



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

## Ecología poblacional e interacciones entre tres mustélidos semiacuáticos en España

Karla Garcia Bustos



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència [Reconeixement- SenseObraDerivada 4.0.](#)  
[Espanya de Creative Commons.](#)

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia [Reconocimiento - SinObraDerivada 4.0.](#)  
[España de Creative Commons.](#)

This doctoral thesis is licensed under the [Creative Commons Attribution-NoDerivatives 4.0.](#)  
[Spain License.](#)

# ECOLOGÍA POBLACIONAL E INTERACCIONES ENTRE TRES MUSTÉLIDOS SEMIACUÁTICOS EN ESPAÑA

---



Tesis Doctoral

Karla García Bustos

---



## ECOLOGÍA POBLACIONAL E INTERACCIONES ENTRE TRES ESPECIES DE MUSTÉLIDOS SEMIACUÁTICOS EN ESPAÑA

**Memoria presentada por Karla García Bustos para optar al grado  
de doctora por la Universidad de Barcelona**

**Karla García Bustos**  
**Doctoranda**

**Dr. Joaquim Gosálbez Noguera**  
**Tutor**

Departamento de Biología Evolutiva,  
Ecología y Ciencias Ambientales  
Universitat de Barcelona

**Dra. Yolanda Melero Clavero**  
**Directora**  
Centre de Recerca Ecológica i  
Aplicacions Forestals (CREAF)  
Universitat Autònoma de Barcelona

**Dr. Santiago Palazón Miñano**  
**Director**  
Servicio de Fauna y Flora.  
Generalitat de Catalunya

**Barcelona, septiembre 2018**

García, K. (2018). Ecología poblacional e interacciones entre tres especies de mustélidos semiacuáticos de España. Tesis Doctoral, Universidad de Barcelona, 232 p.

*Diseño y maquetación: Karla García  
Fotografías Portadas de Capítulos: Karla García  
Dibujo visones europeos: Toni Lloret*

*A mi amado hijo Agustín...  
y a mis padres Carlos y Nidia...*



## AGRADECIMIENTOS

Casi no puedo creer que al fin puedo escribir esto! parecía siempre lejano, pero no hay plazo que no se cumpla! Se me vienen a la mente muchísimos recuerdos y grandes personas que me han acompañado y apoyado a lo largo de esta etapa. Indudablemente, durante estos años hubo un antes y un después del nacimiento de mi hijo Agustín. El camino en general se hizo bastante más complicado y la cuesta claramente fue más arriba, pero la vida pasa demasiado rápido y aún con todo lo que implicaba, no me arrepiento de la decisión de haber sido madre aún en medio del doctorado, por lejos la mayor felicidad y mi hijo mi mayor orgullo.

En primer lugar, quisiera agradecer a mis directores iniciales de tesis Joaquim Gosálbez y Santiago Palazón. Muchas gracias por la oportunidad de formar parte de su grupo de investigación y por todo el apoyo brindado a lo largo de estos años. Joaquim, gracias por tu honestidad, por ponerme los pies en la tierra y también por conseguir el financiamiento y las redes para poder desarrollar cada uno de los capítulos de esta tesis. Santi, gracias por tu excelente disposición, confianza, comprensión y por todo el apoyo que me diste siempre, sobre todo en las salidas al campo, tanto en las propias de mi tesis, como también en las invitaciones a los censos de osos en los pirineos, aunque nunca viera uno jajaja, todas fueron muy buenas experiencias y guardo los mejores recuerdos. Para continuar quiero agradecer a Yolanda Melero, quien luego de casi cuatro años iniciado el doctorado pasó a ser mi nueva directora de tesis junto a Santi. Muchas gracias por toda tu ayuda, tu excelente disposición y comprensión, por tus críticas siempre constructivas sobre todo a la hora de escribir los artículos, y por darme el empuje necesario cuando el ánimo decaía. Tu ayuda ha sido sin duda imprescindible para el desarrollo y término de la tesis, fuiste realmente un enorme apoyo durante estos últimos años. Estaré eternamente agradecida de los tres por haberme guiado en este camino de la tesis, respaldandome en el seguimiento de mi trabajo con una gran disposición y por confiar que acabaría la tesis aún estando en Chile el último tiempo.

---

A Carola Sanpera y a Lluís Jover por mostrarme el mundo de los isótopos estables y ayudarme a desarrollar un capítulo de la tesis. En especial agradezco a Lluís, por todo la ayuda brindada con los análisis estadísticos, por la buena disposición y la paciencia para entregar y compartir su conocimiento.

También quisiera agradecer a todos los técnicos de las administraciones y a los investigadores que nos han facilitado muestras para el desarrollo de esta tesis. En particular, agradezco a Asun y a Madis por su siempre buena disposición a colaborar.

A mis compañeros de despacho, comenzando por mis compañeros de mi primer despacho Giulia, Fabi y Marcel, gracias chicos por su compañerismo, ánimos y siempre buena disposición a ayudar en lo que pudiesen, sin duda con ustedes fue mucho más grato pasar horas en esa cueva sin luz natural que me agobiaba un poco la verdad. Luego de cambiarme a un nuevo despacho, agradecer a mi nuevo compañero Francesc, gracias por todo, las conversaciones, la amistad y por ayudarme este último tiempo con algún papeleo para el depósito de la tesis. A Caro, mi última compañera de lo que fue mi tercer cambio de despacho en el Departamento (pues si! pasé por tres despachos diferentes! jaja), gracias por tu compañerismo, simpatía y buena disposición.

Por supuesto agradecer también a mis compañeros del doctorado por todos estos años compartidos, por las conversaciones a la hora de la comida, los break del café, las cervezas y las fiestas, que aunque me hubieran gustado fueran muchas más, desde que nació mi hijo el ítem fiestas decayó considerablemente. Gracias a todos por su compañerismo, simpatía, los ánimos mutuos y la buena disposición a ayudar al otro. En especial agradezco a Laura, Morgana y Lisette estoy muy feliz de haberlas conocido y haber compartido tantos buenos momentos con ustedes. Lauris, mi hermanita, gracias realmente por toda tu amistad, honestidad y tu siempre buena disposición a ayudarme en todo lo que pudieses, eres una muy linda persona y sé que nuestra amistad perdurará a pesar de la distancia. Morghi, fue genial compartir todos estos años en Barcelona, y luego en tu viaje a Chile, gracias por toda tu simpatía, amistad y por tu siempre buena disposición a ayudarme, sobre todo este

---

último tiempo con los papeleos para depositar la tesis. Lii gracias por ayudarme en un inicio con los protocolos para isótopos y por todos los buenos momentos compartidos tanto en Barcelona como luego en Chile. Mención especial a Nicole, amiga de la vida y una vez más compañeras, ahora en el otro lado del charco! fue genial coincidir en esta etapa amiga, gracias por todo el apoyo siempre tanto en lo profesional como en el plano personal.

A Marianne Haage de la Universidad de Estocolmo por la invitación a participar en su proyecto de investigación en la isla de Hiiumaa en Estonia donde pasé cerca de tres meses, muchas gracias por la oportunidad de ampliar mis conocimientos. Gracias Marianne, Åsa, Andy y Mireia, por todo el compañerismo y ánimos mutuos, a pesar de lo duro que era en ocasiones el trabajo de campo intenso con turnos de día y de noche, fue una gran experiencia de aprendizaje y crecimiento profesional.

Agradezco a José Castresana por recibirme en su grupo de investigación en el Instituto de Biología Evolutiva donde desarrollé un capítulo de esta tesis. Llegué con una propuesta inicial que luego contribuiste enormemente a mejorarla y ayudarme a llevarla a cabo de la mejor forma posible. Muchas gracias por la oportunidad de mejorar considerablemente mis conocimientos, por tu siempre buena disposición y por la confianza. Agradezco enormemente a mis compañeros del Lab59 a Marina, Lídia, Joan, Alfonso y Oliver. En especial agradezco a Marina y a Lidia por ayudarme desde el primer día que llegué y por enseñarme desinteresadamente y con paciencia todo lo que debía saber con los protocolos del laboratorio. Con ustedes pasé todo mi embarazo, y les agradezco sinceramente toda la preocupación que siempre sentí y toda la ayuda que siempre estuvieron dispuestos a entregarme tanto en lo profesional como en lo personal. Muchísimas gracias chicos por todo, sin ustedes el trabajo allí no habría sido el mismo. Guardo los mejores recuerdos junto a ustedes.

Mención especial a mis amigas de la vida Elisa, Nicole y Johara, muchas gracias por todo el apoyo, la amistad, la confianza y los ánimos que siempre recibí a lo largo de esta etapa. Gracias a los amigos que surgieron también durante estos años

---

en Barcelona y por su apoyo constante: Dena, Pao, María y Yuly, y a mi querido grupo de danza Manavai, que se convirtió en la familia chilena en Barcelona, en especial agradezco a Titi por todo el cariño, amistad y preocupación, fuiste un pilar muy importante para mi durante mi embarazo.

Por supuesto agradecer de manera muy especial a mi familia, mis padres, mi hermano, mi marido y mi hijo Agustín, gracias a todos por confiar siempre en mi, quizás más que yo misma, gracias por el apoyo incondicional y por ayudarme siempre a cumplir mis metas y sueños. Gracias hijo por tus tiernas palabras de aliento y ánimos durante esta última etapa ("tu pede mama" jejeje), intenté al máximo que mi estrés no te afectara, te tocó nacer en medio del doctorado con todo lo que ello conlleva, y te ha tocado vivir grandes cambios en tu corta vida, pero espero que todos los esfuerzos hayan merecido la pena. Gracias a mis padres y a mis suegros, por ayudarme a cuidar a Agustín para poder trabajar y acabar la tesis tranquila el último año en Chile. Gracias al compañero de mi vida, por todo tu apoyo, comprensión y paciencia, y por aceptar la aventura de habernos ido al otro lado del mundo a cumplir nuestras metas y sueños profesionales y personales.

Gracias infinitas a todos los que me ayudaron en este caminar por el doctorado!

# TABLA DE CONTENIDOS

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 EL VISÓN AMERICANO: RASGOS BIOLÓGICOS Y ECOLÓGICOS.....	7
1.2 EL VISÓN EUROPEO: RASGOS BIOLÓGICOS Y ECOLÓGICOS .....	12
1.3 LA NUTRIA EUROASIÁTICA: RASGOS BIOLÓGICOS Y ECOLÓGICOS .....	16
1.4 ESTATUS DEL VISÓN AMERICANO Y SU INTERACCIÓN CON OTRAS ESPECIES.	21
1.4.1 COMPETENCIA ENTRE EL VISÓN AMERICANO Y EL VISÓN EUROPEO.....	23
1.4.2 COMPETENCIA ENTRE EL VISÓN AMERICANO Y LA NUTRIA EUROASIÁTICA.....	26
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>28</b>
2.1 OBJETIVO GENERAL.....	28
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	28
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>31</b>
3.1 OBTENCIÓN DE MUESTRAS Y PROCESAMIENTO DE DATOS.....	33
3.2 ÁREA DE ESTUDIO.....	35
3.3 ANÁLISIS DE DATOS.....	37
3.3.1 ANÁLISIS FILOGENÉTICOS Y DE DIVERSIDAD GENÉTICA.....	37
3.3.2 ANÁLISIS DE ISÓTOPOS ESTABLES.....	38
3.3.3 MODELOS DE OCUPACIÓN.....	41
3.3.4 ANÁLISIS DE SUPERVIVENCIA.....	44
<b>4. CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>47</b>
Mezcla espacia de linajes mitocondriales y mayor diversidad genética en algunas poblaciones de visón americano ( <i>Neovison vison</i> ) comparado a poblaciones nativas	
<b>5. CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>83</b>
Cambio de nicho trófico de una especie nativa e invasiva durante un proceso de invasión: the caso del visón europeo y americano	

---

<b>6. CAPÍTULO 3 .....</b>	<b>117</b>
Las probabilidades de detección de la nutria euroasiática nativa y el visón americano invasor son independientes de su coocurrencia	
<b>7. CAPÍTULO 4.....</b>	<b>147</b>
Bajas tasas de supervivencia de la población remanente de visón europeo en peligro de extinción ( <i>Mustela lutreola</i> ) en el norte de España	
<b>8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>175</b>
8.1 FILOGEOGRAFÍA Y DIVERSIDAD GENÉTICA DEL VISÓN AMERICANO .....	178
8.2 SOLAPAMIENTO DE NICHO TRÓFICO ENTRE EL VISÓN AMERICANO Y EL EUROPEO .....	181
8.3 DETECTABILIDAD DEL VISÓN AMERICANO Y LA NUTRIA EUROASIÁTICA ....	183
8.4 SUPERVIVENCIA DEL VISÓN EUROPEO EN EL NORTE DE ESPAÑA .....	185
<b>9. CONCLUSIONES.....</b>	<b>189</b>
<b>10. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>195</b>

# INTRODUCCIÓN

---





---

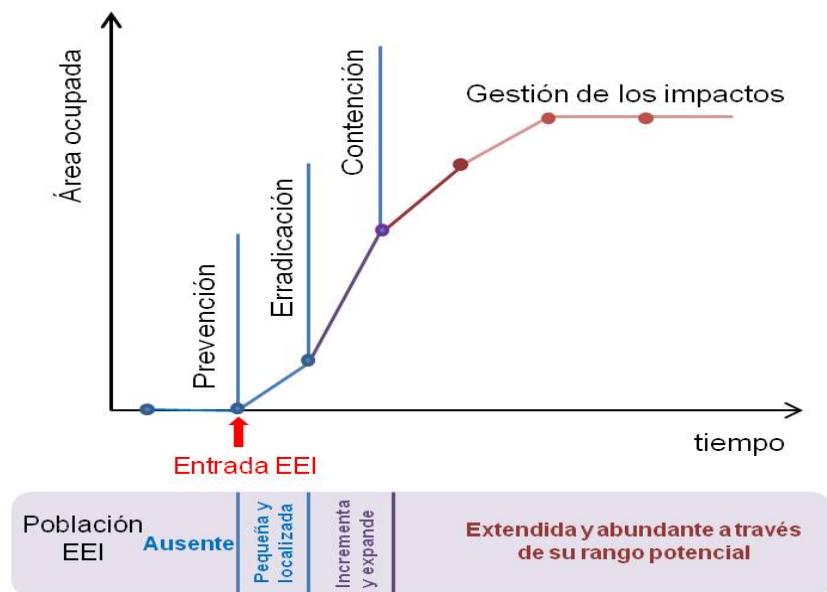
## 1. Introducción

Una especie exótica invasora (EEI en adelante) se define como "una especie ajena que se establece en un ecosistema o en un hábitat natural o semi-natural, que no podría ocupar sin la introducción directa o indirecta de la especie humana y que se convierte en un agente de cambio y amenaza para la diversidad biológica autóctona" (DAISIE 2009, IUCN 2000).

Actualmente es ampliamente reconocido que, junto a cambio climático y la pérdida y fragmentación de hábitat, las EEI son una de las amenazas principales para la biodiversidad. De hecho, se consideran responsables del declive y extinción de un gran número de especies (Hulme 2009, Hoffmann *et al.* 2010, Bellard *et al.* 2016). Su impacto es tal que su introducción y propagación se ha convertido en una crisis ecológica y de conservación a nivel global, alterando cada vez más las comunidades terrestres y acuáticas de todo el mundo (Gurevitch & Padilla 2004). Este impacto está siendo especialmente fuerte en las últimas décadas dado que la globalización ha incrementado el transporte de personas y bienes en todo el mundo. En efecto, un estudio reciente basado en una extensa base de datos de especies exóticas establecidas, mostró que la tasa anual de primeros registros en todo el mundo ha aumentado durante los últimos 200 años, con el 37% de todos los primeros registros reportados más recientemente (1970-2014) (Seebens *et al.* 2017). Las EEI alteran los procesos ecosistémicos (Raizada *et al.* 2008, Cameron *et al.* 2016), disminuyen la abundancia y riqueza de especies nativas mediante competencia, depredación, hibridación y efectos indirectos (Carlsson *et al.* 2009, Magoullick & Piercy 2016), cambian la estructura de la comunidad (Hejda *et al.* 2009) y alteran la diversidad genética (Ellstrand & Schierenbeck 2000). Además, estas alteraciones pueden tener un impacto considerable en la economía en su nuevo rango invadido, lo que lleva a grandes esfuerzos para mitigar estos efectos negativos (Hoffmann *et al.* 2010, Vilà *et al.* 2010). Los impactos de las EEI pueden verse agravados por otros factores como la pérdida de hábitat o el cambio climático dado que éstos alteran los ecosistemas pudiendo reducir su resiliencia nativa a las invasiones (IUCN 2017).

---

Asimismo, los eventos climáticos extremos resultantes del cambio climático, como huracanes, inundaciones y sequías pueden transportar las EEI a nuevas áreas y disminuir la resistencia de los hábitats a las invasiones (Hulme *et al.* 2015, Bellard *et al.* 2018). Además, el efecto de las EEI puede ser especialmente importante sobre las especies amenazadas o en peligro de extinción, ya que su estado les hace más vulnerables a alteraciones del sistema, potencialmente pudiendo aumentar la reducción de sus poblaciones y de su área geográfica de distribución (Genovesi *et al.* 2015). Los ecosistemas deben ser priorizados de acuerdo con su vulnerabilidad a las EEI, lo cual permite establecer medidas que evitarán la introducción de las EEI. Esto debería incluir el establecimiento de medidas efectivas de bioseguridad para gestionar las vías prioritarias de introducción, respaldadas por una alerta temprana y una rápida erradicación para hacer frente a las especies exóticas antes de que se conviertan en invasoras (IUCN 2017) (Figura 1). Por todas estas razones, analizar el estatus y los efectos que generan las EEI sobre la biota nativa es crítico para poder definir prioridades de conservación adaptadas a una escala local (Turner 2005), minimizar y, potencialmente, paliar el impacto ecológico que generan.



**Figura 1.** Curva de invasión generalizada que muestra las acciones apropiadas para cada etapa. Adaptado del Marco de Política de Animales y Plantas Invasoras, Departamento de Industrias Primarias del Estado de Victoria, 2010.

Esta tesis está enfocada en el visón americano (*Neovison vison* Schreber 1777), una de las EEI con mayor efecto sobre la biodiversidad nativa en Europa (DAISIE, Delivering Alien Invasive Species Inventory for Europe, <http://www.europe-alien.org>, Nentwig *et al.* 2018), y en la interacción del visón americano con otros dos mustélidos nativos amenazados: el visón europeo (*Mustela lutreola* Linnaeus, 1761) y la nutria euroasiática (*Lutra lutra* Linnaeus, 1758) (Roos *et al.* 2015, Maran *et al.* 2016). La filogeografía y diversidad genética del visón americano, junto con sus patrones de detección y dietas con la nutria y el visón europeo son evaluados en esta tesis en el rango de distribución español.

En España en las últimas décadas se ha generado un importante conocimiento sobre las tres especies foco de esta tesis, gracias a la colaboración entre investigadores,

---

gestores y técnicos que han trabajado o colaborado con instituciones, universidades, academias, gobiernos regionales y el Ministerio con competencias en medio ambiente y especies protegidas e invasoras. Producto de este trabajo, se han generado la mayoría de las políticas y estrategias de conservación y gestión llevadas a cabo hasta ahora en el territorio español.

En la cuenca del río Tajo, en el centro de España, Bueno *et al.* (1996) exploraron la dieta y la distribución del visón americano y la nutria, así como de sus interacciones. Encontraron que a pesar del solapamiento sus dietas, los dos mustélidos pueden coexistir debido a la capacidad superior de la nutria de capturar presas acuáticas y a la gran adaptabilidad ecológica del visón americano. Posteriormente, datos sobre la presencia del visón americano constatan su presencia estable en simpatría con la población de la nutria en todo el sector del Sistema Central (Bravo 2007, Morales & Gómez-Gayubo 2008).

En el País Vasco se han llevado a cabo varios estudios para explorar los factores ambientales y bióticos que afectan la distribución del visón europeo, revelando que en esta zona la calidad del agua, alteración de las riberas y la fragmentación del hábitat pueden tener un mayor impacto sobre el visón europeo que la presencia del visón americano (Zabala *et al.* 2006, Zuberogoitia *et al.* 2013).

Un análisis a nivel de todo el rango de distribución del visón europeo en España reveló que la expansión del visón americano es uno de los factores claves que causa el desplazamiento y la desaparición del visón europeo en su área de distribución original en el norte de España. La coexistencia de las dos especies ocurrió menos de lo esperado y fue más probable que el visón europeo se extinguiera de los sitios ocupados por el visón americano. que en los sitios donde este último está ausente (Santulli *et al.* 2014).

En Cataluña, Melero *et al.* (2012) encontraron una relación negativa entre la abundancia del visón americano y la presencia de competidores nativos (*Genetta genetta* y *Mustela putorius*) y tres especies de peces locales presas de la EEI.

---

El conjunto de estas investigaciones ha contribuido a llevar a cabo numerosas medidas de conservación y gestión para preservar el hábitat del visón europeo y la nutria, e intentar controlar la expansión del visón americano en España. Sin embargo, tanto la aplicación de medidas de conservación de las especies nativas como de control de las especies exóticas requieren un conocimiento actualizado del estado poblacional y del grado de interacción entre estas especies, los cuales pueden proporcionar una mejor comprensión de la ecología de estas poblaciones y, con ello, proporcionar opciones de gestión. Del mismo modo, es igualmente útil conocer la estructura filogeográfica y la variabilidad genética de poblaciones introducidas de visón americano para comprender los factores que afectan la diversidad genética durante la invasión (Edelaar *et al.* 2015). Conocer la estructura genética de poblaciones invasoras permite obtener información que posibilite su gestión y control (Robertson & Gemmell 2004, Rollins *et al.* 2006) estableciendo áreas claves de control en aquellas zonas que concentran una alta diversidad genética, dado que es conocido que ésta está relacionada con el fitness. Estas áreas podrían potencialmente albergar individuos con un mayor fitness, y con ello, aumentar la viabilidad de la población y su potencial invasor (Vandewoestijne *et al.* 2008).

## 1.1 El visón americano: Rasgos biológicos y ecológicos

El visón americano es un carnívoro perteneciente a la familia Mustelidae, la más diversificada dentro del Orden Carnivora con 65 especies (Nowak 1991). Su morfología refleja su carácter semiacuático presentando un cuerpo alargado y delgado, patas cortas y robustas con cinco dedos con uñas no retráctiles y provistos de membrana completa, pelaje fino e impermeable, cuello ancho y cráneo deprimido (Figura 2).

---

El patrón de coloración natural es negro o marrón oscuro, pero a causa de los cruces realizados en cautividad y a las demandas de coloraciones para la industria peletera este patrón ha sido modificado (coloración gris-plateada, distintos matices de marrón, azul, crema, blanco, gris y arena). Del mismo modo, la selección artificial ha hecho incrementar el tamaño y aumentar la calidad del pelaje; ha acortado del periodo de crecimiento y ha acelerado el paso a la madurez sexual. Posiblemente todas estas adaptaciones artificiales pueden revertirse en estado salvaje después de varias generaciones (Melero & Palazón 2011).

Las huellas del visón americano son muy características, aunque prácticamente indistinguibles de las dejadas por el visón europeo y el turón. Marcan siempre la uña y los cinco dedos, aunque a veces sólo cuatro, en forma radial a partir de la almohadilla plantar central. Miden entre 2,5 y 4 cm de largo y 2,5 cm de ancho, prácticamente la mitad que las de la nutria que además tiene un patrón almohadillar distinto (Bravo 2007). Por lo general, sus excrementos son depositados en las orillas de los ríos o encima de piedras u otros objetos prominentes; su color y forma es variable en función de su alimentación (e.g., será de color rojizo si han ingerido cangrejos) y son en general cilíndricos (típicamente de 6 a 8 cm de largo, a veces más; y entre 3 y 8 mm de diámetro), suelen aparecer retorcidos en espiral en un extremo. El carácter más distinguible es el olor fuerte y muy diferente de los de nutria, que tiene un olor muy característico (Melero & Palazón 2011).



**Figura 2.** Visón americano (*Neovison vison*) capturado en el marco de un Programa de Control en Cataluña. (Fotografía: K. García Bustos).

Presenta un comportamiento territorial a lo largo del año, exceptuando a los machos en época de apareamiento cuando abandonan sus territorios en busca de hembras (Melero & Palazón 2011). La época de apareamiento es variable según la latitud y el fotoperíodo (Sundqvist *et al.* 1989), siendo más tardía a medida que nos acercamos al ecuador. En España, la actividad sexual (celo) se concentra entre los meses de febrero y abril tanto en los machos como en las hembras (Enders 1952). Las hembras presentan un periodo variable de gestación (implantación diferida del óvulo), la cual puede durar entre 39 y 76 días (media de 51 días) (Enders 1952). Presenta dimorfismo sexual en tamaño y peso, el cual puede ser consecuencia de diferentes procesos como la selección intra o intersexual, la competición intersexual o la divergencia en los roles reproductivos (Thom *et al.* 2004). El tamaño de los machos varía entre 370-670 mm y el de las hembras fluctúa entre los 350-550 mm (Palazón & Ruiz-Olmo 1995, Melero *et al.* 2008a). El peso de los machos varía

---

entre 1100 y 2000 g, y el de las hembras adultas oscila entre 660 y 1500 g (Birks & Dunstone 1985, Sidorovich 1997, Palazón & Ruiz-Olmo 1995, Melero *et al.* 2008a). Existe una variabilidad anual en el peso de los adultos, particularmente en los machos. El peso de éstos se incrementa durante el otoño y tiene su máximo justo antes del período de celo, entre enero y febrero. Esto presenta una ventaja adaptativa puesto que un mayor tamaño corporal parece otorgar una ventaja durante la competencia por las hembras (Melero & Palazón 2011).

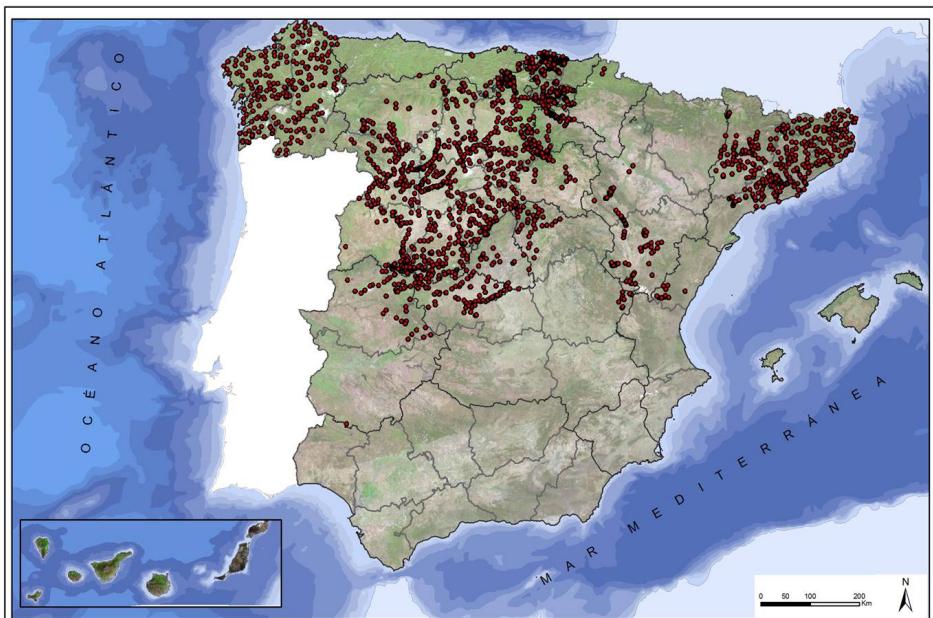
Respecto a su taxonomía, el visón americano, aunque originalmente fue incluido en el género *Mustela*, actualmente pertenece al género *Neovison* dado que se considera una especie divergente genéticamente del género *Mustela* y filogenéticamente anterior (8.5 y 9.9 Ma) (Abramov 2000, Sato *et al.* 2003, Wozencraft 2005). No se ha logrado un consenso en el número de subespecies actuales y se requieren estudios genéticos para confirmar esta clasificación. En general, se consideran seis subespecies: *energumenos*, *evagor*, *ingens*, *lacustris*, *lowii* y *vison* (Banfield 1974). Otros autores aumentan el número de subespecies hasta trece (Wozencraft 2005) y quince (Hall 1981, Larivière & Jennings 2009). Las quince subespecies citadas por Hall (1981) son: *aestuarina*, *aniakensis*, *energumenos*, *evasor*, *evergladensis*, *ingens*, *lacustris*, *letifera*, *lowii*, *lutensis*, *melampeplus*, *mink*, *nesolestes*, *vison* y *vulgivaga*.

El visón americano es una especie oportunista que explota un amplio espectro de hábitats y recursos disponibles. La plasticidad de su dieta junto con la flexibilidad del hábitat se consideran los principales factores que hacen a esta especie un invasor exitoso (Nentwig *et al.* 2010). El hábitat del visón americano, tanto en poblaciones nativas como introducidas, se encuentra asociado preferentemente a bosques riparios y zonas de arbustos o matorrales adyacentes a hábitats acuáticos, evitando generalmente áreas abiertas y expuestas en sistemas acuáticos (Dunstone & Birks 1983, Dunstone 1993, Melero *et al.* 2008, Zabala *et al.* 2007). El visón americano modifica sus hábitos diarios dependiendo de las condiciones medioambientales, especialmente la disponibilidad de presas y madrigueras (Dunstone 1993).

---

Como carnívoro, el visón americano presenta una dieta generalista basada en micromamíferos, peces, invertebrados, aves y anfibios (Birks & Dunstone 1983), con importantes diferencias intraespecíficas en la composición de la dieta entre individuos, sexos, estaciones e incluso años (Sidorovich *et al.* 2001, Macdonald & Harrington 2003, Krawczyk *et al.* 2013).

El rango nativo del visón americano incluye Norteamérica, desde Alaska al sur de los Estados Unidos, donde posee una tendencia poblacional estable, por lo que su estado de conservación es de Preocupación Menor (Reid *et al.* 2016). Sin embargo, poblaciones asilvestradas de visón americano se encuentran ampliamente distribuidas en Rusia, Japón, Chile, Argentina y en gran parte de Europa, como resultado de escapes y liberaciones intencionales desde granjas peleteras (Bonesi & Palazón 2007). En España, poblaciones asilvestradas de visón americano se encuentran ampliamente distribuidas y establecidas, comprendiendo cinco núcleos poblacionales bien consolidados (Melero & Palazón 2011, Pödra & Gómez 2018) (Figura 3).



**Figura 3.** Distribución del visón americano (*Neovison vison*) en España. Puntos rojos representan las capturas registradas entre el 2014 y el 2016.

## 1.2 El visón europeo: Rasgos biológicos y ecológicos

El visón europeo es un pequeño mustélido semiacuático. Su morfología refleja su modo de vida adaptado al medio semiacuático con un cuerpo alargado y delgado, orejas pequeñas y dedos de manos y pies provistos de membranas interdigitales incompletas. Presenta un pelaje corporal corto, de color castaño uniforme y contorno de los labios (tanto inferior como superior) de un distintivo color blanco (Figura 4).



**Figura 4.** Visón europeo (*Mustela lutreola*) capturado como parte de un Programa de reintroducción en la Isla de Hiiumaa (Estonia) (Fotografía: K. García Bustos).

Muestra un acusado dimorfismo sexual en el tamaño. En España, los machos pesan casi un 70% y miden (largo total) un 15% más que las hembras. El tamaño de los machos varía entre los 500-800 mm (machos), y el de las hembras fluctúa entre los 430-505 mm. El peso de los machos oscila entre los 700-1.100 g y el de las hembras varía entre los 450-650 g (Sidorovich 1997, Palazón *et al.* 2006).

Ocasionalmente el visón europeo puede hibridar con el turón europeo *Mustela putorius* (Davidson *et al.* 2000, Michaux *et al.* 2005, Cabria *et al.* 2011). Tanto la hibridación como la introgresión genética ocurren a bajos niveles (3% y 0,9% respectivamente) y la hibridación es asimétrica, ya que solo los machos de turones puros se aparean con las hembras puras de visón europeo (Cabria *et al.* 2011). En cambio, con el visón americano se pueden producir embriones (en cautividad) que son reabsorbidos (Ternovskiy & Ternovskaya 1994), especialmente entre machos de visón americano y hembras de visón europeo.

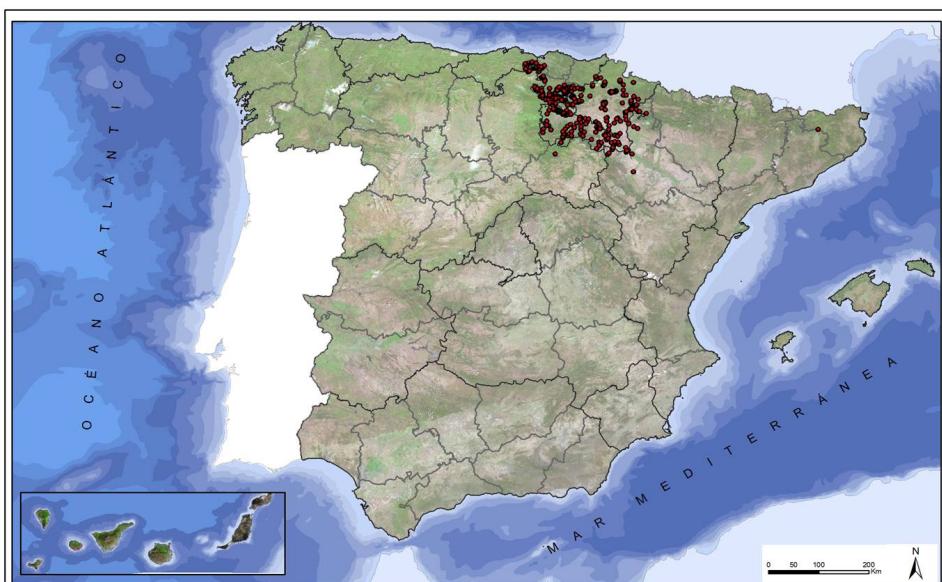
---

El visón europeo tiene requisitos especializados de hábitat. Habita en medios acuáticos de variada tipología tales como ríos, arroyos, lagunas, zonas pantanosas y canales. En España muestra preferencia por los cursos bajos y medios de los ríos, con corriente lenta, cobertura vegetal de ribera ancha y densa y, buena calidad del agua (Palazón 1998, Zabala *et al.* 2003, Palazón *et al.* 2006, Palazón & Melero 2014). Rara vez se encuentra a más de 100 metros del agua dulce, aunque se ha encontrado en zonas de regadío, en pequeños canales y acequias con escasa vegetación, alejadas más de 500-600 m del río principal (Palazón 1998, Palazón *et al.* 2006) e incluso a más distancia (Ceña 2004, Urra & Ceña 2005). No hay registros de su presencia en la costa del mar, pero sí muy cerca, en desembocaduras de ríos y estuarios (Maran 1991). La presencia del visón europeo está condicionada por la calidad del agua y la alteración de las orillas. Esta especie no se encuentra en ríos contaminados, canalizados y con baja disponibilidad de presas (Zabala *et al.* 2006).

Esta especie posee una dieta de régimen carnívoro y caza tanto en las zonas ribereñas como en el agua. Presenta una dieta generalista con una relativamente alta diversidad de presas, entre las cuales se encuentran anfibios, crustáceos (cangrejos de río), peces, pequeños mamíferos, insectos y aves (Sidorovich *et al.* 1998, Maran *et al.* 1998). En España consume principalmente peces, pequeños mamíferos, aves acuáticas, anfibios y reptiles en su época de actividad y cangrejos de río americano, que comienzan a ser un recurso trófico importante (Palazón *et al.* 2004, 2008).

El visón europeo es una especie catalogada “En Peligro Crítico” de extinción a escala global desde el año 2011 (Maran *et al.* 2016). La distribución original del visón europeo ocupaba toda Europa central y septentrional, desde las costas atlánticas (Francia) hasta los Montes Urales y desde el Círculo Polar Ártico hasta las proximidades de los mares Mediterráneo y Negro (Youngman 1982). Sin embargo, durante el siglo diecinueve, esta especie comienza a declinar y a extinguirse localmente en varios países de Europa central y antes de los años cincuenta del siglo pasado el visón ha desaparecido de casi el 85% de su área de distribución original (Maran *et al.* 2016). Actualmente, solo se encuentran tres

núcleos poblacionales aislados y fragmentados, uno en el Oeste de Europa (Norte de España y suroeste de Francia) (Palazón 2017), uno en el Delta del Danubio en Rumanía (Kranz *et al.* 2006) y uno en Ucrania y Rusia (Michaux *et al.* 2004, Maran *et al.* 2007). Las tres poblaciones están en regresión y presentan bajas densidades (Maran *et al.* 2016). Entre las principales causas del declive poblacional del visón europeo se encuentran la degradación y fragmentación de hábitat, la caza, la contaminación de los ríos y la invasión del visón americano (Lodé *et al.* 2001, Maran & Henttonen 1995). En España, esa especie está presente en Navarra, La Rioja, Euskadi y Castilla-León (noroeste de Burgos y norte de Soria) y Aragón (este de Zaragoza), ocupando casi 2.300 km de tramos fluviales (Figura 5). Diferentes estudios han conducido a estimar una población de alrededor de 500 ejemplares con una tendencia general negativa (e.g., Palazón *et al.* 2012).



**Figura 5.** Distribución del visón europeo (*Mustela lutreola*) en España. Puntos rojos representan los registros entre el 2014 y el 2016.

---

Desde el año 2005 el Ministerio de Medio Natural, Rural y Marino está desarrollando una estrategia nacional de conservación del visón europeo, cuyo objetivo primordial es indicar las líneas prioritarias de actuación para la conservación de esta especie en España. Esta estrategia se suma a los esfuerzos iniciados en el 2001 por una serie de proyectos europeos LIFE para la conservación del visón europeo dirigidos por las comunidades autónomas de La Rioja (LIFE 00/NAT/ E/7331: 2001-2004), Álava (LIFE 00/NAT/ E/7335: 2001-2004), Castilla y León (LIFE 00/NAT/ E/7299: 2001-2004), Cataluña (LIFE 02/NAT/ E/8604: 2002-2005), Navarra (2005-2008 y 2019-2014). Actualmente, se está llevando a cabo un nuevo proyecto LIFE LUTREOLA SPAIN (LIFE13/NAT/ES/001171 2014-2018) en La Rioja, Aragón, País Vasco y Valencia. Los objetivos generales de este proyecto son eliminar los núcleos de visón americano dentro del área de distribución y zonas de riesgo del visón europeo, aumentar la viabilidad de la población salvaje de visón europeo mediante el refuerzo poblacional y creación de nuevos núcleos, y crear una red de seguimiento para evaluar la situación de ambas especies de visones. Hasta ahora, la aplicación de plataformas flotantes para la detección temprana del visón americano está teniendo efectos positivos a nivel de cuencas de tamaño medio (LIFE Lutreola Spain 2017a).

### **1.3 La nutria euroasiática: Rasgos biológicos y ecológicos**

La nutria euroasiática es un mustélido semiacuático cuya morfología y estilo de vida están adaptados a su dependencia al ambiente acuático (Kruuk 1995) (Figura 6). Posee un cuerpo alargado y extremidades proporcionalmente cortas. La cabeza es ancha y aplanada, sin que se aprecie un cuello diferenciado. Posee cinco dedos unidos por una membrana interdigital bien desarrollada, tanto en las extremidades anteriores como en las posteriores. El pelaje es de color castaño o pardo con diversas tonalidades; en la garganta y parte superior del pecho destaca una mancha

---

bien representada, de color más claro (Ruiz-Olmo *et al.* 2017). El pelaje es más oscuro en las crías que en los adultos (Cabrera 1914).

Esta especie, al igual que el visón americano y europeo, presenta un marcado dimorfismo sexual. El tamaño de los machos adultos es superior al de las hembras, los cuales oscilan entre los 600 -750 mm y 590 -710 mm respectivamente. El peso de los machos adultos varía entre los 6,1-9,4 kg y las hembras 4,4 - 6,5 g (Ruiz-Olmo *et al.* 1998).

La nutria es una especie capaz de reproducirse en cualquier momento del año y puede adaptar su ciclo biológico a los ciclos de abundancia de sus presas principales (peces y cangrejos). La gestación es de aproximadamente dos meses, al término de la cual nacen 1-5 crías, más frecuentemente 1-2. Las sequías constituyen un factor regulador importante, y pueden afectar el éxito reproductor y las épocas de nacimiento (Ruiz-Olmo 2017).



**Figura 6.** Nutria euroasiática (*Lutra lutra*) junto a su cría. (Fotografía: J. Ruiz-Olmo).

La nutria euroasiática vive en una amplia variedad de ambientes acuáticos continentales suficientemente bien conservados (lagos, ríos, arroyos, pantanos, bosques pantanosos), y en el litoral atlántico (Mason & Macdonald 1986). Los ambientes marinos mediterráneos no parecen favorables para la nutria (Ruiz-Olmo & Oró 1993, Saavedra 2002). En las costas de Asturias y Galicia se encuentra preferentemente en zonas con agua dulce disponible, menor exposición al oleaje y presencia de una zona amplia de aguas poco profundas (Romero *et al.* 2008). Las nutrias también pueden ser encontradas en ambientes artificiales tales como embalses (Ruiz-Olmo 1995, Ruiz-Olmo & Delibes 1998, Pedroso *et al.* 2004), canales y acequias (Ruiz-Olmo *et al.* 2005). Las principales variables que determinan el uso y selección de hábitat de esta especie son la disponibilidad de alimento (e indirectamente con ésta la persistencia del agua, lo que es especialmente

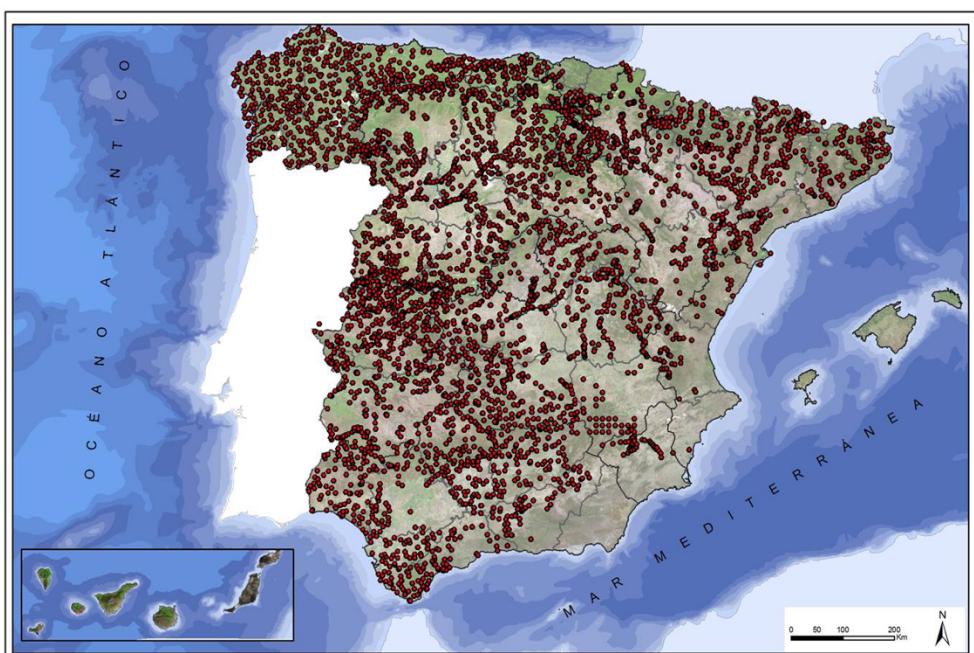
---

importante en ambientes mediterráneos) y de refugio (Ruiz-Olmo 1995, Prenda *et al.* 2001, Ruiz-Olmo *et al.* 2005).

Prácticamente la totalidad de sus presas tienen hábitos acuáticos o semiacuáticos, siendo capturadas en el agua o muy cerca de ella. La nutria se alimenta principalmente de peces, en los ambientes mediterráneos captura también importantes cantidades de cangrejos, anfibios, reptiles y, en ocasiones si no dispone de estas presas, insectos, aves o mamíferos (Bueno 1996, Ruiz-Olmo *et al.* 1998, 2001, Ruiz-Olmo & Palazón, 1997, Clavero *et al.* 2003, Pedroso & Santos-Reis 2006, Romero 2006, Miranda *et al.* 2006). Las nutrias ibéricas tienden a comer bastantes más cangrejos, reptiles o insectos que las del centro y norte de Europa (Ruiz-Olmo & Palazón 1997, Clavero *et al.* 2005). En los ambientes litorales la dieta incluye un elevado número de presas diferentes (Ruiz-Olmo 1998, Ruiz-Olmo *et al.* 2001, Clavero 2003). La dieta varía estacionalmente (Callejo & Delibes 1987). La depredación sobre el cangrejo rojo (*Procambarus clarkii*) es más intensa en verano, cuando el consumo de peces alcanza el mínimo, mientras que en otoño-invierno ocurre lo contrario (Clavero *et al.* 2008).

La nutria posee uno de más amplios rangos de distribución de todos los mamíferos del Paleártico (Corbet 1978). Su rango de distribución originalmente se extendía desde Portugal en el oeste hasta Japón en el este, y desde Europa del Norte y Asia, a las costas del sur del Mediterráneo. También está presente en Japón, el sur de China hasta Malasia, Sri Lanka, Taiwan y Sumatra (Corbet 1978). Sin embargo, en los últimos 40 años se ha revelado una importante disminución poblacional en gran parte de su rango, particularmente en Europa Occidental. La nutria se encuentra actualmente catalogada como “casi amenazada” a escala global debido a una disminución continua de la población, la falta de información de muchas partes de su área de distribución y la sensibilidad de la especie ante los cambios repentinos en las amenazas (canalización de los ríos, eliminación de la vegetación de ribera, construcción de presas, drenaje de humedales, actividades acuícolas) (Ross *et al.* 2015). En España, la nutria se encuentra catalogada como “vulnerable”. La

conservación de su hábitat, el control de la contaminación, el mantenimiento de las poblaciones de sus presas y una correcta gestión del agua son las bases de su conservación (Ruiz-Olmo 2002) y de su recuperación en los últimos 30 años (Ruiz-Olmo & Delibes 1998, Jiménez *et al.* 2008). La implementación de estas medidas ha permitido un incremento de su presencia en todas las cuencas hidrográficas de España (Figura 7). El porcentaje de estaciones positivas en los tres muestreos realizados ha pasado del 33,5% en el primero (1984), 48,8% en el segundo (1994-1996), 64,8% en el tercero (2004-2006) (López-Martín & Jiménez 2008) y 64,7% en el cuarto (2014-2016) (Palazón *et al.* en prensa).



**Figura 7.** Distribución de la nutria Euroasiática (*Lutra lutra*) en España. Puntos rojos representan los registros del sondeo nacional entre el 2014 y el 2016.

