

# Dinámica temporal e historias de vida de dos especies de peces anuales del Río Uruguay bajo

(Qué es ser un pez anual en Villa Soriano)



## Tesis de Doctorado

Daniel García

2015 - 2019

**Orientador:** Martin Reichard (Academia de Ciencias de República Checa)

**Co-orientador:** Marcelo Loureiro (PEDECIBA Biología, UdeLaR)

**Tribunal:** Matías Arim (Presidente)

Daniel Naya (Vocal)

Diego Lercari (Vocal)



## Palabras clave

Plasticidad fenotípica – Fenología - Sincronía de eclosión - Proporción de sexos – Curva de crecimiento – Madurez sexual - Adaptación - Cambio climático

## Resumen

Ciertos cambios en la fenología de una especie (momento del ciclo de vida en que se dan eventos clave, *i.e.* nacimiento, madurez sexual), pueden tener efectos sobre rasgos de su historia de vida (momento de la eclosión, crecimiento, madurez sexual). El ciclo de vida de los peces anuales está altamente ensamblado a las fases de inundación y sequía del ambiente que habitan, los charcos de agua temporales. El género de peces anuales *Austrolebias* se distribuye en las zonas subtropicales y templadas de Sudamérica. Está altamente amenazado debido a las modificaciones de su hábitat y a las alteraciones de los ciclos naturales de inundación de los ríos. En los humedales de Villa Soriano (cuenca del Río Uruguay) cohabitan dos especies de *Austrolebias* (*A. bellottii* y *A. nigripinnis*), las cuales comparten hábitat en algunos lugares con la especie *A. elongatus* de mayor tamaño. El ciclo de vida de las *Austrolebias* subtropicales comienza con el llenado de los charcos en otoño y dura hasta finales de la primavera, cuando éstos se secan. Sin embargo, un evento de sequía inusual a mediados del invierno de 2015, afectó a varios charcos de la región. Los charcos se volvieron a llenar con una gran precipitación en Agosto y en algunos eclosionó una nueva cohorte de peces para dos especies. En esta tesis se investigaron las consecuencias de estos patrones alterados de las precipitaciones, sobre los rasgos de historia de vida y la dinámica de las poblaciones de peces anuales de la región Pampa del Oeste de Uruguay. Se estudiaron los ensambles de *Austrolebias* en 18 charcos en la confluencia del Río Uruguay y el Río Negro y se realizaron 16 salidas de muestreo a lo largo de todo el ciclo de vida de los peces en 2015. Se utilizó la lectura de otolitos para probar que existe una asociación directa entre las lluvias y las fechas de eclosión de las especies de *Austrolebias*. La eclosión de ambas cohortes fue relativamente sincrónica dentro y entre las especies. La

primera eclosionó durante un mes a principios de otoño, con un pico entre el 15 y el 20 de abril. No se pudo confirmar la eclosión más temprana de la especie de gran tamaño (*A. elongatus*). La eclosión de la segunda cohorte duró quince días con un pico entre el 2 y el 6 de agosto. *Austrolebias bellottii* fue una especie ubicua y generalista, *A. nigripinnis* fue más común en los charcos con influencia de la planicie inundable del Río Negro *Austrolebias elongatus* fue una especie rara en general, y *A. alexandri* fue encontrada accidentalmente. La disminución temporal de la abundancia y de la densidad de peces fue lineal, en lugar de tener un decaimiento más empinado al final de la temporada, justo antes de secarse los charcos. Se encontraron indicios de que los adultos de *A. bellottii* pueden sobrevivir un corto periodo de desecación en el barro húmedo, pudiendo llevar a la coexistencia de *A. bellottii* mayores con *A. nigripinnis* más jóvenes. Los machos desaparecieron de las poblaciones con una tasa mayor hacia el final de la temporada. La duración de la vida de *A. bellottii* y *A. nigripinnis* fue de hasta siete meses en los charcos que no se secaron. La segunda cohorte experimentó una temperatura menor del agua en el momento de la eclosión y el desarrollo de los juveniles, pero una temperatura mayor durante la fase de crecimiento de los adultos. La segunda cohorte se desarrolló más rápido, con una llegada 40% más rápida al tamaño corporal asintótico (14 vs. 23 semanas). Su tamaño corporal asintótico fue significativamente menor en *A. bellottii* pero no en *A. nigripinnis*. El desarrollo más rápido de los juveniles de la segunda cohorte fue asociado con una maduración más temprana y una inversión más fuerte en el tejido reproductivo. Esta alteración de la historia de vida es adaptativa, ya que los peces de la segunda cohorte vivieron una vida más corta (hasta que las altas temperaturas eliminaron todas las poblaciones de peces anuales). Esta tesis demuestra cómo los peces anuales pueden hacer frente a cambios inesperados en las precipitaciones, los cuales pueden ser consecuencia del cambio climático. Las poblaciones estudiadas de peces anuales mostraron una gran plasticidad fenotípica que amortiguó las consecuencias de las alteraciones del ciclo climático. Esta habilidad de hacer frente a las alteraciones del ciclo natural que tienen estas poblaciones, depende en gran medida de la capacidad de los bancos de huevos en el sedimento de hacer frente al aumento de la impredecibilidad de las precipitaciones. Sin embargo, es posible que

las poblaciones de peces anuales no puedan hacer frente a una amenaza mayor, la modificación o destrucción de su hábitat por parte de los humanos.

## Agradecimientos

La realización de esta tesis llevó muchos años y, por lo tanto, muchas personas y organizaciones estuvieron vinculadas. Es por este motivo que he decidido agradecerles en forma cronológica.

La tesis comenzó a gestarse a finales del año 2013 cuando, habiendo terminado mi maestría, decidí embarcarme en los estudios de doctorado. Sin mucha idea de la temática a abordar, hablé con Marcelo, quién había sido mi orientador en etapas previas de mi carrera. Tenía claro que él iba a ser parte de mi orientación. Luego de que me propusiera una o dos sugerencias que no lograron motivarme totalmente, me sugirió que contactara a Martin. A Martin lo había visto en una charla que había dado unos años antes, pero no había tenido ningún diálogo previo con él. Un poco motivado por las ganas de vincularme con personas del exterior, decidí escribirle. Y realmente me sorprendió la persona que me encontré cuando empecé a conocerlo. No sólo es lo que significa como orientador, siempre atento a los avances, cuidando detalles y transmitiendo con claridad sus conocimientos. Lo mejor es encontrar a la persona atrás del científico. Una persona amable, humilde y que no se para sobre ningún pedestal. Por el contrario, es alguien de trato horizontal y con una empatía pocas veces vista en el ámbito académico. Desde el primer correo pude notar esto y no ha cambiado en estos 5 años de vínculo. Poradce se stal přítelem.

En mayo de 2014, aprovechando que tenía una salida de campo en Brasil, Martin vino con Matej a hacer una salida exploratoria y definir el área de estudio. Después de recorrer el país a lo ancho, nos decidimos por realizarlo en el área de Villa Soriano. Afortunadamente un par de proyectos que habíamos presentado, fueron aprobados. Primero fue un Fondo Clemente Estable, Modalidad II (FCE\_3\_2013\_1\_100380) del cual fui responsable. Enseguida aprobaron un fondo CSIC I+D (2014\_7), del cual fue Marcelo el responsable. Y como si todo esto fuera poco, también mi beca de posgrado ANII fue aprobada (POS\_NAC\_2014\_1\_102280). Sin inconvenientes financieros que pudieran complicar, fui aceptado en el programa de doctorado en febrero de 2015 y ese mismo año empezaron los muestreos. Para que quede dentro del sector financiero, aunque esté mal ubicado cronológicamente, debo saludar a la gente de la CAP que me dieron una beca de

finalización de posgrado que se termina cuando termine todo esto (BFPD\_2018\_1#26027733).

Hubo salidas exploratorias en Enero y Febrero de 2015, a las que nos acompañó Joselo. Y ya para Abril apareció el Machín. Otra persona que no conocía mucho, aunque sí había tenido algún contacto ocasional. Finalmente el Machín terminó siendo parte fundamental del desarrollo de la tesis. Tuvo presencia destacada en las salidas de campo, invirtiendo tiempo e ideas. Con él realizamos también un taller de Enseñanza de Ecología en el Patio de la Escuela (EEPE) en la Villa, con los peces anuales como tema central. El taller contó con la presencia de gente local y de otras partes del país. También el proyecto y el taller tuvieron difusión en la radio "San Salvador" de Dolores, en el programa de María Luisa llamado "Por un mundo mejor". Estuvimos todo el programa hablando de los peces anuales y del taller. Pero el Machín colaboró mucho más allá, y sigue haciéndolo mientras escribo estas palabras. Otro que se convirtió en amigo.

Varias personas colaboraron ocasionalmente en las muchas salidas de muestreo, como Diego y Esteban. Pero quién realmente estuvo presente en forma constante fue Patricia. Patricia tiene el dudoso honor de haberse casado conmigo, por lo que el contacto con las salidas fue siempre directo. Pero ella quiso ir más allá y colaborar de primera mano. Y vaya si lo hizo. No sólo colaboró en las colectas a la par de cualquiera, sino que además se manejó con una pro actividad que varios en la vuelta deberían imitar. Y como si esto fuera poco, brindó ideas prácticas que solucionaron situaciones inesperadas. Alguien para tener en cuenta a la hora de ir al campo.

Villa Soriano era un lugar nuevo para mí. Sin embargo ahora es como mi casa. Y esto incluye haber conocido a un montón de personas. Para empezar, fuimos tratados de maravilla por el personal de la Junta Local de Villa Soriano, quienes siempre que pudieron nos prestaron el alojamiento municipal sin cargo. Desde el primer momento, Silvia, Susana, Erick y Javier (quién además fue participante destacado del taller EEPE) fueron muy atentos e interesados por esos peces de los que no tenían ni idea. Pero muchas más personas locales participaron también. Los dueños de las tierras permitieron el paso sin inconvenientes siempre. La gente de la estancia "Curupí", con Lucas a la cabeza, pero también Guzmán y los que ya no están, además brindaron datos de lluvias con una precisión envidiable. La familia Segú también brindó apoyo, y los dueños de los campos del Rincón a

través de Gerardo, quienes también siempre permitieron sin inconvenientes la entrada al campo. Otros que también tenían datos de lluvias en la zona eran Víctor y Gabriela. Y por supuesto los brindaron sin dudar. Hoy todavía son referentes cuando quiero saber de primera mano cómo están las lluvias en la Villa. Dejo para el final de los saludos villeros a la querida Walquiria. Una persona muy interesante que tiene la capacidad de soportar ella sola un boliche para borrachos de campaña. También brinda alojamiento a precio razonable y fue la salvación todas esas veces que las cabañas municipales estaban ocupadas.

Amigos también resultaron todos los integrantes del laboratorio de Martín. Desde que vinieron en 2015 al simposio de peces anuales y aprovechamos para hacer una salida de muestreo, el vínculo fue excelente. Y esto creció en cada una de las dos veces que fui a Brno. Personas increíbles como Milan, Radim, Jakub y muy particularmente Matej, a quién ahora le tocó venirse 6 meses a Uruguay para poder liberar a su robot interno. Grandes personas. Y debo agregar acá a toda la gente del IBO por allá. Me alojaron sin inconvenientes, siempre atentos y amables. Además me encontré con un hermoso país que me hizo vivir sensaciones muy fuertes. Moc děkuji za to, že jsem byla součástí laboratoře. A piva.

Un abrazo destacado he de mandar a Martín, Ramiro y Leo, quienes aparecieron por la Villa a fines de Noviembre porque estaban escribiendo un libro sobre especies nativas amenazadas (como verán en la tesis, los peces anuales están bastante amenazados). Finalmente resultó que no sólo era un libro, sino también un video documental. La verdad quedé muy agradecido con el producto final de ambos, libro y video; “Mañana es tarde” vale la pena. Como siempre, primero el libro.

Pero no todo fue color de rosas, y muchas cosas que se hicieron no aparecen escritas en esta tesis. Y se hizo mucho. Por este motivo, es de orden comprometerse por escrito a que algo se haga. Sin la presión de los tiempos, pero sin dejarlo en el olvido. Que así sea. Y para todo esto también colaboró gente. Algo que no se incluyó y para lo que se invirtió mucho tiempo, fueron los análisis de dieta. Acá otra vez el Machín tuvo participación destacada. En el intento de analizar esos datos conté también con la colaboración de Ariel, a quién le estoy muy agradecido por todo el tiempo que dedicó. Esto sale o sale. Pero también hubo otra parte que era algo completamente adicional a lo que presento en la tesis. Era un complemento que de haberse dado como se esperaba, hermosos resultados

podrían haberse obtenido. No fue así, pero igualmente debo agradecer a Verónica, que dedicó muchas horas y aportó mucho conocimiento. Además, de todo esto aprendí muchísimas cosas. Cosas que no tenía ni idea cómo se hacían y ahora lo sé. Y también debo agradecer a Anabel, que también le puso muchas horas. Todavía hay tejido, nada está perdido.

En el final de la cronología queda Carl, que lo conocí bien terminando la tesis (Octubre de 2018) y resultó ser otro tipazo como pocos. Y aportó significativamente para el análisis de los datos. También quiero agradecer a Matías y a Daniel que fueron los miembros de la CAS, y anduvieron atrás de los avances desde el primer día. Y a todos los integrantes del tribunal. A Matías, Daniel y Diego, que apenas les sugerí la posibilidad de integrarlo, aceptaron de buen modo y completaron la corrección en plazos destacables.

Obviamente quedan para el final, porque no tienen ubicación cronológica, personas que están desde que nací. Qué decir de mis padres, que vienen aguantando todos mis viajes desde siempre. Siempre me pongo a pensar, qué se les pasará por la cabeza cuando repasan todas las vueltas que he dado en mi vida. Obviamente, estuvieron apoyando cada vez que los necesité con una u otra cosa. Otra que se la bancó como una crá fue Emi, que sufrió en carne propia cada vez que me tuve que ausentar porque el deber llamaba. Y también alguna vez le tocó acompañar al campo. También mi hermana y mis sobrinos son personas con las que siempre puedo contar. Sea a la distancia o a la cercanía. Muchas fueron las ayudas brindadas. Y un abrazo grande a Matías. Gran amigo que estuvo siempre al tanto de avances y desavances. Grandes discusiones se generaron.

Esta tesis va dedicada a las mujeres de mi especie. Que sepan que tienen en este ser de su especie a alguien que cree que los abusos de todo tipo, de parte de humanos hacia otros humanos y hacia otros no humanos, deben terminarse. Y hasta que no se terminen, no lograremos avanzar como especie. Y una vez que logremos el respeto real hacia todos y todo, no necesitaremos ni fronteras, ni ejércitos, ni naciones. Seremos simplemente humanos conviviendo en armonía con otros humanos y no humanos. Sólo el ignorante se burla.

“Necesitamos especialmente de la imaginación en las ciencias. No todo es matemáticas y no todo es simple lógica, también se trata de un poco de belleza y poesía.”

María Montessori  
(1870 - 1952)

“Cada uno es un ser individual.”  
Ligia Rígoli  
(1915 - 2001)

# Índice

<b>1 - Introducción general.....</b>	<b>pág. 13</b>
<b>1.1 - Las historias de vida.....</b>	<b>pág. 14</b>
<b>1.2 - Los ambientes temporales y los peces anuales.....</b>	<b>pág. 17</b>
<b>1.3 - Las <i>Austrolebias</i>.....</b>	<b>pág. 20</b>
<b>1.4 - Objetivo general.....</b>	<b>pág. 22</b>
<b>2 - Metodología general.....</b>	<b>pág. 24</b>
<b>2.1 - Área de estudio y parámetros ambientales.....</b>	<b>pág. 25</b>
<b>2.2 - Método de muestreo.....</b>	<b>pág. 34</b>
<b>3 - Fenología de tres especies de peces anuales: patrones temporales en las fechas de eclosión.....</b>	<b>pág. 36</b>
<b>3.1 - Introducción.....</b>	<b>pág. 37</b>
<b>3.2 - Materiales y métodos.....</b>	<b>pág. 39</b>
<b>3.3 - Resultados.....</b>	<b>pág. 42</b>
<b>3.4 - Discusión.....</b>	<b>pág. 47</b>
<b>4 - Co-ocurrencia de especies y dinámica poblacional en ensamblajes de peces anuales de la cuenca del Río Uruguay bajo.....</b>	<b>pág. 53</b>
<b>4.1 - Introducción.....</b>	<b>pág. 54</b>
<b>4.2 - Materiales y métodos.....</b>	<b>pág. 55</b>
<b>4.3 - Resultados.....</b>	<b>pág. 58</b>
<b>4.4 - Discusión.....</b>	<b>pág. 64</b>

---

<b>5 - Efectos de un cambio en la fenología sobre caracteres de historia de vida de peces anuales</b>	
.....	pág. 68
<b>5.1 - Introducción</b> .....	pág. 69
<b>5.2 - Materiales y métodos</b> .....	pág. 71
<b>5.3 - Resultados</b> .....	pág. 75
<b>5.4 - Discusión</b> .....	pág. 81
<b>6 - Conclusiones generales</b> .....	pág. 88
<b>7 - Perspectivas</b> .....	pág. 91
<b>8 - Bibliografía general</b> .....	pág. 94

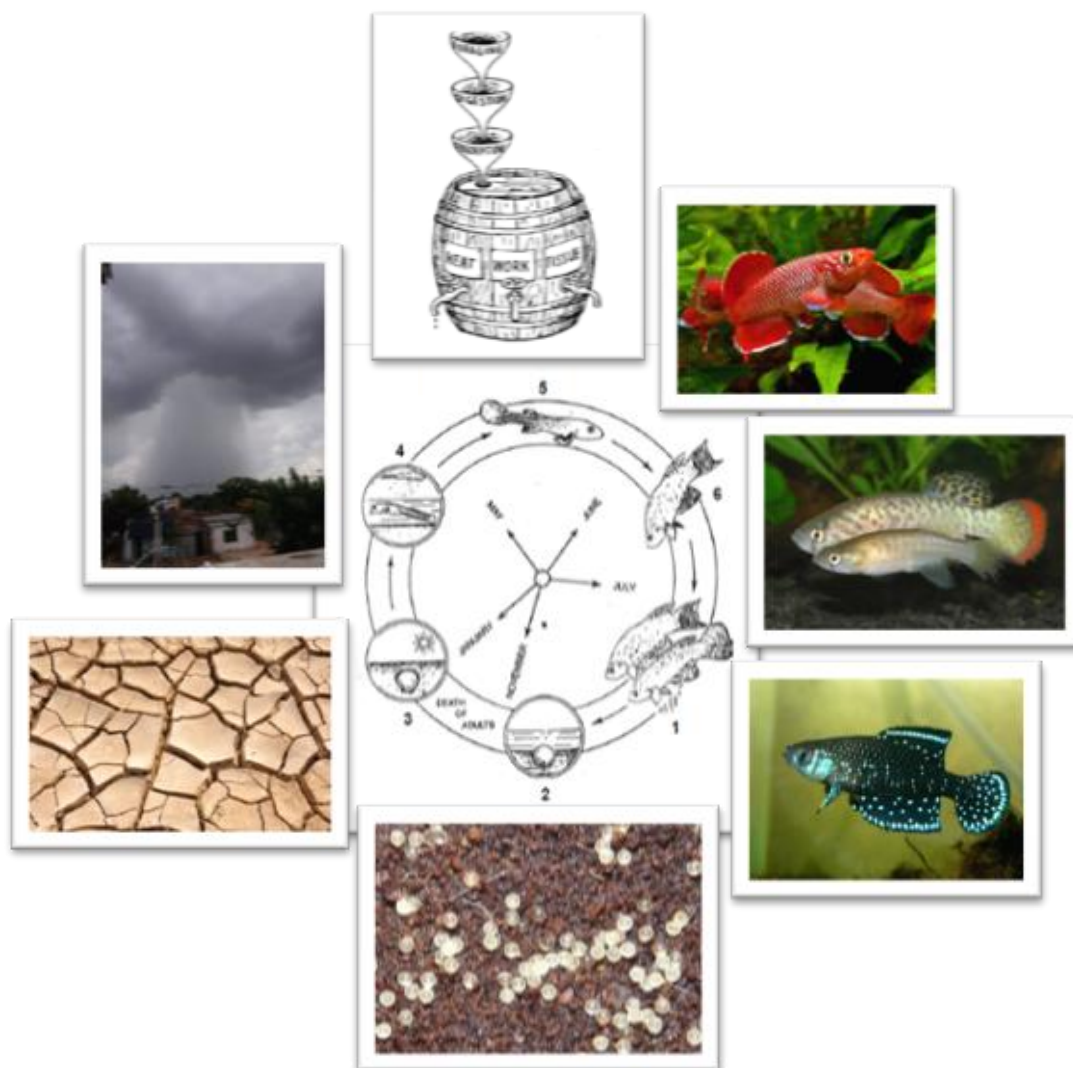
## Índice de Figuras

<b>Figura 2.1</b> .....	pág. 26	<b>Figura 3.5</b> .....	pág. 49
<b>Figura 2.2</b> .....	pág. 27	<b>Figura 4.1</b> .....	pág. 58
<b>Figura 2.3</b> .....	pág. 28	<b>Figura 4.2</b> .....	pág. 59
<b>Figura 2.4</b> .....	pág. 29	<b>Figura 4.3</b> .....	pág. 61
<b>Figura 2.5</b> .....	pág. 30	<b>Figura 4.4</b> .....	pág. 61
<b>Figura 2.6</b> .....	pág. 30	<b>Figura 4.5</b> .....	pág. 66
<b>Figura 2.7</b> .....	pág. 32	<b>Figura 4.6</b> .....	pág. 63
<b>Figura 2.8</b> .....	pág. 33	<b>Figura 5.1</b> .....	pág. 76
<b>Figura 2.9</b> .....	pág. 35	<b>Figura 5.2</b> .....	pág. 77
<b>Figura 3.1</b> .....	pág. 41	<b>Figura 5.3</b> .....	pág. 79
<b>Figura 3.2</b> .....	pág. 41	<b>Figura 5.4</b> .....	pág. 80
<b>Figura 3.3</b> .....	pág. 43	<b>Figura 5.5</b> .....	pág. 85
<b>Figura 3.4</b> .....	pág. 46		

## Índice de Tablas

<b>Tabla 2.1</b> .....	pág. 31	<b>Tabla 5.1</b> .....	pág. 76
<b>Tabla 3.1</b> .....	pág. 44	<b>Tabla 5.2</b> .....	pág. 80
<b>Tabla 3.2</b> .....	pág. 45	<b>Tabla 5.3</b> .....	pág. 81
<b>Tabla 3.3</b> .....	pág. 46		

# 1-Introducción general



## 1.1 - Las historias de vida

Los seres vivos necesitan nutrientes para sobrevivir. Los utilizan para crecer, mantener sus cuerpos y reproducirse. Sin embargo, estos recursos son limitados y a menudo los individuos compiten para adquirirlos (*e.g.*: luz solar y minerales en plantas o alimento en animales). Entonces, los organismos deben repartir estos recursos limitados entre sus diferentes actividades vitales (crecer, mantener su cuerpo, reproducirse). La historia de vida de una especie es el conjunto de características de su ciclo de vida, relacionadas con la supervivencia y la reproducción (Stearns, 1992).

Estudiar historias de vida es prestar particular atención a la interacción entre los procesos de adaptación y las diversas limitantes que los afectan. Esta interacción determina cierta adaptación que les permite a los individuos que posean estrategias exitosas sobrevivir y proliferarse, incrementando así su eficacia darwiniana (*fitness*). La selección natural moldea las historias de vida y éstas son un reflejo de cómo una especie distribuye sus recursos limitados entre el crecimiento, la supervivencia y la reproducción. Esta disciplina unifica y explica la diversidad de la vida y la complejidad de sus ciclos. La evolución de los rasgos de historia de vida y su plasticidad determinan también las dinámicas poblacionales de las especies que interactúan (Stearns, 1992).

La Teoría de Historia de Vida describe la asignación estratégica de recursos materiales y de energía entre los diferentes componentes del *fitness* (*e.g.*: calorías y nutrientes aportados al crecimiento en contra de la reproducción) (Figueredo *et al.*, 2006). El estudio de las historias de vida se basa en que los fenotipos de los individuos están compuestos por caracteres o rasgos (momento de eclosión, edad y tamaño de madurez, número y tamaño de la descendencia, crecimiento e inversión reproductiva, duración de la vida y muerte) y éstos están conectados por relaciones de restricciones y compensaciones. De este modo, los individuos pueden realizar un mayor *Esfuerzo Somático* (asignar la mayoría de los recursos al crecimiento o a la supervivencia del organismo a nivel individual), o realizar un mayor *Esfuerzo Reproductivo* (asignar la mayoría de los recursos a la producción de nuevos organismos como vehículos de transmisión de la información genética

del individuo). El *Esfuerzo Reproductivo* se divide en *Esfuerzo de Apareamiento* por un lado y *Esfuerzo Parental* y *Esfuerzo en Nepotismo* por el otro. El *Esfuerzo de Apareamiento* se refiere a los recursos volcados a obtener y retener compañeros sexuales. El *Esfuerzo Parental* y *Esfuerzo en Nepotismo* se refieren a los recursos asignados para mejorar la supervivencia de la descendencia existente y de otros parientes genéticos (*e.g.*: hermanos o sobrinos). Así, una determinada estrategia de historia de vida asignará la energía y los recursos materiales de un individuo entre las demandas de supervivencia y de reproducción.

La Teoría de Historia de Vida propone la existencia de una continuidad de variación de estrategias reproductivas entre  $r$  y  $K$ . Esta continuidad representa un rango de covariación de patrones de comportamiento reproductivo, relacionados inversamente con rasgos de historia de vida, como fecundidad e inversión parental (Mac Arthur & Wilson, 1967). Los límites de esta continuidad varían desde organismos  $r$  extremos (máxima puesta de huevos y sin cuidado parental), a organismos  $K$  extremos (tasa de nacimiento mínima y cuidado parental elaborado). De acuerdo con Pianka (1970), la Teoría de Historia de Vida predice que las especies que vivan en ambientes inestables (*e.g.*: fluctuaciones en disponibilidad de alimento o refugio) e impredecibles (*e.g.*: alta depredación o alta incidencia de parásitos) tenderán a evolucionar hacia grupos con características de “selección- $r$ ”, asociados con altas tasas reproductivas, baja inversión parental, y relativamente bajos tiempos generacionales. Por el contrario, especies que vivan en ambientes más estables y predecibles tenderán a evolucionar características de “selección- $K$ ”, asociados con bajas tasas reproductivas, alta inversión parental y largos tiempos generacionales.

Un ambiente acuático temporal, se caracteriza por tener una variabilidad estacional cíclica de las fases acuática y seca. Esto le agrega gran complejidad al estudio de las historias de vida. La duración de estas fases no es fija y depende altamente de los regímenes de lluvia de las regiones que los contienen. El ciclo de variabilidad anual complica las presiones selectivas y los compromisos, comparado con ambientes más estables. La edad, el tamaño, el crecimiento, el estado reproductivo y la mortandad, varían a lo largo del año en forma cíclica. Las

restricciones energéticas y reproductivas pueden ser también altamente estacionales, permitiendo algunas actividades sólo en un determinado momento del año. Principalmente, estas decisiones anuales tienen efectos sobre los compromisos que involucran los valores presentes y futuros de la reproducción, conectando la fenología (momento en que se dan los eventos clave del ciclo de vida de una especie) con consecuencias para toda la vida (Varpe, 2017). La evolución ha llevado a diferentes estrategias para resolver compromisos de historia de vida que emergen de la estacionalidad. Por lo tanto, la estacionalidad conduce hacia la diversidad (Daan & Tinbergen, 1997; Houston & McNamara, 1999; Kozłowski, 2006; Mathias & Chesson, 2013).

Los cambios actuales del clima están modificando rápidamente la distribución espacial y temporal de la temperatura y las precipitaciones alrededor del planeta (Trenberth, 2011; Walther *et al.*, 2002). Esto tiene efectos en todos los niveles de la biodiversidad, desde individuos y poblaciones, hasta biomas (Parmesan, 2006). Uno de los efectos más notorios de estos cambios son las alteraciones de la fenología de las especies. Éstas pueden llevar a eventos en cascada a nivel de las comunidades (Edwards & Richardson, 2004; Gilman *et al.*, 2010), mediante la respuesta de las especies que interactúan (Bellard *et al.*, 2012). Por ejemplo, los cambios en la fenología de las plantas afectan a las poblaciones de polinizadores. Dada su dependencia mutualista, la fenología alterada de las plantas podría llevar finalmente a la extinción de ambos, las plantas y los polinizadores (Rafferty & Ives, 2010). Sin embargo, muchos otros efectos relacionados con especies que interactúan de diferentes formas pueden surgir (Rafferty *et al.*, 2014), con gran desconocimiento sobre su resiliencia (Hegg *et al.*, 2013).

Los cambios en la fenología de las especies llevan también a modificaciones de los rasgos de historias de vida (Forrest & Miller-Rushing, 2010). En ese sentido, retrasar el momento de la eclosión puede llevar a un desarrollo post-eclosión en condiciones ambientales alteradas, cambiando el crecimiento y patrones de maduración, con consecuencias para la viabilidad de la siguiente generación (Varpe, 2017). Por ejemplo, la fecha de eclosión de la descendencia del salmón Atlántico (*Salmo salar*), tiene consecuencias en el tamaño de los juveniles, siendo

los juveniles más tardíos más pequeños que los que eclosionan antes. Esto podría afectarlos en eventos selectivos dependientes del tamaño, como ser la mortandad invernal, el riesgo de depredación y la reproducción (Einum & Fleming, 2000).

## **1.2 - Los ambientes temporales acuáticos y los peces anuales**

Los efectos de las alteraciones en la fenología pueden ser especialmente pronunciados en ambientes temporales acuáticos. Los hábitats temporales están sujetos a cambios entre estados alternativos del hábitat, en general predecibles y relacionados con los ciclos anuales de precipitación y temperatura (Varpe, 2017). Los charcos de agua temporales son ambientes que dependen altamente de los ciclos naturales de las fases acuática y seca (Polačik & Podrabsky, 2015). Estos ambientes pueden estar totalmente aislados o presentar conexiones temporales con ambientes permanentes. Principalmente durante grandes inundaciones, pueden producirse vínculos directos con cuerpos de agua permanentes y conexiones entre charcos adyacentes. Sin embargo, la importancia relativa de cada factor en la dinámica temporal de la fase acuática y la conectividad entre charcos temporales depende primariamente de su distancia a la fuente de agua y de la topografía local (Winter, 1999; Williams, 2006).

Entre los organismos que explotan dichos ambientes, muchos están adaptados exclusivamente a las fases recurrentes del hábitat. Esto puede seleccionarlos para adaptarse específicamente a la regularidad de los ciclos de inundación por parte de ambientes permanentes (Lytle & Poff, 2004). Sin embargo, otras especies parecen estar adaptadas a la impredecibilidad que está naturalmente asociada con ese tipo de hábitats (Polačik & Podrabsky, 2015). A medida que el cambio climático modifica los regímenes de precipitación, aumenta la incidencia de fuertes precipitaciones condensadas en el tiempo. Esto lleva a extensos períodos de sequía alternados con períodos de abundantes lluvias (Witze, 2018). De este modo, los charcos temporales están experimentando un gran cambio en los patrones temporales de las fases acuática y seca (Brooks, 2009). En las especies que habitan estos ambientes, el mismo genotipo debe hacer frente a

condiciones ambientales cada vez más impredecibles. Esto favorece la evolución de la plasticidad del desarrollo y de historias de vida alternativas (Stearns, 1989).

Los grupos de peces del Orden Cyprinodontiformes que están adaptados a vivir exclusivamente en charcos de agua temporales en zonas tropicales, subtropicales y templadas de Sudamérica y África son llamados peces anuales. Las poblaciones de peces anuales sobreviven el período seco como huevos encapsulados en el sustrato. Los huevos poseen una capa externa ornamentada (Loureiro & de Sá, 1996, Thompson *et al.*, 2018) que protege al embrión de la desecación y a la vez permite el intercambio gaseoso (Wourms & Sheldon, 1976). El desarrollo embrionario de los peces anuales involucra hasta tres diapausas facultativas (Wourms, 1972a,b,c) que mantienen a los embriones en las diferentes condiciones ambientales que atraviesan, y permiten sincronizar la eclosión con el llenado del charco. Luego de la eclosión, los peces anuales se desarrollan rápidamente y alcanzan la madurez sexual en pocas semanas (Blažek *et al.*, 2013; Vrtílek *et al.*, 2018a). Los individuos ya maduros se reproducen diariamente para aprovechar al máximo la naturaleza temporal de su hábitat.

