Los censos que habíamos hecho en estudios previos habían mostrado la presencia de 5 especies de anfibios en el área de estudio (Miró *et al.*, 2018). De estas 5 especies, 3 eran anuros o anfibios sin cola: la rana bermeja (*Rana temporaria*), el sapo común (*Bufo spinosus*) y el sapo partero (*Alytes obstetricans*). Las otras 2 eran urodelos o anfibios con cola: el tritón pirenaico (*Calotriton asper*) y el tritón palmeado (*Lissotriton helveticus*). Estas son las 5 especies de anfibios que integramos en este estudio. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, una de ellas, el sapo común, al igual que las otras especies del género *Bufo*, no suele verse afectada negativamente por los peces exóticos (Knapp, 2005; Miró *et al.*, 2018), debido a las toxinas presentes en su piel, tanto en la fase larvaria como en la adulta (Benard y Fordyce, 2003). Al comenzar los trabajos de erradicación de peces, tan solo había 2 lagos objetivo que tenían anfibios: el lago Closell, en el que habitaba el sapo común, y el lago Rovinets, en el que habitaba el tritón palmeado (tabla 1).

Los datos sobre presencia y abundancia de anfibios en los 8 lagos objetivo provienen de 2 fuentes diferentes: 1) las capturas de fauna acompañante durante los trabajos de erradicación de peces, y 2) los censos específicos de anfibios. Con respecto a la primera fuente de información, una vez que las densidades de peces se habían reducido considerablemente, aumentaron las capturas de ejemplares adultos y larvas de anfibios, que nos han permitido documentar rápidamente los eventos de colonización. Las capturas se han encontrado sobre todo en las nasas instaladas en el litoral de los lagos y no han representado ningún perjuicio para los anfibios capturados, que una vez censados y medidos se han liberado de nuevo en la misma zona del lago.

En cuanto a la segunda fuente de datos, hemos realizado censos anuales de presencia y abundancia de anfibios en los 8 lagos objetivo, durante los veranos de 2012 a 2018. En los lagos control, hemos realizado los censos distribuidos durante el mismo periodo de estudio (2012-2018). Cada uno de los lagos se ha visitado una vez, siguiendo el calendario preestablecido de seguimiento limnológico del proyecto LIFE+ LimnoPirineus (Buchaca *et al.*, 2016; Buchaca *et al.*, 2019).

Los censos de anfibios se han realizado aplicando la metodología del encuentro visual (Crump y Scott Jr.,

1994). Preferentemente durante las horas de mayor insolación, hemos caminado por todo el litoral del lago buscando visualmente las larvas y adultos de anfibios, de los que hemos estimado la abundancia por metro de litoral paralelo a la costa. En el caso de los censos de tritón pirenaico, dado que está activo básicamente durante las horas de oscuridad, realizamos censos nocturnos adicionales. La metodología nocturna fue también el encuentro visual, en este caso iluminando el litoral del lago con linternas frontales, tal como indica el protocolo británico especializado en esta tarea (ARG-UK 2013). En el caso del tritón palmeado, dado que es muy activo en la columna de agua, donde nada frecuentemente para alimentarse, utilizamos las capturas en las nasas. Se ha utilizado siempre la misma metodología de censo para cada especie en todos los lagos estudiados. Las diferencias de abundancia que podían estar relacionadas con los métodos específicos y con las estrategias de reproducción diversas en cuanto al número y tamaño de larvas producidas se han homogeneizado reescalando las abundancias por especies (véase la explicación detallada en los párrafos siguientes).

Análisis estadístico

Una vez obtenidos los datos, realizamos distintos análisis estadísticos específicos para responder cada una de las 4 preguntas que hemos expuesto al final de la introducción. Previamente y para poder valorar correctamente los cambios temporales en las comunidades de anfibios, estandarizamos todos los datos en función del año en que habíamos comenzado las tareas de erradicación de peces. De este modo, para cada lago objetivo, asignamos el valor -1 al año anterior al inicio de los trabajos de erradicación, el valor 0 al año en que iniciamos las tareas de erradicación y los valores +1, +2, +3, +4 y +5 a los años sucesivos. Los años estandarizados +4 y +5 no los utilizamos en algunos análisis estadísticos debido a que, en estos 2 años, solo teníamos incluido un lago: el Closell.

La abundancia de peces extraídos se calculó a partir de las capturas de truchas en las redes y de piscardos en las trampas tipo nasa. Los datos los transformamos en capturas por unidad de esfuerzo (CPUE). Concretamente, en el caso de las truchas, los transformamos en individuos/hm de red × día, y en el caso del piscardo en individuos/trampa × día. Para la abundancia de piscardo, tenemos datos hasta el año estandarizado +5, mientras que para las truchas, hasta el año +3, ya que iniciamos los trabajos 2 años más tarde.

La recuperación de la comunidad de anfibios en los lagos objetivo y el plazo en que se podía alcanzar se cuantificaron al mismo tiempo y utilizando 2 métodos distintos. Por un lado, calculamos la riqueza específica de cada lago y, por otro, la abundancia de cada especie que encontramos. Comparamos los datos de los diferentes años estandarizados (del -1 al +3) entre ellos y con los 2 grupos de lagos control, con peces y sin peces, mediante un test de homogeneidad de grupos no paramétrico Kruskal-Wallis (Hollander *et al.*, 2014).