---

## 1.4 Estatus del visón americano y su interacción con otras especies

El rango nativo del visón americano ocupa casi todo el norte de América, excluyendo el norte del Círculo Polar Ártico y la parte meridional de los Estados Unidos (Lariviere 1999). El visón americano se comenzó a criar en cautividad en Canadá y EEUU a finales del siglo XIX para el comercio peletero. Posteriormente, esta industria se trasladó a Europa y a la antigua Unión Soviética en 1920 con la construcción de granjas peleteras (Vidal-Figueroa & Delibes, 1987, Dunstone 1993, Melero & Palazón 2011). Las granjas peleteras fueron establecidas en muchos países y albergaron *stocks* de visones de diferentes partes de su distribución nativa. Las poblaciones asilvestradas de visón americano presentes en el medio natural son debidas principalmente a escapes continuados por medidas de seguridad insuficientes, fugas masivas por accidentes en las granjas (incendios, vendavales) y por abandono de la actividad (Vidal-Figueroa & Delibes 1987, Palazón & Ruiz-Olmo 1997). Debido a la gran escala y naturaleza a largo plazo de esta industria peletera, el número de individuos escapados, que comenzó a reproducirse en la naturaleza y se convirtieron en los individuos fundadores de poblaciones salvajes, fue muy elevado (Bonesi & Palazón 2007).

En Europa, el visón americano se encuentra actualmente en 21 países, aunque su abundancia y distribución varía mucho según el país (Bonesi & Palazón 2007). Su rango introducido también incluye países como Argentina, Chile, China, Japón, Kazajistán y Nueva Zelanda (Bonesi & Palazón 2007).

Las poblaciones establecidas son actualmente naturalizadas en ecosistemas dulceacuícolas y costeros, con consecuencias nocivas para la abundancia de muchas especies nativas de presas y competidores de importancia para la conservación (Bonesi *et al.* 2004, Harrington *et al.* 2009, Macdonald & Harrington 2003, Melero *et al.* 2012). En efecto, el visón americano es reconocido como la principal amenaza para la fauna nativa europea afectando a 47 especies nativas (Genovesi *et al.* 2012).

---

Asimismo, es responsable de una crisis de conservación con numerosas especies nativas gravemente afectadas, incluyendo el visón europeo, la rata de agua norteña (*Arvicola terrestris*), aves marinas como el gavotín ártico (*Sterna paradisaea*), aves zancudas como la agachadiza fueguina (*Gallinago stricklandii*) y otras especies ribereñas, como la rana común (*Rana temporaria*) (Aars *et al.* 2001, Ahola *et al.* 2006, Schuttler 2009, Bonesi & Palazón 2007, Oliver *et al.* 2009). El visón americano puede reducir y erradicar localmente especies de presas, como el cangrejo de río europeo (*Austropotamobius pallipes*) (Fischer *et al.* 2009), el desmán pirenaico (*Galemys pyrenaicus*) y la rata de agua meridional (*Arvicola sapidus*) en Francia y la Península Ibérica (Palazón & Ruiz-Olmo 1997, 1998, Palomo & Gisbert 2002). Además, el visón americano puede afectar la estructura poblacional de otros depredadores ribereños, como el turón europeo (*Mustela putorius*), la gineta (*Genetta genetta*) y la nutria euroasiática (*Lutra lutra*), debido a la competencia y transmisión de enfermedades (Sidorovich & Polozov 2002, Melero *et al.* 2008b). De hecho, el visón se considera un vector de la enfermedad Aleutiana (ADV) (Sidorovich 2001, Mañas *et al.* 2001).

En España, la explotación de granjas peleteras comenzó a finales de la década de 1950 y el número de granjas llegó a su punto máximo en la década de los '80 con cerca de 400 granjas concentradas principalmente en el noroeste (Galicia) (Ruiz-Olmo *et al.* 1997). Durante las últimas décadas, estas poblaciones experimentaron una rápida expansión y aumentaron el número de núcleos en casi todas las áreas colonizadas en el norte y el centro de España (Ruiz-Olmo *et al.* 1997, Santulli 2014). Hoy en día, se encuentran vigentes 37 granjas en el territorio español desde las cuales todavía persisten escapes de visones (Bonesi & Palazón 2007). Poblaciones asilvestradas de visón americano se encuentran ampliamente distribuidas y establecidas en España, comprendiendo poblaciones en Galicia y Portugal (1), Centro de España (2) (desde el centro de Burgos, hasta Portugal, extendiéndose a toda Castilla y León, Madrid, Castilla-La Mancha y norte de Extremadura), y otras de menor tamaño en el País Vasco (3), Cataluña (4) y

---

Sistema Ibérico meridional (Teruel y Comunidad Valenciana) (5) (Lecis *et al.* 2008, Melero & Palazón 2011, Pödra & Gómez 2018).

Se estima que la población de visón americano del centro de España puede contar con más de 30.000 ejemplares y que ocupa alrededor de 12.530 km de ríos en todo el territorio español. Hasta el momento, las distintas poblaciones de visón americano parecen estar separadas entre sí, pero en el caso de que se lleguen a unir, su gestión y erradicación sería más complicada (Bonesi & Palazón 2007, Zuberogoitia *et al.* 2006).

Desde el 2000 se está llevando a cabo en España un programa de control intensivo del visón americano mediante trampeo selectivo, como parte de la estrategia de conservación nacional del visón europeo (Melero & Palazón 2011, Pödra & Gómez 2018). La evidencia demuestra que el principal efecto del control es la reducción de la densidad de la especie invasora a escala local y que la erradicación a un costo bajo-moderado es factible sólo en pequeñas áreas (Melero *et al.* 2010, Zabala *et al.* 2010, Zuberogoitia *et al.* 2010).

#### **1.4.1 Competencia entre el visón americano y el visón europeo**

El visón americano y el visón europeo son dos mustélidos semiacuáticos que habitan territorios lineales a lo largo de los cursos de agua. Ambas especies poseen morfologías casi idénticas, comparten la mayoría de sus características ecológicas y requieren recursos ecológicos equivalentes. Por lo tanto, compiten por determinados recursos cuando coinciden en el medio natural (Maran *et al.* 1998, Macdonald *et al.* 2002, Macdonald & Harrington 2003, Sidorovich *et al.* 2010).

Sin embargo, el visón americano puede ser un 40% más grande en tamaño corporal que el visón europeo (Maran 2007, Sidorovich *et al.* 1999), posee tamaños territoriales más reducidos y una dieta más generalista y oportunista que su contraparte nativa. Asimismo, a nivel reproductivo, el visón americano muestra

---

implantación diferida de embriones, lo que significa que el período de gestación es variable, la cual le permite adaptar el ciclo reproductivo de las poblaciones a un periodo de máxima disponibilidad de presas, lo cual puede incrementar la probabilidad de sobrevivencia de los recién nacidos (Thom *et al.* 2004). También presenta mayores tamaños de camadas que el visón nativo lo cual facilita la rápida expansión (Sidorovich *et al.* 1997) y la capacidad de compensación por reproducción (aumento de la camada a bajas densidades) (Melero *et al.* 2015). En general, la mayor plasticidad ecológica del visón americano le otorga una ventaja interespecífica que suele acabar con un desplazamiento del visón europeo (Sidorovich *et al.* 2000). En efecto, tras la introducción y rápida expansión del visón americano en Europa, diversos estudios han mostrado el efecto negativo de esta especie invasora sobre poblaciones del visón europeo, en peligro crítico de extinción (Maran 2007, Maran *et al.* 2011, Santulli *et al.* 2014).

Debido a la limitada distribución actual del visón europeo, la persistencia de granjas de visones americanos y la abundancia de estos últimos en los ecosistemas naturales, plantea un elevado riesgo para la supervivencia de esta especie nativa. Estudios previos indican que incluso a bajas densidades, el visón americano puede limitar seriamente el éxito de refuerzo o reintroducción del visón europeo (Pödra *et al.* 2013). Aunque las causas de la disminución de la población de visón europeo parecen claras (e.g. destrucción de hábitat, competencia con el visón americano, enfermedades transmitidas por el visón americano, hibridización con el turón europeo *Mustela putorius*, etc.), ninguno de estos factores por sí solo puede explicar las causas de la disminución en varios lugares a diferentes momentos. Del mismo modo, ninguno de los factores de declive poblacional por sí solos es probable que lleve consigo la extinción de la especie nativa, pero sí las sinergias que se crean en su conjunto. En España, ambas especies viven en simpatría desde hace varios años en las provincias de La Rioja, Álava y Burgos, lo cual ha generado una importante disminución del visón europeo. En efecto, para el 2012, una cuarta parte de España continental estaba ocupada por el visón americano y su presencia se confirmó en un tercio del área de distribución del visón europeo (Pödra & Gómez 2018). El estado

---

del visón nativo ha empeorado drásticamente en España en los últimos años y se requieren medidas de conservación urgentes para detener la mayor propagación del visón americano.

Estudios previos de dieta entre estas especies han sugerido un potencial desplazamiento trófico del visón nativo por el visón invasor (Sidorovich *et al.* 2010). Por lo tanto, es probable que se produzca una alta interacción competitiva entre las dos especies. En general, las dietas de ambas especies de visones muestran una diversidad de presas relativamente alta (Palazón *et al.* 2004, 2008; Melero *et al.* 2008b). La dieta del visón nativo se basa principalmente en mamíferos pequeños, peces y aves (Palazón *et al.* 2004, 2008), mientras que la dieta del visón invasor contiene más aves acuáticas y cangrejos de río (Melero *et al.* 2008b). Hasta ahora, los estudios de ecología trófica de ambas especies se han basado en el análisis de muestras fecales o contenido estomacal, sin embargo, los resultados de estas metodologías pueden estar sesgados debido a la sobrerrepresentación del material no digerible (Boecklen *et al.* 2011). La aplicación de métodos más robustos como el análisis de isótopos estables posee una ventaja significativa sobre estos métodos tradicionales ya que proporciona información sobre la dieta consumida y asimilada durante varias semanas (Middelburg 2014). Además, el análisis de dieta basado en isótopos es necesario para evaluar el nivel de solapamiento de nicho trófico y las diferencias interespecíficas en el uso de recursos alimenticios entre poblaciones de ambas especies de visón. Esto puede proporcionar información adicional para comprender mejor el efecto del visón invasor en la fauna nativa, así como refinar los enfoques para las campañas de control.

---

### **1.4.2 Competencia entre el visón americano y la nutria euroasiática**

El visón americano y la nutria euroasiática son dos especies de mustélidos que habitan tanto ambientes dulceacuícolas y costeros (Dunstone 1993, Kruuk 1995). Ambas especies poseen hábitos frecuentemente crípticos y elusivos.

A pesar de sus similitudes tróficas y de hábitats, la nutria y el visón difieren en varios aspectos. El peso corporal de la nutria es aproximadamente siete veces mayor que el del visón (Persson 1985), tienen territorios más extensos, viven a menores densidades y son mejores cazando presas acuáticas (Dunstone & O'Connor 1979), por lo tanto, se espera que la nutria sea un competidor más fuerte que el visón invasor.

Cuando las dos especies están en simpatría sus dietas tienden a divergir (Melero 2007). La heterogeneidad del hábitat juega un importante rol en determinar la probabilidad de coexistencia entre el visón americano y las nutrias euroasiáticas (Bonesi & Macdonald 2004). De este modo, las dos especies competidoras pueden distribuirse en hábitats de diferente calidad según sus densidades intra e interespecíficas. La flexibilidad ecológica del visón para explotar tanto presas terrestres como acuáticas constituye un factor clave para su persistencia en lugares donde coexiste con elevadas densidades de nutrias. En efecto, estudios previos han mostrado que, a pesar de su potencial competencia espacial y trófica, no existe un efecto negativo de la nutria sobre el visón, ya que este último puede cambiar su dieta y comportamiento en presencia de nutria (Melero *et al.* 2008b, Harrington *et al.* 2009). De hecho, el visón cambia su dieta generalista consumiendo más presas terrestres y su actividad a un comportamiento predominantemente diurno cuando ocurre junto con la nutria. Este conocimiento podría utilizarse para dirigir áreas con abundancia de presas terrestres para el manejo preferencial del visón (Bonesi & Macdonald 2004).

En España, Melero *et al.* (2012) reportaron que la llegada al Alt Empordà (Cataluña) del visón americano en 2000 no ha afectado a la abundancia de la nutria

---

durante el periodo 2000-2008. En Segovia, donde la nutria convive con el visón americano desde hace más de 25 años, la nutria tiene una diversidad de dieta mucho menor y se alimenta sobre todo de peces a lo largo del año, mientras que el visón se alimenta de mamíferos y peces (Morales *et al.* 2010).

---

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo General

El objetivo principal de esta tesis doctoral es actualizar y contribuir al conocimiento del estatus de la EEI visón americano y su interacción con otras dos especies de mustélidos nativos amenazados con los cuales co-habita en España, el visón europeo y la nutria euroasiática. Mediante la aplicación de herramientas de diagnóstico y técnicas actualmente disponibles tales como análisis filogenéticos, análisis de isótopos estables, modelos de ocupación y de supervivencia, esta tesis entrega un estudio más preciso de las especies y espera contribuir al establecimiento de estrategias adecuadas para realizar una gestión eficaz de estas especies en el territorio español.

### 2.2 Objetivos Específicos

Para lograr el objetivo general, esta tesis se ha estructurado en cuatro capítulos que abarcan diferentes escalas y aproximaciones de diagnóstico del estatus e interacciones de las especies foco de esta tesis y en los cuales se proponen los siguientes objetivos específicos:

#### **Objetivo Específico 1:**

Determinar la estructura filogeográfica tanto de las poblaciones nativas de visón americano, como de las poblaciones invasoras de visón americano en España.

---

Además, se espera evaluar si la diversidad genética observada en poblaciones invasoras establecidas puede explicarse por las características genéticas de las poblaciones nativas de Estados Unidos. Examinamos si la variabilidad genética de la población invasora de visón americano es reflejo de la variabilidad genética en su rango nativo o si debido a la historia de introducción y el origen particular de estas poblaciones esta variabilidad genética podría ser mayor. Al conocer la diversidad genética de poblaciones de su rango nativo, nos permitirá investigar la dinámica evolutiva de su invasión, y con ello proporcionar recomendaciones para el control del visón americano en España con respecto a la determinación de áreas clave de control en base a aquellas áreas que presenten una mayor diversidad genética y con ello un mayor potencial invasor (Capítulo 1).

## **Objetivo Específico 2:**

Investigar los cambios en la dieta del visón europeo en relación a la llegada y expansión del visón americano en la Península Ibérica. De este modo, estudiamos poblaciones previas a la invasión (poblaciones alopátricas) y posteriores a la invasión (poblaciones simpátricas). Específicamente, evaluamos si sus dietas difieren entre poblaciones alopátricas y simpátricas en términos del nivel trófico y de la proporción de presas consumidas e investigamos diferencias entre sexos. Además, determinamos el nivel de solapamiento de nicho trófico entre las dietas de ambas especies de visón cuando están en simpatría. Por último, evaluamos la composición de la dieta del visón americano en áreas donde la especie no habita con el visón europeo. Estos resultados podrían tener importantes consecuencias para la viabilidad y conservación de las poblaciones de visón nativo al confirmar la intensidad del solapamiento trófico entre ambas especies, y con ello el nivel de presión competitiva (Capítulo 2).

### **Objetivo Específico 3:**

Investigar los patrones de detección entre el visón americano y la nutria en el noreste de España. Dada la simpatría entre visones y nutrias en esta área, investigamos si las detecciones de las dos especies son independientes o si la probabilidad de detectar una especie en un registro determinado es influida por la detección de la otra. Además, exploramos la influencia del tamaño de los ríos en los patrones de detección de ambas especies. Esta investigación pretende entregar orientaciones para el diseño de los protocolos de monitoreo de ambas especies, por ejemplo, cuándo y dónde es más apropiado realizar el monitoreo de las especies (Capítulo 3).

### **Objetivo Específico 4:**

Estimar la supervivencia del visón europeo presente en la cuenca del río Ebro como un indicador del estado y la vulnerabilidad de la población española. Además, exploramos diferencias sexuales en las probabilidades de supervivencia para evaluar la vulnerabilidad por sexo. La finalidad de este estudio es monitorear el estado y la viabilidad futura de las poblaciones de visón europeo y así planificar acciones de manejo adaptativo para su conservación (Capítulo 4).

## MATERIALES Y MÉTODOS

---





---

### 3.1 Obtención de muestras y procesamiento de datos

Para el desarrollo de esta tesis la mayor parte de los registros de captura y muestras de visón americano, visón europeo y nutria fueron recogidos por las administraciones de las distintas provincias españolas involucradas en esta tesis entre los años 2005 y 2016. Además, muestras de las presas consumidas por ambas especies de visones (Capítulo 2) y los datos de detección de visón americano y nutria (Capítulo 3) fueron recogidos durante el desarrollo de esta tesis. Todos estos registros fueron utilizados como diferentes tipos de datos dependiendo del tipo de análisis y objetivo del estudio: a) muestras de tejidos y pelo de visón americano para los análisis filogenéticos (Capítulo 1), b) muestras de pelo de ambas especies de visones para el análisis de dieta (Capítulo 2), c) datos de detección/no detección para el análisis de ocupación entre el visón americano y la nutria (Capítulo 3) y d) datos de captura/recaptura del visón europeo para el análisis de sobrevivencia (Capítulo 4). Para el análisis filogenético del visón americano, además de las muestras provenientes del territorio español, se han utilizado muestras del rango de distribución nativo en Norteamérica, obtenidas desde diferentes colecciones biológicas del Museo de la Universidad de Alaska, del Museo de Biología de Southwestern y del Museo de Vertebrados de la Universidad de Cornell.

En España, la metodología de monitorización de las poblaciones de visón europeo y de control del visón americano siguen protocolos desarrollados conjuntamente con Francia, con el fin de poder realizar estudios comparativos de los resultados obtenidos en ambos países. Estos protocolos han sido perfeccionados a lo largo de los años y han sido llevados a cabo por técnicos y profesionales que han participado en los diferentes estudios, controles y en el desarrollo de la "Estrategia Nacional de Conservación del visón europeo en España" (MAGRAMA 2009).

---

En los trabajos de monitorización del visón europeo en las provincias de Álava y Burgos realizados a partir de 1999, se detectó la presencia de la especie americana. Desde 2002 diversas Comunidades Autónomas, en colaboración con el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) y con el apoyo de distintos proyectos LIFE europeos, han llevado a cabo campañas de control del visón americano mediante trámpeo selectivo. El procedimiento está basado en trámpeo en vivo con al menos una estación de captura por cuadrícula de 10 x 10 km (sistema geográfico de referencia UTM - Universal Transversal Mercator) en Navarra, Aragón, La Rioja, País Vasco, Castilla y León, Cantabria y Cataluña llevadas a cabo por los gobiernos provinciales y regionales.

Las estaciones de trámpeo están compuestas por diez trampas de malla metálica (15 cm x 15 cm x 60 cm), con una única entrada. Este método es el de mayor efectividad empleado hasta la fecha y tiene un bajo índice de mortalidad de los ejemplares capturados (MAGRAMA 2013). Las trampas son ubicadas lo más cerca posible del agua a lo largo de las orillas de los ríos en secciones de 1 a 5 km, a una distancia de 100 - 300 m entre trampas contiguas, quedando activas por 10 noches consecutivas. Por lo general, como cebo se han utilizado huevos de gallina y varios rastros de aceite frito desde el límite del agua hasta el interior de la trampa.

Todos los ejemplares de visón americano capturados son sacrificados siguiendo las normas de la Ley Española de Bienestar Animal (Real Decreto n. 32/2007) y los protocolos de captura y sacrificio del visón americano del proyecto LIFE Lutreola Spain (LIFE Lutreola Spain 2017b). Una vez sacrificados, se procede a la extracción de muestras sanitarias, genéticas y biométricas. Por otro lado, los ejemplares de visón europeo son anestesiados, pesados, medidos, y marcados con un *transponder* subcutáneo, para posteriormente liberarlos una vez recuperado de la anestesia. Los parámetros biométricos no han sido utilizados en esta tesis.

Este método selectivo empleado permite determinar con una alta precisión la presencia o ausencia de visones en un área determinada. Además, permite obtener toda una serie de datos muy importantes sobre los propios ejemplares capturados, la distribución de la población y sobre el hábitat seleccionado (MAGRAMA 2013).

---

En general, los esfuerzos de captura de ambas especies de visones han variado dependiendo de la disponibilidad de financiación de los diferentes gobiernos con competencias en materia de conservación y gestión de fauna. Dentro del área de distribución del visón europeo, los muestreos se han realizado dos veces al año en el periodo pre-reproductivo (enero - marzo) y en el periodo post-reproductivo (septiembre - diciembre). Fuera del área de distribución del visón europeo donde el objetivo ha sido el control y seguimiento de poblaciones de visón americano, los trampeos de control se han realizado durante todo el año.

### **3.2 Área de estudio**

El área de estudio contempla distintas provincias españolas según el objetivo de cada capítulo. Para el análisis filogenético del visón americano se obtuvieron muestras de tejido de sies Comunidades Autónomas (Cataluña, La Rioja, Galicia, País Vasco, Navarra y Castilla-León) y una provincia (Castellón). Además, se obtuvieron muestras de tejido desde su rango nativo en Norteamérica procedentes de Alaska, British Columbia, Montana, New York, Texas y Wyoming (Capítulo 1). El estudio de dieta entre el visón americano y el europeo se basó en muestras de tejido de ejemplares de las cuencas del río Ebro y Llobregat, ubicadas en el centro norte y noreste del territorio español, respectivamente (Capítulo 2). Los datos de presencia/ausencia para el estudio de los patrones de detección entre visón americano y nutria se obtuvieron en el área de la cuenca del río Llobregat y sus afluentes, en Cataluña (Capítulo 3). Por último, el análisis de supervivencia del visón europeo incluyó registros provenientes de la cuenca del río Ebro y sus afluentes, en el norte del territorio español (Capítulo 4).

En términos generales, en las áreas mediterráneas de la Península Ibérica, el sistema hidrológico y el clima constituyen importantes características que afectan a la presencia, distribución y dispersión de las especies riparias como las estudiadas, especialmente por su influencia en el balance hídrico de los ríos. Los regímenes de

---

precipitación y caudal de los ríos mediterráneos están caracterizados por una alta variabilidad interanual, con grandes diferencias entre años húmedos y secos (Trigo *et al.* 2004). En general, los ríos estudiados se caracterizan por un régimen hidrológico típico mediterráneo, con una elevada variabilidad hídrica espacio-temporal lo cual les lleva a soportar desde periodos de sequía importantes y relativamente largos hasta avenidas de agua puntuales de distinta intensidad (Gasith & Resh 1999). Las riberas están sometidas a estas perturbaciones y su estado natural refleja en buena medida el régimen hídrico que prevalece.

De acuerdo a la clasificación climática de Köppen-Geiger (Peel *et al.* 2007), en España se encuentran tres categorías generales de clima: 1) Árido, en el sureste de España, principalmente en las provincias de Almería, Murcia y Alicante (semi-desierto y desierto), en el valle del Ebro y en Extremadura (estepas); 2) Templado, en la parte sur de España y en zonas costeras del Mediterráneo, este tipo de clima abarca aproximadamente el 40% del territorio español, mientras que en el norte (Sistemas montañosos: Cantábrica, Sistema Ibérico y Pirineos) la estación seca está ausente; y 3) Frío con invierno seco en la Cordillera Cantábrica, Sistema Ibérico, Sistema Central y Sierra Nevada.

En general, la precipitación media mensual indica una fuerte estacionalidad, especialmente en el sur de la mitad de España, y una clara disminución durante verano (AEMET 2011).

La vegetación ribereña de los ríos mediterráneos se caracteriza por una vegetación baja que ocupa un ancho variable y con un sustrato predominantemente arcilloso.

Entre los principales ríos que incluye este estudio se encuentran el río Ebro y el Llobregat. Ambos ríos, así como sus respectivos afluentes, se caracterizan por una fuerte oscilación anual del caudal hidrológico y sequías en periodo de estiaje, consecuencia del carácter típico del clima mediterráneo con un régimen de precipitaciones irregular.

---

### 3.3 Análisis de datos

Para analizar los datos empleados en esta tesis se aplicaron diferentes técnicas metodológicas de acuerdo a cada objetivo: a) análisis filogenéticos y de diversidad genética del visón americano para investigar la estructura filogeográfica y diversidad genética de poblaciones invasoras vs. nativas (Capítulo 1), b) análisis de isótopos estables para explorar la dieta entre el visón americano y el visón europeo (Capítulo 2), c) modelos de ocupación para explorar los patrones de detección entre el visón invasor y la nutria (Capítulo 3), y d) análisis de supervivencia del visón europeo para explorar su viabilidad poblacional (Capítulo 4). A continuación, se presentan las principales características de cada una de las metodologías empleadas en esta tesis, las cuales serán detalladas luego en cada uno de los capítulos.

#### 3.3.1 Análisis filogenéticos y de diversidad genética

Los marcadores moleculares (secuencias de un gen o región del ADN de interés) constituyen una poderosa herramienta para estudiar la diversidad genética en una especie y trazar su historia evolutiva, a través de su patrón filogeográfico (Grivet & Noyer 1999). Entre los marcadores moleculares, el ADN mitocondrial (ADNmt) ha sido el más utilizado en estudios de poblaciones animales (Avise *et al.* 1987), debido a que, además de no recombinar, presenta una elevada tasa de mutación y su herencia es casi exclusivamente materna (Harrison 1989).

El análisis filogeográfico comprende, en sentido estricto, el análisis espacial de los linajes genéticos para reconstruir la historia evolutiva de una especie, y con ello, conocer los procesos históricos que pueden ser responsables de las distribuciones geográficas contemporáneas de los individuos (Avise *et al.* 1987). La filogeografía permite establecer los patrones históricos de distribución de las especies a través de sus genes, mediante el uso de marcadores moleculares (Vázquez-Domínguez 2002). En general, los análisis filogeográficos están contextualizados en el análisis de

---

secuencias de ADNmt, el cual permite inferir los aspectos históricos que han modelado la diversidad de los linajes genealógicos de las poblaciones en su distribución geográfica (Avise 2000).

La reconstrucción filogeográfica se basa en la construcción de un árbol (clúster) filogenético, también llamado filograma o genealogía de genes, el cual revela las relaciones genealógicas derivadas de un marcador molecular, y su ubicación en un escenario geográfico (Hall 2004). Dado que los haplotipos o variantes de ADNmt registran una historia matrilineal de eventos mutacionales, es posible conectarlos filogenéticamente en un filograma (Avise 2000).

Existen protocolos para la construcción de filogramas, necesarios en un análisis filogeográfico. Estos se basan en algoritmos estadísticos como Matrices de Distancia Genética, Máxima Verosimilitud, Máxima Parsimonia y Estimación Bayesiana; su evaluación es mediante el remuestreo como Jackknife o Bootstrap y están configurados en diversos programas computacionales especializados (por ejemplo, RAxML y Haploviewer, utilizados en este estudio, Capítulo 1). Una vez obtenido el árbol filogenético, se puede superponer con el espacio geográfico en estudio. La longitud de sus ramas expresa la cantidad de cambio evolutivo. Su tipología permite detectar aquellas asociaciones significativas entre haplotipos y su ubicación geográfica, la cual puede ser explicada de acuerdo a tres procesos: i) aislamiento por distancia, debido al flujo génico restringido, ii) fragmentación histórica, y iii) expansión del área de distribución de las poblaciones, incluyendo eventos de colonización a distancia (Beebee & Rowe 2007, Vázquez Domínguez 2007).

### **3.3.2 Análisis de isótopos estables**

La mayoría de los elementos químicos que existen en la naturaleza se encuentran en dos o más formas, conocidas como isótopos. Los isótopos estables son átomos de

---

un elemento que tienen igual número de protones y electrones, pero diferente número de neutrones (diferente masa atómica) y no sufren decaimiento radioactivo. Estas diferencias en el número másico hacen que existan isótopos “pesados” y “ligeros” de un mismo elemento químico (Fry 2006). La forma más ligera es generalmente la más común (Hobson & Wassenaar 2008). Esta variación en la abundancia relativa de isótopos estables se debe a pequeñas diferencias de masa que provocan que los isótopos actúen de forma diferente en reacciones químicas y procesos físicos (Hoeffs 2004). El isótopo más ligero generalmente forma enlaces más débiles que el más pesado y tiende a reaccionar más rápido. Diferentes ambientes se caracterizan a menudo por señales isotópicas predecibles (West *et al.* 2006).

Las diferencias en la composición isotópica frecuentemente quedan registradas en los tejidos biológicos y en los perfiles geoquímicos, por esta razón, el análisis de isótopos estables ha sido durante décadas una herramienta ampliamente utilizada para reconstruir diferentes procesos ecológicos incluyendo la reconstrucción de la dieta (e.g., Caut *et al.* 2009), la evaluación de las variaciones espaciales y temporales en una dieta (e.g., Bolnick *et al.* 2002, Bodey *et al.* 2010) y la caracterización de la posición y el ancho de los nichos ecológicos (Bearhop *et al.* 2004, Newsome *et al.* 2007).

La abundancia de los isótopos estables en una muestra y en las razones isotópicas se determina a través de la espectrometría de masas de las relaciones isotópicas, las cuales se miden como desviaciones isotópicas de estándares internacionales y se expresan como valores delta ( $\delta$ ) partes por mil (%) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\delta X(\%) = \left[ \left( \frac{R_{sample}}{R_{standard}} \right) - 1 \right] * 1000$$

donde X es el elemento (por ejemplo,  $^{13}\text{C}$  o  $^{15}\text{N}$ ), y R es la relación de isótopos correspondiente (por ejemplo,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  o  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ). Los valores numéricos asociados

---

con la relación de isótopos (como  $\delta^{12}\text{C}$ ) son las masas atómicas de los isótopos y se explican por las diferencias en el número de neutrones contenidos en los núcleos del átomo. Por lo tanto, un aumento en los valores  $\delta$  denota un aumento en la cantidad del componente del isótopo más pesado; mientras que una disminución en los valores denota una disminución en el contenido de isótopos pesados (Peterson & Fry 1987).

Varios elementos químicos pueden tener más de una forma isotópica de masa molecular diferente. El examen de las proporciones isotópicas estables de las diversas formas de oxígeno, hidrógeno, azufre y estroncio han ayudado a revelar importantes conocimientos sobre ecología y biología de plantas y animales (e.g., Crawford *et al.* 2008), pero los dos más comúnmente utilizados y más abundantes en la naturaleza son el carbono (C) y el nitrógeno (N) (Ehleringer & Osmond 1989). Las variaciones en la señal isotópica del carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) proporciona información sobre la principal fuente de carbono utilizada, por ejemplo, las plantas C3 y C4 tienen diferentes señales isotópicas de carbono. Las plantas con diferentes modos de fotosíntesis exhiben diferentes proporciones de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  (Griffith 1991) y los alimentos derivados de fuentes marinas a menudo tienen diferente composición isotópica que los alimentos derivados de fuentes terrestres y dulceacuícolas (Chiscolm *et al.* 1982). Por lo tanto, las diferencias en  $\delta^{13}\text{C}$  entre especies indican diferentes dietas y distinguen, por ejemplo, entre poblaciones que se alimentan de presas acuáticas o terrestres (Kelly 2000, Bodey *et al.* 2010). Por otro lado, la señal isotópica del nitrógeno ( $\delta^{15}\text{N}$ ) de los consumidores indica la posición trófica de la especie en el ecosistema (Michener & Schell 1994, Kelly 2000). Por lo tanto, diferentes valores de  $\delta^{15}\text{N}$  reflejan una posición diferente en la cadena alimentaria y dietas distintas (Boecklen *et al.* 2011).

El uso de isótopos estables proporciona ciertas ventajas respecto a los análisis convencionales de dieta (análisis de restos fecales/excrementos o contenido estomacal), principalmente porque permite conocer los recursos que realmente han sido asimilados y hacer una descripción de la dieta considerando distintos tiempos

---

de integración al utilizar tejidos con diferentes tasas metabólicas (Petersen & Fry 1987, Hobson *et al.* 1996, Caut *et al.* 2009). El análisis de isótopos estables ha sido desarrollado para cuantificar la importancia de múltiples fuentes de alimentos, incluyendo reconstrucción de la dieta (Caut *et al.* 2009), evaluar las variaciones espaciales y temporales en una dieta (Bolnick *et al.* 2002, Bodey *et al.* 2010), caracterizar la posición y amplitud del nicho trófico (Bearhop *et al.* 2004, Newsom *et al.* 2007) y determinar la plasticidad de la dieta y del hábitat de las especies invasoras (Bodey *et al.* 2011).

Este método requiere utilizar proporciones isotópicas estables del tejido del consumidor (pelos, plumas, vibriras, garras, sangre, hígado, hueso, etc.) y también utilizar las proporciones de isótopos estables de posibles presas, geología local o patrones de precipitación (e.g., West *et al.* 2006). Las señales isotópicas de las presas se verán reflejadas en la de sus consumidores, transmitiéndoles dichas señales a lo largo de la cadena trófica, desde los productores a los consumidores. Para detectar la contribución de las posibles fuentes de alimento, es necesario que éstas puedan ser distinguibles isotópicamente y se conozca el factor de discriminación trófica, el cual es el cambio de las razones isotópicas entre consumidores y presas (DeNiro & Epstein 1981). Los modelos de mezcla (Phillips & Gregg 2003) a menudo se aplican para interpretar estos resultados y, más recientemente, se han desarrollado soluciones bayesianas para estos análisis (e.g., SIAR *Stable Isotope Analysis in R*, Parnell *et al.* 2010) como los que han sido utilizados en esta tesis (Capítulo 2). Los modelos de mezcla constituyen una herramienta útil para cuantificar la importancia de varias especies de presas en la dieta de un depredador (Inger *et al.* 2006).

### 3.3.3 Modelos de Ocupación

Comprender los cambios en la proporción de sitios ocupados por una especie de interés ha sido ampliamente estudiado en las últimas décadas debido a sus

---

implicancias para la conservación y gestión de especies (Mackenzie *et al.* 2006). Sin embargo, las especies no siempre son detectadas en una unidad de muestreo, incluso cuando están presentes, lo cual dará como resultado estimaciones sesgadas de su ocupación (Mackenzie & Royle 2005). Por lo tanto, las inferencias con respecto a la influencia de las características del sitio en la ocupación serán difíciles o imposibles de discernir de manera confiable (e.g., Gu & Swihart 2004).

Los modelos de ocupación resuelven este problema y generan estimaciones imparciales de la ocupación de una especie y sus parámetros relacionados. Estos modelos tienen como finalidad estimar la proporción de sitios ocupados por una especie y fueron desarrollados para resolver los problemas creados por la detectabilidad imperfecta (MacKenzie *et al.* 2002, 2003, 2004).

La información necesaria para utilizar modelos de ocupación es una secuencia de detecciones y no detecciones en un sitio determinado para cada especie (Mackenzie *et al.* 2006). Estos registros, denominados “historia de detección”, se pueden convertir en sentencias matemáticas. Suponiendo que los sitios son independientes, el producto de todos los enunciados matemáticos (uno para cada posible historial de detección) forma la probabilidad del modelo para los datos observados, y se utilizan técnicas de máxima verosimilitud para estimar los parámetros del modelo (Bailey & Adams 2005). Los métodos de máxima verosimilitud incorporados en el programa PRESENCE o MARK se utilizan para obtener estimaciones de ocupación y detectabilidad (MacKenzie *et al.* 2002).

Las investigaciones de los patrones de ocupación y detección de una o varias especies pueden basarse en datos de una sola temporada o en datos acumulados a lo largo de los años (Mackenzie *et al.* 2006).

El modelo clásico de una estación desarrollado por Mackenzie *et al.* (2002) se basa en la estimación dos parámetros fundamentales: la ocupación ( $\phi$ ) y la detección ( $p$ ). La probabilidad de ocupación se define como la proporción de sitios ocupados por una especie objetivo, mientras que la probabilidad de detección puede ser

---

interpretada como la probabilidad de detectar a la especie en un determinado registro, dado que la especie está presente en el sitio (Mackenzie *et al.* 2006). La probabilidad de detección es un parámetro importante cuando el objetivo está orientado a la gestión de especies, ya que permite corregir errores asociados con la subestimación o sobreestimación de la presencia de la especie en un determinado sitio, y con ello, ajustar el esfuerzo de muestreo a la población estudiada y adaptar las estrategias de manejo (Tyrrell *et al.* 2009, Santulli *et al.* 2014, Farris *et al.* 2015).

Estos modelos admiten la incorporación de variables específicas de un sitio o del muestreo. Por ejemplo, factores ambientales como el tipo de hábitat o las condiciones climáticas pueden influir en la ocupación y la detectabilidad de las especies dentro de un período en un registro dado (Gu & Swihart 2004, Mackenzie *et al.* 2004). La detección puede variar con las características del sitio (e.g., variables del hábitat) o las características de cada registro (e.g., condiciones climáticas), mientras que la ocupación se relaciona solo con las características del sitio.

Como todo modelo, los modelos de ocupación de una estación poseen ciertos supuestos: 1) el sistema está demográficamente cerrado a los cambios en el estado de ocupación del sitio durante el período de muestreo (es decir, una especie no puede colonizar/inmigrar a un sitio, ni extinguirse/emigrar localmente de ese sitio durante el curso del estudio); 2) las especies no son detectadas falsamente; 3) la detección de la especie objetivo en un sitio es independiente de la detección de la especie en otros sitios (Mackenzie *et al.* 2006).

Estos modelos de ocupación se han perfeccionado para investigar los patrones de coocurrencia entre especies a través de datos de detección (Mackenzie *et al.* 2004, Richmond *et al.* 2010). Estos modelos se denominan *modelos de ocupación de dos especies*, los cuales estiman un factor de interacción de especies que es la razón

---

entre la probabilidad que dos especies coexistan y lo que se esperaría bajo una hipótesis de independencia de ocurrencia.

Además de los parámetros señalados anteriormente, un modelo de ocupación de dos especies estima la ocupación y la detección en función de la presencia ( $r$ ) o ausencia de las especies ( $p$ ) que coexisten, y por lo tanto, puede ser útil para detectar el impacto de una especie sobre la otra. De este modo, es posible, por ejemplo, evaluar exclusión competitiva entre dos especies (e.g., Santulli *et al.* 2014), o bien determinar posibles diferencias en los patrones de detección cuando ocurren simultáneamente y cuando no (e.g., Lazenby & Dickman 2013), el cual constituye el objetivo del capítulo 3.

### **3.3.4 Análisis de supervivencia**

La estimación de la supervivencia es uno de los parámetros con mayor impacto en la demografía de una población y sus patrones temporales son clave para monitorear la viabilidad de una población (Altwegg *et al.* 2003, Lukacs & Burnham 2005), esto es especialmente crítico en aquellas especies en declive o en peligro de extinción.

El modelo de Cormack-Jolly-Seber (CJS) permite estimar la supervivencia como la probabilidad de supervivencia entre registros sucesivos dado que la emigración temporal y/o permanente es  $> 0$  (Horton & Letcher 2008). Los modelos como el CJS se aplican mejor durante varios años para documentar las tendencias poblacionales y son flexibles porque no presuponen un diseño de muestreo estricto. Este modelo se basa en recapturas de animales vivos asumiendo una población abierta (Lebreton *et al.* 1992), como el aplicado a nuestra población de estudio en el Capítulo 4.

---

La unidad básica de análisis en estos modelos es la historia de captura, la cual corresponde a una secuencia de 0s y 1s que indican cuándo se vio un animal en particular en el experimento.

Los modelos CJS permiten estimar la supervivencia aparente ( $\phi$ ) y la probabilidad de recaptura ( $p$ ). La supervivencia aparente es la probabilidad de que un individuo sobreviva de un año a otro y permanezca en la población estudiada. La probabilidad de recaptura es la probabilidad de que un individuo vivo en la población de estudio, en el momento de una muestra en particular, sea capturado en esa muestra (Cooch & White 2015).

En general, los modelos CJS poseen las siguientes asunciones: 1) los animales retienen sus marcas durante todo el experimento y éstas son leídas correctamente, 2) el muestreo es instantáneo, 3) las probabilidades de supervivencia son las mismas para todos los animales (marcados y no marcados) entre cada par de ocasiones de muestreo, 4) la probabilidad de captura es la misma para todos los animales (marcados y no marcado) en cada ocasión de muestreo ocasión, y 5) el área de estudio es constante (Cooch & White 2015).



# CAPÍTULO 1





---

## **Spatial mixing of mitochondrial lineages and greater genetic diversity in some invasive populations of the American mink (*Neovison vison*) compared to native populations**

Karla García<sup>1</sup> \*, Yolanda Meleo<sup>2</sup>, Santiago Palazón<sup>1, 3</sup>, Joaquim Gosálbez<sup>1</sup> and Jose Castresana<sup>4</sup>

1 Department of Evolutionary Biology, Ecology and Environmental Sciences, University of Barcelona, 08028 Barcelona, Spain.

\*Correspondence: karla.garcia.cl@gmail.com

2 CREAF, 08193 Cerdanyola del Vallès, Spain.

3 Fauna and Flora Service, Department of Territory and Sustainability, Government of Catalonia, 08017 Barcelona, Spain.

4 Institute of Evolutionary Biology (CSIC-Universitat Pompeu Fabra), 08003 Barcelona, Spain.

**Published in Biological Invasions (2017)**

---

**Abstract**

The genetic characteristics of introduced populations have a relevant impact on their ability to establish and spread. The American mink (*Neovison vison*), native to North America, is an important invasive species in the Iberian Peninsula. Here, we used mitochondrial DNA sequences data to investigate the genetic diversity and phylogeographic structure of invasive vs. native populations of this species. We also evaluated whether genetic diversity in invasive populations could be explained by the genetic characteristics of the native sources from which they derived. Phylogenetic analysis revealed two major lineages in the native range, which indicated a clear separation between western and eastern populations. On the contrary, we found no evidence of genetic structure in the invasive range. This was probably the result of the diverse origins of the released specimens and the rapid expansion and encounters of the introduced populations. We detected spatial mixing of both North American lineages in several sampling localities of the north central area of the Iberian Peninsula, giving rise to high levels of genetic diversity in some areas compared to North American populations. This could potentially lead to higher fitness of these individuals and thus increase the population viability and invasiveness of this species. These results point to the need to better study the populations in which lineages mix and, if necessary, intensify control efforts in them.

**Keywords:** American mink, mitochondrial genes, genetic diversity, native range, Iberian Peninsula.

---

## Resumen

Las características genéticas de las poblaciones introducidas tienen un impacto relevante en su capacidad de establecerse y propagarse. El visón americano (*Neovison vison*), nativo de Norteamérica, es una importante especie invasora en la Península Ibérica. Aquí, utilizamos datos de secuencias de ADN mitocondrial para investigar la diversidad genética y la estructura filogeográfica de las poblaciones invasivas frente a las nativas de esta especie. También evaluamos si la diversidad genética en poblaciones invasoras podría explicarse por las características genéticas de las fuentes nativas de las que derivaron. El análisis filogenético reveló dos linajes principales en el rango nativo, lo que indica una clara separación entre las poblaciones occidental y oriental. Por el contrario, no encontramos evidencia de estructura genética en el rango invasor. Esto fue probablemente el resultado de los diversos orígenes de los especímenes liberados y la rápida expansión y encuentros de las poblaciones introducidas. Detectamos una mezcla espacial de ambos linajes de Norteamérica en varias localidades de muestreo de la zona norte central de la Península Ibérica, dando lugar a altos niveles de diversidad genética en algunas áreas en comparación con las poblaciones de Norteamérica. Esto podría potencialmente conducir a una mejor condición física de estos individuos y así aumentar la viabilidad de la población y la invasividad de esta especie. Estos resultados apuntan a la necesidad de estudiar mejor las poblaciones en las que se mezclan los linajes y, si es necesario, intensificar los esfuerzos de control en ellos.

---

## Introduction

Identifying the biological attributes of successful invaders is among the most pressing questions yet to be answered (Sol *et al.* 2012). Although there is evidence that species differ in their invasion potential, controversy exists about the characteristics that differentiate successful and unsuccessful invaders (Blackburn *et al.* 2009). Other studies of introduced species show that genetics might play an integral role in the success of an invasion, and they suggest that this role is determined by the quality of the genetic variation introduced, rather than the total quantity of genetic variation (see Dlugosch *et al.* 2015). The genetic diversity of founding populations, along with potential increase in genetic diversity from subsequent introductions, may be important to the successful establishment and spread of introduced species (Suarez & Tsutsui 2008; Sol *et al.* 2012). Nevertheless, there is no consensus on whether invaders stemming from multiple native origins are more successful than those from single populations, or whether demographic bottlenecks may limit the invasion success of a species (Edelaar *et al.* 2015; Estoup 2016).

Overall, introduced populations lose genetic variation relative to their source populations (Dlugosch & Parker 2008). However, numerous introduction events and a greater number of source populations may buffer against such genetic losses (Kolbe *et al.* 2004; Dlugosch & Parker 2008; Uller & Leimu 2011). In fact, in some cases successful invaders show large increases in genetic diversity in the introduced range, apparently caused by mixing of populations from different source regions (Genton *et al.* 2005; Novak & Mack 1993). Therefore, it is crucial to obtain information on the phylogeographic structure and genetic diversity throughout the native and introduced ranges to understand the factors affecting genetic diversity during invasion (e.g. multiple introduction events or admixture levels among populations) and the interaction between genetic diversity and invasive potential (Edelaar *et al.* 2015).

---

The American mink (*Neovison vison*) is a successful invader with a native range restricted to North America and with invasive populations distributed across Europe, Asia and South America (Bonesi & Palazón 2007; Dunstone 1993). In Europe, this species was introduced for commercial fur farming during the 20th century. Populations established by escaped individuals are now naturalised in freshwater and coastal ecosystems (Bonesi & Palazón 2007), with detrimental consequences for the abundance of many native species of prey and competitors of conservation importance (Bonesi *et al.* 2004; Harrington *et al.* 2009; Macdonald & Harrington 2003; Melero *et al.* 2012a), including critically endangered species such as the European mink (*Mustela lutreola*) (Maran *et al.* 2016) and the Pyrenean desman (*Galemys pyrenaicus*) (Fernandes *et al.* 2008). Fur farms were established in many countries and harboured mink stocks from different parts of their native range. Because of the large scale and long-term nature of this farming, the number of escapees, which started to breed in the wild and became the founder individuals of feral populations, was very high (Bonesi & Palazón 2007). In Spain, mink farming started at the end of the 1950s and the number of farms reached a peak in the 1980s with about 400 farms concentrated mainly in the North West (Galicia) (Ruiz-Olmo *et al.* 1997). Today, feral mink populations are widely distributed across almost all of the north and centre of the Iberian Peninsula. During the last few decades, these populations experienced a rapid expansion and increased the number of nuclei in almost every colonised area (Ruiz-Olmo *et al.* 1997; Santulli 2014). Although the number of mink farms in Spain was considerably reduced at the end of the 1980s, mink escapes from the last active farms are still ongoing (Bonesi & Palazón 2007).

