



# TRABAJO FIN DE GRADO

## Grado en Ciencias Ambientales

Facultad de Biología – Universidad de Murcia

### Análisis de la dieta de la Nutria (*Lutra lutra*, Linnaeus 1758) en los tramos medio-bajo del Rio Segura y su comparación con la dieta del Visón Americano (*Neovison vison*, Schreber 1777)



**Autora: Inmaculada Concepción Soto Otón**  
**Curso 2017-2018**



Dña. Inmaculada Concepción Soto Otón, con DNI nº: 23312438Y estudiante del Grado de Ciencias Ambientales de la Facultad de Biología de la Universidad de Murcia, **DECLARO:**

Que el Trabajo de Fin de Grado que presento para su exposición y defensa titulado “Análisis de la dieta de la Nutria (*Lutra lutra*, Linnaeus 1758) en los tramos medio bajo Rio Segura y su comparación con la dieta de Visón Americano (*Neovison vison*, Schreber 1777)” y cuyo/s tutor/es son

D. Francisco Robledano-Aymerich

D. Ettore Emanuele Dettori

**es original y que todas las fuentes utilizadas para su realización han sido debidamente citadas en el mismo.**

Murcia, a 20 de Julio de 2018.

Firma



*Declaración de originalidad del Trabajo Fin de Grado*

## Tabla de contenido

1. Resumen/Abstract .....	4
2. Introducción.....	5
3. Objetivos .....	9
4. Material y Métodos .....	10
4.1 Área de estudio .....	10
4.2 Recogida de muestras en el campo .....	11
4.3 Trabajo de laboratorio .....	12
4.3.1 Extracción de ADN y metodo PCR-RFLP .....	13
4.3.2 Análisis de los componentes de la dieta. ....	13
4.4 Tratamiento de los datos .....	16
5. Resultados.....	17
6. Discusión .....	23
7. Conclusiones .....	30
8. Referencias.....	31
9. Anexos.....	34
Anexo I – Protocolo de análisis genético.....	34
Anexo II – Protocolo de disección .....	39
Anexo III – Tablas de composición de la dieta .....	41

## 1. Resumen/Abstract

Se evalúa la distribución, el uso del hábitat y la dieta de la nutria (*Lutra lutra*) en el río Segura y sus afluentes de la Región de Murcia a partir de datos obtenidos dentro del proyecto LIFE13BIO/ES/001407 RIPISILVANATURA. En los últimos 30 años, *Lutra lutra* ha ampliado su rango gracias a la mejora de la calidad del agua en la cuenca del río Segura. Se han muestreado (1-10 veces) 30 tramos (longitud media  $\pm$  DE =  $0,5 \pm 0,3$  km) entre abril de 2016 y junio de 2018, registrando la presencia de la nutria a partir de sus excrementos, cubriendo una sección de 109,78 km de longitud del río. La presencia de nutria se detectó en 27 tramos (90%), mientras que el porcentaje de encuestas positivas fue del 35%. Se recolectó un total de 585 muestras fecales con más de 12 tipos de presas determinadas. El número promedio de rastros por 100 m<sup>2</sup> fue 3,72. Los peces y crustáceos formaron la mayor parte de la dieta de la nutria (frecuencia de ocurrencia > 50% cada uno), con el cangrejo rojo invasor (*Procambarus clarkii*) como la presa invertebrada dominante y con el barbo (*Luciobarbus sclateri*) como presa preferida. Se compara la dieta de la nutria con otros datos de la alimentación de esta especie en España, habiendo menor presencia de peces en el Sur. Y finalmente, se compara la dieta de la nutria con la del Visón Americano (*Neovison vison*), analizando su simpatria. El visón con gran adaptabilidad ecológica, varía su dieta estacionalmente según su abundancia, con el cangrejo rojo como presa principal.

The distribution, habitat use and diet of otter (*Lutra lutra*) has been evaluated in the Segura River and its tributaries from Murcia Region within the project LIFE13BIO/ES/001407 RIPISILVANATURA. In the last 30 years, *Lutra lutra* has expanded its range associated to the improvement of water quality in the Segura river basin. We surveyed (1-10 times) 30 stretches (mean length  $\pm$  SD =  $0.5 \pm 0.3$  km) between April 2016 and June 2018, recording the visible spraints of the otter, covering a 109.78 km long section of the river. Otter presence was detected in 27 stretches (90%), while the percentage of positive surveys was 35%. A total of 585 spraints were collected with more of 12 types of prey determined. Mean number of spraints per 100 m was 3.72. Fish and Crustaceans formed the bulk of otter diet (frequency of occurrence > 50% each), with invasive crayfish *Procambarus clarkii* as the dominant invertebrate prey and with the barbel (*Luciobarbus sclateri*) as preferred prey. The diet of the otter is compared with other otter data in Spain, with a lower presence of fish in the South. And finally, the diet of the otter is compared with that of the American mink (*Neovison vison*), analyzing its sympatry. The mink with great ecological adaptability varies its diet seasonally according to its abundance, with the crayfish as its main prey.

## 2. Introducción

La nutria (*Lutra lutra*, Linnaeus 1758) es una especie de la familia de los mustélidos, carnívora y de distribución euroasiática. Es una de las especies que mayor retroceso ha sufrido en la península ibérica en las últimas décadas. Las poblaciones más favorables se localizan en la mitad oeste de la península, desde Galicia a Extremadura. En la zona mediterránea la nutria aparece más dispersa, sobretudo en el sudeste, estando ausente en la mayoría de ríos de la zona, principalmente en los de carácter temporal, los asociados a cuencas de agricultura intensiva y próximos a zonas urbanas o turísticas. Las presiones antrópicas han evidenciado la reducción de las poblaciones de nutria, tanto a nivel regional, nacional como continental (Ruiz-Olmo, 2017).

Con el objetivo de aumentar los recursos disponibles para la agricultura y el control de avenidas, el Río Segura presenta abundantes obras hidráulicas de encauzamiento, desvío y almacenamiento, puesto que es uno de los ríos más regulados de Europa. Estas alteraciones en el medio llevan a la destrucción y fragmentación del hábitat de ribera disponible para la nutria (Pastor et al., 2008).

Durante los primeros sondeos en España (Delibes, 1990; Ruiz-Olmo & Delibes, 1998), la especie se presentaba únicamente en la cabecera de la Cuenca del Segura (Figura 1). No es hasta el año 2010, cuando la nutria con su expansión, alcanza la ciudad de Murcia. Y en agosto de 2013, la Asociación de Naturalistas del Sureste (ANSE), que lleva un seguimiento de la especie, observa rastros de la especie en Orihuela, correspondiente a la zona del bajo Segura (Direcció General de Medi Natural i d'Avaluació Ambiental, 2016).



**Figura 1.** Estaciones positivas en el 3º sondeo nacional de nutria en España (López & Jimenez, 2008).

A pesar de haber aumentado su área de distribución de manera considerable, en la actualidad, esta especie aún está amenazada por sus bajas densidades. (Galián et al., 2011). Está incluida en la categoría de “en peligro de extinción”, dentro del Catálogo de Especies Amenazadas de la Región de Murcia, creado por la Ley 7/1995 de 21 de abril, de la Fauna Silvestre de la Región de Murcia, y dentro del Listado de Especies Silvestres en Régimen de Protección Especial y del Catálogo Español de Especies Amenazadas, de acuerdo con el Real Decreto 139/2011, de 4 de Febrero. Finalmente, con el Decreto nº 59/2016 de 22 de junio, se aprueba el Plan de recuperación de la Nutria en la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia (BORM, 2016).

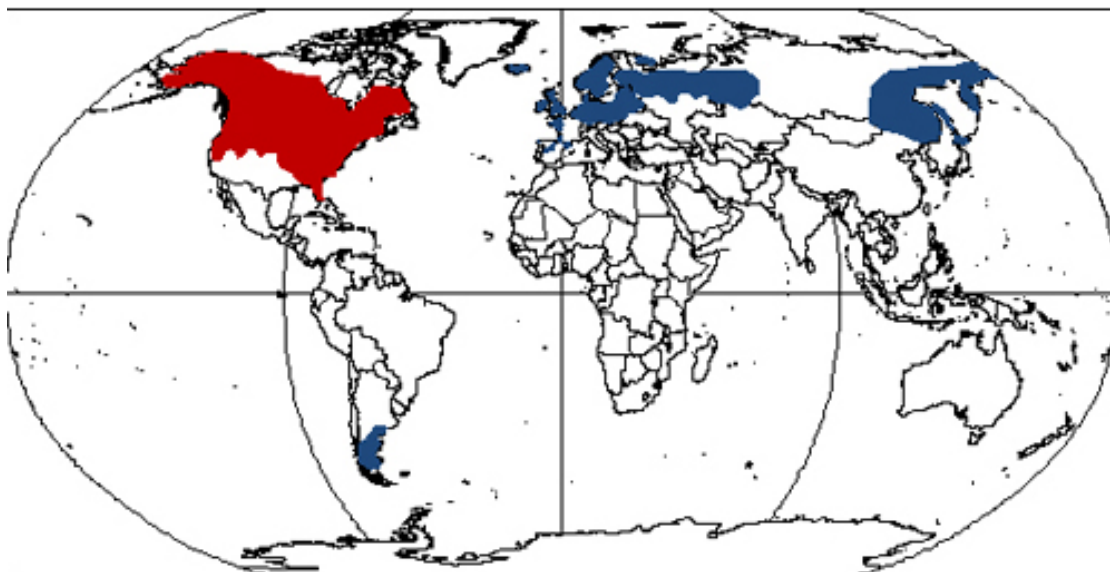
Este Plan de Recuperación, pionero en la Región, incluye medidas como un estudio para la caracterización genética y poblacional de la nutria, que pretenden mitigar la situación de amenaza que presenta, basado en técnicas moleculares. Es un trabajo imprescindible para la correcta gestión y conservación de la especie, que se encuentra repartida por el río Segura y sus afluentes: Quípar, Argos y Alharabe o Benamor (Galián et al., 2011).