Se investigó la proximidad de las poblaciones colonizadoras construyendo una tabla de contingencia con

todas las especies de anfibios estudiadas y que son potenciales colonizadoras de los lagos objetivo. El resultado fue un total de 38 colonizaciones potenciales: 5 especies \times 8 lagos objetivo, pero excluyendo los 2 casos de anfibios ya presentes en los lagos objetivo al inicio de las tareas de erradicación. Entonces, aplicamos un test chi cuadrado (Agresti, 2007) sobre los factores combinados siguientes: evento de colonización durante todo el periodo estudiado (sí/no) y presencia de la especie en el mismo valle del lago objetivo (sí/no).

Adicionalmente, hemos investigado la importancia de las colonizaciones cercanas calculando la correlación de Mantel (Legendre y Legendre, 2012), para los distintos años estandarizados por separado (del -1 al +2), entre la matriz de distancias geográficas para los lagos objetivo y la matriz de distancias extraída de sus comunidades de anfibios. La matriz de distancias de las comunidades de anfibios se construyó calculando las distancias euclidianas entre lagos a partir de las tablas de abundancias de las distintas especies, para cada año estandarizado. Previamente y para reducir la diferencia de rango de las abundancias y equilibrar el peso de las diferentes especies, se transformaron las abundancias a su logaritmo +1 y se reescalaron entre 0 y 1 para cada especie por separado (Legendre y Legendre, 2012). Finalmente, normalizamos las abundancias, mediante la transformación de Hellinger (Legendre y Gallagher, 2001). Para poder tener como referencia los valores con ausencia de anfibios, mantuvimos también las localidades sin ninguna especie dentro de las tablas de datos. Calculamos los test de Mantel aplicando la correlación de Pearson y 9.999 permutaciones (Legendre y Legendre, 2012).

La posibilidad de que el tipo de peces exóticos presentes en cada lago objetivo (truchas o piscardo) pudiera tener alguna influencia sobre la recuperación de la comunidad de anfibios se investigó mediante un análisis multivariante permutacional de la varianza (PERMANOVA,

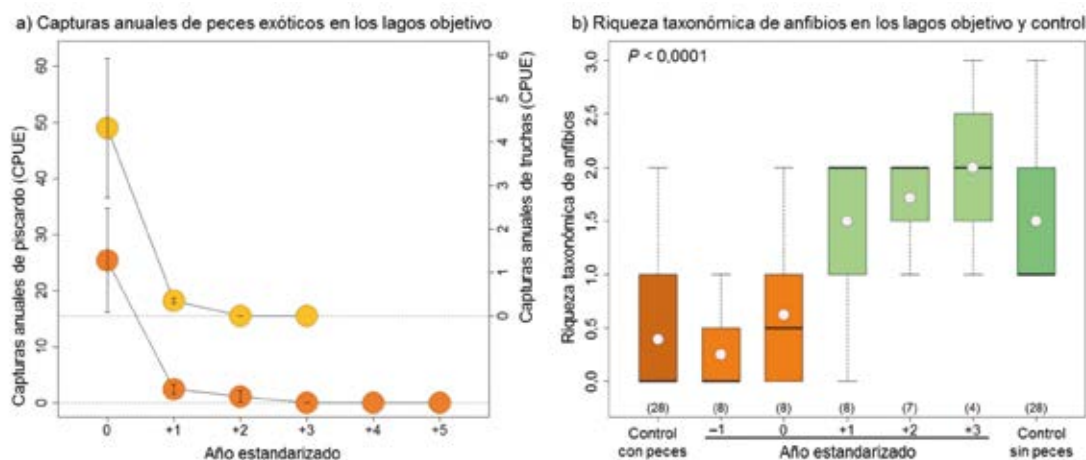
Anderson y Gorley, 2008). El análisis se aplicó sobre la misma matriz de distancias euclidianas basada en la comunidad de anfibios y explicada en el párrafo anterior. En este caso, para evitar correlaciones casuales, unificamos las 2 especies de tritones estudiadas (*C. asper* y *L. helveticus*) en un solo taxón, llamado tritones, ya que su distribución en los valles de los lagos objetivo era básicamente discordante y concordante, respectivamente, con la presencia/ausencia de piscardo (Miró *et al.*, 2018). De este modo, hemos podido analizar la relación de la comunidad de anfibios en cada año estandarizado (del -1 al +2), con los 2 factores: presencia de truchas en el lago (sí/no) y presencia de piscardo en el lago (sí/no).

Finalmente, para poder identificar posibles sesgos en los análisis PERMANOVA, analizamos la homogeneidad de varianza multivariante de las matrices de datos de anfibios, para las 2 posiciones (sí/no) de los factores de presencia de truchas y presencia de piscardo, para los años estandarizados del -1 al +2. Esto se investigó aplicando una ANOVA para analizar las diferencias entre las distancias de los miembros de cada categoría hasta el centroide (mediana espacial) en un espacio de coordenadas principales (PCoA; Anderson, 2006).