In Europe, there is genetic information on feral American mink populations from several countries. Previous studies in Spain using microsatellite data determined that American mink populations from disjunct geographical areas appeared differentiated and not yet connected by gene flow (Lecis *et al.* 2008). In Scotland, Zalewski *et al.* (2009) and Fraser *et al.* (2013) found that landscape features restricted gene flow within this species. Other studies in Poland found that multiple

---

introductions determine the genetic structure of American mink populations (Zalewski *et al.* 2010) and that these populations exhibit high mitochondrial genetic diversity (Zalewski *et al.* 2011). A study in France using microsatellite data suggested recent admixture between populations that had recently encountered each other (Bifolchi *et al.* 2010). Similarly, in Sweden it was found, also using microsatellite data, that genetic diversity decreased over six consecutive years of mink culling as part of a population control programme (Zalewski *et al.* 2016).

Despite the importance of understanding the genetic diversity within the native populations for investigating the evolutionary dynamics of invasions, no phylogeographic study has been performed so far in the North American native range of the American mink. Therefore, many genetic studies performed thus far are difficult to interpret. We used mitochondrial DNA (mtDNA) sequence data from populations in the native range to elucidate whether invasive populations in the Iberian Peninsula have single or multiple origins from the North American sources. We aimed to determine the phylogeographic structure of native and invasive populations, and to evaluate whether mitochondrial genetic diversity observed in established invasive populations can be explained by genetic characteristics of native populations. We examined whether the genetic variability of the Iberian population represented only a small part of that in its native range, as expected for many invasive species or, due to the introduction history and particular origin of these populations, this genetic variability was larger. Overall, the study aims to provide recommendations for mink control in the Iberian Peninsula with respect to determining key control areas.

## Materials and methods

### Sample collection

We used hair and tissue samples from invasive populations provided by different Autonomous Communities of Spain. These samples were collected during population control operations conducted by the local administrations between 2007 and 2016 as part of eradication programs and were conserved in tubes containing

---

absolute ethanol (Table S1). A total of 105 samples from Catalonia (16), La Rioja (15), Galicia (12), Basque Country (20), Navarra (11), Castellon (7) and Castilla-Leon (24) were included in the study.

Moreover, tissue samples of 21 specimens from North America (Table S2) were obtained from different biological collections: University of Alaska Museum (12), Museum of Southwestern Biology (5) and Cornell University Museum of Vertebrates (4).

#### **DNA extraction, PCR and sequencing of mitochondrial DNA**

We extracted DNA using the QIAGEN DNeasy Blood and Tissue Kit, following the manufacturer's instructions, in a final elution volume of 100 µl. These extractions were carried out in a separated UV-irradiated area with dedicated equipment. Samples were incubated in a lysis buffer with proteinase K at 56°C overnight to ensure maximum tissue lysis.

For each sample, we amplified a 573 bp fragment of the 5' distal part of the mitochondrial DNA control region (D-loop). For this purpose, we designed novel primers using complete mitochondrial sequences of several mustelids: *Neovison\_tRNA\_pro* (5'-ATC AGC ACC CAA AGC TGA CAT TCT A-3') and *Neovison\_Dloop\_556r* (5'-TGT GTA TGT CCT GTG ACC ATT GAC T-3'). PCR reactions were set up in a dedicated PCR clean room that is physically separated from post-PCR working areas and regularly decontaminated by UV-irradiation. PCR reactions were performed in a final volume of 25 µl, containing 2–4 µl of genomic DNA, 1 µM of each primer, 0.2 mM dNTPs, 0.75 units of Promega GoTaq DNA polymerase and 17.5 µM of bovine serum albumin under the following conditions: an initial denaturation of 2 min at 95°C, followed by 35 cycles of denaturation (30 s at 95°C), annealing (30 s at 54°C) and extension (30 s at 72°C). PCR products were visualised by electrophoresis in a 1% agarose SYBR-Safe (Invitrogen) stained gel.

---

PCR products were purified using ExoSAP-It (Affymetrix), and both strands were sequenced using the original PCR primers at Macrogen Europe (Amsterdam, The Netherlands). Sequences were inspected, trimmed and assembled using Geneious Pro (Biomatters Ltd.). All sequences obtained in this study were deposited in European Nucleotide Archive/GenBank under accession numbers LT854061-LT854186.

### **Phylogenetic and genetic diversity analyses**

Consensus sequences were aligned using MAFFT version 7.130 (Katoh *et al.* 2002) with default settings. Due to the presence of several gaps and ambiguous positions in a very specific region of the alignment, we manually removed positions 92 to 110, thus leaving 554 bp in the alignment.

A maximum likelihood phylogenetic tree was calculated with RAxML version 8.0 (Stamatakis 2014) using a general time reversible substitution model and rate heterogeneity modelled with a gamma distribution plus a proportion of invariable sites, as recommended by the program. From this tree, a haplotype genealogy was generated using Haplovewer 1.0 (Salzburger *et al.* 2011).

The nucleotide diversity ( $\pi$ ) was estimated using the R package PEGAS (Population and Evolutionary Genetics Analysis System, Paradis 2010). To analyse the variation in nucleotide diversity across the Iberian Peninsula, we used a visualization method that does not require the pre-definition of populations. The nucleotide diversity was estimated at each sampling location by using all samples present within 30 km of the location. This allowed the estimation of genetic diversity from a sufficient number of samples at each point, yet the resolution was sufficient to distinguish regional differences in genetic diversity. QGIS (<http://qgis.osgeo.org>) was used to plot the nucleotide diversity in the map. In the case of the North American native range, it was not possible to apply this analysis due to the limited number of samples. Therefore, we selected three areas with a sufficient number of samples: North West (British Columbia, six samples), South

---

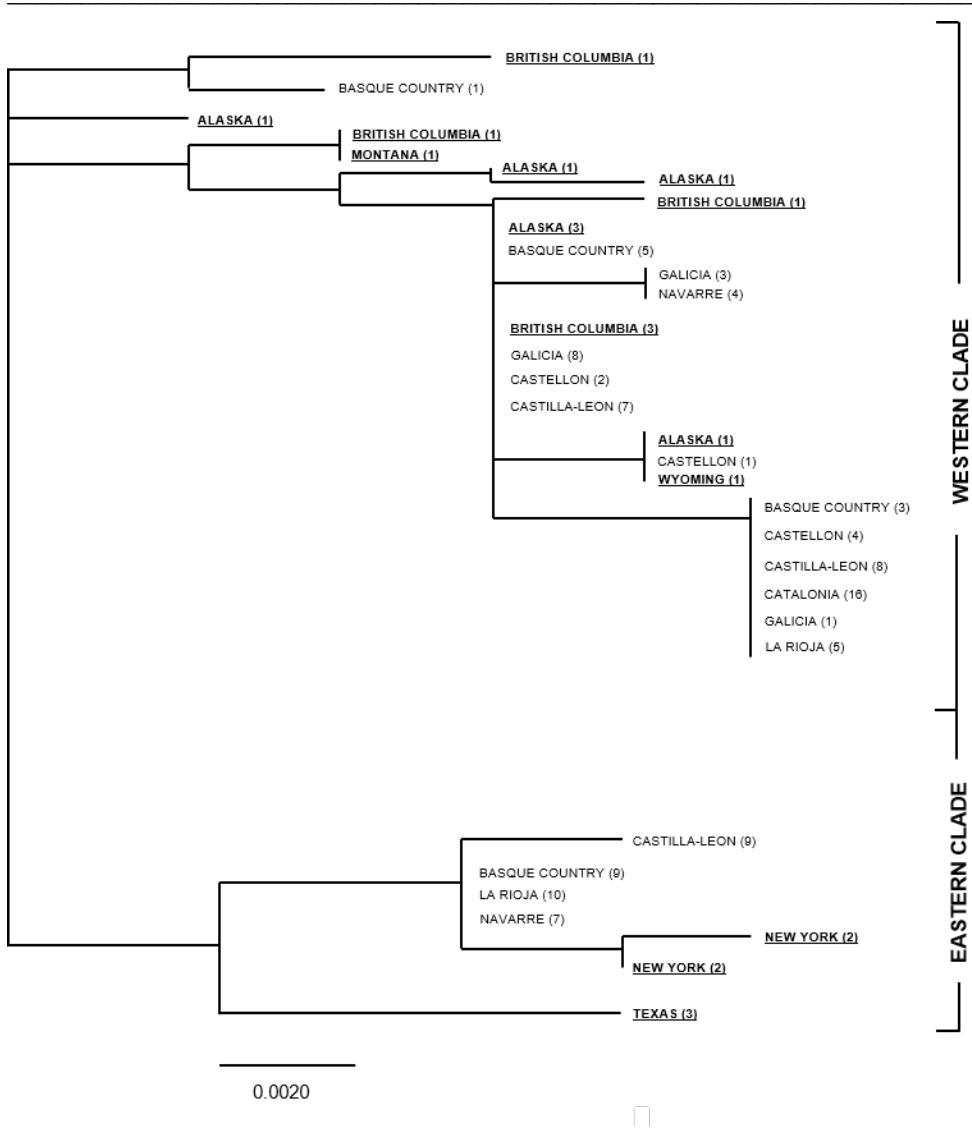
East (Texas, three samples) and East (New York, four samples), in order to estimate the nucleotide diversity in these specific areas.

## Results

### Mitochondrial phylogeographic analysis

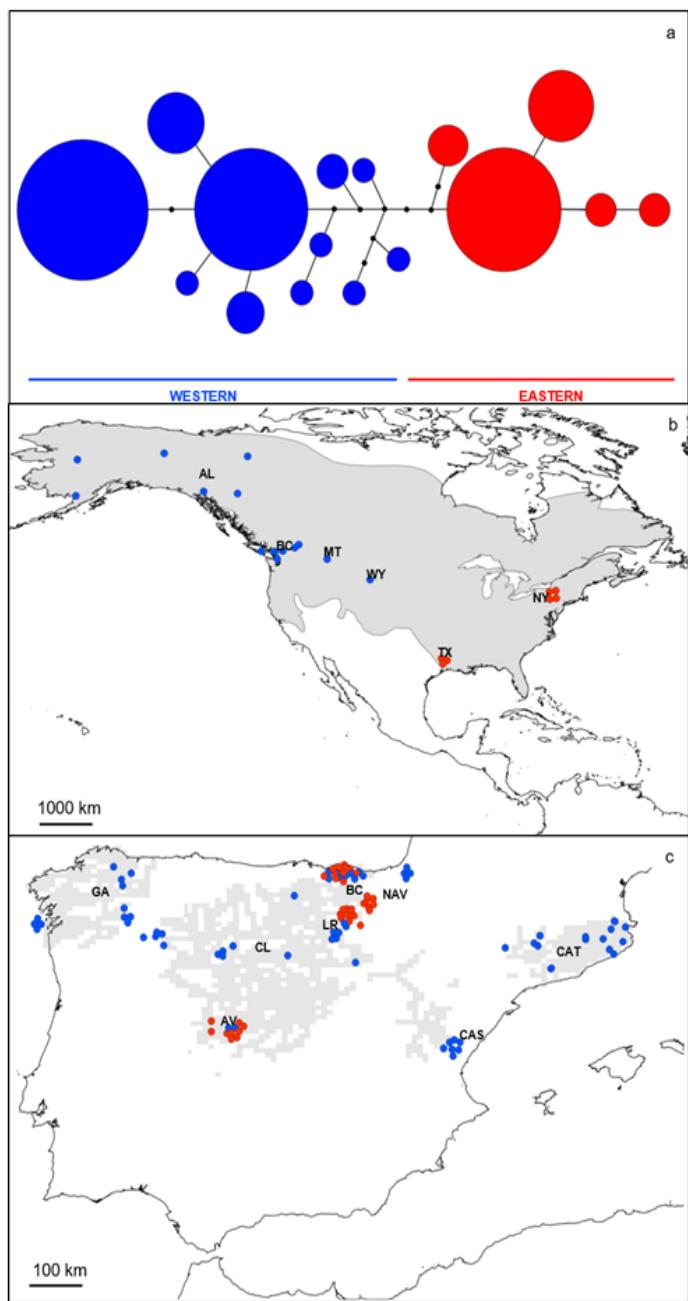
A total of 16 different haplotypes of the mitochondrial control region were detected in 126 American mink, 11 of which were recorded in North America and 7 in the Iberian Peninsula (Fig. S1). The maximum likelihood phylogenetic tree showed two large clades found throughout western and eastern North America, respectively (Fig. 1). The haplotype genealogy reconstructed from the maximum likelihood tree revealed the same two large groups (Fig. 2a). As indicated in this genealogy, two mutations unambiguously differentiate both clades. The map of samples clearly shows the geographical separation of the two clades in North America (Fig. 2b). In the Iberian Peninsula, we found more samples belonging to the western than to the eastern clade of North America (68 vs. 37 samples, respectively). However, samples belonging to both clades were detected together in four regions of the north central area of the Iberian Peninsula: Basque Country, La Rioja, Navarra and Avila (South of Castilla-Leon) (Fig. 2c).

In addition, the phylogeographic structure was also different at a finer scale in the native and invasive ranges (Fig. S2). While there was evidence of a geographical pattern for the individuals collected from the native range, with individual haplotypes concentrated in a single locality or close localities (Fig. 1), many haplotypes were widely dispersed in the Iberian Peninsula (Fig. 1, Fig. S1), showing that haplotypes are not informative with regards to the geographical origin of any sample.



**Figure 1.** Maximum-likelihood phylogenetic tree derived from the partial mitochondrial control region sequences for 126 American mink, with eastern and western clades indicated. The number of individuals per locality is shown in brackets. Sequences from the native range are underlined. The scale indicates number of substitutions per position.

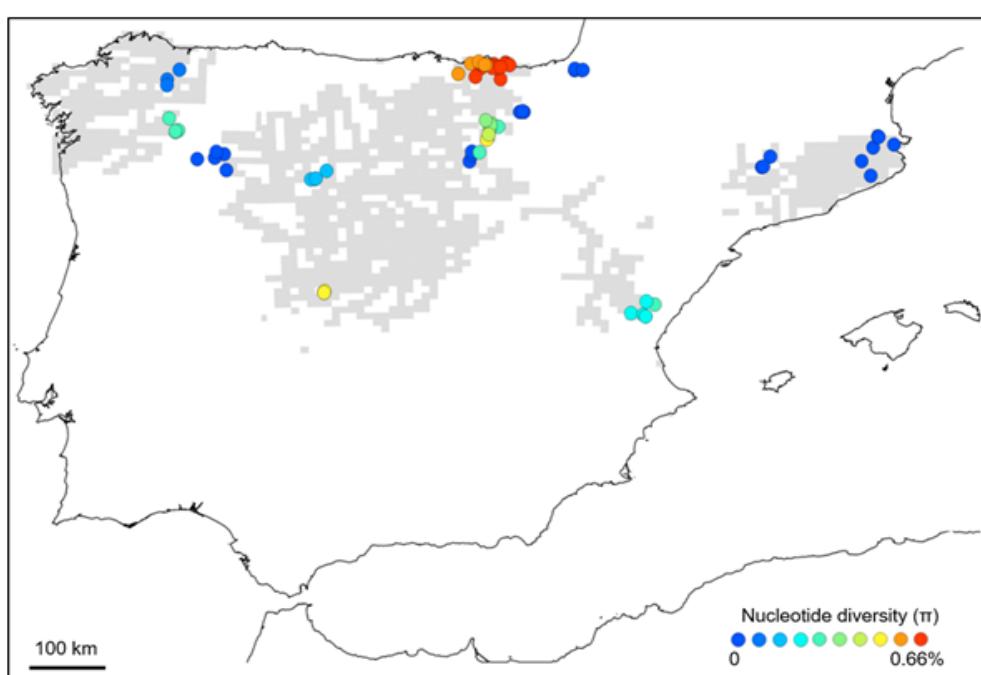
**Figure 2.** Phylogeographic analysis of the mitochondrial control region sequences of *Neovison vison*. (A) Haplotype genealogy based on the maximum-likelihood tree. Circle sizes are proportional to the haplotype frequency and small filled circles are inferred haplotypes not present in the sample. (B, C) Map of native (B) and invasive (C) ranges showing the 126 samples of *N. vison* used in this study and blue colours represent the eastern and western clades, respectively. Grey areas represent the original distribution of *N. vison* downloaded from the IUCN Red List of Threatened Species website (Reid et al. 2016) (B) and the occupancy area of mink in the Peninsula (MAGRAMA, 2013) (C). AL: Alaska, BC: British Columbia, MT: Montana, WY: Wyoming, TX: Texas, NY: New York, GA: Galicia, CL: Castilla-Leon, AV: Avila, LR: La Rioja, BC: Basque Country, NAV: Navarra, CAS: Castellon, CAT: Catalonia.



---

### Mitochondrial genetic diversity

The global genetic diversity of the American mink estimated with the control region was relatively low for all samples, with a value of nucleotide diversity of  $\pi = 0.68\%$ , whereas the nucleotide diversity for North America and the Iberian Peninsula was 0.78% and 0.64%, respectively (haplotype diversity was 0.81, 0.92 and 0.76, respectively). However, the nucleotide diversity varied considerably when different localities and populations were considered separately. Among the three areas of the native range in which  $\pi$  was calculated separately, the population of British Columbia showed the highest nucleotide diversity (0.53%) whereas New York (0.12%) and Texas (0%) registered lower values. In agreement with the spatial mixing of clades in the central areas of the Iberian Peninsula, the map derived from the genetic diversity values of the samples around each locality clearly showed maximum levels of genetic diversity in these regions (Fig. 3). When values of several sampling localities were averaged, the Basque population concentrated the highest nucleotide diversity (0.61%), followed by Avila (0.50%) and La Rioja (0.25%). From these areas, genetic diversity decreased towards the remainder of the mink distribution, reaching values of 0% in some areas.



**Figure 3.** Map plotting genetic diversity ( $\pi$ ) in different sampling localities of *Neovison vison* in the Iberian Peninsula. Colours of the sample points indicate the nucleotide diversity according to the provided scale.

## Discussion

Our results show that the establishment of the invasive American mink population in the Iberian Peninsula is the product of the introduction of individuals from the two main genetic lineages found in western and eastern North America. In the invasive range, these lineages registered a complete lack of phylogeographic structure. This was probably the result of the additive effect of multiple continuous introductions, and the rapid expansion and encounters of the introduced populations. Overall, genetic diversity was lower in the introduced than in the native populations, although in some introduced populations diversity was higher to any one native population, at least with respect to the reduced native area analysed so far. These results provide evidence for the potential of introduced populations to

---

maintain or increase the genetic diversity.

### Phylogeographic patterns

Phylogenetic analysis revealed two large native phylogeographic lineages, which indicated a clear separation between the western and eastern populations in North America. Therefore, the relationship between the mtDNA haplotypes and the location from which they were sampled provides evidence of phylogeographic structure among populations of American mink in their native range. Unfortunately, the lack of information about sequence data of mtDNA of the American mink in North America did not allow our results to be compared with those of similar studies. Other studies of plant and animal species from North America have illustrated a complex phylogeographic history of the biota of this region (Shafer *et al.* 2010; Soltis *et al.* 2006). The data currently available suggest that vicariance, dispersal and the existence of refugia have worked in concert to produce the species' distribution and genetic divergence patterns of the region (Brunsfeld *et al.* 2001). Future research focused on filling the gaps by sampling at locations between the two clades seen in this work is required to achieve a deeper understanding of the evolutionary history of the American mink in its native range.

The pattern of spatial structure recorded in North America allowed for a more precise identification of the origin of invasive populations in the Iberian Peninsula. Our analysis revealed that there were introductions from both western and eastern regions in North America. Additionally, the distribution of the invasive haplotypes in the Iberian Peninsula suggests that at least the north central area of the Iberian Peninsula (populations of the Basque Country, La Rioja, Navarra and Avila) experienced multiple introductions from both regions of North America, while the western and eastern Iberian populations (Galicia, Catalonia and Castellon) originated from introductions from western North America, contrary to what was previously believed (Palazón *et al.* 1997). This situation most likely occurred as a result of the multiple origins of mink from different farms and the fast range

---

expansion of the occupied area since their introduction in the 1960s-1970s. It is also likely that farms received founder individuals from different source populations in the native range.

The occurrence of the two main mitochondrial lineages in the north central area of the Iberian Peninsula suggests that the intermixing of individuals of both lineages may potentially take place. However, it will be necessary to perform analysis with multiple genomic markers in the future to determine whether individuals belonging to these two lineages effectively interbreed and, if so, to estimate admixture levels in these populations (Pritchard *et al.* 2000). It is also important to note that, due to the limited information derived from the mitochondrial DNA, which only reflects the maternal lineage, the existence of some admixture levels in other Iberian populations cannot be discarded until genomic analyses are performed. In fact, a previous study in the Iberian Peninsula based on microsatellites showed that the highest admixture levels between populations were found in the Basque Country population, which in principle is consistent with our results (Lecis *et al.* 2008). However, since no native specimens were available in that study, it was not possible to determine how the identified populations were related to the source populations. This confirms that it is crucial to obtain samples from the native range to shed light on the relationship between invasive and native populations and to identify potential source populations.

### **Genetic diversity in the native versus invasive range**

Based on mitochondrial DNA control region sequence data, our results provide evidence that the introduced American mink populations in the Iberian Peninsula have overall less genetic diversity than native mink populations in North America. These results are in agreement *a priori* with the “genetic paradox” (Allendorf & Lundquist 2003; Estoup *et al.* 2016), which predicts that low genetic variability can be expected in invasive species because of the loss of rare alleles, as a result of the founder effect and population bottlenecks (Allendorf & Lundquist 2003; Grapputo *et al.* 2005). Nevertheless, when analysed at the population level within each range,

---

nucleotide diversity in the population of the Basque Country and La Rioja in the Iberian Peninsula was found to be greater than that recorded for North American populations. The pattern registered here is consistent with other studies (e.g. Edelaar *et al.* 2015; Genton *et al.* 2005; Roman & Darling 2007), providing another example of an invasive species retaining genetic diversity. Similarly, previous studies have demonstrated that the genetic diversity of invasive populations in their new range may be increased through the admixture of lineages from multiple native populations (Keller & Taylor 2010; Kolbe *et al.* 2008). As already indicated, the pattern observed in the Iberian Peninsula could be the result of multiple introductions of mink deriving from different local lineages of North America, their rapid expansion, and the encounter of lineages in the north central area of the Iberian Peninsula that may potentially hybridise. However, we cannot discard that cross-breeding of the different North American subspecies or populations took place within farms (Belliveau *et al.* 1999; Dunstone 1993).

High values of genetic diversity have also been registered in some mink population of Poland (Zalewski *et al.* 2011). In this case, mean  $\pi$  for all feral mink analysed was 0.94%, with values for different populations ranging between 0 and 1.41%. Although the mitochondrial control region fragment used in that work was different to ours and a direct comparison cannot be performed, the values found in some populations in Poland were much higher than in others. It is therefore likely that the same processes suggested for the Iberian Peninsula (i.e. multiple introductions, rapid expansion and encounters of individuals of different lineages) can be applied to other areas with invasive populations of American mink.

### Implications for management

This study provides an understanding of the genetic structure and diversity of the populations of the American mink in the Iberian Peninsula, which can be used to identify key control areas. Thus, one way to improve the effectiveness of management programmes of an invasive species such as the American mink is by incorporating molecular-based information into these programs (Hampton *et al.*

---

2004). In this regard, the current spatial mixing of individuals from two different native lineages in the north central area of the Iberian Peninsula (Basque Country, La Rioja, Navarra and Avila populations) and the potential interbreeding between such lineages that may take place could translate, among other outcomes, into a higher fitness in these individuals (e.g. Vandewoestijne et al. 2008). In fact, previous studies have found a positive correlation between genetic diversity and colonization success as measured by the reproduction rate (e.g. Crawford & Whitney 2010). Interestingly, Melero *et al.* (2012b) found that mink of the Basque Country were bigger in size than mink of the rest of the Iberian Peninsula. According to Melero *et al.* (2012b), this phenotypic variation could be due to a mixing of individuals from different origins, among other possibilities. If the link between spatial mixing of mitochondrial lineages, genome admixture and higher fitness is demonstrated for some populations, then higher efforts to control and eradicate the American mink should be undertaken in such populations in order to impede or minimise their expansion.

Current controls of the American mink in the Iberian Peninsula focus on reducing their effects on ecosystems and biodiversity (i.e., areas with local populations of threatened species, wetlands where they can cause high mortalities in waterfowl and protected natural areas, etc.). In this regard, it is important to consider that the areas of the Iberian Peninsula with presence of both American mink lineages coincide with critical areas for the conservation of two of the most threatened mammals of the Iberian Peninsula, the European mink and the Pyrenean desman. The American mink compete successfully for habitat and prey with the European mink (Sidorovich *et al.* 1999; Sidorovich & MacDonald 2001), whose population of the North of Spain and South West of France is highly isolated from the rest of the distribution (Michaux *et al.* 2005). On the other hand, the populations of Pyrenean desman of the Central System have experienced a strong reduction in the last few years and are threatened with extinction. Although the reasons for this decline are not well known, predation by the American mink may have contributed to it

---

(Fernandes *et al.* 2008). Thus, the presence of the two native lineages of the American mink in the areas with these threatened species should be taken into account in future conservation plans due the putative higher expansive potential of the American mink in them.

The results of this work are in line with previous studies suggesting that mink control should also be directed to minimise the contact between genetically differentiated populations (Bifolchi *et al.* 2010; Fraser *et al.* 2013; Lecis *et al.* 2008; Robertson & Gemmell 2004), and so counteract a possible increase in mink fecundity and dispersal (Melero *et al.* 2015; Oliver *et al.* 2016). The present study has shown how molecular-based information obtained from the invasive range, together with that from the native range, was critical to characterise the sources from which the Iberian populations of the American mink originated. Further studies are now necessary to obtain more detailed information, particularly in areas where admixture of lineages may potentially occur, to help prioritise efforts to control and manage this invasive species.

### Acknowledgements

This work was financially supported by the research Project CGL2014-53968-P of the "Plan Nacional I+D+I del Ministerio de Economía y Competitividad" (Spain) to J.C., cofinanced with FEDER funds. K.G. was funded by a "Becas Chile-CONICYT" PhD studentship. We acknowledge the following institutions and administrations for samples: University of Alaska Museum (Mammal Collection), Museum of Southwestern Biology (Division of Mammals), Cornell University Museum of Vertebrates (Mammal Collection), Generalitat de Catalunya, Gobierno de La Rioja, Junta de Castilla y León, Xunta de Galicia (Dirección Xeral de Conservación da Natureza), Generalitat Valenciana (Centro de Recuperación de Fauna La Granja de El Saler) and Gobierno de Navarra. We wish to thank to all technicians of administrations involved in sample collection and management, in particular: Asun Gómez, Rafael Romero, Juan del Nido, Olga Alarcia, Gabriel de

---

Pedro and Iñigo Zuberogoitia, Gloria Giralda and José María Gil. We also thank Oliver Hawlitschek and Marina Querejeta for helpful comments on the manuscript.

## References

- Allendorf FW, Lundquist LL (2003) Population Biology, Evolution, and Control of Invasive Species. *Conserv Biol* 17:24–30. doi: 10.1046/j.1523-1739.2003.02365.x
- Belliveau AM, Farid A, O'Connell M, Wright JM (1999) Assessment of genetic variability in captive and wild American mink (*Mustela vison*) using microsatellite markers. *Can J Anim Sci* 79:7–16. doi: 10.4141/A97-115
- Bifolchi A, Picard D, Lemaire C, Cormier JP, Pagano A (2010) Evidence of admixture between differentiated genetic pools at a regional scale in an invasive carnivore. *Conserv Genet* 11:1–9. doi: 10.1007/s10592-008-9780-1
- Blackburn TM, Cassey P, Lockwood JL (2009) The role of species traits in the establishment success of exotic birds. *Glob Chang Biol* 15:2852–2860. doi: 10.1111/j.1365-2486.2008.01841.x
- Bonesi L, Chanin P, Macdonald D (2004) Competition between Eurasian otter *Lutra lutra* and American mink *Mustela vison* probed by niche shift. *Oikos* 106:19–26. doi: 10.1111/j.0030-1299.2004.12763.x
- Bonesi L, Palazón S (2007) The American mink in Europe: Status, impacts, and control. *Biol Conserv* 134:470–483. doi: 10.1016/j.biocon.2006.09.006
- Brunsfeld SJ, Sullivan J, Soltis DE, Soltis PS (2001) Comparative phylogeography of north- western North America: a synthesis. In: in J. Silvertown and J. Antonovics [Eds.], *Integrating ecology and evolution in a spatial context*, Blackwell Science, Oxford, UK. pp 319 – 339.
- Crawford KM, Whitney KD (2010) Population genetic diversity influences colonization success. *Mol Ecol* 19:1253–1263. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04550.x

- 
- Slugosch KM, Parker IM (2008) Founding events in species invasions: Genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Mol Ecol* 17:431–449. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03538.x
- Slugosch KM, Anderson SR, Braasch J, Cang FA, Gillette HD (2015) The devil is in the details: genetic variation in introduced populations and its contributions to invasion. *Mol Ecol* 24:2095–2111. doi: 10.1111/mec.13183
- Dunstone N (1993). *The Mink*. T&AD Poyser Ltd., London
- Edelaar P, Roques S, Hobson EA, Gonçalves Da Silva A, Avery ML, Russello MA, Senar JC, Wright TF, Carrete M, Tella JL (2015) Shared genetic diversity across the global invasive range of the monk parakeet suggests a common restricted geographic origin and the possibility of convergent selection. *Mol Ecol* 24:2164–2176. doi: 10.1111/mec.13157
- Estoup A, Ravign V, Hufbauer R, Vitalis R, Facon B (2016) Is There A Genetic Paradox of Biological Invasion? *Annu Rev Ecol Evol Syst* 47:51–72. doi: 10.1146/annurev-ecolsys-121415
- Fernandes M, Herrero J, Aulagnier S, Amori G (2008) *Galemys pyrenaicus*. The IUCN Red List of Threatened Species: e.T8826A12934876. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T8826A12934876.en>
- Fraser EJ, Macdonald DW, Oliver MK, Piertney S, Lambin X (2013) Using population genetic structure of an invasive mammal to target control efforts - An example of the American mink in Scotland. *Biol Conserv* 167:35–42. doi:10.1016/j.biocon.2013.07.011
- Genton BJ, Shykoff JA, Giraud T (2005) High genetic diversity in French invasive populations of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, as a result of multiple sources of introduction. *Mol Ecol* 14:4275–4285. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02750.x
- Grapputo A, Boman S, Lindström L, Lyytinen A, Mappes J (2005) The voyage of an invasive species across continents: Genetic diversity of North American and European Colorado potato beetle populations. *Mol Ecol* 14:4207–4219. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02740.x

- 
- Hampton JO, Spencer PBS, Alpers DL, Twigg LE, Woolnough AP, Doust J, Higgs T, Pluske J (2004) Molecular techniques, wildlife management and the importance of genetic population structure and dispersal: a case study with feral pigs. *J Appl Ecol* 41:735–743. doi: 10.1111/j.0021-8901.2004.00936.x
- Harrington LA, Harrington AL, Moorhouse T, Gelling M, Bonesi L, Macdonald DW (2009) American mink control on inland rivers in southern England: An experimental test of a model strategy. *Biol Conserv* 142:839–849. doi: 10.1016/j.biocon.2008.12.012
- Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res* 30:3059–3066. doi: 10.1093/nar/gkf436
- Keller SR, Taylor DR (2010) Genomic admixture increases fitness during a biological invasion. *J Evol Biol* 23:1720–1731. doi: 10.1111/j.1420-9101.2010.02037.x
- Kolbe JJ, Glor RE, Rodríguez Schettino L, Lara AC, Larson A, Losos JB (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* 431:177–181. doi: 10.1038/nature02807
- Kolbe JJJ, Larson A, Losos JBB, de Queiroz K (2008) Admixture determines genetic diversity and population differentiation in the biological invasion of a lizard species. *Biol Lett* 4:434–437. doi: 10.1098/rsbl.2008.0205
- Lecis R, Ferrando A, Ruiz-Olmo J, Mañas S, Domingo-Roura X (2008) Population genetic structure and distribution of introduced American mink (*Mustela vison*) in Spain, based on microsatellite variation. *Conserv Genet* 9:1149–1161. doi: 10.1007/s10592-007-9428-6
- Macdonald DW, Harrington LA (2003) The American mink: The triumph and tragedy of adaptation out of context. *Neth J Zool* 30(4):421–441. doi: 10.1080/03014223.2003.9518350
- Maran T, Skumatov D, Gomez A, Pödra M, Abramov AV, Dinets V (2016) *Mustela lutreola*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016:

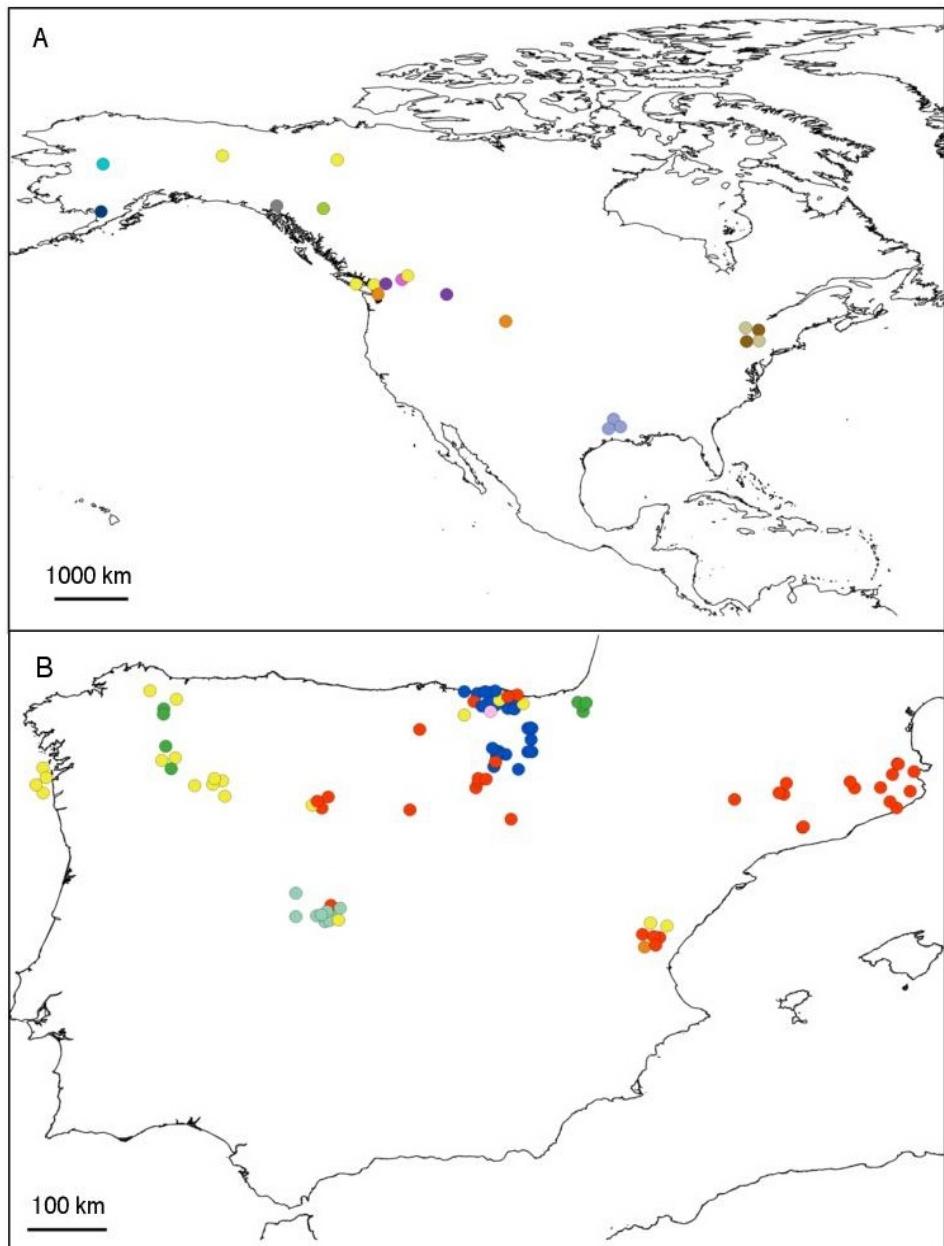
- 
- e.T14018A45199861.  
<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T14018A45199861.en>
- Melero Y, Plaza M, Santulli G, Saavedra D, Gosálbez J, Ruiz-Olmo J, Palazón S (2012a) Evaluating the effect of American mink, an alien invasive species, on the abundance of a native community: is coexistence possible? *Biodivers Conserv* 21:1795–1809. doi: 10.1007/s10531-012-0277-3
- Melero Y, Santulli G, Gómez A, Gosálbez J, Rodriguez-Refojos C, Palazón S (2012b) Morphological variation of introduced species: The case of American mink (*Neovison vison*) in Spain. *Mamm Biol* 77:345–350. doi: 10.1016/j.mambio.2012.02.001
- Melero Y, Robinson E, Lambin X (2015) Density- and age-dependent reproduction partially compensates culling efforts of invasive non-native American mink. *Biol Invasions* 17(9): 2645–2657. doi: 10.1007/s10530-015-0902-7
- Michaux JR, Hardy OJ, Justy F, Fournier P, Kranz A, Cabria M, Davison A, Rosoux R, Libois R (2005) Conservation genetics and population history of the threatened European mink *Mustela lutreola*, with an emphasis on the west European population. *Mol Ecol* 14:2373–2388. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02597.x
- Novak S, Mack R (1993) Genetic variation in *Bromus tectorum* (Poaceae): comparison between native and introduced populations. *Heredity (Edinb)* 71:167–176. doi: 10.1038/hdy.1993.121
- Oliver MK, Piertney SB, Zalewski A, Melero Y, Lambin X (2016) The compensatory potential of increased immigration following intensive American mink population control is diluted by male-biased dispersal. *Biol Invasions* 18:3047–3061. doi: 10.1007/s10530-016-1199-x
- Palazón S, Ruiz-Olmo J, Bueno F, Bueno F, Jordan G, Palomero G, Palomero G, Munilla I, Romero R, Gimenez YJ (1997) El visón americano en España. In: El visón europeo y el visón americano en España. (Eds.) Palazón, S. and Ruiz-Olmo, J. Colección Técnica, Ministerio de Medio Ambiente. Madrid. pp 107–114.

- 
- Paradis E (2010) PEGAS: An R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics* 26:419–420. doi: 10.1093/bioinformatics/btp696
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x
- Reid F, Schiaffini M, Schipper J (2016) *Neovison vison*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T41661A45214988. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-1.RLTS.T41661A45214988.en>.
- Robertson BC, Gemmell NJ (2004) Defining eradication units to control invasive pests. *J Appl Ecol* 41:1042–1048. doi: 10.1111/j.0021-8901.2004.00984.x
- Roman J, Darling JA (2007) Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends Ecol Evol* 22:454–464. doi: 10.1016/j.tree.2007.07.002
- Ruiz-Olmo J, Munilla I, Romero R (1997) Distribution, Status and Colonization of the American Mink *Mustela vison* in Spain. *J Wildl Res* 2:30–36.
- Salzburger W, Ewing GB, Von Haeseler A (2011) The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration. *Mol Ecol* 20:1952–1963. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05066.x
- Santulli G (2014) Occupancy, abundance, potential distribution and spatial competition of the critically endangered european mink (*Mustela lutreola*) and the invasive non-native american mink (*Neovison vison*) in the Iberian Peninsula. Dissertation, Universitat de Barcelona.
- Shafer ABA, Cullingham CI, Côté SD, Coltman DW (2010) Of glaciers and refugia: a decade of study sheds new light on the phylogeography of northwestern North America. *Mol Ecol* 19:4589–4621. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04828.x
- Sidorovich V, Kruuk H, Macdonald D (1999) Body size, and interactions between European and American mink (*Mustela lutreola* and *M. vison*) in Eastern Europe. *J Zool* 248:521–527. doi: 10.1111/j.1469-7998.1999.tb01051.x

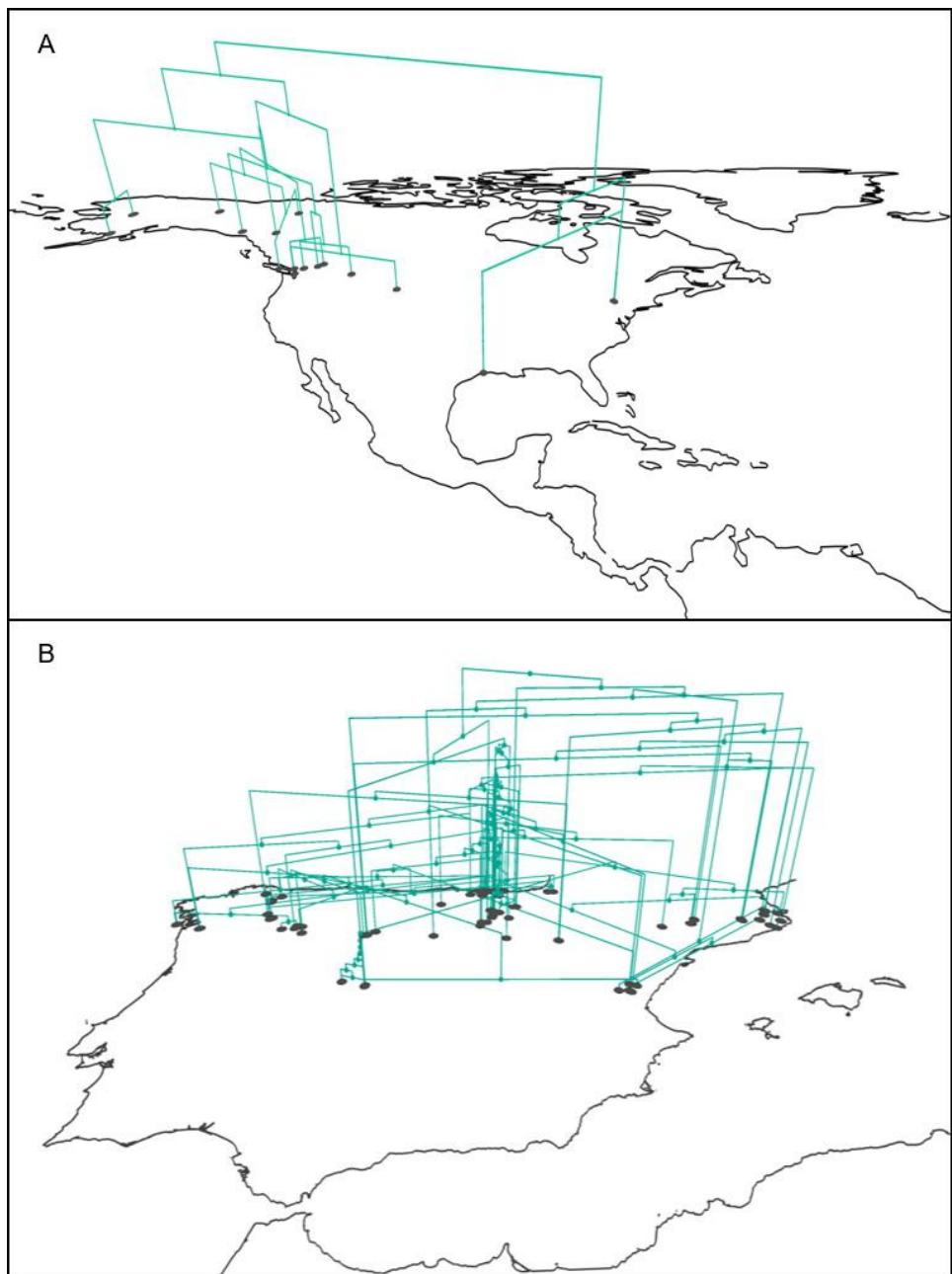
- 
- Sidorovich V, MacDonald DW (2001) Density dynamics and changes in habitat use by the European mink and other mustelids in connection with the American mink expansion in Belarus. *Neth J Zool* 51:107–126. doi: 10.1163/156854201750210878
- Sol D, Maspons J, Vall-Llosera M, Bartomeus I, García-Peña GE, Piñol J, Freckleton RP (2012) Unraveling the life history of successful invaders. *Science* 337:580–583. doi: 10.1126/science.1221523
- Soltis DE, Morris AB, McLachlan JS, Manos PS, Soltis PS (2006) Comparative phylogeography of unglaciated eastern North America. *Mol Ecol* 15(14):4261–4293. doi:10.1111/j.1365-294X.2006.03061.x
- Stamatakis A (2014) RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312–1313. doi: 10.1093/bioinformatics/btu033
- Suarez A V., Tsutsui ND (2008) The evolutionary consequences of biological invasions. *Mol Ecol* 17:351–360. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03456.x
- Uller T, Leimu R (2011) Founder events predict changes in genetic diversity during human-mediated range expansions. *Glob Chang Biol* 17:3478–3485. doi: 10.1111/j.1365-2486.2011.02509.x
- Vandewoestijne S, Schtickzelle N, Baguette M (2008) Positive correlation between genetic diversity and fitness in a large, well-connected metapopulation. *BMC Biol* 6:46–55. doi: 10.1186/1741-7007-6-46
- Zalewski A, Piertney SB, Zalewska H, Lambin X (2009) Landscape barriers reduce gene flow in an invasive carnivore: geographical and local genetic structure of American mink in Scotland. *Mol Ecol* 18:1601–1615. doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04131.x
- Zalewski A, Michalska-Parda A, Bartoszewicz M, Kozakiewicz M, Brzeziński M (2010) Multiple introductions determine the genetic structure of an invasive species population: American mink *Neovison vison* in Poland. *Biol Conserv* 143:1355–1363. doi: 10.1016/j.biocon.2010.03.009

- 
- Zalewski A, Michalska-Parda A, Ratkiewicz M, Kozakiewicz M, Bartoszewicz M, Brzeziński M (2011) High mitochondrial DNA diversity of an introduced alien carnivore: Comparison of feral and ranch American mink *Neovison vison* in Poland. *Divers Distrib* 17:757–768. doi: 10.1111/j.1472-4642.2011.00767.x
- Zalewski A, Zalewska H, Lunnerud SG, André C, Mikusiński G (2016) Reduced genetic diversity and increased structure in American mink on the Swedish coast following invasive species control. *PLoS One* 11(6):e0157972. doi: 10.1371/journal.pone.0157972

## Appendix



**Figure S1.** Haplotype distribution of *Neovison vison* in the native (A) and invasive (B) ranges. Each colour represents a different haplotype.



**Figure S2.** Phylogeography of *Neovison vison* represented over the native range in North America (A) and the invasive range in the Iberian Peninsula (B).

**Table S1.** Geographic locations of the sample of *Neovison vison* in the Iberian Peninsula. CAT= Catalonia, CL= Castilla-Leon, GA= Galicia, BC= Basque Country, NAV= Navarra, VC= Valencian Community and LR= La Rioja.