El visón americano (*Neovison vison*, Schreber 1777) es un mustélido original de Norteamérica (Figura 2). Es un carnívoro de, tamaño medio, más pequeño que una nutria. El visón se podrían llegar a confundir con otros mustélidos, por sus hábitos semiacuáticos, además de con el visón europeo (*Mustela lutreola*), con el turón (*Mustela putorius*) y con

la nutria, fundamentalmente si se observan en el agua. Aunque podrían llegar a distinguirse, pues la nutria nada dejando la cabeza únicamente por fuera y el visón sumerge el cuerpo entero (Melero & Palazón, 2017).

El visón americano fue importado desde Norteamérica a diferentes países europeos en los años 20 del pasado siglo para las industrias peleteras. Estas granjas llegaron a España a finales de los 50, donde llegaron en la década de los 60 se produjeron fugas que permitieron a la especie expandirse por el centro y noroeste de la península. Se ha convertido en una especie exótica invasora tras formarse núcleos de poblaciones cada vez mayores, perfectamente aclimatados e independientes. Al encontrarse dentro del Real Decreto 630/2013, de 2 de agosto por el que se regula el Catálogo Español de Especies Exóticas Invasoras y contar con una Estrategia de Gestión, Control y Erradicación de la especie, el visón americano no se puede poseer, soltar en la naturaleza, ni ser comercializado.

En España, las granjas peleteras se reparten por la mitad norte, Segovia y Pontevedra fueron las primeras en iniciarse en esta industria, y rápidamente se extendió a otras Comunidades Autónomas como Cataluña, Cantabria, Madrid, Castilla y León, Aragón, la Comunidad Valenciana y el País Vasco. España contaba con 214 granjas en 1992, en el 2011 quedaban 37. El número de granjas activas ha disminuido considerablemente debido a la regresión del mercado peletero, esto también ha influido en la desaparición de granjas ilegales que surgieron durante el “boom” de la industria.



**Figura 2.** Mapa de la distribución original (en rojo) e introducida (en azul) del visón americano en el mundo. Elaboración: Melero, Y. & Palazón, S. (2017).

Su rápida expansión, aunque aún ausente en la Región de Murcia, se debe a que se trata de un depredador generalista y oportunista, por su capacidad de adaptación en todo tipo de ecosistemas. Esto puede llegar a causar grandes impactos, afectando a pequeños carnívoros que compartan el mismo nicho ecológico como pasa con la nutria, la gineta (*Genetta genetta*), el turón (*Mustela putorius*) o la garduña (*Martes foina*). Para el visón europeo, se trata de una amenaza de primer orden, ya que compiten activamente y es su principal causa de extinción.

La presencia de la nutria al igual que la ausencia de agua, es una causa que ralentiza la expansión del visón americano, mayoritariamente en los ecosistemas que mejor se conservan (Bravo & Bueno, 1999). Al contrario, donde la nutria está ausente es cuando el visón se expande rápidamente. Entre otros factores, la disponibilidad de alimento es una de las variables que pueden determinar la presencia de nutria en los sistemas fluviales. Por ello es importante conocer la composición de su dieta como base para su conservación, y compararla con la de su principal competidor potencial que, al ser especies simpátricas, viven en la misma área geográfica. Ambas especies, tienden a tener un comportamiento nocturno y crepuscular, con largos recorridos diarios y solitarios y territoriales (Ruiz-Olmo J. , 2017) (Melero & Palazón, 2017).

Al tratarse la nutria de una especie protegida, su estudio requiere un monitoreo no invasivo. Se trata de investigaciones basadas en la recolección de muestras biológicas (excrementos, pelos u otros rastros de presencia) sin necesidad de molestar, capturar o cazar ejemplares. A partir de estas muestras se realizan análisis genéticos para confirmar la identidad de la especie (existe una cierta posibilidad de confusión con otros carnívoros si la identificación es estrictamente morfológica), y se estudia la composición de la dieta.



### **3. Objetivos**

La finalidad de este trabajo es describir y clasificar la dieta de la Nutria dependiendo de la ubicación de las muestras recolectadas y compararla con la dieta del Visón Americano. Esta comparación se realiza en el marco de una estrategia de prevención ante la potencial expansión en el Río Segura de esta especie exótica invasora.

Este objetivo general se desglosa en los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar la composición de dieta de la nutria en el Río Segura a su paso por la Región de Murcia y analizar su variación espacial y temporal.
2. Comparar la dieta de la nutria con la del Visón Americano en España.
3. Evaluar el efecto potencial del Visón Americano sobre la biodiversidad de los ecosistemas de ribera del Río Segura, en función de su dieta y de la simpatria con la Nutria.

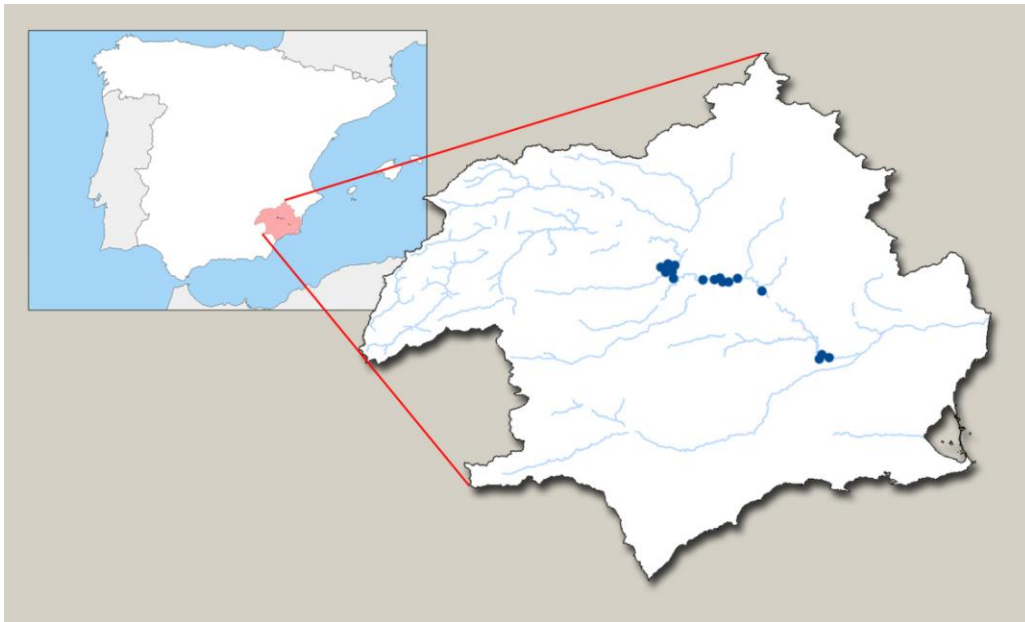
## **4. Material y Métodos**

Esta línea de investigación ha sido desarrollada experimentalmente con los datos del Río Segura, con salidas al campo, trabajo en el laboratorio y tratamiento de los datos. Mientras que otros datos de la península ibérica han sido recopilados mediante un trabajo de investigación bibliográfica, tratando estudios y publicaciones sobre la dieta tanto del Visón Americano como de la Nutria en España y Portugal.

### **4.1 Área de estudio**

La zona de estudio se encuentra dentro de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, situada al sureste de la Península Ibérica. En la cuenca del Río Segura, situada en el sureste de la Península Ibérica, con una superficie aproximada de 18879 km<sup>2</sup>, se ha llevado a cabo un muestreo en los tramos medio-bajo del río. Se han tomado datos desde el límite con Castilla-La Mancha (términos municipales de Moratalla y Calasparra,) pasando por varios tramos del río de la zona media (Cieza, Abarán, Ulea), hasta la vega baja, la comarca denominada de la Huerta de Murcia que comprende las tierras que se riegan con el agua del río Segura y sus canalizaciones desde la presa llamada Contraparada hasta la estatua de la Sardina en la ciudad de Murcia. (Figura 3).

El territorio pertenece a la unidad geológico-estructural de las Sierras Béticas, con un clima mediterráneo, es una de las regiones más áridas de Europa, caracterizada por inviernos suaves, veranos cálidos, precipitaciones escasas y variables, con menos de 350 mm anuales, y una amplitud térmica moderada. Las largas sequías hacen que este territorio sea un semidesierto climático y hacia el interior de la región el clima se vuelve más continental, aumentando moderadamente las precipitaciones hasta 350-400 mm (Sanchez & Carmona, 2006).