La historia de vida anual parece haber evolucionado por lo menos seis veces entre los Cyprinodontiformes (Furness *et al.*, 2015a). En la familia Rivulidae, un clado Neotropical de Cyprinodontiformes (Loureiro *et al.*, 2018) se dieron tres transiciones evolutivas independientes hacia la estrategia de vida anual (Furness *et al.*, 2015a). Dependiendo de su ubicación geográfica pueden experimentar diferentes condiciones climáticas durante los períodos embrionarios y los períodos post-eclosión. La mayoría de los peces anuales tropicales, como *Nothobranchius* en África y *Austrofundulus* en el Neotrópico, eclosionan durante el verano al comienzo de la temporada de lluvias, pasando su tiempo de vida post-eclosión en agua con altas temperaturas. Estos peces completan su desarrollo embrionario cuando el agua se evapora del charco en la temporada seca (Podrabsky *et al.*, 1998; Blažek *et al.*, 2013; Reichard, 2016). Por el contrario, los peces anuales de zonas subtropicales y templadas del sur del Neotrópico, habitan regiones sin distinción de períodos secos y lluviosos y con una precipitación pareja a lo largo del año. La temporalidad de la fase acuática de estos charcos está dada por la alta evaporación

durante los meses de verano. Por lo tanto, los peces eclosionan en otoño, viven durante el período frío del invierno (Lanés *et al.*, 2014, 2016), y completan su desarrollo embrionario durante el verano (Arezo *et al.*, 2005). Esta diferencia sugiere que las adaptaciones y señales ambientales que controlan la eclosión pueden ser diferentes entre los peces anuales de las zonas tropicales y de las templadas. Los peces anuales Neotropicales están altamente amenazados. La mayor amenaza reconocida a sus poblaciones en el sur de Sudamérica (bioma Pampa) es la pérdida de hábitat asociada a la agricultura extensiva y las regulaciones de las planicies de inundación (Volcan & Lanés, 2018). Dado que los peces anuales dependen de los patrones de precipitación regulares de cada región y pueden estar estrictamente adaptados a los ciclos naturales de llenado y secado de sus hábitats, estas amenazas ponen en serio riesgo a varias poblaciones de estos peces (Volcan *et al.*, 2016).

Una característica destacable de los peces anuales es la falta de solapamiento entre las generaciones. Inmediatamente después de la eclosión, los peces anuales mantienen un crecimiento rápido y alcanzan la madurez sexual en muy poco tiempo: menos de 3 semanas en algunas especies tropicales (Blažek *et al.*, 2013) a 8 semanas en especies subtropicales/templadas (Berois *et al.*, 2012). Más aún, se ha demostrado que estos tiempos son menores en la naturaleza, para algunas especies tropicales (Vrtílek *et al.*, 2018a). Los adultos se reproducen a diario, pero sus huevos no eclosionan. Éstos se mantienen en el sedimento en la primera diapausa del desarrollo (Reichard, 2016; Podrabsky *et al.*, 2017). Cuando el charco se seca, los huevos permanecen en el sedimento seco en la forma de embriones encapsulados en huevos con una capa coriónica gruesa (Wourms, 1972), donde el embrión permanece protegido del estrés ambiental (Podrabsky *et al.*, 2001). El tiempo de desarrollo de los embriones es variable, ya que los embriones tienen la capacidad de entrar o salir de alguna de las tres diapausas posibles (Wourms, 1972; Podrabsky & Hand, 1999; Furness *et al.*, 2015b; Polačik *et al.*, 2018). Esta capacidad de entrar o salir de las diapausas está altamente sincronizada con señales ambientales (Domínguez-Castanedo *et al.*, 2017), tales como la temperatura (Podrabsky *et al.*, 2010a), el fotoperíodo (Levels & Denucé, 1988) y la humedad relativa (Podrabsky *et al.*, 2010b). La evidencia actual sugiere

que la siguiente generación eclosiona durante la subsecuente fase acuática cuando el período seco ha eliminado la generación parental. Estas características de su ciclo de vida convierten a los peces anuales en estrategias  $r$  extremos (vida corta, alta puesta de huevos, sin cuidado parental), en concordancia con lo esperado para el tipo de ambientes que habitan (Pianka, 1970). En el género africano *Nothobranchius* de regiones con lluvias erráticas, los charcos pueden completar varias fases de desecación y llenado durante una única temporada (Polačik *et al.*, 2014), siempre presentando una nueva cohorte de peces (Reichard *et al.*, 2017). Sin embargo, los peces anuales sub-tropicales, como *Austrolebias*, están adaptados al llenado del charco en otoño. Su permanencia se da hasta fines de la primavera, con una única cohorte de peces que sobrevive durante todo el período inundado.

### 1.3 - Las *Austrolebias*

El género *Austrolebias* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) es un grupo Neotropical de peces anuales con más de 40 especies descritas (Loureiro & de Sá, 2016; Alonso *et al.*, 2018a; Serra & Loureiro, 2018) con distribuciones geográficas restringidas a lo largo de las zonas subtropicales y templadas de Sudamérica (Loureiro & de Sá, 2016). Su centro de distribución se encuentra en las tierras bajas de la cuenca del Plata y Sistema Patos-Merín.

Muchas especies de *Austrolebias*, como *A. univentripinnis*, *A. wichi* o *A. viarius*, son categorizadas como vulnerables, amenazadas o críticamente amenazadas (Rosa & Lima, 2008; Volcan *et al.*, 2009, 2010; Loureiro & Bessonart, 2017; Alonso *et al.*, 2018a). Sin embargo, otras especies, como *A. bellottii* o *A. nigripinnis* (especies de este estudio) son más comunes y con una distribución bastante amplia (Costa, 2006). El tamaño de los charcos con presencia de *Austrolebias* varía entre pequeños charcos hasta grandes planicies inundadas. Los charcos de *Austrolebias* típicamente se llenan con la llegada del otoño (Marzo-Abril), cuando la temperatura decrece a niveles en los que la precipitación excede a la evaporación, y persisten hasta finales de la primavera (Noviembre-Diciembre) cuando aumenta la evaporación. No obstante, algunas especies de *Austrolebias* con

una distribución más hacia el Norte, pueden completar su fase adulta durante la temporada de lluvias en verano (Shalk *et al.*, 2014).

Existe abundante información acerca de las *Austrolebias* en temáticas tales como la historia evolutiva (Loureiro & de Sá, 2016; Loureiro *et al.*, 2018), biogeografía (García *et al.*, 2012; García *et al.*, 2016), biología y estructura genómica (García, 2016; Gutiérrez *et al.*, 2016), morfología (Costa, 1998; Costa, 2006; Loureiro *et al.*, 2011), desarrollo embrionario (Arezo *et al.*, 2005; Berois *et al.*, 2012), los efectos de la temperatura sobre el crecimiento (Liu & Walford, 1965; Errea & Danulat, 2001; da Fonseca *et al.*, 2013), el comportamiento reproductivo (Belote & Costa, 2004; García *et al.*, 2008) y la selección sexual (Passos *et al.*, 2013, 2014). Dado que las *Austrolebias* viven en cuerpos de agua pequeños y replicados (como pequeños laboratorios naturales), representan sistemas ideales para comprender aspectos sobre el ensamble (Arim, 2010) y la ecología de las comunidades (Laufer *et al.*, 2009; Canavero *et al.*, 2014; Keppeler *et al.*, 2015; Reichard *et al.*, 2018). Toda esta valiosa información proviene de estudios de laboratorio o muestreos de campo con baja frecuencia anual y se concentra en especies de las regiones de las lagunas costeras Atlánticas, en el sistema Patos-Merín. Sin embargo, no existe información sobre la dinámica de las poblaciones naturales de *Austrolebias* que contemple la posible variabilidad intrínseca de la temporada ni de cómo varían sus caracteres de historia de vida. Tampoco hay estudios ecológicos que se concentren en las especies de la cuenca del Río Uruguay bajo.

## 1.4 - Objetivo general

En esta tesis se analizó la dinámica poblacional y rasgos de historia de vida asociados, de dos especies de peces anuales de Uruguay (*A. bellottii* y *A. nigripinnis*), que habitan los humedales del Río Uruguay bajo en Villa Soriano, a lo largo de todo un ciclo de vida natural en el año 2015.

En concreto se evaluaron los siguientes rasgos de historia de vida:

### 1. Nacimiento

¿Cómo varía la fecha de eclosión de los individuos de las especies de peces anuales de una misma población en los charcos estudiados?

¿Cómo varía la fecha de eclosión de los individuos de peces anuales entre poblaciones de las especies, en los charcos estudiados?

### 2. Crecimiento y madurez sexual.

¿Cómo varía el tamaño de los individuos de las especies a diferentes edades, en los peces anuales de los charcos estudiados?

¿Cómo varía el tamaño y la edad de los individuos a diferentes grados de madurez sexual, en los peces anuales de los charcos estudiados?

¿Cómo varía el tamaño de los individuos de *A. bellottii* a diferentes edades en los charcos en los que coexiste con *A. nigripinnis*?

¿Cómo varía el tamaño de los individuos de *A. bellottii* a diferentes edades en los charcos en los que no coexiste con *A. nigripinnis*?

Se evaluaron también los siguientes aspectos de la dinámica estacional de las poblaciones:

1. Abundancia y densidad de especies.

¿Cómo varía la cantidad de individuos de las especies de peces anuales, a diferentes edades, en las poblaciones estudiadas?

2. Proporción de especies.

¿Cómo varía la cantidad de individuos de cada especie de peces anuales en los charcos donde conviven las dos especies estudiadas?

3. Proporción de sexos.

¿Cómo varía la cantidad de individuos de cada sexo, a diferentes edades, de las especies de peces anuales en los charcos estudiados?

## 2 - Metodología general

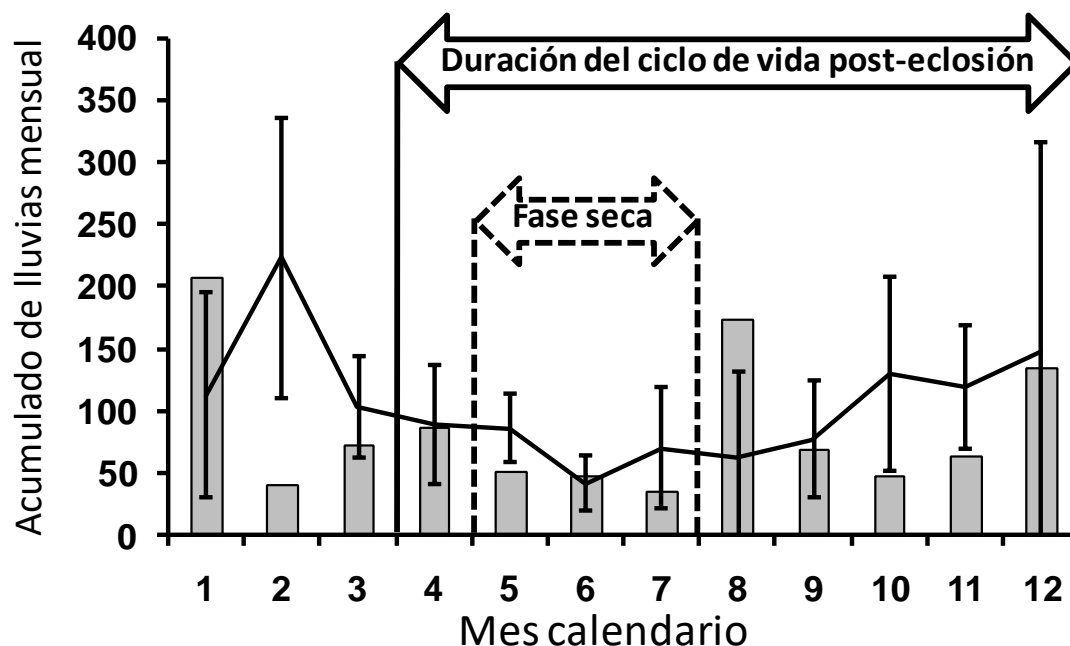


## 2.1 - Área de estudio y parámetros ambientales

Durante el año 2015, se seleccionaron 26 charcos en las planicies inundables del Río Negro bajo. Se eligió un área cerca de su desembocadura en el Río Uruguay (33°23'56"S, 58°19'13"O), en los alrededores de la localidad de Villa Soriano (departamento de Soriano, Uruguay) (fig. 2.3). Se realizaron un total de 16 salidas de muestreo, con colecta de peces a lo largo de toda el área de estudio. De los 26 charcos seleccionados inicialmente, ocho se secaron pronto en la temporada (antes de completar tres muestreos) y fueron excluidos de los estudios.

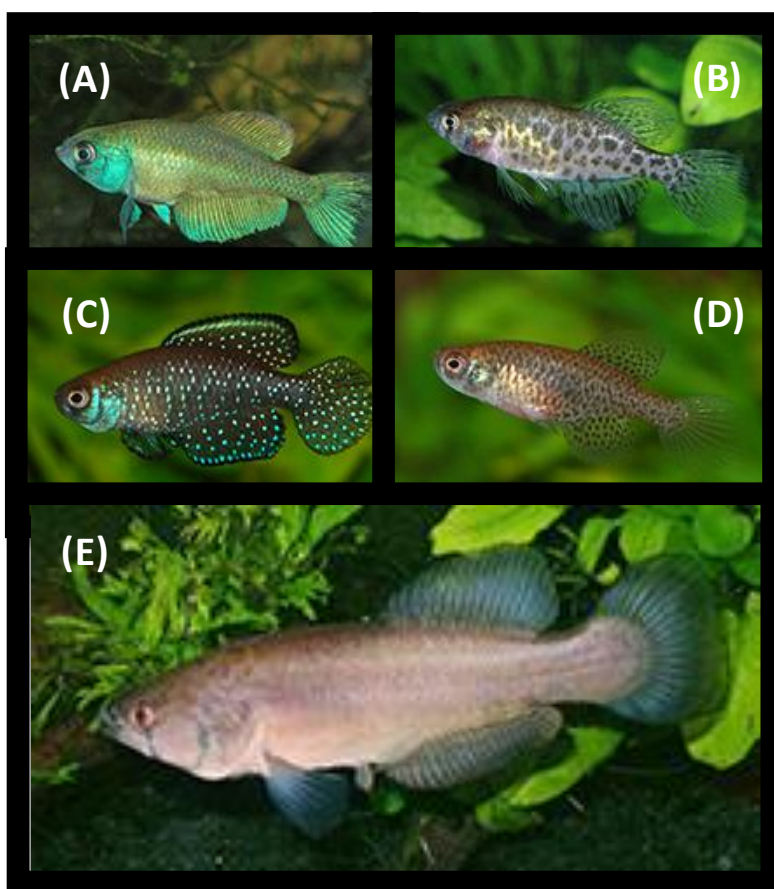
Esta área corresponde típicamente al bioma Pampa. Se caracteriza por su baja altitud (1-7m sobre el nivel del mar) y la presencia de humedales en la planicie de inundación del río y sus alrededores (Batallés *et al.*, 2009, Brazeiro *et al.*, 2014). El Río Negro adyacente inunda directamente una fracción del área de estudio durante las grandes crecidas. La vegetación terrestre del bioma Pampa se caracteriza por pastizales subtropicales, con parches de árboles nativos como *Vachellia caven* y *Prosopis nigra* (Brazeiro *et al.*, 2014).

El área de estudio tiene un clima subtropical húmedo. La temperatura media anual es de 17°C, variando entre 10,4°C en invierno a 23,5°C en verano (<https://es.climate-data.org/location/50536/>). La media de lluvia de los seis años anteriores al estudio (2009-2014) fue de 1266 mm/año (máximo 1748 mm en 2014, mínimo 814 mm en 2013), con la mayor precipitación mensual en verano (Febrero: 224 mm) y la menor en invierno (Junio: 42 mm) (datos obtenidos del Instituto Nacional de Meteorología, INUMET). El año del estudio (2015) tuvo una media de lluvias de 1029 mm, con episodios particularmente secos (42 mm en Febrero, 52 mm en Mayo, 36 mm en Julio, datos obtenidos de pluviómetros locales) (fig. 2.1).



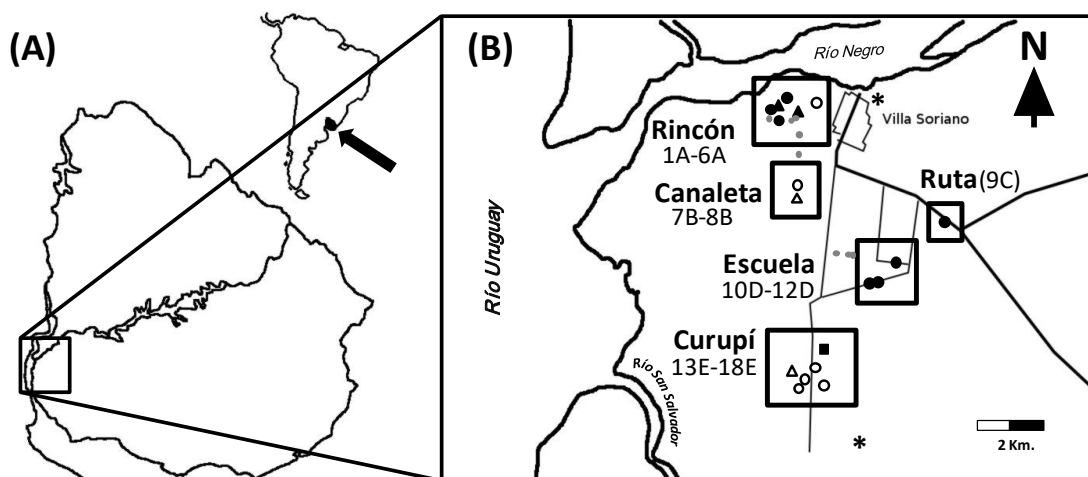
**Figura 2.1.** Precipitación mensual total (barras grises, en mm.) registrada por pluviómetros locales en 2015 y patrones temporales en precipitaciones mensuales en el período 2009-2014 (media y desvío estándar) de la región del estudio (datos cedidos por INUMET). Se indican la duración estimada del ciclo completo de vida de las *Austrolebias* en condiciones normales de precipitaciones (líneas y flechas sólidas) y el período excepcionalmente seco de invierno del año del estudio (líneas y flechas punteadas).

En el área de estudio se encuentran tres especies de peces anuales. *Austrolebias bellottii* (Steindachner 1881) (tamaño máximo 70 mm) (fig. 2.2A,B) y *A. nigripinnis* (Regan 1912) (tamaño máximo 40 mm) (fig. 2.2C,D) son especies simpátricas (y a veces sintópicas) con amplio rango de distribución, desde las cuencas medias y bajas de los ríos Paraná y Uruguay, hasta el sur de la provincia de Buenos Aires en Argentina (García *et al.* 2012; Volcan *et al.* 2017). La tercera especie, *A. elongatus* (Steindachner 1881) (fig. 2.2E) es una especie de gran tamaño (tamaño máximo 150mm), con una distribución más estrecha, que coexiste con *A. bellottii* y *A. nigripinnis* a lo largo de la mayor parte de su distribución sur, aproximadamente desde la boca del Río Negro hasta la provincia de Buenos Aires (Alonso *et al.*, 2016). En Uruguay, *A. elongatus* sólo se encuentra en los humedales entre la boca del Río Negro y el Río San Salvador, en las cercanías de Villa Soriano (Departamento de Soriano), pero no existe información sobre su abundancia ni dinámica poblacional.



**Figura 2.2.** Especies de *Austrolebias* presentes en el área de estudio. Se muestra *A. bellottii* macho (A) y hembra (B); *A. nigripinnis* macho (C) y hembra (D) y *A. elongatus* macho (E). Fotos tomadas de *fishbase.org*.

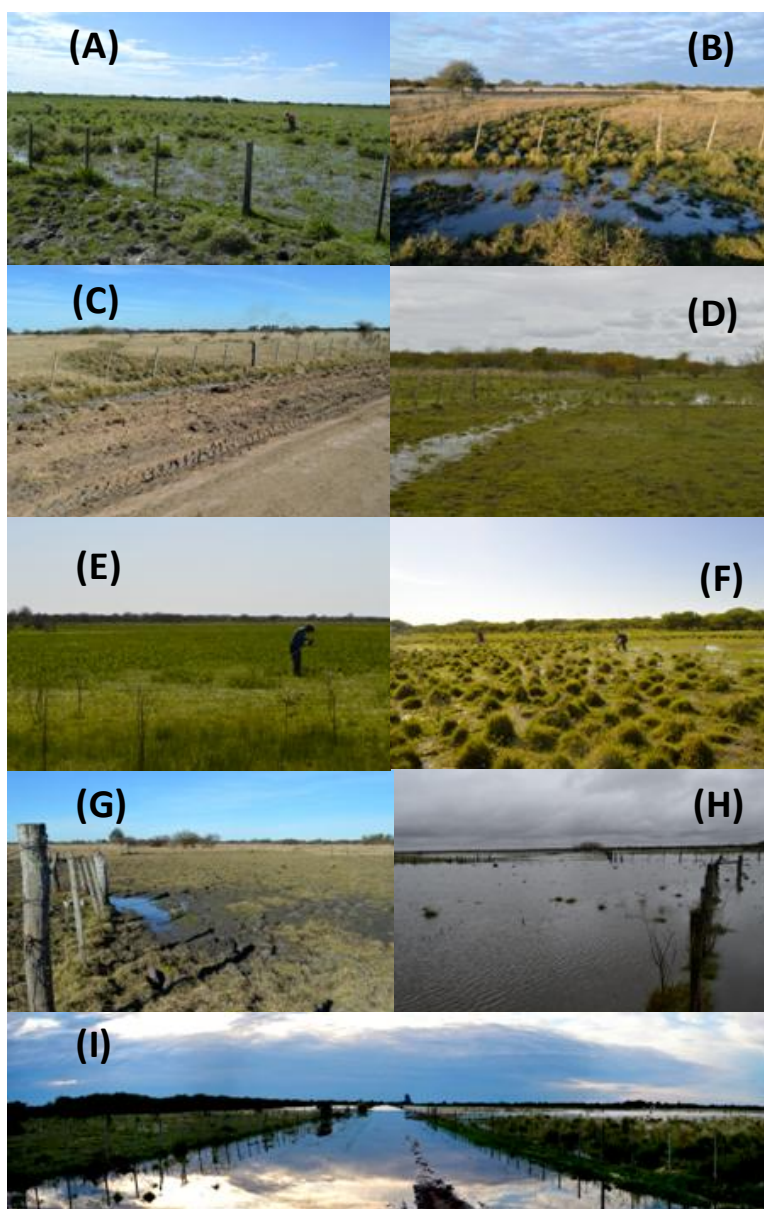
El estudio cubrió una región de 5,5 km (distancia latitudinal) por 9,7 km (distancia longitudinal) (aproximadamente 53 km<sup>2</sup>) y contuvo varios charcos con peces anuales. La mayoría de los charcos estaban localizados en zonas de ganadería extensiva, aunque algunos tenían influencias de desarrollo agrícola adyacente. El área fue delimitada en cinco secciones que formaron grupos de charcos con características similares y cercanía espacial (fig. 2.3, tabla 2.1).



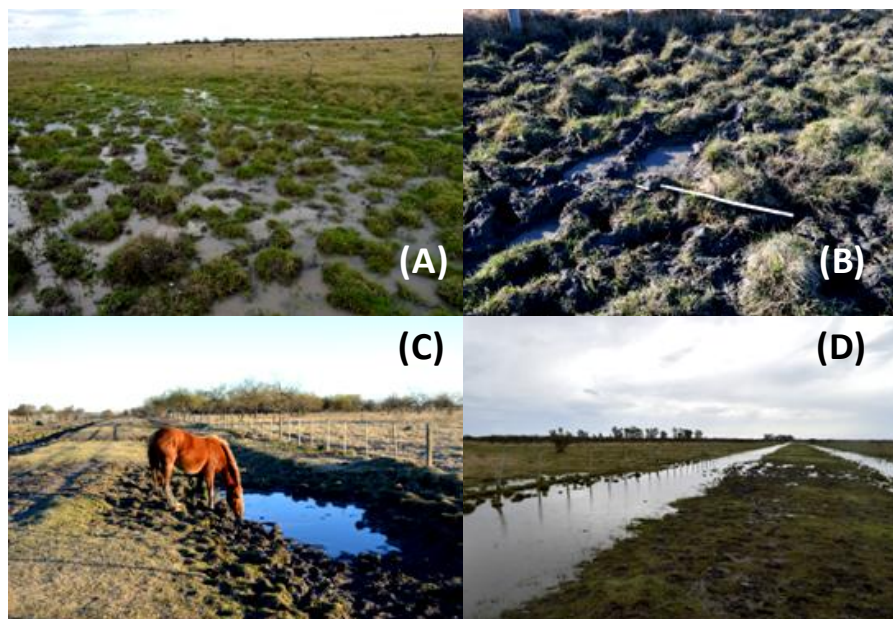
**Figura 2.3.** Localización del área de estudio dentro de Uruguay (A), y de las poblaciones estudiadas dentro del área de estudio (B). Los símbolos de los charcos individuales designan los ensambles de *Austrolebias* con sólo a *A. bellottii* (círculos abiertos), *A. bellottii* y *A. nigripinnis* (círculo negro), *A. bellottii* y *A. elongatus* (triángulos abiertos), *A. bellottii*, *A. nigripinnis* y *A. alexandri* (triángulos negros) and *A. bellottii*, *A. nigripinnis* y *A. elongatus* (cuadrado negro). Los círculos grises indican los charcos que se secaron temprano en la temporada y no se continuaron muestreando. Los asteriscos indican la posición de los pluviómetros locales.

La región “Rincón” (sección A, 6 charcos, fig. 2.4) está localizada en la planicie inundable del Río Negro y fue cubierta en ocasiones por las inundaciones del río. Dependiendo de la magnitud de la inundación, el río alcanza diferentes grupos de charcos. Inundaciones pequeñas alcanzan sólo a los charcos 3A, 4A y 6A. Las inundaciones medias también inundan los charcos 1A y 5A. El charco 2A sólo es afectado durante inundaciones muy grandes, y no fue alcanzado por ninguna inundación durante el período del estudio.

Los charcos del grupo “Canaleta” (sección B, 2 charcos) están ubicados en las depresiones de los lados de un camino abandonado (charcos 7B y 8B), rodeados de pastizales utilizados para la ganadería (fig. 2.5).



**Figura 2.4.** Imágenes representativas de la región A (“Rincón”). Se muestra el charco 1A (A) durante su fase llena (Salida 13, 8 Nov 2015); el charco 2A con agua (B) (Salida 2, 2 Jun 2015) y seco (C), luego de haber sido destruido parcialmente por maquinaria vial (Salida 6, 27 Jul 2015); el charco 3A con agua (D) (Salida 11, 11 Oct 2015); el charco 4A con agua (E) (Salida 9, 13 Set 2015); el charco 5A con agua (F) (Salida 13, 8 Nov 2015). Se muestra también el charco 6A casi seco (G) (Salida 6, 27 Jul 2015) y totalmente inundado luego de la lluvia de Agosto (H) (Salida 7, 10 Ago 2015). Finalmente se muestra una panorámica de la región durante una gran crecida (I) (Salida 16, 31 Dic 2015).



**Figura 2.5.** Imágenes representativas de la región B (“Canaleta”). Se muestran los charcos 7B durante (A) la fase llena al inicio de la temporada (Salida 1, 18 May 2015) y (B) momento terminal del charco luego de la sequía de mitad de temporada (Salida 5, 14 Jul 2015). Se muestra también el charco 6B al final de la temporada seca de mitad de año, con un remanente de agua (C) (Salida 6, 27 Jul 2015) y luego de la inundación de agosto (D) (Salida 7, 11 Ago 2015).

La sección “Ruta” incluye un único charco (9C), adyacente a campos agrícolas y al borde de la ruta de entrada a la localidad. Tiene en su ribera oeste una pared de grandes *Eucalyptus sp.* que proporcionan abundantes horas de sombra (fig. 2.6).

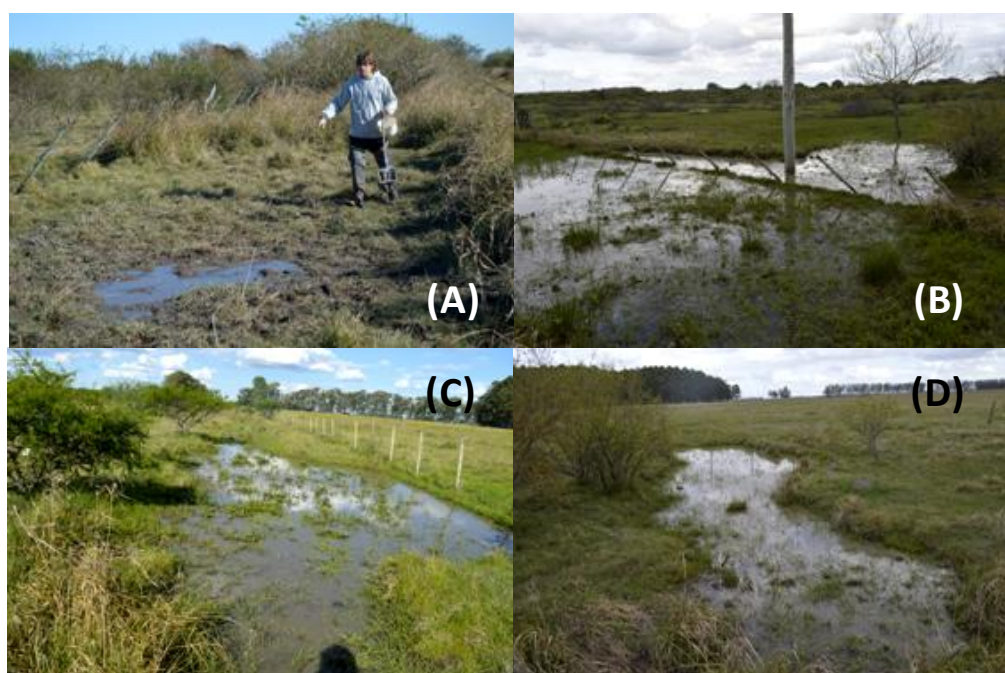


**Figura 2.6.** Imágenes representativas de la región C (“Ruta”, charco 9C) durante (A) la fase llena de la segunda temporada (Salida 12, 25 Oct 2015) y (B) momento terminal del charco luego de la sequía de mitad de temporada (Salida 5, 14 Jul 2015).

**Tabla 2.1.** Vista general de los charcos muestreados, incluyendo información geográfica, área de la superficie (media, mínimo y máximo en m<sup>2</sup>) durante el período del estudio (18 May 2015 – 1 Ene 2016). Se indica si se secó completamente, la presencia de una segunda cohorte y la persistencia de la primera cohorte a lo largo de todo el año. Los charcos con asterisco son los sitios de donde se tomaron las muestras de otolitos. También se indican las especies que los habitan: AB: *A. bellottii*; AN: *A. nigripinnis*; AE: *A. elongatus*; AA: *A. alexandri*.

Charco	Región	Latitud	Longitud	Área media	Área mín.	Área máx.	Especies	Se secó	2 <sup>a</sup> cohorte	Persistencia de la 1 <sup>a</sup> cohorte
1A*	Rincón	33°23'34.58"S	58°20'39.20"O	1202	671	1512	AB, AN	Sí	Sí	No
2A	Rincón	33°23'40.55"S	58°19'40.84"O	739	404	1144	AB	Sí	No	No
3A*	Rincón	33°23'41.57"S	58°20'47.09"O	1020	11	2643	AB, AN, AA	Sí	Sí	No
4A*	Rincón	33°23'48.89"S	58°20'58.52"O	935	200	2327	AB, AN	Sí	Sí	No
5A*	Rincón	33°23'51.23"S	58°20'19.64"O	1658	7	3367	AB, AN, AA	Sí	Sí	No
6A*	Rincón	33°24'0.17"S	58°20'48.77"O	1353	6	2992	AB, AN	Sí	Sí	No
7B*	Canaleta	33°24'59.32"S	58°20'18.60"O	161	4	702	AB	No	No	Sí
8B*	Canaleta	33°25'15.75"S	58°20'20.20"O	407	4	1203	AB, AE	Sí	No	Sí
9C*	Ruta	33°25'40.21"S	58°17'12.73"O	52	9	160	AB, AN	Sí	Sí	No
10D*	Escuela	33°26'17.63"S	58°18'14.72"O	81	6	259	AB, AN	Sí	Sí	Sí
11D*	Escuela	33°26'33.78"S	58°18'37.51"O	138	44	218	AB, AN	No	No	Sí
12D	Escuela	33°26'34.49"S	58°18'41.41"O	37	17	63	AB, AN	No	No	Sí
13E*	Curupí	33°28'1.48"S	58°19'46.85"O	212	11	533	AB, AN, AE	No	No	Sí
14E*	Curupí	33°28'29.20"S	58°20'3.15"O	107	29	234	AB, AN	Sí	No	No
15E*	Curupí	33°28'29.18"S	58°20'23.98"O	595	45	2364	AB, AE	Sí	No	Sí
16E	Curupí	33°28'52.50"S	58°20'4.61"O	233	78	341	AB	Sí	No	No
17E*	Curupí	33°28'55.37"S	58°19'53.94"O	466	105	1102	AB	No	No	Sí
18E	Curupí	33°29'1.44"S	58°20'10.78"O	911	27	2444	AB	Sí	No	Sí

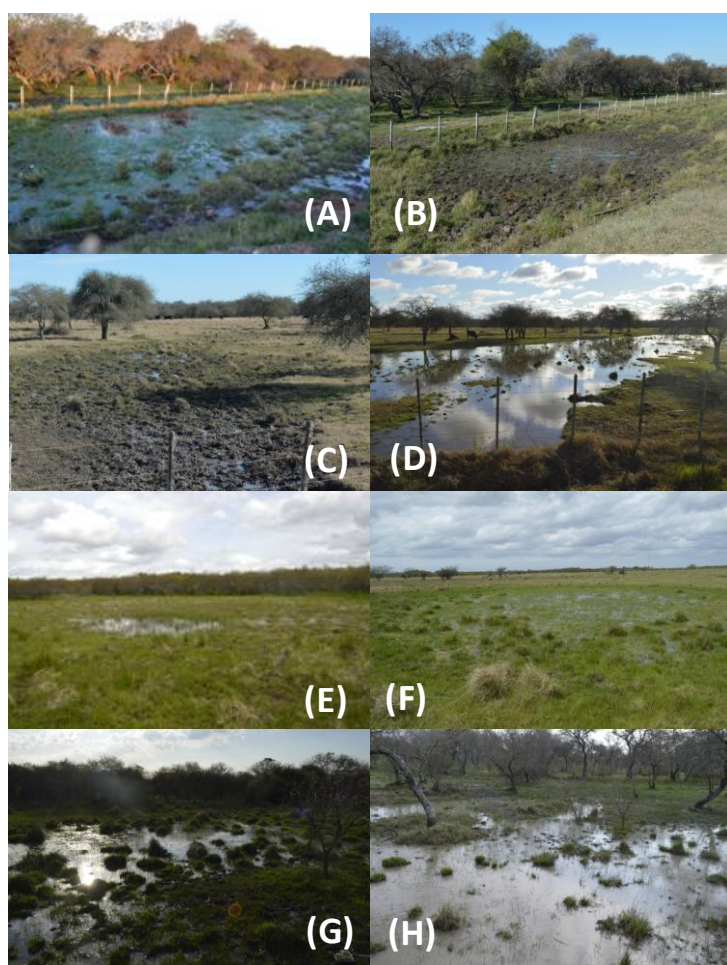
La región “Escuela” (sección D, 3 charcos) es cercana a campos agrícolas, pero localizado en áreas ganaderas (fig. 2.7). La región “Curupí” (sección E) agrupa a seis charcos (13E-18E), localizados en campos ganaderos, también con agricultura cercana (fig. 2.8). Las regiones D y E están localizadas en tierras de blanqueal, con características particulares del suelo y la flora (Brazeiro *et al.*, 2014).