Specimen Code	Basin	Locality	Province	Autonomous Communities	Latitude	Longitude
170413	Catalonian Basins	Bages	Barcelona	CAT	41.435	-1.525
260313	Catalonian Basins	Bages	Barcelona	CAT	41.445	-1.536
C4212	Duero	Villanueva de los Caballeros	Valladolid	CL	41.757	-5.232
C4213	Duero	San Pedro de la Tarce	Valladolid	CL	41.752	-5.290
C4717	Galician Basins	Sálvora	A Coruña	GA	42.284	-9.030
C4726	Galician Basins	Sálvora	A Coruña	GA	42.275	-9.044
C4730	Galician Basins	Illa San Martiño (Cíes)	Pontevedra	GA	42.115	-8.535
C4732	Galician Basins	Illa San Martiño (Cíes)	Pontevedra	GA	42.114	-8.546
C4736	Cantabrian Basins	Zalla	Bizkaia	BC	43.204	-3.176
C4737	Cantabrian Basins	Getxo	Bizkaia	BC	43.345	-2.996
C4738	Cantabrian Basins	Sondika	Bizkaia	BC	43.282	-2.855
C4740	Cantabrian Basins	Cadagua	Bizkaia	BC	43.204	-3.176
C4741	Cantabrian Basins	Kortezubi	Bizkaia	BC	43.336	-2.664
C4742	Cantabrian Basins	Butrón	Bizkaia	BC	43.344	-2.841
C4743	Cantabrian Basins	Mungia	Bizkaia	BC	43.331	-2.802
C4746	Cantabrian Basins	Atxondo	Bizkaia	BC	43.131	-2.571

<b>Specimen Code</b>	<b>Basin</b>	<b>Locality</b>	<b>Province</b>	<b>Autonomous Communities</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
C4747	Cantabrian Basins	Arratzu	Bizkaia	BC	43.281	-2.627
C4748	Cantabrian Basins	Gernika	Bizkaia	BC	43.308	-2.669
C4749	Cantabrian Basins	Meñaka	Bizkaia	BC	43.338	-2.819
C4750	Cantabrian Basins	Muxika	Bizkaia	BC	43.287	-2.689
C4756	Cantabrian Basins	Fruiz	Bizkaia	BC	43.327	-2.778
C4757	Cantabrian Basins	Lea	Bizkaia	BC	43.358	-2.497
C4758	Cantabrian Basins	Nervión	Bizkaia	BC	43.163	-2.930
C4759	Cantabrian Basins	Lea	Bizkaia	BC	43.345	-2.508
C4760	Cantabrian Basins	Butrón	Bizkaia	BC	43.372	-2.883
C4762	Cantabrian Basins	Ibarra	Bizkaia	BC	43.331	-2.802
C4763	Cantabrian Basins	Berriatua	Bizkaia	BC	43.324	-2.441
C4765	Cantabrian Basins	Aulestia	Bizkaia	BC	43.297	-2.571
C4766	Miño	Lugo	Lugo	GA	43.126	-7.352
C4767	Miño	Lugo	Lugo	GA	43.383	-7.543
C4768	Miño	Lugo	Lugo	GA	43.048	-7.355
C4769	Miño	Incio	Lugo	GA	42.427	-7.191
C4770	Miño	Lugo	Lugo	GA	42.592	-7.323
C4771	Miño	Incio	Lugo	GA	42.405	-7.233
C4772	Miño	Incio	Lugo	GA	42.416	-7.234
C4773	Cantabrian Basins	Lourenza	Lugo	GA	43.261	-7.176
C4775	Ebro	Acedo	Navarra	NAV	42.680	-2.237
C4776	Ebro	Zúñiga	Navarra	NAV	42.680	-2.294
C4777	Ebro	Zúñiga	Navarra	NAV	42.680	-2.294

<b>Specimen Code</b>	<b>Basin</b>	<b>Locality</b>	<b>Province</b>	<b>Autonomous Communities</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
C4778	Cantabrian Basins	Aritzakun	Navarra	NAV	43.255	-1.401
C4779	Cantabrian Basins	Urdax	Navarra	NAV	43.254	-1.508
C4780	Cantabrian Basins	Leorlas	Navarra	NAV	43.274	-1.505
C4781	Cantabrian Basins	Muga con Iparralde	Navarra	NAV	43.258	-1.390
C4782	Ebro	Acedo	Navarra	NAV	42.686	-2.248
C4784	Ebro	Garralda	Navarra	NAV	42.690	-2.254
C5224	Ebro	Acedo	Navarra	NAV	42.680	-2.237
C5225	Ebro	Acedo	Navarra	NAV	42.690	-2.254
C5227	Júcar	Espadilla	Castellón	VC	40.030	-0.359
C5228	Júcar	Bejis	Castellón	VC	39.912	-0.699
C5229	Júcar	Segorbe	Castellón	VC	39.868	-0.489
C5232	Júcar	Jérica	Castellón	VC	39.894	-0.524
C5233	Júcar	Arañuel	Castellón	VC	40.073	-0.479
C5234	Júcar	Segorbe	Castellón	VC	39.868	-0.489
C5235	Júcar	Segorbe	Castellón	VC	39.868	-0.489
C5237	Ebro	Orbaneja	Burgos	CL	42.830	-3.795
C5238	Duero	Roa	Burgos	CL	41.686	-3.931
C5239	Duero	Quintanar de la Sierra	Burgos	CL	42.000	-3.015
C5240	Duero	Covaleda	Soria	CL	41.553	-2.526
C5241	Duero	Rosinos de la Requejada	Zamora	CL	42.099	-6.535
C5242	Duero	Villarino de Manzanas	Zamora	CL	41.879	-6.503
C5243	Duero	San Miguel de Terroso	Zamora	CL	42.049	-6.670
C5244	Duero	Trefacio	Zamora	CL	42.132	-6.648
C5245	Duero	Lubian	Zamora	CL	42.031	-6.921
C5246	Duero	Medina Rioseco de	Valladolid	CL	41.869	-5.066

<b>Specimen Code</b>	<b>Basin</b>	<b>Locality</b>	<b>Province</b>	<b>Autonomous Communities</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
C5247	Duero	Villanueva de los Caballeros	Valladolid	CL	41.763	-5.219
C5345	Duero	Barco de Ávila	Ávila	CL	40.332	-5.516
C5346	Duero	Barco de Ávila	Ávila	CL	40.332	-5.516
C5347	Tajo	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.197	-5.105
C5348	Tajo	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.195	-5.104
C5349	Tajo	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.195	-5.104
C5350	Tajo	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.192	-5.102
C5351	Tajo	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.192	-5.102
C5352	Duero	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.202	-5.100
C5353	Tajo	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.207	-5.096
C5354	Tajo	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.214	-5.094
C5355	Tajo	Arenas de San Pedro	Ávila	CL	40.194	-5.103
E-190914	Ebro	Baños de Ebro	La Rioja	LR	42.519	-2.695
E-240914	Ebro	Puebla de la Barca	Álava	LR	42.476	-2.600
GI-415	Catalonian Basins	Lloret de Mar	Girona	CAT	41.713	2.830
GI-418	Catalonian Basins	Cruïlles	Girona	CAT	41.951	3.019
GI-421	Catalonian Basins	Amer	Girona	CAT	42.003	2.608
GI-425	Catalonian Basins	Estanys Sils	Girona	CAT	41.802	2.739
GI-468	Catalonian Basins	Sant Hipòlit de Voltregà	Girona	CAT	41.996	2.246
GI-519	Catalonian Basins	Torelló	Barcelona	CAT	42.043	2.243
GI-560	Catalonian Basins	Castelló d'Empúries	Girona	CAT	42.230	3.072

<b>Specimen Code</b>	<b>Basin</b>	<b>Locality</b>	<b>Province</b>	<b>Autonomous Communities</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
GI-576	Catalonian Basins	Esponellà	Girona	CAT	42.190	2.773
GI-587	Catalonian Basins	Boadella d'Empordà	Girona	CAT	42.343	2.842
GI-589	Catalonian Basins	Boadella d'Empordà	Girona	CAT	42.337	2.854
NVLR1204	Ebro	Matute	La Rioja	LR	42.306	-2.761
NVLR1205	Ebro	Villavelayo	La Rioja	LR	42.089	-2.981
NVLR1206	Ebro	Hormilleja	La Rioja	LR	42.456	-2.723
NVLR1207	Ebro	Villavelayo	La Rioja	LR	42.134	-2.983
NVLR1208	Ebro	Viniegra de Abajo	La Rioja	LR	42.124	-2.873
NVLR1209	Ebro	Nájera	La Rioja	LR	42.450	-2.725
NVLR1210	Ebro	Nájera	La Rioja	LR	42.446	-2.727
NVLR1211	Ebro	Nájera	La Rioja	LR	42.449	-2.725
NVLR1313	Ebro	Uruñuela	La Rioja	LR	42.263	-2.424
NVLR1315	Ebro	Torremontalbo	La Rioja	LR	42.499	-2.713
NVLR1446	Ebro	San Vicente de la Sonsierra	La Rioja	LR	42.565	-2.784
NVLR1449	Ebro	Anguiano	La Rioja	LR	42.301	-2.765
NVLR1461	Ebro	Arenzana	La Rioja	LR	42.371	-2.741
T-16679	Ebro	Ponts	Lleida	CAT	41.921	1.176
T-18700	Ebro	Oliana	Lleida	CAT	42.065	1.299
T-19035	Ebro	Ponts	Lleida	CAT	41.928	1.197
T-21617	Ebro	Ivars de Noguera	Lleida	CAT	41.834	0.579

**Table S2.** Geographic locations of the sample of *Neovison vison* from their native range in North America.

Specimen Code	Locality	Higher Geography	Country	Latitude	Longitude
CUMV-Mamm-21185	Dryden Township	New York	EEUU	42.465	-76.427
CUMV-Mamm-21248	Sapsucker Woods	New York	EEUU	42.483	-76.455
CUMV-Mamm-22282	Lansing Township	New York	EEUU	42.481	-76.449
CUMV-Mamm-22313	Dryden Township	New York	EEUU	42.43	-76.384
MSB-Mamm-127091	Sheridan County	Wyoming	EEUU	44.784	-106.989
MSB-Mamm-140726	McFaddin National Wildlife Refuge	Texas	EEUU	29.685	-94.143
MSB-Mamm-196980	Kalispell	Montana	EEUU	48.2	-114.3
MSB-Mamm-92569	McFaddin National Wildlife Refuge	Texas	EEUU	29.685	-94.143
MSB-Mamm-92570	McFaddin National Wildlife Refuge	Texas	EEUU	29.685	-94.143
UAM-Mamm-119878	White Pass Dock, Skagway	Alaska, Skagway Quad	EEUU	59.451	-135.323
UAM-Mamm-37018	Galena Airport	Alaska, Nulato Quad	EEUU	64.738	-156.812
UAM-Mamm-44531	Confluence of Eagle River near Cassier	British Columbia	Canada	59.1	-129.55
UAM-Mamm-52242	Naknek River, Savanoski area	Alaska, Naknek Quad	EEUU	58.716	-157.06
UAM-Mamm-52285	25 km W Okanagan Lake; Eileen Lake	British Columbia	Canada	50.083	-119.83
UAM-Mamm-52286	Shuswap River	British Columbia	Canada	50.583	-119.13
UAM-Mamm-64198	Norman Wells	Northwest Territories	Canada	65.283	-127.83

<b>Specimen Code</b>	<b>Locality</b>	<b>Higher Geography</b>	<b>Country</b>	<b>Latitude</b>	<b>Longitude</b>
UAM-Mamm-68822	Upper Black River at confluence of Van Creek Hatten	Alaska, Charley River Quad	EEUU	65.799	-142.039
UAM-Mamm-74196	Cadbora Bay	British Columbia, Vancouver Island	Canada	49.45	-123.283
UAM-Mamm-74212	Mouth of Pitt and Fraser River	British Columbia	Canada	48.216	-122.8
UAM-Mamm-87208	Harrison Lake	British Columbia, Vancouver Island	Canada	49.55	-121.83
UAM-Mamm-87273	Osborn Creek, Vancouver Island	British Columbia, Vancouver Island	Canada	49.5	-125.5

# CAPÍTULO 2

---





---

## **Trophic niche shifts of a native and an invasive species during an invasion process: the case of the European and the American mink**

Karla García<sup>1\*</sup>, Carola Sanpera<sup>1</sup>, Lluís Jover<sup>1</sup>, Santiago Palazón<sup>1,2</sup>, Joaquim Gosálbez<sup>1</sup> and Yolanda Melero<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Evolutionary Biology, Ecology and Environmental Sciences, University of Barcelona, 08028 Barcelona, Spain.

\*Correspondence: karla.garcia.cl@gmail.com

<sup>2</sup> Fauna and Flora Service, Department of Territory and Sustainability, Government of Catalonia, 08017 Barcelona, Spain.

<sup>3</sup> CREAF, 08193 Cerdanyola del Vallès, Spain.

**In Review in Biodiversity and Conservation**

---

## Abstract

The negative effect of an invasive species on a native species through direct and indirect interactions is widely recognised. The pressure produced by invasive species on native species is especially strong when their ecological niche overlap increases, particularly in relation to their trophic niche. We studied the diet of the critically endangered European mink and the widely spread invasive American mink in populations occurring in allopatry and sympatry and the trophic niche overlap, when in sympatry, using stable carbon and nitrogen isotope analyses. We found that the diet of the native mink changed in response to the arrival of the invasive species, containing a higher proportion of terrestrial prey. The native mink consumed mainly crayfish and birds in allopatry, but mostly small mammals when in sympatry with the American mink. There were no differences between the sexes in both species, but we observed high inter-individual variability in their isotopic niches. High trophic overlap between the native and invasive mink was found for sympatric populations, suggesting trophic competition, which may have important consequences for the management and conservation of the native mink.

**Keywords:** Trophic niche overlap, stable isotopes of carbon and nitrogen, food competition, invasive species, *Neovison vison*, *Mustela lutreola*.

---

## Resumen

El efecto negativo de una especie invasora sobre una especie nativa a través de interacciones directas e indirectas es ampliamente reconocido. La presión producida por las especies invasoras sobre las especies nativas es especialmente fuerte cuando aumenta el solapamiento de sus nichos ecológicos, particularmente en relación con su nicho trófico. Estudiamos la dieta del visón europeo en peligro crítico y el visón americano invasor en poblaciones que ocurren en alopatría y simpatría, y con ello, el solapamiento de nicho trófico cuando están en simpatría, usando un análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno. Encontramos que la dieta del visón nativo cambió en respuesta a la llegada de la especie invasora, conteniendo una mayor proporción de presas terrestres. El visón nativo consumió principalmente cangrejos y aves en alopatría, pero principalmente mamíferos pequeños en simpatría con el visón americano. No hubo diferencias entre los sexos en ambas especies, pero observamos una alta variabilidad interindividual en sus nichos isotópicos. Se encontró un elevado solapamiento trófico entre el visón nativo y el invasor para las poblaciones simpáticas, sugiriendo competencia trófica la cual puede tener importantes consecuencias para la gestión y conservación del visón nativo.

---

## Introduction

The negative effect of many invasive non-native species (INNS) on native species through direct and indirect interactions is widely recognised (e.g., Carlsson *et al.* 2009; Magoullick & Piercey 2016). The pressure elicited by INNS on native species is especially strong when their ecological niche overlap increases, particularly in relation to their trophic niche (Balzani *et al.* 2016). The degree of trophic niche overlap provides a proxy for the level of competition between the species and for the potential impact of INNS on native species. In trophic niche partitioning, i.e., when species feed on different prey or have different proportions of the same prey in their diets (Santos *et al.* 2007; Glen & Dickman 2008), trophic competition is low, reducing the negative impact of the INNS on its native competitors. However, at high levels of overlap, competitive exclusion of one of the species may occur, most frequently resulting in the INNS limiting the food available to the native species (Bøhn *et al.* 2008). This may then cause the native species to feed on suboptimal preys (Balzani *et al.* 2016), eventually affecting the fitness of the individuals and consequently the populations (Davidson *et al.* 2011).

There are many studies on the trophic niche overlap between INNS and native species (e.g., Pilger *et al.* 2010; Balzani *et al.* 2016; Magoullick & Piercey 2016; Wood *et al.* 2017). However, little is known about how the displacement occurs and if/how the diets of the native species change during the arrival and expansion of the INNS. In the first stages of invasion, when INNS populations are at a very low density, displacement of native competitors by the INNS due to trophic niche overlap might be low, i.e., the diet of the native populations might not show any remarkable differences compared to the diet before the arrival of the INNS. However, as the INNS population grows and expands, trophic competition is expected to increase, with the native (and potentially the INNS) populations changing their diet. Understanding the changes in the diet of the native populations during the invasion process can provide useful information on how and when trophic niche displacement occurs.

Stable isotope analyses (SIA) of tissues, such as hair, have become increasingly

---

common in studies on trophic ecology, including diet reconstruction (e.g., Caut *et al.* 2009), assessing spatial and temporal variations in a diet (e.g., Bolnick *et al.* 2002; Bodey *et al.* 2010) and characterising the position and width of ecological niches (Bearhop *et al.* 2004; Newsome *et al.* 2007). The use of SIA in dietary studies relies on the fact that different dietary items often have different isotopic values, which are reflected in the tissue of the consumers (Inger & Bearhop 2008). SIA has a significant advantage over methods that have been traditionally used to measure diet (such as the analysis of faeces or the stomach contents of carcasses) by providing information about the diet consumed and assimilated over several weeks, as well as the trophic behaviour of the consumers (Middelburg 2014). As such, trophic niche overlap in competing populations can also be evaluated between INNS and native species using SIA (e.g., Guzzo *et al.* 2013; Balzani *et al.* 2016; Magoulick & Piercy 2016). Moreover, SIA can be used to examine behavioural and ecological changes and determine the dietary and habitat plasticity of invasive species, which can have great potential in informing management options (Bodey *et al.* 2011).

Here, we used SIA to investigate the changes in the diet of the endangered European mink (*Mustela lutreola*, EM hereafter) in relation to the arrival and expansion of the invasive American mink (*Neovison vison*, AM hereafter) in Spain. We studied populations before the invasion (i.e., allopatric populations) and post-invasion (i.e., sympatric populations). Specifically, we addressed the following research questions: (1) did the diet composition of the native EM change during the AM invasion, i.e., did their diets differ between allopatric and sympatric populations in terms of the trophic level and proportion of the prey types eaten? (2) What is the level of trophic niche overlap between the EM and AM diets when they are in sympatry? Moreover, we assessed the diet composition of the invasive AM in areas where the species did not coexist with the EM. We also tested for potential differences between the sexes in both species.

## Study species

---

The AM and EM are solitary, territorial and generalist carnivores that inhabit linear territories along watercourses. Both species share most of their ecological traits and require equivalent ecological resources (Macdonald & Harrington 2003). They have nearly identical morphologies, as well as similar habitat and trophic requirements (Maran *et al.* 1998; Sidorovich *et al.* 2010). These observations are from studies based on scat analyses, which have also suggested variations in the diet and a potential trophic displacement of native mink by the invasive mink. Thus, high competitive interaction is likely to occur between the two species. Indeed, spatial competition and the consequent distributional displacement of the EM by the AM has been reported (Santulli *et al.* 2014).

The AM is among the most widely distributed INNS and is recognised as the main threat for native European fauna (Genovesi *et al.* 2012). Meanwhile, the EM is considered one of the most endangered species (Maran *et al.* 2016). In Spain, the spatial and temporal distributions of the native and invasive species show a gradient from allopatric to sympatric populations. As part of the EM conservation project (MAGRAMA 2009), both species have been recorded in the distributional area of the EM in Spain, providing information on the EM before and after the arrival and expansion of the AM (i.e., allopatric and sympatric populations). Moreover, allopatric populations of the AM have been noted in several areas where the EM is absent.

In Spain, the diets of both mink species show relatively high prey diversity (Palazón *et al.* 2004, 2008; Melero *et al.* 2008b). The EM diet is mostly based on small mammals, fish and birds (Palazón *et al.* 2004, 2008), while the AM diet contains more aquatic birds and crayfish (Melero *et al.* 2008). However, the application of robust methods such as SIA is necessary to assess the level of trophic niche overlap and interspecific differences in the use of food resources between allopatric and sympatric populations of both mink species. This would provide additional information to further understand the effect of the invasive mink on native fauna as well as refine approaches for control campaigns.

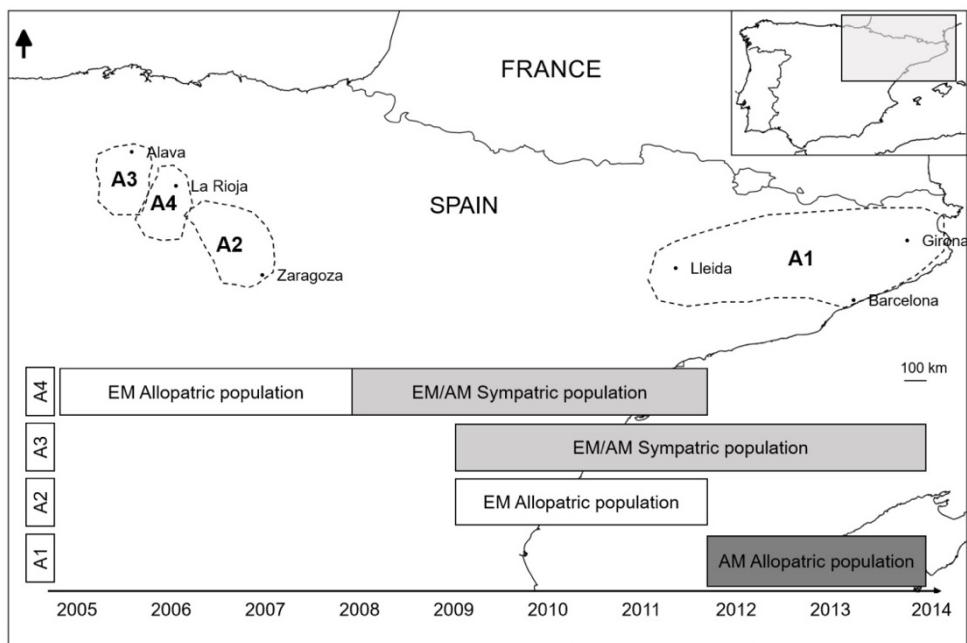
---

## Materials and methods

### Study area

The study was carried out in northeast (Catalonia) and northern (La Rioja) Spain over ten years (2005-2014; Fig. 1). The AM has been present in both Catalonia and La Rioja since 1974 and 2005, respectively, while the EM is only present in La Rioja. For this study, the distribution of both species was divided into four areas according to their distinct coexisting pattern: Area 1 and Area 2 included AM and EM allopatric populations, respectively, Area 3 included sympatric populations of both species, and Area 4 included the EM population before and after the arrival of the AM (i.e., allopatric and sympatric populations; Fig. 1, Table S1).

In Catalonia (Area 1), among the potential pool of prey, the most common for the AM are small rodents, such as the house mouse *Mus musculus* and the wood mouse *Apodemus sylvaticus* that inhabit the riparian forest, cyprinids, salmonids, numerous waterfowl and passerine species, and the introduced American crayfish *Procambarus clarkii*. In La Rioja (Areas 2, 3 and 4), the most common prey of the EM are cyprinids, cobitids and salmonids, as well as American crayfish and wood mice. In both regions, riparian vegetation is also the habitat for several species of waterfowl and small birds.



**Figure 1.** Study area showing the zones of sympatry between the American mink (AM) and the European mink (EM) populations in Spain. Area 1 (A1), AM allopatric populations; A2, EM allopatric populations; and A3 and A4, AM/EM sympatric populations. Diagram below shows the period during which each area was studied.

### Sample collection

Hair samples were collected from the carcasses of culled AM and from (non-culled) captured EM as part of the AM control and EM conservation project (MAGRAMA 2009). Both mink species were captured in wire mesh traps ( $60 \times 15 \times 15$  cm), as authorised by the autonomous authorities. The EM was marked with a subcutaneous passive transponder and released once the individual had fully recovered from anaesthesia, whilst the invasive mink were transferred to official wildlife rehabilitation centres for euthanasia following the Spanish Animal Welfare Law (Royal Act N° 32/2007). Samples from the AM and EM were provided by

---

technicians from regional governments that are coordinated by the Spanish Ministry of Agriculture, Food and Environment.

Altogether, 44 (23 female and 21 male) EM samples and 85 (30 female and 55 male) AM samples were obtained. All the EM samples were collected in autumn to obtain comparable results, while all the AM samples were collected during winter and autumn. The samples from both species were grouped according to the area of the location of the mink and in relation to their coexisting pattern (i.e., allopatric or sympatric).

Samples from potential prey (i.e., small mammals, birds, fish and crayfish) were also collected, based on the feeding data previously reported (Palazón *et al.* 2004, 2008; Melero *et al.* 2008b). Sherman traps, nets for birds, electric fishing and hand capture were used to collect the animals over a 2–3 days period in Catalonia and La Rioja during 2014 and 2015. Muscle tissue was dissected from small mammals, fish and crayfish and feathers from birds for stable isotope analyses

### **Stable isotope analyses**

Stable isotope analyses were conducted on the hair samples from the mink. Hairs were rinsed in a NaOH (0.25 M) solution, washed in distilled water and dried in a stove at 60°C. All samples were homogenised with scissors. Approximately 0.4 mg of hair was weighed in tin buckets (3.3 x 5 mm) and combusted at 900°C. N and C isotopic analyses were carried out by elemental analysis–isotope ratio mass spectrometry (EA-IRMS) using a Thermo-Finnigan Flash EA 1112 analyser coupled to a Delta isotope ratio mass spectrometer via a ConFlo III interface.

Analyses of samples from the prey were conducted on 1–10 individuals of each prey species and the mean values ( $\pm$  standard deviation) of the stable N and C isotopes for each species were determined (Table S2). Muscle tissue from each prey was subjected to lipid extraction by successive rinsing in a chloroform and methanol solution (2:1), following the protocol of Folch *et al.* (1957), to minimise

---

the differences in  $\delta^{13}\text{C}$  caused by the variable concentrations of tissue lipids (Hobson & Clark 1992). All the prey samples were oven-dried at 60°C before being mechanically ground into a fine powder. Later, approximately 0.3 mg of muscle from mammals, fish and crayfish and 0.3 mg of feathers were weighed. All samples were processed at the Centres Científics I Tecnològics (CCiT) of the University of Barcelona.

The isotopic signatures of nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ) of the consumers indicate the trophic position of the species in the ecosystem (Kelly 2000). Thus, different  $\delta^{15}\text{N}$  values for the native and invasive species reflect a different position in the food chain and distinct diets (Boecklen *et al.* 2011). On the other hand, variations in the isotopic signature of carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) provide information on the main source of carbon used (e.g., C3 and C4 plants have different carbon isotopic signatures). Consequently, differences in  $\delta^{13}\text{C}$  between the species indicate different diets and distinguish, for example, between populations feeding on aquatic or terrestrial prey (Kelly 2000; Bodey *et al.* 2010).

The signature of the stable isotope, i.e., the isotope ratios of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ , were defined as parts per thousand (‰) according to the following equation:

$$\delta\text{X}(\text{\textperthousand}) = \left[ \left( \frac{R_{sample}}{R_{standard}} \right) - 1 \right] * 1000$$

where X is 15N or 13C and R the corresponding ratio 15N/14N or 13C/12C. The  $\delta^{13}\text{C}$  standard was Vienna PeeDee Belemnite (VPDB) calcium carbonate and the  $\delta^{15}\text{N}$  standard was atmospheric nitrogen (N2). International standards (ammonium sulphate, potassium nitrate and glutamic acid for  $\delta^{15}\text{N}$  and polyethylene, sucrose and glutamic acid for  $\delta^{13}\text{C}$ ) were used after every 12 samples to calibrate the system and compensate for any drift over time. Precision and accuracy were  $\leq 0.1\text{\textperthousand}$  for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\leq 0.3\text{\textperthousand}$  for  $\delta^{15}\text{N}$ .

## Data analyses

Values of the stable isotope ratios of carbon and nitrogen for both mink species

---

were checked for normal distribution using Q–Q plots, while Levene's test was used to assess homogeneity of the variances. Since both the carbon and nitrogen values showed a normal distribution, subsequent analyses were conducted with a parametric test. To test for changes in the diet of the EM between allopatric and sympatric populations (Research Question 1), an ANOVA was performed. We used  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{14}\text{N}$  as the dependent variables and the coexisting pattern (i.e., allopatric and sympatric) and sex as the explanatory variables, while years was set as a random effect. An initial model considering all the potential independent variables and their first order interactions was constructed. A backward stepwise procedure was used to obtain the final model. A similar procedure was used to test for differences between the sexes in the diet of allopatric AM. Thus, an ANOVA was performed using  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{14}\text{N}$  as the dependent variables and sex as the explanatory variable. All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics for Windows version 23 (IBM Corp., Armonk, N.Y., USA).

To test for changes in the composition of the diet in terms of the type and proportion of prey consumed (i.e., mammals, birds, fish and crayfish) in allopatric and sympatric populations, a Bayesian mixing model was used. Mixing models estimate the probability distributions of multi-source contributions to a consumer diet by accounting for variation and uncertainties in the input data. The shift in isotope ratios between food sources and consumer tissue was incorporated by adding trophic discrimination factors of 3.5‰ for  $\delta^{15}\text{N}$  and 2.5‰ for  $\delta^{13}\text{C}$ , following the method of Newsome *et al.* (2009, 2010). This mixing model analysis was undertaken using the SIAR library in R (Parnell *et al.* 2010).

To test the degree of trophic niche overlap between the two mink species in coexistence (Research Question 2), we first quantified the trophic niche width of both mink species using the total convex hull area encompassed by all the individuals (TA) (Layman *et al.* 2007). We calculated standard Bayesian ellipses from  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values and produced a standard ellipse area (SEA) using the sample-size corrected version (SEAc) to account for the bias associated with small sample sizes (Jackson *et al.* 2011). The percentage of overlap between the standard

---

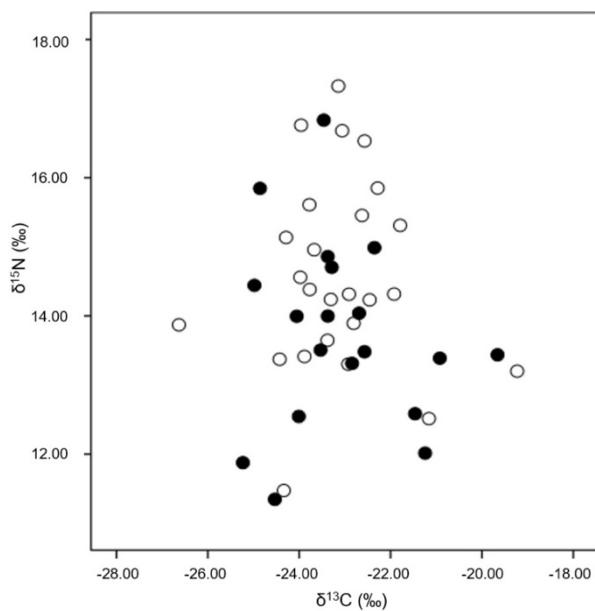
ellipses was used to estimate the degree of isotopic niche overlap between two areas or the species. Additionally, a similar analysis was used for the AM to determine possible differences between the sexes in relation to the trophic niche overlap. All these analyses were undertaken with the SIBER library in R (Jackson *et al.* 2011).

## Results

The analysis included 25 EM samples from individuals in allopatry (Area 2 and 4; from 2005 to 2012), 19 EM samples from individuals in sympatry with the AM (Area 3 and 4; 2008–2012), 46 AM samples from individuals in allopatry (Area 1), and 39 AM samples from individuals in sympatry with the EM (Area 3) (2012–2014; Fig. 1, Table S1).

### Changes in the diet during the invasion process

Overall, isotopic values indicated a change in the diet composition of the native EM between allopatric and sympatric populations although the differences were not statistically significant ( $\delta^{15}\text{N}$ :  $F_{1,7} = 3.51, p = 0.07$ ;  $\delta^{13}\text{C}$ :  $F_{1,0.01} = 0.01, p = 0.98$ ; Fig. 2). In particular, there was a decrease in the consumption of prey from high trophic levels ( $\delta^{15}\text{N}$ , 14.6 to 13.7‰) and a slight increase in the consumption of more terrestrial prey ( $\delta^{13}\text{C}$ , -23.7 to -23.1‰) in sympatric compared to allopatric populations. The lack of significant differences might have been due to the high degree of individual variability in the  $\delta^{15}\text{N}$  (11 to 17‰) and  $\delta^{13}\text{C}$  (-27 to -19‰) values in both allopatric and sympatric populations (Fig. 2). Furthermore, no significant differences between the sexes were found for  $\delta^{15}\text{N}$  ( $F_{1,1} = 0.50, p = 0.48$ ) and  $\delta^{13}\text{C}$  ( $F_{1,3.1} = 1.59, p = 0.22$ ) between allopatric and sympatric populations (Table S3). However,  $\delta^{13}\text{C}$  values varied between the years ( $F_{7,4} = 2.44, p = 0.04$ ), but not  $\delta^{15}\text{N}$  values ( $F_{7,18} = 1.38, p = 0.24$ ).



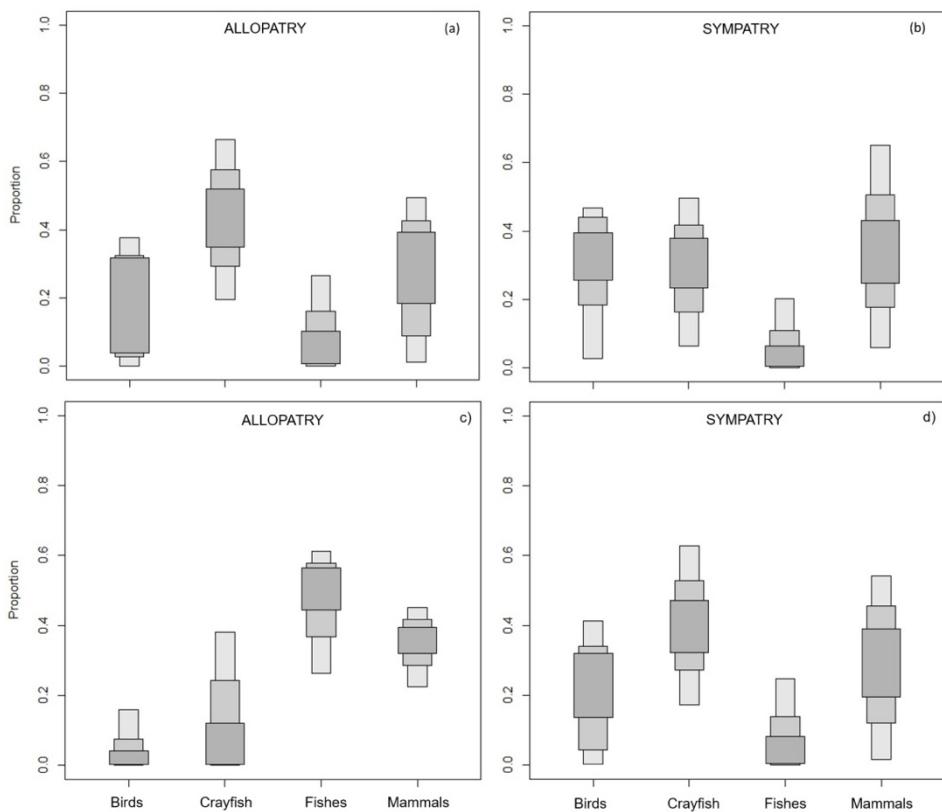
**Figure 2.** Scatterplot of the dispersion of the  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  isotopic signatures of hair samples from the European mink between pre-invasion (open circles) and post-invasion (filled circles).

SIAR Bayesian mixing models revealed that although both mink species preyed on similar prey, there were considerable differences in the proportions of the prey between allopatric and sympatric populations (Fig. 3). The changes were significant based on the confidence intervals (CI) of the estimates from the Bayesian models not including zero values. Crayfish (43%, CI = 20-66%) and small mammals (26%, CI = 1-49%) were the predominant prey for allopatric EM populations (Fig. 3a), but when in sympatry with the AM, EM mostly fed on small mammals (35%, CI = 6-65%), decreasing the proportion of crayfish (29%, CI = 6-50%) and especially fish (8%, CI = 0-20%; Fig. 3b) in the diet.

---

**Changes in the trophic niche width and niche overlap**

Analyses of hair samples from both mink species in sympatry revealed a larger trophic niche width (i.e., TA and SEAc) in the AM than in the EM ( $TAAM = 26.02$ ,  $TAEM = 18.85$ ), indicating a wider range of prey type in the AM diet. SEAc showed an almost complete overlap between the standard ellipses calculated from  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values for both species, indicating a high trophic overlap between the two species in sympatry (Fig. 4a) and suggesting that the EM diet is almost entirely included within the AM diet. In fact, the overlap in the ellipses of the EM and AM constituted 71.73% of the EM ellipse and 80.29% of the AM ellipse. These results agreed with those obtained with the SIAR Bayesian mixing model, which showed a very similar proportion of prey types between the two species when they were in sympatry (Fig. 4a), suggesting potential interspecific competition in sympatric populations.

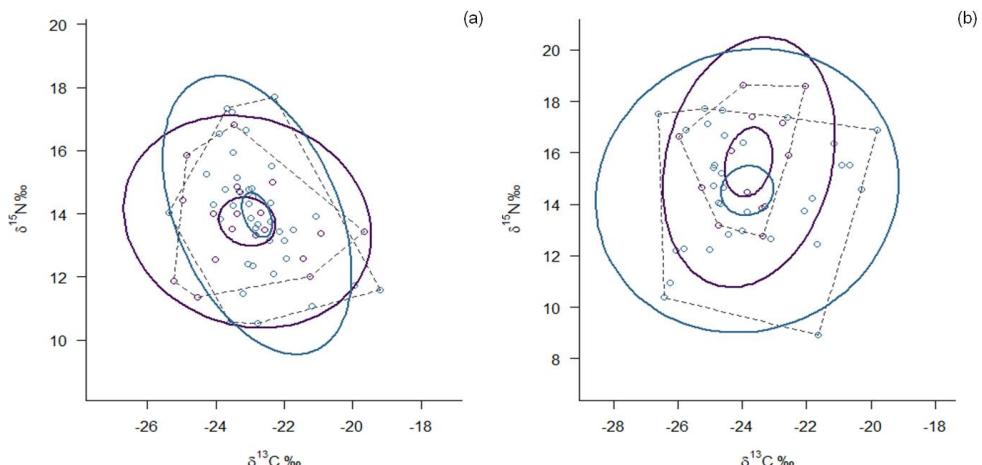


**Figure 3.** Diet compositions of the European mink in (a) allopatry and (b) sympatry, and of the American mink in (c) allopatry and (d) sympatry according to the SIAR mixing model, using the indirect vibrissae discrimination factor. The contribution of each prey to the diet is shown with 95% (light grey), 75% (medium grey) and 50% (dark grey) credibility intervals.

### American mink diet

The AM diet in areas where the species occurred in allopatry was mostly composed of fish (45%, CI = 26-61%) and small mammals (34%, CI = 22-45%; Fig. 3c). However, when in sympatry with the EM, the consumption of these prey was lower (9% and 29% fish and small mammals, respectively), while that of crayfish and birds was higher (40%, CI = 17-63% and 21%, CI = 0-41%, respectively; Fig. 3d).

Both carbon and nitrogen values were higher in females than males, but these differences were not significant ( $\delta^{13}\text{C}$ :  $F_{1,0.02} = 0.006, p = 0.937$ ;  $\delta^{15}\text{N}$ :  $F_{1,11} = 2.393, p = 0.129$ ; Table S3). The diet overlap analysis between the sexes showed a considerably higher trophic niche width (i.e., TA and SEAc) in males than in females ( $\text{TA}_{\text{males}} = 45.97$ ,  $\text{TA}_{\text{females}} = 14.46$ ). SEAc showed an almost complete overlap between the standard ellipses calculated from  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values for both sexes, indicating a high trophic overlap between the sexes. Thus, the overlap in the ellipses constituted 81.59% of the female ellipse and 42.41% of the male ellipse (Fig. 4b).



**Figure 4.** Stable isotope Bayesian ellipses (solid lines) represent the (a) trophic niche width and overlap between the American and European mink and (b) trophic niche overlap between the sexes for the American mink based on standard ellipses corrected for small sample sizes (SEAc), with a 95% confidence interval for the means of each species. SEAc represents the core niche area of each group, while the convex hulls represent the overall niche diversity and encompass all data points. Each circle represents an individual mink. In (a), the American and European mink

---

are represented in blue and purple, respectively, while in (b), males and females are represented in blue and purple, respectively.

## Discussion

Our results indicated a trophic niche shift in the diet of the native mink between allopatric and sympatric populations, which could be attributable to the arrival of the invasive mink. These differences were revealed by the Bayesian model, which is stronger and more robust than univariate analyses that are sensitive to the sample size and might fail to detect the differences. Overall, the type of prey and its contribution to the diet of both mink species were different between allopatric and sympatric populations, with a high trophic niche overlap occurring in sympatric populations. In addition, we observed a high degree of individual variability in the diet in both mink species, with individuals consuming prey of different trophic levels and using different sources of carbon (i.e., aquatic or terrestrial prey).

## Changes in the diet during the invasion process

The composition of the EM diet changed between allopatric and sympatric populations, with the EM consuming a higher proportion of terrestrial prey and prey from lower trophic levels when in sympathy with the invasive mink. Bayesian mixing model provided strong evidence of a dietary change between allopatric and sympatric populations of the native mink. The invasive mink showed a larger range of  $\delta^{15}\text{N}$  values than the native species both in allopathy and sympathy, indicating a greater ability to exploit resources from different trophic levels. Previous studies using faeces analyses also obtained similar results, demonstrating a significant change in the diet of both mink species during the invasion (Maran *et al.* 1998; Sidorovich *et al.* 2010). However, the proportion of prey consumed in sympathy in those studies differed from those recorded in our study. Maran *et al.* (1998), in their study conducted in Estonia, suggested that when confronted with the same spectrum

---

of food availability and in the absence of other species, both mink species chose mainly the same food, with the differences observed in the large-scale sample being due to differences in habitat selection. Similarly, Sidorovich *et al.* (2010) proposed that a habitat shift of the native species, reduced prey abundance, and/or niche divergence in both predator species might have caused the change in the diet of both species in Belarus.

Introduced alien predators usually cause a drastic decrease in the abundance of native prey in their new habitat (Vander Zanden *et al.* 1999; Salo *et al.* 2007). Together with fluctuations in prey numbers, the abundance of prey may be temporarily too low to support both the invading and native predator populations, which might increase competitive interactions (Sidorovich *et al.* 2010). Although the abundance of prey was not evaluated in our study, the arrival of the invasive mink could have reduced some prey populations, thereby affecting the diet of the native mink, at least during the period evaluated (i.e., autumn). Diet studies of non-native predators from other systems (e.g., Vander Zanden *et al.* 1999; Pilger *et al.* 2010) have also demonstrated that, together with a decline in prey abundance, an invasion is followed by a substantial decline in the trophic position of the native species, reflecting a shift in their diet.

Interestingly, high intraspecific variation (measured as the dispersion of  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  isotopic signatures) in the diet of both the EM and AM was observed both in allopatry and sympatry, indicating considerable inter-individual diversity in feeding habits. Thus, our results confirmed individual differences in feeding in both the native and alien mink species, which has only been previously shown by Sidorovich *et al.* (2010) in Belarus. Hence, although both mink species are generalist predators, some individuals exhibit a predominantly terrestrial diet (i.e., mammals and birds), while others base their diets on aquatic resources (i.e., fish and crayfish) both in allopatry and sympatry.

Previous studies of the EM diet in Romania and Spain using scat analyses reported that aquatic prey constituted one of the most important parts of the EM diet (relative

---

frequency of occurrence of up to 30–35%) in allopatry (Kranz *et al.* 2002; Palazón *et al.* 2004). In Belarus, Sidorovich *et al.* (2010) found that fish together with crayfish and especially frogs formed the main part of the EM diet before the expansion of the invasive species. During the progression of the AM invasion, the EM trophic niche has narrowed, with the proportion of aquatic prey in their diet reducing considerably. However, according to our isotope analyses, fish were the least consumed prey in both allopatric and sympatric EM (13% and 8%, respectively). The discordances between the results of previous studies and ours could be due to differences in prey abundance and availability in each area. Moreover, the differences could have resulted from possible errors associated with the analyses of scats or stomach contents, since these methodologies, unlike isotope analysis, are biased given that they can overestimate the lower digestibility of dams (Middelburg 2014).

The lack of differences in the diet between the sexes for both mink species suggests that both females and males have similar feeding habits regardless of whether they are in allopatry or sympatry. In fact, inter-individual variability was higher than the variability between the sexes. In line with these results, previous studies in Spain (Palazón *et al.* 2004) have indicated an overlap in the diet between male and female EM, finding no significant differences in the EM diet according to sex. By contrast, differences in the diet between the sexes have been reported for the AM (e.g., Dunstone 1993; Birks & Dunstone 1985); however, these differences were not observed in our study.

### **Changes in the trophic niche width and niche overlap**

SIAR Bayesian mixing models provided robust evidence that the native and invasive mink consumed similar diets under sympathy, gaining most of their energy and nutrients from similar prey types. However, a lower trophic niche width was observed for the native mink when it co-existed with the invasive mink, which is concordant with the results of Maran *et al.* (1998) and Sidorovich *et al.* (2010). As

---

in other invasive species (Polacik *et al.* 2009), this suggests that the invasive mink has greater flexibility in their habitat use and feeding habits than the native mink, which can have important implications for successful establishment.

Trophic niche overlap, suggesting dietary competition, has been confirmed previously in co-occurring native and invasive species (e.g., Cucherousset *et al.* 2007; Olsson *et al.* 2009; Balzani *et al.* 2016; Magoulick & Piercy 2016). We also observed a high trophic overlap (> 70%) when both species were in sympatry, suggesting the existence of trophic interactions and potential interspecific competition. Sidorovich *et al.* (2010) reported similar results, recording a high trophic overlap (50–61%) between the two mink species in sympatry in Belarus. However, Maran *et al.* (1998) noted that the diet of the two species was largely different in their study in Estonia, indicating a low trophic overlap when both species were in sympatry. These results suggest that both mink species may reduce potential competition and facilitate coexistence by niche partitioning (e.g., varying the distance from water and time of day when active) in the short term (Harrington & Macdonald 2008). The high trophic overlap observed in sympatry could also indicate that the native mink cannot adapt their trophic requirements quickly in response to the arrival of the alien mink or that the study area has sufficient terrestrial and aquatic prey to support the food requirements of both predator species, at least during the period evaluated (i.e., autumn). However, further studies are needed to confirm this.