**Figura 3.** Área de estudio: la cuenca del Río Segura. Elaboración: (Dettori, et al., 2018).

#### 4.2 Recogida de muestras en el campo

La actividad de marcamiento de la nutria, el hábitat y la calidad medioambiental de los transectos, se ha llevado a cabo usando la ficha de Prigioni (1997). Desde abril de 2016 hasta marzo de 2018, se han monitoreado 30 estaciones de muestreo (longitud media  $\pm$  DE =  $0.5 \pm 0.3$  km) en el río Segura y sus afluentes; la presencia de nutria se ha registrado en 27 transectos (90%). Cada estación fue visitada de 1 a 10 veces usando el "método estándar" (Reuther et al., 2000), cubriendo un tramo de 109.78 km de largo del río; el intervalo entre dos visitas consecutivas varió de 8 a 18 días. Cada muestreo ha sido recogido en el cuaderno de campo con su código, fecha de recogida y coordenadas geográficas. Finalmente, estas se guardaban en el congelador a  $-20^{\circ}\text{C}$  para los análisis genéticos posteriores. (Dettori, 2012).

Este trabajo forma parte de una investigación más amplia sobre la ecología de la nutria, y se basa en 173 muestras analizadas de 575. En el período de Abril de 2016 hasta Marzo de 2018, se ha realizado la búsqueda de heces de Nutria en transectos de longitud variable, desarrollándose a lo largo de terrazas fluviales, ambas las riberas del río Segura y sus afluentes, márgenes de campos cultivados, canales de riego y acequias. Los transectos de los tramos fluviales más altos (aguas arriba de Abarán) se han establecido, sobre la base de la implementación de dos proyectos europeos coordinados por la Confederación Hidrográfica del Segura (LIFE13BIO/ES/001407 RIPISILVANATURA y LIFE12 ENV/ES/1140 RIVERLINK), para incluir los diversos tipos de hábitats presentes

(principalmente bosques y cultivos) y proporcionar una imagen lo más representativa posible del paisaje circundante. Mientras que los transectos situados aguas abajo (Ulea, Ojós y la comarca de la Huerta de Murcia), han sido elegidos por su elevada presión antrópica y por estar fuera de los citados proyectos europeos.

La atribución de las heces, se ha llevado a cabo directamente en el campo gracias algunos criterios morfológicos únicos de la nutria, como la presencia de rastros visibles de raspos de peces, restos de cangrejo y el característico olor a lino, junto con la experiencia adquirida en muestreos anteriores. Es importante decir que en el caso de especies simpátricas los excrementos se pueden confundir fácilmente (Davison et al., 2002), pero en el caso del Río Segura no estando presente ningún otro competidor directo de la Nutria, no es imprescindible tener en cuenta este factor. No obstante, en el marco de la investigación más amplia sobre la nutria de la que forman parte las muestras utilizadas (ver apartado 4.2), ha sido posible confirmar su identidad mediante las técnicas genéticas descritas en el Anexo I.

La recolección de heces se ha llevado a cabo prestando especial atención a evitar el contacto entre material biológico procedente de agentes ajenos que podían contaminar las muestras, esto para evitar comprometer y alterar los análisis genéticos posteriores.

El manejo de las heces se ha llevado a cabo usando el método descrito anteriormente, o sea, las heces han sido georreferenciadas y almacenadas a -20 °C para análisis genéticos posteriores. Para la digitalización de los transectos se ha utilizado el software Qgis 2.18.

Finalmente para cada transecto se ha recopilado una ficha técnica (Prigioni, 1997) donde se recogían los datos ecológicos de cada transecto midiendo varios parámetros de tipo cualitativo (velocidad del agua, turbidez del agua, superficie de la vegetación riparia, anchura de la lámina de agua, etc), datos cuantitativos (uso de los bancos, rastros de contaminación, uso de la masa de agua, fondo, etc) y los sitios de sprinting.

### **4.3 Trabajo de laboratorio**

Posteriormente al trabajo de campo, todas las muestras recogidas se han llevado al laboratorio de genética donde, antes de su tratamiento, han sido guardadas en etanol al 96% a -20°C.

En el Laboratorio se ha procedido por dos fases:

1. Extracción del ADN y su procesamiento al fin de detectar el polimorfismo y el sexo de las Nutrias.
2. Análisis de la dieta en todas sus componentes y creación de una guía de animales que componen la dieta.

#### 4.3.1 Extracción de ADN y metodo PCR-RFLP

Como paso previo se han llevado a cabo las extracciones de ADN de cada muestra para comprobar que se trata de excrementos de nutria y que no haya errores de determinación con otros mustélidos simpátricos; también para la determinación del aplotipo mitocondrial. Por su carácter accesorio para el objetivo principal del trabajo, el protocolo de extracción se expone en el Anexo I, el cual se divide en las siguientes partes:

1. Extracción ADN: FavorPrep™ Stool DNA Isolation Mini Kit (FAVORGEN, 2009).
2. PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).
3. Electroforesis en gel de agarosa y análisis de las imágenes al Transilluminator.
4. Digestión mediante enzimas de restricción (HAEIII y RSAI) de los productos de PCR.
5. Electroforesis en gel de agarosa y análisis de las imágenes al Transilluminator.

#### 4.3.2 Análisis de los componentes de la dieta.

Se ha utilizado el método descrito por (Prigioni, 1997) adaptándolo a la ictiofauna de la cuenca hidrográfica del Segura, es decir que conjuntamente al análisis fecal, se ha recopilado una lista de los peces detectados en el Río Segura (Oliva-Paterna et. al, 2014). Por su carácter accesorio para el objetivo principal del trabajo, el protocolo de disección de animales se expone en el Anexo II.

Las especies que se han podido estudiar con precisión han sido de la familia de los ciprínidos:

- Barbo Gitano (*Luciobarbus sclateri*) (Figura 4), Gobio (*Gobio lozanoi*) (Figura 5), Boga del Tajo (*Pseudochondrostoma polylepis*), Carpa (*Ciprinus carpio*);

de los centrarquidos:

- Perca Americana o Black bass (*Micropterus salmoides*), Perca sol (*Leponis gibbosus*);

de los pércidos:

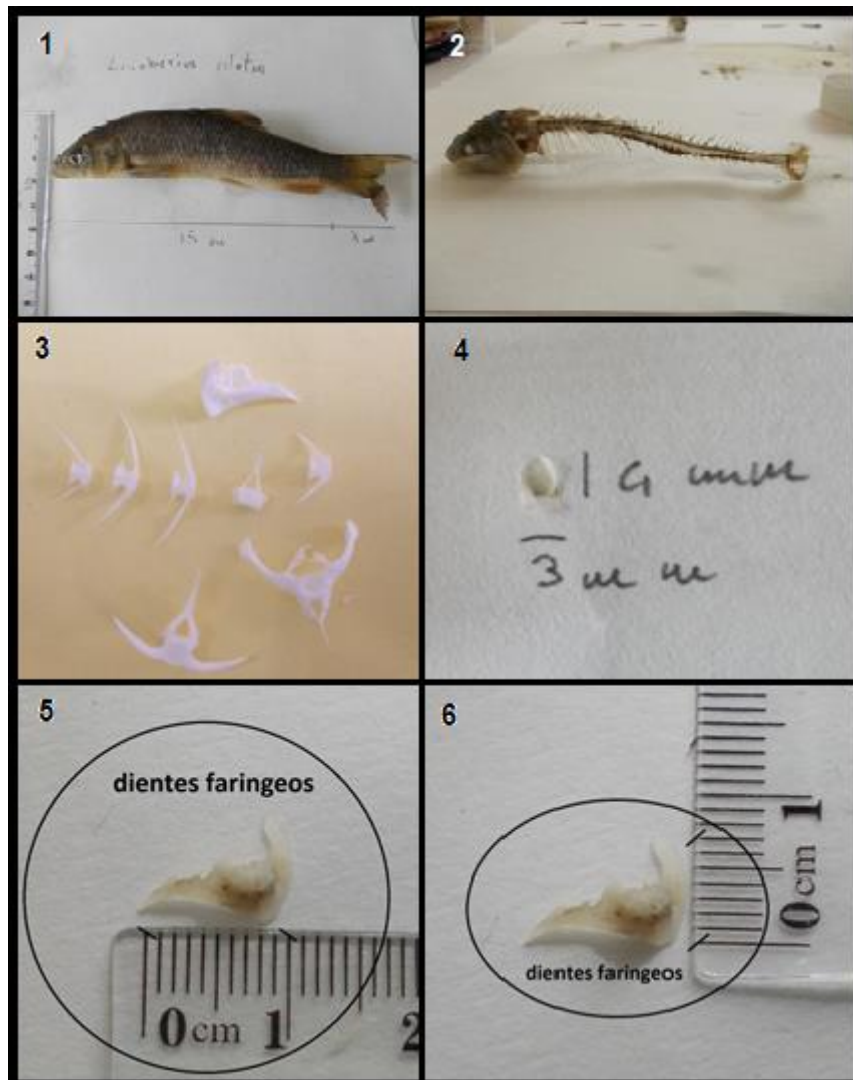
- Lucioperca (*Sander lucioperca*);

de los esócidos:

- Lucio europeo (*Esox lucius*);

y finalmente, el:

- Cangrejo de río americano (*Procambarus clarkii*).



**Figura 4.** Disección de *Luciobarbus sclateri*: (1) medidas, (2) esqueleto, (3) vértebras y diente faríngeo (DF), (4) medidas de escama, (5) largo de DF, (6) ancho de DF.



**Figura 5.** Disección de *Gobio lozanoi*: (1) medidas, (2) esqueleto, (3) largo del esqueleto, (4) largo de vértebra, (5) ancho diente Faríngeo (DF), (6) largo DF.