**Figura 2.7.** Imágenes representativas de la región D (“Escuela”). Se muestra el charco 10D en su fase terminal durante la sequía de mitad de temporada (A) (Salida 3, 15 Jun 2015) y luego de volverse a llenar tras la lluvia de Agosto (B) (Salida 11, 11 Oct 2015). También se muestran los charcos 11D (C) (Salida 13, 7 Nov 2015) y 12D (D) (Salida 11, 11 Oct 2015) con agua, luego de las lluvias de Agosto.

Todos los charcos estaban separados al menos por 300 metros, excepto los charcos 11D y 12D, apartados sólo por 100 metros, pero claramente diferenciados. De los 18 charcos muestreados entre Mayo y Julio, 13 charcos se secaron y, a pesar de un nuevo llenado, (entre el 30 de Julio y el 1° de Agosto), sólo en 7 charcos eclosionó una nueva cohorte de peces. En cuatro charcos (8B, 10D, 15E y 18E), la primera cohorte sobrevivió la sequía, a pesar de la evidente falta de agua en los charcos. En uno de estos charcos (10D) una segunda cohorte coexistió con la

primera cohorte. De este modo, únicamente se muestrearon 15 charcos en la segunda temporada (ocho en los que la primera cohorte sobrevivió, seis con una segunda cohorte y un charco donde la primera y la segunda cohorte coexistieron). Entre el 25 y el 27 de octubre (salida 12), una inundación cubrió parcialmente al grupo “Rincón”, haciéndolo inaccesible para el muestreo. Las muestras correspondientes a los charcos 3A, 4A y 6A faltan para esa salida.



**Figura 2.8.** Imágenes representativas de la región E (“Curupí”). Se muestra el charco 14E lleno (A), durante la primera salida de muestreo (19 May 2015) y a punto de secarse (B) un mes más tarde (Salida 3, 16 Jun 2015). Se observa también el charco 16E casi seco (C) al final de la sequía de invierno (Salida 6, 27 Jul 2015) y luego de su llenado (D) con la lluvia de Agosto (Salida 7, 10 Ago 2015). Además se observa al charco 13E (E) (Salida 11, 10 Oct 2015), el charco 17E (F) (Salida 7, 10 Ago 2015), los charcos 15E (G) y 18E (H) (Salida 8, 31 Ago 2015) todos con abundante agua luego de las lluvias.

Para estimar los momentos de desecación de los charcos se colocaron data-loggers (Hobo UA-002-08) en 12 charcos durante el primer día de muestreo, los cuales registraron temperatura del agua cada 3 horas. Las fluctuaciones de temperatura entre el día y la noche son mayores cuando el charco está seco y menores cuando hay agua (Lanés *et al.* 2016; Reichard *et al.* 2017), por lo tanto es un buen predictor de cuando el charco está seco. El inicio y el fin de la fase acuática fueron estimados por inspección visual de los registros y comprobados por las visitas regulares a los sitios.

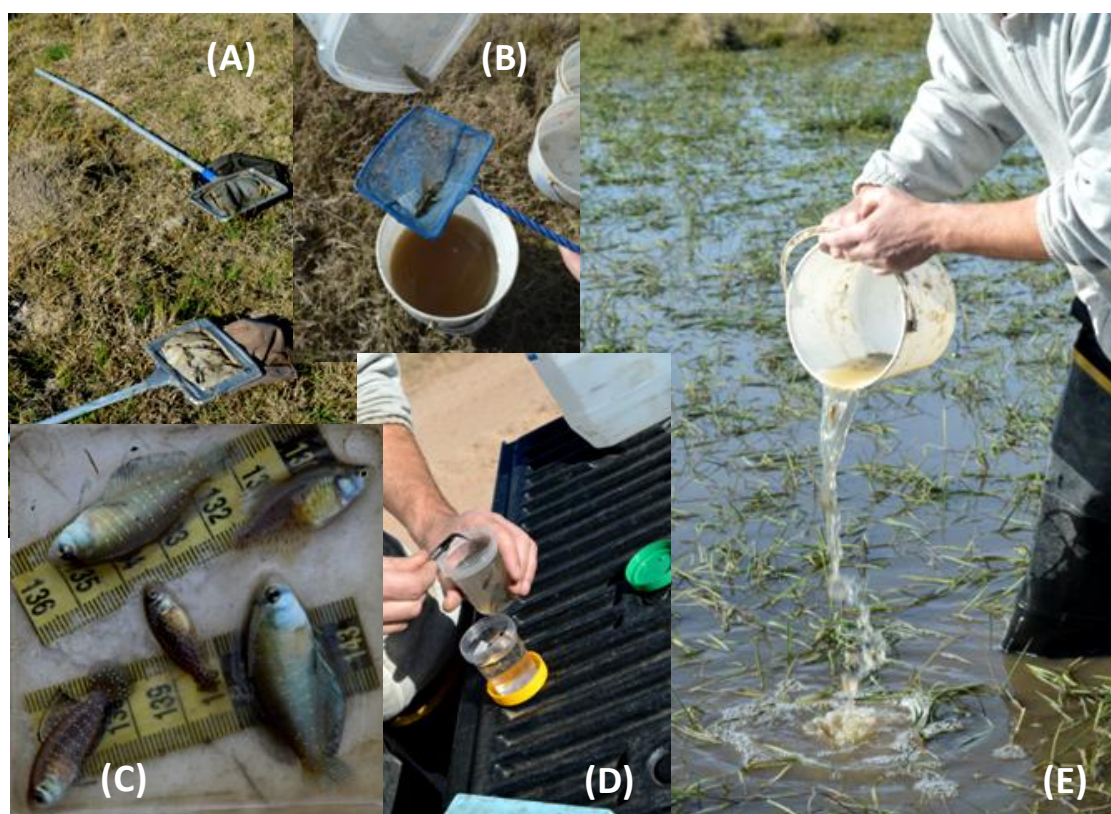
## 2.2 - Colecta de peces

La primera salida de colecta fue entre el 18 y el 21 de Mayo de 2015 y se muestreó durante el ciclo de vida completo hasta el 1 de Enero de 2016. Los muestreos se repitieron con una frecuencia quincenal, excepto por un intervalo mayor entre las salidas 7 (9-10 Ago) y 8 (29 Ago-1 Set), y las salidas 15 (4-5 Dic) y 16 (30 Dic-1 ene).

Para recolectar los peces, una red de mano rectangular (20 x 15 cm, 2mm de malla, fig. 2.9 A) se pasó paralela al fondo. Todos los sitios disponibles del charco fueron muestreados. El esfuerzo de muestreo fue variable entre los sitios y el momento de los muestreos, debido a la amplia variación en densidades de peces y área de los charcos. Se registró el tiempo de captura de peces (mediana = 26 min, media = 32 min, desvío estándar = 23,8) y el área de la superficie del charco para estimar el esfuerzo de muestreo. Los charcos se midieron *in situ* caminando por el borde del charco con un GPS para mapear el contorno de la superficie (Garmin Etrex10).

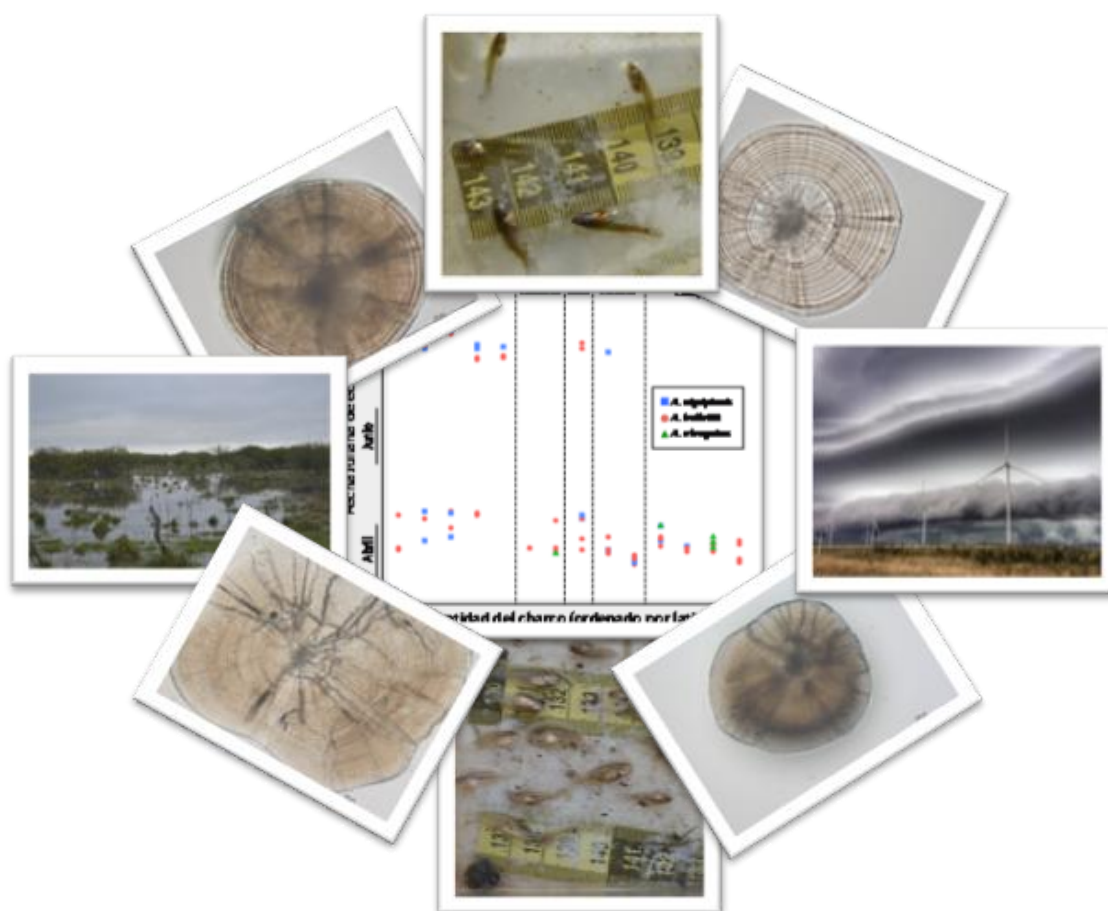
Para la cuantificación de cantidad y tamaño, todos los peces capturados fueron separados y fotografiados en un recipiente (8 x 8 cm) con una superficie húmeda y una escala detrás (fig. 2.9 B, C). Se fotografiaron 7,679 peces en total durante los 16 muestreos desde el 18 de Mayo de 2015 hasta el 1 de Enero de 2016. Dado que ocho charcos se secaron demasiado pronto en la temporada (antes de completar 3 muestreos), los análisis de abundancia y crecimiento se basan en

18 charcos y 7,355 peces. Todos los peces fijados para las diferentes muestras (otolitos y madurez sexual) fueron previamente anestesiados con una sobredosis de aceite de clavo (fig. 2.9 D). Los peces que no fueron fijados, se devolvieron sin daño al charco (fig. 2.9 E). Todos los análisis de datos fueron realizados en el entorno estadístico R (R Core Team, 2018). El protocolo de investigación fue aprobado previamente por la CEUA de Facultad de Ciencias con el número 240011-001885-13.



**Figura 2.9.** Método de colecta de peces. Los peces fueron capturados con red de mano (A), separados (B) y fotografiados con una escala detrás (C). Los peces utilizados para las muestras fueron anestesiados y fijados (D) y el resto de los peces fueron devueltos al charco sin daños (E).

### 3. - Fenología de tres especies de peces anuales: patrones temporales en las fechas de eclosión



### 3.1 - Introducción

La estructura de las comunidades de los charcos temporales está fuertemente asociada a la duración de la fase acuática (Schneider & Frost, 1996) y tiene gran resiliencia luego de un evento de desecación (Brock, 1998). Los organismos pueden recolonizar estos ambientes en forma activa (*e.g.*: colonización desde aguas permanentes durante inundaciones por parte de muchos peces o por vuelo activo de parte de insectos) o pueden eclosionar a partir de estadios dormantes del ciclo de vida, presentes en el sustrato seco (*e.g.*: huevos resistentes a la desecación de crustáceos o embriones en diapausa de peces anuales) (Brock *et al.*, 2003; Polačik & Podrabsky, 2015).

Las especies que habitan los charcos temporales se encuentran adaptadas a los ciclos de vida estacionales. Los peces pueden llegar a estos ambientes, ya sea colonizándolos desde cursos de agua permanentes durante las inundaciones, o pueden poseer adaptaciones específicas de su ciclo de vida que les permiten completarlo totalmente en estos ambientes (Polačik & Podrabsky, 2015). Los peces anuales tienen un ciclo de vida adaptado a los charcos temporales. La adaptación clave de este grupo de peces es el desarrollo de huevos resistentes que sobreviven la sequía enterrados en el sedimento, con embriones que poseen adaptaciones de su desarrollo, las cuales incluyen hasta tres diapausas (Wourms, 1972 a,b,c; Podrabsky *et al.*, 2001; Berois *et al.*, 2012; Podrabsky *et al.*, 2017). La presencia de etapas de vida resistentes a la desecación es muy común en invertebrados acuáticos (Williams, 1997; Brendock & De Meester, 2003; Brock *et al.*, 2003), sin embargo es extremadamente rara en vertebrados acuáticos (Burton, 1990; Polačik & Podrabsky, 2015).

Una adaptación sobresaliente de los peces anuales, es la capacidad de sincronizar su eclosión con el inicio de la fase acuática del charco. El momento de la eclosión se dispara con señales ambientales (presión parcial de oxígeno, humedad del sustrato, temperatura) (Watters, 2009). La sensibilidad a los diferentes valores umbral de estas señales es determinada por factores genéticos a nivel interespecífico (Reichard *et al.*, 2017) y varía individualmente como consecuencia de efectos maternos (Polačik *et al.*, 2017). Este complejo control de la

eclosión determina el momento en que ésta se da. De esta forma, se minimizan los riesgos del fracaso completo de alguna puesta para alcanzar la madurez sexual, en el caso que se dieran lluvias fuera de la temporada, períodos de seca extensos o una desecación demasiado rápida de los charcos recientemente llenados (Podrabsky *et al.*, 2016).

Existen algunos indicios de la coexistencia de varias cohortes de edad en especies de *Cynopoecilus* subtropicales, basados en las distribuciones de tamaño de los peces adultos (Arenzon *et al.*, 2001) y la posibilidad de eclosión continua en peces del mismo género (Arenzon *et al.*, 1999). Sin embargo, ningún estudio se ha enfocado en estimar las fechas de eclosión (y su variabilidad) en peces anuales Neotropicales. La sincronía de eclosión (o su falta) ha sido demostrada como una estrategia adaptativa fuertemente seleccionada en varios taxa (Howe, 1976; Findlay & Cooke, 1982; Flint *et al.*, 1994; Hillström & Olsson, 1994; Huss *et al.*, 2010). Sin embargo, aún no existe información para los peces anuales Neotropicales.

En esta sección se analiza la sincronía de eclosión en especies de peces anuales que coexisten en 14 charcos temporales de las 5 áreas estudiadas. Se utilizaron estimaciones precisas de los días de vida de los peces, obtenidas a partir de la lectura de los otolitos. También se realizaron visitas frecuentes a los sitios y se obtuvo información sobre las precipitaciones y desecaciones de los charcos a partir de pluviómetros locales y data-loggers. De esta forma se puso a prueba si el período de eclosión fue breve (nacimiento sincrónico) y si se corresponde con la inundación de los charcos o duró un tiempo más prolongado (nacimiento asincrónico). Se midió la edad de los peces. Se compararon las fechas de eclosión de los individuos entre los charcos y entre las especies de *Austrolebias*. También se correlacionó la edad de los individuos con el tamaño corporal para probar si el tamaño es un predictor confiable de la edad.

### 3.2 - Materiales y métodos

Para determinar la fecha de eclosión de los peces ya nacidos, se utilizó el método de conteo de anillos de sus otolitos. Se asume que cada incremento de los otolitos se corresponde con un día de edad después de la eclosión. La validez del incremento diario del otolito fue realizada para *Nothobranchius furzeri*, un pez anual africano (Polačik *et al.* 2011) y para otros peces (Brothers *et al.*, 1975; Campana & Nielson, 1982; Sogard, 1991; Carmeño *et al.*, 2003), pero no en *Austrolebias*. La evidencia indirecta apoya la asunción de la deposición diaria (tamaño al analizar, coincidencia de la eclosión estimada con la inundación del hábitat, ver Resultados), pero se reconoce que las estimaciones de la muestra no fueron validadas en forma directa contra individuos de edad conocida.

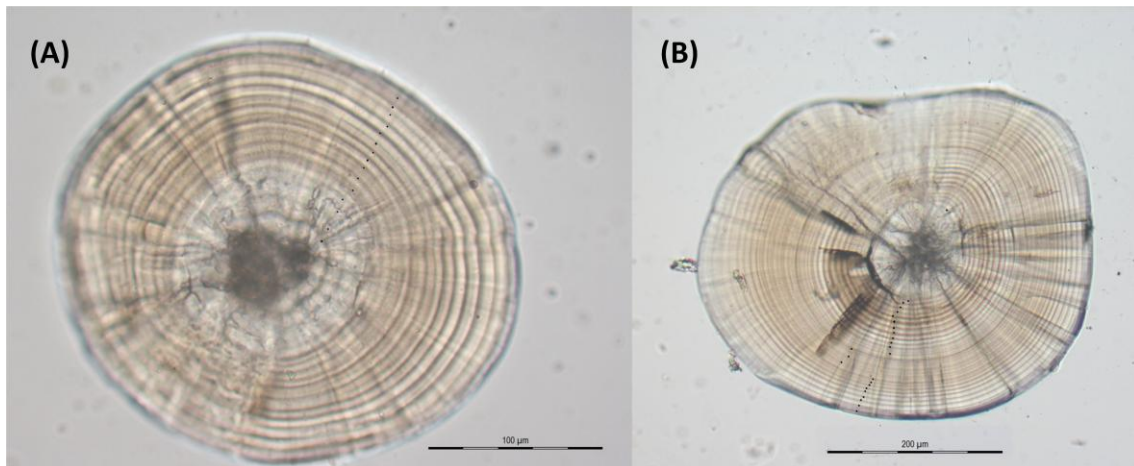
Las muestras para los análisis sobre sincronía de eclosión fueron tomadas en 14 charcos de las regiones antes descritas (tabla 2.1). Los peces muestreados para la extracción de otolitos se recolectaron durante 6 salidas (16-18 May, 30 May-1 Jun, 28 Jun, 27-28 Ago, 11 Set, 5 Nov). Del total de peces recolectados se tomó una muestra variable de entre 3 y 5 individuos por charco, que incluyera al individuo más pequeño y al más grande, y así abarcar el mayor rango de tamaños presente. Los peces se fijaron en etanol 96% (previa sobredosis de anestésico) y las muestras se tomaron en la primera salida y sólo se añadieron más muestras si se encontraba algún individuo fuera del rango de tamaños del resto de la población. En el laboratorio los peces fueron medidos en Longitud Standard (SL, desde la punta de la nariz hasta el final del pedúnculo caudal), con una precisión de 0,01 mm. Con ayuda de una lupa binocular fueron identificados, sexados y etiquetados.

Los otolitos de los peces fijados fueron analizados en un establecimiento comercial (Barcelona Otolith Reading Service, BORS, España) para la estimación de edad. El establecimiento era ciego a la identidad de la muestra, excepto por la etiqueta identificadora. La lectura se completó en otolitos sagitales. En el laboratorio, el otolito se remueve mediante disección, se monta en portaobjetos y se pule hasta que los incrementos diarios son visibles como círculos alternados oscuros y claros (fig. 3.1; Fablet *et al.*, 2011). La lectura de cada otolito fue repetida

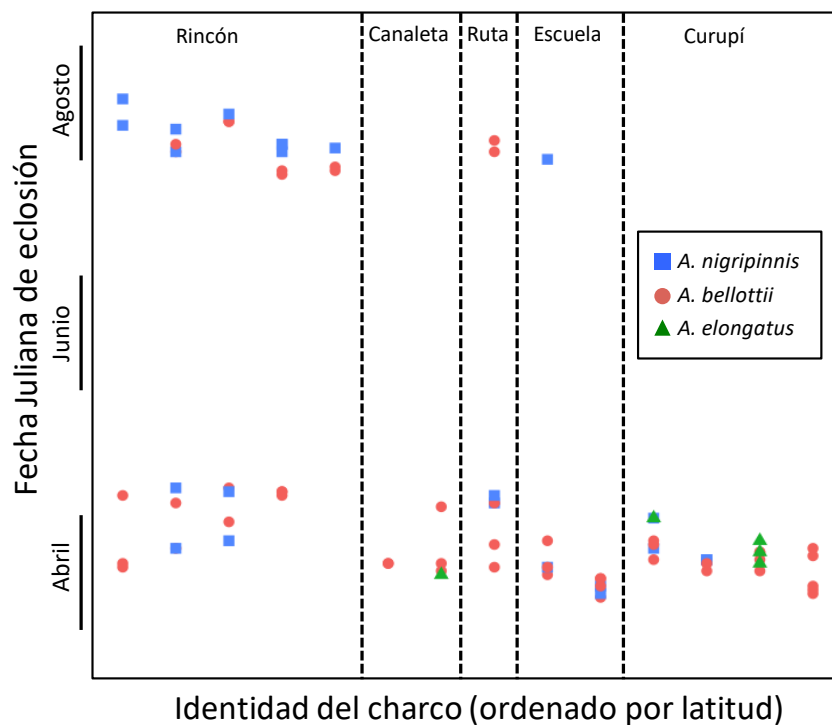
tres veces y un conjunto adicional de dos o tres lecturas se realizó en los casos en los que las lecturas brindaron resultados confusos.

De un total de 101 otolitos obtenidos, se leyeron 86. Diez otolitos no pudieron ser leídos por deformaciones o rupturas. La edad de seis otolitos fue estimada entre 65 y 84 días, con altas inconsistencias en las relecturas (diferencias de entre 20 y 62 días entre estimaciones consecutivas) y con gran énfasis del establecimiento comercial sobre lo impreciso de las lecturas. Se descartaron esos seis otolitos y sólo los otolitos con edades menores que 50 días fueron utilizados. Todos los análisis fueron completados en la muestra de los 80 otolitos. Se calculó la media de las lecturas de los otolitos y se utilizó ese dato en los análisis. Las repeticiones de las estimaciones se encuentran en el rango de entre 0 y 3 días y la diferencia máxima fue de 5 días (2 casos), en contraste con los otolitos inconsistentes de individuos de edad estimada media mayor de 50 días. La edad de los peces más jóvenes se estimó en 12 días.

La edad de eclosión fue obtenida sustrayendo la edad estimada en días, de la fecha de muestreo. Las fechas fueron guardadas en formato Juliano, dónde el día 1 es el 1° de Enero y el resto de los días del año son la adición de los días correspondientes. Los datos siguieron una distribución Gaussiana. Se utilizaron Modelos Lineales Mixtos (LMM) para comparar la media de la fecha de eclosión entre especies coexistentes. La variación entre los charcos fue controlada asignando interceptos aleatorios para cada sitio. La sobredispersión de residuales fue revisada para los modelos. Se correlacionó la edad estimada con el tamaño corporal utilizando la correlación de Pearson. El tamaño corporal fue log-transformado, para estandarizar los residuales. Las correlaciones fueron realizadas para cada especie y sexo separadamente. Para todos los análisis de datos se utilizó la biblioteca *lme4* (Bates *et al.*, 2015).



**Figura 3.1.** Ejemplos de secciones de otolitos, con los incrementos diarios aparentes en forma de círculos oscuros y claros alternados (indicado por puntos negros). (A) macho de *Austrolebias bellottii* (largo estándar 9.17 mm), recolectado el 18 de mayo de 2015 en el charco 9C (Ruta), 15 días de edad. (B) macho de *Austrolebias nigripinnis* (largo estándar 14,61 mm), recolectado el 19 de mayo de 2015 en el charco 4A (Rincón), 26 días de edad. Nótese las barras de escala indicando diferencias de tamaño relacionadas con la edad entre A y B.



**Figura 3.2.** Fecha estimada de eclosión de los individuos entre regiones de estudio y especies. Las poblaciones están ordenadas por un gradiente latitudinal de Norte a Sur. Las diferentes regiones están separadas por una línea vertical quebrada y los diferentes símbolos corresponden a las diferentes especies.

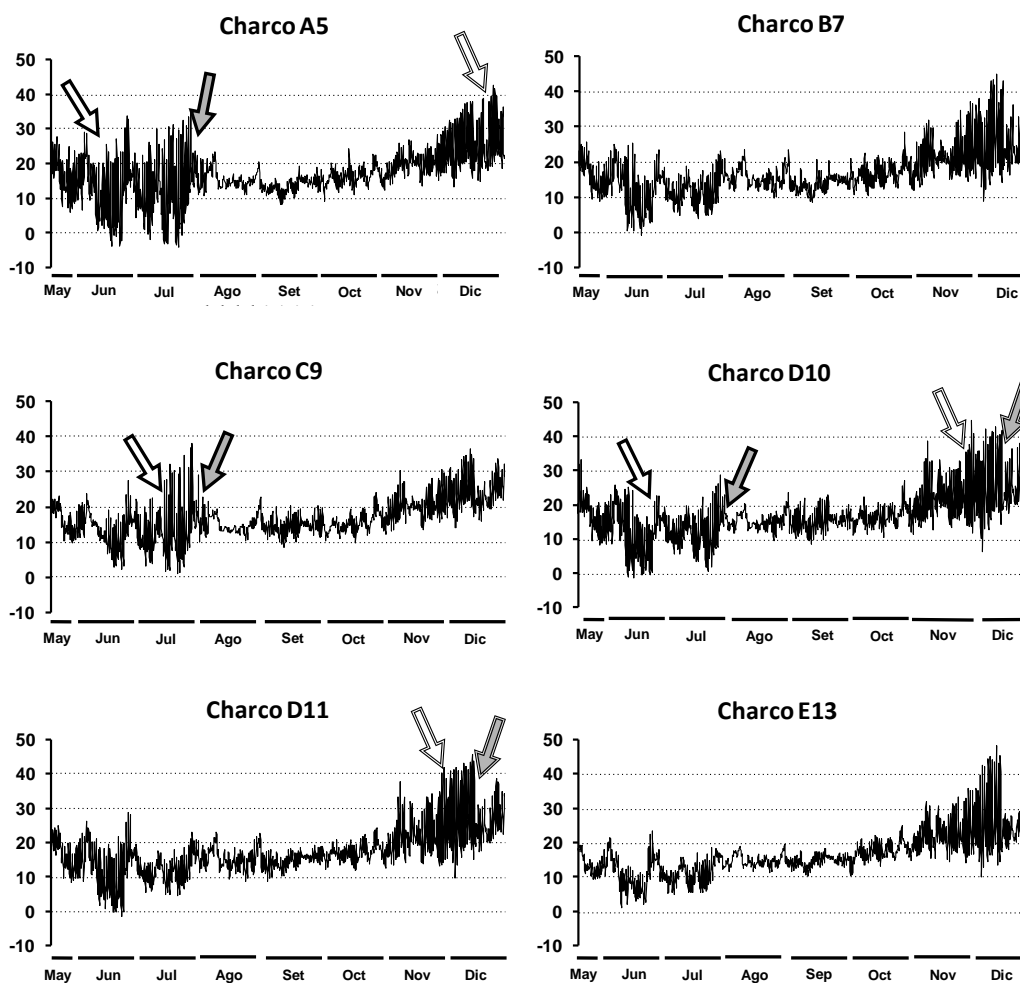
### 3.3 - Resultados

Se encontraron dos claras cohortes en el área de estudio dentro del mismo año de calendario (fig. 3.2). La primera cohorte contuvo las tres especies y eclosionó entre el 8 de Abril y el 7 de Mayo de 2015 (tabla 3.1). La segunda cohorte se estima que eclosionó entre el 27 de Julio y el 16 de Agosto de 2015. No se detectaron individuos de *A. elongatus* en la segunda cohorte (tabla 3.1).

La primera cohorte eclosionó en los 18 charcos estudiados, pero la segunda cohorte sólo se registró en siete de esos charcos (tabla 2.1). Trece charcos (72%) se secaron durante el período comprendido entre el 1 de Junio y el 27 de Julio (primeras fechas que se registraron como secos) y permanecieron secos hasta la caída de una fuerte lluvia entre el 30 de Julio y el 1 de Agosto (tabla 2.1). La sequía durante ese período fue confirmada por las estimaciones de los data-loggers (fig. 3.3). Las dos cohortes estuvieron típicamente separadas por la desecación del charco y no coexistieron, excepto en un único charco (10D, región “Escuela”) donde la segunda cohorte eclosionó a pesar de no haber desaparecido la primera cohorte. No obstante, el charco fue registrado como seco entre el 1 de Junio 27 Julio. En cuatro charcos (31% de los que se secaron), no se registró una segunda cohorte, a pesar de haberse inundado el hábitat. En 5 charcos que no se secaron (28%), la primera cohorte sobrevivió hasta el final del período de estudio (tabla 2.1) al final de la primavera (Noviembre-Diciembre).

Hubo diferencias regionales en cuanto a la desecación de los charcos y la presencia de una segunda cohorte. Las regiones “Rincón” y “Ruta” albergaron dos cohortes consecutivas, sin solapamiento en el tiempo. Se detectó una coexistencia temporal de las dos cohortes en la región “Escuela”. No se detectó segunda cohorte en las regiones “Curupí” y “Canaleta” (tabla 2.1, fig. 3.2). No se encontraron diferencias interespecíficas en las fechas de eclosión de la primera cohorte (LMM primera cohorte:  $F_{2,48,3} = 0,38$ ;  $P = 0,683$ ) pero *A. bellottii* eclosionó antes que *A. nigripinnis* en la segunda cohorte (LMM segunda cohorte:  $F_{1,13,0} = 11,22$ ;  $P = 0,006$ ). La estimación del modelo de las diferencias en la fecha de eclosión (tomando en cuenta la variación entre los charcos) sugiere que *A. bellottii* eclosionó 1,65 (s.e. 1,93) días antes que *A. nigripinnis* en la primera cohorte y 4,2 (s.e 1,26) días en la

segunda cohorte. No existieron diferencias entre las fechas de eclosión de *A. bellottii* y *A. nigripinnis* de la primera cohorte, incluso cuando se excluyó del análisis a *A. elongatus* (LMM:  $F_{1;44,2} = 0,92$ ;  $P = 0,342$ ) y, por lo tanto, la falta de correspondencia entre la primera y segunda cohorte no fue un artefacto analítico.



**Figura 3.3.** Temperatura ambiente de seis charcos representativos de las cinco regiones. Fue registrada directamente por data-loggers en los sitios. Las fases húmeda y seca se marcan con flechas. Flechas sin relleno: comienzo de fase seca; flechas con relleno gris: inicio de fase húmeda. Línea de borde simple: período seco a mitad de temporada; línea de borde doble: Segundo período de seca al final de la temporada.

**Tabla 3.1.** Temperatura media del agua de 9 de los charcos estudiados, medida con data-loggers depositados en el fondo de los charcos. Se registró la temperatura cada 3 horas. Se muestra el rango de temperaturas registrado en el período. Temperaturas bajo cero refieren a períodos con el charco seco (1A, 5A, 10D) o casi seco (7B, 11D). NA significa falta de datos para ese período.