### American mink diet

Diet variations of the AM were found between areas and allopatric and sympatric populations. The AM diet was composed mainly of fish and small mammals in allopatric populations, with birds and crayfish being the least consumed prey. However, previous studies in Spain using faeces analyses found that the AM diet was dominated by crayfish (Delibes *et al.* 2004; Melero *et al.* 2008b). The high consumption of fish we observed in allopatric AM was replaced by a greater consumption of crayfish in sympatric AM, with fish consumption considerably

---

reduced among the AM in areas where they co-occurred with the EM. These differences in the AM diet between areas could have been due to the presence of other native sympatric competitors with similar diets besides the EM (e.g., otters and spotted genet) (Melero *et al.* 2008b; Palazón *et al.* 2008). In fact, Harrington *et al.* (2009) showed that the AM consumed fewer fish in the presence of otters, which practically only consume fish (Sidorovich *et al.* 1998; Melero *et al.* 2008; Palazón *et al.* 2008). Thus, the highest proportion of fish consumed by allopatric AM could be explained by low otters densities reported for Catalonia (Area 1, allopatry) compared to La Rioja (Area 3, in sympatry with the EM), where higher otters densities have been observed (Barbosa *et al.* 2001). A similar explanation could be used for the low proportion of fish consumed by the native mink in this area (both allopatric and sympatric EM).

## Conclusions

Our results, based on stable isotope analyses, confirm previous findings demonstrating changes in the diet of native mink following the invasion of an alien mink and overlapping food habits between native and invasive mink in areas where they co-occur. Our findings also indicate a higher trophic niche width for invasive mink in sympatry with the native species. Similarly, the high niche overlap between both species in sympatry might have important consequences for the viability and conservation of native mink populations because it indicates hight competitive pressure. However, since seasonal changes have been noted in the diet of both species (e.g., Palazón *et al.* 2004; Melero *et al.* 2008b), future studies should undertake stable isotope analyses during different times of the year to evaluate if the trophic niche overlap between the two species is constant or changes throughout the year.

## Acknowledgements

This work was financially supported by the Bosch i Gimpera Foundation, project code N° 302 375. The samples used in this study came from different European

---

mink conservation projects carried out by the Government of La Rioja, the Diputación Foral de Álava and the Ministry of Agriculture, Fisheries, Food and Environment (TRAGSA company). K.G. was funded by a “Beca Chile-CONICYT” PhD studentship. We acknowledge the Generalitat de Catalunya and the Government of La Rioja for authorising the collection of prey samples. We also thank the technicians from all the administrations involved in sample collection and management, particularly Asun Gómez, Madis Pödra and Ricard Gutiérrez. Finally, we also thank the language service at the University of Barcelona for revising the English.

## References

- Balzani P, Vizzini S, Santini G, Ciofi C, Ricevuto E, Chelazzi G, Masoni A (2016) Stable isotope analysis of trophic niche in two co-occurring native and invasive terrapins, *Emys orbicularis* and *Trachemys scripta elegans*. Biol Invasions 18:3611–3621. doi: 10.1007/s10530-016-1251-x
- Edelaar P, Roques S, Hobson EA, Gonçalves Da Silva A, Avery ML, Russello MA, Senar JC, Wright TF, Carrete M, Tella JL (2015) Shared genetic diversity across the global invasive range of the monk parakeet suggests a common restricted geographic origin and the possibility of convergent selection. Mol Ecol 24:2164–2176. doi: 10.1111/mec.13157
- Barbosa M, Real R, Márquez L, Rendón M (2001) Spatial, environmental and human influences on the distribution of otter (*Lutra lutra*) in the Spanish provinces. Divers Distrib 7:137–144. doi: 10.1046/j.1472-4642.2001.00104.x
- Bearhop S, Adams CE, Waldron S, Fuller RA, Macleod H (2004) Determining trophic niche width: A novel approach using stable isotope analysis. J Anim Ecol 73:1007–1012. doi: 10.1111/j.0021-8790.2004.00861.x
- Birks J, Dunstone N (1985) Sex-related differences in the diet of the mink. Holarctic Ecol 8:245–252.

- 
- Bodey TW, Bearhop S, Roy SS, Newton J, McDonald RA (2010) Behavioural responses of invasive American mink *Neovison vison* to an eradication campaign, revealed by stable isotope analysis. 114–120. doi: 10.1111/j.1365-2664.2009.01739.x
- Bodey TW, Bearhop S, McDonald R (2011) Invasions and stable isotope analysis—informing ecology and management. In: Veitch CR, Clout MN, Towns DR (eds) Island invasives: eradication and management. IUCN, Gland, Switzerland, pp 148–151.
- Boecklen WJ, Yarnes CT, Cook BA, James AC (2011) On the Use of Stable Isotopes in Trophic Ecology. Annu Rev Ecol Evol Syst 42:411–440. doi: 10.1146/annurev-ecolsys-102209-144726
- Bøhn T, Amundsen PA, Sparrow A (2008) Competitive exclusion after invasion? Biol Invasions 10:359–368. doi: 10.1007/s10530-007-9135-8
- Bolnick DI, Yang LH, Fordyce JA, Davis JM, Svanback R (2002) Measuring individual-level resource specialization. Ecology 83:2936–2941. doi: 10.1890/0012-9658
- Carlsson NOL, Sarnelle O, Strayer DL (2009) Native predators and exotic prey – An acquired taste? Front Ecol Environ 7:525–532. doi: 10.1890/080093
- Caut S, Angulo E, Courchamp F (2009) Variation in discrimination factors ( $\Delta^{15}\text{N}$  and  $\Delta^{13}\text{C}$ ): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. J Appl Ecol 46:443–453. doi: 10.1111/j.1365-2664.2009.01620.x
- Cucherousset J, Aymes JC, Santoul F, Céréghino R (2007) Stable isotope evidence of trophic interactions between introduced brook trout *Salvelinus fontinalis* and native brown trout *Salmo trutta* in a mountain stream of south-west France. J Fish Biol 71:210–223. doi: 10.1111/j.1095-8649.2007.01675.x
- Davidson AM, Michael J, Nicotra AB (2011) Do invasive species show higher phenotypic plasticity than native species and, if so, is it adaptive? A meta-analysis. Ecol Lett 14:419–431. doi: 10.1111/j.1461-0248.2011.01596.x

- 
- Delibes M, Clavero M, Prenda J, Blázquez MC, Ferreras P (2004) Potential impact of an mammal on rocky intertidal communities of northwestern Spain. *Biol Invasions* 6:213–219.
- Dunstone N. 1993. *The mink*. T. & A.D. Poyser Ltd, London.
- Folch J, Lees M, Stanley GHS (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226:497–509.
- Genovesi P, Carnevali L, Alonzi A, Scalera R (2012) Alien mammals in Europe: Updated numbers and trends, and assessment of the effects on biodiversity. *Integr Zool* 7:247–253. doi: 10.1111/j.1749-4877.2012.00309.x
- Glen AS, Dickman CR (2008) Niche overlap between marsupial and eutherian carnivores: Does competition threaten the endangered spotted-tailed quoll? *J Appl Ecol* 45:700–707. doi: 10.1111/j.1365-2664.2007.01449.x
- Guzzo MM, Haffner GD, Legler ND, Rush SA, Fisk AT (2013) Fifty years later: Trophic ecology and niche overlap of a native and non-indigenous fish species in the western basin of Lake Erie. *Biol Invasions*. doi: 10.1007/s10530-012-0401-z
- Harrington LA, Harrington AL, Yamaguchi N, Thom MD, Ferreras P, Windham TR, MacDonald DW (2009) The Impact of native competitors on an alien invasive: temporal niche shifts to avoid interspecific aggression? *Ecology* 90:1207–1216.
- Harrington LA, Macdonald DW (2008) Spatial and Temporal Relationships between Invasive American Mink and Native European Polecats in the Southern United Kingdom. *J Mammal* 89:991–1000.
- Hobson K a, Clark RG (1992) Assessing avian diets using Stable Isotopes II. Factors influencing diet-tissue fractionation. *The Condor* 94:189–197. doi: 10.2307/1368807
- Inger R, Bearhop S (2008) Applications of stable isotope analyses to avian ecology. *Ibis* 150: 447–461. doi: 10.1111/j.1474-919X.2008.00839.x

- 
- Jackson AL, Inger R, Parnell AC, Bearhop S (2011) Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. *J Anim Ecol* 80:595–602. doi: 10.1111/j.1365-2656.2011.01806.x
- Kelly JF (2000) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Can J Zool* 78:1–27. doi: 10.1139/z99-165
- Kranz A, Poledník L, Gotea V (2002) Conservation of the European Mink (*Mustela lutreola*) in the Danube Delta Background Information and Project Plan. *Sci Ann Danube Delta Inst Research Dev* 8:124–129.
- Layman C, Arrington DA, Montaña C, Post DM (2007) Can Stable Isotope Ratios Provide for Community-Wide Measures of Trophic Structure? *Ecology* 88:42–48. doi: 10.1890/07-1143.1
- Macdonald DW, Harrington LA (2003) The American mink: The triumph and tragedy of adaptation out of context. *Neth J Zool* 30:421–441. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/03014223.2003.9518350>
- Magoullick DD, Piercey GL (2016) Trophic overlap between native and invasive stream crayfish. *Hydrobiologia* 766:237–246. doi: 10.1007/s10750-015-2457-0
- MAGRAMA (2013) Estrategia de gestión, control y erradicación del visón americano (*Neovison vison*) en España. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Gobierno de España.
- Maran T, Kruuk H, Macdonald DW, Polma M (1998) Diet of two species of mink in Estonia : displacement of *Mustela lutreola* by *M. vison*. *J Zool Lond* 245:218–222.
- Maran T, Skumatov D, Gomez A, Põdra M, Abramov AV, Dinets V (2016) *Mustela lutreola*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T14018A45199861.<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20161.RLTS.T14018A45199861.en>.
- Melero Y, Palazón S, Bonesi L, Gosálbez J (2008) Feeding habits of three sympatric mammals in NE Spain: the American mink, the spotted genet, and the Eurasian otter. *Acta Theriol* 53:263–273. doi: 10.1007/BF03193123

- 
- Middelburg JJ (2014) Stable isotopes dissect aquatic food webs from the top to the bottom. *Biogeosciences* 11:2357–2371. doi: 10.5194/bg-11-2357-2014.
- Newsome SD, Bentall GB, Tinker MT, Oftedal OT, Ralls K, Estes JA, Fooel ML (2010) Variation in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  diet-vibrissae trophic discrimination factors in a wild population of California sea otters. *Ecol Appl* 20:1744–1752.
- Newsome SD, Rio, Martinez del C, Bearhop S, Phillips DL (2007) A Niche for Isotope Ecology. *Front Ecol Environ* 5:429–436. doi: 10.1890/060150.01
- Newsome SD, Tinker MT, Monson DH, Oftedal OT, Staedler MM, Fogel ML, Estes JA, Tinker T, Monson H, Fogel L, Oftedal T, James A (2009) Using Stable Isotopes to Investigate Individual Diet Specialization in California Sea Otters (*Enhydra lutris nereis*). *Ecology* 90:961–974.
- Olsson K, Stenroth P, Nystro P, Granéli W (2009) Invasions and niche width: does niche width of an introduced crayfish differ from a native crayfish? *Freshw Biol* 54:1731–1740. doi: 10.1111/j.1365-2427.2009.02221.x
- Palazón S, Ruiz-Olmo J, Gosálbez J (2008) Autumn-winter diet of three carnivores, European mink (*Mustela lutreola*), Eurasian otter (*Lutra lutra*) and small-spotted genet (*Genetta genetta*), in northern Spain. *Anim Biodivers Conserv* 31:37–43. doi: 10.1126/science.1178336
- Palazón S, Ruiz-Olmo J, Gosálbez J (2004) Diet of European mink (*Mustela lutreola*) in Northern Spain. *Mammalia* 68:159–165. doi: 10.1515/mamm.2004.016
- Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2010) Source partitioning using stable isotopes: Coping with too much variation. *PLoS One* 5:1–5. doi: 10.1371/journal.pone.0009672
- Pilger TJ, Gido KB, Propst DL (2010) Diet and trophic niche overlap of native and nonnative fishes in the Gila River, USA: Implications for native fish conservation. *Ecol Freshw Fish* 19:300–321. doi: 10.1111/j.1600-0633.2010.00415.x
- Polacik M, Janác M, Jurajda P, Adamek Z, Ondrackova M, Trichkova T, Vassilev M (2009) Invasive gobies in the Danube: invasion success facilitated by

- 
- availability and selection of superior food resources. *Ecol Freshw Fish* 640–649. doi: 10.1111/j.1600-0633.2009.00383.x
- Salo P, Korpimaki E, Banks PB, Nordstrom D, Dickman CR (2007) Alien predators are more dangerous than native predators to prey populations. *Proc R Soc B Biol Sci* 274:1237–1243. doi: 10.1098/rspb.2006.0444
- Santos MJ, Pinto BM, Santos-Reis M (2007) Trophic niche partitioning between two native and two exotic carnivores in SW Portugal. *Web Ecol* 7:53–62. doi: 10.5194/we-7-53.
- Santulli G, Palazón S, Melero Y, Gosálbez J, Lambin X (2014) Multi-season occupancy analysis reveals large scale competitive exclusion of the critically endangered European mink by the invasive non-native American mink in Spain. *Biol Conserv* 176:21–29. doi: 10.1016/j.biocon.2014.05.002
- Sidorovich VE, Kruuk H, Macdonald DW, Maran T (1998) Diets of semi-aquatic carnivores in northern Belarus, with implications for population changes. *Behav Ecol Riparian Mamm* 177–191.
- Sidorovich VE, Polozov AG, Zalewski A (2010) Food niche variation of European and American mink during the American mink invasion in north-eastern Belarus. *Biol Invasions* 12:2207–2217. doi: 10.1007/s10530-009-9631-0
- Vander Zanden MJ, Casselman JM, Rasmussen JB (1999) Stable isotope evidence for the food web consequences of species invasions in lakes. *Nature* 401:464–467. doi: 10.1038/46762
- Wood KA, Hayes RB, England J, Grey J (2017) Invasive crayfish impacts on native fish diet and growth vary with fish life stage. *Aquat Sci* 79:1–13. doi:10.1007/s00027-016-0483-2

---

## Appendix

**Table S1.** The numbers of American and European mink from allopatric and sympatric populations sampled per year.

Period	American mink		European mink	
	Allopatric	Sympatric	Allopatric	Sympatric
2005	-	-	2	-
2006	-	-	4	-
2007	-	-	6	-
2008	-	-	-	6
2009	-	-	2	3
2010	-	-	1	1
2011	-	-	5	3
2012	12	6	5	6
2013	32	8	-	-
2014	2	25	-	-
<b>Total</b>	<b>46</b>	<b>39</b>	<b>25</b>	<b>19</b>

**Table S2.** Ratios of stable isotopes of carbon and nitrogen (mean  $\pm$  standard deviation) in the muscle of potential prey of the American and European mink in the two analysed regions.

Species	Common name	Family	<i>n</i>	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$			
				(mean $\pm$ SD)	(mean $\pm$ SD)			
<b>Catalonia</b>								
<b>Crustaceans</b>								
<i>Procambarus clarkii</i>	American crayfish	Cambaridae	3	13.4 $\pm$ 0.6	-24.9 $\pm$ 3.6			
<b>Fish</b>								
<i>Barbus meridionalis</i>	Western Mediterranean barbel	Cyprinidae	1	16.6	-29.3			
<i>Cyprinus carpio</i>	Common carp	Cyprinidae	1	14.1	-24.1			
<i>Gobio gobio</i>	Gudgeon	Cyprinidae	5	16.4 $\pm$ 0.3	-24.4 $\pm$ 0.9			
<i>Parachondrostoma miegii</i>	Ebro nase	Cyprinidae	1	15.6	-24.1			
<i>Phoxinus phoxinus</i>	Eurasian minnow	Cyprinidae	6	16.4 $\pm$ 1.5	-25.0 $\pm$ 0.6			
<i>Squalius laietanus</i>	Ebro chub	Cyprinidae	1	14.9	-29.4			
<b>Birds</b>								
<i>Aegithalos caudatus</i>	Long-tailed tit	Aegithalidae	10	10.9 $\pm$ 0.7	-24.8 $\pm$ 0.8			
<i>Cyanistes caeruleus</i>	Eurasian blue tit	Paridae	2	6.7 $\pm$ 5.9	-22.3 $\pm$ 1.8			
<i>Erithacus rubecula</i>	European robin	Muscicapidae	3	5.1 $\pm$ 2.8	-24.0 $\pm$ 0.9			
<i>Fringilla coelebs</i>	Common chaffinch	Fringillidae	1	8.51	-16.56			
<i>Regulus regulus</i>	Goldcrest	Sylviidae	1	4.73	-25.70			
<i>Sylvia melanocephala</i>	Sardinian warbler	Sylviidae	1	10.21	-22.93			
<i>Troglodytes troglodytes</i>	Eurasian wren	Troglodytidae	1	7.07	-26.27			
<b>Mammals</b>								
<i>Apodemus sylvaticus</i>	Long-tailed field mouse	Muridae	5	6.1 $\pm$ 1.3	-24.8 $\pm$ 0.6			
<i>Mus spretus</i>	Algerian mouse	Muridae	5	5.2 $\pm$ 1.9	-24.2 $\pm$ 1.7			
<b>La Rioja</b>								
<b>Crustaceans</b>								
<i>Procambarus clarkii</i>	American crayfish	Cambaridae	7	12.4 $\pm$ 1.0	-26.0 $\pm$ 1.0			
<b>Fish</b>								
<i>Cyprinus carpio</i>	Common carp	Cyprinidae	2	12.4 $\pm$ 0.5	-25.6 $\pm$ 0.0			
<i>Gobio gobio</i>	Gudgeon	Cyprinidae	5	13.6 $\pm$ 0.9	-24.4 $\pm$ 0.4			
<i>Parachondrostoma miegii</i>	Ebro nase	Cyprinidae	5	14.3 $\pm$ 0.5	-26.2 $\pm$ 0.4			
<i>Phoxinus phoxinus</i>	Eurasian minnow	Cyprinidae	5	14.1 $\pm$ 0.5	-24.6 $\pm$ 0.4			
<i>Salmo trutta</i>	Brown trout	Salmonidae	5	14.8 $\pm$ 0.7	-23.1 $\pm$ 1.8			

Species	Common name	Family	n	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$
				(mean $\pm$ SD)	(mean $\pm$ SD)
<b>Birds</b>					
<i>Cettia cetti</i>	Cetti's warbler	Scotocercidae	1	15.85	-26.37
<i>Cisticola juncidis</i>	Zitting cisticola	Cisticolidae	1	11.23	-23.42
<i>Cyanistes caeruleus</i>	Eurasian blue tit	Paridae	3	3.4 $\pm$ 0.3	-24.1 $\pm$ 1.4
<i>Emberiza schoeniclus</i>	Reed bunting	Emberizidae	1	7.82	-16.68
<i>Erythacus rubecula</i>	European robin	Muscicapidae	3	4.8 $\pm$ 0.3	-25.1 $\pm$ 0.7
<i>Miliaria calandra</i>	Corn bunting	Emberizidae	2	7.9 $\pm$ 0.1	-22.7 $\pm$ 0.0
<i>Panurus biarmicus</i>	Bearded reedling	Panuridae	4	12.2 $\pm$ 1.2	-28.6 $\pm$ 1.4
<i>Phylloscopus collybita</i>	Common chiffchaff	Phylloscopidae	3	9.3 $\pm$ 3.7	-25.0 $\pm$ 1.2
<i>Prunella modularis</i>	Dunnock	Prunellidae	1	3.65	-23.22
<i>Sylvia atricapilla</i>	Eurasian blackcap	Sylviidae	5	6.7 $\pm$ 3.8	-24.7 $\pm$ 2.0
<i>Sylvia melanocephala</i>	Sardinian warbler	Sylviidae	2	11.6 $\pm$ 0.1	-23.0 $\pm$ 0.5
<i>Turdus merula</i>	Eurasian blackbird	Turdidae	1	12.03	-23.79
<i>Turdus philomelos</i>	Song thrush	Turdidae	4	8.1 $\pm$ 2.3	-23.7 $\pm$ 1.0
<b>Mammals</b>					
<i>Apodemus sylvaticus</i>	Long-tailed field mouse	Muridae	5	9.4 $\pm$ 1.8	-25.0 $\pm$ 1.5
<i>Crocidura russula</i>	White-toothed shrew	Soricidae	1	10.02	-24.81
<i>Mus spretus</i>	Algerian mouse	Muridae	5	9.2 $\pm$ 1.9	-24.3 $\pm$ 1.3

**Table S3.** Mean  $\delta^{15}\text{N}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values  $\pm$  SD of hair samples from American and European mink in allopatric and sympatric populations.

	American mink				European mink			
	Females		Males		Females		Males	
	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	$\delta^{13}\text{C}$
Allopatric	15.6 $\pm$ 1.9	-23.7 $\pm$ 1.1	14.5 $\pm$ 2.3	-23.8 $\pm$ 1.9	14.8 $\pm$ 1.6	-23.6 $\pm$ 1.2	14.3 $\pm$ 1.1	-22.6 $\pm$ 1.4
Sympatric	14.1 $\pm$ 1.7	-23.1 $\pm$ 0.6	13.9 $\pm$ 1.9	-22.6 $\pm$ 1.4	13.8 $\pm$ 1.1	-23.1 $\pm$ 1.3	13.7 $\pm$ 1.7	-23.1 $\pm$ 1.7



# CAPÍTULO 3

---





---

## Detection probabilities of the native Eurasian otter and the invasive American mink are independent of their co-occurrence

Karla García<sup>1\*</sup>, Santiago Palazón<sup>1,2</sup> Joaquim Gosálbez<sup>1</sup> and Yolanda Melero<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Evolutionary Biology, Ecology and Environmental Sciences, University of Barcelona, 08028 Barcelona, Spain. \*Correspondence: karla.garcia.cl@gmail.com

<sup>2</sup> Fauna and Flora Service, Department of Territory and Sustainability, Government of Catalonia, 08017 Barcelona, Spain.

<sup>3</sup> CREAF, 08193 Cerdanyola del Vallès, Spain.

---

## Abstract

Detection probability is an important input when studying and managing species. It reduces the miscalculations of the estimates of occupancy, population abundances and its trends inherent to the imperfect detection during sampling. However, detection probability may vary in relation to environmental and biological factors, such as the presence of other species of similar ecological niche. We used a two-species single-season occupancy model to analyse the detection probability of the native Eurasian otter *Lutra lutra* and the invasive American mink *Neovison vison* in the northeast of Iberian Peninsula and to test for potential differences in their detection when co-occurring and when not. Despite the known behavioural change of mink in the presence of otter, their detectability did not vary when both species co-occurred versus when they did not. However, we observed seasonal differences in the probability of detection, being higher in winter and lower in spring; and in small and medium rivers that in larger rivers for both species, except in winter when the contrary pattern was registered. These results indicate that the effectiveness of their monitoring remains independent of the species co-occurrence. Yet, seasonal variations in the detection should be taken into account when monitoring.

**Keywords:** Two-species occupancy modelling, detection probability, interaction, *Lutra lutra*, *Neovison vison*, co-occurrence.

---

## Resumen

La probabilidad de detección es una entrada importante para el estudio y la gestión de especies. Reduce los cálculos erróneos de las estimaciones de ocupación, abundancia poblacional y sus tendencias inherentes a la detección imperfecta durante el muestreo. Sin embargo, la probabilidad de detección puede variar en relación con factores ambientales y biológicos, como la presencia de otras especies de nichos ecológicos similares. Utilizamos un modelo de ocupación de dos especies para una sola temporada para analizar la probabilidad de detección de la nutria eurasiática nativa *Lutra lutra* y el visón americano invasor *Neovison vison* en el noreste España y para determinar posibles diferencias en su detección cuando ocurren conjuntamente y cuando no. A pesar del conocido cambio de comportamiento del visón en presencia de la nutria, su detectabilidad no varió cuando ambas especies coocurrieron versus cuando no lo hicieron. Sin embargo, observamos diferencias estacionales en la probabilidad de detección, siendo mayor en invierno y menor en primavera; y en ríos pequeños y medianos que en ríos más grandes para ambas especies, excepto en invierno, cuando se registró el patrón contrario. Estos resultados indican que la efectividad de su monitoreo sigue siendo independiente de su coexistencia. Sin embargo, las variaciones estacionales en la detección deben tenerse en cuenta durante el monitoreo.

---

## Introduction

Species monitoring is key for gathering information about the status of their populations and, therefore, for their management. However, the detection of wild populations is inherently imperfect. Estimates of population parameters derived from monitoring usually need to be corrected for the detection probability of the species. Indeed, analysing their detection probability is crucial in the modelling process to avoid errors associated with under- or overestimation of the species presence or abundances. This is why, research focused on species detection has received a growing interest in the last decades (Mackenzie *et al.* 2004).

Yet, changes in behavioral patterns may occur when species of similar ecological niche share their territory, which consequently may affect their detection probability. For example, studies between similar species have observed differences in their detection when co-occurring compared to when both species do not co-occur (e.g., European and American mink, Santulli *et al.* 2014; Owls, Bailey *et al.* 2009). Therefore, estimating detection probabilities between species that co-occur is important to adjust the sampling effort to the population being studied and therefore to adapt management strategies (Tyrrell *et al.* 2009; Santulli *et al.* 2014; Farris *et al.* 2015).

Among co-occurring species, the native Eurasian otter (*Lutra lutra*, otter hereafter) and the invasive American mink (*Neovison vison*, mink hereafter) are probably one of the most studied carnivores. This is due to their respective interest in conservation (e.g., Barbosa *et al.* 2003) and in control programs worldwide (e.g., Melero *et al.* 2010; Bryce *et al.* 2011). Being mustelids these species are frequently cryptic and elusive, therefore difficult to detect. They are both also typically associated with freshwater and coastal habitats where they hunt both in water and, especially mink, on land. The mink is one of the most nefarious spread invasive non-native species that became established in Europe, Asia and South America during the 20<sup>th</sup> century as a result of accidental and deliberate releases from fur

---

farms (Bonesi & Palazón 2007). A proper detection of American mink is crucial for its successful control, since even a few escaped mink could halt back the density reductions of their populations via reinvasion (Oliver *et al.* 2016). Likewise, in the case of the otter, monitoring is key for an updated information of their status and hence, of the conservation actions that may be needed.

Despite their similarities, otter and mink differ in several aspects, some of which could affect their detection. Body weight of the otter is about seven times that of the mink; they have longer home ranges and are better at hunting aquatic prey (Dunstone 1993), therefore it is expected to be the stronger competitor. For a long time, it was thought that the otter could negatively affect mink presence due to competition (Ruiz-Olmo *et al.* 1997; Bonesi *et al.* 2004). However, later it was shown that, despite their potential spatial and trophic competition, there is no negative effect of the otter on mink since the latter can change its diet and behaviour in the presence of otter. Indeed, mink changes its generalist diet towards more terrestrial prey and a predominantly diurnal behaviour when co-occurring with the otter (Melero *et al.* 2008b; Harrington *et al.* 2009). This shift toward a more terrestrial diet could cause mink to be less mobile in the presence of otters or to be less likely to come to riverbanks in the areas with higher otter densities (Kruuk 1995). Given these behavioural changes of the mink in the presence of the otter, the detection of the first may differ in the presence and absence of the second, meanwhile otter detection might stay the same. We would also expect seasonal differences in the detection of both species. Although the frequency of sign of the otter has not always shown a clear seasonal trend (Ruiz-Olmo & Gosálbez 1997; Balestrieri *et al.* 2011), while mink tend to mark more during the mating and dispersal seasons (i.e., winter and autumn, respectively) (Bonesi & Macdonald 2004; Melero *et al.* 2013). Additionally, environmental factors such as habitat type or availability of resources may also influence detectability within a given survey period (Gu & Swihart 2004; Mackenzie *et al.* 2004). Previous studies pointed to higher otter and mink detection in larger rivers (Harrington *et al.* 2009; Balestrieri

---

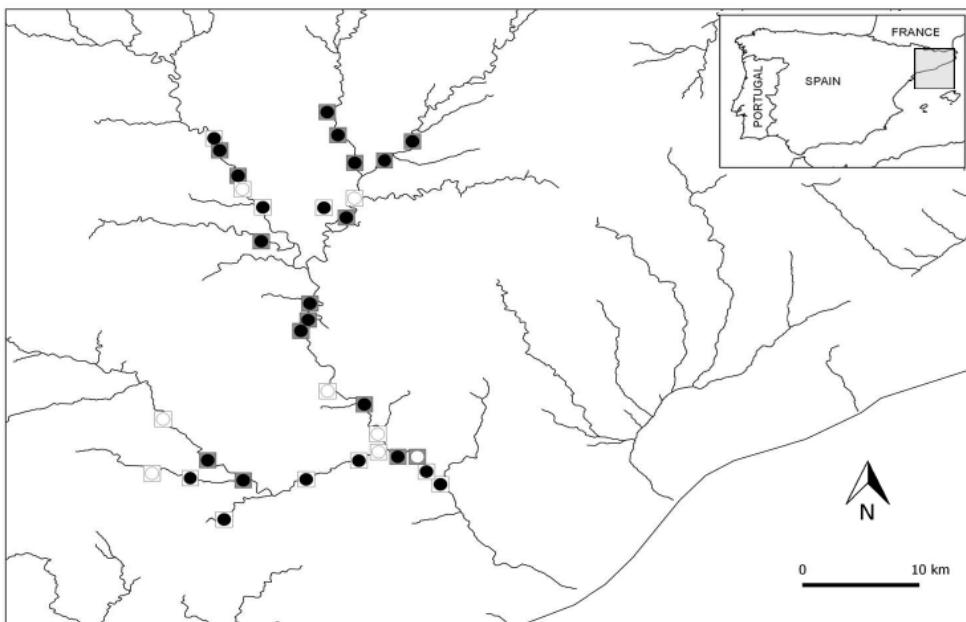
*et al.* 2011; Jeffress *et al.* 2011; Hooder *et al.* 2017) since larger rivers usually contain higher habitat and food availability (e.g., Rathert *et al.* 1999).

Here, we investigated the detectability probabilities of the native otter and the invasive mink in the northeast of the Iberian Peninsula and if their detections were independent or influenced by the presence of their counterpart. Both species can be found in allopatry or in sympatry along the Peninsula depending on the area. Yet so far, neither the mink control program running since 2000 (Melero & Palazón 2011) or the otter national survey active since 1984-85 (Delibes 1990) account for potential variations in their detection related to their co-occurrence. Based on the observations of behavioral shift of the mink in presence of the otter (Melero *et al.* 2008b; Harrington *et al.* 2009), we predicted a decrease in mink detection probability in the presence of the otter, while no changes in the case of the otter. We also expected to find seasonal variations and a higher detection for both species in larger rivers than in small and medium rivers, especially given the high variability of water level in small Mediterranean rivers.

## Study area

The study was conducted in the basin of the Llobregat River and its tributaries, located in the northeast of the Iberian Peninsula covering about 135 km of riverbanks, representative of the species distributions in the area (Figure 1) (Palazón *et al.* 2016; Palazón 2017). Mediterranean rivers' are characterized by a typical Mediterranean hydrological regime, with strong severe drought in many stretches of the watercourse during summer and sudden fast floods during spring and autumn, especially in those rivers of small size. The studied riverbanks are characterized by low vegetation occupying variable width of the margin (0.5 -20 m range) and with predominantly clay substrate, which easily allows to track riparian species.

The otter went almost extinct in this study area in the 1970s but it has recolonised these rivers since the year 2000 as a result of several conservation measures, with currently a established population in the area (Palazón 2017). The mink has been present in the area since 1982 introduced from the two local mink farms because of several small unintentional releases and a large escape following a fire (Palazón & Ruiz-Olmo 1998). Despite the mink control campaigns, the area is almost entirely occupied by mink at high population densities (Melero *et al.* 2010).



**Figure 1.** Location of the study sites in the Llobregat River and its tributaries. Symbols represent monitoring sites of otter and mink in 2012-2013. Black and white circles indicate presence and absence of the mink; grey and white squares indicate presence and absence of otter.

---

## Material and methods

### Sampling design

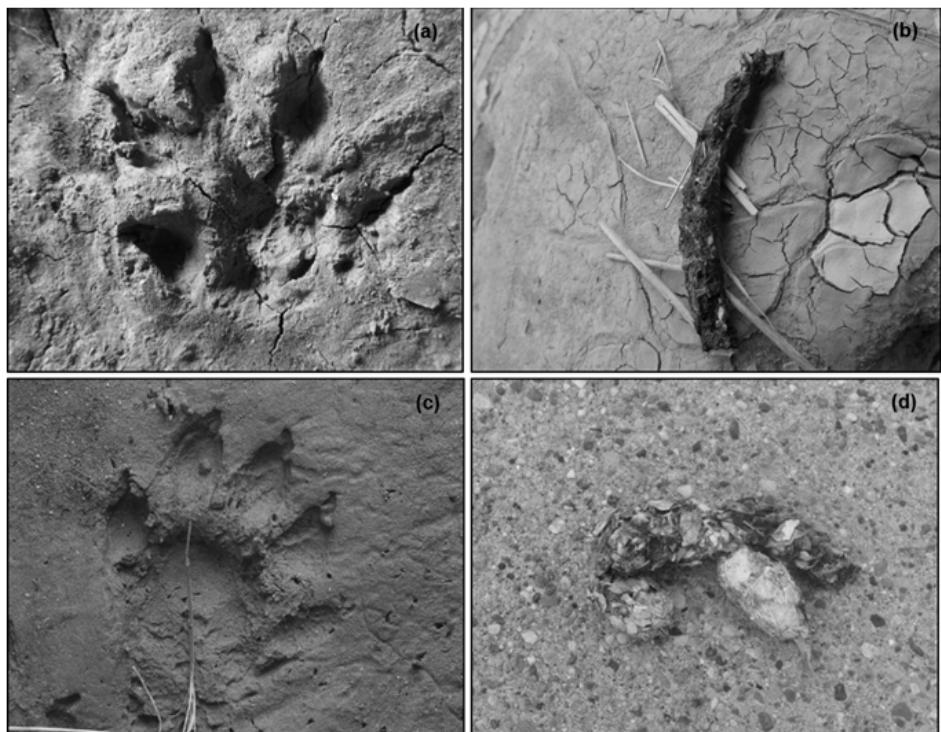
Surveys were conducted in 33 sites located on the two riverbanks from November 2012 to October 2013 to monitoring the presence of the studied species. At each site, otter and mink signs were searched along a minimum distance of 200 m along each site's side and along both riversides. Survey sites were set within an average distance of 2.7 km ( $SD = 1.2$  km, range = 1.5 - 6.4 km), depending of their accessibility. Surveys were done once per month, i.e., three times per season. All surveys were performed at least three days after the last rain event to ensure the detection of the signs that the species deposit along the riverbank (Bonesi & Macdonald 2004). To avoid bias due to variation in sampling experience, surveys were performed by the same trained personnel.

We identified and recorded all signs accumulated since the previous check (i.e., during four weeks), which were deleted to avoid confusion with subsequent survey. Identification was done visually since mink tracks are less rounded and are practically half the size of that of otters. Besides, mink mark five fingers around a central pad, though sometimes only recorded four fingers and claws are occasionally visible on the end of the leg (Fig. 2a – 2c). Otter fingers are more mobile, so their relative position with respect to the central pad is very variable, but they also usually mark the five fingers. Mink scats are also more compact than those of otters and often contain hairs or feathers. Besides, they also have a strong unpleasant odour when fresh, while than otters have a sweet musky smell (Clavero *et al.* 2003; Dunstone 1993) (Fig. 2b – 2d).

### Analyses of detection probabilities

We used a single season, two-species occupancy model (Mackenzie *et al.* 2004, 2006) implemented in PRESENCE (version 12.5) for each season separately to test

whether the presence of one species influenced the probability of detection of another. We considered our sample size ( $n=33$  sites) as insufficient to accommodate multi-season models with higher numbers of parameters. Nevertheless, single-season two-species occupancy modelling provide a robust method for modelling observations of patterns consistent with asymmetrical interactions (Lazenby & Dickman 2013), in this case between different predators (i.e., otters vs. mink).



**Figure 2.** Signs of mink and otter. a) Mink and c) otter tracks in clayey substrate and b) mink and d) otter scat. (Photographs *a* and *d* by Karla García, and *b* and *c* by Santiago Palazón).

---

These occupancy models estimated five parameters: occupancy ( $\psi$ ), the probability that a site is occupied by one species; the probability of detecting one species at a site in the presence ( $r$ ) or absence ( $p$ ) of the competitor, and the species interaction factor (SIF) for the occupancy ( $\phi$ ) and detection ( $\delta$ ), which determined the level of co-occurrence and co-detection, respectively, between the two species at a survey site compared to what would be expected under a hypothesis of independence (Mackenzie *et al.* 2004). If  $\delta \approx 1$  the two species exhibit independence in the detection process at the co-occupied sites. If  $\delta > 1$ , species are detected more frequently than expected if they were distributed independently (i.e., aggregation), and if  $\delta < 1$ , species are detected less frequently than expected if they were distributed independently (i.e., avoidance). To assess species interaction in their detection we used the  $\phi/\delta$  parameterization. Because the focus of these analyses was detection probability, we held the probability of occupancy constant for each season (i.e., fix  $\psi = 1$ ).

We included river size as covariate for all parameters associated with detection probabilities ( $p$ ,  $r$  and  $\delta$ ), with rivers classified based on their order (Strahler order) as large (river order  $> 4$ ), medium (river order 2-3) and small (river order 1).

Our models assumed that the detection probability of a species was influenced by the presence of the other ( $p_{\text{otter}} \neq r_{\text{otter}}$ ,  $p_{\text{mink}} \neq r_{\text{mink}}$ ) or was independent ( $p_{\text{otter}} = r_{\text{otter}}$ ,  $p_{\text{mink}} = r_{\text{mink}}$ ). Additionally, we explored if the detection probability of the two species was equal or not ( $p_{\text{otter}} = p_{\text{mink}}$ ). We also evaluated whether the detection process between both species was independent ( $\delta \approx 1$ ) or whether the detection of one species influenced the probability of detecting the other species during a given survey ( $\delta \neq 1$ ).

A total of 20 models for each season were estimated based on the above-explained combinations (Tables S1-S4). Model selection was based on AIC and associated weight ( $\text{AIC}_w$ ). Model-averaged estimates were calculated using the best models in the candidate set by season ( $\Delta \text{AIC} \leq 2$ ; Symonds & Moussalli 2011).

---

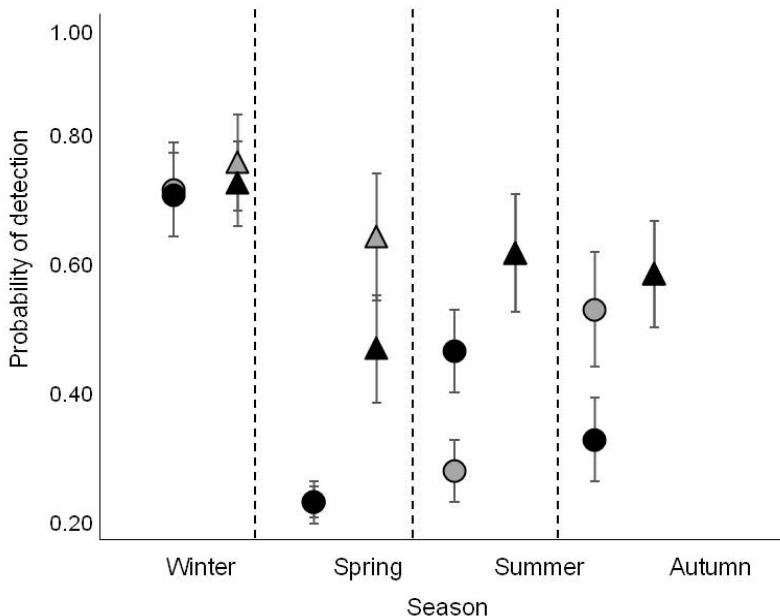
## Results

Overall, 94% otter signs were scats and 97% mink signs were tracks. Otters were detected at 17 of the 33 sites during the studied period, while mink were detected at 25 sites. We recorded 16 sites (48.5%) with presence of the two species, and eight (24%) and one (3%) site with mink and otter when no co-occurring, respectively. Occupancy probabilities varied among seasons for both species, being on average higher for the mink (0.76, SE = 0.09) than the otter in the studied area (0.39, SE = 0.10) (Table 1).

**Table 1.** Model-averaged estimates using two-species occupancy models for the otter and the mink by season.  $\psi$ : probability a site is occupied by otters or mink.  $p$ : probability of detecting otters or mink during the survey, given only species otters or mink is present at the site.  $r$ : probability of detecting otters or mink during the survey, given both species are present.  $\delta$ : Detection Interaction Factor, denotes whether the two species are detected independently of each other at survey sites.

Parameter	Winter		Spring		Summer		Autumn	
	Estimate	SE	Estimate	SE	Estimate	SE	Estimate	SE
$\psi_{\text{otter}}$	0.44	0.09	0.26	1.00	0.46	0.12	0.41	0.10
$\psi_{\text{mink}}$	0.41	0.09	1.00	0.00	0.74	0.12	0.89	0.11
$p_{\text{otter}}$	0.68	0.09	0.08	0.03	0.14	0.06	0.45	0.11
$p_{\text{mink}}$	0.67	0.08	0.08	0.04	0.37	0.08	0.20	0.08
$r_{\text{otter}}$	0.72	0.09	0.58	0.12	0.55	0.11	0.51	0.10
$r_{\text{mink}}$	0.68	0.08	0.37	0.10	0.45	0.08	0.51	0.10
$\delta$	1.06	0.08	1.45	0.27	1.09	0.18	1.00	0.15

Detection probability of both species varied also among seasons, but on average both species showed a similar detection with 0.34 ( $SD = 0.07$ ) for otters and 0.33 ( $SD = 0.07$ ) for mink, based on the best models (Table 1). Both otter and mink detection probabilities were higher during winter ( $p_{\text{otter}} = 0.68$ ,  $SE = 0.09$ ;  $p_{\text{mink}} = 0.67$ ,  $SE = 0.08$ ), and lower during spring ( $p_{\text{otter}} = 0.08$ ,  $SE = 0.03$ ;  $p_{\text{mink}} = 0.08$ ,  $SE = 0.04$ ; Figure 3).



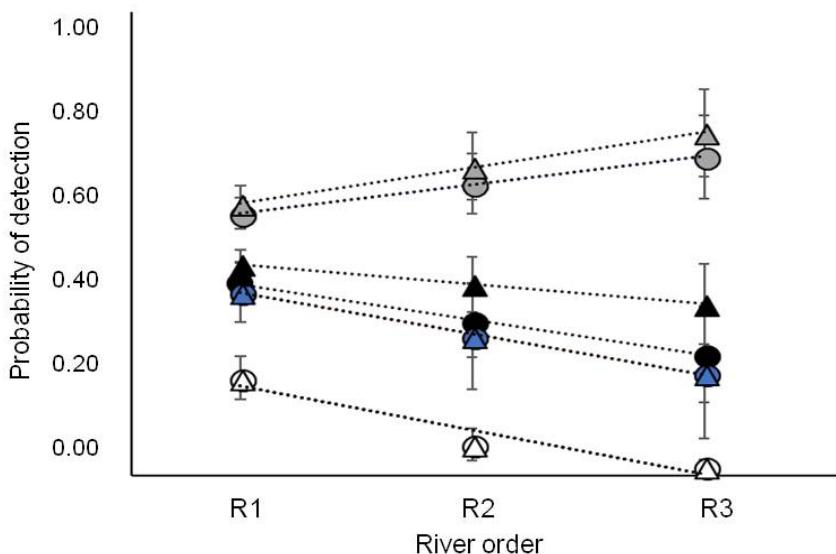
**Figure 3.** Best models averaged detection probabilities and their standard errors per season, when only one species is present (circles) and both are present (triangles). Grey and black represent the otter and the mink, respectively.

---

However, the otter was 2.6 times less likely to be detected than the mink in summer, while that in autumn the inverse pattern was registered when the otter was 2.3 times more detected than the mink (Figure 3).

The detection of one species did not affect the detection of the other, except during spring when both species were detected more frequently than expected if their detection was independent (best models averaged,  $\delta$  = 1.45, SE = 0.27). Our results suggested that when both species co-occurred, the detection probabilities were independent for winter, summer and autumn with model-averaged estimates of  $\delta$  near 1 (Table 1). Consistently, our results also evidenced that the detection probabilities of both species were not influenced by the presence of the other species ( $p_{\text{otter}} = r_{\text{otter}}$  and  $p_{\text{mink}} = r_{\text{mink}}$ ). Except for otter in spring and for the mink in autumn, which showed that the presence of a species favoured the detection of its counterpart ( $r_{\text{otter}} = 0.57$ , SE = 0.12;  $p_{\text{otter}} = 0.08$ , SE = 0.03 and  $r_{\text{mink}} = 0.51$ , SE = 0.10;  $p_{\text{mink}} = 0.20$ , SE = 0.08).

Both species were more frequently detected in small and medium rivers (River order 1 – 2) than larger rivers (River order 3), excluding in winter time when the inverse pattern was found and both species were 1.2 times more frequently detected in larger rivers than small (Figure 4). In spring, both species were up to 11 times more detected in small rivers than larger, while than in summer and autumn these differences were reduced to 1.2 and 1.8 respectively.



**Figure 4.** Detection probabilities ( $p$ ) and their standard errors for the Eurasian otter and the American mink according to river size. Circles and triangles represent the otters and mink, respectively. Colours grey, black, blue and white represent winter, summer, autumn and spring, respectively. R1, R2 and R3 represent the river size small, medium and large, respectively.

## Discussion

Our analysis using a single-season two-species occupancy model revealed that the detection of one species did not affect the detection of the other. This indicates that despite the known behavioural shift of mink in the presence of the otter (Harrington *et al.* 2009; Melero *et al.* 2010), this change does not affect mink detection. The independence of their detection can be a positive result for the management of the invasive species since it indicates no need of different mink survey protocols when the otter is present. The observed spatial and temporal differences in the detection probabilities of both species

---

also inform on where (small and medium rivers) and when (late summer to autumn) may be better to survey them.

On average we found similar detection probabilities for otter and mink, with a 34% for otter and a 33% for mink, indicating that we detected the species about one third of the time it was present. Yet, detection probability changed in relation to the sign surveyed. Otter tracks were ca. 16 times more detectable than scats, while for mink the inverse pattern was registered with scats being ca. 33 times smore detectable than tracks. Similar results were found in other studies using otter and mink surveys (e.g., Mason & Macdonald 1987, Jeffress *et al.* 2011, Bonesi & Macdonald 2004, Schooley *et al.* 2012).