La identificación de las presas se ha basado en la limpieza de excrementos, determinando y clasificando el contenido de las muestras.

La primera acción ha sido desbastar bajo la acción de un grifo, posteriormente cada excremento se ha remojado durante 24 horas en una solución de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 33% para luego, ser tamizado mediante un colador con mallas de 0,5 mm. Los restos no digeridos, como vértebras, mandíbulas, dientes faríngeos, escamas y exoesqueletos se se han clasificado utilizando colecciones personales y las claves dicotómicas de Prigioni (1997).

Cada muestra limpiada y secada se ha observado en el microscopio para la recopilación de nuestra base de datos, que se ha comparado con las colecciones de restos del departamento y con las claves dicotómicas existentes, para una correcta interpretación.

#### 4.4 Tratamiento de los datos

El análisis estadístico se ha realizado mediante el uso de hojas de cálculo Microsoft Excel y del software Rstudio, donde se han procesado los datos de las 173 muestras recogidas. Los resultados de la dieta se han expresado como porcentaje de frecuencia de ocurrencia [ $FO\% = (\text{número de veces que aparece la presa en las muestras} / \text{número total de muestras examinadas}) \times 100$ ], porcentaje de frecuencia relativa de ocurrencia [ $FRO\% = (\text{número de veces que aparece la presa en las muestras} / \text{total de ocurrencia de todas las presas en las muestras}) \times 100$ ], porcentaje de volumen estimado [ $V\% = (\text{volumen total estimado de cada alimento según ingerido} / \text{número de veces que aparece la presa en las muestras}) \times 100$ ] y porcentaje volumen medio [ $Vm\% = (\text{volumen total estimado de cada alimento ingerido} / \text{número total heces examinadas}) \times 100$ ]. Las presas que se han determinado corresponden con crustáceos (*Procambarus clarkii*), peces (*Cyprinus carpio*, *Luciobarbus sclateri*, *Gobio lozanoi*, *Pseudochondrostoma polylepis*, *Sander lucioperca*), aves (*Gallinula chloropus* y *Anas platyrhynchos*), anfibios (*Pelophylax perezii*), reptiles (*Natrix maura*), roedores (Fam. Muridae), insectos (Ord. Coleoptera), moluscos (Clas. Gastropoda) y vegetales (restos indeterminados).

Tras un análisis de dieta en una escala anual, se ha repartido el estudio en dos periodos estacionales: Otoño-Invierno (meses que van de octubre a marzo, inclusive) y Primavera-Verano (agrupa los meses que van desde abril hasta septiembre incluido), calculando los índices de abundancia para cada muestra fecal, considerando el número total y el volumen de cada tipo de presa de acuerdo con el método descrito por Kruuk y Parish (1981).



## 5 Resultados

Con un total de 173 muestras que se recolectaron en 30 estaciones de muestreo, se ha estimado la composición de la dieta de la nutria en el Río Segura, calculando las frecuencias de ocurrencia, las frecuencias relativas, los volúmenes y volúmenes medios. Los datos se recogen en las tablas del Anexo II, y se sintetizan gráficamente en las figuras que acompañan a este apartado.

En la Figura 6, obtenida a partir de los datos de la Tabla 1, se muestra la dieta anual de la nutria en el Río Segura. 103 veces se ha contado la aparición de *Procambarus clarkii* de las 173 muestras, eso supone un 59,5 (FO%) de frecuencia de ocurrencia, un 64,85 (VO%) de volumen y de volumen medio un 38,61 (Vm%). Le siguen en importancia *Luciobarbus sclateri* y *Sander lucioperca*, con un 35,84% de FO% y 24,3% de Vm y con un 22,54% de FO y 17,69% de Vm, respectivamente. Aunque, con el volumen, como se visualiza en la gráfica, en el caso del barbo es menor ( $V\% = 67,82$ ) que el de la perca ( $V\% = 78,46$ ). El volumen de la perca es más alto pero al haber aparecido casi un tercio de veces más el barbo, su volumen medio al final será mayor.

Las presas que se han visto hasta ahora son las presas que dominan, abarcan el 80,61% del volumen medio total de la dieta anual de la nutria en el Río Segura. Pero también están presentes, aunque en menor medida: *Gobio lozanoi* (FO% = 1,7, V% = 81,7), *Sander lucioperca*, *Pseudochondrostoma polylepis* (FO% = 5,2, V% = 66,7), *Gallinula chloropus* (FO% = 5,2, V% = 47,2), *Pelophylax perezi* (FO% = 15, V% = 18,9) y Fam. Muridae (FO% = 8,6, V% = 24). Finalmente, en escasas apariciones tenemos: *Natrix maura*, Orden Coleoptera, materia vegetal.

La Figura 7, representa la dieta anual de la nutria en el Río Segura, igual que en la Figura 6, pero en este se analizan de forma general los grupos principales de presas. En esta se distingue el grupo de peces, que en total aparecen 112 veces de las 173 muestras recogidas. Este grupo presenta una frecuencia de ocurrencia de 64,74%, un volumen del 77,05% y un volumen medio del 49,88%. Aquí se puede observar como el grupo de peces y los crustáceos forman el mayor volumen de la dieta ( $Vm\% = 88,5$ ).

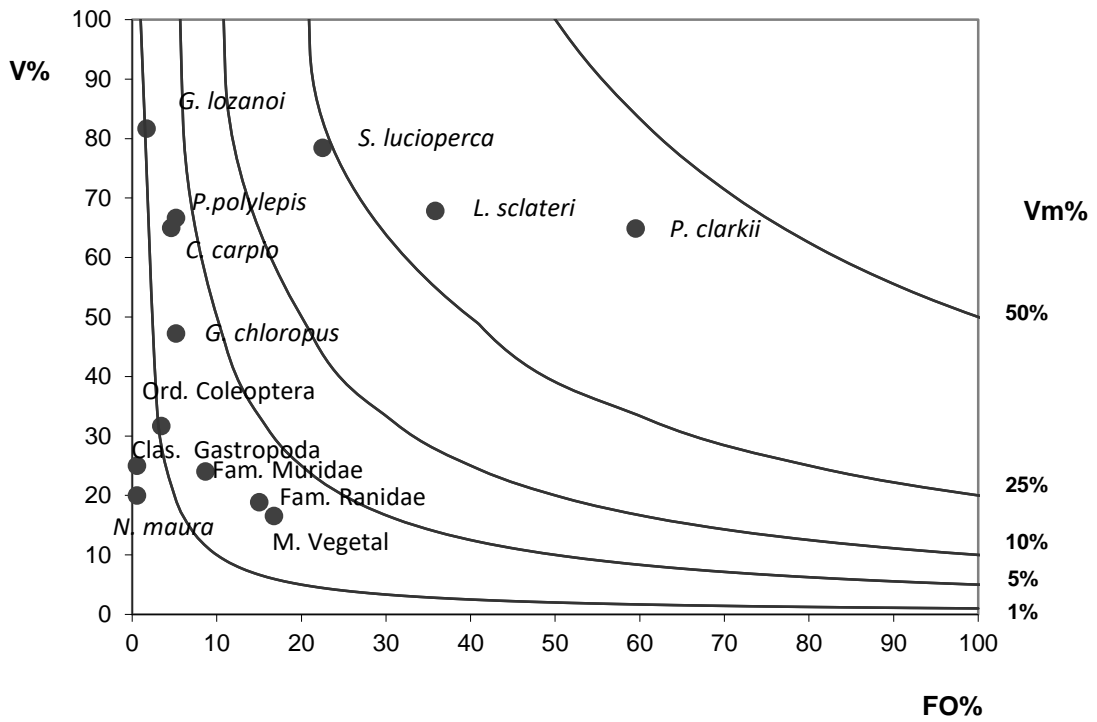


Figura 6. Gráfico de la dieta anual de la nutria en el Río Segura.

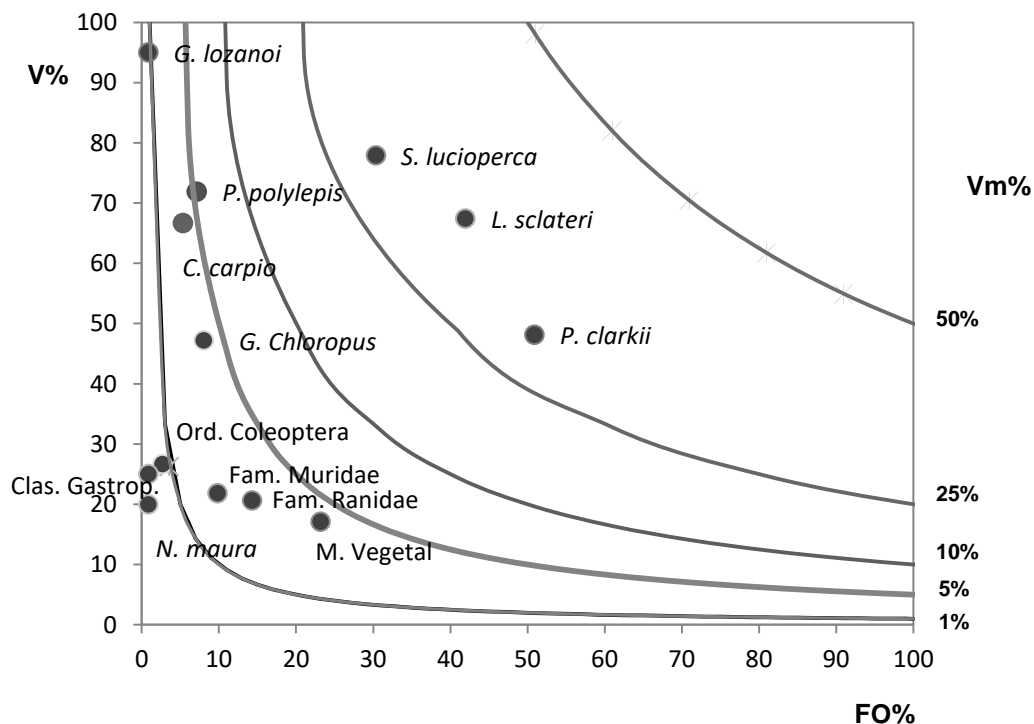


Figura 7. Gráfico de la dieta anual de la nutria en el Río Segura (principales grupos de presas).