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa R, utilizando las funciones básicas (R Core Team, 2018) y el paquete *vegan* (Oksanen *et al.*, 2018), excepto el análisis PERMANOVA, que se llevó a cabo con el programa PERMANOVA+ para PRIMER (Anderson y Gorley, 2008). El nivel de significación que adoptamos para todos los análisis fue $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Las acciones de erradicación permitieron capturar la mayor parte de peces exóticos durante el año en que se iniciaron (año estandarizado 0), y se alcanzaron valores de



▲ **Figura 2.** Media y \pm SE de capturas anuales por unidad de esfuerzo (CPUE, individuos/trampa \times día para el piscardo e individuos / hm de red \times día para las truchas) de peces exóticos (a) y *boxplots* que muestran la riqueza taxonómica de especies de anfibios por años estandarizados en los 8 lagos objetivo (b). En los extremos del gráfico (b), hemos añadido la riqueza y el error estándar en los lagos control con peces y sin peces. En la parte inferior del gráfico, se puede ver el número de lagos incluidos en cada categoría y en la parte superior, el valor *p* del test Kruskal-Wallis de homogeneidad entre todas las categorías. Los *boxplots* de color marrón han mostrado diferencias significativas respecto a los de color verde en el test *post hoc*. El punto blanco en los *boxplots* indica la media aritmética.

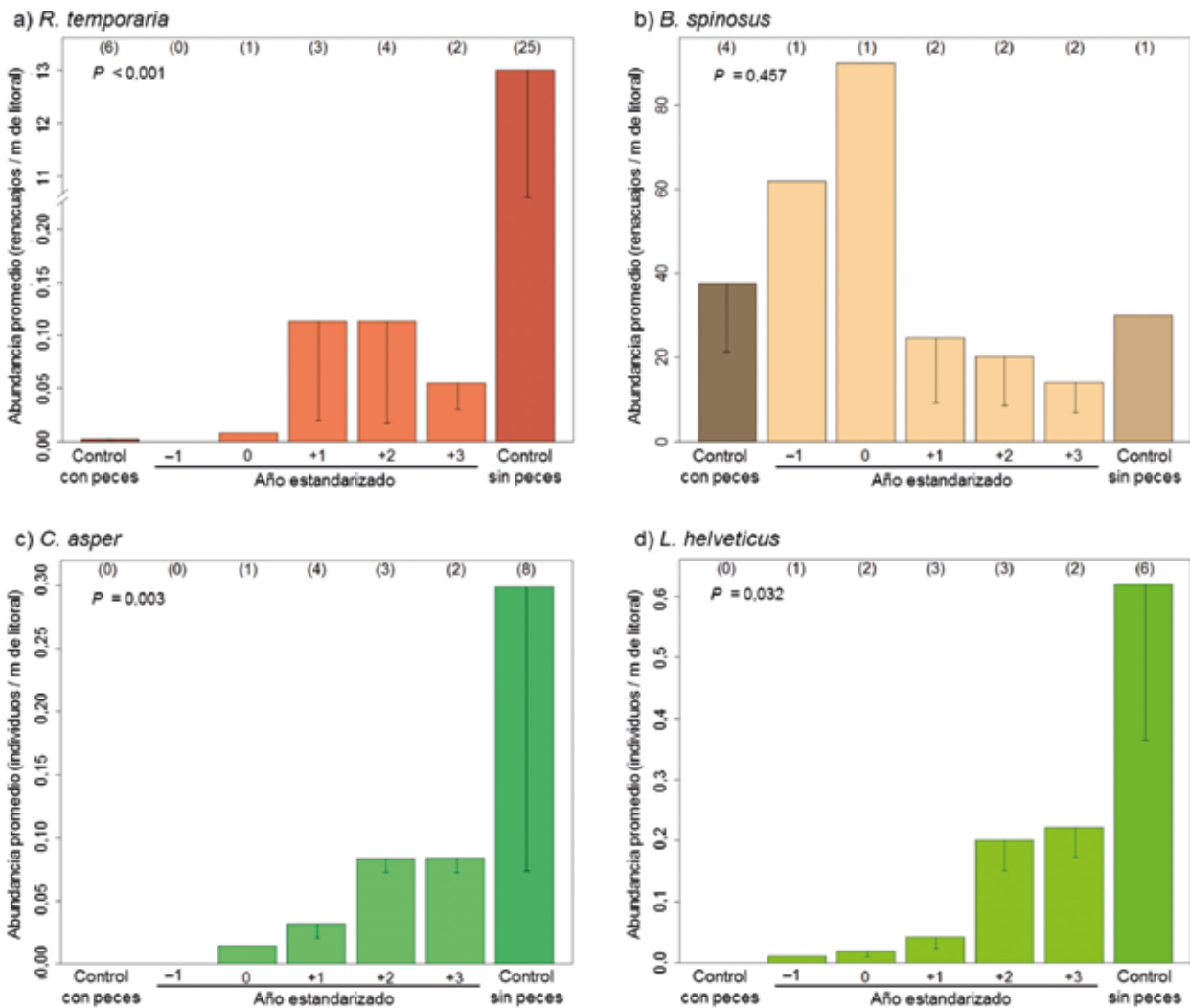
0 capturas, o muy próximos, 2 años después de iniciarse los trabajos, en el caso de las truchas, y 3 años después, en el caso del piscardo (años estandarizados +2 y +3, respectivamente; figura 2a). En el verano de 2018 -el último que aportó datos para este estudio-, ya no se capturaron truchas en 3 de los lagos objetivo: Subenuix, Dellui Mig y Dellui Nord. Para el resto, obtuvimos reducciones en las poblaciones de más del 98 %.