### **Seasonal detection patterns**

Detection also varied throughout the year. Both species had similar detection probabilities during winter and spring, while in summer mink was 2.6 times more detected than otter and in autumn the otter was 2.3 times more detected than the mink. The highest detection probabilities were found in winter (0.68 for otters and 0.67 for mink), followed by an important decline in spring for the two species (0.08); with independent detection probabilities for all seasons, except in spring for the otters and autumn for the mink, when mink detection was not independent of the otter's.

Seasonal changes in the species detection may be partly explained by their species behaviour. In the case of mink, the higher detection in winter may be related to their dispersal. Mink dispersal in the study area occurs between November and February increasing their detectability or, potentially overestimating mink presence as dispersive mink may pass by the territory of a settled mink (i.e., several mink could be detected as a single one).

---

Meanwhile, mink breeding starts around May, reducing movement of female mink, but increasing that of the male (Yamaguchi *et al.* 2004; Melero & Palazón 2011) which can explain the lower detect of mink in spring. Similar for otters, the increase of signs detected during winter also coincided with dispersal, while the decrease in spring and summer could be coincident with pregnant and breeding females, a period characterized by less movement (see Ruiz-Olmo & Gosálbez 1997). The large fluctuations in water level and feeding resources inherent to the Mediterranean habitat has also been seen to affect the ecology and behavioural patterns of semi-aquatic species such as the otter and the mink (e.g., Ruiz-Olmo & Palazón 1997; Ruiz-Olmo *et al.* 2002). Thus, the low detection probabilities found in spring for both species could also be also related to structural change of the habitat as a result of intense rains and floods that occur during that season in Mediterranean areas, which may remove signs, and thereby, reduce the detection probability of the species. In fact, relationship between the total rainfall dropped and the probability of detection of mink has been reported, suggesting a greater detection at lower rainfall (Schooley *et al.* 2012).

Overall, our results were discordant with those recorded in previous studies using signs surveys for mink detection, but similar for those on the otter. In North America, Schooley *et al.* (2012) found that detected mink was three times higher compared to our results in summer and spring (72% and 24%, respectively); while otter had a similar detection (34%, Jeffress *et al.* 2011) from late winter to early spring compared to our results for the same period (36%). Differences in environmental conditions among studies (e.g., type of substrate suitable, waterbody type) or in population densities of both species might have contributed to the dissimilar findings (Ruiz-Olmo *et al.* 2001).

---

While similar seasonal detection patterns have been previously observed for mink (Bonesi & Macdonald 2004; Melero *et al.* 2013), but not for otter. Seasonal detection of otter differs between studies, finding a higher sign density in winter in the northeast of Spain (Ruiz-Olmo & Gosálbez 1997) and in the south of Italy (Balestrieri *et al.* 2011) and a higher frequency of signs in summer in the southern of Spain (Ruiz-Olmo & Gosálbez 1997) and in other areas of southern Italy (Fusillo *et al.* 2007). In Spain, previous studies have suggested different causes for these seasonal variations in the detection of the otter (e.g., territorial and reproductive behavioural variations, availability of resources and shelters). However, these variations do not show a fixed pattern (Heggberget & Christensen 1994, Ruiz-Olmo & Gosálbez 1997; Ruiz-Olmo *et al.* 2001; Ruiz-Olmo & Jiménez 2008).

### River order and detection probabilities

Both species were more detected in tributaries (River order 1 – 2) than in main rivers (River order 3) for all seasons except in winter which the contrary pattern was observed. Overall, these results were only in concordance with previous studies for winter, when a higher detection was observed in both species in medium and large size rivers in Spain (Ruiz-Olmo & Gosálbez 1997; Santulli 2014), England (Harrington *et al.* 2009), Italy (Balestrieri *et al.* 2011) and Belarus (Sidorovich & Macdonald 2001). In Greece, however, Ruiz-Olmo (2006) found that the otters were detected significantly more often in small and medium rivers (2-20 m wide) in the lowlands than in larger rivers of widths > 20 m. According to Ruiz-Olmo *et al.* (2001), otters are less likely to be detected in large rivers when there are at low densities. In addition, likely favourable conditions for the detection of the mink and the otters could be related with the higher detection registered

---

in the small and medium rivers in the study area as greater availability of clay substrate or refuge areas. This has been registered for other similar species such as the European mink (Santulli 2014).

### **Management implications**

Our results suggest that the effectiveness of the current monitoring protocol of mink and otter survey remains independent of the species co-occurrence given that their detection probabilities were not influenced by the detection of their counterpart. However, seasonal and river size related variations should be taken into account when designing sampling strategies based on the signs surveys, since the detection probabilities vary between seasons and river size in both species. Hence, these variations in the detection of otters and mink should be accounted in our estimations so to avoid under- or overestimation of the species presence and/or abundances. Alternatively, an increase of the survey effort when the species are less detectable may also be beneficial for an effective monitoring.

Similarly, for both species, while previous evidence suggests continuous monitoring of their populations (Bryce *et al.* 2011, Jeffress *et al.* 2011), our results show that a monitored population in a given period could also be useful under funding limitations for continued monitoring to track their responses to control of the mink and conservation of the otter. To monitor the two species together, our analysis suggests that the most appropriate seasons could be from late summer to early autumn, when individuals of both species hold stable home ranges and therefore bias in the detection probabilities associated with non-random movements (i.e., dispersion) of the species is minimised. Nevertheless, our findings show that the most appropriate season to monitor mink would summer, while that for otters

---

would autumn. Thus, our study highlights the importance of evaluating the detection probabilities between species of similar habits that co-occur, and with it, testing if any correction is necessary to provide effective population control and management measures.

### Acknowledgements

K.G. was funded by a “Becas Chile-CONICYT” PhD studentship. We thank Jim Hines for his advises in relation to the setting of the models in Program PRESENCE. We also thank the language service at the University of Barcelona for revising the English.

### References

- Bailey LL, Reid JA, Forsman ED, Nichols JD (2009) Modeling co-occurrence of northern spotted and barred owls: Accounting for detection probability differences. *Biol Conserv* 142:2983–2989. doi: 10.1016/j.biocon.2009.07.028
- Balestrieri A, Remonti L, Prigioni C (2011) Detectability of the Eurasian otter by standard surveys: an approach using marking intensity to estimate false negative rates. 23–31. doi: 10.1007/s00114-010-0737-0
- Barbosa AM, Real R, Olivero J, Vargas JM (2003) Otter (*Lutra lutra*) distribution modeling at two resolution scales suited to conservation planning in the Iberian Peninsula. *Biol Conserv* 114:377–387. doi: 10.1016/S0006-3207(03)00066-1
- Bonesi L, Chanin P, Macdonald D (2004) Competition between Eurasian otter *Lutra lutra* and American mink *Mustela vison* probed by niche shift. *Oikos* 106:19–26. doi: 10.1111/j.0030-1299.2004.12763.x

- 
- Bonesi L, Macdonald DW (2004) Evaluation of sign surveys as a way to estimate the relative abundance of American mink (*Mustela vison*). *J Zool* 262:65–72. doi: 10.1017/S0952836903004448
- Bonesi L, Palazón S (2007) The American mink in Europe: Status, impacts, and control. *Biol Conserv* 134:470–483. doi: 10.1016/j.biocon.2006.09.006
- Bryce R, Oliver MK, Davies L, et al (2011) Turning back the tide of American mink invasion at an unprecedented scale through community participation and adaptive management. *Biol Conserv* 144:575–583. doi: 10.1016/j.biocon.2010.10.013
- Clavero M, Francisco B-G, Ruiz-Olmo J (2003) Guía de los indicios de los mamíferos: Nutria Paleártica *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758). *Galemys* 15:49–54.
- Farris Z, Kelly MJ, Karpanty S, Ratelolahy F (2015) Patterns of spatial co-occurrence among native and exotic carnivores in north-eastern. *Anim Conserv*. doi: 10.1111/acv.12233
- Fusillo R, Marcelli M, Boitani L (2007) Survey of an otter *Lutra lutra* population in Southern Italy: site occupancy and influence of sampling season on species detection. *Acta Theriol (Warsz)* 52:251–260.
- Gallant D, Vasseur L, Bérubé CH (2008) Evaluating bridge survey ability to detect river otter *Lontra canadensis* presence: a comparative study. *Wildlife Biology* 14:61.
- Gu W, Swihart RK (2004) Absent or undetected? Effects of non-detection of species occurrence on wildlife – habitat models. *Biol Conserv* 116:195–203. doi: 10.1016/S0006-3207(03)00190-3
- Harrington LA, Harrington AL, Yamaguchi N, et al (2009) The Impact of Native Competitors on an Alien Invasive : Temporal Niche Shifts to Avoid Interspecific Aggression? *Ecology* 90:1207–1216.
- Hooper D, Larsen K, Crowley S (2017) The role of environmental variables and sympatric meso-carnivores on the detection and occupancy of American mink during winter. *Hystrix*. doi: 10.4404/hystrix-28.1-11437

- 
- Jeffress MR, Paukert CP, Sandercock BK, Gipson PS (2011) Factors Affecting Detectability of River Otters During Sign Surveys. *J Wildl Manage* 75:144–150. doi: 10.1002/jwmg.l2
- Lazenby BT, Dickman CR (2013) Patterns of Detection and Capture Are Associated with Cohabiting Predators and Prey. *PLoS One* 8:1–14. doi: 10.1371/journal.pone.0059846
- Mackenzie DI, Bailey LL, Nichols JD (2004) Investigating species co-occurrence patterns when species are detected imperfectly. *J Anim Ecol* 73:546–555. doi: 10.1111/j.0021-8790.2004.00828.x
- Mason CF, Macdonald SM (1987) The use of spraints for surveying otter (*Lutra lutra*) populations: an evaluation. *Biological Conservation* 41:167-177.
- Melero Y, Palazón S (2011) Visón americano - *Neovison vison* (Schreber,1777). In: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. 29 p.
- Melero Y, Palazón S, Bonesi L, Gosálbez J (2010) Relative abundance of culled and not culled American mink populations in northeast Spain and their potential distribution: are culling campaigns effective? *Biol Invasions*. doi: 10.1007/s10530-010-9778-8
- Melero Y, Palazón S, Bonesi L, Gosálbez J (2008) Feeding habits of three sympatric mammals in NE Spain: the American mink, the spotted genet, and the Eurasian otter. *Acta Theriol* 53:263–273. doi: 10.1007/BF03193123
- Melero Y, Palazón S, Gosálbez J, et al (2013) Is the standard Eurasian otter *Lutra lutra* survey strategy suitable for surveying the American mink *Neovison vison*? *Acta Theriol* 58:169–177. doi: 10.1007/s13364-012-0116-7
- Oliver MK, Piertney SB, Zalewski A, et al (2016) The compensatory potential of increased immigration following intensive American mink population control is diluted by male-biased dispersal. *Biol Invasions* 18:3047–3061. doi: 10.1007/s10530-016-1199-x
- Palazón S (2017) Estat actual i evolució de la distribució de la llúdriga euroasiàtica (*Lutra lutra*) a Catalunya i Andorra. Generalitat de Catalunya. 76 pp.

- 
- Palazón S, Melero Y, Plaza M, et al (2016) Situation of feral American mink (*Neovison vison*) in Catalonia: expansion, distribution, ecology and population control. *Butlletí la Inst Catalana d'Història Nat* 80:145–154.
- Rathert D, White D, Sifneos JC, Hughes RM (1999) Environmental correlates of species richness for native freshwater fish in Oregon, U.S.A. *J Biogeogr* 26:257–273.
- Ruiz-Olmo J (2006) The Otter (*Lutra lutra* L.) on Corfu Island (Greece): Situation in 2006 IUCN Otter Spec. Group Bull. 23 (1): 16 - 24.
- Ruiz-Olmo J, Gosálbez J (1997) Observations on the spraiting behaviour of the otter *Lutra lutra* in the NE Spain. *Acta Theriol* 42:259–270. doi: 10.4098/AT.arch.97-28
- Ruiz-Olmo J, Jiménez J (2008) Diet diversity and breeding of top predators are determined by habitat stability and structure: A case study with the Eurasian otter (*Lutra lutra* L.). *Eur J Wildl Res* 55:133–144. doi: 10.1007/s10344-008-0226-3
- Ruiz-Olmo J, López-Martín JM, Palazón S (2001) The influence of fish abundance on the otter (*Lutra lutra*) populations in Iberian Mediterranean habitats. *J Zool* 254:325–336. doi: 10.1017/S0952836901000838
- Ruiz-Olmo J, Munilla I, Romero R (1997) Distribution, Status and Colonization of the American Mink *Mustela vison* in Spain. *J Wildl Res* 2:30–36.
- Ruiz-Olmo J, Olmo-Vidal JM, Mañas S, Batet A (2002) The influence of resource seasonality on the breeding patterns of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) in Mediterranean habitats. *Can J Zool* 2189:2178–2189. doi: 10.1139/Z02-186
- Ruiz-Olmo J, Palazón S (1997) The diet of the European otter (*Lutra lutra* L., 1758) in Mediterranean freshwater habitats. *J Wildl Res* 2:171–181.
- Santulli G (2014) Occupancy, abundance, potential distribucion and spatial competition of the critically endangered european mink (*Mustela lutreola*) and the invasive non-native american mink (*Neovison vison*) in the Iberian Peninsula. Dissertation, Universitat de Barcelona.

- 
- Santulli G, Palazón S, Melero Y, et al (2014) Multi-season occupancy analysis reveals large scale competitive exclusion of the critically endangered European mink by the invasive non-native American mink in Spain. *Biol Conserv* 176:21–29. doi: 10.1016/j.biocon.2014.05.002
- Schooley RL, Cotner LA, Ahlers AA, et al (2012) Monitoring Site Occupancy for American Mink in Its Native Range. *J Wildl Manag* 76:824–831. doi: 10.1002/jwmg.294.
- Sidorovich V, Macdonald DW (2001) Density dynamics and changes in habitat use by the European mink and other native mustelids in connection with the American mink expansion in Belarus. *Neth J Zool* 51: 107-126.
- Symonds MRE, Moussalli A (2011) A brief guide to model selection, multimodel inference and model averaging in behavioural ecology using Akaike's information criterion. *Behav Ecol Sociobiol* 65:13–21. doi: 10.1007/s00265-010-1037-6
- Tyrrell CL, Christy MT, Rodda GH, et al (2009) Evaluation of trap capture in a geographically closed population of brown tree snakes on Guam. *J Appl Ecol* 46:128–135. doi: 10.1111/j.1365-2664.2008.01591.x
- Yamaguchi N, Sarno RJ, Johnson WE, et al (2004) Multiple paternity and reproductive tactics of free-ranging American minks, *Mustela vison*. *J Mammal* 85:432–439.

---

## Appendix

**Table S1.** The most supported single-season two-species occupancy models based on AIC fit to the native Eurasian Otter and the invasive non-native American Mink detection data in the northeast of the Iberian Peninsula during winter. The terms in parentheses represent the sources of variation in model parameters. "River" denotes a model where detection varied with river size, "." indicates a parameter set equal across species and survey times.  $w$  = model weight.  $k$  = number of parameters in the model.  $-2^*l$  = twice the negative log-likelihood. The best models are shown in bold. The probabilities of site occupancy of otter and mink were estimated independently.

Model	AIC	ΔAIC	w	ML	no.Par.	-2*LogLike
pA(.)=rA(.),pB(.)=rB(.),delta(River)	193.56	0.00	0.1234	1,0000	5	183.56
<b>pA(.),rA(.),pB(River)=rB(River),delta(River)</b>	<b>193.74</b>	<b>0.18</b>	<b>0.1128</b>	<b>0.9139</b>	<b>6</b>	<b>181.74</b>
pA(.)=rA(.),pB(.)=rB(.),delta(.)	193.80	0.24	0.1095	0.8869	5	183.80
pA(.),rA(.),pB(River)=rB(River),delta(.)	193.84	0.28	0.1073	0.8694	6	181.84
<b>pA(River)=rA(River),pB(River)=rB(River),delta(River)</b>	<b>194.97</b>	<b>1.41</b>	<b>0.0610</b>	<b>0.4941</b>	<b>5</b>	<b>184.97</b>
pA(River)=rA(River),pB(River)=rB(River),delta(.)	195.09	1.53	0.0574	0.4653	5	185.09
pA(.)=pB(.),rA(.),rB(.),delta(River)	195.29	1.73	0.0520	0.4211	6	183.29
pA(.)=rA(.),pB(.),rB(.),delta(River)	195.31	1.75	0.0515	0.4169	6	183.31
<b>pA(.),rA(.),pB(.)=rB(.),delta(River)</b>	<b>195.43</b>	<b>1.87</b>	<b>0.0485</b>	<b>0.3926</b>	<b>6</b>	<b>183.43</b>
pA(.)=pB(.),rA(.),rB(.),delta(.)	195.55	1.99	0.0456	0.3697	6	183.55
pA(.)=rA(.),pB(.),rB(.),delta(.)	195.60	2.04	0.0445	0.3606	6	183.60
pA(.),rA(.),pB(.)=rB(.),delta(.)	195.64	2.08	0.0436	0.3535	6	183.64
pA(River)=pB(River),rA(.),rB(.),delta(River)	196.10	2.54	0.0347	0.2808	6	184.10
pA(River)=pB(River),rA(.),rB(.),delta(.)	196.37	2.81	0.0303	0.2454	6	184.37
pA(.),pB(.),rA(.),rB(.),delta(River)	197.15	3.59	0.0205	0.1661	7	183.15
pA(.),pB(.),rA(.),rB(.),delta(.)	197.41	3.85	0.0180	0.1459	7	183.41
pA(River)=rA(River),pB(.),rB(.),delta(River)	198.31	4.75	0.0115	0.0930	6	186.31
pA(River)=rA(River),pB(.),rB(.),delta(.)	198.63	5.07	0.0098	0.0793	6	186.63
pA(River),pB(River),rA(River),rB(River),delta(River)	198.73	5.17	0.0093	0.0754	7	184.73
<b>pA(River),pB(River),rA(River),rB(River),delta(.)</b>	<b>198.84</b>	<b>5.28</b>	<b>0.0088</b>	<b>0.0714</b>	<b>7</b>	<b>184.84</b>

**Table S2.** The most supported single-season two-species occupancy models based on AIC fit to the native Eurasian Otter and the invasive American Mink detection data in the northeast of the Iberian Peninsula during spring. The terms in parentheses represent the sources of variation in model parameters. "River" denotes a model where detection varied with river size, "." indicates a parameter set equal across species and survey times.  $w$  = model weight.  $k$  = number of parameters in the model.  $-2^*l$  = twice the negative log-likelihood. The best models are shown in bold. The probabilities of site occupancy of otter and mink were estimated independently.

Model	AIC	$\Delta\text{AIC}$	w	ML	no.Par.	$-2^*\text{LogLike}$
pA(River)=pB(River),rA(.),rB(.),delta(.)	<b>143.09</b>	<b>0.00</b>	<b>0.3873</b>	<b>10.000</b>	6	<b>131.09</b>
pA(River)=pB(River),rA(.),rB(.),delta(River)	<b>144.60</b>	<b>1.51</b>	<b>0.1820</b>	<b>0.4700</b>	6	<b>132.60</b>
pA(River),pB(River),rA(River,rB(River),delta(.))	146.60	3.51	0.0670	0.1729	7	132.60
pA(River),pB(River),rA(River),rB(River),delta(River)	146.62	3.53	0.0663	0.1712	7	132.62
pA(.)=pB(.),rA(.),rB(.),delta(.)	148.10	5.01	0.0316	0.0817	6	136.10
pA(.)=rA(.),pB(.),rB(.),delta(.)	148.10	5.01	0.0316	0.0817	6	136.10
pA(.),rA(.),pB(River)=rB(River),delta(.)	148.14	5.05	0.0310	0.0801	6	136.14
pA(.),rA(.),pB(.)=rB(.),delta(.)	148.20	5.11	0.0301	0.0777	6	136.20
pA(River)=rA(River),pB(.)=rB(.),delta(.)	148.26	5.17	0.0292	0.0754	6	136.26
pA(River)=rA(River),pB(.)=rB(.),delta(River)	148.82	5.73	0.0221	0.0570	6	136.82
pA(.),rA(.),pB(River)=rB(River),delta(River)	149.04	5.95	0.0198	0.0510	6	137.04
pA(.)=pB(.),rA(.),rB(.),delta(River)	149.12	6.03	0.0190	0.0490	6	137.12
pA(.)=rA(.),pB(.),rB(.),delta(River)	149.12	6.03	0.0190	0.0490	6	137.12
pA(.),pB(.),rA(.),rB(.),delta(.)	149.44	6.35	0.0162	0.0418	7	135.44
pA(.),rA(.),pB(.)=rB(.),delta(River)	149.79	6.70	0.0136	0.0351	6	137.79
pA(River)=rA(River),pB(River)=rB(River),delta(River)	149.81	6.72	0.0135	0.0347	5	139.81
pA(River)=rA(River),pB(River)=rB(River),delta(.)	150.32	7.23	0.0104	0.0269	5	140.32
pA(.),pB(.),rA(.),rB(.),delta(River)	150.68	7.59	0.0087	0.0225	7	136.68
pA(.)=rA(.),pB(.)=rB(.),delta(.)	154.25	11.16	0.0015	0.0038	5	144.25
pA(.)=rA(.),pB(.)=rB(.),delta(River)	157.40	14.31	0.0003	0.0008	5	147.40

**Table S3.** The most supported single-season two-species occupancy models based on AIC fit to the native Eurasian Otter and the invasive American Mink detection data in the northeast of the Iberian Peninsula during summer. The terms in parentheses represent the sources of variation in model parameters. "River" denotes a model where detection varied with river size, "." indicates a parameter set equal across species and survey times.  $w$  = model weight.  $k$  = number of parameters in the model.  $-2^*l$  = twice the negative log-likelihood. The best models are shown in bold. The probabilities of site occupancy of otter and mink were estimated independently.

Model	AIC	$\Delta\text{AIC}$	w	ML	no.Par.	$-2^*\text{LogLike}$
pA(.),rA(.),pB(River)=rB(River),delta(River)	<b>209.29</b>	<b>0.00</b>	<b>0.1233</b>	<b>1,000</b>	<b>6</b>	<b>197.29</b>
pA(.),rA(.),pB(.)=rB(.),delta(.)	<b>210.01</b>	<b>0.72</b>	<b>0.0861</b>	<b>0.6977</b>	<b>6</b>	<b>198.01</b>
pA(.),rA(.),pB(.)=rB(.),delta(River)	<b>210.33</b>	<b>1.04</b>	<b>0.0733</b>	<b>0.5945</b>	<b>6</b>	<b>198.33</b>
pA(.)=pB(.),rA(.),rB(.),delta(.)	<b>210.65</b>	<b>1.36</b>	<b>0.0625</b>	<b>0.5066</b>	<b>6</b>	<b>198.65</b>
pA(River)=pB(River),rA(.),rB(.),delta(.)	<b>210.73</b>	<b>1.44</b>	<b>0.0600</b>	<b>0.4868</b>	<b>6</b>	<b>198.73</b>
pA(.)=pB(.),rA(.),rB(.),delta(River)	<b>210.80</b>	<b>1.51</b>	<b>0.0580</b>	<b>0.4700</b>	<b>6</b>	<b>198.80</b>
pA(River)=pB(River),rA(.),rB(.),delta(River)	<b>210.91</b>	<b>1.62</b>	<b>0.0549</b>	<b>0.4449</b>	<b>6</b>	<b>198.91</b>
pA(.),rA(.),pB(River)=rB(River),delta(.)	<b>210.95</b>	<b>1.66</b>	<b>0.0538</b>	<b>0.4360</b>	<b>7</b>	<b>196.95</b>
pA(River),rA(River,),pB(River),rB(River),delta(.)	<b>211.06</b>	<b>1.77</b>	<b>0.0509</b>	<b>0.4127</b>	<b>7</b>	<b>197.06</b>
pA(River)=rA(River),pB(River)=rB(River),delta(.)	<b>211.12</b>	<b>1.83</b>	<b>0.0494</b>	<b>0.4005</b>	<b>5</b>	<b>201.12</b>
pA(.)=rA(.),pB(.),rB(.),delta(.)	211.43	2.14	0.0423	0.3430	6	199.43
pA(River),rA(River,),pB(River),rB(River),delta(River)	211.45	2.16	0.0419	0.3396	7	197.45
pA(.)=rA(.),pB(.),rB(.),delta(River)	211.58	2.29	0.0392	0.3182	6	199.58
pA(River)=rA(River),pB(River)=rB(River),delta(River)	211.74	2.45	0.0362	0.2938	5	201.74
pA(.),pB(.),rA(.),rB(.),delta(.)	211.75	2.46	0.0361	0.2923	7	197.75
pA(.),pB(.),rA(.),rB(.),delta(River)	211.98	2.69	0.0321	0.2605	7	197.98
pA(.)=rA(.),pB(.)=rB(.),delta(.)	212.24	2.95	0.0282	0.2288	5	202.24
pA(River)=rA(River),pB(.)=rB(.),delta(.)	212.24	2.95	0.0282	0.2288	5	202.24
pA(.)=rA(.),pB(.)=rB(.),delta(River)	212.68	3.39	0.0226	0.1836	5	202.68
pA(River)=rA(River),pB(.)=rB(.),delta(River)	212.84	3.55	0.0209	0.1695	5	202.84

**Table S4.** The most supported single-season two-species occupancy models based on AIC fit to the native Eurasian Otter and the invasive American Mink detection data in the northeast of the Iberian Peninsula during autumn. The terms in parentheses represent the sources of variation in model parameters. "River" denotes a model where detection varied with river size, "." indicates a parameter set equal across species and survey times.  $w$  = model weight.  $k$  = number of parameters in the model.  $-2^*l$  = twice the negative log-likelihood. The best models are shown in bold. The probabilities of site occupancy of otter and mink were estimated independently.

Model	AIC	$\Delta AIC$	w	ML	no.Par.	$-2^*LogLike$
pA(.)=rA(.),pB(.),rB(.),delta(.)	211.34	0.00	0.1486	1	6	199.34
pA(.)=rA(.),pB(.),rB(.),delta(River)	211.34	0.00	0.1486	1	6	199.34
pA(.)=pB(.),rA(.),rB(.),delta(River)	<b>212.60</b>	1.26	0.0792	<b>0.5326</b>	6	<b>200.60</b>
pA(.)=pB(.),rA(.),rB(.),delta(.)	<b>212.60</b>	1.26	0.0792	<b>0.5326</b>	6	<b>200.60</b>
pA(.),pB(.),rA(.),rB(.),delta(.)	<b>213.08</b>	1.74	0.0623	<b>0.4190</b>	7	<b>199.08</b>
pA(.),pB(.),rA(.),rB(.),delta(River)	<b>213.08</b>	1.74	0.0623	<b>0.4190</b>	7	<b>199.08</b>
pA(River)=pB(River),rA(.),rB(.),delta(River)	213.40	2.06	0.0531	0.3570	6	201.40
pA(River)=pB(River),rA(.),rB(.),delta(.)	213.40	2.06	0.0531	0.3570	6	201.40
pA(River),pB(River),rA(River),rB(River),delta(.)	213.65	2.31	0.0468	0.3151	7	199.65
pA(River),pB(River),rA(River),rB(River),delta(River)	213.67	2.33	0.0464	0.3119	7	199.67
pA(River)=rA(River),pB(.)=rB(.),delta(.)	214.19	2.85	0.0357	0.2405	5	204.19
pA(River)=rA(River),pB(.)=rB(.),delta(River)	214.26	2.92	0.0345	0.2322	5	204.26
pA(.)=rA(.),pB(.)=rB(.),delta(.)	214.46	3.12	0.0312	0.2101	5	204.46
pA(.)=rA(.),pB(.)=rB(.),delta(River)	214.48	3.14	0.0309	0.2080	5	204.48
pA(River)=rA(River),pB(River)=rB(River),delta(.)	215.61	4.27	0.0176	0.1182	6	203.61
pA(River)=rA(River),pB(River)=rB(River),delta(River)	215.68	4.34	0.0170	0.1142	6	203.68
pA(.),rA(.),pB(River)=rB(River),delta(.)	215.87	4.53	0.0154	0.1038	6	203.87
pA(.),rA(.),pB(River)=rB(River),delta(River)	215.88	4.54	0.0154	0.1033	6	203.88
pA(.),rA(.),pB(.)=rB(.),delta(.)	216.46	5.12	0.0115	0.0773	6	204.46
pA(.),rA(.),pB(.)=rB(.),delta(River)	216.48	5.14	0.0114	0.0765	6	204.48



# CAPÍTULO 4

---





---

## Low survival rates of the remaining population of the endangered European mink (*Mustela lutreola*) in northern Spain

Karla García <sup>1\*</sup>, Santiago Palazón <sup>1,2</sup>, Joaquim Gosálbez <sup>1</sup> and Yolanda Melero

<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Evolutionary Biology, Ecology and Environmental Sciences, University of Barcelona, 08028 Barcelona, Spain. \*Correspondence: karla.garcia.cl@gmail.com

<sup>2</sup> Fauna and Flora Service, Department of Territory and Sustainability, Government of Catalonia, 08017 Barcelona, Spain.

<sup>3</sup> CREAf, 08193 Cerdanyola del Vallés, Spain.

Submitted to European Journal of Wildlife Research

---

## Abstract

Estimating survival is an important parameter to track the status and future viability of populations, especially of those declining or endangered. We estimated the survival of the critically endangered European mink (*Mustela lutreola*) population in Spain, one of the last remaining populations, yet at high risk of disappearing in the short term. Using capture-recapture data from a long-term project (2001-2013) we estimated averaged a survival rate of 0.46 for the Ebro basin as a representative status of the population. The annual survival rates highly fluctuated among studied years. Females were 1.5 times more likely to survive than males (0.55 vs 0.38). The low survival rates and their high annual fluctuations suggest a highly vulnerable state of the population. This, together with the species global decline, highlights the immediate need to increase conservation efforts to preserve a viable population of European mink and to prevent the extinction of the last remaining populations of this species in Spain.

**Keywords:** Capture–recapture, European mink, survival, endangered.

---

## Resumen

La estimación de la supervivencia es un parámetro importante para investigar el estado y la viabilidad futura de las poblaciones, especialmente de aquellas en declive o en peligro. Estimamos la supervivencia de la población de visón europeo (*Mustela lutreola*) en peligro crítico de extinción en el norte de España, una de las últimas poblaciones restantes, con un alto riesgo de desaparecer a corto plazo. Usando datos de captura-recaptura de un proyecto de largo plazo (2001-2013), estimamos una tasa de supervivencia media de 0,46 para la cuenca del Ebro como un estado representativo de la población. Las tasas de supervivencia anuales fluctúaron ampliamente entre los años estudiados. Las hembras tuvieron 1.5 veces más probabilidades de sobrevivir que los machos (0.55 vs 0.38). Las bajas tasas de supervivencia y sus altas fluctuaciones anuales sugieren un estado altamente vulnerable de la población. Esto, junto con el declive global de la especie, pone en evidencia la necesidad inmediata de aumentar los esfuerzos de conservación para preservar una población viable de visón europeo y evitar la extinción de las últimas poblaciones remanentes de esta especie en España.

---

## Introduction

Estimating the demographic parameters and patterns of species with small populations such as rare and endangered species is crucial to predict the long-term viability of the populations and to plan adaptive management actions for their conservation (White *et al.* 2002, Marucco *et al.* 2009). Among the most commonly used demographic parameters, estimates of abundances are frequently an important starting point for many researches focusing on conservation. However, estimates of survival rates can provide a better understanding on the dynamics of the populations and thus of their future viability (Lukacs & Burnham 2005). In fact, previous studies of long-living birds, have suggested that adult survival is one of the parameters with the highest impact on population demography and their temporal patterns are key to monitor population viability (e.g., Altwegg *et al.* 2003; Boano & Silvano 2015).

One example of a critically endangered species is the European mink (*Mustela lutreola*, mink hereafter); a medium long-living semi-aquatic mustelid inhabiting riparian zones along water bodies in forested landscapes (Zabala & Zuberogoitia 2003). The historical distribution of this species ranged from the Atlantic coast eastwards throughout Europe to the Ural Mountains (Youngman 1982). However, nowadays, only three separated populated areas still exist in the wild: in northern Spain and south western France (Palazón *et al.* 2003a; Michaux *et al.* 2005), in the Romanian Danube delta (Kranz *et al.* 2002; Michaux *et al.* 2005); and in Ukraine (Jongh *et al.* 2007) and Russia (Sidorovich *et al.* 2000; Michaux *et al.* 2005). Given its regression, the European mink is one of the most endangered mammals in the world (Schreiber *et al.* 1989) and listed as critically endangered in the IUCN Red List of Threatened Species since 2011 (Maran *et al.* 2016).

---

Because of this, numerous conservation measures are being carried out (i.e., captive breeding, restoration and/or reintroduction programs) in an effort to promote its long-term conservation.

The decline of the mink was first recorded in the Central European countries in the 19th century, but a major Europe wide decline took place by the end of the 20th (Maran & Henttonen 1995; Tumanov 1999). The historical process of the decline of the mink has been studied both at the European and local scale (Maran & Henttonen 1995; Sidorovich *et al.* 2000; Lode *et al.* 2001). Different authors have stated that the causes of mink decline seem to be a combination of factors differing in time and location rather than a single cause. Among the suggested factors are habitat loss, river water pollution and over-hunting (Maran 1995; Sidorovich *et al.* 2000; Lode *et al.* 2001; Palazón *et al.* 2012a). In addition, currently, competition with the invasive non-native species American mink (*Neovison vison*) seems to be the most critical threat, especially in the western population (Lode *et al.* 2001; Macdonald & Harrington 2003; Pödra *et al.* 2013).

In Spain, the mink was first recorded during the middle of the 20th century in Basque Country (Rodríguez de Ondarra 1955). Subsequently, the individuals expanded to the south and east, following the main river basins, such as the Ebro River (Palazón & Ruiz-Olmo 1995). Today, the mink population in Spain has three main nuclei (Palazón *et al.* 2003a) with a minimum exchange of individuals and genes (Palazón *et al.* 2012b) and a roughly estimation of approximately 500 individuals in total (Palazón & Ceña 2007). The status of the Spanish population of mink is not better than other populations (Maran *et al.* 2016) and there is a growing evidence that it has suffered a decline since the decade of the 90s (Palazón *et al.* 2003a). Management actions involve habitat restoration and the control of the

---

American mink carried out since 1992. Despite these efforts, the population continue to decline (MAGRAMA 2009, Palazón & Melero 2014, Santulli *et al.* 2014).

In spite of the critical status of the species and the importance of assessing its demographic parameters, as survival rates and their trends, there is little available long-term information of their populations (see Palazón *et al.* 2012b). In this study, we estimated the survival rates of the mink population inhabiting in the Ebro basin to as indicators of the status and vulnerability of the species in Spain. This basin holds the biggest part of the population and the most complete data on mink's captures and recaptures over the years, which offers an opportunity to study their long-term survival. Sexual differences in the survival rates were also evaluated to test for differing status and vulnerability between sexes. We expected negative trends for the survival rates given the recent reported declines (Palazón *et al.* 2012b). We also expected higher survival rate for females than for males based on previous studies (Palazón *et al.* 2012a, Mañas *et al.* 2016).

## Study area

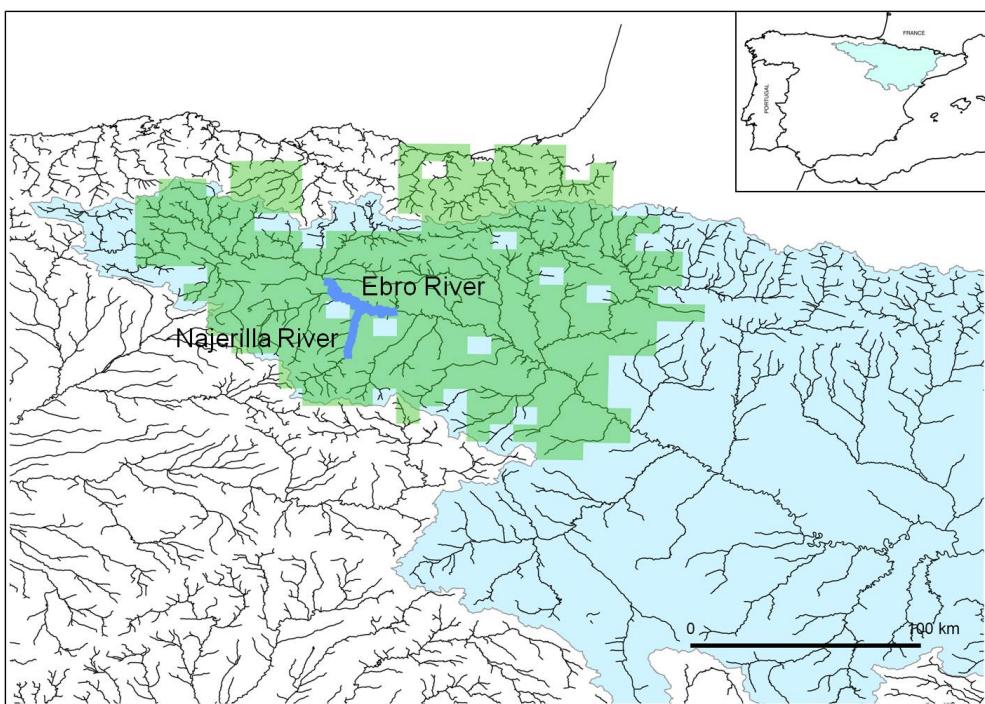
The study was carried out at the river Ebro basin in northern Spain. Survey was carried out by live-traps which were located along the Ebro river and its tributary the Najarilla river varying in length of coverage among years due to changes in funding (covered mean = 49.3 km, SD = 4.2 km for the Ebro River and 15.3 km, SD = 2.1 km for the Najarilla River) (Fig.1, Table S1). The study area included both the Mediterranean and Atlantic bioclimatic regions, characterised for a low flow during the summertime and high flow during the rainy season (spring and autumn) and several kinds of transitional

---

conditions (Rivas-Martinez 1983). The monthly average rainfall varied between 350 and 1600 mm.

The vegetation in the Ebro River valley has been extensively deforested and the actual forests represent only the 3.1% of the potential forested surface (Barceló & Petrovic 2011). Some species usually found along the riverbanks are black alders (*Alnus glutinosa*), white (*Populus alba*) and black poplars (*P. nigra*), white willows (*Salix alba*), ashes (*Fraxinus angustifolia*) and elms (*Ulmus minor*).

Main competitors sharing the riparian habitat with *M. lutreola* are American mink (*Neovison vison*), European polecat (*Mustela putorius*), stone marten (*Martes foina*) and spotted genet (*Genetta genetta*).



**Figure 1.** Study area showing the Ebro and Nájera rivers in the Ebro Basin, at northern Spain. Blue area represents the Ebro basin and green area show the distribution of European mink in Spain. Data download from the Spanish Ministry of Agriculture, Food and Environment (<http://www.mapama.gob.es>).

## Material and Methods

### Data collecting

Mink were live-trapped during autumn (post-breeding season) from 2001 to 2013 as part of mink conservation plan implemented by technicians of regional governments coordinated by the Spanish Ministry of Agriculture, Food and Environment. Single cage traps (15x15x60 cm) were spaced between 100 and 400 m from the river, according to the topography of the riverbed, alternating the two banks of the river. The placement of the traps

---

ensured that each mink territory (based upon species mean linear home range values in the studied area) were included in the river section sampled at least one trap ( $13.1 \pm 2.8$  km for males and  $3.4 \pm 2.8$  km for females; Palazón & Ruiz-Olmo 1998). One trapping sampling period was carried out each year and included an average of 18 consecutive days (range: 39 - 11, SD = 9.6, see Table S1). Egg, sardine oil and fresh trout were used as bait. Captured mink were anaesthetised, marked with subcutaneous microchips, weighed, measured and subsequently released at the location of their capture after recovery. Individuals were classified according to sex and as captured or recapture. Recaptured animals were identified and released immediately. Captures were carried out following all applicable international guidelines and the Spanish legislation for animal welfare and care.

### **Survival analysis**

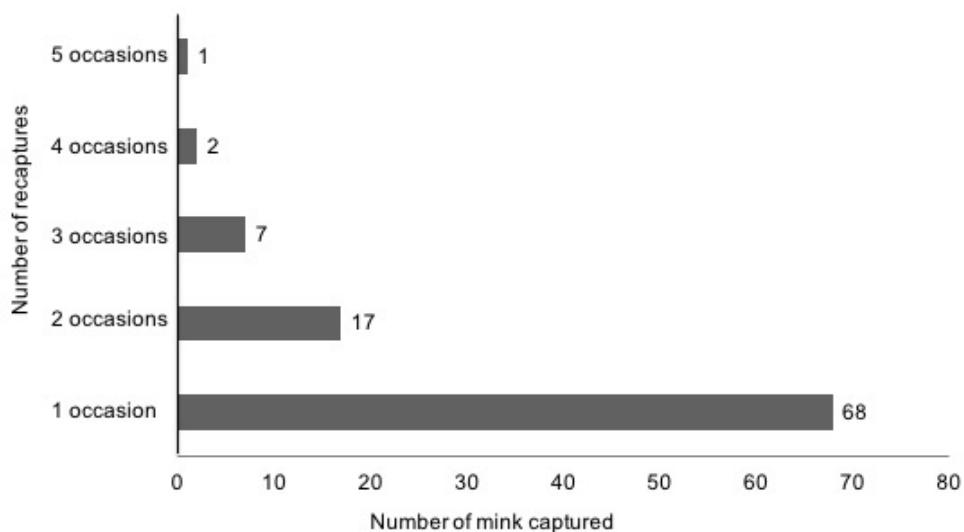
We estimated the survival rate between years ( $\phi$ ) and the recapture rate ( $p$ ) using the standard Cormack-Jolly-Seber (CJS) model (Cooch & White 2015) in program MARK (White & Burnham 1999). Open models such as CJS are best applied over multiple years to document trends; besides they are flexible because they do not assume a strict sampling design (Lebreton *et al.* 1992). This model is based on live animal recaptures assuming open population, which is consistent with the mink populations in autumn since it coincides with the species dispersion season. The capture history of each individual was set as one entry per year (i.e., 13 entries capture occasions per individual); coded as 0-value entry if the animal was not captured that year, and as 1-value entry if captured or recaptured. Individuals were categorised as males and females to test for sexual differences.

---

Before running the models, we used the parametric bootstrapping goodness-of-fit method (GOF) to assess whether the data meet all the assumptions of the CJS model. This is a simulated boot-strapping procedure that compares the observed data with what the computer would expect if the data conforms to the model (Pryde 2003). The GOF test showed that the data were no over-dispersed and met the assumptions of model ( $c\text{-hat} = 1.47$ ,  $p > 0.001$ ) (Cooch & White 2015). Thereafter, a number of candidate models were fitted to the data considering sex and time (= year,  $t$ ) effects. Models were ranked using the Akaike Information Criterion (AIC). The model with the lowest AICc and higher Akaike weight ( $w$ ) was accepted as the most parsimonious model for the data relative to the other models considered. Models with  $\Delta\text{AIC}_C \leq 2$  were also considered equally probable (Cooch & White 2015).

## Results

A total of 95 mink (55 males and 40 females) were captured during the 13 years of study of which 27 (11 males and 16 females) were recaptured at least once. Sixty-eight mink were captured one year (72%), 17 mink two years (18%), seven mink three years (7%), two mink four years (2%) and a mink was captured five years (1%) (Fig. 2). Mean sex population ratio was 54% males and 46% females (1: 0.85 male and female, respectively). This ratio was similar through the years except for 2004 and 2009, which predominated in males and females, respectively (Table S1).



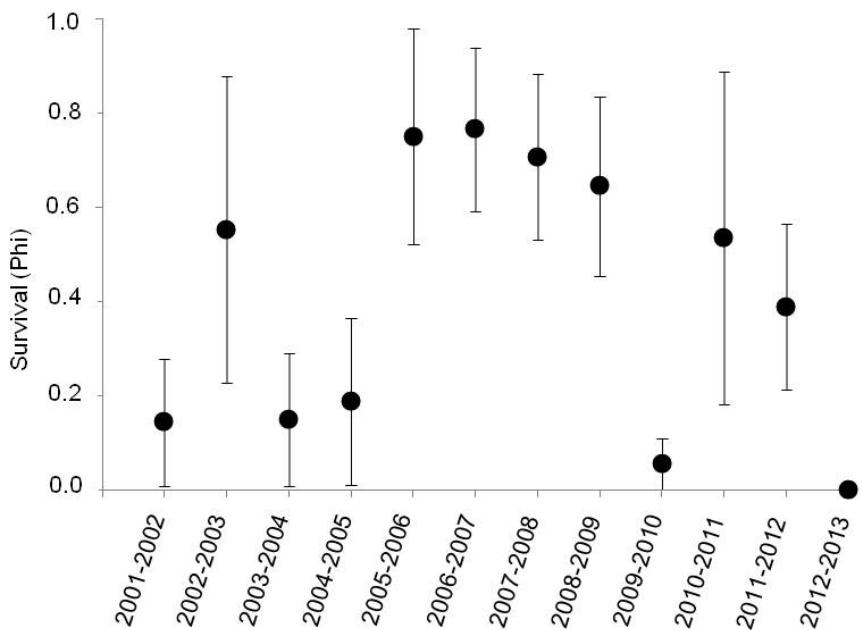
**Figure 2.** Number of mink captured and their number of recaptures over five consecutive years in the Ebro and Najarilla rivers, northern Spain.

A total of 16 models were obtained of which three of them were selected as best models according to the AICc (Table 1). The best model (model 1) indicated that the survival rate varied with sex while the recapture rate varied over time (Table 1). According to this model, the survival rate was 1.5 times higher for females ( $\phi_i=0.55$ , SE = 0.07, CI = 0.26 – 0.53) than for males ( $\phi_i=0.38$ , SE = 0.08, CI = 0.39 – 0.70), but there were no sexual differences in the average of recapture rate of with an average of 0.41. The second-best model (model 2) suggested similar survival rate for males and females both constant over time ( $\phi_i=0.46$ , SE = 0.07, CI = 0.34 – 0.60); with similar results to model 1 in relation to the recapture rate ( $\phi_i=0.41$ , SE = 0.14, CI = 0.14 – 0.65). According the third best model (model 3), the survival rate was also similar for males and females varying over time with an average of 0.41 (SE = 0.18, CI = 0.12 – 0.72) but being maximum in 2005-2006 and minimum in 2012-2013 ( $\phi_i=0.75$ , SE = 0.23;  $\phi_i=0$ , SE = 0; Fig. 3). In this model the recapture rate varied between sexes with females having twice more probability

of being recaptured than males ( $phi=0.82$ , SE= 0.11, CI= 0.50 – 0.95) than males ( $phi=0.41$ , SE= 0.13, CI= 0.2 – 0.66).

**Table 1.** Models selected for survival rate based on AIC,  $\Delta AIC$  and their weight (w). Best models are marked in bold. The terms in parentheses represent the sources of variation in model parameters, "g" denotes a model where survival or recapture rates varied with groups (males and females), "t" indicates variations across times (years) and “.” indicates a parameter set equal across survey times.