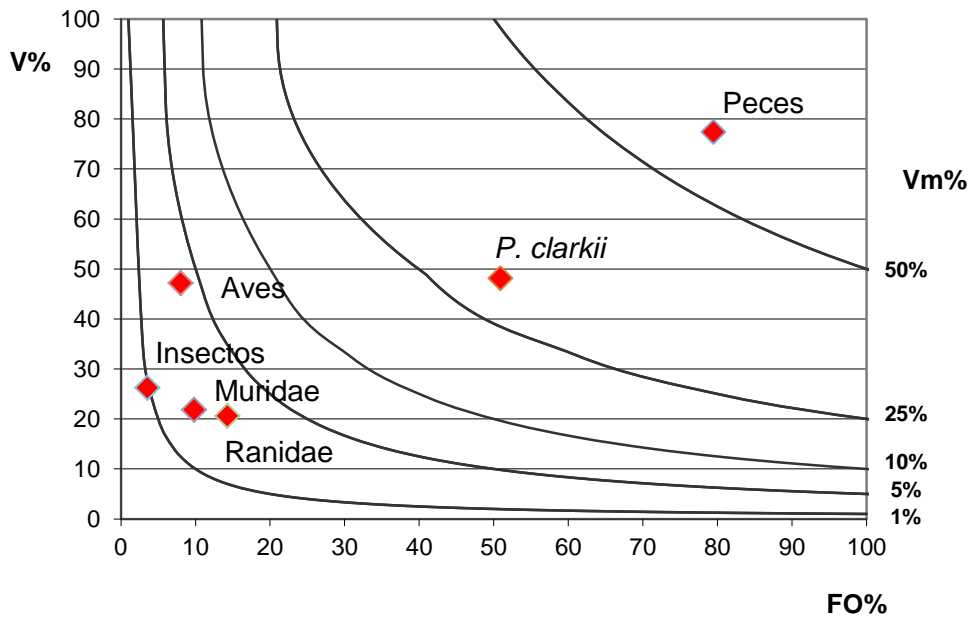
En la Tabla 2 y la Tabla 3, aparece la composición de la dieta de la nutria presente en el Río Segura, pero esta vez, separada por temporadas; otoño-invierno y primavera-verano, respectivamente. A partir de estas tablas se obtienen las gráficas donde se visualiza la distribución de la dieta de la nutria en función de su frecuencia y su volumen, según la época del año.

En la temporada fría (otoño-invierno), se observa en la Figura 8 que, el *Luciobarbus sclateri* (FO% = 42, V% = 67,5 y Vm% = 28,3) es la presa más abundante, seguida de *Procambarus clarkii* (FO% = 50,9, V% = 48,2 y Vm% = 24,5) y *Sander lucioperca* (FO% = 30,4, V% = 77,9 y Vm% = 23,7).

De manera general, el grupo de peces se diferencia del resto con una FO% de 79,5, un V% de 77,4 y un Vm% de 61,5. De las 112 muestras que se recogieron en la temporada de otoño-invierno, en 89 muestras aparecieron peces, 47 de ellas eran barbos y 34 percas. Seguidamente, el cangrejo estaba presente en 57 muestras (Figura 9).



**Figura 8.** Gráfico de la dieta de la nutria en otoño-invierno en el Río Segura.



**Figura 9.** Gráfico de la dieta de la nutria en otoño-invierno en el Río Segura (principales grupos de presas).

En la temporada cálida (primavera-verano), se observa en la Figura 10 que, el *Procambarus clarkii* (FO% = 75,4, V% = 85,5 y Vm% = 64,5) es la presa más abundante con diferencia más que apreciable, seguida de *Luciobarbus sclateri* (FO% = 24,6, V% = 69 y Vm% = 17) y *Sander lucioperca* (FO% = 8,2, V% = 82 y Vm% = 6,7).

De manera general (Figura 11), el grupo de peces aumenta y alcanza una FO% de 37,7, un V% de 75,7 y un Vm% de 28,5. Sigue siendo mucho mayor la presencia y volumen de cangrejo en esta temporada que del resto de presas. De las 61 muestras que se recogieron en la temporada de primavera-verano, fueron presenciados en 46 muestras cangrejo. Seguidamente, se encontraban peces que estaban presentes en 23, 15 de ellas eran barbos y 5 percas.

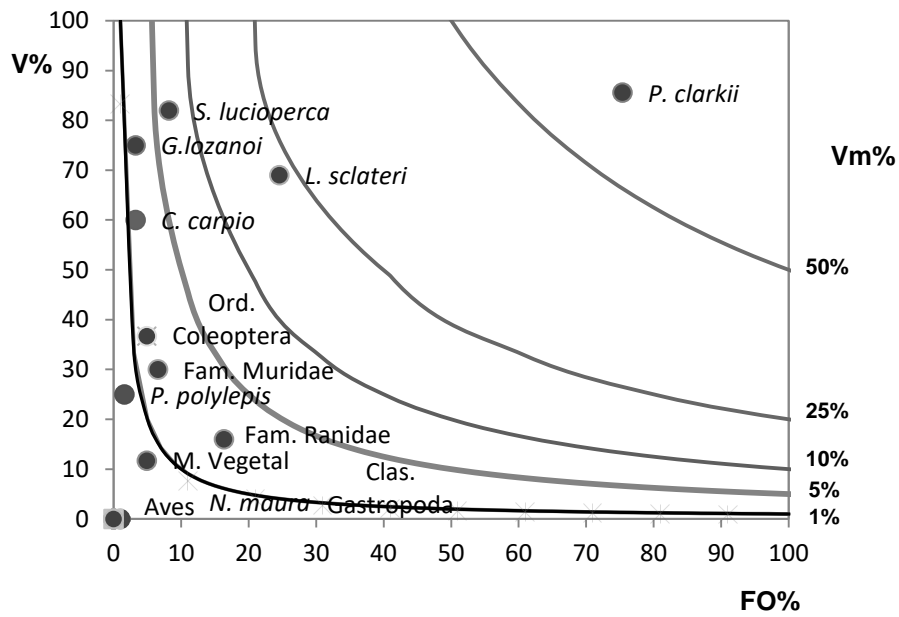


Figura 10. Gráfico de la dieta de la nutria en primavera-verano en el Río Segura.

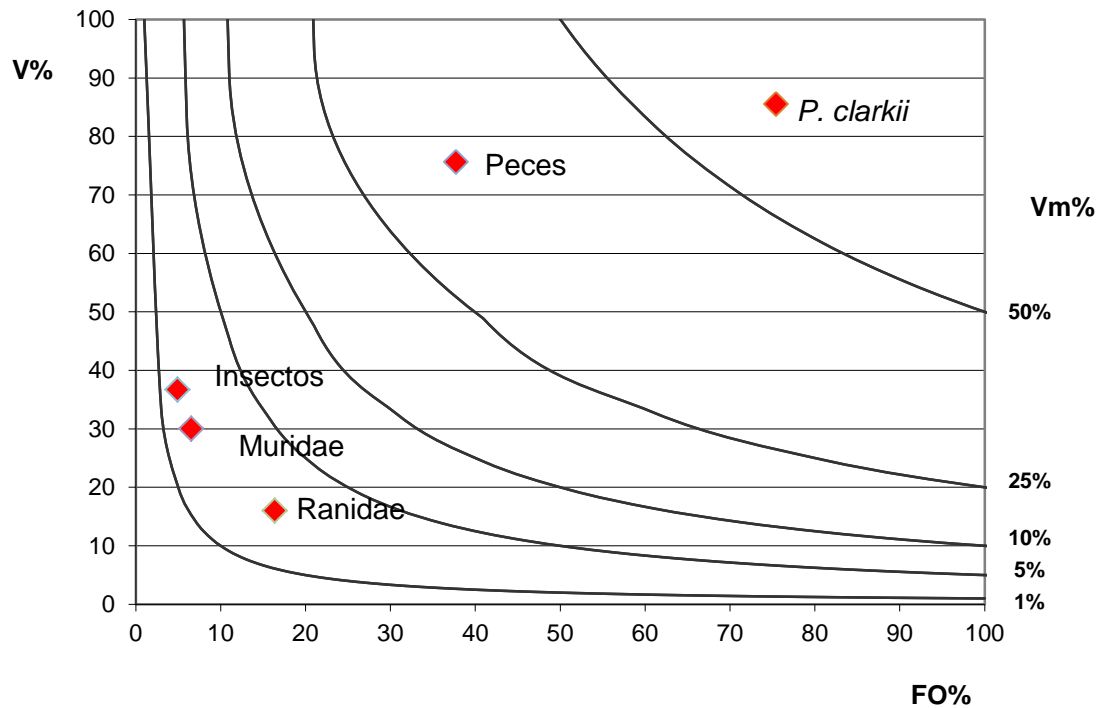


Figura 11. Gráfico de la dieta de la nutria en primavera-verano en el Río Segura (principales grupos de presas).