La comunidad de anfibios de los 8 lagos objetivo respondió rápidamente a la disminución de las poblaciones de peces exóticos. La riqueza específica se recuperó hasta equipararse a los niveles de los lagos control sin peces, solo un año después de haber iniciado las tareas de erradicación (año estandarizado +1; figura 2b). En cambio, las abundancias de las diferentes especies sensibles a la presencia de peces (rana bermeja y tritones pirenaico y palmeado) no alcanzaron el nivel de los lagos de referencia sin peces durante todo el periodo de estudio (figura 3). Especialmente en el caso de la rana bermeja, las abundancias de los lagos objetivo en el año estandarizado +2

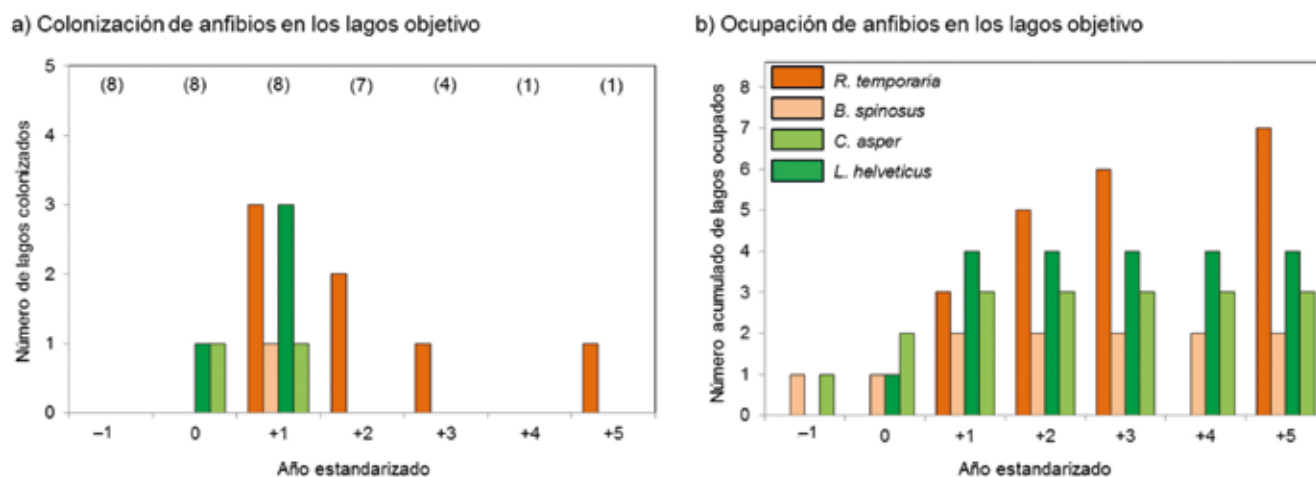
eran un orden inferior a las de los lagos control sin peces (figura 3a).

Las poblaciones cercanas que permanecían refugiadas en los diferentes valles han sido cruciales para propiciar la rápida recuperación de la comunidad de anfibios. De las 38 colonizaciones potenciales que se podían producir, durante el período de estudio, hemos documentado 14, 2 de ellas durante el año en que se comenzaron las tareas de erradicación y 8 durante el año siguiente (tabla 1 y figura 4a). En todos los casos, las colonizaciones han sido protagonizadas por especies presentes en el mismo valle del lago objetivo (chi cuadrado = 19,95, valor $p < 0,0001$). Seis colonizaciones potenciales de especies que se encontraban en el mismo valle no se han producido todavía. Del mismo modo, no se ha producido ninguna de las 18 colonizaciones potenciales de especies que no se encontraban en el mismo valle.

Las colonizaciones protagonizadas por las 2 especies de tritones han sido las más tempranas y se han producido todas el mismo año o el siguiente de comenzar las



▲ **Figura 3.** Abundancia y SE por años estandarizados de las especies de anfibios encontrados en los 8 lagos objetivo: *Rana temporaria* (a), *Bufo spinosus* (b), *Calotriton asper* (c) y *Lissotriton helveticus* (d). En los extremos de cada gráfico, hemos añadido la abundancia y el error estándar de los lagos control, con peces y sin peces. En la parte superior del gráfico, se puede ver el número de lagos incluidos en cada categoría y el valor p del test Kruskal-Wallis de homogeneidad entre todas las categorías. Los segmentos de SE indican solo el valor negativo.