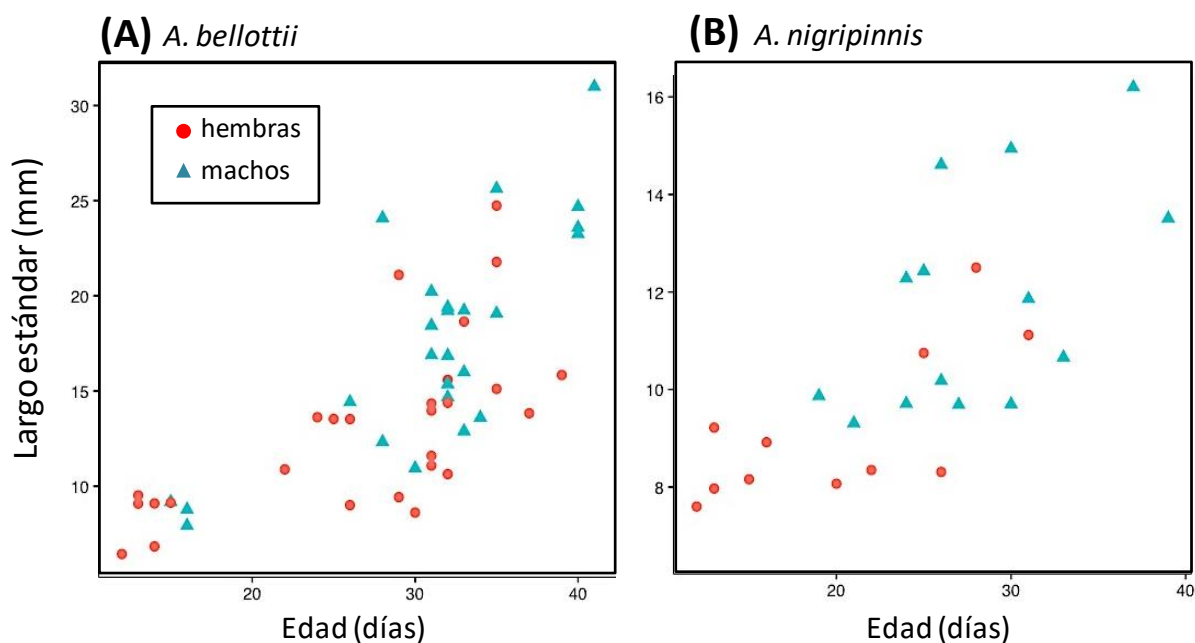
Charco	18-31 May	1-30 Jun	1-31 Jul	1-31 Ago	1-30 Set	1-31 Oct	1-30 Nov	1-31 Dic
1A*	16,1 9,9 - 25,4	12,0 -3,7 - 30,8	11,2 -2,8 - 33,6	15,9 9,1 - 28,6	16,1 7,0 - 27,2	18,1 8,3 - 32,2	20,5 12,2 - 34,5	NA NA
5A	16,5 6,1 - 27,8	12,5 -3,8 - 33,6	11,8 -4,0 - 34,7	15,5 10,7 - 23,5	13,6 8,1 - 19,1	16,3 9,3 - 24,2	19,6 12,4 - 28,4	25,4 13,2 - 42,5
7B	16,3 8,7 - 25,7	12,2 -0,9 - 25,3	11,8 3,8 - 23,3	15,3 9,7 - 23,6	13,7 8,5 - 20,6	16,5 10,4 - 28,4	21,0 11,9 - 37,4	25,7 8,7 - 45,1
8B#	15,8 10,6 - 22,0	11,6 0,7 - 22,0	11,4 0,01 - 29,6	15,3 10,7 - 18,1	NA NA	NA NA	NA NA	NA NA
9C	16,2 9,9 - 23,1	13,6 2,3 - 27,6	12,5 1,1 - 38,1	15,1 10,2 - 22,9	14,7 8,7 - 20,4	15,5 10,0 - 24,0	19,7 12,3 - 30,6	23,8 14,0 - 36,6
10D	16,1 8,3 - 25,1	12,0 -1,6 - 25,9	12,1 0,5 - 29,0	15,2 9,4 - 23,5	15,3 8,6 - 22,9	16,6 10,5 - 27,1	21,6 11,2 - 38,9	26,1 6,2 - 45,0
11D	16,4 8,5 - 24,9	12,3 -1,6 - 28,9	12,0 4,6 - 23,0	15,3 8,6 - 23,0	14,8 8,7 - 19,1	17,2 11,7 - 24,3	21,5 12,6 - 40,3	26,1 9,8 - 45,7
13E	13,8 9,3 - 19,3	11,2 1,1 - 23,4	11,1 5,0 - 18,7	14,8 11,4 - 19,6	14,7 10,3 - 18,5	17,5 10,4 - 25,1	21,9 14,3 - 36,1	25,7 10,0 - 48,4
14E§	15,2 8,7 - 22,4	12,2 2,2 - 22,1	11,9 2,2 - 24,0	15,7 8,9 - 25,3	15,4 6,9 - 25,8	15,7 10,9 - 22,0	NA NA	NA NA

\* última lectura el 8 Nov 2015; # última lectura el 11 Ago 2015; § última lectura el 1 Nov 2015

**Tabla 3.2.** Estimaciones de las fechas de eclosión (media, desvío estándar, mediana) para las especies estudiadas basadas en la lectura de los otolitos. Se indica el tamaño de la muestra (N) y la variabilidad (fechas mayores y menores de eclosión registradas y rango de eclosión en días).

Año 2015	N	Fecha Media	Fecha Media Juliana	Desvío Estándar	Mediana de la fecha	Mín	Máx	Rango (en días)
<i>A. bellottii</i>								
1ª cohorte	42	20 Abr	109,6	8,3	17 Abr	8 Abr	7 May	29
2ª cohorte	10	2 Ago	215,1	5,2	2 Ago	27 Jul	10 Ago	14
<i>A. nigripinnis</i>								
1ª cohorte	13	23 Abr	112,6	9,52	20 Abr	9 Abr	7 May	28
2ª cohorte	10	6 Ago	219,0	5,1	4 Ago	31 Jul	16 Ago	16
<i>A. elongatus</i>								
1ª cohorte	5	20 Abr	109,6	5,77	19 Abr	13 Abr	28 Abr	15

El tamaño corporal de los individuos estuvo correlacionado positivamente con la edad estimada de machos y hembras de *A. bellottii* y *A. nigripinnis* (correlación de Pearson, largo estándar log-transformado, tabla 3.3, fig. 3.4). El pequeño tamaño de la muestra de *A. elongatus* no permitió la comparación entre edad y tamaño.



**Figura 3.4.** Relación entre el tamaño corporal de los individuos (largo estándar, en mm) y la edad estimada basado en todas las muestras de todos los charcos con valores registrados para (A) *A. bellottii* y (B) *A. nigripinnis*. Los machos están representados por triángulos azules y las hembras por círculos rojos.

**Tabla 3.3.** Correlación de Pearson entre la edad estimada (en días) y el tamaño corporal (largo estándar en mm). Los datos de tamaño corporal fueron log-transformados previo al análisis para normalizar los residuales.

Especies	Sexo	$r$	$P$	$N$
<i>A. bellottii</i>	Machos	0,83	<0,001	24
	Hembras	0,73	<0,001	26
<i>A. nigripinnis</i>	Machos	0,72	0,014	10
	Hembras	0,56	0,039	13

### 3.4 - Discusión

Se demostró que la eclosión de las *Austrolebias* de los charcos temporales de Villa Soriano es sincrónica entre charcos individuales y, parcialmente, entre especies simpátridas. Ha sido hipotetizado que las *Austrolebias* de gran tamaño presentan adaptaciones evolutivas para ocupar un nicho depredador (Costa, 2009). En la comunidad de peces anuales estudiada, *A. elongatus* es la especie de mayor tamaño. Eclosionar antes proporcionaría una ventaja de tamaño para *A. elongatus* y así depredar sobre sus congéneres recién eclosionados. Sin embargo, esto no fue observado, y todos los otolitos de *A. elongatus* analizados estaban dentro del rango de edad de los individuos más viejos de las especies coexistentes. Un mayor tamaño al nacer y un crecimiento inicial muy rápido, podrían ser explicaciones alternativas a la ventaja de tamaño de *A. elongatus* sobre las otras *Austrolebias* simpátridas, pero esto debería ser probado.

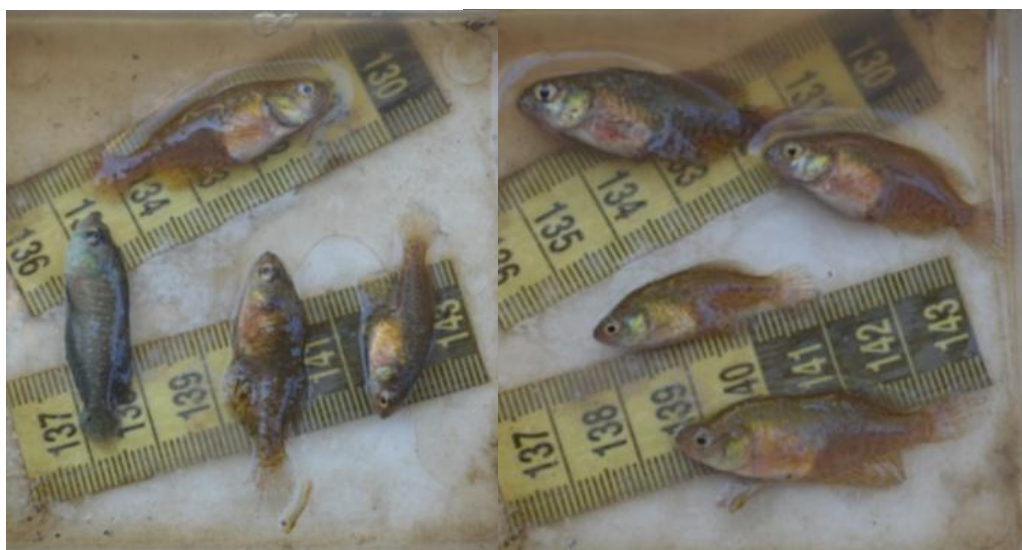
La asincronía de eclosión intraespecífica en las larvas de libélulas es promotora del canibalismo (Hopper *et al.*, 1996). En general, el canibalismo entre cohortes puede influir en la estructura de tamaños de las cohortes vía mortandad selectiva, aumento de tasas de crecimiento de los caníbales y supervivencia de las cohortes más jóvenes al beneficiarse de la relajación de la competencia por recursos compartidos (Huss *et al.*, 2010). De forma contraria, sincronizar la eclosión podría minimizar los efectos del canibalismo por parte de individuos mayores. Sin embargo, la habilidad para modular el tiempo de los eventos de eclosión depende críticamente de las señales usadas por las etapas pre-eclosión como pueden ser los disparadores ambientales. Señales ambientales (*e.g.*: mareas) parecen determinar la eclosión en algunos cangrejos (Saiusa, 2000), pero el comienzo de la eclosión de peces anuales parece estar basado en un grupo de señales mucho más complejo (*e.g.*: etapa de desarrollo del embrión, humedad relativa, temperatura, presión parcial de oxígeno; Reichard *et al.*, 2017).

La eclosión ocurrió entre principios de Abril y principios de Mayo, con un pico entre el 15 y 20 de Abril. Un grupo de 13 charcos se secaron durante Junio y Julio, llenándose nuevamente durante una gran precipitación entre el 30 de Julio y el 1 de Agosto. En siete de los trece charcos rellenados, una nueva cohorte

eclosionó, se desarrolló y maduró sexualmente, pero no eclosionaron peces en los otros seis charcos. No eclosionó una nueva cohorte en los charcos que no se secaron, con la excepción de un charco (10D) donde la nueva cohorte coexistió con peces más longevos. La primera cohorte sobrevivió por todo el año (hasta fines de primavera) en los charcos que no se secaron. La eclosión de la primera cohorte al principio del otoño es típica de *Austrolebias* (Berois *et al.*, 2014). La época de altas precipitaciones (Diciembre-Febrero) coincide con la época de mayor temperatura, ocasionando una alta evaporación que no permite que los charcos persistan por mucho tiempo. No hay evidencia de que las *Austrolebias* eclosionen en esos momentos de altas precipitaciones. Incluso exploraciones preliminares durante Enero de 2015 no detectaron la presencia de peces anuales en los sitios inundados (D García, obs. pers.) y la precipitación durante Febrero de 2015 fue inusualmente baja (fig. 2.2). Por otra parte, las lluvias relativamente leves de otoño (Marzo-Mayo) llevan al llenado de los charcos y a condiciones acuáticas estables. Las lluvias subsecuentes continúan manteniendo la fase acuática hasta el fin de la primavera (Octubre-Diciembre) antes de que la evaporación exceda la precipitación. Como resultado, una única cohorte sobrevive y completa el ciclo de vida (Lanés *et al.*, 2016). Este escenario fue el encontrado en los charcos que no se secaron y contuvieron una única cohorte. En varios de estos charcos las poblaciones se redujeron dramáticamente debido a la reducción del área de los charcos, y sólo unos pocos adultos sobrevivieron hasta el fin de la temporada (ver sección siguiente; García *et al.*, 2019). Sólo un charco (17E) mantuvo su volumen relativamente constante y su población se mantuvo durante todo el año sin experimentar mayor mortandad.

Una segunda cohorte eclosionó en siete charcos luego de haberse vuelto a llenar, dentro de las dos primeras semanas de Agosto. Al contrario de lo que sucede en los *Nothobranchius* africanos (Polačik *et al.*, 2014; Reichard, 2016; Reichard *et al.*, 2017), la sucesión de múltiples cohortes en un mismo año no había sido documentada para *Austrolebias* hasta ahora. La nueva cohorte experimentó condiciones ambientales muy diferentes a la primera cohorte, con mayor área de los charcos, mayor temperatura del agua (tabla 3.1, fig. 3.3) y mayor abundancia de nutrientes. La presencia de *Austrolebias* está relacionada a temperaturas más frías

del ambiente, y se asume que exposiciones prolongadas a altas temperaturas en el agua reducen su supervivencia (Walford & Liu, 1965). La alta temperatura retarda el crecimiento y la esperanza de vida de las *Austrolebias* adultas (Liu & Walford, 1966). A pesar de esto, encontramos *Austrolebias* adultas en el charco 9C hasta el verano (31 de Diciembre) con temperaturas del agua que sobrepasaron los 36°C (tabla 3.1). Esta población se encontraba con una alta proporción de hembras (15h-1m) y los peces poseían claros síntomas de deterioro (fig. 3.5). Este charco está ubicado al lado de unos grandes árboles de *Eucalyptus* sp. que proyectan sombra sobre el agua del charco durante gran parte del día. En otros charcos sin esta protección, la temperatura del agua sobrepasó los 40°C (tabla 3.1) y no se detectaron peces sobrevivientes. Estas condiciones ambientales son comunes para los peces anuales tropicales (Podrabsky *et al.*, 1998, Reichard *et al.*, 2009; Shalk *et al.*, 2014; Reichard, 2016) pero se documentan aquí por primera vez para *Austrolebias* sub-tropicales.



**Figura 3.5.** Ejemplo de los peces capturados el 31 de Diciembre de 2015 (Salida 16) en el charco 9C. Se notaron claros signos de deterioro, como el curvamiento de la columna vertebral o la pérdida de turgencia somática.

El período seco a mediados del invierno de 2015 fue inusual comparado con los años previos, y podría ser un efecto del cambio climático. Este cambio está causando modificaciones en los patrones de precipitaciones (Trenberth, 2011).

Estos cambios afectan la fenología de las especies (momentos en los que se dan los eventos del ciclo de vida) (Bellard *et al.*, 2012). Mientras que estos cambios son muy evidentes en plantas (Cleland *et al.*, 2007), también han sido observados efectos en la fenología de la reproducción y de las migraciones de aves, insectos y algunos organismos acuáticos (Visser & Both, 2005; Manhard *et al.*, 2017). Los cambios en la fenología podrían interrumpir la función del ecosistema, ya que la respuesta a estos cambios varía probablemente entre grupos taxonómicos, funcionales y niveles tróficos (Edwards & Richardson, 2004). Las *Austrolebias* están adaptadas a ambientes variables y parecen sobrellevar los cambios en la temporalidad de las lluvias produciendo múltiples cohortes. Sin embargo, un estudio de una única temporada no permite documentar ninguna consecuencia que pudiera surgir sobre la madurez y producción de huevos, de continuar esta variabilidad. De forma diferente a lo que sucede en los *Nothobranchius* africanos (Polačik *et al.*, 2014, 2017), las *Austrolebias* parecen no estar influidas por precipitaciones erráticas e impredecibles. Sin embargo, es necesaria una investigación a largo plazo para comprender los efectos poblacionales de las alteraciones en la temporalidad de las lluvias sobre estos peces.

La sincronía en la fecha de eclosión fue mayor en la segunda que en la primera cohorte. Los charcos se llenaron con lluvias relativamente más leves en Abril y la eclosión de la primera cohorte podría haber sido más prolongada, ya que el sedimento se fue llenando durante un período más extenso, resultando en un llenado gradual. Por el contrario, la segunda cohorte eclosionó luego de una precipitación muy intensa, que llenó los charcos por completo en pocas horas. Esto fue más pronunciado en la región "Rincón", donde el área fue inundada por el Río Negro adyacente. Así, todos los huevos se mojaron sincrónicamente, resultando en un menor rango de fechas de eclosión. Dentro de cada charco, todos los peces nacieron en un rango de 2 semanas para la primera cohorte y en sólo una semana en la segunda cohorte (fig. 3.1). Este rango es considerablemente menor que los reportes de los *Nothobranchius* africanos, donde la eclosión puede estar distribuida entre 3 o 4 semanas, a pesar del llenado rápido de los charcos (Reichard *et al.*, 2017). El fin de verano particularmente seco (Febrero, fig. 2.1)

experimentado durante el año del estudio, podría haber contribuido a la eclosión relativamente más prolongada de la primera cohorte.

La Longitud Estándar (SL) fue relativamente un buen predictor de la edad individual de *Austrolebias*. Esto contrasta con lo encontrado en peces anuales africanos, donde el tamaño corporal está fuertemente afectado por efectos denso-dependientes (Vrtílek & Reichard, 2016) y no está correlacionado con la edad (Polačik *et al.*, 2011, Reichard *et al.*, 2017). Es probable que esta asociación sea particularmente fuerte en los peces más jóvenes (como los utilizados en esta etapa del estudio) y se nivele más adelante en la temporada, cuando los peces se acercan a la asíntota de su crecimiento.

En el charco 10D las dos cohortes coexistieron. Una explicación puede ser que la nueva cohorte haya eclosionado en presencia de congéneres adultos cuando el nivel del agua aumentó luego de la fuerte lluvia de Agosto. La coexistencia de múltiples cohortes en *Austrolebias* es extremadamente rara (Lanés *et al.*, 2016). Existe cierta evidencia experimental de que la presencia de adultos previene la finalización del desarrollo embrionario en *Nothobranchius* (Inglima *et al.*, 1981). Esta respuesta es producida por la presencia de señales químicas de los adultos coespecíficos (Inglima *et al.*, 1981), un componente importante de la comunicación de *Austrolebias* (Passos *et al.*, 2013). Sin embargo esta evidencia está relacionada al desarrollo de embriones detenidos en diapausa. En el charco 10D los embriones pueden haber completado su desarrollo en el sustrato seco, sin señales de los adultos que fueron restringidos a un pequeño charco residual. Cuando el charco aumentó su tamaño luego de la gran precipitación, la nueva cohorte podría haber eclosionado del sedimento recién mojado. En embriones que están listos para eclosionar (etapa pre-eclosión, *sensu* Wourms 1971) de peces anuales africanos, la presencia de coespecíficos (u otros peces) no previene la eclosión de los alevines (Polačik & Janác, 2017). También es probable que la nueva cohorte se originara en un charco diferente y luego se dispersara al charco 10D durante los períodos de abundante agua. Así, la coexistencia de ambas cohortes podría haber sido por contacto secundario.

Llama la atención que no haya eclosionado una nueva cohorte en tres charcos, a pesar de la persistencia del agua durante al menos tres meses y la presencia de adultos en los meses anteriores. Es posible que en esos charcos los peces no estuvieran en fase pre-eclosión y no hayan completado su desarrollo antes de la siguiente inundación. También es posible que algunos adultos se mantuvieran en el sustrato húmedo del charco seco pero no fueran registrados en muestreos sucesivos debido a su baja abundancia. Cualquiera sea la causa exacta, la ausencia de una segunda cohorte en estos charcos indica una potencial amenaza sobre la persistencia a largo plazo de las poblaciones de *Austrolebias*, especialmente en regiones con baja conectividad de charcos.


En esta sección se muestra claramente la utilidad de los otolitos para determinar la edad de las *Austrolebias*. También se demuestra una clara asociación entre la eclosión de los peces y la llegada de las lluvias, siendo la eclosión de los huevos sincrónica. La cantidad de las lluvias determinan el período de eclosión, siendo éste más corto cuando la cantidad de agua es mayor y concentrada en menos tiempo. Este estudio aporta a la comprensión de los factores que afectan la eclosión y, por lo tanto, la historia de vida de las especies estudiadas. Lo expuesto en esta sección fue publicado en la revista *Hydrobiologia* (DOI: 10.1007/s10750-017-3484-9).

Hydrobiologia (2018) 809:323–337  
<https://doi.org/10.1007/s10750-017-3484-9>



PRIMARY RESEARCH PAPER

## Phenology of three coexisting annual fish species: seasonal patterns in hatching dates

Daniel García · Marcelo Loureiro · Emanuel Machín · Martin Reichard 

Received: 7 September 2017 / Revised: 12 December 2017 / Accepted: 16 December 2017 / Published online: 21 December 2017  
© Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2017

#### 4. - Co-ocurrencia de especies y dinámica de las poblaciones en ensambles de peces anuales de la cuenca del Río Uruguay bajo



## 4.1 – Introducción

Los ambientes temporales son explotados por peces con diversas historias de vida. Mientras que la mayoría de los peces utilizan estos hábitats efímeros en forma temporal, otros poseen adaptaciones a las condiciones ambientales fluctuantes y desafiantes. Ejemplos de estas adaptaciones son la respiración aérea o la habilidad de escapar de los charcos secos reptando o saltando (Polačik & Podrabsky, 2015). Sin embargo, muy pocos taxa de peces están adaptados a completar todo el ciclo de vida en los charcos temporales. Sus adaptaciones incluyen estivación en temporada seca de los adultos en el barro húmedo en peces pulmonados (Delaney *et al.*, 1974; Chew *et al.*, 2004) y supervivencia de los embriones protegidos en estados de diapausa en los peces anuales (Worums, 1972 a,b,c).

Mientras que algunos charcos temporales de pastizales sub-tropicales y templados de Sudamérica están habitados por una única especie de pez anual, en otros es común la coexistencia de dos o tres especies y algunos ensambles están compuestos por hasta cinco especies coexistiendo en un mismo charco (Loureiro *et al.*, 2016). Las especies que coexisten son típicamente de clados filogenéticos diferentes y morfotipos diferentes. Existe un morfotipo depredador (cuerpo elongado y robusto, de gran tamaño, compuesto por 5 especies) que podría alimentarse de otros peces anuales (Costa, 2006; Loureiro *et al.*, 2016). Son siempre un componente raro del ensamble de peces anuales (Costa 2009). Los otros morfotipos de peces anuales corresponden a peces de tamaño medio a pequeño, con cuerpos comprimidos y elipsoides a elongados y son considerados depredadores generalistas con alto solapamiento de dieta (Laufer *et al.*, 2009, Keppeler *et al.*, 2015).

Los charcos con *Austrolebias* pueden estar totalmente aislados de cuerpos de agua permanentes o conectarse temporalmente a lagos, ríos o cañadas. Durante las inundaciones ocasionales, estas conexiones con cuerpos de agua permanentes permiten la invasión de peces no anuales a los charcos temporales (Vaz Ferreira *et al.*, 1966; Lanés *et al.*, 2016). Sin embargo, las poblaciones de *Austrolebias* parecen no verse afectadas por estos eventos (Lanés *et al.*, 2016), aunque se ha reportado que podrían eliminar poblaciones de peces anuales en el trópico (Nico &

Thomerson, 1989). En las lagunas costeras Atlánticas y en la cuenca del Río Paraná, en Sudamérica, *Austrolebias* comparte el hábitat con otros géneros de peces anuales. Sin embargo, en la cuenca del Río Uruguay, donde este estudio fue realizado, *Austrolebias* es el único género de peces anuales presente.

Contrastando con la vasta literatura acerca de varios aspectos de la biología de *Austrolebias*, la información sobre la dinámica de sus poblaciones es limitada y proveniente de la cuenca de las lagunas de la costa Atlántica (Lanés *et al.*, 2014, 2016). En concreto, se carece de información de la dinámica temporal (que represente el ciclo de vida completo) de las especies ampliamente distribuidas de la cuenca del Río Uruguay.

En el presente estudio, se investigaron las características poblacionales y comunitarias de *Austrolebias* de la región subtropical de Uruguay. El objetivo fue describir patrones temporales de la co-ocurrencia, la densidad y la proporción de sexos de las especies que habitan en los humedales de Villa Soriano (Uruguay). Para esto se predijo la existencia de una especie con una ocurrencia común en la mayoría de los charcos, co-ocurriendo con otra especie de pez anual, más especializado. También se predijo un decrecimiento de la abundancia de peces constante (como respuesta al deterioro de las condiciones del hábitat y efectos negativos del envejecimiento), en lugar de un descenso repentino y brusco en la fase terminal de los charcos (Vrtílek *et al.*, 2018b). Finalmente se predijo una disminución de la proporción de machos a lo largo de la temporada, como respuesta a la competencia macho-macho por hembras (Passos *et al.*, 2014).

## 4.2 - Materiales y métodos

La co-ocurrencia de especies fue visualizada utilizando un diagrama de Venn en Venny 2.1 (<http://bioinfogp.cnb.csic.es>). Las dinámicas temporales de la proporción entre *A. bellottii* y *A. nigripinnis* fue modelada usando Modelos Mixtos Lineales Generalizados (GLMM) con una distribución binomial y función de enlace logit. La variable de respuesta fue la proporción entre las especies. Las salidas de muestreo (1-16) fueron modeladas como variable continua. El factor aleatorio fue

la identidad del charco. Únicamente las muestras con más de cuatro peces fueron utilizadas para calcular la proporción de especies.

A partir de los datos obtenidos de cantidad de peces por tiempo y área de los charcos (ver Metodología general), se calcularon aproximaciones de densidad y abundancia de las poblaciones. La densidad de peces (una aproximación de la densidad de población) se calculó dividiendo el número de peces capturados por el tiempo de colecta y se expresó como número de peces recolectados en 30 minutos. La abundancia de peces (una aproximación de la abundancia de la población) se estimó multiplicando la densidad de peces por el área de la superficie del charco. Las dos medidas representan diferentes aspectos de la población, pero están correlacionadas positivamente (correlación de Pearson con datos log-transformados:  $r_{170} = 0,523$ ,  $p < 0,001$ ). La densidad y la abundancia de peces se calculó para todas las *Austrolebias* agrupadas y para *A. bellottii* y *A. nigripinnis* separadamente. Las estimaciones de densidad y de abundancia para *A. bellottii* y *A. nigripinnis* (dondequiera que coexistieron), así como las estimaciones para una sola especie y las estimaciones generales, se correlacionaron de forma altamente positiva (correlación de Pearson en datos transformados logarítmicamente: todos  $p < 0.001$ ). Por este motivo sólo presentaremos las estimaciones de densidad y abundancia de peces para todas las especies agrupadas.

Dada la sequía a mitad de temporada en algunos charcos, se realizaron tres grupos de datos. El primero corresponde a los datos de comienzos de temporada hasta la sequía de mitad de temporada (salidas 1-6, 18 Mayo-27 Julio). Este grupo de datos consiste en 13 charcos (los charcos A1, A4, A5, 16E y 18E se excluyeron de este grupo de datos por tener menos de tres colectas para estimación de densidad y abundancia). El segundo grupo de datos corresponde a los charcos que completaron toda la fase acuática del ciclo desde el otoño hasta la primavera. Este grupo incluye a cinco charcos. El tercer grupo incluye a los peces nacidos en la segunda temporada de los charcos. Estos datos se obtuvieron de siete charcos.

Las dinámicas temporales del área de la superficie, de la densidad y de la abundancia de peces, fueron analizadas utilizando Modelos Lineales Mixtos (LMM) con distribución Gaussiana. Las tres variables de respuesta fueron log-

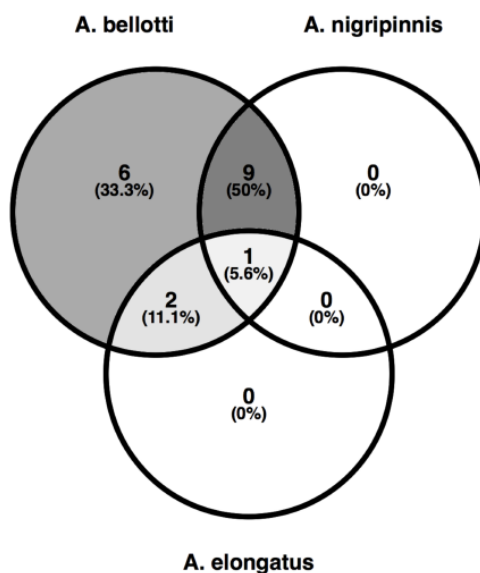
transformadas para estandarizar los residuales. Los modelos tuvieron un único factor fijo (salidas 1-16, que describe el cambio temporal). La identidad del charco fue modelada como factor aleatorio (intercepto). Los modelos se corrieron con el factor fijo codificado como variable continua (1-16). Para obtener una estimación del modelo específico para cada fecha, las salidas fueron codificadas adicionalmente como factor categórico. Los modelos de todos los grupos (área del charco, densidad de peces, abundancia de peces) tuvieron idéntica estructura. Usando modelos mixtos donde la variación entre los charcos puede ser incorporada mediante la asignación de interceptos separados para cada charco, se fue capaz de proporcionar un estimador único general de las dinámicas de las poblaciones.

La proporción de sexos fue también modelada con GLMM con distribución binomial y función de enlace logit. La variable de respuesta fue la proporción entre machos y hembras, el factor fijo la salida de muestreo (1-16) y el factor aleatorio la identidad del charco. Se corrieron modelos por separado para *A. bellottii* y *A. nigripinnis* y para cada grupo de datos (salidas 1-6, charcos que no se secaron, segunda cohorte). Para todos los modelos, los supuestos fueron comprobados mediante inspección visual de los residuales. Los análisis fueron realizados utilizando el paquete de R *lme4* (Bates *et al.*, 2015).

## 4.3 – Resultados

### 4.3.1 - Coexistencia

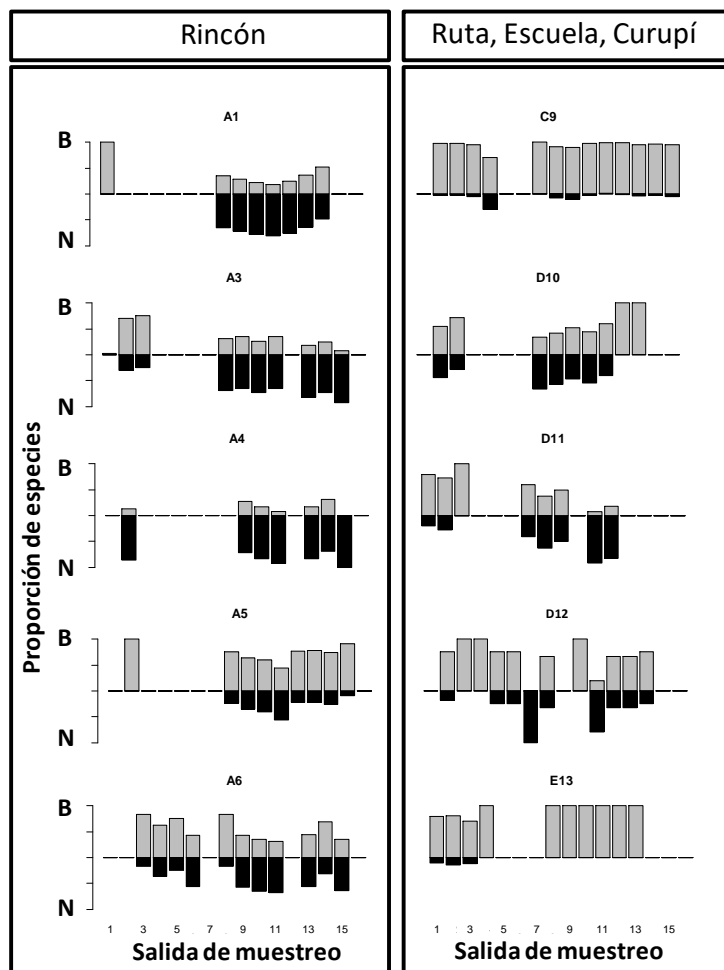
*Austrolebias bellottii* estuvo presente en los 18 charcos estudiados con peces anuales (n = 4.434 peces), *A. nigripinnis* fue encontrada en diez charcos (n = 2.524 peces), *A. elongatus* en tres charcos (n = 18 peces) (fig. 4.1) y *A. alexandri* en dos charcos (n = 4 peces). Las malas condiciones de las fotografías de algunos peces del primer muestreo, no permitieron la identificación de 375 individuos, pero igualmente fueron utilizados para los análisis generales de densidad y abundancia.