La Tabla presenta la prueba de Chi<sup>2</sup>, de la cual se desprende que efectivamente la nutria come significativamente más cangrejo (*Procambarus clarkii*) en la temporada de primavera-verano, y más peces, en especial barbo (*Luciobarbus sclateri*) y perca (*Sander lucioperca*), en la temporada de otoño-invierno.

**Tabla 4.** Prueba de Chi cuadrado en las dos temporadas.

	Otoño- Invierno	Primavera- Verano	chi <sup>2</sup>	p	Corrección Bonferroni
<i>Procambarus clarkii</i>	57	46	9,853547	0,001695	<0.001 ok
Peces	89	23	30,16851	3,96E-08	<0.001 ok
<i>Cyprinus carpio</i>	6	2	0,386813	0,533979	
<i>Luciobarbus sclateri</i>	47	15	5,184239	0,022793	<0.05 ok
<i>Gobio lozanoi</i>	1	2	1,319178	0,250740	
<i>Pseudochondrostoma polylepis</i>	8	1	2,425423	0,119381	
<i>Sander lucioperca</i>	34	5	11,106586	0,000860	<0.001 ok
<i>Gallinula chloropus</i>	9	0	5,170786	0,022970	<0.05 ok
Fam. Ranidae	16	10	0,137383	0,710897	
<i>Natrix maura</i>	1	0	0,547809	0,459214	
Fam. Muridae	11	4	0,531324	0,466051	
Materia vegetal	26	3	9,474532	0,002083	<0.01 ok
Ord. Coleoptera	3	3	1,662763	0,197231	
Clas. Gastropoda	1	0	0,547809	0,459214	
	112	61			

## 6. Discusión

En la vertiente mediterránea, la dispersión de la nutria hacia el Este de la península es lenta. En el caso de Murcia, el uso excesivo de los recursos hídricos sería uno de los motivos para la dificultad de expansión de esta, tanto por la escasez natural de aguas superficiales como su gran demanda. La contaminación fluvial, en el caso del río Segura, también condiciona la expansión de la especie con los vertidos locales (Jiménez, et al., 2008). Este estudio, atribuye a la protección y mejora del hábitat, pero sobre todo al descenso de la contaminación de los ríos, la recuperación de la nutria en España. La gran capacidad adaptativa que tiene la especie también ayuda a que pueda vivir en ambientes que tengan poca agua o con sequías estivales, como es el caso del río Segura. El problema llegaría cuando por el aumento de la demanda y la falta de lluvias la sequía pasase a ser crónica.

La nutria prefiere cazar en aguas poco profundas, ya que esta no posee un buen aislamiento térmico proporcionado por el pelaje, no como en el caso de los verdaderos mamíferos acuáticos. El buceo en aguas frías le llevaría a grandes pérdidas de energía por la difícil termorregulación (Amboage Domínguez, 2016).

Como se ha visto en las gráficas, en la temporada de otoño e invierno hay un mayor consumo de peces, aparte de que estos son especialmente abundantes durante esta época porque crían en primavera-verano, esto se puede deber a la menor actividad de los peces por las bajas temperaturas durante esta época y a su condición ectotérmica. Por el contrario, los cangrejos son más activos durante el verano, por lo que están más disponibles y aumenta la abundancia de este tipo de presas en la temporada de primavera y verano (Amboage Domínguez, 2016). La proliferación del cangrejo rojo ha supuesto un impacto positivo para la expansión de la nutria. Es una especie no autóctona e invasora de toda la península cuyo aprovechamiento por la nutria constituye un dilema de conservación (Mendes, et al., 2011), y se requiere una mejor comprensión del grado en que su presencia está afectando la ecología trófica de la nutria.

En las Marismas del Guadalquivir (Tablado et al., 2016), la mayoría de las especies de depredadores (aves y mamíferos) consumieron cangrejo americano, apareciendo en algunos casos en más del 50% de las muestras de su dieta). La abundancia de las especies consumidoras de cangrejo aumentó significativamente en la zona a diferencia de las especies herbívoras locales, y de los mismos depredadores en áreas diferentes de

Europa, que tenían en algunos casos la condición de especie amenazada. En cambio, el cangrejo rojo provoca la desaparición y simplificación de las comunidades de niveles tróficos inferiores (invertebrados, anfibios), depredando sobre ellos o alterando su hábitat. Consideran que el caso del cangrejo rojo americano es el primero en el que una especie exótica puede resultar a la vez beneficiosa, al servir como base alimentaria para especies amenazadas (entre ellas la nutria), y perjudicial porque puede provocar la extinción de niveles tróficos inferiores en los ecosistemas acuáticos que coloniza.

La nutria presenta un espectro trófico amplio, consumiendo peces, cangrejos rojos, anfibios, aves, reptiles, insectos y pequeños mamíferos. Destaca con mayor frecuencia el barbo, la perca, el cangrejo rojo y la rana como presas más abundantes. El Río Segura presenta tramos de fuerte estiaje, sobre todo en verano, además de la demanda de agua para cultivo. Esta inestabilidad hídrica hace que disminuya la presencia de peces, lo que también podría explicar el aumento de consumo de cangrejo rojo (Gallego & Rodríguez, 2016). La inestabilidad de la disponibilidad de los peces hace notoria la gran dependencia de la nutria de presas de distinto ambiente (Prenda et al., 2018).

La nutria se está expandiendo y colonizando los cursos medios y bajos de las cuencas, habitualmente estos suelen ser más productivos y le permiten a esta explotar nuevos recursos (Jiménez et al., 2008). Como se ha explicado en la introducción, no es hasta el año 2010, cuando la nutria alcanza la ciudad de Murcia y en verano de 2013, avistan indicios de ella en Orihuela, correspondiente a la zona del bajo Segura (Direcció General de Medi Natural i d'Avaluació Ambiental, 2016). De las muestras recogidas en la ciudad, la dieta casi en su totalidad se componía de aves, más concretamente *Gallinula chloropus*. Además, estas muestras contenían plástico, clara muestra de la contaminación antrópica que presenta el río en esta zona.

Además, se ha realizado una recopilación de datos de frecuencia y frecuencia relativa de la dieta de la nutria en otras zonas de la Península ibérica, y del visón americano, extraídos de otros artículos, para su comparación con los datos obtenidos en este trabajo y como base para su discusión. Se han recogido los datos para la nutria en el Río Tiétar, perteneciente a la cuenca del Tajo (Bueno, 1996), en la cuenca del Guadiana (Blanco-Garrido et al., 2007), en Algarve, Portugal (Rui Beja, 1990) y en el Río Ebro (Callejo & Delibes, 1987). Y para el visón se recogieron datos en la cuenca del Tajo (Bueno, 1996), en Cataluña (Melero et al., 2008) y en el río Tormes (García-Díaz & Lizana, 2012).



En la Tabla 5 se muestra la comparación de la dieta de la nutria en diferentes localidades de la Península Ibérica. De manera general, se muestra el mismo patrón que en el Río Segura, como primera frecuencia de ocurrencia aparecen los peces, seguidos del cangrejo. Solamente en el Algarve muestra una frecuencia de ocurrencia del 3,5% frente el 59,5% que hay en Murcia. Hay que tener en cuenta que este estudio es del año 1990 y que en Portugal no abundaba el cangrejo rojo en esa zona. Rui Beja, 1990, comenta que es más fácil para la nutria cazar peces en el mar, pero que puede que sea por el menor tamaño y que comparativamente sean menos rentables que los peces de agua dulce.

En el artículo de Blanco-Garrido et al. (2007), comenta que pese al carácter oportunista de la nutria, en la Cuenca del Guadiana mostraron una preferencia clara por el barbo, y que en general, prefieren los ciprínidos a los percídeos, algo que también se confirma en el Río Segura. En el artículo de Callejo (1987), relaciona la existencia de cierta selección que puede presentar la nutria con el tamaño de los peces. Estas preferirían ejemplares grandes en el caso de las pequeñas especies y viceversa en las especies pequeñas. Sin embargo, la nutria actúa como un depredador oportunista, prefiriendo antes que la abundancia, la vulnerabilidad de las presas. Esto explicaría la mayor caza de los peces en invierno por su menor actividad. En la temporada de primavera-verano, la diversidad trófica es mayor, período en el que los mamíferos y otros vertebrados terrestres tienen más importancia en la dieta (Callejo, 1987). En esa época, el cangrejo estudiado era el europeo, *Austropotamobius pallipes*, el cual mostraba un gran declive como consecuencia de la afanomicosis, enfermedad producida por un hongo, afectando así a las poblaciones de nutria.

**Tabla 5.** Comparación de la dieta de la nutria entre la Cuenca del Segura y otras localidades de la Península Ibérica: 1 (Bueno, 1996), 2 (Blanco-Garrido et al., 2007), 3 (Rui Beja, 1990) y 4 (Callejo & Delibes, 1987).