▲ **Figura 4.** Eventos de colonización (a) y ocurrencia acumulada (b) de especies de anfibios en los 8 lagos objetivo. En la parte superior del gráfico (a), se indica el número de lagos recogidos dentro de cada año estandarizado. El código de color para cada especie se muestra en la leyenda del gráfico (b).

tareas de erradicación (años estandarizados 0 y +1, respectivamente; tabla 1 y figura 4a). En cambio, la rana bermeja presenta un patrón de colonización más lento, pero más prolongado, ya que, aparte de protagonizar algunas colonizaciones un año después de comenzar las acciones de erradicación, siguió colonizando durante el resto de años hasta llegar a establecerse en 7 de los 8 lagos objetivo (figuras 4a y 4b). El alto ritmo de colonizaciones y de establecimiento de las nuevas poblaciones ha hecho que, en verano del año 2018, ya hubiera anfibios en los 8 lagos objetivo, con presencia, en conjunto, de 4 de las 5 especies que potencialmente podían colonizarlos (figura 4b).

Los test de Mantel confirmaron la importancia de las localidades cercanas para explicar la composición de las comunidades de anfibios de los lagos objetivo. Este análisis ilustró que, el año anterior al inicio de las tareas de erradicación, no existía correlación entre las comunidades de anfibios y las distancias geográficas entre lagos (Mantel $r = 0,354$ y valor $p = 0,071$, año estandarizado -1). En cambio, el año en que se comenzaron las acciones de erradicación y los siguientes, las comunidades de anfibios mostraban correlación positiva con las distancias geográficas: los lagos más cercanos eran más parecidos entre ellos (Mantel $r = 0,454$ y valor $p = 0,012$ para el año estandarizado 0; Mantel $r = 0,644$ y valor $p = 0,004$ para el año +1, y Mantel $r = 0,617$ y valor $p = 0,043$ para el año +2).

No hemos encontrado diferencias en la recuperación de la comunidad de anfibios de los lagos objetivo en función de que estuvieran ocupados por distintos tipos de peces exóticos, ya fueran truchas o piscardo. Los análisis PERMANOVA mostraron que los 2 factores, presencia de trucha (sí/no) o presencia de piscardo (sí/no), no eran significativos para explicar la composición y abundancia de la comunidad de anfibios para los diferentes años estudiados, desde el año anterior a comenzar los trabajos de erradicación hasta 2 años después de iniciarlos. Los

valores p obtenidos para los factores presencia de trucha y presencia de piscardo fueron, respectivamente, los siguientes: 0,440 y 1, para el año estandarizado -1; 0,640 y 0,637, para el año 0; 0,517 y 0,600, para el año +1, y 0,540 y 0,616, para el año +2. En el único año en que existían suficientes datos para analizar la interacción entre los 2 factores (año estandarizado +2), esta también resultó no significativa (valor $p = 0,404$).

Los análisis PERMANOVA descritos para los 4 años estandarizados que hemos investigado han resultado no significativos, aunque, en algunos casos, no existía homogeneidad de varianza multivariante en los datos de anfibios para las 2 categorías (sí/no) de los factores presencia de trucha o presencia de piscardo. Los valores p obtenidos en el análisis de homogeneidad de varianza multivariante para ambos factores fueron, respectivamente, los siguientes: 0,002 y 0,266, para el año estandarizado -1; 0,073 y 0,004, para el año 0; 0,974 y 0,475, para el año +1, y 0,951 y 0,332, para el año +2.

DISCUSIÓN

Los datos que hemos recogido nos han permitido responder todas las preguntas que nos habíamos planteado: 1) La recuperación de la comunidad entera de anfibios en lagos de alta montaña se puede lograr llevando a cabo acciones de erradicación de peces exóticos. 2) La recuperación con respecto a la riqueza específica se logra al año siguiente de comenzar las acciones de erradicación. La recuperación con respecto a la abundancia de las diferentes especies necesita un período de tiempo más largo que el que hemos tenido en este estudio. 3) Las localidades refugio próximas son cruciales para la restauración, ya que todas las 14 colonizaciones de especies de anfibios documentadas durante el periodo de estudio provienen de poblaciones cercanas situadas en el mismo valle que

el lago objetivo receptor. 4) Los datos de que disponemos no muestran ninguna influencia del tipo de pez exótico presente en el lago objetivo (truchas o piscardos) en la recuperación de la comunidad de anfibios.

Los datos muestran que las poblaciones de anfibios se han recuperado por sus propios medios y han alcanzado los niveles de riqueza específica de los lagos naturales de referencia, a medida que hemos progresado en los trabajos de erradicación de peces. Este hecho nos demuestra la alta capacidad de recuperación (resiliencia) de la fauna anfibia de los lagos de alta montaña, una vez que hemos reducido o eliminado la presión que los mantenía ausentes. Nuestros resultados se encuentran en la misma línea que los obtenidos en estudios realizados con especies del género *Rana* en California y en los Alpes, que mostraron rápidas recuperaciones, en periodos de tiempo de solo algunos años (Knapp *et al.*, 2007; Pope, 2008; Tiberti *et al.*, 2018; Vredenburg, 2004). Otros grupos de organismos, como los macroinvertebrados más conspicuos o los crustáceos planctónicos, también habían mostrado una resiliencia muy alta, en lagos de alta montaña de California, después de erradicar los peces exóticos (Knapp *et al.*, 2001). En los Pirineos, los resultados obtenidos en un estudio paralelo (Buchaca *et al.*, 2019) muestran que, más allá de los anfibios, el grupo que presenta una respuesta más clara a la erradicación de los peces son los macroinvertebrados del litoral, los cuales incrementan la riqueza de taxones progresivamente, al mismo tiempo que su composición converge con la de los lagos naturales. El cambio en la biomasa de las algas del perifiton es menos acusado y solo se produce allí donde había habido piscardos como única especie piscícola o acompañado de algún salmónido. En el sistema pelágico, solo se observaba un aumento en las abundancias de los crustáceos y una disminución en la biomasa del fitoplancton allí donde había habido piscardos como única especie (Buchaca *et al.*, 2019).