Rank	Model	AICc	$\Delta AICc$	w
1	<b>Phi(g) p(t)</b>	<b>176.91</b>	<b>0.00</b>	<b>0.33</b>
2	<b>Phi(.) p(t)</b>	<b>177.09</b>	<b>0.18</b>	<b>0.31</b>
3	<b>Phi(t) p(g)</b>	<b>177.25</b>	<b>0.34</b>	<b>0.28</b>
4	Phi(t) p(.)	180.01	3.10	0.07
5	Phi(.) p(g)	185.78	8.87	0.00
6	Phi(.) p(.)	186.76	9.86	0.00
7	Phi(g) p(.)	187.12	10.21	0.00
8	Phi(g) p(g)	187.78	10.87	0.00
9	Phi(g*t) p(.)	191.93	15.02	0.00
10	Phi(g*t) p(g)	193.88	16.97	0.00
11	Phi(t) p(t)	193.99	17.09	0.00
12	Phi(.) p(g*t)	195.53	18.62	0.00
13	Phi(g) p(g*t)	197.75	20.85	0.00
14	Phi(g*t) p(t)	201.89	24.98	0.00
15	Phi(t) p(g*t)	207.77	30.865	0.00
16	Phi(g*t) p(g*t)	217.68	40.77	0.00



**Figure 3.** Annual survival of European mink in the Ebro and Najarilla rivers from 2001-2013 based on the best model. Error bars represent 95% confidence intervals.

## Discussion

Using data from a long-term project aiming to conserve the endangered European mink population remaining in North Spain, we found evidence of temporal variations in the survival rate of the population present in the Ebro and Najarilla Rivers. Our results pointed a high variation in survival between the years, but they also indicated that on average less than half of the population survives from one year to the next (46%). Both the survival and the recapture rates were higher for females than males. The similar trends from past studies along the entire mink area in Spain (Melero 2007; Palazón *et al.* 2012b) suggests that the studied population was a representative

---

sample of the status of the species in Spain. Our results showed a greater decline in the survival rate of mink in the Ebro basin population of 0.40 compared with the 0.55 population survival rate estimated based on data collected between 2004-2011 (Palazón *et al.* 2012b). Thus, our findings alert of the maintained vulnerability of the population despite the current ongoing management actions (LIFE Lutreola Spain 2013, Palazón 2017).

Survival rate fluctuated over the 13 years of study (range 0 - 0.76, SD = 0.29). The raw proportion of recaptured mink over time also pointed to only 3.2% of the population survive four or more years; a slightly lower proportion than that previously reported for Spain considering data from 1998 to 2012 (3.7%, Mañas *et al.* 2016), Russia (15.4 %, Danilov & Tumanov 1976) and Belarus (5.6 %, Sidorovich 1997). Causes of this low and reduced survival might be a synergetic compound of factors. In fact, main mortality causes have changed over the years in Spain, with trapping and shooting being the most common causes of mortality in 1950–1989, road-kills in 1990–2008 (Palazón *et al.* 2012a) and more recently, competition with the American mink (Pödra *et al.* 2013, Santulli *et al.* 2014). Thus, all these factors could be interacting with the temporal variations in survival rates found in our results. While we have no data to test factors involved in these fluctuations, we acknowledge that they could also be related to variations in e.g. availability of food or refuge, changes in the number of road-killed mink, or variation of competition with the American mink. Fluctuations registered in survival could also be the result of the effects of the differing trapping effort of the American mink in the area that have been carried out in the study area through the years. Variations in the survival rate could be also an artefact resulting from the limitations of the data collected via a non-systematic monitoring (capture effort changed throughout the years). However, both our estimations of average survival and its fluctuations partly corrected by our methods, agreed with predictions obtained in previous studies by other methods for Spanish population (Palazón *et al.* 2012a; Palazón *et al.* 2012b). Besides, Fluctuations registered in survival could also

---

be the result of variations in e.g. availability of food or refuge, changes in the number of road-killed mink, or variation of competition pressure with the American mink.

Despite capturing more males than females (55 males and 40 females), the best model indicated that the survival rate of females was higher (0.55) than males (0.38), which agrees with the higher recapture rate found for females in the third best model. These results are consistent with previous observations of more males killed than females (Palazón *et al.* 2012a). Differences in the survival rate between sexes may be explained by mink behaviour. Previous studies in mustelids have showed as differences in capture probabilities resulting from sex specific home range sizes and higher locomotion activity and capacity in males (Buskirk & Lindstedt 1989). In fact, mink males can suffer higher mortality rates than females because male mink travel more frequently and over longer distances than females while foraging and patrolling partly given to their longer home ranges (Palazón & Ruiz-Olmo 1998, Garin *et al.* 2002, Melero *et al.* 2008). Moreover, once they have established their home ranges, females never leave them, and while pregnant or with cubs their activity is limited to short foraging trips (Palazón 1998). On the contrary, males leave their home ranges during the mating season (March–April) in search of females (Palazón *et al.* 2012a). Similarly, Mañas *et al.* (2016) found a higher proportion of females detected in the older age group. The possible causes are unclear, but they suggest that in zones with American mink, the influence of this species must be taken in consideration. In fact, Maran (2007), found that aggression events of male's American mink were largely directed at males, both conspecific and European mink, which the female's survival could be also higher (but see Sidorovich & Macdonald 2001).

Despite the potential causes, there is no consensual results about differences in survival by sex, which may point to a context dependent survival. For example, in Estonia, a previous study on captive-bred individuals found

---

higher survival rates for males than for females within the first days following release (Maran *et al.* 2009). The majority of attributable causes of death were due to other carnivores (59%), such as was registered in Spain with a 76% predation rate due to other predatory mammals or raptors (Pōdra *et al.* 2013). Maran *et al.* (2009) suggested that the sex difference in survival might be a consequence of sexual dimorphism. Female mink is about 60% the weight of male, which might provide males with an advantage in finding food and avoiding predators, although similar differences between male and female survival have also been reported for species without sexual dimorphism (see Moehrenschlager & Macdonald 2003). Recently, other study with captive-bred mink not found a sex difference in survival rate of released individuals (Haage *et al.* 2016). Then, they suggest that sex influences on survival are mediated by personality type, as males in general are bolder and more explorative than females (Haage *et al.* 2013). In fact, Haage *et al.* (2016) showed that survival in reintroduced individuals was related to the personality trait domains of boldness and exploration.

Differences in the recapture rate between sexes were also found, with females' recapture rate (0.82) twice higher than that of males (0.41). The greater mortality and ability to move over longer distances of the males could explain their reduced recapture rate. Moreover, due to females having a greater apparent survival than males, they are expected to be more likely recaptured. However, a previous study in the Ebro and Najarilla rivers (1996 - 2009) found opposite results, being males more recaptured than females (see Palazón 2011).

## Implications for conservation

---

This study provides updated information of the survival rates of the endangered European mink in the northeast Spain, which can be used to revise its status and its future viability. The averaged reduced survival (0.46) can be a proxy of a negative population trend, which potentially could lead to disappearance of the population. Despite of the conservation actions that are being carried out (e.g., control and eradication of the American mink, captivity breeding program, reintroduction program and population reinforcement, among others; see Palazón 2017), greater efforts and reinforcement of conservation strategies are essential for the protection of this species. Especially important can be reinforcement of actions aiming to increase the survival of individuals, e.g., those focused on the species main threats such as road-kills (Palazón *et al.* 2012a), habitat reduction and destruction (Palazón *et al.* 2003b) as well as American mink competition (Santulli *et al.* 2014) and probable predation (Pödra *et al.* 2013). It would be of value to explore the possibility of providing corridors for the European mink and other species at such sites and low-cost actions such as reductions in speed limit and/or warning signs on roads could also be considered (Palazón *et al.* 2012a). Besides, with American mink postulated as the main cause of population decline (Lode *et al.* 2001; Macdonald & Harrington 2003; Pödra *et al.* 2013), and despite of the more systematic control measures carried out in Spain during the last fifteen years, further intensive control campaigns are needed to stop the spread of the invasive species (Santulli *et al.* 2014). Interestingly, in other areas invaded by the American mink, the management and the coordinated work between scientists and a network of volunteer citizen conservationists has made possible the reduction and eradication of this species (Bryce *et al.* 2011; Oliver *et al.* 2016). Palazón *et al.* (2012b) also suggested that a small annual reintroduction of individuals for five years (80 or 120 mink in total) would slightly increase the survival rate of the population of European mink. Management strategies aimed to halter the ongoing decline should also promote gene flow among scattered populations in order to improve genetic connectivity (Cabria *et al.* 2015), and with it, to preserve evolutionary potential and ensure long-term survival of endangered species (Edmands 2007).

---

Considering the highly critical status of the European mink and the spread of the American mink in the study area, monitoring the European mink as well as establishing successful conservation measures is crucial to avoid the species imminent extinction (Zuberogoitia *et al.* 2018).

### Acknowledgements

This study was supported by the Regional Government of La Rioja and Castilla y León, by the Provincial Council of Alava, the Ministry of Agriculture, Food and Environment, for Tragsa Group and the European Mink Association. We wish to thank to all technicians of these administrations and all those who participated in the trapping sessions held during these 13 years and especially their greater involvement to: Sonia Oreca, César Aguilar, Javier L. de Luzuriaga, Albert Roura, Juan Carlos and Alfonso Ceña and Mirenka Ferrer. We especially wish to thank Asún Gómez and Madis Pödra for the contribution in collecting and providing the original data, and Gina Gómez and Johara Bourke for helpful comments on this manuscript.

### References

- Altweig R, Roulin A, Kestenholz M, Jenni L (2003) Variation and covariation dispersal, and size in barn owls *Tyto alba* population. *J Anim Ecol* 72:391–399. doi: 10.1046/j.1365-2656.2003.00706.x
- Barceló D, Petrovic M (2011) The Ebro River basin. Springer Verlag; Berlin, Germany.
- Boano G, Silvano F (2015) Adult Survival Probability in a Recovered Population of Scops Owls *Otus scops*. *Ardea* 103:145–153. doi:

---

10.5253/arde.v103i2.a3

Bonesi L, Palazón S (2007) The American mink in Europe: Status, impacts, and control. *Biol Conserv* 134:470–483. doi: 10.1016/j.biocon.2006.09.006

Bryce R, Oliver MK, Davies L, et al (2011) Turning back the tide of American mink invasion at an unprecedented scale through community participation and adaptive management. *Biol Conserv* 144:575–583. doi: 10.1016/j.biocon.2010.10.013

Buskirk SW, Lindstedt SL (1989) Sex Biases in Trapped Samples of Mustelidae. *J Mammal* 70:88–97.

Cabria MT, Gonzalez EG, Gomez-Moliner BJ, et al (2015) Patterns of genetic variation in the endangered European mink (*Mustela lutreola* L., 1761). *BMC Evol Biol* 15:141. doi: 10.1186/s12862-015-0427-9

Cooch E, White G (2015) Program MARK “A Gentle Introduction” 2nd Edition. 310. doi: <http://www.phidot.org/software/mark/downloads/index.html>

Danilov PI, Tumanov IL (1976) The ecology of the European and American mink in the Northwest of the USSR. In: Akad Nauk Karelski filial, Inst. Biol (ed) Ecology of birds and mammals in the Northwest of the USSR, Pertozavodsk, 118–143 pp

Edmands S (2007) Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management *Mol Ecol* 16:463–475

Garin BI, Aihartza J, Zuberogoitia I, Zabala J (2002) Activity pattern of European mink (*Mustela lutreola*) in Southwestern Europe. 48:102–

---

106.

Haage, Marianne; Maran, Tiit; Bergvall, Ulrika Alm; Elmhagen, Bodil; Angerbjörn A (2016) The influence of spatiotemporal conditions and personality on survival in reintroductions. *Oecologia*. doi: 10.1007/s00442-016-3740-0

Haage M, Bergvall UA, Maran T, et al (2013) Situation and context impacts the expression of personality: The influence of breeding season and test context. *Behav Processes* 100:103–109. doi: 10.1016/j.beproc.2013.08.009

Jongh AWJJ de, Tokar GA, Matvyeyev AS, et al (2007) European mink (*Mustela lutreola*) still surviving in Ukrainian deltas of the Danube and Dniester. *Lutra* 50:33–36.

Kranz A, Poledník L, Gotea V (2002) Conservation of the European Mink (*Mustela Lutreola*) in the Danube Delta Background Information and Project Plan. *Sci Ann Danube Delta Inst Resarch Dev* 8:124–129.

Lebreton JD, Burnham KP, Clobert J, Anderson DR (1992) Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecol Monogr*. doi: 10.2307/2937171

LIFE Lutreola Spain (2013). LIFE13 NAT\ES\001171. New approaches for the European mink Conservation in Spain.

Lode T, Cormier JP, Le Jacques D (2001) Decline in endangered species as an indication of anthropic pressures: The case of European mink *Mustela lutreola* western population. *Environ Manage* 28:727–735. doi: 10.1007/s002670010257

Lukacs PM, Burnham KP (2005) Review of capture-recapture methods

- 
- applicable to noninvasive genetic sampling. *Mol Ecol* 14:3909–3919. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02717.x
- Macdonald DW, Harrington LA (2003) The American mink: The triumph and tragedy of adaptation out of context. *New Zeal J Zool* 30:421–441. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/03014223.2003.9518350>
- MAGRAMA (2009) Estrategia Nacional de Conservación del visón europeo en España". Gobierno de España, 39 pp.
- Mañas S, Gómez A, Asensio V, et al (2016) Demographic structure of three riparian mustelid species in Spain. *Eur J Wildl Res* 62:119–129. doi: 10.1007/s10344-015-0982-9
- Maran T, Henttonen H (1995) Why is the European mink disappearing - A review of the process and hypotheses. *Ann Zool Fennici* 32:47–54.
- Maran T (2007) Conservation biology of the European mink, *Mustela lutreola* (Linnaeus 1761): decline and causes of extinction.
- Maran T, Põdra M, Põlma M, Macdonald DW (2009) The survival of captive-born animals in restoration programmes – Case study of the endangered European mink *Mustela lutreola*. *Biol Conserv* 142:1685–1692. doi: 10.1016/j.biocon.2009.03.003
- Maran T, Skumatov D, Gomez A, et al (2016) *Mustela lutreola*. The IUCN Red List of Threatened Species: e.T14018A45199861.
- Martínez R (1983) Pisos bioclimáticos de España. *Lazaroa* 43:33–43.
- Marucco F, Pletscher DH, Boitani L, et al (2009) Wolf survival and population trend using non-invasive capture-recapture techniques in the Western Alps. *J Appl Ecol* 46:1003–1010. doi: 10.1111/j.1365-2664.2009.01696.x

- 
- Melero Y (2007) Estudio poblacional del visón americano *Mustela vison* en Cataluña: ecología y control de una especie invasora. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Barcelona.
- Melero Y, Palazón S, Revilla E, et al (2008c) Space use and habitat preferences of the invasive American mink (*Mustela vison*) in a Mediterranean area. European Journal of Wildlife Research 54: 609–617.
- Michaux JR, Hardy OJ, Justy F, et al (2005) Conservation genetics and population history of the threatened European mink *Mustela lutreola*, with an emphasis on the west European population. Mol Ecol 14:2373–2388. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02597.x
- Moehrenschlager A, Macdonald DW (2003) Movement and survival parameters of translocated and resident swift foxes *Vulpes velox*. Anim Conserv 6:199–206.
- Oliver MK, Piertney SB, Zalewski A, et al (2016) The compensatory potential of increased immigration following intensive American mink population control is diluted by male-biased dispersal. Biol Invasions 18:3047–3061. doi: 10.1007/s10530-016-1199-x
- Palazón S (1998) Distribución, morfología y ecología del visón europeo (*Mustela lutreola* L. 1761) en la Península Ibérica. Doctoral Thesis. Universidad de Barcelona.
- Palazón S (2011) El viso europeu (*Mustela lutreola*) a Espanya: situació, biologia, ecologia i conservacio. L'Atzavara 20:107-116.
- Palazón S (2017) Visón europeo – *Mustela lutreola* (Linnaeus, 1761). In: Salvador, A., Barja I (Eds.). (ed) Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
- Palazón S, Ceña JC (2007) *Mustela lutreola*. Atlas y Libr Rojo los

---

Mamíferos Terr España 287–293.

Palazón S, Ruiz-Olmo J (1995) Estudi per determinar la presencia del viso europeu a Catalunya. Generalitat de Catalunya, Barcelona.

Palazón S, Ruiz-Olmo J (1998) A preliminary study of the behaviour of the European mink *Mustela lutreola* in Spain, by means of radiotracking. Pp. 93-106. In: Dunstone N, Gorman M (Eds) Behaviour and Ecology of Riparian Mammals Mammals. University Press, Cambridge.

Palazón S, Gosalbez J, Ruiz Olmo J, et al (2003) Trends in distribution of the European mink (*Mustela lutreola* L., 1761) in Spain: 1950-1999. Mammalia 67:473–484. doi: 10.1515/mamm-2003-0401

Palazón S, Melero Y, Gomez A, et al (2012) Causes and patterns of human-induced mortality in the Critically Endangered European mink *Mustela lutreola* in Spain. Oryx 46:614–616. doi: 10.1017/S0030605312000920

Palazón S, Santulli-Sanzo G, Plaza M, et al (2012) Análisis de la Viabilidad de la Población española de visón europeo (*Mustela lutreola*).

Pödra M, Gómez A, Palazón S (2013) Do American mink kill European mink? Cautionary message for future recovery efforts. Eur J Wildl Res 59:431–440. doi: 10.1007/s10344-013-0689-8

Pryde MA (2003) Using Program “MARK” for assessing survival in cryptic threatened species: case study using long-tailed bats (*Chalinolobus tuberculatus*). Department of Conservation Technical Series 28B: 33–63.

Rodríguez de Ondarra P (1955) Hallazgo, en Guipúzcoa, de un mamífero no citado en la “Fauna Ibérica” de Cabrera. Munibe 4:201–207.

- 
- Santulli G, Palazón S, Melero Y, et al (2014) Multi-season occupancy analysis reveals large scale competitive exclusion of the critically endangered European mink by the invasive non-native American mink in Spain. *Biol Conserv* 176:21–29. doi: 10.1016/j.biocon.2014.05.002
- Schreiber AR, Wirth M, Riffel M and Rompaey HV (1989) Weasels, Civets, Mongooses and their relatives: An action Plan for the Conservation of Mustelids and Viverrids. Ed. IUCN, Gland, Switzerland.
- Sidorovich VE (1997) Demography of the declining European mink population in Belarus. Disappearance of the European mink: discussion of the hypotheses and original ideas. In: Zolotoy Uley publisher (ed) Mustelids in Belarus. Evolutionary ecology, demography and interspecific relationships, Minsk, 187–191 pp
- Sidorovich V, MacDonald DW (2001) Density dynamics and changes in habitat use by the European mink and other mustelids in connection with the American mink expansion in Belarus. *Netherlands J Zool* 51:107–126. doi: 10.1163/156854201750210878
- Sidorovich VE, Macdonald DW, Kruuk H, Krasko D (2000) Behavioural interactions between the naturalized American mink *Mustela vison* and the native riparian mustelids, NE Belarus, with implications for population changes. *Small Carniv Conserv* 22:1–5.
- Tumanov I L (1999) The modern state of European mink (*Mustela lutreola* L.) populations. *Small Carniv Conserv* 21:9.11.
- Youngman PM (1982) Distribution and systematics of the European Mink, *Mustela lutreola* Linnaeus, 1761. *Acta Zool Fenn* 166: 1-48.
- White GC, Burnham KP (1999) Program MARK: survival estimation from

---

populations of marked animals. *Bird Study* 46:120–139. doi: 10.1080/00063659909477239

White GC, Franklin AB, Shenk TM (2002) Estimating parameters of PVA models from data on marked animals. In: Beissinger SR, McCullough DR (Eds), *Population Viability Analysis*. University of Chicago Press, Berlin, pp. 169–190.

Zabala J, Zuberogoitia I (2003) Current and historical distribution of European mink *Mustela lutreola* in Biscay. Evolution and comments on the results. *Small Carniv. Conserv.* 28:4–6.

Zuberogoitia I, Pôdra M, Palazón S, et al (2018) Facing Extinction, Last Call for the European Mink Facing Extinction, Last Call for the European Mink.

## Appendix

**Table S1.** Results of *Mustela lutreola* trapping sessions carried out in Najarilla and Ebro Rivers, northern Spain (2001 – 2013). M: Male and F: Female.

Year	River		Total traps/night	Days monitored	Individuals captured	M	F
	Najarilla	Ebro					
2001	819	-	819	34	9	3	6
2002	-	1363	1363	15	5	4	1
2003	819	539	1358	39	8	3	5
2004	191	871	1062	29	7	6	1
2005	-	1092	1092	12	5	3	2
2006	682	1358	2040	13	8	3	5
2007	1231	3046	4277	21	16	9	7
2008	531	1409	1940	11	22	13	9
2009	565	1481	2046	12	17	5	12
2010	-	160	160	13	7	6	1
2011	265	340	605	16	16	8	8
2012	487	1514	2001	11	10	6	4
2013	617	1603	2220	11	1	1	0
<b>TOTAL</b>	<b>6207</b>	<b>14776</b>	<b>20983</b>	<b>237</b>	<b>131*</b>	<b>70</b>	<b>61</b>

\* including recaptures

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

---





---

## 8. Resultados y Discusión

En esta sección se indican y se discuten los principales resultados obtenidos en cada uno de los capítulos de esta tesis, y se sugieren orientaciones para el control y gestión del visón americano, así como para la conservación del visón europeo y la nutria en su rango de distribución en España.

Esta tesis se ha centrado en diversos aspectos de las tres especies objeto de este estudio y sus interacciones, por lo cual, no resulta fácil extraer un resultado global. Si bien todos los resultados obtenidos en los distintos capítulos son esenciales para una mejor gestión del visón americano invasor y de las especies nativas, lo principal es que permiten actualizar el conocimiento de las tres especies y aportan nueva información.

El primer capítulo da a conocer por primera vez la filogeografía del visón americano en su rango nativo en Norteamérica, la cual reveló dos linajes genéticos que indicaron una clara separación entre poblaciones occidentales y orientales. Además, se encontró una mezcla espacial de ambos linajes en el área centro-norte de España y una mayor diversidad genética en algunas poblaciones introducidas comparadas con las poblaciones nativas. En el segundo y tercer capítulo de esta tesis se abordan aspectos sobre la interacción entre el visón americano y los dos mustélidos nativos con los cuales comparte el hábitat en España. En el segundo capítulo se evidenció un cambio en la dieta del visón europeo nativo tras la llegada y expansión del visón americano y un elevado solapamiento trófico entre sus dietas cuando ambas especies coexisten. El tercer capítulo reveló que las probabilidades de detección de la nutria y el visón americano no fueron influidas por la presencia la otra, lo cual sugiere que la efectividad de sus protocolos de monitoreo actuales permanece independiente de la coocurrencia entre estas especies, al menos en el área estudiada y así como posiblemente en áreas con condiciones similares. Finalmente, el cuarto capítulo confirmó el estado altamente vulnerable de la población de visón europeo presente en el norte de España debido a variaciones

---

anuales en su supervivencia y que menos de la mitad de la población sobrevive de un año a otro. Además, este capítulo evidenció que tanto la supervivencia como la probabilidad de recaptura fueron mayores para las hembras que para los machos.

## 8.1 Filogeografía y diversidad genética del visón americano

En este capítulo se han obtenido muestras de tejido de visones americanos tanto de su rango nativo en Norteamérica como de su rango invadido en España. En base a estas muestras se utilizaron datos de secuencias de ADN mitocondrial para investigar la estructura filogeográfica y la diversidad genética de esta especie.

Los resultados de este capítulo proveen el primer estudio de la filogeografía de esta especie en su rango nativo en Norteamérica, la cual reveló dos linajes principales y una clara separación entre las poblaciones occidentales y orientales. La genealogía de haplotipos reconstruidos a partir del árbol de máxima verosimilitud reveló los mismos dos grandes grupos. El mapa de muestras indica claramente la separación geográfica de los dos clados en Norteamérica. En la Península Ibérica, se registró un mayor número de muestras pertenecientes al clado occidental que al oriental de Norteamérica (68 vs. 37 muestras, respectivamente). Sin embargo, muestras pertenecientes a ambos clados se detectaron juntas en cuatro regiones del área centro norte de la Península Ibérica: País Vasco, La Rioja, Navarra y Ávila (sur de Castilla-León).

La diversidad genética global del visón americano fue relativamente baja para todas las muestras, con un valor de diversidad nucleotídica de  $\pi = 0,68\%$ , mientras que la diversidad nucleotídica para Norteamérica y la Península Ibérica fue 0,78% y 0,64%, respectivamente. Sin embargo, la diversidad nucleotídica varió considerablemente cuando se consideraron diferentes localidades y poblaciones por

---

separado. Entre las tres áreas del rango nativo en el que  $\pi$  se calculó por separado, la población de Columbia Británica mostró la mayor diversidad nucleotídica (0,53%), mientras que Nueva York (0,12%) y Texas (0%) registraron valores más bajos. De acuerdo con la mezcla espacial de linajes en el área centro norte de la Península Ibérica, el mapa derivado de los valores de diversidad genética mostró claramente niveles de diversidad genética máxima en esta región.

En general, nuestros resultados muestran que el establecimiento del visón americano en la Península Ibérica es el producto de la introducción de individuos pertenecientes a los dos principales linajes genéticos encontrados en su rango nativo en Norteamérica. En el rango invasivo, estos linajes registraron una falta completa de estructura filogeográfica, lo cual es probablemente el resultado del efecto aditivo de múltiples y continuas introducciones y la rápida expansión y los encuentros entre poblaciones introducidas. La distribución de los haplotipos invasivos en la Península Ibérica sugiere que al menos la zona centro norte experimentó múltiples introducciones de ambas regiones de Norteamérica, mientras que las poblaciones ibéricas orientales y occidentales se originaron a partir de introducciones del oeste de Norteamérica, contrario a lo que se creía anteriormente (Palazón *et al.* 1997).

La ocurrencia de los dos linajes mitocondriales principales en el área centro norte de la Península Ibérica sugiere que podría estar ocurriendo la mezcla de individuos de ambos linajes. Sin embargo, será necesario realizar análisis con múltiples marcadores genómicos en el futuro para determinar si los individuos que pertenecen a estos dos linajes se entrecruzan efectivamente y, de ser así, estimar los niveles de mezcla en estas poblaciones (Pritchard *et al.* 2000).

La diversidad genética registrada fue menor en las poblaciones introducidas que en las nativas, aunque en algunas poblaciones introducidas la diversidad fue mayor para cualquier población nativa, al menos con respecto al área nativa reducida analizada hasta el momento. El patrón registrado aquí es consistente con otros estudios (e.g., Edelaar *et al.* 2015, Genton *et al.* 2005, Roman & Darling 2007),

---

proporcionando otro ejemplo de una especie invasora que conserva una alta diversidad genética.

La actual mezcla espacial de individuos de dos linajes nativos en la zona centro norte de la Península Ibérica y el posible entrecruzamiento entre dichos linajes que podría estar ocurriendo podría traducirse, entre otros resultados, en un mejor *fitness* en estos individuos (e.g., Vandewoestijne et al. 2008). En efecto, estudios previos han encontrado una positiva correlación entre la diversidad genética y el éxito de colonización medido por la tasa de reproducción (e.g., Crawford & Whitney 2010). Melero *et al.* (2012b) encontraron que el visón del País Vasco era más grande que el visón del resto de la Península Ibérica, sugiriendo que esta variación fenotípica podría deberse a una mezcla de individuos de diferentes orígenes, entre otras posibilidades. Si se demuestra el vínculo entre la mezcla espacial de los linajes mitocondriales, la mezcla del genoma y un mayor fitness para algunas poblaciones, se deben realizar mayores esfuerzos para controlar y erradicar el visón americano en dichas poblaciones a fin de impedir o minimizar su expansión.

Los resultados de esta investigación coinciden con estudios previos los cuales sugieren que el control de una especie invasora debe dirigirse a minimizar el contacto entre poblaciones genéticamente diferenciadas (Bifolchi *et al.* 2010, Fraser *et al.* 2013, Lecis *et al.* 2008, Robertson & Gemmell 2004 ), y así contrarrestar un posible aumento en la fecundidad y la expansión del visón lo cual puede contrarrestar fuertemente el efecto de la gestión (Melero *et al.* 2015, Oliver *et al.* 2016). Se necesitan más estudios para obtener información más detallada, particularmente en áreas donde posiblemente exista una mezcla de linajes, para ayudar a priorizar los esfuerzos para controlar y manejar esta especie invasora.

---

## 8.2 Solapamiento de nicho trófico entre el visón americano y el europeo

En este capítulo se han obtenido muestras de pelo de cadáveres de visón americano sacrificados y de capturas de visón europeo (no sacrificados) como parte del proyecto de control del primero y de conservación del segundo. Mediante estas muestras se aplicó un análisis de isótopos estables (SIA) de carbono y nitrógeno con el objetivo de determinar posibles diferencias interespecíficas en el uso de recursos tróficos entre poblaciones alopátricas y simpátricas de ambas especies y explorar su nivel de solapamiento trófico cuando coexisten.

Los resultados de este capítulo mostraron un cambio en la composición de la dieta del visón europeo, con una mayor proporción de presas terrestres, en respuesta a la llegada del visón americano. Estudios previos que emplearon análisis de heces también obtuvieron resultados similares, demostrando un cambio significativo en la dieta de ambas especies durante la invasión (Maran *et al.* 1998, Sidorovich *et al.* 2010). Las diferencias en las proporciones de presas consumidas por el visón europeo en estos estudios respecto nuestras observaciones podrían deberse a diferencias en la abundancia y disponibilidad de presas en cada área, o bien, a las diferencias asociadas con errores del análisis de heces, ya que estas metodologías, a diferencia del análisis de isótopos, son parciales dado que pueden sobreestimar la menor digestibilidad de las presas (Middelburg 2014).

Resultados de este estudio mostraron además una alta variación intraespecífica (medida como la dispersión de las señales isotópicas  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\delta^{13}\text{C}$ ) en la dieta de ambas especies tanto en alopatría como en simpatría, lo cual indica una considerable diversidad interindividual en los hábitos de alimentación. Por lo tanto, nuestros resultados confirmaron las diferencias individuales en la alimentación de ambas especies de visones, solo mostradas previamente por Sidorovich *et al.* (2010) en Bielorrusia.

---

La falta de diferencias en la dieta entre los sexos para ambas especies sugiere que tanto las hembras como los machos tienen hábitos de alimentación similares, independientemente si están en alopatría o simpatría. En efecto, la variabilidad interindividual fue mayor que la variabilidad entre los sexos en ambas especies.

El modelo de mezcla bayesiana empleado en este estudio proporcionó una sólida evidencia de que el visón nativo y el invasor consumieron dietas similares bajo simpatría. Sin embargo, se observó una menor amplitud de nicho trófico para el visón nativo cuando coexistió con el visón invasor, lo cual fue concordante con lo registrado previamente por Maran *et al.* (1998) y Sidorovich *et al.* (2010) usando un análisis de heces. Como en otras especies invasoras (e.g., gobios, Polacik *et al.* 2009; cangrejo americano, Loureiro *et al.* 2015; cotorras, Strubbe & Matthysen 2009), la elevada flexibilidad en el uso del hábitat y hábitos tróficos del visón invasor puede tener importantes implicancias para su establecimiento exitoso.

Este estudio reveló además un elevado solapamiento trófico ( $> 70\%$ ) cuando ambas especies están en simpatría, lo cual podría tener importantes consecuencias para la viabilidad y conservación de las poblaciones de visones nativas porque indica una alta presión competitiva. Sidorovich *et al.* (2010) informaron resultados similares en Bielorrusia. Sin embargo, Maran *et al.* (1998) indicaron que la dieta de las dos especies fue muy diferente en su estudio en Estonia, lo cual sugiere que ambas especies pueden reducir la competencia potencial y facilitar la coexistencia por medio de la partición de nicho en el corto plazo (Harrington & Macdonald 2008). El elevado solapamiento trófico observado en simpatría también podría indicar que el visón nativo no puede adaptar sus requerimientos tróficos tan rápidamente en respuesta a la llegada del visón invasor o bien, que el área de estudio tiene suficientes presas para satisfacer los requerimientos alimentarios de ambas especies de depredadores, sin embargo, se necesitan más estudios para confirmar estas posibilidades.

---

Dado que se han observado cambios estacionales en la dieta de ambas especies (Palazón *et al.* 2004, Melero *et al.* 2008), futuros estudios podrían aplicar un SIA durante diferentes épocas del año para evaluar si el nicho trófico se superpone entre las dos especies es constante o cambia a lo largo del año.

### **8.3 Detectabilidad del visón americano y la nutria euroasiática**

En este capítulo se han obtenido datos de presencia y ausencia del visón americano y la nutria mediante registros de rastros (huellas y heces) de ambas especies en el noreste de España con el objeto de investigar los patrones de detección entre ambas especies. Para ello, utilizamos un modelo de ocupación de dos especies para cada estación del año para identificar si las detecciones de las dos especies son independientes o si la probabilidad de detectar una especie en un registro determinado es influenciada por la detección de la otra. Además, exploramos la influencia del tamaño de los ríos en los patrones de detección de ambas especies.

Los resultados de este capítulo mostraron que las probabilidades de detección de ambas especies variaron a lo largo del año, pero en promedio fueron similares: 0,34 para nutrias y 0,33 para visón americano, indicando que detectamos a las especies aproximadamente un tercio del tiempo que estuvieron presentes. Ambas especies obtuvieron una mayor detección en invierno (0,68 y 0,67, nutria y visón respectivamente) y una menor detección en primavera (0,08 para ambas especies).

En general, este estudio mostró que la presencia de una especie no afectó la detección de la otra, excepto durante la primavera cuando ambas especies fueron detectadas juntas con mayor frecuencia de la esperada que si su detección fuese independiente. Se ha observado que grandes fluctuaciones en el nivel del agua y en los recursos tróficos inherentes a los ambientes mediterráneos afectan la ecología y

---

los patrones conductuales de especies semi-acuáticas como la nutria y el visón (Ruiz-Olmo & Palazón 1997, Ruiz-Olmo *et al.* 2002). De este modo, las bajas probabilidades de detección encontradas en primavera para ambas especies podrían estar relacionadas con cambios estructurales del hábitat como resultado de las intensas lluvias e inundaciones que ocurren durante esa temporada en áreas mediterráneas, que pueden eliminar signos y, por lo tanto, reducir la probabilidad de detección de la especie.

Ambas especies se detectaron con mayor frecuencia en ríos de tamaños pequeños y medianos (orden de río 1 - 2) que ríos más grandes (orden de río 3), excluyendo en invierno cuando se encontró el patrón inverso y ambas especies fueron detectadas 1,2 veces más frecuentemente en ríos más grandes que pequeños. En primavera, ambas especies fueron detectadas hasta 11 veces más en ríos pequeños que en grandes, mientras que en verano y otoño estas diferencias se redujeron a 1,2 y 1,8 respectivamente.

En general, y debido a que las probabilidades de detección de la nutria y del visón no fueron influidas por la presencia de la otra, nuestros resultados sugieren que la efectividad de los actuales protocolos de monitoreo (i.e., monitoreo de nutria por censos visuales y detección de signos, y control del visón mediante plataformas, registro de signos y trampeo selectivo) permanecen independientes de la coocurrencia de especies, al menos en el área estudiada. Sin embargo, las variaciones estacionales y espaciales (tamaño del río) deben tenerse en cuenta al diseñar estrategias de muestreo basadas en estudios de signos, ya que las probabilidades de detección varían entre las estaciones y tamaños de ríos en ambas especies. De acuerdo a nuestros resultados, las probabilidades de detección informan sobre dónde (ríos pequeños y medianos) y cuándo (fines del verano y el otoño) puede ser mejor detectar estas especies. Además, un aumento del esfuerzo de muestreo cuando las especies son menos detectables (primavera) también puede ser beneficioso para un monitoreo más efectivo.

## 8.4 Supervivencia del visón europeo en el norte de España

En este capítulo se han usado datos de captura y recaptura de la población de visón europeo del norte de España desde el 2001 a 2013 como parte del Plan de Conservación del visón europeo implementado por técnicos de gobiernos regionales y coordinados por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España. Estimamos la probabilidad de supervivencia y de recaptura entre años usando el modelo estándar de Cormack-Jolly-Seber (CJS). Los modelos abiertos, como el CJS, se aplican mejor durante varios años para documentar las tendencias poblacionales y son flexibles porque no presuponen un diseño de muestreo estricto (Lebreton *et al.* 1992).

Los resultados de este estudio evidenciaron variaciones temporales en la probabilidad de supervivencia y de recaptura de la población presente en los ríos Ebro y Najarilla en el norte de España. Se observó que menos de la mitad de la población sobrevive de un año a otro (46%). Estos resultados son consistentes con predicciones obtenidas previamente para toda el área de distribución de la población española considerando datos de 2005-2011 (40%, Palazón *et al.* 2012b). Sin embargo, nuestros resultados mostraron una mayor disminución en la supervivencia de la población de la cuenca del río Ebro en comparación con estimaciones previas calculadas con datos de 2004-2011 (55%, Palazón *et al.* 2012b). Además, tanto la probabilidad de supervivencia (55% y 38% hembras y machos, respectivamente) como de recaptura (82% y 41% hembras y machos, respectivamente) fue mayor para las hembras que para los machos. Varios factores podrían estar interactuando con las variaciones temporales en las probabilidades de supervivencia registradas. Si bien no contamos con datos para evaluar los factores involucrados en estas fluctuaciones, reconocemos que podrían deberse por ejemplo a variaciones en la disponibilidad de alimentos o nicho, cambios en el número de visones europeos muertos en carreteras o variación de la competencia con el visón americano. Las

---

fluctuaciones registradas en la supervivencia también podrían ser el resultado de los efectos del diferente esfuerzo de captura que se ha llevado a cabo en el área de estudio a través de los años.

Las diferencias en la probabilidad de supervivencia entre sexos registradas pueden ser explicadas por patrones conductuales de esta especie. Los estudios previos en mustélidos han mostrado diferencias en las probabilidades de captura resultantes de tamaño del territorio específico del sexo y la mayor actividad y capacidad locomotora en los machos (Buskirk & Lindstedt 1989). En efecto, los visones europeos machos sufrirán una mayor mortalidad que las hembras porque viajan con mayor frecuencia y a mayores distancias que las hembras mientras se alimentan y patrullan (Palazón & Ruiz-Olmo 1998, Garin *et al.* 2002). Además, una vez que han establecido su rango de hogar, las hembras nunca los abandonan, y mientras están preñadas o con cachorros su actividad se limita a viajes cortos de alimentación (Palazón 1998). Por el contrario, los machos abandonan su territorio durante la temporada de apareamiento (marzo-abril) en busca de hembras (Palazón *et al.* 2012b).

La similitud entre los resultados obtenidos para la tendencia en la supervivencia de esta población y los obtenidos previamente para toda la población española (Melero 2007; Palazón *et al.* 2012b) junto con el hecho de que diferentes poblaciones de visón europeo en España están conectadas entre sí, sugiere que la población de estudio fue una muestra representativa del estado de la especie en España. Nuestros resultados aportan información respecto al estado actual muy débil de la población española, lo cual pone en evidencia que, a pesar de la gestión y los esfuerzos de conservación, éstos no parecen contribuir suficientemente a una recuperación efectiva de su población y por lo tanto, se deben reforzar las medidas de conservación, y de control del visón americano como su principal amenaza actual, para evitar la extinción de la población española. Considerando el estado altamente crítico del visón europeo y la exitosa expansión del visón americano en el área de estudio, un monitoreo continuo del visón europeo utilizando métodos de marcaje y

---

recaptura a largo plazo que incluyan parámetros demográficos, ambientales y ecosistémicos, así como medidas de conservación y las amenazas, pueden ser cruciales para determinar el mejor curso de acción para la población de visón europeo en las acciones de gestión.



# CONCLUSIONES





---

## 9. Conclusiones

- 1.** La filogeografía del visón americano en su rango nativo es revelada por primera vez en esta tesis mostrando una clara separación de linajes genéticos entre las poblaciones occidentales y orientales.
- 2.** No existe estructuración genética en las poblaciones invasoras de visón americano, probablemente como resultado de diversos orígenes de las introducciones y la rápida expansión y encuentro entre poblaciones introducidas.
- 3.** Se observan altos niveles de diversidad genética en el área centro norte de España en comparación con poblaciones de Norteamérica. Esta situación podría conducir a un mejor fitness de estos individuos y así aumentar su viabilidad y el potencial invasor de estas poblaciones.
- 4.** La ocurrencia de los dos linajes mitocondriales en el área centro-norte de España, sugiere que la mezcla de individuos de ambos linajes podría estar ocurriendo.
- 5.** La presencia de los dos linajes nativos del visón americano coincide con el área de distribución de dos de los mamíferos más amenazados de España y de Europa, el visón europeo y el desmán ibérico, por lo cual se recomienda tener en cuenta en los futuros planes de conservación de ambas especies debido al mayor potencial expansivo del visón americano en esas áreas.
- 6.** Se ha puesto de manifiesto que la dieta del visón europeo ha sufrido cambios como respuesta a la llegada del visón americano en España. El visón europeo ha incrementado el consumo de presas terrestres y ha disminuido las presas acuáticas en presencia del visón invasor. Aunque ambas especies consumen tipos de presas similares, existen diferencias considerables en las proporciones de presas entre poblaciones alopátricas y simpátricas.
- 7.** No se han encontrado diferencias entre sexos en la dieta de ambas especies de visones, pero sí se ha observado una alta variabilidad interindividual, con

---

individuos consumiendo presas de diferentes niveles tróficos y utilizando diferentes fuentes de carbono (presas acuáticas o terrestres).

**8.** El visón americano posee una mayor amplitud de nicho trófico que el visón europeo, lo que indica un rango más amplio de tipos de presas en la dieta de la especie invasora.

**9.** El solapamiento de nicho trófico entre el visón europeo y el americano es elevado, lo que sugiere una alta presión competitiva. La dieta del visón nativo se incluye casi por completo dentro de la dieta la especie invasora.

**10.** El visón americano presenta un mayor consumo de peces en poblaciones alopátricas y un mayor consumo de cangrejos en poblaciones simpátricas con el visón nativo.

**11.** La dieta del visón americano pone de manifiesto una amplitud de nicho trófico considerablemente mayor en machos que en hembras.

**12.** La probabilidad de detección del visón americano y la nutria varía lo largo del año, pero en promedio se observa una detección similar para cada especie, y es mayor en invierno y menor durante la primavera.

**13.** Las probabilidades de detección de ambas especies no se ven influidas por la presencia de la otra especie, excepto durante la primavera, por lo que la efectividad de los actuales protocolos de monitoreo para ambas especies permanece independiente de la coocurrencia de las especies.

**14.** Tanto el visón americano como la nutria han sido más detectados en ríos de dimensiones pequeños y medianos que en ríos de mayor tamaño.

**15.** La probabilidad de supervivencia de la población de visón europeo en los ríos Ebro y Najarilla presenta variaciones a través de los años estudiados.

- 
- 16.** La probabilidad de supervivencia del visón europeo en el norte de España indica que en promedio, menos de la mitad de la población sobrevive de un año al siguiente (0,46).
- 17.** Tanto la probabilidad de supervivencia como la de recaptura son mayores para las hembras que para los machos.
- 18.** La baja tasa de supervivencia del visón europeo y su elevada fluctuación indican un estado vulnerable de la población.
- 19.** Esta tesis resalta la necesidad inmediata de aumentar los esfuerzos de conservación para preservar una población viable de visón europeo y evitar su extinción en España.



## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Aars J, Lambin X, Denny R & Griffin AC (2001) Water vole in the Scottish uplands: distribution patterns of disturbed and pristine populations ahead and behind the American mink invasion front. *Animal Conservation* 4:187-194.
- Abramov AV (2000) A taxonomic review of the genus *Mustela* (Mammalia, Carnivora). *Zoosystematica Rossica* 8:357–364.
- AEMET (2011) Atlas climático ibérico. Agencia Estatal Meteorológica. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Mar. 79 pp.
- Ahola M, Nordstrom M, Banks PB, Laanetu N & Korpimaki E (2006) Alien mink predation induces prolonged declines in archipelago amphibians. *Proceedings of the Royal Society of London B* 273: 1261 - 1265.
- Altwegg R, Roulin A, Kestenholz M, Jenni L (2003) Variation and covariation in survival, dispersal and population size in barn owls *Tyto alba*. *Journal of Animal Ecology* 72: 391–399.
- Avise JC, Ball J, Bermingham R, Lamb E, Neigel T, Reeb J & Saunders N (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology, Systematics and Evolution* 18: 489-522.
- Avise JC (2000) Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, United Kingdom. 447 p.
- Bailey L & Adams M (2005) Occupancy models to Study Wildlife. USGS Numbered Series Fact Sheet 2005- 3096. doi: 10.3133/fs20053096
- Banfield AWF (1974) The mammals of Canada. University of Toronto Press, Toronto.
- Bearhop S, Adams CE, Waldron S, Fuller RA, Macleod H (2004) Determining trophic niche width: A novel approach using stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology* 73:1007–1012. doi: 10.1111/j.0021-8790.2004.00861.x

- 
- Beebee T & Rowe G (2007) An introduction to molecular ecology. Oxford. Oxford University Press. 416 pp.
- Bellard C, Cassey P & Blackburn TM (2016) Alien species as a driver of recent extinctions. *Biol. Lett.* 12: 20150623. <http://dx.doi.org/10.1098/rsbl.2015.0623>
- Bellard C, Jeschke JM, Leroy B & Mace GM (2018) Insights from modeling studies on how climate change affects invasive alien species geography. *Ecology and Evolution* 00:1–13. <https://doi.org/10.1002/ece3.4098>.
- Bifolchi A, Picard D, Lemaire C, Cormier JP, Pagano A (2010) Evidence of admixture between differentiated genetic pools at a regional scale in an invasive carnivore. *Conservation Genetics* 11:1–9. doi: 10.1007/s10592-008-9780-1
- Birks J & Dunstone N (1985) Sex related differences in the diet of mink *Mustela vison*. *Holarctic Ecology* 8: 42–82
- Bodey TW, Bearhop S, Roy SS, Newton J, McDonald RA (2010) Behavioural responses of invasive American mink *Neovison vison* to an eradication campaign, revealed by stable isotope analysis. *Journal of Applied Ecology* 47:114–120. doi: 10.1111/j.1365-2664.2009.01739.x
- Bodey TW, Bearhop S, McDonald R (2011) Invasions and stable isotope analysis—informing ecology and management. In: Veitch CR, Clout MN, Towns DR (eds) Island invasives: eradication and management. IUCN, Gland, Switzerland, pp 148–151.
- Boecklen WJ, Yarnes CT, Cook BA, James AC (2011) On the Use of Stable Isotopes in Trophic Ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 42:411–440. doi: 10.1146/annurev-ecolsys-102209-144726.
- Bolnick DI, Yang LH, Fordyce JA, Davis JM, Svanback R (2002) Measuring individual-level resource specialization. *Ecology* 83:2936–2941. doi: 10.1890/0012-9658
- Bonesi L, Chanin P & Macdonald DW (2004) Competition between Eurasian otter *Lutra lutra* and American mink *Mustela vison* probed by niche shift. *Oikos* 106: 19–26.