	<b>Nutria (<i>Lutra lutra</i>)</b>									
	<b>Río Segura</b>		<b>1. Río Tietar (Cuenca del Tajo)</b>		<b>2. Cuenca del Guadiana</b>		<b>3. Algarve (Portugal)</b>	<b>4. Río Ebro</b>		
	FO%	FRO%	FO%	FRO%	FO%	FRO%	FO%	FO%	FRO%	
<b><i>Procambarus clarkii</i></b>	59,5	33,1	30,4	15,7	21,5	24,2	3,5	52,0	24,5	
<b>Peces</b>	64,7	36,0	93,5	81,5	62,1	57,8	87,1	85,3	57,0	
<i>Cyprinus carpio</i>	4,6	2,6			0,2	0,3				
<i>Barbus sp.</i>	35,8	19,9			29,5	29,2				
<i>Gobius sp.</i>	1,7	1,0						2,2	1,0	
<i>Pseudochondrostoma polylepis</i>	5,2	2,9								
<i>Sander lucioperca</i>	22,5	12,5								
<b>Aves</b>	5,2	2,9			0,1	0,1	0,3	1,9	1,3	
<i>Gallinula chloropus</i>	5,2	2,9								
<i>Anas platyrhynchos</i>	0,0	0,0								
<b>Anfibios</b>	15,0	8,4	4,4	1,9	12,4	11,9	1,9	0,8	0,5	
<b>Reptiles</b>	0,6	0,3			1,5	2,2	0,5	1,4	0,9	
<b>Mamíferos</b>	8,7	4,8	2,17	0,93	0,1	0,1	0,1	7,6	5,1	
<b>Materia vegetal</b>	16,8	9,3								
<b>Invertebrados</b>	4,0	2,3			1,3	1,6	3,2	0,6	10,7	
<i>Ord. Coleoptera</i>	3,5	1,9								
<i>Clas. Gastropoda</i>	0,6	0,3								
Total presas	173,0		46,0		547,0			367		

Aunque los peces son la principal presa de la nutria, las frecuencias marcan una disminución en las localidades más al sur (Clavero et al., 2003). Comparando estas frecuencias, en el Río Segura presenta una FO de 64,7% y FRO de 36%, en el resto de lugares presentados en la tabla, todas suben del 50% de FRO. Esto conlleva una depredación sobre presas alternativas.

En la tabla 6, finalmente se compara la dieta de la nutria con la del visón americano. De manera general, demuestra que en el caso del visón hay mayor preferencia por el cangrejo americano frente a los peces, por su mayor frecuencia de ocurrencia y frecuencia relativa. Los dos provienen del mismo lugar geográfico, por lo tanto se puede decir que es una de las presas de mayor preferencia para el visón. El Río Tormes está un

poco más al norte que el Río Tiétar, comparando la diferencia de tiempo entre los artículos de Bueno, 1996 y García-Díaz & Lizana, 2012, se ven como las frecuencias relativas de ocurrencia, en el Río Tormes para el año 2012 están a 35,9% en Salamanca y a 63% en Ledesma, estando en el Tajo a 23,38%, esto indica que ha aumentado la preferencia por el cangrejo, teniendo en cuenta la mayor expansión y abundancia en la Península Ibérica que ha presentado con los años el cangrejo. En el caso de los peces, disminuye más aún su frecuencia relativa del casi 20% que tiene el Río Tiétar al 5,7-1,7% que presenta el Río Tormes.

Las frecuencias presentadas en Cataluña, aparte de la clara preferencia del cangrejo (FO% = 86,5 y FRO% = 73,3) a los peces (FO% = 11,7 y FRO% = 9,7), aparece un aumento de las aves (FO% = 6,1 y FRO% = 5,4) con respecto a la nutria en Murcia (FO% = 5,2 y FRO% = 2,9). En el Río Tiétar hay una mayor preferencia de mamíferos (FO% = 52,38 y FRO% = 50,68) en comparación a la nutria en Murcia (FO% = 8,7 y FRO% = 4,8) y en el Río Tiétar (FO% = 2,17 y FRO% = 0,93). Como explican los resultados de Bueno (1996), el visón es capaz de ocupar el nicho de la nutria en aquellas ocasiones en las que la nutria está ausente o se acaba volviendo más terrestre cuando la nutria está presente. El visón presenta una gran adaptabilidad ecológica, en el Río Tiétar se alimenta principalmente de mamíferos, que concuerda con un patrón de reducción de consumo de peces en aquellos lugares en los que coexiste con la nutria.

Según Melero et al. (2008), el cangrejo americano fue la presa principal de visón, pero visto desde la frecuencia relativa de ocurrencia, mientras que el grupo de peces, mamíferos y aves fueron igualmente importantes, al considerar también la biomasa. El comportamiento generalista del visón, les permite variar su dieta estacionalmente según la abundancia de especies, este tiende a alimentarse de presas acuáticas y terrestres, mientras la nutria tiende a tener dietas casi exclusivamente de presas acuáticas.

**Tabla 6.** Comparación de la dieta de la nutria en la Cuenca del Segura con la del visón americano en otras localidades ibéricas: 1 (Bueno, 1996), 2 (Melero et al., 2008), 3 y 4 (García-Díaz & Lizana, 2012).

	<i>Lutra lutra</i>		Visón americano ( <i>Neovison vison</i> )					
	Rio Segura		1. Rio Tiétar (Cuenca del Tajo)		2. Cataluña		3. Salamanca (Río Tormes)	4. Ledesma (Río Tormes)
	FO%	FRO %	FO%	FRO%	FO%	FRO%	FRO%	FRO%
<i>Procambarus clarkii</i>	59,5	33,1	27,0	23,38	86,5	73,3	35,9	63
<b>Peces</b>	64,7	36,0	19,05	19,48	11,7	9,7		
<i>Cyprinus carpio</i>	4,6	2,6						
<i>Barbus sp.</i>	35,8	19,9						
<i>Gobius sp.</i>	1,7	1,0					5,7	1,7
<i>Pseudochondrostoma polylepis</i>	5,2	2,9						
<i>Sander lucioperca</i>	22,5	12,5						
<b>Aves</b>	5,2	2,9	3,17	2,60	6,1	5,4		
<i>Gallinula chloropus</i>	5,2	2,9					0,8	1,7
<i>Anas platyrhynchos</i>	0,0	0,0						
<b>Anfibios</b>	15,0	8,4	4,76	3,90	0,0	0,0		
<b>Reptiles</b>	0,6	0,3					1,4	
<b>Mamíferos</b>	8,7	4,8	52,38	50,65	8,3	8,8		
<b>Materia vegetal</b>	16,8	9,3						
<b>Invertebrados</b>	4,0	2,3	0,0	0,0	1,1	2,4		
<i>Ord. Coleoptera</i>	3,5	1,9						
<i>Clas. Gastropoda</i>	0,6	0,3						
Total presas	173,0		63,0		244,0		121	55

El cangrejo de río representa una fuente constante de alimento disponible durante todo el año y resulta fácil de capturar ya que se mantiene cerca de la orilla. Tiene la desventaja de ser una presa relativamente pequeña, tener un bajo coeficiente de digestibilidad y requerir un largo tiempo de manejo por lo que es una fuente de energía escasa (Melero et al., 2008), pero parece ser suficiente para ser la principal fuente de alimento para el visón.

Las nutrias se encuentran a bajas densidades, esto determina bajos niveles de competencia con el visón que se producen. El visón se expande más rápidamente donde no hay poblaciones de nutrias (Ruiz-Olmo et al., 1997). Según Melero et al. (2008), las nutrias probablemente no sean competidoras importantes para la población de visones, por el buen estado de población del visón en Cataluña. Esto se podría aplicar en un futuro, si las poblaciones de visones llegaran a la Cuenca del Segura. Si la nutria alcanzase mayores densidades, podría desplazar al visón, ya que este tendería a cazar presas terrestres, como lo hace en la temporada de otoño-invierno en los datos recogidos por Melero et al. (2008), donde tiende a cazar aves y mamíferos mayoritariamente. Aunque seguramente no tenga un impacto significativo para la nutria, para otros depredadores u otros mustélidos que compitan por el mismo alimento, sí que podrían llegar a afectar. El visón puede tener también un efecto negativo sobre otras especies de vertebrados sobre las que depreda, como anfibios, peces, micromamíferos y aves (García Díaz et al. 2013). Por esto resulta imprescindible la realización de un seguimiento preventivo y, en su caso, de un manejo proactivo del visón americano en previsión de su gradual aproximación y potencial invasión de la cuenca del Segura.

El visón cambia su dieta a medida que aumenta la densidad de la nutria, lo que sugiere que el uso del hábitat del visón podría verse afectado por la competencia con la nutria. El visón debe coexistir durante más tiempo con la nutria en áreas donde abundan especies de presas alternativas que no son explotadas por su competidor (Bonesi et al., 2004)

Para los depredadores que comparten nicho, que son animales simpátricos, es más fácil coexistir ajustando su comportamiento para reducir la competencia que cambiar los hábitos alimenticios (Fedriani et al., 1999). Como dicen Prigioni et al. (2008) la menor productividad de los ecosistemas y la disminución de los recursos alimenticios pueden aumentar la competencia entre los principales depredadores.