Sin embargo, el hecho más destacable en nuestro caso es la recuperación del conjunto de toda la comunidad de anfibios tras erradicar o controlar los peces exóticos. Hasta ahora, solo se había descrito la recuperación de una sola especie de rana en distintos casos (Knapp *et al.*, 2007; Pope, 2008; Tiberti *et al.*, 2018; Vredenburg, 2004), pero no de toda la comunidad.

Hemos comprobado que las diferentes especies de anfibios autóctonos presentes en cada circo han colonizado los lagos rápida y progresivamente. Las primeras colonizaciones naturales de anfibios se han observado, en todos los casos, a partir del primer o segundo año de los trabajos de erradicación, aunque todavía quedara una cierta fracción de peces en los lagos. En este sentido, toma una gran importancia la conservación de las poblaciones aisladas de anfibios que quedan refugiadas en algunos valles o circos. Estas poblaciones marginales tienen una importancia capital directa, ya que mantienen la posibilidad de supervivencia local de la especie. Al mismo tiempo, también tienen una gran importancia indirecta, como población fuente para proporcionar individuos colonizadores en el contexto de posibles acciones de conservación similares.

En cuanto a la rapidez de colonización de las diferentes especies, parece que, en general, el tritón pirenaico y el tritón palmeado colonizan y se reproducen en los lagos de actuación más rápidamente que la rana bermeja. Esto sugiere que los tritones son menos sensibles a la presencia de peces y discriminan menos los lagos donde están presentes. En cambio, la colonización retardada de la rana bermeja sugiere que los adultos de esta especie rehúsan, para la reproducción, los lagos donde ha habido o quedan algunos peces, incluso con una cierta inercia tras desaparecer el riesgo de depredación. Esto se podría explicar por una mayor sensibilidad para detectar la presencia de sustancias químicas excretadas por los peces, que llevaría a esta especie a priorizar localidades de puesta más seguras. En el caso de los tritones pirenaico y palmeado, la dinámica que hemos observado nos lleva a pensar que protagonizan cierto número de migraciones hacia los lagos, con independencia de si hay peces o no. Un gran número de estos tritones migrantes serían habitualmente depredados al llegar a un lago con peces.

La recuperación de las poblaciones de anfibios se ha observado con la misma rapidez y elasticidad en los 8 lagos, independientemente de las especies de peces introducidas. Esta es otra novedad destacable que aporta nuestro estudio, ya que, hasta ahora, todas las acciones de erradicación en lagos de alta montaña se habían llevado a cabo solo trabajando con truchas exóticas. Nuestros datos muestran que la erradicación de piscardos requiere más tiempo que la de las truchas, pero finalmente, en ambos casos, se obtiene el mismo resultado, completamente satisfactorio en cuanto a la recuperación de los anfibios autóctonos.

Sin embargo, la recuperación de los anfibios que hemos observado se mantiene bajo un riesgo evidente si, en algún caso, no se pueden erradicar todos los peces presentes o, por otra parte, se detienen las acciones de control antes de completar la erradicación (en algunos de los lagos con piscardos, durante el plazo del proyecto LIFE+ LimnoPirineus, el objetivo era controlar, pero no erradicar los peces exóticos). En este caso, solo unos pocos peces que sobrevivieran a las tareas de erradicación o control serían suficientes para restablecer las poblaciones enteras en algunos años. Con el objetivo de reducir este riesgo, el proyecto LIFE+ LimnoPirineus preveía, desde su inicio, un plan posproyecto que pretendía facilitar la continuación de las acciones de erradicación o control, cuando fuera necesario, más allá de su finalización, en mayo de 2019. Las futuras acciones contempladas en este plan deberían garantizar el control de las poblaciones de peces exóticos en los lagos que no hayan quedado libres de peces. Solo así se podrá asegurar que la recuperación de los anfibios autóctonos se pueda consolidar y sostener a medio y largo plazo.