**Figura 4.1.** Cuantificación de la co-existencia de especies de *Austrolebias* en las comunidades de Villa Soriano (Uruguay). Los números indican cantidad (o porcentaje) de charcos. *Austrolebias alexandri* fue omitida del análisis dada su ocurrencia esporádica.

*Austrolebias bellottii* fue una especie común (abundancia relativa >30%) en todos los charcos y *A. nigripinnis* fue común en 5 charcos (1A, 3-6A) localizados en la planicie de inundación del Río Negro (“Rincón”), en los tres charcos de la región “Escuela” (10-12D) y en un charco de la región “Curupí” (13E). Sin embargo, luego de la sequía de mitad de temporada, la abundancia de ambas especies decayó

dramáticamente en los charcos de la región “Escuela” y se dejó de encontrar *A. nigripinnis* en el charco del “Curupí” (13E). Además, *A. nigripinnis* fue rara (abundancia relativa 3,5%) en el charco de la sección “Ruta” (9C) y fue detectado un único individuo en el charco 14E (sección “Curupí”). En general, hubo una disminución temporal de la proporción de *A. bellottii* hacia *A. nigripinnis* en los charcos en los que coexistieron (GLMM con error binomial; estimado  $\pm 1$  error estándar:  $-0,074 \pm 0,012$ ,  $z = -6,43$ ,  $P < 0,001$ ,  $n_{\text{muestras}} = 93$ ,  $n_{\text{charcos}} = 11$ ) (fig. 4.2).



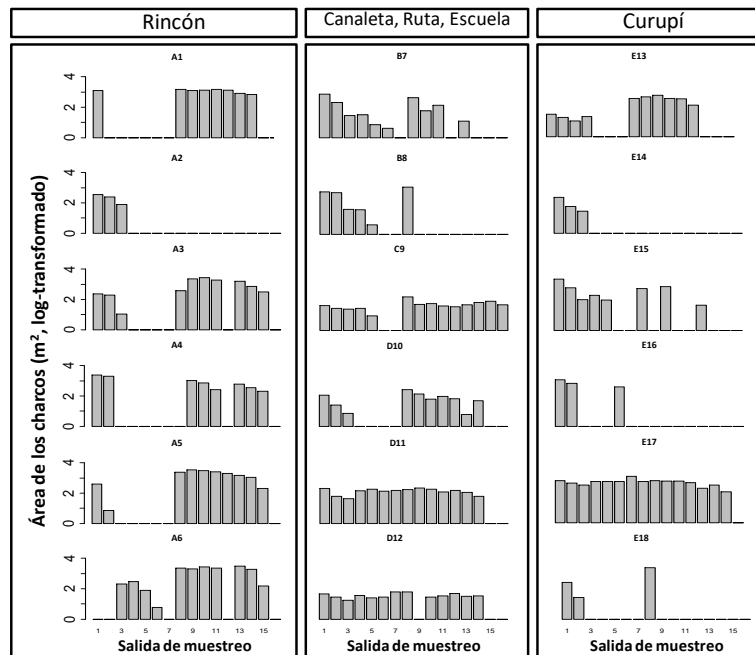
**Figura 4.2.** Dinámica temporal de la co-existencia de especies entre *A. bellottii* (gris) y *A. nigripinnis* (negro) en los charcos en que ambas especies coexistieron. El código de cada charco individual se muestra sobre su respectivo panel.

*Austrolebias elongatus* fue rara (abundancia relativa <5%) en todos los charcos en los que se detectó. Su abundancia fue relativamente mayor en la región “Curupí” (charcos 13E y 15E), y también fue detectada en la región “Canaleta” (charco 8B). No se detectó en la planicie de inundación del Río Negro (región “Rincón”). Esta especie fue registrada sólo hasta el 30 de Junio (salida 4). Se colectó *A. alexandri* ocasionalmente en la región “Rincón” (charcos 3A y 5A), donde coexistía con *A. bellottii* y *A. nigripinnis*.

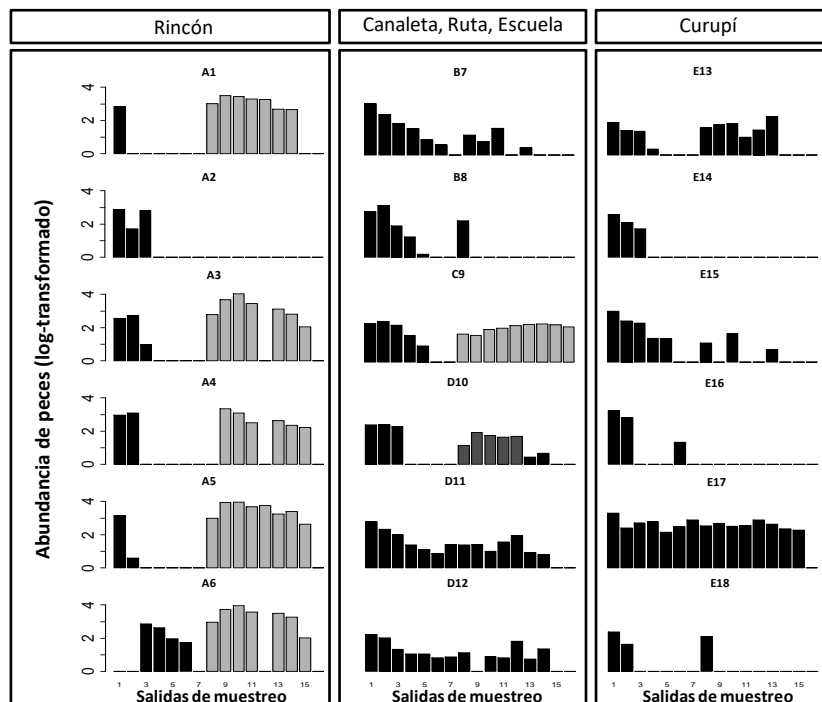
#### 4.3.2 - Dinámica temporal

La mayoría de los charcos se secaron entre el 1 de Junio y el 27 de Julio (salidas 2-6) – sólo cinco charcos no mostraron signos de desecación (tabla 2.1: 7B, 11D, 12D, 13E, 17E), a pesar de una gran disminución de su área (fig. 4.3). Incluso hubo una única cohorte de *A. bellottii* que sobrevivió la temporada completa en los charcos 8B, 10D, 15E y 18E. Estos charcos fueron registrados como secos durante el período seco del invierno, pero contuvieron peces adultos luego de su re-llenado. *Austrolebias nigripinnis* estuvo presente en cuatro de los charcos que mantuvieron poblaciones de *A. bellottii* durante toda la temporada. Su población se mantuvo en los charcos 11D y 12D durante toda la temporada, mientras que en los otros dos charcos la primera cohorte de *A. nigripinnis* desapareció, con una segunda cohorte eclosionando en el charco 10D pero no en el 13E (fig. 4.4).

La segunda cohorte eclosionó en seis charcos (1A, 3-6A, 9C, tabla 2.1) sin solapamiento con la cohorte anterior. La mayoría de estos charcos estaban localizados en la planicie inundable del Río Negro, donde la coexistencia entre *A. bellottii* y *A. nigripinnis* era común. En un charco (10D), la cohorte temprana de *A. bellottii* coexistió inicialmente con una cohorte temprana de *A. nigripinnis* y luego con una cohorte tardía de esta especie. No eclosionó una segunda cohorte en tres charcos (2A, 14E, 16E) a pesar de un relleno secundario de los charcos y no haberse detectado la presencia de adultos.

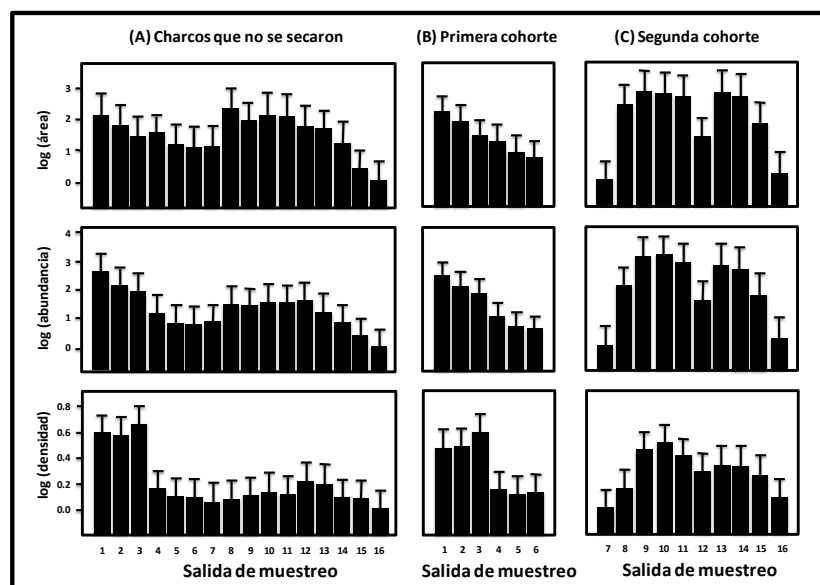


**Figura 4.3.** Dinámica temporal del área de los charcos individuales. El código de cada charco se muestra sobre su respectivo panel.



**Figura 4.4.** Dinámica temporal de la abundancia de peces de todas las especies, en los charcos individuales. Los códigos de los charcos individuales se muestran sobre sus respectivos paneles. Las barras negras indican la primera cohorte, las barras grises claro indican la segunda cohorte y las barras gris oscuro (charco D10) indican la coexistencia de ambas cohortes.

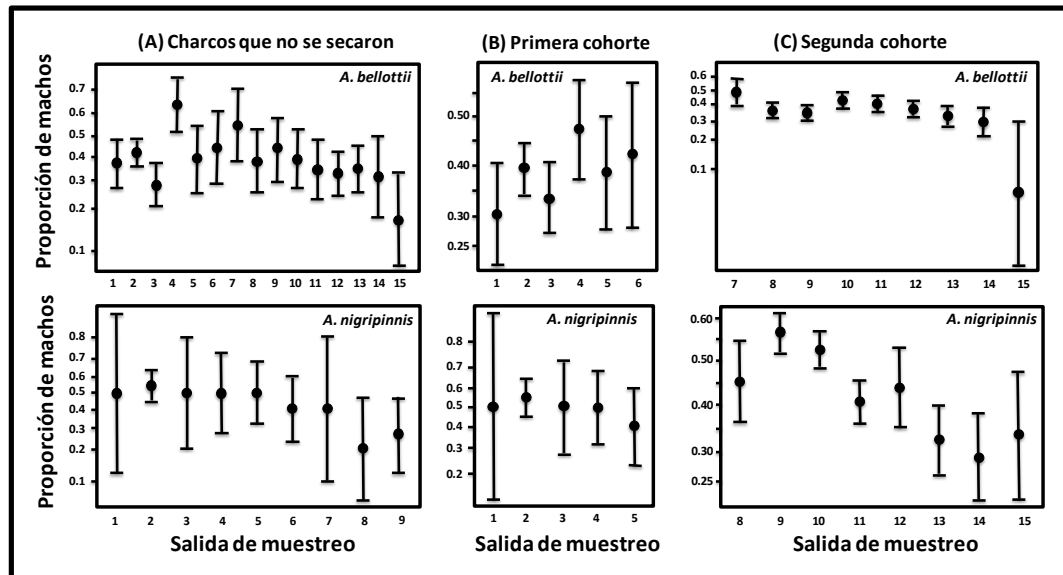
Para el grupo de charcos que no se secó, no hubo una disminución en el área de la superficie del charco durante la temporada (LMM, estimado:  $-0,009 \pm 0,013$ ,  $t_{65,5} = 0,73$ ,  $P = 0,469$ ), pero tanto la densidad de peces (LMM, estimado:  $-0,032 \pm 0,006$ ,  $t_{66,1} = -5,13$ ,  $P < 0,001$ ) como su abundancia (LMM, estimado:  $-0,061 \pm 0,014$ ,  $t_{65,4} = -4,21$ ,  $P < 0,001$ ) decrecieron significativamente durante la temporada (fig. 4.5 A). Hasta la primera sequía (salidas 1-6) hubo una clara disminución en el área de la superficie de los charcos (LMM, estimado:  $-0,179 \pm 0,037$ ,  $t_{46,8} = -4,86$ ,  $P < 0,001$ ), la abundancia de peces (LMM, estimado:  $-0,364 \pm 0,032$ ,  $t_{46,5} = -11,47$ ,  $P < 0,001$ ), y la densidad de peces (LMM, estimado:  $-0,074 \pm 0,021$ ,  $t_{48,8} = -3,58$ ,  $P = 0,001$ ) (fig. 4.5B). Para la segunda cohorte, hubo una disminución estadísticamente significativa de la superficie del charco ( $-0,070 \pm 0,018$ ,  $t_{37,1} = -3,91$ ,  $P < 0,001$ ), pero no de la densidad de peces ( $-0,004 \pm 0,011$ ,  $t_{38,7} = -0,37$ ,  $P = 0,713$ ) y sólo una disminución marginal en la abundancia de peces ( $-0,078 \pm 0,027$ ,  $t_{37,3} = -2,70$ ,  $P = 0,011$ ) (fig. 4.5C).



**Figura 4.5.** Estimaciones (media  $\pm$  s.e.) basadas en el modelo del área del charco, la densidad y la abundancia de peces de todos los sitios que no se secaron (A), todos los sitios previos a la desecación de mitad de temporada (B) y de la segunda cohorte (C). Todas las variables de respuesta fueron log-transformadas. Se muestran los valores de la media con error estándar. Para permitir una inspección visual de la dinámica poblacional, la salida de muestreo fue codificada como variable categórica (en lugar de continua).

## 4.3.3 - Proporción de sexos

La dinámica temporal de la proporción de sexos fue concordante entre ambas especies. En las poblaciones que se mantuvieron durante toda la temporada, la proporción de machos decreció significativamente en ambas especies, a lo largo de la temporada (salidas 1-16, GLMM binomial; *A. bellottii*:  $-0,041 \pm 0,015$ ,  $z = 2,72$ ,  $P = 0,007$ ,  $n_{OBS} = 42$ ,  $n_{POB} = 6$ ; *A. nigripinnis*:  $-0,133 \pm 0,042$ ,  $z = 3,18$ ,  $P = 0,002$ ,  $n_{OBS} = 16$ ,  $n_{POB} = 7$ ). No se detectó una caída significativa en la proporción de machos antes de la sequía invernal (salidas 1-6, binomial GLMM; *A. bellottii*:  $0,061 \pm 0,053$ ,  $z = 1,15$ ,  $P = 0,251$ ,  $n_{OBS} = 46$ ,  $n_{POB} = 16$ ; *A. nigripinnis*:  $-0,107 \pm 0,093$ ,  $z = 1,14$ ,  $P = 0,254$ ,  $n_{OBS} = 10$ ,  $n_{POB} = 7$ ). Sobre todo, la proporción de sexos durante ese período ya tenía mayor proporción de hembras en *A. bellottii* (37,8% de machos, 95% CI: 32,9 - 42,7) pero no en *A. nigripinnis* (51,2% de machos, 95% CI: 43,8 - 59,4). En la segunda cohorte, la proporción de machos disminuyó durante la temporada (salidas 8-16, *A. bellottii*:  $-0,053 \pm 0,022$ ,  $z = 2,39$ ,  $P = 0,017$ ,  $n_{OBS} = 42$ ,  $n_{POB} = 6$ ; *A. nigripinnis*:  $-0,193 \pm 0,027$ ,  $z = 7,09$ ,  $P < 0,001$ ,  $n_{OBS} = 39$ ,  $n_{POB} = 6$ ) (fig. 4.6).



**Figura 4.6.** . Estimaciones basadas en el modelo de la proporción de sexos (medida como proporción de machos) para *A. bellottii* (paneles superiores) y *A. nigripinnis* (paneles inferiores) de todos los sitios que no se secaron (A), todos los sitios previo a la desecación de mitad de temporada (B) y de la segunda cohorte (C). Todas las variables de respuesta fueron log-transformadas. Se muestran los valores de la media con un error estándar. Para permitir una inspección visual de la dinámica poblacional, la salida de muestreo fue codificada como variable categórica (en lugar de continua).

#### 4.4 - Discusión

*Austrolebias bellottii* fue la única especie presente en todos los charcos estudiados con una abundancia alta en todos ellos. Esto sugiere que *A. bellottii* es una especie que soporta bien los diversos ambientes y los diferentes regímenes de inundación de los charcos. La abundancia de *A. nigripinnis* fue mayor en los charcos asociados a la planicie con inundaciones regulares. La amplia distribución de esta especie (alcanzando las planicies del Río Paraná en Argentina) (Costa, 2006) podría indicar que *A. nigripinnis* está adaptado a ambientes con inundaciones periódicas, aunque sus poblaciones persisten también fuera de las planicies inundables. Borthagaray *et al.* (2015) demostraron que una alta conectividad entre charcos está asociada con una menor diversidad de peces anuales en la región costera Atlántica, en contraste con las tendencias de diversidad en plantas vasculares, odonatos y anuros. Se hipotetizó que esta relación inesperada estuviera relacionada con una depredación intra-gremio, por parte de las grandes *Austrolebias* (Borthagaray *et al.*, 2015). Cuando los charcos tienen una alta conectividad, pueden soportarse mayores poblaciones de *Austrolebias* de gran tamaño, a expensas de las de menor tamaño, las cuales se cree que forman parte habitual de su dieta (Costa, 2009). En este estudio, *A. elongatus*, el miembro del clado de las grandes especies de *Austrolebias* (Costa, 2006) estaba restringido a los charcos fuera del área de la planicie de inundación del Río Negro, pero su baja abundancia general y la rápida desecación de varios charcos en Julio, no permitieron conclusiones generales sobre su efecto en los ensamblajes de *Austrolebias*.

El registro de *A. alexandri* representa el primero documentado de esta especie al sur del Río Negro del lado oriental del Río Uruguay. La distribución de *A. alexandri* (tamaño máximo 50 mm) se solapa con la de *A. bellottii* y *A. nigripinnis* en la Cuenca del Río Uruguay bajo y medio (Alonso *et al.*, 2018b). La distribución de *A. alexandri* a ambos lados del Río Uruguay es consistente con la costa del paleo-mar (Cavalotto *et al.*, 2004; Alonso *et al.*, 2018b), estando la especie restringida a las zonas con mayor elevación, fuera del alcance de las inundaciones del río. Se registraron 4 individuos macho de esta especie en dos charcos en la planicie inundable del río, lo que podría estar relacionado a eventos de dispersión

relativamente recientes, más que a poblaciones ya establecidas. Los ríos grandes no representan barreras para la dispersión de las *Austrolebias*, las cuales están presentes a ambos lados (Alonso & Calviño, 2018). De forma contraria, en los *Nothobranchius* Africanos los grandes ríos forman límites definidos para la distribución de las especies (Bartáková *et al.*, 2015). Esto pone de evidencia las diferencias en la capacidad de dispersión de los diferentes grupos de peces anuales.

Estudios previos de la dinámica temporal de *Austrolebias* demostraron la existencia de una única cohorte que persiste durante toda la temporada, con una disminución constante de su abundancia (Lanés *et al.*, 2014, 2016). En este estudio se demostró cómo pueden hacer frente a períodos de sequía inesperado a mitad de la temporada, eclosionando una segunda cohorte. La presencia de varias cohortes ha sido registrada ocasionalmente en algunos peces anuales africanos (Reichard *et al.*, 2017), pero este estudio lo documenta en *Austrolebias* por primera vez. En los charcos donde los adultos sobrevivieron a la aparente desecación, no eclosionó una segunda cohorte, a pesar de un llenado secundario del charco. Esto podría deberse a la presencia de alguna señal química en el agua, aún no identificada, que prevenga que los huevos eclosionen (Inglima *et al.*, 1981). La única excepción a la no eclosión debido a la presencia de adultos en el charco, la mostró el charco 10D. Esto podría sugerir que esta señal química fuera especie-específica, ya que sólo adultos (no juveniles) de *A. bellottii* y sólo juveniles (no adultos) de *A. nigripinnis* fueron encontrados luego del rellenado del charco. El rol de las señales químicas sobre la eclosión de los huevos y su especificidad, requieren un estudio experimental para ser comprobados. También es posible que haya eclosionado una segunda cohorte y haya sido depredada totalmente por los adultos sobrevivientes de la primera cohorte antes del muestreo de los charcos. Sin embargo, la densidad de los adultos en los charcos recientemente inundados fue muy baja para poder considerarlos capaces de extirpar completamente la segunda cohorte mediante depredación. Una disminución temporal continua en la abundancia fue aparente en las especies comunes (*A. nigripinnis* y *A. bellottii*), en forma similar a lo encontrado en las *Austrolebias* de la costa Atlántica (Lanés *et al.*, 2014). Este patrón es comúnmente asociado a un aumento en la tasa de mortandad con la edad como

consecuencia de un crecimiento rápido y una intensa actividad reproductiva (Arenzon *et al.*, 2001; Volcan *et al.* 2012).

La proporción de sexos de las poblaciones mostró una disminución en la proporción de machos, resultando en una población con mayoría de hembras hacia el final de la temporada. Esto ha sido ampliamente documentado tanto en otras especies de *Austrolebias* (Passos *et al.*, 2014; Lanés *et al.*, 2014, 2016), como en otras especies de peces anuales (Reichard *et al.*, 2014; Lanés *et al.*, 2014, 2016, Vrtílek *et al.*, 2018b) y otros peces no anuales emparentados (Lanés *et al.*, 2012). La mayor mortandad de parte de los machos está probablemente asociada a la alta demanda energética que éstos asignan hacia las actividades reproductivas (Passos *et al.*, 2014) o a una depredación selectiva sobre los machos de mayor tamaño y más conspicuos (Haas 1976; Reichard *et al.*, 2018). Apoyando esto, hubo también un cambio de poblaciones dominadas por *A. bellottii* (de mayor tamaño) a poblaciones dominadas por *A. nigripinnis* (más pequeñas), con excepción del charco donde coexistieron la primera cohorte de *A. bellottii* con la segunda de *A. nigripinnis* (charco 10D). En este charco la segunda cohorte desapareció, aunque no pudieron ser determinadas las causas de esa desaparición. La tendencia de especies grandes a dominar al principio de la temporada y las pequeñas al final, fue también documentada en otros peces anuales (Lanés *et al.*, 2016). Nuestras observaciones no son suficientes para establecer si esto es resultado de una depredación selectiva por parte de las aves sobre peces más grandes (Reichard *et al.*, 2018) o un efecto de un compromiso entre la tasa de crecimiento inicial y la tasa de envejecimiento (Metcalf & Monaghan, 2003).

Un hallazgo interesante de este estudio es que cuatro de los charcos registrados como secos durante el período de sequía del invierno, albergaron adultos de *A. bellottii* luego de su rellenado. Esto podría indicar una habilidad especial, principalmente de *A. bellottii*, para sobrevivir condiciones extremas de su hábitat. Durante exploraciones a los charcos secos, detectamos la presencia de adultos de esta especie enterrados en el barro húmedo en un charco prácticamente seco (D. García, obs. pers.) y es posible que algunos individuos fueran capaces de sobrevivir en el barro durante un corto período de sequía. Una

explicación alternativa podría ser que las intensas lluvias que duraron 3 días hayan conectado los charcos secos con otros cercanos, permitiendo la colonización por dispersión de peces adultos. Esta dispersión, sin embargo, debería haberse completado al comenzar la inundación, para poder inhibir la eclosión de la segunda cohorte.


En esta sección se aporta significativamente a la comprensión de las dinámicas estacionales de los peces anuales. Más concretamente, al conocimiento de las especies de la cuenca del Río Uruguay, de las que hay mayor desconocimiento. Se demuestra una asociación directa entre el área de los charcos y la densidad de las poblaciones. Cómo una disminución marcada del área (sequía de mitad de temporada) puede tener efectos grandes en las poblaciones que luego no se recuperan (disminución abrupta de la densidad y abundancia de peces). Esto pone de manifiesto la importancia de este tipo de estudios para comprender la dinámica temporal de las poblaciones y los posibles desafíos a las que deben hacer frente. Lo expuesto en esta sección fue publicado en la revista *Environmental Biology of Fishes* (DOI: <https://doi.org/10.1007/s10641-019-00854-x>).

Environ Biol Fish  
<https://doi.org/10.1007/s10641-019-00854-x>

---

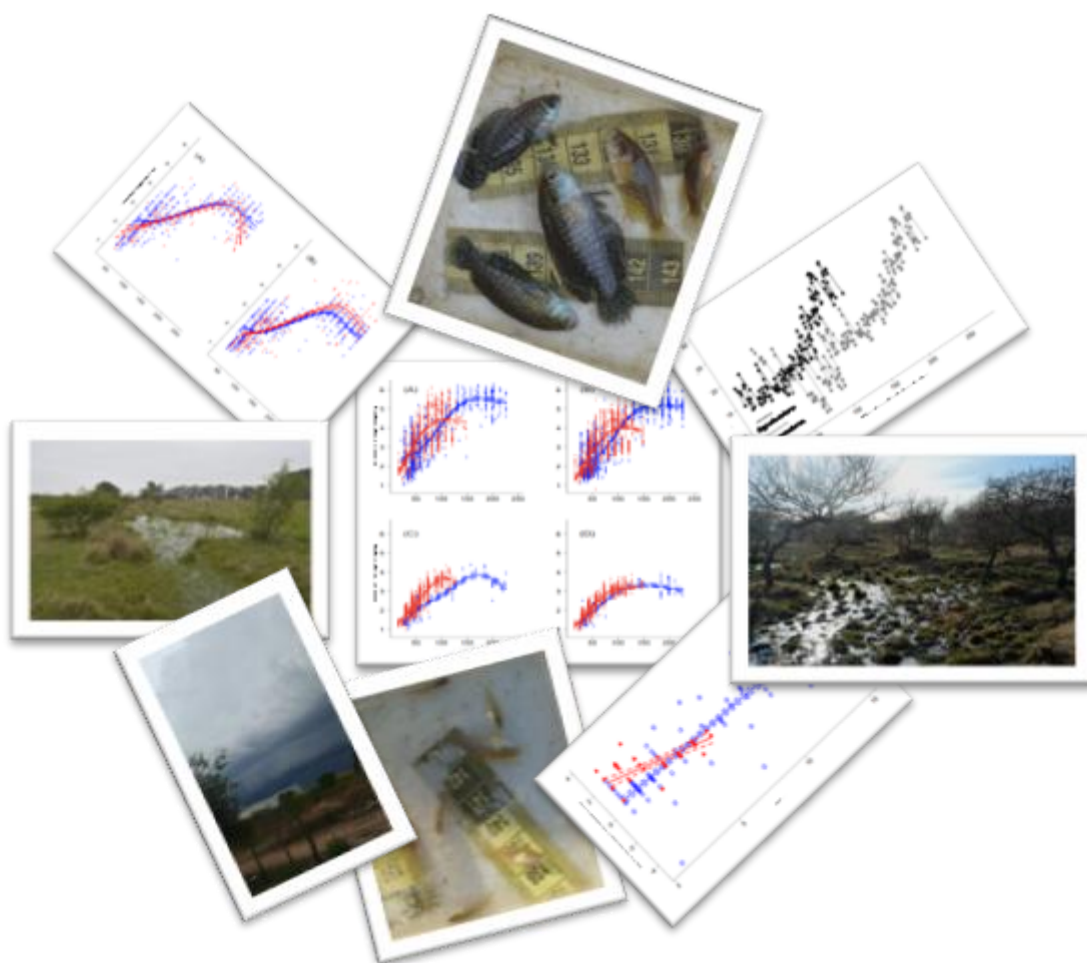
## Species co-occurrence and population dynamics in annual fish assemblages in the lower Río Uruguay basin



Daniel García · Marcelo Loureiro · Emanuel Machín ·  
Martín Reichard 

Received: 30 July 2018 / Accepted: 11 February 2019  
© Springer Nature B.V. 2019

## 5. - Efectos de un cambio en la fenología sobre caracteres de historia de vida de peces anuales



## 5.1 - Introducción

La relación entre la temperatura ambiente y la historia de vida ha intrigado largamente a los biólogos a causa de los efectos paradójicos de la temperatura sobre el crecimiento y el tamaño de madurez sexual: temperaturas más bajas llevan a los animales ectotermos a crecer más lento pero madurar a un tamaño mayor del cuerpo. Por el contrario, la mayoría de los modelos de optimizado, predicen un tamaño menor de madurez en ambientes con crecimiento retrasado (Berrigan & Charnov, 1994). A pesar de su tasa de crecimiento menor, los individuos de ambientes más fríos pueden alcanzar un tamaño corporal relativamente mayor prolongando su crecimiento (esfuerzo somático) y retrasando su reproducción (esfuerzo reproductivo) en relación a los individuos de ambientes más cálidos. Sin embargo, esta estrategia disminuye la probabilidad de que el individuo de ambientes fríos sobreviva hasta producir descendencia (Anglietta *et al.*, 2004). Por otro lado, individuos que habitan ambientes más cálidos tienen una tasa de crecimiento mayor y alcanzan la madurez sexual antes, a expensas de un tamaño menor y una menor expectativa de vida. Pero estos individuos tenderán a invertir más energía en la reproducción (mayor esfuerzo reproductivo), compensando así la menor duración de su vida (Stearns, 1992). Esta relación entre tamaño corporal y temperatura ambiente que afecta a los animales ectotermos fue llamada la regla Temperatura-Tamaño (*Temperature-Size rule*; Atkinson, 1994). Sin embargo, las explicaciones generales de esta regla son controversiales (Anglietta & Dunhan, 2003; Walters & Hassal, 2006).

La región de la Pampa sudamericana, en donde al menos 40 especies de peces anuales son endémicas (Froese & Pauly, 2018), ha experimentado un aumento moderado en la temperatura y más de 30% de descenso en las precipitaciones entre 1960 y 1990 (Walther *et al.*, 2002). Esta región pertenece a una de las áreas en que la temperatura está cambiando más rápidamente en el planeta (Loarie *et al.*, 2009). En las condiciones climáticas actuales, se demostró antes que los charcos temporales de Villa Soriano experimentaron una desecación inusual en medio de la fase inundada (invierno) en 2015, seguida de una gran precipitación que rellenó los charcos secos. Esto disparó la eclosión de una nueva

cohorte de peces anuales en algunos charcos (esta tesis; García *et al.*, 2018). Existe una alta probabilidad de que los períodos de fuertes lluvias y temperaturas extremas aumenten en los próximos 90 años (con un probable aumento de 3° C de la temperatura mundial). Esta probabilidad es de entre el 20 y el 50% para las lluvias y entre un 150 y 300% para las temperaturas extremas (Fischer & Knuty, 2015; Witze, 2018). Las alteraciones climáticas pueden producir cambios fenológicos sobre las especies y llevar a alteraciones de ciertos rasgos de historias de vida (Forrest & Miller-Rushing, 2010). Los efectos más notorios detectados de estos cambios en la fenología de las especies, son sobre el crecimiento y el momento de la madurez sexual de los individuos (Walker *et al.*, 1995; Higgins, 2000; Rötzer *et al.*, 2004; Linton & Macdonald, 2018). En esta sección se estudió cómo son afectados el crecimiento, la madurez sexual y la fecundidad de las poblaciones estudiadas, cuando se alteran los patrones climáticos estacionales.

En concreto se analizaron los efectos del desarrollo en condiciones fuera de lo habitual (segunda cohorte que eclosiona a mediados del invierno, en lugar de hacerlo en otoño), sobre la tasa de crecimiento, el tamaño final y la madurez sexual de las especies estudiadas (*A. bellottii* y *A. nigripinnis*). Esto se comparará con los efectos causados por otro desafío ecológico: la coexistencia interespecífica. El crecimiento y la madurez sexual son componentes cruciales de la historia de vida de las especies para determinar el *fitness* individual (Stearns, 1992) y la dinámica de las poblaciones (Sæther & Bakke, 2000). Esto es especialmente pronunciado en los peces anuales (Vrtílek *et al.*, 2018). Como fue comentado anteriormente, el ciclo natural de las *Austrolebias* comprende una única cohorte que experimenta un descenso en la temperatura del agua al inicio de su desarrollo, el cual es completado con aguas frías. Sin embargo, la segunda cohorte que eclosionó en Agosto, experimentó un desarrollo en aguas que fueron aumentando su temperatura, y la fase acuática del charco tuvo una menor duración.

Inicialmente se comparó el crecimiento y la madurez sexual entre poblaciones replicadas de *A. bellottii* coexistiendo con *A. nigripinnis* y poblaciones replicadas de *A. bellottii* sin la coexistencia interespecífica. Luego se comparó el crecimiento y madurez entre las dos cohortes. Por último se comparó momento y

tamaño de madurez sexual para ambas generaciones y para cada especie. Se predijo en primer término, un crecimiento más lento y una maduración sexual más tardía en poblaciones de *A. bellottii* que coexisten con *A. nigripinnis* como resultado de la competencia interespecífica entre especies con nichos ecológicos similares (Arim *et al.*, 2010). En base a la Teoría de Historias de Vida, se predijo que los peces de la segunda cohorte (con una expectativa de vida menor) asignarán menos recursos al crecimiento somático, asignándolos a un mayor esfuerzo reproductivo (Figueredo *et al.*, 2006). Así, se predijo que los individuos de la segunda cohorte alcanzarán un menor tamaño final pero madurarán sexualmente antes que la primera cohorte e invertirán en la reproducción inmediata más fuertemente que los peces de la primera cohorte. Asimismo, se espera que los peces de la primera cohorte inviertan más recursos a un período mayor de crecimiento resultando en una fecundidad mayor pero más tardía.