- 
- Bonesi L, Harrington LA, Maran T, Sidorovich VE & Macdonald DW (2006) Demography of three populations of American mink *Mustela vison* in Europe. Mammal Review 36 (1): 98-106.
- Bonesi L & Macdonald DW (2004) Impact of released Eurasian otters on a population of American mink: a test using an experimental approach. Oikos 106: 9-18.
- Bonesi L & Palazón S (2007). The American Mink in Europe: status, impacts, and control. Biological Conservation 134: 470-483.
- Bravo C (2007). *Neovison vison* (Schreber, 1777). Pp. 299-301. En: Palomo LJ, Gisbert J & Blanco JC (Eds.). Atlas y Libro Rojo de los mamíferos terrestres de España. Dirección General para la Biodiversidad-SECEM-SECEMU, Madrid.
- Bueno F (1996) Competition between American mink *Mustela vison* and Otter *Lutra lutra* during winter. Acta Theriologica 41(2): 149-154.
- Buskirk SW, Lindstedt SL (1989) Sex Biases in Trapped Samples of Mustelidae. Journal of Mammalogy 70:88-97.
- Cabrera A (1914). Fauna ibérica. Mamíferos. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
- Cabria MT, Michaux JR, Gómez-Moliner BJ, Skumatov D, Maran T, Fournier P, López de Luzuriaga J & Zardoya R (2011) Bayesian analysis of hybridization and introgression between the endangered european mink (*Mustela lutreola*) and the polecat (*Mustela putorius*). Molecular Ecology 20 1176–1190 doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04988.x.
- Cabria MT, González EG, Gómez-Moliner BJ, Michaux JR, Skumatov D, Kranz A, Fournier P, Palazón S & Zardoya R (2015) Patterns of genetic variation in the endangered European mink (*Mustela lutreola* L. 1761). BMC Evolutionary Biology 15: 141.
- Callejo, A., Delibes, M. (1987) Dieta de la nutria *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) en la cuenca del alto Ebro, norte de España. Miscellania Zoologica 11: 353-362.

- 
- Cameron EK, Vilà M & Cabeza M (2016) Global meta-analysis of the impacts of terrestrial invertebrate invaders on species, communities and ecosystems. *Global Ecology and Biogeography* 25:596–606 doi: 10.1111/geb.12436
- Carlsson NOL, Sarnelle O & Strayer DL (2009). Native predators and exotic prey - An acquired taste? *Frontiers in Ecology and the Environment* 7:525–532.
- Caut S, Angulo E & Courchamp F (2009) Variation in discrimination factors ( $\Delta^{15}\text{N}$  and  $\Delta^{13}\text{C}$ ): the effect of diet isotopic values and applications for diet reconstruction. *Journal of Applied Ecology* 46:443-453.
- Ceña A, Ceña JC & Lobo L (2003) Sustitución del visón europeo (*Mustela lutreola*) por el visón americano (*Mustela vison*) en el municipio de Vitoria-Gasteiz. *Galemys* 15: 131-143.
- Ceña JC (2004) Estimación de la población de visón europeo en Navarra. Informe Parcial. Época pre-reproductora. Gobierno de Navarra. Informe inédito. 18 pp.
- Chisholm BS, Nelson DE, Schwarcz HP (1982) Stable carbon isotope ratios as a measure of marine versus terrestrial protein in ancient diets. *Science* 216:1131–1132.
- Clavero M (2003) Ecología y conservación de la nutria y los peces continentales en pequeños arroyos del Campo de Gibraltar. Tesis doctoral. Universidad de Huelva, Huelva.
- Clavero M (2014) Shifting Baselines and the Conservation of Non-Native Species. *Conservation Biology*: 28(5): 1434-1436.
- Clavero M, Prenda J & Delibes M (2005) Amphibian and reptile consumption by otters (*Lutra lutra*) in a coastal area in southern Iberian Peninsula. *Herpetological Journal* 15(2): 125-131.
- Clavero M, Prenda J, Blanco-Garrido F & Delibes M (2008) Hydrological stability and otter trophic diversity: a scale-insensitive pattern? *Canadian Journal of Zoology* 86(10): 1152-1158.
- Cooch E, White G (2015) Program MARK “A Gentle Introduction” 2nd Edition. 310. doi: <http://www.phidot.org/software/mark/downloads/index.html>

- 
- Corbet GB (1978) The Mammals of the Palaearctic region: a taxonomic review. British Museum (Natural History), London.
- Crawford K, McDonald RA & Bearhop S (2008) Applications of stable isotope techniques to the ecology of mammals. *Mammal Review* 38:87-107.
- Crawford KM, Whitney KD (2010) Population genetic diversity influences colonization success. *Molecular Ecology* 19:1253–1263. doi: 10.1111/j.1365-294X.2010.04550.x
- DAISIE (Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe) (2009) Handbook of alien species in Europe. Springer, Dordrecht. 399 pp.
- Davison A, Griffiths HI, Brookes RC, Maran T, Macdonald DW, Sidorovich VE, Kitchener AC, Irizar I, Villate I, González-Esteban J, Ceña JC, Ceña A, Moya I & Palazón-Miñano S (2000) Mitochondrial DNA and palaeontological evidence for the origins of endangered European mink, *Mustela lutreola*. *Animal Conservation* 3:45-355.
- DeNiro MJ & Epstein S (1978) Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 42:495.
- Dunstone N & Birks JDS (1983) Activity budget and habitat usage by coastal-living mink (*Mustela vison*). *Acta Zoologica Fennica* 174: 189–191.
- Dunstone N (1993) The mink. Poyser Natural History, London.
- Dunstone N & O'Connor RJ (1979) Optimal foraging in an amphibious mammal. II. A study using principal component analysis. *Animal Behavior* 27:1195-1201.
- Edelaar P, Roques S, Hobson EA, Gonçalves Da Silva A, Avery ML, Russello MA, Senar JC, Wright TF, Carrete M & Tell JL (2015) Shared genetic diversity across the global invasive range of the monk parakeet suggests a common restricted geographic origin and the possibility of convergent selection. *Molecular Ecology* 24:2164–2176. doi: 10.1111/mec.13157
- Ehleringer JR & Osmond CB (1989) Stable isotopes. In: Pearcy RW, Ehleringer JR, Mooney HA & Rundel PW (Eds) Plant physiological ecology field methods and instrumentation. Chapman and Hall Ltd., London, United Kingdom.

- 
- Ellstrand NC & Schierenbeck KA (2000) Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97:7043 –7050. doi:10.1073/pnas.97.13.7043.
- Enders RK (1952) Reproduction in the mink *Mustela vison*. *Proceedings of the American Philosophical Society* 96: 691-755.
- Erlinge S (1972) Interspecific relationships between otter (*Lutra lutra*) and mink (*Mustela vison* Schreber) in Sweden. *Oikos* 23: 327–334.
- Farris Z, Kelly MJ, Karpanty S, Ratelolahy F (2015) Patterns of spatial co-occurrence among native and exotic carnivores in north-eastern. *Animal Conservation* doi: 10.1111/acv.12233
- Fischer D, Pavluvčík P, Sedláček F & Šálek M (2009) Predation of the alien American mink, *Mustela vison* on native crayfish in middle-sized streams in central and western Bohemia. *Folia Zoologica* 58(1): 45–56.
- Fraser EJ, Macdonald DW, Oliver MK, Piertney S, Lambin X (2013) Using population genetic structure of an invasive mammal to target control efforts - An example of the American mink in Scotland. *Biological Conservation* 167:35–42. doi: 10.1016/j.biocon.2013.07.011
- Fry B (2006) Stable Isotope Ecology. New York, Springer Science Business Media.
- Garin I, Aihartza J, Zuberogoitia I, Zabala J (2002b) Activity pattern of European mink (*Mustela lutreola*) in southwestern Europe. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* 48:102–106.
- Gasith A & VH Resh (1999) Streams in Mediterranean Climate Regions: Abiotic Influences and Biotic Responses to Predictable Seasonal Events. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 30: 51-81.
- Genovesi P, Carnevali L, Alonzi A & Scalera R (2012) Alien mammals in Europe: Updated numbers and trends, and assessment of the effects on biodiversity. *Integrative Zoology* 7:247–253. doi: 10.1111/j.1749-4877.2012.00309.x
- Genovesi P, Carnevali L & Scalera R (2015) The impact of invasive alien species on native threatened species in Europe. ISPRA M ISSG, Rome. Technical Report for the European Commission, 18 pp.

- 
- Genton BJ, Shykoff JA, Giraud T (2005) High genetic diversity in French invasive populations of common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, as a result of multiple sources of introduction. *Molecular Ecology* 14:4275–4285. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02750.x
- Griffiths H (1991) Applications of stable isotope technology in physiological ecology. *Functional Ecology* 5:254-269.
- Grivet L & Noyer JL (1999) Biochemical and molecular markers. pp 1-17. In: Genetic Diversity of Cultivated Tropical Plants (Hamon P, Segin M, Perrier X & Glaszmann JC Eds.). Science Publishers, Inc., Enfield, Plymouth.
- Gu W, Swihart RK (2004) Absent or undetected? Effects of non-detection of species occurrence on wildlife – habitat models. *Biological Conservation* 116:195–203. doi: 10.1016/S0006-3207(03)00190-3
- Gurevitch J & Padilla D (2004) Are invasions a major cause of extinctions? *Trends in Ecology and Evolution* 19(9):470-4. doi: 10.1016/j.tree.2004.07.005.
- Hall ER (1981) The mammals of North America. John Wiley and Sons Inc., New York.
- Hall BG (2004) Phylogenetic trees made easy: a how-to manual. Sunderland (MA): Sinauer Associate. 221 p.
- Harrington LA, Macdonald DW (2008) Spatial and Temporal Relationships between Invasive American Mink and Native European Polecats in the Southern United Kingdom. *Journal of Mammalogy* 89:991–1000.
- Harrington LA, Harrington AL, Moorhouse T, Gelling M, Bonesi L, Macdonald DW (2009) American mink control on inland rivers in southern England: An experimental test of a model strategy. *Biological Conservation* 142:839–849. doi: 10.1016/j.biocon.2008.12.012.
- Harrison R (1989) Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolutionary biology. *Trends in Ecology and Evolution* 4: 6-11.
- Hejda M, Pyšek P & Jarošík V (2009) Impact of invasive plants on the species richness, diversity and composition of invaded communities. *Journal of Ecology* 97: 393-403. doi: 10.1111/j.1365-2745.2009.01480.x

- 
- Hobson KA & Wassenaar LI (2008). Tracking animal migration with stable isotopes. 1st edn. London: Academic Press.
- Hobson KA, Schell DM, Renouf D & Noseworthy E (1996) Stable carbon and nitrogen isotopic fractionation between diet and tissues of captive seals: implications for dietary reconstructions involving marine mammals. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 53:528–533.
- Hoeffs J (2004) Stable Isotope Geochemistry. Springer, Berlin, New York
- Hoffmann M, Hilton-Taylor C, Angulo A, Böhm M, Brooks TM, Butchart SH, Carpenter KE, Chanson J, Collen B, Cox NA, Darwall WR, Dulvy NK, Harrison LR, Katariya V, Pollock CM, Quader S, Richman NI, Rodrigues AS, Tognelli MF, Vié JC, Aguiar JM, Allen DJ, Allen GR, Amori G, Ananjeva NB, Andreone F, Andrew P, Aquino Ortiz AL, Baillie JE, Baldi R, Bell BD, Biju SD, Bird JP, Black-Decima P, Blanc JJ, Bolaños F, Bolívar-G W, Burfield IJ, Burton JA, Capper DR, Castro F, Catullo G, Cavanagh RD, Channing A, Chao NL, Chenery AM, Chiozza F, Clausnitzer V, Collar NJ, Collett LC, Collette BB, Cortez Fernandez CF, Craig MT, Crosby MJ, Cumberlidge N, Cuttelod A, Derocher AE, Diesmos AC, Donaldson JS, Duckworth JW, Dutson G, Dutta SK, Emslie RH, Farjon A, Fowler S, Freyhof J, Garshelis DL, Gerlach J, Gower DJ, Grant TD, Hammerson GA, Harris RB, Heaney LR, Hedges SB, Hero JM, Hughes B, Hussain SA, Icochea M J, Inger RF, Ishii N, Iskandar DT, Jenkins RK, Kaneko Y, Kottelat M, Kovacs KM, Kuzmin SL, La Marca E, Lamoreux JF, Lau MW, Lavilla EO, Leus K, Lewison RL, Lichtenstein G, Livingstone SR, Lukoschek V, Mallon DP, McGowan PJ, McIvor A, Moehlman PD, Molur S, Muñoz Alonso A, Musick JA, Nowell K, Nussbaum RA, Olech W, Orlov NL, Papenfuss TJ, Parra-Olea G, Perrin WF, Polidoro BA, Pourkazemi M, Racey PA, Ragle JS, Ram M, Rathbun G, Reynolds RP, Rhodin AG, Richards SJ, Rodríguez LO, Ron SR, Rondinini C, Rylands AB, Sadovy de Mitcheson Y, Sanciangco JC, Sanders KL, Santos-Barrera G, Schipper J, Self-Sullivan C, Shi Y, Shoemaker A, Short FT, Sillero-Zubiri C, Silvano DL, Smith KG, Smith AT, Snoeks J, Stattersfield AJ, Symes AJ, Taber AB, Talukdar BK, Temple HJ,

- 
- Timmins R, Tobias JA, Tsytulina K, Tweddle D, Ubeda C, Valenti SV, van Dijk PP, Veiga LM, Veloso A, Wege DC, Wilkinson M, Williamson EA, Xie F, Young BE, Akçakaya HR, Bennun L, Blackburn TM, Boitani L, Dublin HT, da Fonseca GA, Gascon C, Lacher TE Jr, Mace GM, Mainka SA, McNeely JA, Mittermeier RA, Reid GM, Rodriguez JP, Rosenberg AA, Samways MJ, Smart J, Stein BA, Stuart SN (2010) The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science* 330:1503- 1509.
- Horton PE & Letcher BH (2008) Movement patterns and study area boundaries: influences on survival estimation in capture-mark-recapture studies. *Oikos* 117: 1131-1142. doi: 10.1111/j.2008.0030-1299.16686.x.
- Hulme PE, Pysek P, Nentwig W & Vilà M (2009) Will threat of biological invasions unite the European Union? *Science* 324: 40–41.
- Hulme PE (2015) Resolving whether botanic gardens are on the road to conservation or a pathway for plant invasions. *Conservation Biology* 29: 816–824.
- Inger R, Ruxton GD, Newton J, Colhoun K, Robinson JA & Bearhop S (2006) Temporal and intrapopulation variation in prey choice of wintering geese determined by stable isotope analysis. *Journal of Animal Ecology* 75:1190–1200.
- IUCN (2000) IUCN Guidelines for the Prevention of Biodiversity Loss Caused by Alien Invasive Species. IUCN, Gland, Switzerland. 21 pp.
- IUCN (2017) IUCN issues briefs: Invasive alien species and climate change. IUCN, Gland, Switzerland.
- Jiménez J, López-Martín JM, Ruiz-Olmo J & Delibes M (2008) ¿Por qué se está recuperando la nutria en España? Pp. 273-304. En: López Martín JM, Jiménez Pérez J (Eds.). La nutria en España. Veinte años de seguimiento de un mamífero amenazado. Secem, Málaga. 493 pp.
- Kelly JF (2000) Stable isotopes of carbon and nitrogen in the study of avian and mammalian trophic ecology. *Canadian Journal of Zoology* 78:1–27.

- 
- Kranz A, Toman A, Polednikova K, Polednik L & Kiss JB (2006) The European mink in the Romanian Danube Delta and adjacent lagoon complexes: distribution, status and conservation priorities. Proceedings of the International Congress on the Conservation of European mink (*Mustela lutreola*). Gobierno de La Rioja, Logroño. Pp. 103-112.
- Krawczyk AJ, Bogdziewicz M & Czyż MJ (2013) Diet of the American mink *Neovison vison* in an agricultural landscape in western Poland. *Folia Zoologica* 62(4): 303-309.
- Kruuk H (1995) Wild otters: predation and populations. Oxford University Press, New York.
- Larivière S (1999) *Mustela vison*. Mammalian Species: 608: 1-9.
- Larivière S & Jennings AP (2009) Family Mustelidae (American mink). Pp. 655-656. En: Wilson, D. E., Mittermeier, R. A. (Eds.). *Handbook of the Mammals of the World*. Vol. 1. Carnivores. Lynx Editions, Barcelona.
- Lazenby BT, Dickman CR (2013) Patterns of Detection and Capture Are Associated with Cohabiting Predators and Prey. *PLoS One* 8:1-14. doi: 10.1371/journal.pone.0059846
- Lebreton JD, Burnham KP, Clobert J, Anderson DR (1992) Modeling survival and testing biological hypotheses using marked animals: a unified approach with case studies. *Ecology Monographs* 62:67-118.
- Lecis R, Fernando A, Ruiz-Olmo J, Mañas S & Domingo-Roura X (2008) Population genetic structure and distribution of introduced American mink (*Mustela vison*) in Spain, based on microsatellite variation. *Conservation Genetics* 9(5): 1149-1161.
- LIFE LUTREOLA SPAIN (2017a) LIFE13 NAT\ES\001171. Acción A3: Protocolo de erradicación del visón americano. Nuevos enfoques en la conservación del visón europeo en España. 36 pp.
- LIFE LUTREOLA SPAIN (2017b) New approaches for the European mink Conservation in Spain

- 
- . Evaluación del bienestar animal durante la erradicación del visón americano. Nuevos enfoques en la conservación del visón europeo en España. 27 pp.
- Lode T, Cormier JP, Le Jacques D (2001) Decline in endangered species as an indication of anthropic pressures: The case of European mink *Mustela lutreola* western population. Environmental Management 28:727–735. doi: 10.1007/s002670010257
- López-Martín JM & Jiménez J (2008) Resultados del muestreo y diagnosis de la distribución de las poblaciones de nutria en España. Pp. 245-270. En: López Martín, J. M., Jiménez Pérez, J. (Eds.). La nutria en España. Veinte años de seguimiento de un mamífero amenazado. Secem, Málaga. 493 pp.
- Loureiro T, Silva PM, Araujo PB, Souty-Grosset C & Pereira M (2015) Red swamp crayfish: biology, ecology and invasion - an overview. Nauplius 23(1): 1-19.
- Lukacs PM, Burnham KP (2005) Review of capture-recapture methods applicable to noninvasive genetic sampling. Molecular Ecology 14:3909–3919. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02717.x
- Macdonald DW & Harrington LA (2003) The American mink: the triumph and tragedy of adaptation out of context. New Zealand Journal of Zoology 30:421-441.
- Macdonald DW, Sidorovich VE, Maran T & Kruuk H (2002) European mink, *Mustela lutreola*: Analyses for Conservation. Wildlife Conservation Research Unit, University of Oxford, Oxford. 122 pp.
- MacKenzie DI & Royle JA (2005) Designing occupancy studies: general advice and allocating. Journal of Applied Ecology 42:1105–1114. doi: 10.1111/j.1365-2664.2005.01098.x
- MacKenzie DI, Nichols JD, Lachman GB, Droege S, Royle JA & Langtimm CA (2002) Estimating site occupancy rates when detection probabilities are less than one. Ecology 83: 2248-2255.
- MacKenzie DI, Nichols JD, Hines JE, Knutson MG & Franklin AB (2003) Estimating site occupancy, colonization and local extinction probabilities when a species is detected imperfectly. Ecology 84: 2200-2207.

- 
- Mackenzie DI, Bailey LL & Nichols JD (2004) Investigating species co-occurrence patterns when species are detected imperfectly. *Journal of Animal Ecology* 73:546–555. doi: 10.1111/j.0021-8790.2004.00828.x
- MacKenzie DI, Nichols JD, Royle JA, Pollock KH, Bailey LL & Hines JE (2006) Occupancy Estimation and Modeling: Inferring Patterns and Dynamics of Species Occurrence. Academic Press, Burlington, M.A., p. 344.
- MAGRAMA (2009) Estrategia Nacional de Conservación del visón europeo en España". Gobierno de España, 39 pp.
- Magoulick DD & Piercy GL (2016) Trophic overlap between native and invasive stream crayfish. *Hydrobiologia* 766:237–246.
- Mañas S, Ceña JC, Ruiz-Olmo J, Palazón S, Domingo M, Wolfinbarger JB & Bloom ME (2001) Aleutian mink disease parvovirus in wild riparian carnivores in Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 37(1): 138-144.
- Maran T (1991) Distribution of the European mink, *Mustela lutreola* in Estonia: A historical review. *Folia Theriolica Estonica* 1: 1-17.
- Maran T (2007) Conservation biology of the European mink, *Mustela lutreola* (Linnaeus 1761): decline and causes of extinction. Tallinn University Dissertations on Natural Sciences 15. Tallinn: Tallinn University Press.
- Maran T & Henttonen H (1995) Why is the European mink, (*Mustela lutreola*) disappearing? – A review of the process and hypotheses. *Annales Zoologici Fennici* 32: 47-54.
- Maran T, Kruuk H, Macdonald DW & Polma M (1998) Diet of two species of mink in Estonia : displacement of *Mustela lutreola* by *M. vison*. *Journal of Zoology* 245:218–222.
- Maran T, Kruuk H, Macdonald DW & Polma M (2006) Diet of two species of mink in Estonia: displacement of *Mustela lutreola* by *M. vison*. *Journal of Zoology* 245: 218-222.
- Maran T, Macdonald DW, Kruuk H, Sidorovich NV & Rozhnow VV (1998) The continuing decline of the European mink *Mustela lutreola*: evidence for the intraguild aggression hypothesis. En:Dunstone, N., Gorman, M. L. (Eds).

- 
- Behaviour and ecology of riparian mammals. Cambridge University Press, Cambridge.
- Maran T, Skumatov D, Gomez A, Pödra M, Abramov AV & Dinets V (2016) *Mustela lutreola*. The IUCN Red List of Threatened Species 2016: e.T14018A45199861.<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20161.RLTS.T14018A45199861.en>.
- Mason CF & Macdonald SM (1986) Otters. Ecology and Conservation. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Melero Y (2007) Estudio poblacional del visón americano *Mustela vison* en Cataluña: ecología y control de una especie invasora. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona. Barcelona.
- Melero Y, Palazón S & Gosálbez J (2008a) Morphological adaptation of an invasive American mink population in Mediterranean areas of Spain. *Acta Zoologica* 89: 47–51.
- Melero Y, Palazón S, Bonesi L & Gosálbez J (2008b) Feeding habits of three sympatric mammals in NE Spain: the American mink, the spotted genet, and the Eurasian otter. *Acta Theriologica* 53: 263–273.
- Melero Y, Palazón S, Revilla E, Martelo J & Gosálbez J (2008c) Space use and habitat preferences of the invasive American mink (*Mustela vison*) in a Mediterranean area. *European Journal of Wildlife Research* 54: 609–617.
- Melero Y, Palazón S, Bonesi L & Gosálbez J (2010) Relative abundance of culled and not culled American mink populations in northeast Spain and their potential distribution: are culling campaigns effective? *Biological Invasions* doi: 10.1007/s10530-010-9778-8
- Melero Y, Palazón S, Revilla E & Gosálbez J (2011) Winter activity patterns in an invading Mediterranean population of American mink (*Neovison vison*). *Folia Zoologica* 60:47-53.
- Melero Y & Palazón S (2011) Visón americano – *Neovison vison*. En: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Cassinello, J. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>

- 
- Melero Y, Plaza M, Santulli G, Saavedra D, Gosàlbez J, Ruiz-Olmo J & Palazón S (2012) Evaluating the effect of American mink, an alien invasive species, on the abundance of a native community: is coexistence possible? *Biodiversity and Conservation* 21:1795–1809. doi: 10.1007/s10531-012-0277-3.
- Melero Y, Santulli G, Gómez A, Gosàlbez J, Rodriguez-Refojos C & Palazón S (2012b) Morphological variation of introduced species: The case of American mink (*Neovison vison*) in Spain. *Mammalian Biology* 77:345–350. doi: 10.1016/j.mambio.2012.02.001
- Melero Y, Robinson E & Lambin X (2015) Density- and age-dependent reproduction partially compensates culling efforts of invasive non-native American mink. *Biological Invasions* 17(9): 2645–2657. doi: 10.1007/s10530-015-0902-7.
- Michaux JR, Libois RM, Davison A & Rosoux R (2004) Are French and Spanish European mink, *Mustela lutreola*, a distinct management unit for conservation? *Biological Conservation* 115:357–367.
- Michaux JR, Hardy OJ, Justy F, Fournier P, Kranz A, Cabria M, Davison A, Rosoux R & Libois R (2005) Conservation genetics and population history of the threatened European mink *Mustela lutreola*, with an emphasis on the west European population. *Molecular Ecology* 14: 2373–2388. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02597.x
- Michener RH & Schell DM (1994) Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs, p.138–157. Lajtha I & Michener R (Eds.) *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific.
- Middelburg JJ (2014) Stable isotopes dissect aquatic food webs from the top to the bottom. *Biogeosciences* 11:2357–2371. doi: 10.5194/bg-11-2357-2014
- Miranda R, García-Fresca C & Barrachina P (2006) Summer prey size selection by European otter *Lutra lutra* in Mediterranean habitats. *Mammalia* 70(3-4): 315–318.

- 
- Morales J & Gómez-Gayubo J (2008) La nutria en Castilla y León. Pp. 99-114. En: López Martín, J. M., Jiménez Pérez, J. (Eds.). La nutria en España. Veinte años de seguimiento de un mamífero amenazado. Secem, Málaga. 493 pp.
- Morales J, Díez D & Lizana M (2010) Análisis de la alimentación y distribución del visón americano (*Neovison vison*) y de la nutria (*Lutra lutra*) en la población simpátrica del río Moros (Sistema Central, Segovia). *Galemys* 22(1): 63-69.
- Nentwig W, Kühnel E & Bacher S (2010) A generic impact scoring system applied to alien mammals in Europe. *Conservation Biology* 24:302–311.
- Nentwig W, Bacher S, Kumschick S, Pysek P & M Vila (2018) More than “100 worst” alien species in Europe. *Biological Invasions* 20:1611–1621.
- Newsome SD, Martinez del Rio C, Bearhop S & Phillips DL (2007) A Niche for Isotope Ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment* 5:429–436. doi: 10.1890/060150.01
- Nowak RM (1991) *Walker's Mammals of the World*. 5th ed. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Oliver M, Luque-Larena JJ & Lambin X (2009) Do rabbits eat voles? Apparent competition, habitat heterogeneity and large-scale coexistence under mink predation. *Ecology Letters* 12(11):1201–1209. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01375.x
- Oliver MK, Piertney SB, Zalewski A, Melero Y & Lambin X (2016) The compensatory potential of increased immigration following intensive American mink population control is diluted by male-biased dispersal. *Biological Invasions* 18:3047–3061. doi: 10.1007/s10530-016-1199-x
- Palazón S, Ruiz-Olmo J, Bueno F, Bueno F, Jordan G, Palomero G, Palomero G, Munilla I, Romero R & Gimenez YJ (1997) El visón americano en España. In: *El visón europeo y el visón americano en España*. (Eds.) Palazón, S. and Ruiz-Olmo, J. Colección Técnica, Ministerio de Medio Ambiente. Madrid. pp 107–114.

- 
- Palazón S (1998) Distribución, morfología y ecología del visón europeo (*Mustela lutreola* L. 1761) en la Península Ibérica. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona.
- Palazón S (1999) Distribución, morfología y ecología del visón europeo (*Mustela lutreola* L., 1761) en la Península Ibérica. *Galemys*, 11: 60-62.
- Palazón S & Ruiz-Olmo J (1995) El visón americano. En: Ruiz-Olmo, J., Aguilar, A. (Eds.). *Els grans mamífers de Catalunya i Andorra*. Lynx Editions, Barcelona.
- Palazón S & Ruiz-Olmo J (1997) El visón europeo (*Mustela lutreola*) y el visón americano (*Mustela vison*) en España. Ministerio de Medio Ambiente, Organismo Autónomo de Parques Nacionales.
- Palazón S & Ruiz-Olmo J (1998) A preliminary study of the behaviour of the European mink *Mustela lutreola* in Spain, by means of radiotracking. In *Behaviour and Ecology of Riparian Mammals* (eds N. Dunstone & M.L. Gorman), pp. 93–106. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Palazón S, Ruiz-Olmo J & Gosálbez J (2004) The diet of the European mink (*Mustela lutreola* L., 1761) in Spain. *Mammalia* 68 (2-3): 159-165.
- Palazón S, Ruiz-Olmo J & Gosálbez J (2006) Body and skull morphology of European mink (*Mustela lutreola*) in northern Spain. Pp. 167-178. En: *Proceedings of the International Congress on the Conservation of European mink (*Mustela lutreola*)*. Edited by La Rioja Government. Logroño, Spain.
- Palazón S, Ruiz-Olmo J & Gosálbez J (2008) Autumn-winter diet of three carnivores, European mink (*Mustela lutreola*), Eurasian otter (*Lutra lutra*) and small-spotted genet (*Genetta genetta*), in northern Spain. *Animal Biodiversity and Conservation* 31.2: 37–43.
- Palazón S, Melero Y, Gómez A, López de Luzuriaga J, Podra M & Gosálbez J (2012a) Causes and patterns of human-induced mortality in the Critically Endangered European mink *Mustela lutreola* in Spain. *Oryx* 46(4): 614-616.
- Palazón S, Santulli-Sanzo G, Plaza M, Melero Y & Gosálbez J (2012b) Análisis de la viabilidad de la población española de visón europeo (*Mustela lutreola*).

- 
- Aplicación del programa VORTEX 9.99b. Asociación Visón Europeo-IMEDEA, CSIC-TRAGSA. Barcelona.
- Palazón S, Gómez A, Pôdra M, Oreca S & Ferrer M (2013) Estudio Poblacional del visón europeo (*Mustela lutreola*) en La Rioja, Álava y Burgos: Río Ebro y Río Najarilla (tramo bajo): 2012. MAGRAMA-TRAGSA. Madrid.
- Palazón S & Melero Y (2014) Status, threats and management actions on the European mink *Mustela lutreola* (Linnaeus, 1761) in Spain: a review of the studies performed since 1992. *Munibe Monographs Nature Series* 3: 109-118.
- Palazón S (2017) Visón europeo – *Mustela lutreola*. En: Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Salvador, A., Barja, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>
- Palomo LJ & Gisbert J (2002) Atlas de los Mamíferos Terrestres de España. Dirección General de Conservación de la Naturaleza-SECEM-SECEMU, Madrid.
- Parnell AC, Inger R, Bearhop S, Jackson AL (2010) Source partitioning using stable isotopes: Coping with too much variation. *PLoS One* 5:1–5. doi: 10.1371/journal.pone.0009672
- Pedroso N, Santos-Reis M & Vasconcelos L (2004) O uso de grandes barragens pela lontra no Alentejo. *Revista de Biología* 22(1-4): 211-224.
- Peel M, Finlayson B & McMahon T (2007) Updated world map of the Koppen-Geiger climate classification. *Hydrology and Earth System Sciences* 11:1633-1644.
- Persson L (1985) Asymmetrical competition: are larger animals competitively superior? *American Naturalist* 126: 261-266.
- Peterson BJ & Fry B (1987) Stable isotopes in ecosystem studies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 18: 293-320.
- Phillips DL, Gregg JW (2003) Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources. *Oecologia* 136: 261–269.

- 
- Pödra M, Gómez A, Palazón S (2013) Do American mink kill European mink? Cautionary message for future recovery efforts. *European Journal of Wildlife Research* 59:431–440. doi: 10.1007/s10344-013-0689-8.
- Pödra M & Gómez A (2018) Rapid expansion of the American mink poses a serious threat to the European mink in Spain. *Mammalia* doi.org/10.1515/mammalia-2017-0013.
- Polacik M, Jana M, Jurajda P, Adamek Z, Ondrackova M, Trichkova T & Vassilev M (2009) Invasive gobies in the Danube: invasion success facilitated by availability and selection of superior food resources. *Ecology of Freshwater Fish* 2009; 18: 640–649. doi: 10.1111/j.1600-0633.2009.00383.x
- Prenda J, López-Nieves P & Bravo R (2001) Conservation of otter *Lutra lutra* in a Mediterranean area: the importance of habitat quality and temporal variation in water availability. *Aquatic Conservation* 11: 343-355.
- Pritchard JK, Stephens M & Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 155:945–959. doi: 10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x
- Raizada P, Raghubanshi AS & Singh JS (2008) Impact of invasive alien plant species on soil processes: a review. *Proceedings of the National Academy of Sciences. India Section B, Biological Sciences* 78: 288-298.
- Richmond OMW, Hines JE & Beissinger SR (2010) Two-species occupancy models: a new parameterization applied to co-occurrence of secretive rails. *Ecological Applications* 20(7): 2036-2046
- Robertson BC, Gemmell NJ (2004) Defining eradication units to control invasive pests. *Journal of Applied Ecology* 41:1042–1048. doi: 10.1111/j.0021-8901.2004.00984.x
- Rollins LA, Woolnough AP & Sherwin WB (2006) Population genetic tools for pest management: a review. *Wildlife Research* 33: 251–261.
- Roman J, Darling JA (2007) Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology and Evolution* 22:454–464. doi: 10.1016/j.tree.2007.07.002

- 
- Romero R (2006) La nutria (*Lutra lutra* L.) en Galicia: Distribución geográfica y ecología trófica de las poblaciones costeras. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela.
- Romero R, Nores C, García-Rovés P, Gutián J & Ruiz-Olmo J (2008) Distribución y uso del espacio costero de las nutrias en la fachada cántabro-atlántica. Pp. 397-420. En: López Martín, J. M., Jiménez Pérez, J. (Eds.). La nutria en España. Veinte años de seguimiento de un mamífero amenazado. Secem, Málaga. 493 pp.
- Roos A, Loy A, de Silva P, Hajkova P & Zemanová B (2015) *Lutra lutra*. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T12419A21935287.
- Ruiz-Olmo J (1995) Estudio Bionómico sobre la Nutria (*Lutra lutra* L., 1758) en Aguas Continentales de la Península Ibérica. Tesis doctoral. Universidad de Barcelona, Barcelona.
- Ruiz-Olmo J (1998) Influence of altitude on the distribution, abundance and ecology of the otter (*Lutra lutra*). Pp. 159-176. En: Dunstone, N., Gorman, M. (Eds.). Behaviour and Ecology of Riparian Mammals. Cambridge Univ. Press., Cambridge.
- Ruiz-Olmo J (2001) Pla de Conservació de la Llúdriga a Catalunya: Biologia i conservació. Generalitat de Catalunya, Departament de Medi Ambient, Documents dels Quaderns del Medi Ambient, 6: 1-87.
- Ruiz-Olmo J & Delibes M (1998) Síntesis de los resultados. la nutria en España en 1994-1996 y la evolución de su distribución. 195-222 pp. En: La nutria en España, ante el horizonte del año 2000. Ruiz-Olmo y Delibes (eds). 300 pp.
- Ruiz-Olmo J & Oro D (1993) La nutria en las zonas húmedas litorales de Catalunya (N.E. de la Península Ibérica ). Butlletí del Parc Natural Delta de l'Ebre 8: 36-41.
- Ruiz-Olmo J & Palazón S (1997) The diet of the European otter (*Lutra lutra* L.) in Mediterranean freshwaters habitats. Journal of Wildlife Research 2: 171-181.
- Ruiz-Olmo J (2002) *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758). Nutria paleártica. Pp. 278-281. En: Palomo LJ & Gisbert J (Eds.). Atlas de los Mamíferos Terrestres de España.

---

Dirección General de Conservación de la Naturaleza-SECEM -SECEMU, Madrid.

Ruiz-Olmo J, Munilla I & Romero R (1997) Distribution, Status and Colonization of the American Mink *Mustela vison* in Spain. *Journal of Wildlife Research* 2:30–36.

Ruiz-Olmo J, Olmo-Vidal JM, Mañas S & Batet A (2002) The influence of resource seasonality on the breeding patterns of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) in Mediterranean habitats. *Canadian Journal of Zoology* 2189:2178–2189. doi: 10.1139/Z02-186

Ruiz-Olmo J, Batet A, Jiménez J & Martínez D (2005) Habitat selection by female otters with small cubs in freshwater habitats in Northeast Spain. *Lutra* 48 (1): 45–56.

Ruiz-Olmo J (2017) Nutria – *Lutra lutra*. En: *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Salvador, A., Barja, I. (Eds.). Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid. <http://www.vertebradosibericos.org/>

Saavedra D (2002) Reintroduction of the Eurasian Otter (*Lutra lutra*) in Muga and Fluvia basins (North-Eastern Spain): viability, development, monitoring and trends of the new population. Tesis doctoral. Universidad de Girona, Girona.

Santulli G (2014) Occupancy, abundance, potential distribution and spatial competition of the critically endangered european mink (*Mustela lutreola*) and the invasive non-native american mink (*Neovison vison*) in the Iberian Peninsula. Dissertation, Universitat de Barcelona.

Santulli G, Palazón S, Melero Y, Gosálbez J & Lambin X (2014) Multi-season occupancy analysis reveals large scale competitive exclusion of the critically endangered European mink by the invasive non-native American mink in Spain. *Biological Conservation* 176:21–29. doi: 10.1016/j.biocon.2014.05.002

Sato JJ, Hosoda T, Wolsan M, Tsuchiya K, Yamamoto M & Susuki H (2003) Phylogenetic relationships and divergent time among Mustelids (Mammalia, Carnivora) based on nucleotide sequences of the nuclear interphotoreceptor

- 
- retinoid binding protein and mitochondrial cytochrome b genes. *Zoological Science* 20: 243-264.
- Schuttler E (2009) Population ecology, impact and social acceptance of American mink (*Mustela vison*), a recent invasive species on Navarino Island. Cape Horn Biosphere Reserve, Chile Leipzig.
- Seebens H, Blackburn TM, Dyer EE, Genovesi P, Hulme PE, Jeschke JM, Pagad S, Pyšek P, Winter M, Arianoutsou M, Bacher S, Blasius B, Brundu G, Capinha C, Celesti-Grapow L, Dawson W, Dullinger S, Fuentes N, Jäger H, Kartesz J, Kenis M, Kreft H, Kühn I, Lenzner B, Liebhold A, Mosena A, Moser D, Nishino M, Pearman D, Pergl J, Rabitsch W, Rojas-Sandoval J, Roques A, Rorke S, Rossinelli S, Roy HE, Scalera R, Schindler S, Štajerová K, Tokarska-Guzik B, Kleunen MV, Walker K, Weigelt P, Yamanaka T, Essl F (2017) No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nature Communication* 8:14435. doi: 10.1038/ncomms14435
- Sidorovich VE (1997) Mustelids in Belarus. Evolutionary ecology, demography and interspecific relationships. Zolotoy Uley Publisher, Minsk. 289 pp.
- Sidorovich V E (2000) Seasonal variation in the feeding habits of riparian mustelids in river valleys of NE Belarus. *Acta Theriologica* 45(2): 233–242.
- Sidorovich VE (2001) Study on the decline in the European mink *Mustela lutreola* population in connection with the American mink *M. vison* expansion in Belarus: story of the study, review of the results and research priorities. *Säugetierkundliche Informationen* 5(25): 133-153.
- Sidorovich VE, Kruuk H, Macdonald DW & Maran T (1998) Diets of semi-aquatic carnivores in northern Belarus, with implications for populations changes. Pp. 177-189. En: Dunstone, N., Gorman, M. L. (Eds.). Behaviour and ecology of riparian mammals. *Symposia of the Zoological Society of London*, 71.
- Sidorovich V, Kruuk H & Macdonald D (1999) Body size, and interactions between European and American mink (*Mustela lutreola* and *M. vison*) in Eastern Europe. *Journal of Zoology* 248:521–527. doi: 10.1111/j.1469-7998.1999.tb01051.x

- 
- Sidorovich VE, Macdonald DW, Kruuk K & Krasko DA (2000) Behavioural interactions between the naturalized American mink *Mustela vison* and the native riparian mustelids, NE Belarus, with implications for population changes. *Small Carnivores Conservation*: 22: 1-5.
- Sidorovich VE & Macdonald DW (2001) Density dynamics and changes in hábitat use by the European mink and other native mustelids in connection with the American mink expansion in Belarus. *Netherlands Journal of Zoology* 51: 107-126.
- Sidorovich V & Polozov AG (2002) Partial eradication of the American mink *Mustela vison* as a way to maintain the declining population of the European mink *Mustela lutreola* in a continental area. A case study in the Lovat River head, NE Belarus. *Small Carnivore Conservation* 26:12–14.
- Sidorovich VE, Polozov AG, Zalewski A (2010) Food niche variation of European and American mink during the American mink invasion in north-eastern Belarus. *Biological Invasions* 12:2207–2217. doi: 10.1007/s10530-009-9631-0
- Stepien CA, Taylor CD & Dabrowska KA (2002) Genetic variability and phylogeographic patterns of a non indigenous species invasion: A comparison of exotic versus native zebra and quagga mussel populations. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(3), 314–328.
- Strubbe D & Matthysen E (2009) Establishment success of invasive ringnecked and monk parakeets in Europe. *Journal of Biogeography* 36:2264–2278. doi:10.1111/j.1365-2699.2009.02177.x
- Sundqvist C, Ellis Le GC & Bartke A (1989) Reproductive endocrinology of the mink *Mustela vison*. *Endocrine Reviews* 9: 247-266.
- Ternovsky DV & Ternovskaya YG (1994) Ecology of the Mustelids. Nauka, Novosibirsk. 222 pp.
- Thom MD, Harrington LA & Macdonald DW (2004) Why are American mink sexual dimorphic? A role for niche separation. *Oikos*, 105: 525-535.
- Trigo RM, Pozo-Vázquez D, Osborn TJ, Castro-Diez Y, Gámiz-Fortis S & Esteban-Parra MJ (2004) North Atlantic oscillation influence on precipitation, river flow

- 
- and water resources in the Iberian Peninsula. International Journal of Climatology 24:925-944.
- Tyrrell CL, Christy MT, Rodda GH, Yackel Adams AA, Ellingson AR, Savidge JA, Dean-Bradley K & Bischof R (2009) Evaluation of trap capture in a geographically closed population of brown treesnakes on Guam. Journal of Applied Ecology 46:128–135. doi: 10.1111/j.1365-2664.2008.01591.x
- Turner MG (2005) Landscape ecology: What Is the state of the science? Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 36:319-344.
- Urra F & Ceña JC (2005) Proyecto LIFE. Gobierno de Navarra. Informe inédito.
- Vandewoestijne S, Schtickzelle N, Baguette M (2008) Positive correlation between genetic diversity and fitness in a large, well-connected metapopulation. BMC Biology 6:46–55. doi: 10.1186/1741-7007-6-46.
- Vázquez-Domínguez E (2002) Phylogeography, historical patterns and conservation of natural areas. Pp. 369-378. In: Protected areas and the regional planning imperative in North America. Nelson, G., J.C. Day, L.M. Sportza, J. Loucky and C. Vásquez (Eds.). University of Calgary Press, Canada.
- Vázquez-Domínguez E (2007) Filogeografía y vertebrados. Pp. 441-466. En: Ecología Molecular. Eguiarte, L.E., V. Souza y X. Aguirre (compiladores). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.
- Vidal-Figueroa T & Delibes M (1987) Primeros datos sobre el visón americano (*Mustela vison*) en el suroeste de Galicia y noroeste de Portugal. Ecología 1: 145-152.
- Vilà M, Basnou C, Pys P, Josefsson M, Genovesi P, Gollasch S, Nentwig W, Olenin S, Roques A, Roy D, Hulme PE & DAISIE partners (2010) How well do we understand the impacts of alien species on ecosystem services? A pan-European, cross-taxa assessment. Frontiers in Ecology and the Environment 8(3): 135–144, doi:10.1890/080083.

- 
- West JB, Bowen GJ, Cerling TE & Ehleringer JR (2006) Stable isotopes as one of nature's ecological recorders. *Trends in Ecology and Evolution* 21:408.
- Wozencraft WC (2005) Order Carnivora. Pp. 532-628. En: Wilson, D. E., Reeder, D. M. (Eds.). *Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference*. Johns Hopkins University Press, Baltimore.
- Youngman PM (1982) Distribution and systematics of the European Mink, *Mustela lutreola* Linnaeus, 1761. *Acta Zoologica Fennica* 166: 1-48.
- Zabala J, Zuberogoitia I, Garin I & Aihartza J (2003) Landscape features in the habitat selection of European mink (*Mustela lutreola*) in south-western Europe. *Journal of Zoology* 260: 415-421.
- Zabala J, Zuberogoitia I & Martínez-Climent JA (2006) Factors affecting occupancy by the European mink in south-western Europe. *Mammalia* 70(3-4): 193-201.
- Zabala J, Zuberogoitia I & Martínez-Climent JA (2007a) Spacing pattern, intersexual competition and niche segregation in American mink. *Annales Zoologici Fennici* 44: 229-258.
- Zabala J, Zuberogoitia I & Martínez-Climent JA (2007b) Winter habitat preferences of feral American mink *Mustela vison* in Biscay, Northern Iberian Peninsula. *Acta Theriologica* 52: 27-36.
- Zabala J, Zuberogoitia I & González-Oreja JA (2010) Estimating costs and outcomes of invasive American mink (*Neovison vison*) management in continental areas: a framework for evidence based control and eradication. *Biological Invasions* 12(9): 2999-3012.
- Zuberogoitia I, Zabala J & Martínez JA (2006) Diurnal activity and observations of the hunting and ranging behaviour of the American mink (*Mustela vison*). *Mammalia* 70: 310-312.
- Zuberogitia I, González-Oreja JA, Zabala J & Rodríguez-Refojos C (2010) Assessing the control/eradication of an invasive species, the American mink, based on field data, how much would it cost? *Biodiversity and Conservation* 19: 1455-1469.



## **CAPÍTULO 1**

Mezcla espacial de linajes mitocondriales y mayor diversidad genética en algunas poblaciones invasoras del visón americano (*Neovison vison*) en comparación con poblaciones nativas.

## **CAPÍTULO 2**

Cambio de nicho trófico de una especie nativa y una invasora durante un proceso de invasión: el caso del visón europeo y americano.

## **CAPÍTULO 3**

Las probabilidades de detección de la nutria eurasiática nativa y el visón americano invasor son independientes de su coocurrencia.

## **CAPÍTULO 4**

Bajas tasas de supervivencia de la población remanente de visón europeo en peligro de extinción (*Mustela lutreola*) en el norte de España