CONCLUSIONES

Debemos concluir que la recuperación de la comunidad entera de anfibios en lagos de alta montaña es posible después de erradicar o reducir drásticamente las poblaciones de peces exóticos. Además, queda claro que, con respecto

a la ocurrencia de anfibios, la recuperación se puede lograr tan solo 2 años después de haber iniciado las acciones de erradicación. Estas conclusiones se pueden aplicar claramente al diseño o ejecución de futuros proyectos de conservación en lagos de alta montaña. Sin embargo, si queremos ir más allá en los objetivos de conservación, necesitamos fomentar activamente el abandono de las introducciones de peces en los lagos de alta montaña, con independencia de si están o no en el interior de un espacio protegido. Esta sería la mejor forma de evitar que el hábitat adecuado y favorable para los anfibios disminuya aún más en zonas montañosas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores queremos dar las gracias a todo el personal del Parque Nacional de Aigüestortes i Estany de Sant Maurici y del Parque Natural del Alt Pirineu, así como a los miembros del Cuerpo de Agentes Rurales de la Generalitat de Cataluña, por su colaboración y apoyo. También queremos agradecer el apoyo de los compañeros de trabajo y de los otros colaboradores que nos han ayudado en las tareas de campo para censar anfibios. Este estudio ha sido financiado por el proyecto LIFE+ LimnoPirineus (LIFE13 NAT/ES/001210).

BIBLIOGRAFÍA

- AGRESTI A. (2007). *An Introduction to Categorical Data Analysis*, 2.^a ed. John Wiley & Sons, Nueva York.
- ALTIG R., WHILES M.R. Y TAYLOR C.L. (2007). What do tadpoles really eat? Assessing the trophic status of an understudied and imperiled group of consumers in freshwater habitats. *Freshwater Biology* 52, 386-395.
- ANDERSON M.J. (2006). Distance-based tests for homogeneity of multivariate dispersions. *Biometrics* 62, 245-253.
- ANDERSON M.J. Y GORLEY R.N. (2008). *PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods*. PRIMER-E, Plymouth (Reino Unido).
- ARG-UK (2013). *NARRS Amphibian Survey Protocols* (v. 2013). Amphibian and Reptile Groups of the United Kingdom.
- BENARD M.F. Y FORDYCE J.A. (2003). Are induced defenses costly? Consequences of predator-induced defenses in western toads, *Bufo boreas*. *Ecology* 84, 68-78.
- BRADFORD D.F., KNAPP R.A., SPARLING D.W., NASH M.S., STANLEY K.A., TALLENT-HALSELL N.G., MCCONNELL L.L. Y SIMONICH S.M. (2011). Pesticide distributions and population declines of california, USA, alpine frogs, *Rana muscosa* and *Rana sierrae*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 30, 682-691.
- BUCHACA T., BALLESTEROS E., CHAPPUIS E., GACIA E., GALLÉS A., MIRÓ A., OSORIO V., POU-ROVIRA Q., PUIG M.À., SABAS I. Y VENTURA M. (2016). Efectes de la presència de diverses espècies de peixos invasors en els estanys d'alta muntanya. En: *La investigació al Parc Nacional d'Aigüestortes i estany de Sant Maurici*. X Jornades d'Investigació del Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici, pp. 171-183. Generalitat de Catalunya. Departament de Territori i Sostenibilitat, Espot (Pallars Sobirà), 14, 15 y 16 de octubre de 2015.
- BUCHACA T., SABAS I., OSORIO V., POU-ROVIRA Q., MIRÓ A., PUIG M.À., CRUSET E., FONT B., BALLESTEROS E. Y VENTURA M. (2019). Canvis en els estanys a partir de la reducció de les densitats de peixos en el marc del projecte LIFE LIMNOPIRINEUS. En: *La investigació al Parc Nacional d'Aigüestortes i estany de Sant Maurici*. XI Jornades d'Investigació del Parc Nacional d'Aigüestortes i Estany de Sant Maurici. Generalitat de Catalunya. Departament de Territori i Sostenibilitat, Boí (Alta Ribagorça), 17, 18 y 19 de octubre de 2018.
- CRUMP M.L. Y SCOTT JR. N.J. (1994). Visual encounter surveys. En: Heyer W.R., Donnelly M.A., McDiarmid R.W., Hayek L.-A.C., Foster M.S. (eds.) *Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians*. Pp. 84-91. Smithsonian Institution Press. Washington, D. C.
- HOLLANDER M., WOLFE D.A. Y CHICKEN E. (2014). *Nonparametric Statistical Methods*, 3.^a ed. John Wiley & Sons, Nueva York.
- KNAPP R.A. Y MATTHEWS K.R. (1998). Eradication of nonnative fish by gill netting from a small mountain lake in California. *Restoration Ecology* 6, 207-213.
- KNAPP R.A., MATTHEWS K.R. Y SARNELLE O. (2001). Resistance and resilience of alpine lake fauna to fish introductions. *Ecological Monographs* 71, 401-421.
- KNAPP R.A. (2005). Effects of nonnative fish and habitat characteristics on lentic herpetofauna in Yosemite National Park, USA. *Biological Conservation* 121, 265-279.
- KNAPP R.A., BOIANO D.M. Y VREDENBURG V.T. (2007). Removal of nonnative fish results in population expansion of a declining amphibian (mountain yellow-legged frog, *Rana muscosa*). *Biological Conservation* 135, 11-20.
- KNAPP R.A., FELLERS G.M., KLEEMAN P.M., MILLER D.A.W., VREDENBURG V.T., ROSENBLUM E.B. Y BRIGGS C.J. (2016). Large-scale recovery of an endangered amphibian despite ongoing exposure to multiple stressors. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113, 11889-11894.
- LEGENDRE P. Y GALLAGHER E. (2001). Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. *Oecologia* 129, 271-280.
- LEGENDRE P. Y LEGENDRE L. (2012). *Numerical ecology*. 3.^a ed. Elsevier, Amsterdam.
- MAXWELL B.J., PIOVIA-SCOTT J., LAWLER S.P. Y POPE K.L. (2011). Indirect effects of introduced trout on Cascades frogs (*Rana cascadae*) via shared aquatic prey. *Freshwater Biology* 56, 828-838.
- MAXWELL B.J. Y KNAPP R.A. (2018). Disease and climate effects on individuals drive post-reintroduction population dynamics of an endangered amphibian. *Ecosphere* 9, e02499.
- MCDIARMID R. W. Y ALTIG R. (2000). Tadpoles. The biology of anuran larvae, p. 458. The University of Chicago Press, Chicago y Londres.