## 5.2 - Materiales y métodos

La fecha de eclosión en cada charco fue calculada en base a los datos obtenidos a partir de los otolitos, y luego se agregó la cantidad de días transcurridos entre las salidas. Una muestra aleatoria de 5 hembras por charco fue tomada en cada salida de muestreo, para estimar madurez sexual. Estos peces fueron fijados en formaldehído (4%) para una disección posterior en el laboratorio (previo anestesiado). Los individuos recolectados y fotografiados fueron devueltos sin daño al charco (ver Metodología general). La especie y el sexo de los individuos fueron determinados a partir de las fotografías, basados en caracteres externos (tamaño de las aletas, forma y coloración). El tamaño de los peces fue medido utilizando el software tpsDig2 (v2.1; Rohlf, 2009), desde la punta del hocico hasta el final de la aleta caudal (Longitud Total, TL). La muestra de 5 hembras llevada al laboratorio fue medida hasta TL y pesada (con precisión de 0,001g). Luego se disecaron las gónadas y se midió su masa.

Primero se puso a prueba el efecto de la presencia de *A. nigripinnis* sobre los patrones de crecimiento de *A. bellottii*. *Austrolebias bellottii* estaba presente en

todos los charcos y *A. nigripinnis* sólo en el 55% (10 de 18). Se utilizaron Modelos Mixtos Aditivos Generalizados (GAMM) específicos, con una distribución de error Gaussiana. La coexistencia (factor con dos niveles) fue incluida como factor fijo. El efecto de la edad fue modelado con un término de suavizado de curva con una dimensión de base establecida en  $k=5$  (máximo de 5 nudos), definida en base al conocimiento a priori de la forma de la curva de crecimiento de las *Austrolebias* (Volcan *et al.*, 2012) y permitiendo una desaparición selectiva de los peces más grandes al final de la temporada (Reichard *et al.*, 2018). La variable de respuesta fue el tamaño corporal, medida como Longitud Total (TL). Para tomar en cuenta la dependencia de los datos de la variación entre los charcos, la identidad del charco se incluyó como factor aleatorio. Se construyeron dos modelos con una diferencia en cómo se modeló el factor de suavizado. Primero, se asignó un factor de suavizado diferente para ambos tratamientos (coexistencia con *A. nigripinnis* o no). Luego, el mismo suavizado fue usado en ambos tratamientos. El ajuste de los modelos fue comparado utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC) (Akaike, 1973). Una disminución del AIC mayor a diez es considerada como una mejora sustancial del ajuste del modelo.

De forma similar se comparó si la coexistencia con *A. nigripinnis* afectó el momento de madurez sexual en las hembras de *A. bellottii*. Como una gran proporción de las hembras era inmadura, los datos fueron modelados usando un modelo de cero-alterado (vallado). Los modelos cero-alterados se dividen en dos partes. La primera es un proceso binario, modelando ceros y conteos positivos. La segunda es otro proceso modelando sólo los valores positivos, usando un modelo cero-truncado (Hilbe, 2014). Para el caso de la masa de las gónadas, se modelaron los datos cero-truncados usando distribución Gaussiana (Zuur *et al.*, 2014). Esta aproximación del modelo permitió identificar de forma separada las variables ambientales que predicen la madurez (parte binaria), y la masa gonadal cuando las gónadas estaban presentes (parte cero-truncada). Los factores fijos fueron la presencia de la otra especie (dos niveles), el tamaño corporal (TL, log-transformado, predictor continuo) y su interacción. En el modelo, la interacción entre la competencia y el tamaño corporal midieron la contribución de la competencia al momento de la madurez sexual relativa al tamaño corporal.

El análisis principal comparó trayectorias de crecimiento y madurez sexual de peces de la primera y segunda cohorte. Utilizamos la misma aproximación que la usada para probar el efecto de la coexistencia. Esperamos *a priori* que las dos especies y los dos sexos difirieran en tamaño corporal (Costa, 2006), por lo que fueron separados previo al análisis. Ajustamos GAMMs sexo-específicos con error de distribución Gaussiano que incluye al factor Cohorte (con dos niveles). Dado que la coexistencia de *A. bellottii* con *A. nigripinnis* no tiene efecto en el crecimiento y la madurez (ver resultados), este factor no fue incluido en el análisis. Modelamos la edad tanto con ambos suavizados diferentes para cada cohorte (modelo 1) como con un mismo suavizado para ambas generaciones (modelo 2). La dimensión base fue restringida a  $k=5$  en ambos modelos. El ajuste de los modelos fue comparado utilizando AIC. Este análisis fue realizado para ambas especies.

Para comparar formalmente las tasas de crecimiento entre las generaciones (en lugar del tamaño a una edad), se calculó la Tasa de Crecimiento Específica (TCE) usando la fórmula:

$$TCE = (\ln(TL_x) - \ln(TL_{x-1}) * 100) / N_{días}$$

Donde  $TL_x$  es el Largo Total para la fecha  $x$ ,  $TL_{x-1}$  es el Largo Total para la fecha previa y  $N_{días}$  es el número de días entre cada fecha. Esto se realizó para cada especie y charco por separado. Luego se comparó la TCE entre generaciones ajustando un Modelo Lineal (LM) con el intervalo de edades, la cohorte y su interacción como factores. La variable de respuesta fue la TCE específica de cada población. Dado que la segunda cohorte tuvo una vida con menor duración, se truncaron los intervalos de edad de la primera cohorte. Esto permitió que el análisis formal realizara una interacción completa entre los dos factores. Este análisis se completó únicamente para *A. bellottii*, porque no había un número suficiente de TCE población-específica de la primera cohorte de *A. nigripinnis*. Para su visualización, extendimos la TCE de la primera cohorte durante la duración total de su vida.

Mientras que las curvas de crecimientos son comúnmente usadas para el análisis de datos de crecimiento, éstas sufren de dependencia temporal. Para

acomodar formalmente la dependencia temporal en los datos, también se modeló el tamaño de los peces utilizando un modelo de tendencia de caminata aleatoria ('*random walk*', RW2) en un marco Bayesiano, utilizando la Aproximación de Laplace Anidada Integrada (R-INLA; Rue *et al.*, 2017). El tamaño de los peces fue ajustado a la edad siguiendo una distribución Gamma con una función de enlace logarítmica. El modelo fue ajustado como:

$$\begin{aligned}
 TL_{ijk} &\sim N(\mu_{ijk}, \tau) \\
 E(TL_{ijk}) &= \mu_{ijk} \quad \text{y} \quad \text{var}(TL_{ijk}) = \frac{\mu_{ijk}^2}{\tau} \\
 \log(\mu_{ijk}) &= \eta_{ijk} \\
 \eta_{ijk} &= \beta_1 + \beta_2 \times \text{Sexo}_{ijk} + \beta_3 \times \text{Coho}_{ijk} + \beta_4 \times \text{Area}_{ijk} + \text{Edad}_j + \text{Charco}_k \\
 \text{Edad}_j &\sim N(0, \sigma_{\text{Edad}}^2) \\
 \text{Charco}_k &\sim N(0, \sigma_{\text{Charco}}^2)
 \end{aligned}$$

Donde  $TL_{ijk}$  es el tamaño del pez  $i$  de edad ( $\text{Edad}$ )  $j$ . La variable  $\text{Sexo}_{ijk}$  es una variable categórica con dos niveles (machos y hembras) y  $\text{Coho}_{ijk}$  (cohorte) es una covariable categórica con dos niveles (primera o segunda cohorte). El modelo también contuvo un efecto lineal para el tamaño del charco ( $\text{Area}_{ijk}$ ) ya que varía ampliamente a lo largo del año. Se incluyó el intercepto aleatorio  $\text{Charco}$  en el modelo para introducir una estructura de correlación entre las observaciones para los peces recolectados del mismo charco con una varianza  $\sigma^2$ , con distribución normal e igual a 0. Se colocaron datos predeterminados uniformes en los parámetros del modelo y se ajustaron las estimaciones de los datos observados coincidiendo con el tamaño de los peces.

El momento de la madurez sexual y la inversión en reproducción fueron comparadas entre generaciones utilizando datos de masa gonadal ajustados mediante un modelo cero-truncado con distribución Gamma (ZAG), de la misma forma a lo realizado para la competencia interespecífica. Todos los modelos finales se verificaron visualmente para determinar sobredispersión, mediante el trazado de los residuales frente a valores ajustados, efectos fijos y efectos aleatorios. Los análisis fueron realizados en *R*, utilizando los paquetes "*sciplot*" (Morales, 2017), "*lattice*" (Sarkar, 2008), "*effects*" (Fox, 2003), "*lme4*" (Bates *et al.*, 2015), "*lmerTest*"

(Kuznetsova *et al.*, 2017), “*glmmTMB*” (Brooks *et al.*, 2017), “*ggplot2*” (Wickham, 2016), “*plyr*” (Wickham, 2011), “*gamm4*” (Wood & Scheipl, 2017), “*pscl*” (Zeileis *et al.*, 2008), “*INLA*” (Rue *et al.*, 2009; Rue *et al.*, 2017) y un código R proporcionado por Highland Statistics Ltd. (Zuur *et al.*, 2009). Todos los modelos finales fueron controlados para sobredispersión de residuales y especificaciones erradas del modelo siguiendo los lineamientos de Zuur & Ieno (2016).

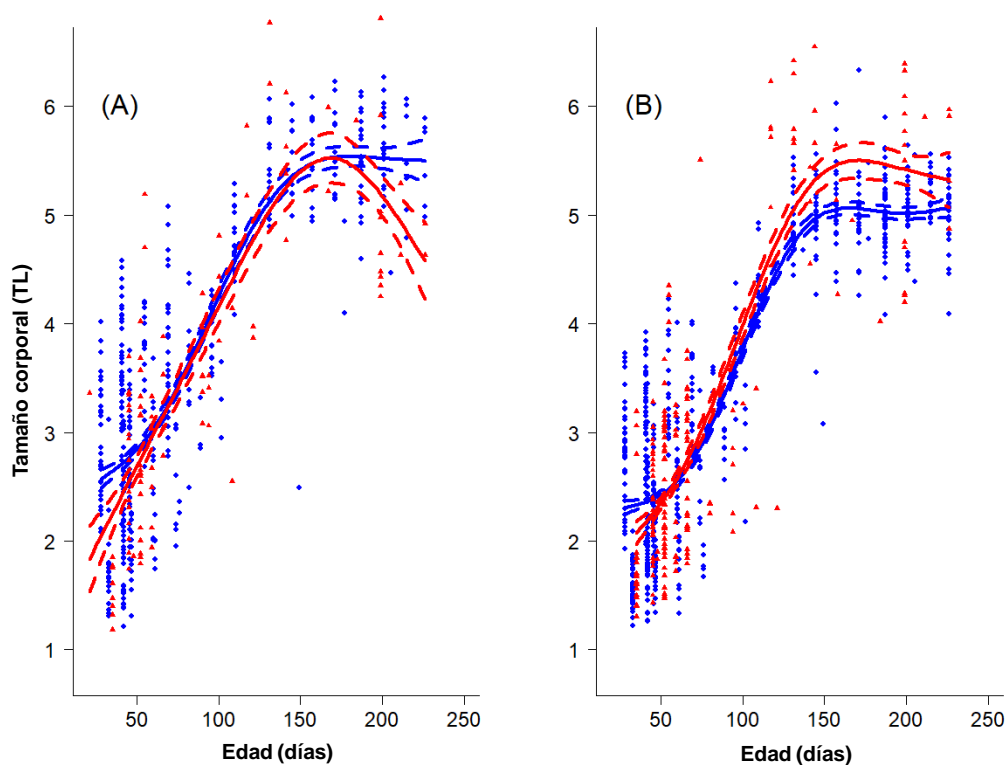
## 5.3 - Resultados

### 5.3.1 - Efectos de la coexistencia interespecífica

No se encontraron efectos de la coexistencia interespecífica sobre el crecimiento de *A. bellottii* (GAMM, machos:  $F = 0,12$ ;  $P = 0,77$ ; hembras:  $F = 1,27$ ;  $P = 0,26$ ). Se encontró sólo un mejor ajuste marginal del modelo con suavizados separados para machos ( $\Delta AIC = -10,3$ ) y un ajuste claramente inferior del modelo con suavizados separados en hembras ( $\Delta AIC = +256$ ). El mejor ajuste marginal del modelo con suavizado separado para cada cohorte de machos, capturó diferentes tipos de mortandad en la fase terminal en lugar de diferentes tasas de crecimiento entre las poblaciones de *A. bellottii* con y sin coexistencia interespecífica (fig. 5.1). No hubo efecto de la coexistencia con *A. nigripinnis* sobre el momento de la madurez sexual de las hembras de *A. bellottii* (parte binaria) o sobre su asignación de recursos hacia las gónadas (parte cero-truncada del modelo). La madurez y asignación de recursos hacia las gónadas de las hembras de *A. bellottii* depende de su tamaño corporal, pero no difiere entre los niveles del tratamiento coexistencia (Tabla 5.1).

**Tabla 5.1.** Resultados del modelado con GAMM de la masa gonadal de *A. bellottii* como función de la coexistencia con *A. nigripinnis* (Coex), el tamaño corporal log-transformado (Log-TL) y su interacción (Coex:TL). Se modeló separadamente una parte binaria (a) y una parte cero-truncada (b) (ver texto). Se muestran las estimaciones del modelo (Est.) con un error estándar (SE), los valores de  $z$  y el nivel de significancia (P).

Parámetro	(a) Parte binaria				(b) Parte cero-truncada			
	Est.	SE	$z$	P	Est.	SE	$z$	P
Intercepto	-45,55	10,82	-4,21	<0,001	-9,91	0,44	-22,71	<0,001
Coex	-51,95	33,75	-1,54	0,124	-0,80	0,69	-1,15	0,254
Log-TL	32,45	7,68	4,23	<0,001	5,44	0,29	18,78	<0,001
(Coex:TL)	36,65	23,91	1,53	0,125	0,51	0,46	1,13	0,264

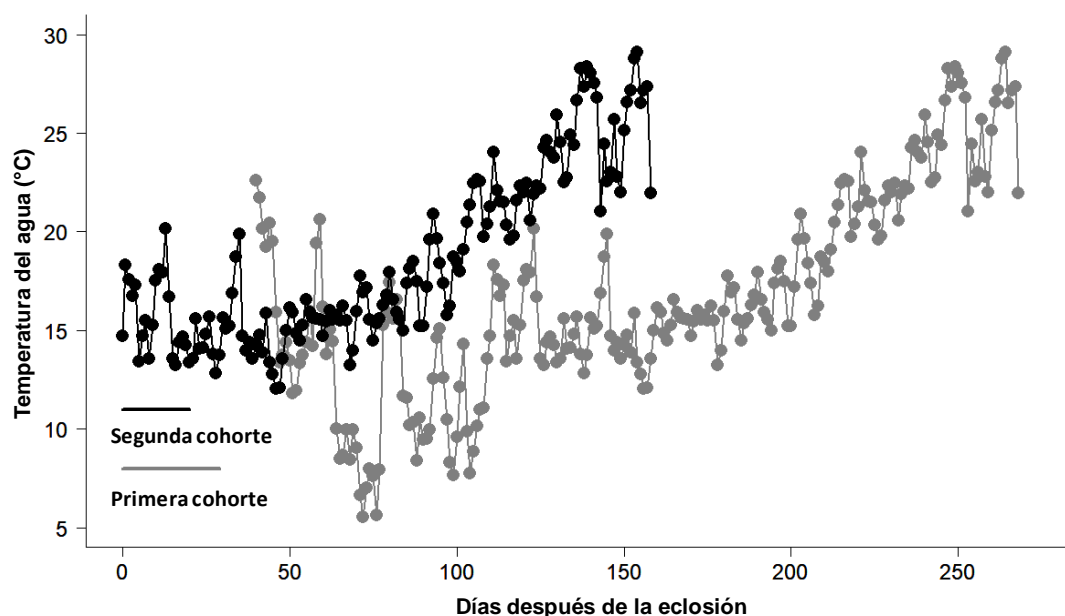


**Figura 5.1.** Trayectoria del crecimiento de los machos (A) y de las hembras (B) de *A. bellottii* en los charcos con presencia (rojo) o ausencia (azul) de *A. nigripinnis*. Se indican los tamaños corporales individuales (Largo Total (TL) en cm.), junto con las curvas ajustadas del modelo GAMM con suavizado diferente para presencia y ausencia de *A. nigripinnis*.

### 5.3.2 - Diferencias entre generaciones

#### 5.3.2.1 - Temperatura del agua

La primera cohorte experimentó un régimen típico de temperatura de los charcos temporales de la región. La temperatura del agua bajó desde más de 20°C a menos de 10°C en la fase temprana de crecimiento y se mantuvo relativamente fría hasta la edad de aproximadamente 100 días. A partir de ahí, la temperatura comenzó a aumentar lentamente hasta alcanzar nuevamente los 20°C pasados otros 100 días (fig. 5.2). La segunda cohorte eclosionó en un agua relativamente más fría que fue aumentando constantemente su temperatura y nunca fue menor a 10°C (fig. 5.2).



**Figura 5.2.** Temperatura del agua experimentada por la primera (gris) y la segunda (negro) cohorte de peces. Se presentan los valores diarios de temperatura promedio registrados con data-loggers. Las barras representan la duración del período de eclosión para cada cohorte. Nótese que los valores experimentados por la primera y segunda cohorte se solapan. Los valores experimentados por los adultos de la primera cohorte desde la edad de 110 días son los mismos que los valores experimentados por la segunda cohorte desde el día cero.

### 5.3.2.2 - Trayectorias de crecimiento

Hubo diferencias claras en las trayectorias de crecimiento de la primera y segunda cohorte en ambas especies, excepto para las hembras de *A. nigripinnis*. Los modelos con suavizados separados para cada cohorte fueron claramente superiores en *A. bellottii* (machos:  $\Delta\text{AIC} = -118$ , hembras:  $\Delta\text{AIC} = -246$ ) y en machos de *A. nigripinnis* ( $\Delta\text{AIC} = -39$ ), pero sólo marginalmente superior para las hembras de *A. nigripinnis* ( $\Delta\text{AIC} = -2,52$ ). Las curvas de crecimiento se caracterizaron por una llegada más temprana a la asíntota de crecimiento por parte de la segunda cohorte (aproximadamente 100 días) antes que la primera cohorte (aprox. 150-170 días) (fig. 5.3). Esto resultó en un tamaño promedio de la asíntota mayor en *A. bellottii* (machos:  $F=19,79$ ;  $p < 0,001$ ; fig. 5.3 A; hembras:  $F=16,16$ ;  $p < 0,001$ ; fig. 5.3 B) de la primera cohorte, pero no en *A. nigripinnis* (fig. 5.3 C, 5.3 D).

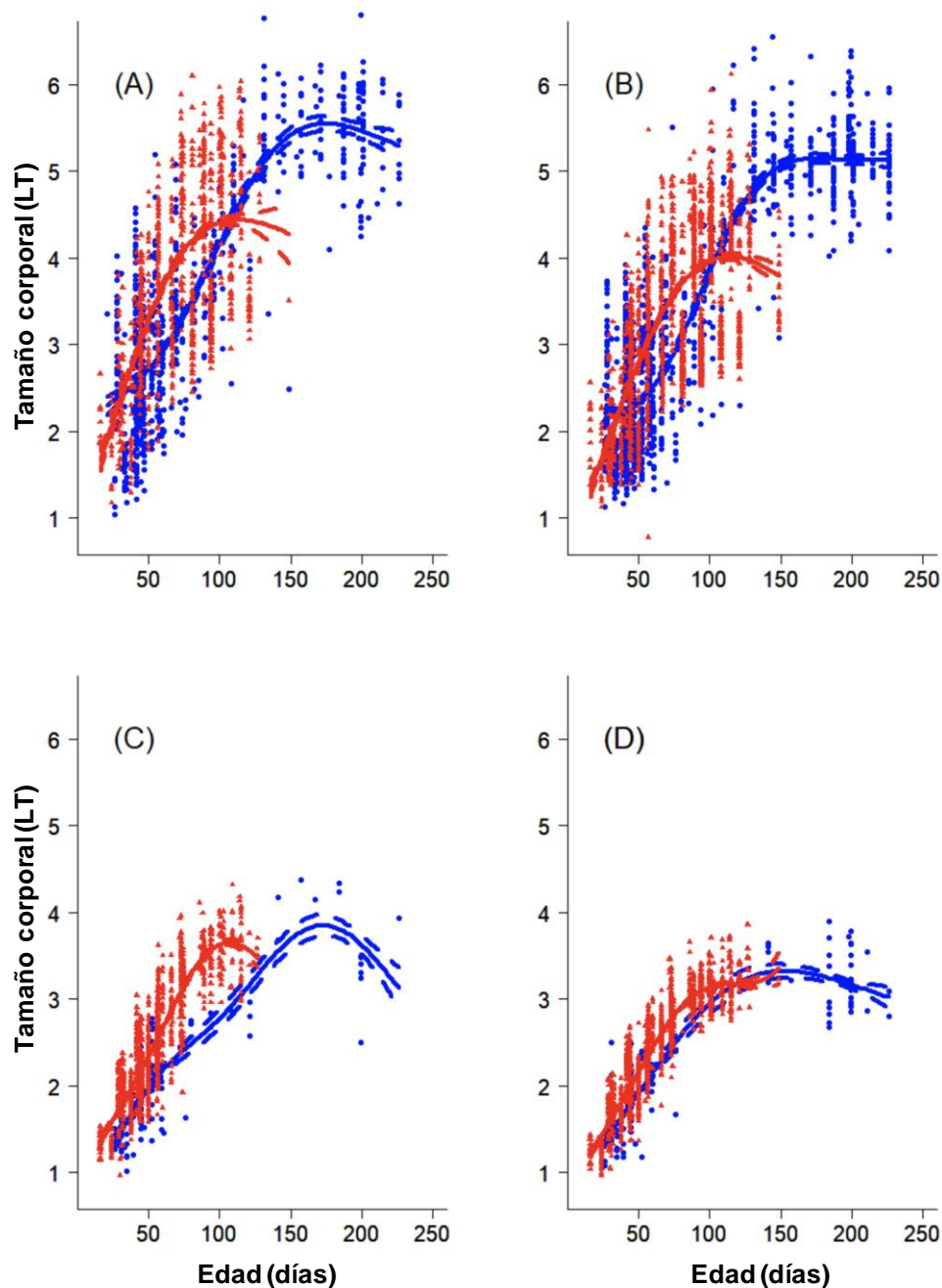
La comparación de las tasas de crecimiento específicas (TCE) confirmó un crecimiento mayor de los peces de segunda cohorte a edades coincidentes (ML:  $F_{1,71}=4,67$ ;  $P = 0,024$ ) y un declive mucho mayor de la TCE con la edad para los peces de la segunda cohorte (interacción de la edad por cohorte  $F_{1,71} = 12,42$ ,  $P = 0,001$ , age:  $F_{1,71} = 3,28$ ,  $P = 0,074$ ) (fig. 5.4). En general, la TCE fue mucho mayor en la segunda cohorte pero disminuyó rápidamente con la edad. En forma contraria, la TCE de la primera cohorte fue relativamente estable, aunque variable entre poblaciones (fig. 5.4)

### 5.3.2.3 - Tamaño corporal y madurez sexual

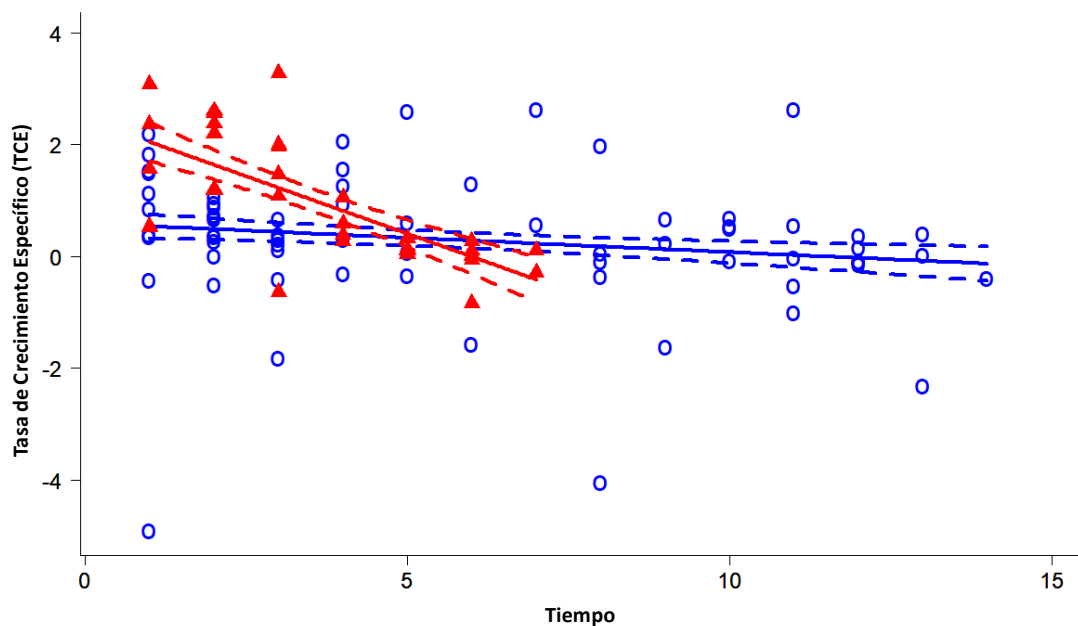
Ajustar un suavizado común a los datos de crecimiento de *A. bellottii* utilizando INLA demostró que las diferencias del tamaño corporal entre los sexos fueron mayores en la segunda cohorte (interacción sexo por cohorte en tabla 5.2) y confirmó cuantitativamente que la segunda cohorte creció más rápido (efecto de la cohorte en tabla 5.2).

La madurez de las hembras estuvo positivamente relacionada con la edad (modelo de ocurrencia binomial) con un aumento mayor en las hembras de la segunda cohorte (tabla 5.3 a). Esto implica que los peces de la segunda cohorte alcanzaron la madurez sexual a una edad menor. Además, el modelo de frecuencia

(grado de inversión gonadal) mostró que las hembras de la segunda cohorte invirtieron en masa gonadal en mayor medida. Se registró también una mayor masa gonadal en charcos con mayor área. De acuerdo a lo esperado, la masa gonadal estuvo también correlacionada positivamente con la edad de las hembras (tabla 5.3 b).



**Figura 5.3.** Trayectoria de crecimiento de la primera (azul) y segunda (rojo) cohortes de los machos (A) y las hembras (B) de *A. bellottii* y de los machos (C) y las hembras (D) de *A. nigripinnis*. Se muestra el tamaño corporal de los individuos como Largo Total (LT, en cm.), junto con las curvas del modelado GAMM ajustadas con suavizado separado para cada cohorte.



**Figura 5.4.** Tasa de Crecimiento Específica (TCE) de la primera (azul) y la segunda (rojo) cohorte de *A. bellottii* (ambos sexos agrupados). Nótese que el análisis formal comparó las TCE hasta el Tiempo = 7 para evitar alguna tendencia provocada por la diferencia en la duración de la vida entre las dos cohortes.

**Tabla 5.2.** Estimaciones posteriores de la media del largo total (LT) de *A. bellottii*, modelado utilizando un modelo de tendencia gamma *random walk* ajustado utilizando INLA. CrI es el intervalo de credibilidad Bayesiana del 95%. Los intervalos de credibilidad que no contienen cero indican una diferencia estadísticamente importante. *Sexo* es el sexo de los peces maduros, *Cohorte* es la cohorte a la que un individuo pertenece y *Area* es el área de la superficie de los charcos donde los peces fueron capturados.

Parámetro del modelo	Media posterior	CrI menor	CrI Mayor
Intercepto	1,077	0,989	1,164
Sexo <sub>(machos)</sub>	0,119	0,106	0,132
Cohorte <sub>(segunda)</sub>	0,236	0,201	0,271
Área	-0,008	-0,024	0,007

**Tabla 5.3.** Estimaciones posteriores de la media de la masa gonadal de *A. bellottii* como función de la cohorte, la edad y el área de los charcos. Modelado utilizando un modelo gamma cero-alterado (ZAG) con el charco incluido como término aleatorio. CrI es el intervalo de credibilidad Bayesiana del 95%. Los intervalos de credibilidad que no contienen cero (en negrita) indican una diferencia estadísticamente importante.

Parámetro	(a) Modelo de ocurrencia			(b) Modelo de frecuencia		
	Media	CrI	CrI	Media	CrI	CrI
	Posterior	Inferior	Superior	Posterior	Inferior	Superior
Intercepto	<b>1,47</b>	<b>0,15</b>	<b>2,80</b>	<b>3,08</b>	<b>2,70</b>	<b>3,43</b>
Cohorte <sub>(segunda)</sub>	<b>2,11</b>	<b>0,43</b>	<b>3,97</b>	<b>1,37</b>	<b>0,84</b>	<b>1,93</b>
Edad	<b>3,83</b>	<b>2,83</b>	<b>4,95</b>	<b>0,86</b>	<b>0,75</b>	<b>0,99</b>
Area	-0,51	-1,29	0,21	<b>0,27</b>	<b>0,11</b>	<b>0,44</b>

## 5.4 - Discusión

Anteriormente se demostró que las *Austrolebias* tienen la capacidad de eclosionar una nueva cohorte de peces en respuesta a una desecación inesperada de los charcos a mediados del invierno (Julio), aunque esta segunda cohorte eclosionó sólo en algunos charcos (esta tesis, García *et al.*, 2018). Las alteraciones en las dinámicas de precipitaciones y temperatura de las regiones, afectan la fenología de las especies que las habitan (Parmesan, 2006; Ficetola & Maiorano, 2016). Sin embargo, las respuestas a estos cambios y sus consecuencias, varían largamente entre las especies (Both *et al.*, 2009; Colchero *et al.*, 2019) y entre las interacciones entre ellas (Gilman *et al.*, 2010; Kordas *et al.*, 2011; Hassal *et al.*, 2019). En esta sección se puso a prueba las consecuencias de la eclosión tardía en la temporada sobre el desarrollo de los peces en un ambiente con diferente régimen de temperatura, en *A. bellottii*. Los cambios asociados con una eclosión tardía demostraron la habilidad de *A. bellottii* de hacer frente a esta alteración, ajustando

su historia de vida para maximizar el éxito reproductivo. Luego del posterior rellenado de los charcos que experimentaron la desecación fuera de temporada, varias poblaciones de *A. bellottii* (6 de 13; 46%) eclosionaron una segunda cohorte. Los juveniles de la segunda cohorte (hasta la edad de aproximadamente 50 días) se desarrollaron en aguas más frías pero mantuvieron un crecimiento más pronunciado y una madurez sexual más temprana. Esto sucedió a expensas de un menor tamaño final. Esta respuesta podría ser adaptativa, ya que la expectativa de vida (y la duración real de la vida) de la segunda cohorte fue menor. La magnitud de estos cambios fue sustancial, porque no se encontraron efectos en el crecimiento ni en la madurez sexual en las poblaciones de *A. bellottii* sujetas a otro desafío ecológico, como lo es la coexistencia interespecífica con *A. nigripinnis*. Esta especie de pez anual está relacionada con *A. bellottii* y coexiste con ésta en varios charcos. *Austrolebias nigripinnis* también experimentó un crecimiento más rápido en la segunda cohorte, aunque el efecto fue marginal en las hembras y su tamaño en la asíntota no fue menor.

Las diferencias en las tasas de crecimiento, tamaño final y madurez sexual estuvieron probablemente afectadas en mayor medida por la dinámica diferente en temperatura experimentada por los juveniles y los adultos de *A. bellottii*. La primera cohorte experimentó una dinámica de la temperatura usual para las especies de estas latitudes, con la eclosión de los juveniles sucediendo en aguas tibias de otoño (Abril), y con una disminución gradual de la temperatura. Esto resulta en adultos viviendo en el agua fría del invierno, los que morirán con las altas temperaturas de fines de primavera (Noviembre). Estas son las condiciones normales para las poblaciones de *Austrolebias* (Lanés *et al.*, 2016). Sin embargo, la segunda cohorte eclosionó en agua fría, y la temperatura aumentó en forma constante a lo largo de la temporada. Esto expuso a los adultos (5 meses de edad) a una temperatura ambiente mayor a los 25°C (fig. 5.2). Este es considerado el límite superior de temperatura para una supervivencia a largo plazo de las poblaciones de *Austrolebias* (Lanés *et al.*, 2016).

Estudios de laboratorio han demostrado que los peces anuales son sensibles a los regímenes de temperatura (Hsu & Chiu, 2009; Volcan *et al.*, 2012; da Fonseca

*et al.*, 2013). *Austrolebias adloffii*, una especie relacionada de la misma región, disminuyó su crecimiento y tuvo una menor duración de la vida cuando se cambió esa disminución en la temperatura en las etapas adultas. Luego de criar juveniles a 22°C, una disminución en la temperatura (a 16°C) se asoció con un crecimiento sostenido y una mayor duración de la vida. Por otro lado, los peces del tratamiento control que se mantuvieron a 22°C detuvieron su crecimiento (Liu & Walford, 1966). Nuestros datos del campo son consistentes con estudios de laboratorio de *Austrolebias* que reportaron una madurez sexual más temprana y crecimiento más rápido en temperatura más alta (25°C comparado con 15°C en *A. viarius* y 22°C comparado con 16°C en *A. nigrofasciatus*) (Errea & Danulat, 2001; Volcan *et al.*, 2012). Sin embargo, la correlación positiva entre temperatura del agua y desarrollo de los juveniles se revierte cuando la temperatura excede el óptimo de 21-24 °C (da Fonseca *et al.*, 2013 para *A. wolterstorffii*). Una temperatura ambiente alta en la fase de crecimiento juvenil tiene el costo de una menor duración de la vida (Errea & Danulat, 2001). El óptimo térmico de *Austrolebias* es edad-específico y una temperatura de agua alta que persiste durante mucho tiempo es algo costoso para los peces adultos (Walford & Liu, 1965; Liu & Walford, 1966).

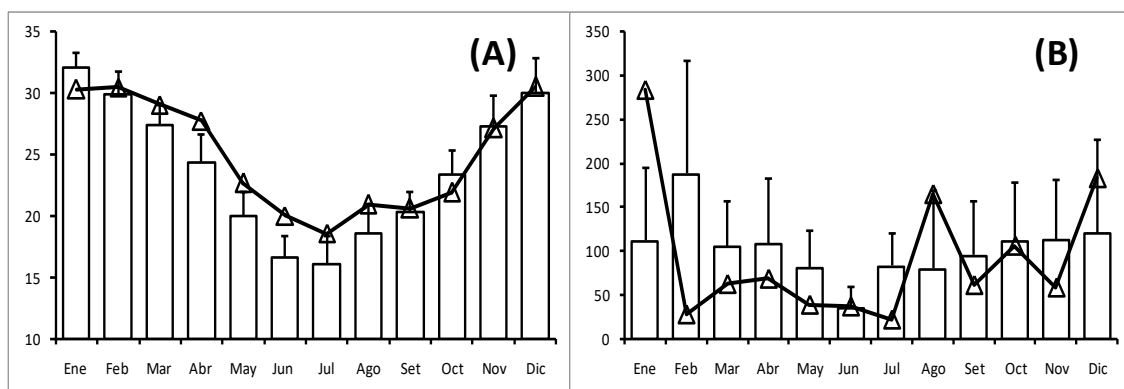
También se observó una desaparición selectiva de los individuos más grandes de las poblaciones durante las fases finales de la temporada (fig. 5.3). Esto podría estar asociado a una disminución en el área de los charcos y tener como efecto el auto-raleo de los tamaños corporales (Arim *et al.*, 2011). Sin embargo también podría indicar parcialmente una depredación selectiva (Reichard *et al.*, 2018) o un agotamiento de los individuos más grandes debido a una mayor inversión reproductiva (Passos *et al.*, 2014). Incluso podría ser resultado de un compromiso directo entre crecimiento rápido y longevidad (Stearns, 1992). Por lo tanto, mientras que la longevidad de los peces anuales está asociada con temperaturas del agua más bajas (Walford & Liu, 1965; Valenzano *et al.*, 2006; Hsu & Chiu, 2009), *A. bellottii* puede hacer frente a la alteración de la temperatura del agua durante la temporada y responder mediante un aumento de la tasa de desarrollo y una mayor asignación hacia el tejido reproductivo. Las hembras de la segunda cohorte invirtieron en reproducción en forma temprana, mediante una maduración sexual más rápida y asignación mayor a la masa gonadal, a expensas

de una etapa de crecimiento prolongada y, por lo tanto, una inversión más fuerte en la reproducción futura. Esto es concordante con las predicciones de la Teoría de Historia de Vida (Stearns, 1992) y más concretamente con la regla Temperatura-Tamaño (Atkinson, 1994) siendo la temperatura ambiente una posible señal que indique una menor expectativa de vida.

Las poblaciones de peces anuales sobreviven a la fase seca como bancos de huevos depositados en el sustrato (Polačik & Podrabsky, 2015). Los bancos de propágulos son esenciales para la existencia a largo plazo de las comunidades en los ambientes temporales (Brock *et al.*, 2003). En los peces anuales, el desarrollo del huevo es escalonado, debido a las etapas de diapausa facultativas. Luego de la fertilización, los embriones se desarrollan por unos pocos días y pueden detenerse en Diapausa I en las condiciones anóxicas del sustrato del charco en deterioro. Luego de retomado el desarrollo, el embrión puede responder a la sequía ingresando en la Diapausa II y continuar su desarrollo únicamente cuando el sustrato se haya humedecido (Reichard & Polačik, 2019). Más aún, embriones diferentes pueden responder a las señales externas de diferente forma (Furness, 2016; Polačik *et al.*, 2017), lo que resulta en un banco de huevos que consiste en embriones en varios estados de desarrollo. La eclosión de la segunda cohorte fue posible porque el banco de huevos contenía una proporción de huevos listos para eclosionar en el momento de la segunda inundación. El llamarle a esa cohorte como “segunda generación”, implicaría que esos huevos hubieran sido producidos por la generación previa. Sin embargo, es probable que hayan sido producidos por peces del año anterior (2014) que no eclosionaron durante la primera inundación. En ese caso, el término “segunda cohorte” es más apropiado.

Una pregunta inquietante es qué tan frecuentes han sido las sequías de mitad de temporada en la región de la pampa durante el pasado y qué tan frecuentes son las alteraciones del régimen de inundaciones esperadas por los cambios en los patrones de precipitaciones. Mientras que se mostró que las poblaciones de peces anuales pueden responder a estos cambios mediante una eclosión secundaria, una alta frecuencia de sequías a mitad de temporada podría agotar rápidamente las reservas del banco de huevos. Se obtuvieron datos

temporales de precipitaciones y temperatura en la región desde 2008 a 2018 (datos proporcionados por el Instituto Nacional de Meteorología, INUMET). Esta serie temporal muestra unas condiciones inusualmente secas desde Febrero a Julio de 2015, que resultó en sequía (fig. 5.5), incluso en el contexto de los años recientes, que se saben menos predecibles que décadas anteriores (Ding *et al.*, 2008).



**Figura 5.5.** Serie temporal de temperatura (en °C) (A) y precipitaciones (en mm.) (B). Las barras indican promedio mensual 2008-2018 con un desvío estándar (exceptuando año 2015). Los triángulos unidos con líneas indican los valores registrados en 2015. Datos proporcionados por INUMET para la localidad de Mercedes (aprox. 40 km. del área de estudio).

El cambio climático altera la ecología de muchas especies (Walther *et al.*, 2002; Evans & Wallenstein, 2014) y puede llevar a varias especies hacia la extinción (Thomas *et al.*, 2014). Sin embargo, se demostró en este estudio que *A. bellottii*, una especie representativa de los peces anuales, puede hacer frente a los cambios de patrones temporales de lluvias. Esto indica que la plasticidad fenotípica de *A. bellottii* permite el mantenimiento de poblaciones viables a pesar de alteraciones en la fenología (Nylín & Gottard, 1998; Colchero *et al.*, 2019). De hecho, *A. bellottii* tiene una distribución relativamente amplia y algunas poblaciones alcanzan la Cuenca del Río Paraguay en el norte de Argentina (García *et al.*, 2012) donde la temporalidad de las precipitaciones es diferente y los peces eclosionan cuando el agua es más tibia. La plasticidad fenotípica es un factor muy importante cuando se quiere hacer predicciones sobre la distribución de las especies en un contexto de cambio climático (Valladares *et al.*, 2014; Duputié *et al.*,

2015) y es especialmente importante para especies con habilidades de dispersión limitadas como lo son los peces anuales (García *et al.*, 2012).

Las especies de *Austrolebias* son los depredadores tope de los charcos (Laufer *et al.*, 2009) y su potencial desaparición puede llevar a efectos en cascada (Paine, 1966; Baum & Worm, 2009) con consecuencias desconocidas para la estructura de las comunidades. Mientras que los efectos primarios del cambio climático (alteraciones en las dinámicas de precipitaciones y temperatura) afectan la fenología de especies particulares (Parmesan, 2006; Ficetola & Maiorano, 2016), las consecuencias en cascada varían ampliamente entre las comunidades (Both *et al.*, 2009; Gilman *et al.*, 2010; Kordas *et al.*, 2011; Hassell *et al.*, 2019). Por ejemplo, una temporada de floración adelantada en algunas plantas de Norte América las expone a heladas de fin de primavera más frecuentes. Esto conduce a la muerte de sus brotes y a la reducción del reclutamiento, con consecuencias potencialmente negativas para las poblaciones de sus polinizadores, herbívoros y depredadores de semillas (Inouye, 2008). De forma contraria, un cambio en el momento del pico de abundancia de orugas es compensado exitosamente con una modulación de la puesta de huevos y otras características de historia de vida en una especie de atrapamoscas (*Ficedula hypoleuca*) para los que las orugas constituyen su principal fuente de alimento (Both & Visser, 2005). En tanques de agua dulce experimentales, la temperatura elevada hizo que las comunidades acuáticas de zooplancton y las cascadas tróficas asociadas, fueran más susceptibles a los efectos de la presencia de peces depredadores (Kratina *et al.*, 2012).

Los humedales de agua dulce, habitados por las poblaciones de *Austrolebias*, son importantes para el funcionamiento de los ecosistemas mediante la purificación de agua y retención de carbono (Baron *et al.*, 2002). En la región de nuestro estudio, estos humedales de agua dulce habitados por *Austrolebias* son utilizados principalmente para la ganadería extensiva, pero en proximidad a campos agrícolas. Mientras que la ganadería extensiva no tiene efectos negativos aparentes sobre los charcos temporales de *Austrolebias* o incluso puede hasta beneficiarlos (Volcan *et al.*, 2016), la mayor amenaza para las *Austrolebias* es la expansión de los cultivos, principalmente de arroz y de soja (Volcan *et al.*, 2016;

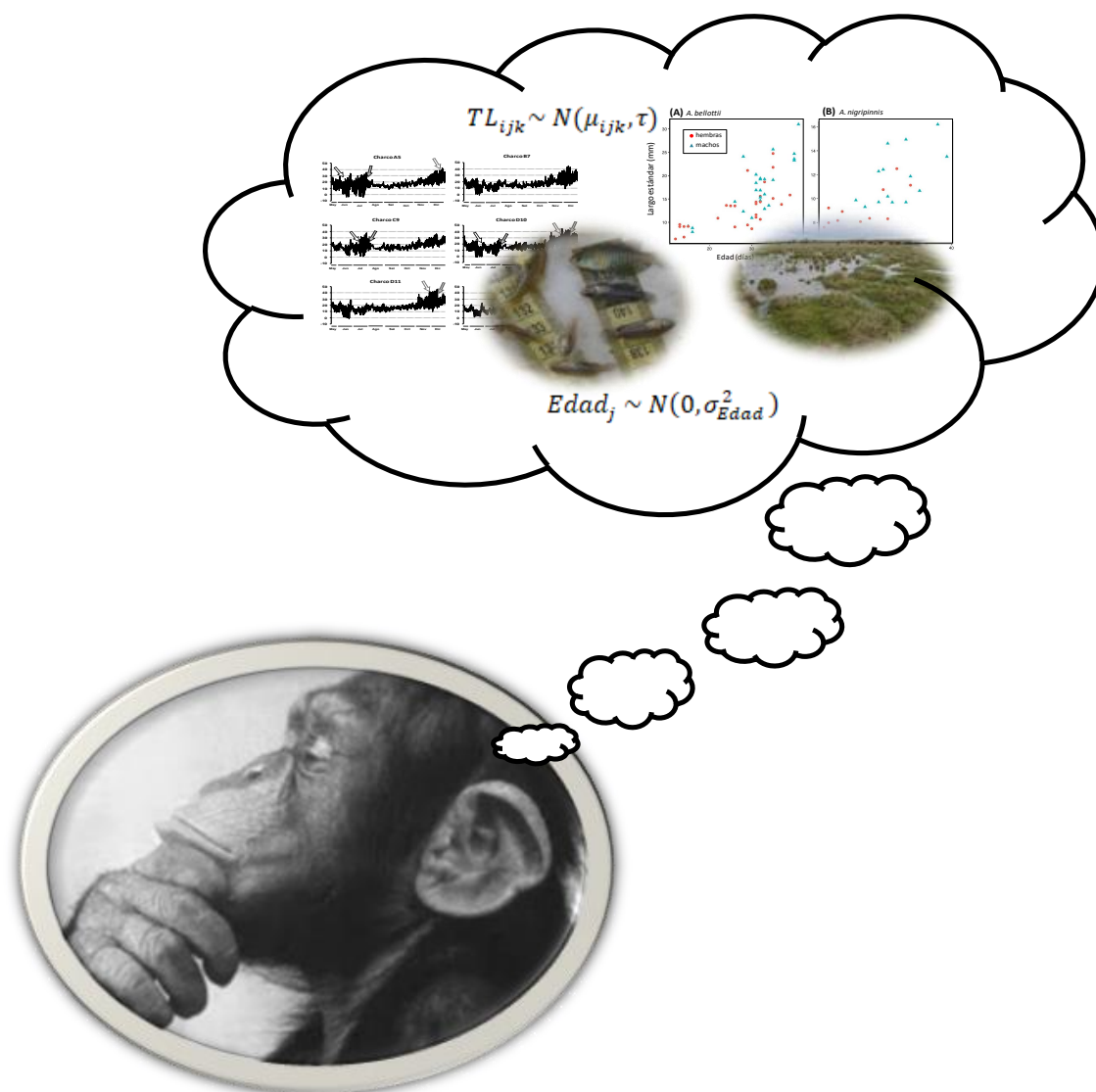
Volcan & Lanés, 2018). En Uruguay, el desarrollo agrícola está asociado primariamente con la soja, el trigo y maíz, gracias a la incorporación de nuevas tecnologías agrícolas (Arbeletche & Gutiérrez, 2010; Dellazoppa, 2014). El uso de nuevos herbicidas altera la habilidad de las *Austrolebias* para hacer frente a las altas temperaturas, disminuye su fecundidad y afecta las etapas de diapausa del banco de huevos (Zebral *et al.*, 2018). En el Sur de Brasil, se demostró que el cultivo de arroz cambia los regímenes naturales de inundaciones, con consecuencias reportadas para las comunidades de anuros e invertebrados (Cunha *et al.*, 2015; Ávila *et al.*, 2015) y posiblemente un efecto negativo de las poblaciones de peces anuales (Volcan & Lanés, 2018). De este modo, las modificaciones en el uso de la tierra parecen eclipsar cualquier consecuencia negativa del cambio climático para las *Austrolebias* (Volcan & Lanés, 2018).

En esta sección se aporta significativamente a la comprobación de algunas predicciones de la Teoría de Historia de Vida. Principalmente se demuestran los efectos del cambio en la fenología de las especies estudiadas sobre caracteres cruciales de su historia de vida (crecimiento y madurez sexual). Las poblaciones que experimentaron un régimen de temperatura en aumento, presentaron un crecimiento más acelerado y una madurez sexual más temprana. Esto a expensas de un menor tamaño final y una menor duración de la vida. Se demuestra cómo gracias a la plasticidad fenotípica, estas poblaciones pueden hacer frente a cambios en los patrones naturales de su ciclo de vida. Estos cambios son concordantes con lo predicho en el marco del cambio climático actual. Lo analizado en esta sección fue enviado a la revista *Freshwater Biology* (en revisión).

**Changing patterns of growth in a changing planet: how a shift in phenology affects critical life-history traits in annual fishes**

Journal:	<i>Freshwater Biology</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Standard Paper
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	García, Daniel; Universidad de la Republica Uruguay Smith, Carl; University of Saint Andrews Machin, Emanuel; Universidad de la Republica Uruguay Loureiro, Marcelo; Universidad de la Republica Uruguay Reichard, Martin; Ustav Biologie Obratlovcu Akademie Ved Ceske Republiky vvi,

## 6. – Conclusiones generales



Este estudio recoge información fundamental de la historia de vida y la dinámica temporal de las poblaciones de peces anuales de la región oeste de Uruguay. Contribuye a la interpretación de sus dinámicas ecológicas y de las variaciones que surgen de las oscilaciones climáticas.

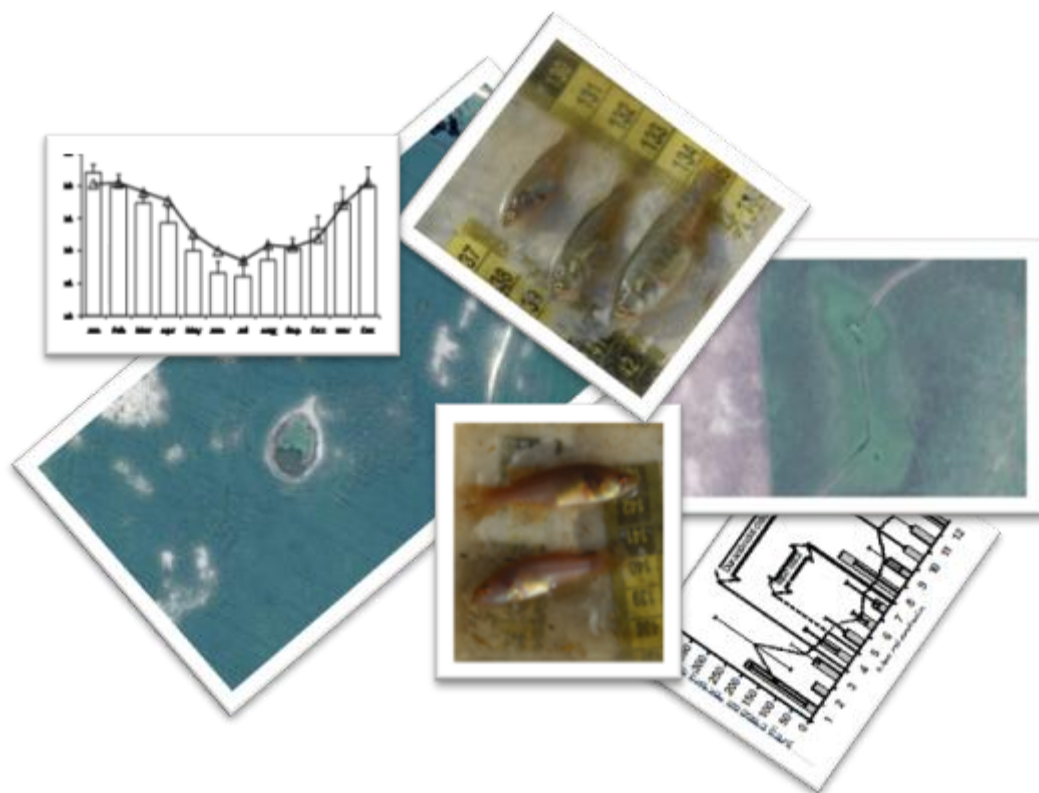
Se demostró la utilidad de la lectura de otolitos en *Austrolebias* para estimar su edad. También se demostró la presencia de dos cohortes, algo que no había sido registrado antes para este género de peces anuales. Se demostró una eclosión relativamente sincrónica entre las tres especies de *Austrolebias* que coexisten en la serie de charcos temporales topográficamente diversos de la región de pampa uruguaya. Se encontró también que la eclosión está fuertemente asociada a las precipitaciones. No se pudo confirmar la eclosión más temprana de la especie de mayor tamaño (*A. elongatus*).

Se encontró que *A. bellottii* es una especie ubicua (presente en todos los charcos), mientras que *A. nigripinnis* fue más abundante en la planicie inundable, donde los charcos se inundan periódicamente a partir del río adyacente. Algunas *A. bellottii* sobrevivieron aparentemente enterradas en el sustrato húmedo del charco. Las dos especies tuvieron poblaciones que sobrevivieron hasta 7 meses luego de la eclosión (Abril a Noviembre) o dos cohortes (Abril-Julio, Agosto- Noviembre). La especie *A. elongatus* fue rara y desapareció antes en la temporada (Junio). Se encontró que la densidad y la abundancia de peces tuvieron una disminución continua con el avance de la temporada. Esto estuvo asociado al área del charco, con un gran efecto de la sequía de invierno sobre la densidad de peces. Las poblaciones tuvieron una disminución mayor de la proporción de machos cuando las condiciones de temperatura fueron mayores, al final de la temporada. Aunque no están establecidas las causas de esta disminución.

No se encontraron efectos sobre el crecimiento de *A. bellottii* de la coexistencia con *A. nigripinnis*, y sólo efectos marginales en la madurez sexual. Se demostraron diferencias en las tasas de crecimiento, tamaño final y madurez sexual, de *A. bellottii* (y parcialmente de *A. nigripinnis*), entre la primera y la segunda cohorte de peces. Estas diferencias posiblemente hayan sido causadas en mayor medida por las diferentes dinámicas de temperatura experimentadas por

los juveniles y los adultos de ambas cohortes. Los individuos de la segunda cohorte (temperatura del agua en aumento) crecieron en forma más acelerada, maduraron sexualmente antes y alcanzaron un menor tamaño final en *A. bellottii*. Todas estas características apoyan lo predicho por la Teoría de Historia de Vida. *Austrolebias bellottii* (y parcialmente *A. nigripinnis*) tiene la capacidad de hacer frente a condiciones de precipitaciones alteradas gracias a su plasticidad fenotípica, que le permite alterar su crecimiento y madurez sexual dependiendo de las condiciones ambientales. Sin embargo su mayor amenaza sigue siendo la destrucción de su hábitat por parte de los humanos, para lo que no sabemos si han desarrollado capacidad de respuesta.

# 7. - Perspectivas



Los peces anuales resultaron un excelente modelo para poner a prueba aspectos de la Teoría de Historias de Vida. Esto incluye a las estrategias utilizadas por los individuos como forma de reaccionar ante alteraciones fenológicas. Sin embargo, para comprender qué grado de afectación están sufriendo las poblaciones y saber si estas estrategias logran mantener las poblaciones viables, a pesar de un posible agravamiento de los cambios en los regímenes de precipitaciones, se necesita una investigación a largo plazo. El poder tener una continuidad en los muestreos de varios años, y así registrar varios ciclos completos de las poblaciones, es necesario para dar soporte a toda esta investigación.

Datos que no fueron incluidos en esta tesis por falta de tiempo se espera poder procesarlos. Entre ellos están los datos de dieta de las especies estudiadas. Estos datos están en proceso de análisis y se espera obtener resultados pronto. También se realizaron experimentos de campo con el objetivo de analizar los efectos de la densidad poblacional sobre el crecimiento y la madurez sexual. Si bien los datos de crecimiento serán analizados a la brevedad y publicados en una nota, los análisis sobre el envejecimiento requerirán mucho más tiempo y, posiblemente una financiación extra. Sin realizar estos análisis está dentro de mis prioridades futuras.

La especie *A. elongatus* fue una especie rara en los muestreos. Dadas las circunstancias del ciclo de lluvias producido en 2015, es probable que las poblaciones de esta especie rara hayan sido diezmadas con la sequía a mitad de temporada. Muestreos exploratorios en 2016 mostraron la presencia de esta especie en la región Curupí, con una abundancia relativamente alta (respecto a 2015), pero desapareciendo en el mes de Julio. Es probable que esta especie tenga una historia de vida particularmente diferente del resto de las especies de la zona. Un muestreo a largo plazo focalizado en esta especie es necesario para comprender el ciclo de vida de esta *Austrolebias* de gran tamaño. Al respecto, se cree que estas especies de gran tamaño son depredadoras de otras *Austrolebias* de menor tamaño. Estudios preliminares de dieta de esta especie no lograron confirmar esta suposición. Sin embargo, los ejemplares analizados no tenían el tamaño total esperado para esta especie (150 mm). Un estudio sobre la ontogenia

de la dieta de esta especie sería muy interesante para responder si efectivamente esta especie depreda sobre sus congéneres, y para saber a partir de qué tamaño esta presión es mayor.

Los peces anuales de la región de Villa Soriano están experimentando un cambio acelerado en el uso de la tierra como consecuencia del uso de nuevas tecnologías agrícolas. Esta expansión lleva a que los agricultores empleen el método de alisado y drenado de los terrenos, para aumentar la superficie de producción. El aumento en el uso de estas prácticas ha dejado a las poblaciones de peces anuales restringidas a las áreas donde esta práctica no se realiza o al costado de las carreteras, donde se acumula el agua. Se ha comprobado que los herbicidas como el glifosato, tienen consecuencias nocivas para la viabilidad de las poblaciones de *Austrolebias*. Sin embargo, no existe información de los efectos del uso de herbicidas en poblaciones naturales. En este sentido, la zona de estudio de esta tesis provee de un marco ideal para poner a prueba efectos directos de estas nuevas prácticas agrícolas sobre las poblaciones, debido a la posibilidad de encontrar poblaciones con diferente grado de cercanía a los cultivos agrícolas.

## 8. - Bibliografía general



- Akaike H. 1973. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. En: Petrov BN, F Csaki (Eds.), *Second international symposium on information theory*. Budapest, Akademiai Kiado, pp. 267-281
- Alonso F, PA Calviño, GE Terán, I García. 2016. Geographical distribution of *Austrolebias monstrosus* (Huber, 1995), *A. elongatus* (Steindachner, 1881) and *A. vanderbergi* (Huber, 1995) (Teleostei: Cyprinodontiformes), with comments on the biogeography and ecology of Rivulidae in Pampasic and Chaco floodplains. *Check List* 12: 1945
- Alonso F, GE Terán, P Calviño, I García, Y Cardoso, G García. 2018a. An endangered newspecies of seasonal killifish of the genus *Austrolebias* (Cyprinodontiformes: Aplocheiloidei) from the Bermejo river basin in the Western Chacoan Region. *Plos One*, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196261>
- Alonso F, I García, M Waldbillig, F Bozza, T Acuña, PA Calviño, M Massaro, EE Ferreira, P Solimano. 2018b. Nuevos registros de *Austrolebias alexandri* (Castello y López 1974) (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *BIBKA*, 21: 50-54
- Alonso F, P Calviño. 2018. Killis estacionales en aguas permanentes (Cyprinodontiformes; Rivulidae). *BIBKA*, 21: 77-84
- Angilletta Jr, MJ & AE Dunham. 2003. The temperature-size rule in ectotherms: simple evolutionary explanations may not be general. *The American Naturalist*, 162(3): 332-342
- Arbeletche P, G Gutiérrez. 2010. Crecimiento de la agricultura en Uruguay: exclusión social o integración económica en redes. *Pampa*, 6: 113-138.
- Arenzon A, AC Peret, MBC Bohrer. 1999. Reproduction of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan 1912) based on a temporary water body population in Rio Grande do Sul State, Brazil. *Hydrobiologia*, 411: 65-70
- Arenzon A, AC Peret, MBC Bohrer. 2001. Growth of the annual fish *Cynopoecilus melanotaenia* (Regan, 1912) based in a temporary water body population in

- Rio Grande do Sul State, Brazil (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Revista Brasileira de Biología*, 61: 117-123
- Arezo MJ, L Pereiro, N Berois. 2005. Early development in the annual fish *Cynolebias viarius*. *Journal of Fish Biology*, 66:1357-1370
- Arim M, SB Abades, G Laufer, M Loureiro, P Marquet. 2010. Food web structure and body size trophic position and resource acquisition. *Oikos*, 119: 147-153, doi: 10.1111/j.1600-0706.2009.17768.x
- Arim M, M Berazategui, JM Bareneche, L Ziegler, M Zarucki, SR Abades. 2011. Determinants of density-body size scaling within food webs and tools for their detection. *Advances in Ecological Research*, 45: 1-39
- Atkinson, D. 1994. Temperature and organism size: a bio-logical law for ectotherms? *Advances in Ecological Research*, 25: 1-58
- Ávila AC, T Boelter, RM dos Santos, C Stenert, NL Würdig, O Rocha, L Maltchik. 2015. The effects of different rice cultivation systems and ages on resting stages of wetland invertebrates in southern Brazil. *Marine and Freshwater Research*, 66(3): 276-285
- Baron JS, NL Poff, PL Angermeier, CN Dahm, PH Gleick, NG Hairston Jr, RB Jackson, CA Johnston, BD Richter, AD Steinman. 2002. Meeting ecological and societal needs for freshwater. *Ecological Applications*, 12(5): 1247-1260
- Bartáková V, M Reichard, R Blažek, M Polačik, J Bryja. 2015. Terrestrial fishes: rivers are barriers to gene flow in annual fishes from the African savanna. *Journal of Biogeography*, 42: 1832-1844
- Batallés M, V Cantón, G Caldevilla, J Cravino. 2009. *Caracterización ecosistémica de Villa Soriano y de la cuenca baja del Río Negro*. Montevideo, MVOTMA-MGAP
- Bates D, M Maechler, B Bolker, S Walker. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1): 1-48, doi: 10.18637/jss.v067.i01

- Baum JK, B Worm. 2009. Cascading top-down effects of changing oceanic predator abundances. *Journal of Animal Ecology*, 78(4): 699-714
- Bellard C, C Bertelsmeier, P Leadley, W Thuiller, F Courchamp. 2012. Impacts of climate change on the future of biodiversity. *Ecology Letters*, 15: 365-377, doi: 10.1111/j.1461-0248.2011.01736.x
- Belote DF, WJEM Costa. 2004. Reproductive behavior patterns in three species of the South American annual fish genus *Austrolebias* Costa, 1998 (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Boletín del Museo Nacional, NS, RJ*, 514: 1-7
- Berois N, MJ Arezo, NG Papa, GA Clivio. 2012. Annual fish: developmental adaptations for an extreme environment. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Developmental Biology*, 1: 595-602, doi: 10.1002/wdev.39
- Berois N, MJ Arezo, RO de Sá. 2014. The Neotropical genus *Austrolebias*: an emerging model of annual killifishes. *Cell & Developmental Biology*, 3: 136, doi:10.4172/2168-9296.1000136
- Blažek, R, M Polačik, M Reichard. 2013. Rapid growth, early maturation and short generation time in African annual fishes. *EvoDevo*, 4: 24, doi: 10.1186/2041-9139-4-24
- Borthagaray AI, M Berazategui, M Arim. 2015. Disentangling the effects of local and regional processes on biodiversity patterns through taxon-contingent metacommunity network analysis. *Oikos*, 124: 1383-1390
- Both C, ME Visser. 2005. The effect of climate change on the correlation between avian life-history traits. *Global Change Biology*, 11(10): 1606-1613, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2005.01038.x>
- Both C, M Van Asch, RG Bijlsma, AB Van Den Burg, ME Visser. 2009. Climate change and unequal phenological changes across four trophic levels: Constraints or adaptations? *Journal of Animal Ecology*, 78(1): 73-83, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01458.x>

- Brazeiro A, I Berro, C Toranza, C Faccio. 2014. Towards the conservation of the Villa Soriano Wetlands: Lessons learned from a participative process. En: Fernández L, A Vanina, M Salgot de Marçay (Eds.), *Evaluación ambiental integral de ecosistemas degradados de Iberoamérica: experiencias positivas y buenas prácticas*. Barcelona, CYTED, pp. 257-277
- Brendock L, L De Meester. 2003. Egg banks in freshwater zooplankton: evolutionary and ecological archives in the sediment. *Hydrobiologia*, 491: 65-84
- Brock MA. 1998. Are temporary wetlands resilient? Evidence from seed banks of Australian and South African wetlands. En: McComb AJ, JA Davis (Eds.), *Wetlands for the Future*. Adelaide, Gleneagles Press, pp. 193-206
- Brock MA, DL Nielsen, RJ Shiel, JD Green, JD Langley. 2003. Drought and aquatic community resilience: the role of eggs and seeds in sediments of temporary wetlands. *Freshwater Biology*, 48: 1207-1218
- Brooks ME, K Kristensen, KJ van Benthem, A Magnusson, CW Berg, A Nielsen, HJ Skaug, M Maechler, BM Bolker. 2017. glmmTMB Balances Speed and Flexibility Among Packages for Zero-inflated Generalized Linear Mixed Modeling. *The R Journal*, 9(2): 378-400
- Brooks RT. 2009. Potential impacts of global climate change on the hydrology and ecology of ephemeral freshwater systems of the forests of the northeastern United States. *Climatic Change*, 95(3-4): 469-483
- Brothers EB, CP Mathews, R Lasker. 1975. Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. *Fishery Bulletin*, 74: 1-8
- Burton MN. 1990. Trends in the life-history styles of vertebrates: an introduction to the second ALHS volume. *Environmental Biology of Fishes*, 28: 7-16
- Campana SE, JD Nielson. 1982. Daily growth increments in otoliths of Starry Flounder (*Platichthys stellatus*) and the influence of some environmental

variables in their production. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39: 937-942

Canavero A, D Hernández, M Zarucki, M Arim. 2014. Patterns of co-occurrences in a killifish metacommunity are more related with body size than with species identity. *Austral Ecology*, 39: 455-461, doi: 10.1111/aec.12103

Carmeño P, A Uriarte, AM de Murguía, B Morales-Nin. 2003. Validation of daily increment formation in otoliths of juvenile and adult European anchovy. *Journal of Fish Biology*, 62: 679-691

Cavallotto JL, RA Violante, G Parker. 2004. Sea-level fluctuations during the last 8600 years in the de la Plata river (Argentina). *Quaternary International*, 114: 155-165