- MIRÓ A. (2011). Les truites als estanys dels Pirineus: Tradicions, vivències i implicacions per a la conservació. Pagès Editors, Lleida.
- MIRÓ A. Y VENTURA M. (2013). Historical use, fishing management and lake characteristics explain the presence of non-native trout in Pyrenean lakes: Implications for conservation. *Biological Conservation* 167, 17-24.
- MIRÓ A. Y VENTURA M. (2015). Evidence of exotic trout mediated minnow invasion in Pyrenean high mountain lakes. *Biological Invasions* 17, 791-803.
- MIRÓ A., SABÁS I. Y VENTURA M. (2018). Large negative effect of non-native trout and minnows on Pyrenean lake amphibians. *Biological Conservation* 218, 144-153.
- NYSTRÖM P., SVENSSON O., LARDNER B., BRONMARK C. Y GRANÉLI W. (2001). The influence of multiple introduced predators on a littoral pond community. *Ecology* 82, 1023-1039.
- OKSANEN J., BLANCHET F. G., FRIENDLY M., KINDT R., LEGENDRE P., MCGLINN D., MINCHIN P. R., O'HARA R. B., SIMPSON G. L., SOLYMOS P., STEVENS M. H. H., SZOEC S. E. Y WAGNER H. (2018). *vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.5-1. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- PECHLANER R. (1984). Historical evidence for the introduction of Arctic charr into high-mountain lakes of the Alps by man, 449-557.
- PISTER E. P. (2001). Wilderness fish stocking: history and perspective. *Ecosystems* 4, 279-286.
- POPE K.L., MATTHEWS K.R. Y MONTGOMERY W.L. 2001. Movement Ecology and Seasonal Distribution of Mountain Yellow-Legged Frogs, *Rana muscosa*, in a High-Elevation Sierra Nevada Basin. *Copeia* 2001, 787-793.
- POPE K. L. (2008). Assessing changes in amphibian population dynamics following experimental manipulations of introduced fish. *Conservation Biology* 22, 1572-1581.
- R CORE TEAM (2018). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- REISSIG M., TROCHINE C., QUEIMALINOS C., BALSEIRO E. Y MODENUTTI B. (2006). Impact of fish introduction on planktonic food webs in lakes of the Patagonian Plateau. *Biological Conservation* 132, 437-447.
- SMITH T. C., PICCO A. M. Y KNAPP R. (2017). Ranaviruses Infect Mountain Yellow-legged Frogs (*Rana muscosa* and *Rana sierrae*) Threatened by *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Herpetological Conservation and Biology* 12, 149-159.
- TIBERTI R. Y VON HARDENBERG A. (2012). Impact of introduced fish on Common frog (*Rana temporaria*) close to its altitudinal limit in alpine lakes. *Amphibia-Reptilia* 33, 303-307.
- TIBERTI R., BOGLIANI G., BRIGHENTI S., IACOBUZIO R., LIAUTAUD K., ROLLA M., VON HARDENBERG A. Y BASSANO B. (2018). Recovery of high mountain Alpine lakes after the eradication of introduced brook trout *Salvelinus fontinalis* using non-chemical methods. *Biological Invasions*.
- VENTURA M., TIBERTI R., BUCHACA T., BUÑAY D., SABAS I. Y MIRÓ A. (2017). Why should we preserve fishless high-mountain lakes? En: Catalan J., Ninot J., Aniz M. (eds.) *Advances in Global Change Research*, vol. 62: High Mountain Conservation in a Changing World. Capítulo 8. Pp. 181-205. Springer International Publishing.
- VREDENBURG V. T. (2004). Reversing introduced species effects: Experimental removal of introduced fish leads to rapid recovery of a declining frog. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101, 7646-7650.
- WELLS K. D. (2007). The ecology and behavior of amphibians.
- WHITTAKER K., KOO M. S., WAKE D. B. Y VREDENBURG V. T. (2013). Global Declines of Amphibians. En: S.A. L. (eds.) *Encyclopedia of Biodiversity*, 2.^a ed., vol. 3, pp. 691-699. Academic Press. Waltham, Massachusetts.
- WILEY R. W. (2003). Planting trout in Wyoming high-elevation wilderness waters. *Fisheries* 28, 22-27.