Charlesworth B. 1980. The cost of sex in relation to mating system. *Journal of Theoretical Biology*, 84(4): 655-671

Chew SF, NK Chan, AM Loong, KC Hiong, WL Tam, YK Ip. 2004. Nitrogen metabolism in the African lungfish (*Protopterus dolloi*) aestivating in a mucus cocoon on land. *Journal of Experimental Biology*, 207: 777-786

Cleland EE, I Chuine, A Menzel, HA Mooney, MD Schwartz. 2007. Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology and Evolution*, 22: 357-365, doi:10.1016/j.tree.2007.04.003

Cohen JM, MJ Lajeunesse, JR Rohr. 2018. A global synthesis of animal phenological responses to climate change. *Nature Climate Change*, 8(3): 224-228, <https://doi.org/10.1038/s41558-018-0067-3>

Colchero F, O Jones, DA Conde, D Hodgson, F Zajitschek, BR Schmidt, AF Malo, SC Alberts, PH Becker, S Bouwhuis, AM Bronikowski, KM Vleeschouwer, RJ Delahay, S Dummermuth, E Fernández-Duque, J Frisenvænge, M Hesselsøe, S Larson, J Lemaître, J McDonald, DA Miller, C O'Donnell, C Packer, BE Raboy, CJ Reading, E Wapstra, H Weimerskirch, GM While, A Baudisch, T Flatt, T

- Coulson, J Gaillard. 2019, The diversity of population responses to environmental change. *Ecology Letters*, 22: 342-353, doi:10.1111/ele.13195
- Costa WJEM. 1998. Phylogeny and classification of Rivulidae revisited: origin and evolution of annualism and miniaturization in rivulid fishes (Cyprinodontiformes: Aplocheiloidei). *Journal of Comparative Biology* 3: 33-92
- Costa WJEM. 2006. The South American annual killifish genus *Austrolebias* (Teleostei: Cyprinodontiformes: Rivulidae): phylogenetic relationships, descriptive morphology and taxonomic revision. *Zootaxa*, 1213: 1-162
- Costa WJEM. 2009. Trophic radiation in the South American annual killifish genus *Austrolebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 20: 179-191
- Cunha GG, C Stenert, A Rolon, CM Mundstock, L Maltchik. 2015. Does intensification of the rice cultivation cycle influence anuran diversity in rice fields? *Wetlands ecology and management*, 23(4): 695-705
- da Fonseca APD, MV Volcan, LA Sampaio, LA Romano, RB Robaldo. 2013. Growth of Critically Endangered annual fish *Austrolebias wolterstorffi* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) at different temperatures. *Neotropical Ichthyology*, 11(4): 837-844
- Daan S, Tinbergen JM. 1997. Adaptations and life histories. En: Krebs JR, Davies NB, (Eds.), *Behavioural ecology: an evolutionary approach*. Oxford, Blackwell Science, pp. 311-331
- Delaney RG, S Lahiri, AP Fishman. 1974. Aestivation of the African lungfish *Protopterus aethiopicus*: cardiovascular and respiratory functions. *Journal of Experimental Biology*, 61: 111-128
- Dellazoppa R. 2014. *Agro La revolución sorprendente*. Montevideo, Editorial Fin de Siglo

- Ding R, J Li, KJ Ha. 2008. Trends and interdecadal changes of weather predictability during 1950s–1990s. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 113(D24), <https://doi.org/10.1029/2008JD010404>
- Domínguez-Castanedo O, MÁ Mosqueda-Cabrera, S Valdesalici. 2013. First observations of annualism in *Millerichthys robustus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 24: 15-20
- Domínguez-Castanedo O, S Valdesalici, AM Rosales-Torres. 2017. Developmental ecology of annual killifish *Millerichthys robustus* (Cyprinodontiformes: Cynolebiidae). *Developmental Dynamics*, 246(11): 802-806
- Duputié A, A Rutschmann, O Ronce, I Chuine. 2015. Phenological plasticity will not help all species adapt to climate change. *Global change biology*, 21(8): 3062-3073
- Edwards M, AJ Richardson. 2004. Impact of climatic change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature*, 430: 881-884
- Einum S, IA Fleming. 2000. Selection against late emergence and small offspring in Atlantic salmo (*Salmo salar*). *Evolution*, 54(2): 628-639
- Evans, SE, MD Wallenstein. 2014. Climate change alters ecological strategies of soil bacteria. *Ecology letters*, 17(2): 155-164
- Fablet R, L Pecquerie, H de Puntual, H Høie, R Millner, H Mosegaard, SALM Kooijman. 2011. Shedding light on fish otolith biomineralization using a bioenergetic approach. *Plos One*, doi: 10.1371/journal.pone.0027055.16
- Ficetola GF, L Maiorano. 2016. Contrasting effects of temperature and precipitation change on amphibian phenology, abundance and performance. *Oecologia*, 181(3): 683-693
- Figueredo AJ, G Vásquez, BH Brumbach, SMR Schneider, JA Sefcek, IR Tal, D Hill, CJ Wenner, WJ Jacobs. 2006. Consilience and Life History Theory: From genes to

brain to reproductive strategy. *Developmental Review*, 26(2006): 243-275, doi:10.1016/j.dr.2006.02.002

Findlay CS, F Cooke. 1982. Synchrony in the lesser snow goose (*Anser caerlescens caerulescens*). II. The adaptive value of reproductive synchrony. *Evolution*, 36: 786-799

Fischer EM, R Knutti. 2015. Anthropogenic contribution to global occurrence of heavy-precipitation and high-temperature extremes. *Nature Climate Change*, 5(6): 560-565

Flint PL, MS Lindberg, MC Maccuskie, JS Sedinger. 1994. The adaptive significance of hatching synchrony of waterfowl eggs. *Wildfowl*, 45: 248-254

Forrest J, AJ Miller-Rushing. 2010. Toward a synthetic understanding of the role of phenology in ecology and evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1555): 3101-3112, <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0145>

Fox J. 2003. Effect Displays in R for Generalised Linear Models. *Journal of Statistical Software*, 8(15): 1-27, URL <http://www.jstatsoft.org/v08/i15/>

Froese R, D Pauly. 2018. *FishBase*, version February 2018

Furness, AI. 2016. The evolution of an annual life cycle in killifish: adaptation to ephemeral aquatic environments through embryonic diapause. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 91(3): 796-812, <https://doi.org/10.1111/brv.12194>

Furness AI, K Lee, DN Reznick. 2015a. Adaptation in a variable environment: Phenotypic plasticity and bet-hedging during egg diapause and hatching in an annual killifish. *Evolution*, 69: 1461-1475

Furness AI, DN Reznick, MS Springer, RW Meredith. 2015b. Convergent evolution of alternative developmental trajectories associated with diapause in African

and South American killifish. *Proceedings of the Royal Society of London B*, 282: 20142189

García D, M Loureiro, B Tassino. 2008. Reproductive behavior in the annual fish *Austrolebias reicherti* Loureiro & García 2004 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Neotropical Ichthyology*, 6(2): 243-248

García D, M Loureiro, E Machín, M Reichard. 2018. Phenology of three coexisting annual fish species: seasonal patterns in hatching dates. *Hydrobiologia*, 809(1), 323-337

García D, M Loureiro, E Machín, M Reichard. 2019. Species coexistence and sex ratio dynamics in annual fish assemblages in the lower Río Uruguay basin. *Environmental Biology of Fishes*, 102: 569-580

García G, Al Lalanne, G Aguirre, M Cappetta. 2001. Chromosome evolution in the annual killifish genus *Cynolebias* and mitochondrial phylogenetic analysis. *Chromosome Research*, 9: 437-448

García G, V Gutiérrez, J Vergara, P Calviño, A Duarte, M Loureiro. 2012. Patterns of population differentiation in annual killifishes from the Paraná–Uruguay–La Plata Basin: the role of vicariance and dispersal. *Journal of Biogeography*, 39: 1707-1719

García G. 2016. Chromosome Evolution, Divergent Meiotic Pathways, and Speciation in the Family Rivulidae. En: Berois N, G García, R de Sá (Eds.), *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*. Boca Ratón, CRC Press, pp. 281–293

García G, V Gutiérrez, N Ríos, R de Sá. 2016. Comparative Phylogeographic Patterns in *Austrolebias* from Different South American Basins. En: Berois N, G García, R de Sá (Eds.), *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*. Boca Ratón, CRC Press, pp. 259–279

- Gilman SE, MC Urban, J Tewksbury, GW Gilchrist, RD Holt. 2010. A framework for community interactions under climate change. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(6): 325-331, doi: 10.1016/j.tree.2010.03.002
- Gutierrez V, N Ríos, G García. 2016. Genome of the annual fishes *Austrolebias* dynamized by transposable elements. En: Berois N, G García, R de Sá (Eds.), *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*. Boca Ratón, CRC Press, pp 251-258
- Haas R. 1976. Sexual selection in *Nothobranchius guentheri* (Pisces: Cyprinodontidae). *Evolution*, 30: 614-622
- Hassall C, J Billington, TN Sherratt. 2019. Climate-induced phenological shifts in a Batesian mimicry complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116 (3): 929-933, doi: 10.1073/pnas.1813367115
- Hegg JC, BP Kennedy, PM Chittaro, RW Zabel. 2013. Spatial structuring of an evolving life-history strategy under altered environmental conditions. *Oecologia*, 172(4): 1017-1029, <https://doi.org/10.1007/s00442-012-2564-9>
- Higgins L. 2000. The interaction of season length and development time alters size at maturity. *Oecologia*, 122(1): 51-59
- Hilbe, JM. 2014. Bayesian Count Models. *Wiley StatsRef: Statistics Reference Online*, 1-13, <https://doi.org/10.1002/9781118445112.stat07963>
- Hillström L, K Olsson. 1994. Advantages of hatching synchrony in the Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca*. *Journal of Avian Biology*, 25: 205-214
- Hopper KR, PH Crowley, D Kielman. 1996. Density dependence, hatching synchrony, and within-cohort cannibalism in young dragonfly larvae. *Ecology*, 77: 191-200
- Howe, HF. 1976. Egg size, hatching asynchrony, sex, and brood reduction in the common grackle. *Ecology*, 57: 1195-1207

- Hsu CY, YC Chiu. 2009. Ambient temperature influences aging in an annual fish (*Nothobranchius rachovii*). *Aging cell*, 8(6): 726-737
- Huss M, T van Kooten, L Persson. 2010. Intra-cohort cannibalism and size bimodality: a balance between hatching synchrony and resource feedbacks. *Oikos*, 119: 2000-2011, doi: 10.1111/j.1600-0706.2010.18454.x
- Houston AI, JM McNamara. 1999. *Models of adaptive behaviour*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Inglima K, A Perlmutter, J Markofsky. 1981. Reversible stage-specific embryonic inhibition mediated by the presence of adults in the annual fish *Nothobranchius guentheri*. *The Journal of Experimental Zoology*, 215: 23-33
- Inouye DW. 2008. Effects of climate change on phenology, frost damage, and floral abundance of montane wildflowers. *Ecology*, 89(2): 353-362
- Keppeler FW, LEK Lanés, AS Rolon, C Stenert, P Lehmann, M Reichard, L Maltchik. 2015. The morphology-diet relationship and its role in the coexistence of two species of annual fishes. *Ecology of Freshwater Fish*, 24: 77-90
- Kratina P, HS Greig, PL Thompson, TS Carvalho-Pereira, JB Shurin. 2012. Warming modifies trophic cascades and eutrophication in experimental freshwater communities. *Ecology*, 93(6): 1421-1430
- Kordas RL, CD Harley, MI O'Connor. 2011. Community ecology in a warming world: the influence of temperature on interspecific interactions in marine systems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 400(1-2): 218-226, <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2011.02.029>
- Kozłowski J. 2006. Why life histories are diverse. *Polish Journal of Ecology*, 54: 585-605
- Kuznetsova A, PB Brockhoff, RHB Christensen. 2017. lmerTest Package: Tests in LinearMixed Effects Models. *Journal of Statistical Software*, 82(13): 1-26. doi: 10.18637/jss.v082.i13 (URL: <http://doi.org/10.18637/jss.v082.i13>).

- Lanés LEK, FW Keppeler, L Maltchik. 2012. Abundance, sex-ratio, length-weight relation, and condition factor of non-annual killifish *Atlantirivulus riograndensis* (Actinopterygii: Cyprinodontiformes: Rivulidae) in Lagoa do Peixe national park, a Ramsar site of southern Brazil. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 42(3): 247-252
- Lanés LEK, FW Keppeler, L Maltchik. 2014. Abundance variations and life history traits of two sympatric species of Neotropical annual fish (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in temporary ponds of southern Brazil. *Journal of Natural History*, 48: 1971-1988, doi: 10.1080/00222933.2013.862577
- Lanés LEK, RS Godoy, L Maltchik, M Polačik, R Blažek, M Vrtílek, M Reichard. 2016. Seasonal dynamics in community structure, abundance, body size and sex ratio in two species of Neotropical annual fishes. *Journal of Fish Biology*, doi:10.1111/jfb.13122.17
- Laufer G, M Arim, M Loureiro, JM Piñeiro-Guerra, S Clavijo-Baquet, C Fagúndez. 2009. Diet of four annual killifishes: an intra and interspecific comparison. *Neotropical Ichthyology*, 7: 77-86
- Levels PJ, JM Denucé. 1988. Intrinsic variability in the frequency of embryonic diapauses of the annual fish *Nothobranchius korthausae*, regulated by light: dark cycle and temperature. *Environmental Biology of Fishes*, 22: 211-223
- Linton DM, DW Macdonald. 2018. Spring weather conditions influence breeding phenology and reproductive success in sympatric bat populations. *Journal of Animal Ecology*, <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12832>
- Liu RK, RL Walford. 1966. Increased growth and life-span with lowered ambient temperature in the annual fish, *Cynolebias adloffii*. *Nature*, 212: 1277-1278
- Loarie SR, PB Duffy, H Hamilton, GP Asner, CB Field, DD Ackerly. 2009. The velocity of climate change. *Nature*, 462: 1052-1055, doi: 10.1038/nature08649

- Louriero M, J Bessonart. 2017. *Austrolebias viarius*. IUCN Red List Threatened Species 2017: e.T187245A1825294, <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T187245A1825294.en>
- Loureiro M, A Borthagaray, D Hernández, A Duarte, V Pinelli, M Arim. 2016. *Austrolebias* in space: scaling from ponds to biogeographical regions. En: Berois N, G García, R de Sá (Eds.), *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*. Boca Raton, CRC Press, pp. 111–132
- Loureiro M, RO de Sá. 1996. External Morphology of the Chorion of the Annual Fishes *Cynolebias* (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Copeia*, 4: 1016-1022
- Loureiro M, RO de Sá. 2016. Diversity of Aplocheiloidei. En: Berois N, G García, R de Sá (Eds.), *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*. Boca Raton, CRC Press, pp. 3-31
- Loureiro M, RO de Sá, WS Serra, F Alonso, LEK Lanés, MV Volcan, P Calviño, D Nielsen, A Duarte, G Garcia. 2018. Review of the family Rivulidae (Cyprinodontiformes, Aplocheiloidei) and a molecular and morphological phylogeny of the annual fish genus *Austrolebias* Costa 1998. *Neotropical Ichthyology*, 16(3), <http://dx.doi.org/10.1590/1982-0224-20180007>
- Loureiro M, A Duarte, M Zarucki. 2011. A new species of *Austrolebias* Costa (Cyprinodontiformes: Rivulidae) from northeastern Uruguay, with comments on distribution patterns. *Neotropical Ichthyology*, 9: 335-342
- Lytle, DA, NL Poff. 2004. Adaptation to natural flow regimes. *Trends in ecology & evolution*, 19(2): 94-100
- MacArthur RH, EO Wilson. 1967. *The theory of island biogeography*. New Jersey, Princeton
- Manhard CV, JE Joyce, AJ Gharrett. 2017. Evolution of phenology in a salmonid population: a potential adaptive response to climate change. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, doi: 10.1139/cjfas-2017-0028

- Mathias A, P Chesson. 2013. Coexistence and evolutionary dynamics mediated by seasonal environmental variation in annual plant communities. *Theoretical Population Biology*, 84(1): 56-71, <https://doi.org/10.1016/j.tpb.2012.11.009>
- Maynard-Smith J, R Burian, S Kauffman, P Alberch, J Campbell, B Goodwin, R Lande, D Raup, L Wolpert. 1985. Developmental constraints and evolution: a perspective from the Mountain Lake conference on development and evolution. *The Quarterly Review of Biology*, 60(3): 265-287
- Metcalf NB, P Monaghan. 2003. Growth versus lifespan: perspectives from evolutionary ecology. *Experimental Gerontology*, 38: 935-940
- Morales M, with code developed by the R Development Core Team, with general advice from the R-help listserv community and especially D Murdoch. 2017. *sciplot: Scientific Graphing Functions for Factorial Designs*. R package version 1.1-1. <https://CRAN.R-project.org/package=sciplot>
- Nico LG, JE Thomerson. 1989. Ecology, food habits and spatial interactions of Orinoco basin annual killifish. *Acta Biologica Venezuelica*, 12: 106-120
- Nylin S, K Gotthard. 1998. Plasticity in life-history traits. *Annual review of entomology*, 43(1): 63-83
- Paine RT. 1966. Food web complexity and species diversity. *The American Naturalist*, 100(910): 65-75
- Parmesan C. 2006. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37(1): 637-669, doi:10.1146/annurev.ecolsys.37.091305.110100
- Passos C, F Reyes, B Tassino, GG Rosenthal, A González. 2013. Female annual killifish *Austrolebias reicherti* (Cyprinodontiformes, Rivulidae) attend to male chemical cues. *Ethology*, 119: 891-897, doi: 10.1111/eth.12129

- Passos C, B Tassino, F Reyes, GG Rosenthal. 2014. Seasonal variation in female mate choice and operational sex ratio in wild populations of an annual fish, *Austrolebias reicherti*. *Plos One*, 9: e101649
- Pianka ER. 1970. On r-and K-selection. *The American Naturalist*, 104(940): 592-597
- Podrabsky JE, T Hrbek, SC Hand. 1997. Physical and chemical characteristics of ephemeral pond habitats in the Maracaibo basin and Llanos region of Venezuela. *Hydrobiologia*, 362: 67-78
- Podrabsky JE, SC Hand. 1999. The bioenergetics of embryonic diapause in an annual killifish, *Austrofundulus limnaeus*. *Journal of Experimental Biology*, 202(19): 2567-2580
- Podrabsky JE, JF Carpenter, SC Hand. 2001. Survival of water stress in annual fish embryos: Dehydration avoidance and egg envelope amyloid fibers. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 280: R123-R131
- Podrabsky JE, IDF Garrett, ZF Kohl. 2010a. Alternative developmental pathways associated with diapause regulated by temperature and maternal influences in embryos of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus*. *Journal of Experimental Biology*, 213(19): 3280-3288, <https://doi.org/10.1242/jeb.045906>
- Podrabsky JE, A Tingaud-Sequeira, J Cerdá. 2010b. Metabolic dormancy and responses to environmental desiccation in fish embryos. En: Lubzens E, J Cerdá, M Clark (Eds.), *Dormancy and resistance in harsh environments*. Berlin, Heidelberg, Springer, pp. 203-226
- Podrabsky JE, AL Romney, KM Culpepper. 2016. Alternative developmental pathways. En: Berois N, G García, R. de Sá (Eds.), *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*. Boca Ratón, CRC Press, pp. 63-73

- Podrabsky JE, CL Riggs, AL Romney, SC Woll, JT Wagner, KM Culpepper, TG Cleaver. 2017. Embryonic development of the annual killifish *Austrofundulus limnaeus*: An emerging model for ecological and evolutionary developmental biology research and instruction. *Developmental Dynamics*, 246: 779-801, doi: 10.1002/dvdy.24513
- Polačik M, M Reichard. 2010. Diet overlap among three sympatric African annual killifish species *Nothobranchius* spp. from Mozambique. *Journal of Fish Biology*, 77(3): 754-768, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2010.02717.x>
- Polačik M, MT Donner, M Reichard. 2011. Age structure of annual *Nothobranchius* fishes in Mozambique: is there a hatching synchrony? *Journal of Fish Biology*, 78: 796-809, doi: 10.1111/j.1095-8649.2010.02893.x18
- Polačik M, R Blažek, R Řežucha, M Vrtílek, E Terzibasi-Tozzini, M Reichard. 2014. Alternative intrapopulation life-history strategies and their trade-offs in an African annual fish. *Journal of Evolutionary Biology*, 27: 854-865, doi:10.1111/jeb.12359
- Polačik M, JE Podrabsky. 2015. Temporary environments. En: Riesch R, M Tobler, M Plath (Eds.), *Extremophile fishes*. New York, Springer, pp. 217-245
- Polačik M, C Smith, M Reichard. 2017. Maternal source of variability in the embryo development of an annual killifish. *Journal of Evolutionary Biology*, 30: 738-749, doi: 10.1111/jeb.13038
- Polačik M, M Janáč. 2017. Costly defense in a fluctuating environment-sensitivity of annual *Nothobranchius* fishes to predator kairomones. *Ecology and Evolution*, 7: 4289-4298, doi: 10.1002/ece3.3019
- Polačik M, M Reichard, M Vrtílek. 2018. Local variation in embryo development rate in annual fish. *Journal of Fish Biology*, 92: 1359-1370
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria*. <https://www.R-project.org/>

- Rafferty NE, PJ Caradonna, JL Bronstein. 2015. Phenological shifts and the fate of mutualisms. *Oikos*, 124(1): 14-21, <https://doi.org/10.1111/oik.01523>
- Rafferty NE, AR Ives. 2011. Effects of experimental shifts in flowering phenology on plant-pollinator interactions. *Ecology Letters*, 14(1): 69-74, <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01557.x>
- Reichard, M. 2016. The evolutionary ecology of African annual fishes. En: Berois N, G García, R de Sá (Eds.), *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*. CRC Press, Boca Ratón, pp. 133-158
- Reichard M, M Polačik, O Sedláček. 2009. Distribution, colour polymorphism and habitat use of the African killifish, *Nothobranchius furzeri*, the vertebrate with the shortest lifespan. *Journal of Fish Biology*, 74: 198-212, doi:10.1111/j.1095-8649.2008.02129.x
- Reichard M, R Blažek, M Polačik, M Vrtílek. 2017. Hatching date variability in wild populations of four coexisting species of African annual fishes. *Developmental Dynamics*, 246: 827-837, doi: 10.1002/dvdy.24500
- Reichard M, LEK Lanés, M Polačik, R Blažek, M Vrtílek, RS Godoy, L Maltchik. 2018. Avian predation mediates size-specific survival in a Neotropical annual fish: a field experiment. *Biological Journal of the Linnean Society*, 124: 56-66
- Reichard M, Polačik M. 2019. *Nothobranchius furzeri*, an 'instant' fish from an ephemeral habitat. *eLife*, doi: 10.7554/eLife.41548
- Roff DA. 1992. *The evolution of life histories*. New York, Chapman & Hall.
- Rötzer T, R Grote, H Pretzsch. 2004. The timing of bud burst and its effect on tree growth. *International Journal of Biometeorology*, 48(3): 109-118
- Rosa RS, FCT Lima. 2008. Peixes. En: *Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção*. Brasília, MMA

- Rue H, S Martino, N Chopin. 2009. Approximate Bayesian Inference for Latent Gaussian Models Using Integrated Nested Laplace Approximations (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society B*, 71: 319-392
- Rue H, A Riebler, SH Sørbye, JB Illian, DP Simpson, FK Lindgren. 2017. Bayesian computing with INLA: a review. *Annual Review of Statistics and Its Application*, 4: 395-421
- Sæther BE, Ø Bakke. 2000. Avian life history variation and contribution of demographic traits to the population growth rate. *Ecology*, 81(3): 642-653
- Saigusa M. 2000. Hatching of an estuarine crab, *Sesarma haematocheir*: factors affecting the timing of hatching in detached embryos, and enhancement of hatching synchrony by female. *Journal of Oceanography*, 56: 93-102
- Sarkar D. 2008. *Lattice: Multivariate Data Visualization with R*. New York, Springer. ISBN 978-0-387-75968-5
- Schneider DW, TM Frost. 1996. Habitat duration and community structure in temporary ponds. *Journal of the North American Benthological Society*, 15: 64-86
- Serra WS, M Loureiro. 2018. *Austrolebias queguay* (Cyprinodontiformes, Rivulidae), a new species of annual killifish endemic to the lower Uruguay river basin. *Zoosystematics and Evolution*, 94: 547-556
- Shalk CM, CG Montaña, ME Libson. 2014. Reproductive strategies of two Neotropical killifish, *Austrolebias vanderbergi* and *Neofundulus ornatipinnis* (Cyprinodontiformes: Rivulidae) in the Bolivian Gran Chaco. *International Journal of Tropical Biology*, 62: 109-117
- Sogard SM. 1991. Interpretation of otolith microstructure in juvenile winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*): Ontogenetic development, daily increment validation, and somatic growth relationships. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 48: 1862-1871

- Stearns SC. 1992. *The evolution of life histories*. New York, Oxford University Press
- Stearns SC. 1989. The evolutionary significance of phenotypic plasticity: phenotypic sources of variation among organisms can be described by developmental switches and reaction norms. *Bioscience*, 39:436-445
- Thomas CD, A Cameron, RE Green, M Bakkenes, LJ Beaumont, YC Collingham, BFN Erasmus, M Ferreira de Siqueira, A Grainger, L Hannah, L Hughes, B Huntley, AS van Jaarsveld, GF Midgley, L Miles, MA Ortega-Huerta, A Townsend-Peterson, OL Phillips, SE Williams. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature*, 427(6970): 145
- Thompson AW, AI Furness, C Stone, CM Rade, G Ortí. 2017. Microanatomical diversification of the zonapellucida in aplochelioid killifishes. *Journal of Fish Biology*, 91: 126-143, doi:10.1111/jfb.13332
- Trenberth KE. 2011. Changes in precipitation with climate change. *Climate Research*, 47: 123-138
- Vander Werf E. 1992. Lack's clutch size hypothesis: an examination of the evidence using meta-analysis. *Ecology*, 73(5): 1699-1705
- Valenzano DR, E Terzibasi, A Cattaneo, L Domenici, A Cellerino. 2006. Temperature affects longevity and age-related locomotor and cognitive decay in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri*. *Aging cell*, 5(3): 275-278
- Valladares F, S Matesanz, F Guilhaumon, MB Araújo, L Balaguer, M Benito-Garzón, W Cornwell, E Gianoli, M van Kleunen, DE Naya, AB Nicotra, H Poorter, MA Zavala. 2014. The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on forecasts of species range shifts under climate change. *Ecology letters*, 17(11): 1351-1364
- Varpe Ø. 2017. Life History Adaptations to Seasonality. *Integrative and Comparative Biology*, 57(5): 943-960, doi: 10.1093/icb/icx123

- Vaz-Ferreira R, B Sierra de Soriano, J Soriano-Señorales. 1966. Integración de la fauna de vertebrados en algunas masas de agua dulce temporales de Uruguay. *Compilación de Trabajos del Departamento de Zoología Vertebrados, Facultad de Humanidades y Ciencias*, 25: 1-23
- Visser ME, C Both. 2005. Shifts in phenology due to global climate change: the need for a yardstick. *Proceedings of the Royal Society B*, 272: 2561-2569, doi: 10.1098/rspb.2005.3356
- Volcan MV, LEK Lanés, AC Gonçalves. 2009. Threatened fishes of the world: *Austrolebias nigrofasciatus* Costa and Cheffe 2001 (Cyprinodontiformes: Rivulidae). *Environmental Biology of Fishes*, 86: 443-444, doi: 10.1007/s10641-009-9544-x
- Volcan MV, LEK Lanés, AC Gonçalves. 2010. Threatened fishes of the world: *Austrolebias univentripinnis* Costa and Cheffe 2005 (Cyprinodontiformes, Rivulidae). *Environmental Biology of Fishes*, 87: 319-320, doi: 10.1007/s10641-010-9605-1
- Volcan MV, APD Fonseca, MRC Figueiredo, LA Sampaio, RB Robaldo. 2012. Effect of temperature on growth of the threatened annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* Costa & Cheffe 2001. *Biota Neotropica*, 12(4): 68-73
- Volcan MV, LA Sampaio, DC Bongalhardo, RB Robaldo. 2012. Reproduction of the annual fish *Austrolebias nigrofasciatus* (Rivulidae) maintained at different temperatures. *Journal of Applied Ichthyology*, 2012: 1-5 doi: 10.1111/jai.12013
- Volcan MV, ÂC Gonçalves, LEK Lanés, DL Guadagnin. 2016. Annual fishes (Rivulidae) from Southern Brazil: A broad-scale assessment of their diversity and conservation. En: *Annual Fishes: Life History Strategy, Diversity, and Evolution*. Berois N, G Garcia, R de Sa (Eds.), Boca Raton, CRC Press, pp. 185-206

- Volcan MV, A Gonçalves, L Lanés. 2017. First record of blackfin pearlfish *Austrolebias nigripinnis* (Regan, 1912) (Cyprinodontiformes, Cynolebiidae) from Brazil. *Zootaxa*, 4254: 387-390, doi: <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.4254.3.9>
- Volcan MV, LEK Lanés. 2018. Brazilian killifishes risk extinction. *Science*, <https://doi.org/10.1126/science.aau5930>
- Vrtílek M, M Reichard. 2016. Patterns of morphological variation among populations of the widespread annual killifish *Nothobranchius orthonotus* are independent of genetic divergence and biogeography. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 54: 289-298
- Vrtílek M, J Žák, M Pšenička, M Reichard. 2018a. Extremely rapid maturation of a wild African annual fish. *Current Biology*, doi: 10.1016/j.cub.2018.06.031
- Vrtílek M, J Žák, M Polačik, R Blažek, M Reichard. 2018b. Longitudinal demographic study of wild populations of African annual killifish. *Scientific Reports*, 8: 4774
- Walker MD, RC Ingersoll, PJ Webber. 1995. Effects of interannual climate variation on phenology and growth of two alpine forbs. *Ecology*, 76(4): 1067-1083
- Walters, RJ & M Hassall. 2006. The temperature-size rule in ectotherms: may a general explanation exist after all? *The American Naturalist*, 167(4): 510-523
- Walther GR, E Post, P Convey, A Menzel, C Parmesan, TJC Beebee, JM Fromentin, O Hoegh-Guldbergs, F Bairlein. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature*, 416: 389-395
- Walford RL, RK Liu. 1965. Husbandry, life span, and growth rate of the annual fish, *Cynolebias adloffii* E. Ahl. *Experimental Gerontology*, 1: 161-171
- Watters BR. 2009. The ecology and distribution of *Nothobranchius* fishes. *Journal of the American Killifish Association*, 42: 37-76

- Wickham H. 2011. The Split-Apply-Combine Strategy for Data Analysis. *Journal of Statistical Software*, 40(1): 1-29, URL <http://www.jstatsoft.org/v40/i01/>
- Wickham H. 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. New York, Springer-Verlag
- Williams DD. 1997. Temporary ponds and their invertebrate communities. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 7: 105-117
- Williams DD. 2006. *The biology of temporary waters*. Oxford University Press, Oxford
- Winter TC. 1999. Relation of streams, lakes, and wetlands to groundwater flow systems. *Hydrogeology Journal*, 7: 28-45
- Witze A. 2018. Why extreme rains are getting worse. *Nature*, 563: 458-460, doi: 10.1038/d41586-018-07447-1
- Wood S, F Scheipl. 2017. gamm4: Generalized Additive Mixed Models using 'mgcv' and 'lme4'. *R package version 0.2-5*, <https://CRAN.R-project.org/package=gamm4>
- Wourms JP. 1972a. The developmental biology of annual fishes I. Stages in the normal development of *Austrofundulus myersi* Dahl. *Journal of Experimental Zoology*, 182: 143-168
- Wourms JP. 1972b. The developmental biology of annual fishes. II. Naturally occurring dispersion and reaggregation of blastomers during the development of annual fish eggs. *Journal of Experimental Zoology*, 182: 169-200
- Wourms JP. 1972c. The developmental biology of annual fishes. III. Pre-embryonic and embryonic diapause of variable duration in the eggs of annual fishes. *Journal of Experimental Zoology*, 182: 389-414
- Wourms JP, H Sheldon. 1976. Annual Fish Oogenesis: II. Formation of the secondary egg envelope. *Developmental Biology*, 50: 355-366

- Zebral YD, LR Lansini, PG Costa, M Roza, A Bianchini, RB Robaldo. 2018. A glyphosate-based herbicide reduces fertility, embryonic upper thermal tolerance and alters embryonic diapause of the threatened annual fish *Austrolebias nigrofasciatus*. *Chemosphere*, 196, 260-269
- Zeileis A, C Kleiber, S Jackman. 2008. Regression Models for Count Data in R. *Journal of Statistical Software*, 27(8). <http://www.jstatsoft.org/v27/i08/>
- Zuur AF, EN Ieno, N Walker, AA Saveliev, GM Smith. 2009. *Mixed effects models and extensions in ecology with R*. Highland Statistics Ltd, Springer.
- Zuur AF, AA Saveliev, EN Ieno. 2014. *A beginner's guide to generalised additive mixed models with R*. Newburgh , Highland Statistics Ltd