## 7. Conclusiones

- El estudio realizado muestra la gran capacidad adaptativa de la nutria en un ambiente como el de la Cuenca del Segura, donde la inestabilidad hídrica y el alto grado de regulación hace que los peces sean menos abundantes en primavera-verano, por lo que la nutria depende de otras especies, como el cangrejo rojo -más activo, disponible y abundante-, ranas o pequeños mamíferos, mostrando así su gran diversidad trófica. La proliferación del cangrejo parece haber ayudado a la expansión de la nutria.
- En la temporada de otoño-invierno hay un mayor consumo de peces, lo que puede obedecer a la menor actividad de éstos por las temperaturas más bajas, a su mayor abundancia y aporte calórico. Por esto se podría afirmar la preferencia de la nutria en esa época por los peces, en particular los ciprínidos, como depredador oportunista.
- En cuanto al visón americano, su presa preferida es el cangrejo, que aunque sea menos eficiente energéticamente, parece suficiente en comparación con los peces. El visón es una especie generalista que varía la dieta estacionalmente según la abundancia. Por su gran adaptabilidad ecológica, tiende a cazar menos peces cuando convive con la nutria, centrándose más en mamíferos y aves.
- Sin embargo, ambas especies presentan un amplio espectro trófico y en otras zonas de la península donde coexisten parecen convivir bien. Cuando la nutria parece dominar, actúa como un freno a la expansión del visón, que se acaba volviendo más terrestre cuando la nutria está presente. Por tanto, puede que para la nutria no suponga un gran impacto, pero sí para otros mustélidos o para otros vertebrados. Por esto es necesario un seguimiento y un manejo proactivo del visón americano.
- Aunque, la recuperación de la nutria se deba en parte a la protección, mejora del hábitat y reducción de la contaminación, no hay que olvidar que su dispersión es lenta y aún es poco abundante, y en zonas habitadas cerca del río existe todavía una importante contaminación antrópica. En cambio el visón, aunque aún no se encuentre en el Río Segura, presenta una rápida expansión, por lo que la nutria podría no ser una buena competidora en las zonas más humanizadas.

## 8. Referencias

- Amboage Domínguez, M. (2016). *Factores que determinan la dieta de Lutra lutra a lo largo de un ciclo anual en un embalse del Noroeste de la Península Ibérica*. La Coruña.
- Blanco-Garrido, F., Prenda, J., & Narvaez, M. (2007). *Eurasian otter (Lutra lutra) diet and prey selection in Mediterranean streams invaded by centrarchid fishes*. Huelva.
- 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.
- BORM. (6 de Julio de 2016). *Murcia Natural*. Obtenido de Decreto nº 59/2016 22 de junio, planes de recuperación del águila perdicera, la nutria y el fartet: [http://www.murcianatural.carm.es/web/guest/indicadores-estadisticos/-/journal\\_content/56\\_INSTANCE\\_IW1c/14/4046493#.Wx64rUiFPIU](http://www.murcianatural.carm.es/web/guest/indicadores-estadisticos/-/journal_content/56_INSTANCE_IW1c/14/4046493#.Wx64rUiFPIU)
- Bravo, C., & Bueno, F. (1999). Visión Americana, *Mustela vison Schreber, 1777*. En *Mamíferos de España, Galemys* 11 (págs. 3-15). SECEM.
- Bueno, F. (1996). *Competition between American mink Mustela vison and otter Lutra lutra during winter*. Madrid.
- Callejo, A. D. (1987). Dieta de la nutria *Lutra lutra* (Linnaeus, 1758) en la cuenca del alto Ebro, norte de España. *Miscel·lània Zoològica*, 11., 353-362.
- Clavero, M., Prenda, j., & Delibes, M. (2003). Trophic Diversity of the Otter (*Lutra lutra* L.) in Temperate and Mediterranean Freshwater Habits. *Journal of Biogeography*. Vol 30, 761-769.
- Clavero, M., Prenda, j., & Delibes, M. (2003). Trophic Diversity of the Otter (*Lutra lutra* L.) in Temperate and Mediterranean Freshwater Habits. *Journal of Biogeography*. Vol 30, 761-769.
- Davison, A., Birks, J. D., Brookes, R. C., Braithwaite, T. C., & Messenger, J. E. (2002). On the origin of faeces: morphological versus molecular methods for surveying rare carnivores from their scats. *Journal of Zoology*, 257: 141-143.
- Delibes, M., & Adrián, I. (1987). Effects of Crayfish Introduction on Otter *Lutra lutra* Food in The Doñana National Park, SW Spain. *Biological Conservation*, 42, 153-159.
- Dettori, E. (2012). Metodi genetici non invasivi applicati allo studio della Fauna Selvatica. Tesi di Laurea. *Università degli Studi di Pavia A.A.*, 2010/11.
- Dettori, E. E., Zapata Perez, V. M., Bruno, D., Soto Otón, I., Rubio Saura, N., Balestrieri, A., y otros. (Mayo de 2018). Distribution and diet of the Eurasian otter (*Lutra lutra*) on th River Segura (SE Spain).
- Direcció General de Medi Natural i d'Avaluació Amb. (2016). *La Recuperación de la Nutria (Lutra lutra) en la Comunitat Valenciana*. Servici de Vida Silvestre. Valencia: Generalitat Valenciana.

- FAVORGEN. (2009). *FAVORGEN BIOTECH CORP.* Obtenido de Nucleic-acids extraction Stool DNA Isolation Mini Kit: [http://www.favorgen.com/pdf/DataSheet/Nucleic\\_Acid\\_Extraction/Genomic\\_DNA/FASTI%20000%20001%20001-1.pdf](http://www.favorgen.com/pdf/DataSheet/Nucleic_Acid_Extraction/Genomic_DNA/FASTI%20000%20001%20001-1.pdf)
- Fedriani, J., Palomares, F., & Delibes, M. (1999). Niche relations among three sympatric Mediterranean carnivores. *Springer-Verlag*, 138-148.
- Galián, J., José Manuel Lucas, Lucas, J., Sánchez, O., Asensio, A., Vidal, J., y otros. (2011). Caracterización genética de la población de nutria en Murcia. *Murcia Enclave Ambiental*.
- Gallego, D., & Rodríguez, P. (2016). Variación estacional de la dieta de la nutria (*Lutra lutra* L.) en un afluente del río Ebro (provincia de Burgos): importancia de las especies no autóctonas. *SECEM*.
- García-Díaz, P., & Lizana, M. (2012). *Reproductive aspects of American minks (Neovison vison) in central Spain: Testing the effects of prey availability*. Salamanca.
- Jiménez, J., López-Martín, J. M., Ruíz-Olmo, J., & Delibes, M. (2008). ¿Por qué se está recuperando la nutria en España? En J. López-Martín, & J. Jiménez, *La nutria en España. Veinte años de seguimiento de un mamífero amenazado*. (págs. 273-304). Málaga: SECEM.
- Kruuk H., P. T. (1981). Feeding specialization of the European badger (*Meles meles*) in Scotland. *Journal of Animal Ecology* 50, 773-788.
- López, J. M., & Jimenez, J. (2009). *La nutria en España. "20 años de seguimiento de un mamífero amenazado*. Málaga: SECEM.
- Melero, Y., & Palazón, S. (2017). Visón americano – *Neovison vison*. En *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.: Salvador, A., Barja, I.
- Melero, Y., Palazón, S., Bonesi, L., & Gosàlvez, J. (2008). *Feeding habits of three sympatric mammals in NE Spain: the American mink, the spotted genet, and the Eurasian otter*. Barcelona.
- Mendes, R., Rodrigues, D., Moreira, F., Mullins, J., Rebelo, R., & Santos-Reis, M. (2011). Dietary shifts of the otter in a recently invader area by the American crayfish. Project: DILEMA - Espécies Invasoras e Dilemas de Conservação: Efeito dos Competidores Nativos e Presas Exóticas na Dispersão do Visão Americano em Portugal: [https://www.researchgate.net/publication/236649462\\_Dietary\\_shifts\\_of\\_the\\_otter\\_in\\_a\\_recently\\_invaded\\_area\\_by\\_the\\_American\\_crayfish](https://www.researchgate.net/publication/236649462_Dietary_shifts_of_the_otter_in_a_recently_invaded_area_by_the_American_crayfish)
- Oliva-Paterna, F. J., Verdiell-Cubedo, D., Ruiz-Navarro, A., & Torralva, M. (2014, January). La ictiofauna continental de la Cuenca del río Segura (SE Península Ibérica): décadas después de Mas (1986). In *Anales de Biología (No. 36, pp. )*, 37-45.
- Pastor, A., Eguía, S., Martínez, E., & Yelo, N. (2008). La nutria en Murcia. En J. López-Martín, & J. Jimenez, *La nutria en España. Veinte años de seguimiento de un mamífero amenazado* (págs. 187, 195). Málaga: SECEM.



- Prenda, J., Blanco-Garrido, F., Hermoso, V., Menor, A., & Clavero, M. (2018). Efectos del hábitat y la disponibilidad de presas sobre la dieta y la distribución de la nutria (*Lutra lutra*) en el Parque Natural Sierra Norte de Sevilla. *Investigación científica y conservación en el Parque Natural Sierra Norte de Sevilla (CIECEMA)*, 255-271.
- Prigioni, C. (1997). *La lontra: una vita silenziosa negli ambienti acquatici*. Edagricole.
- Prigioni, C., Balestrieri, A., Remonti, L., & Cavada, L. (2008). Differential use of food and habitat by sympatric carnivores in the eastern Italian Alps. *Italian Journal of Zoology*, 75, 177-184.
- Reuther C., Dolch D., Green R., Jahrl J., Jefferies D., Krekemeyer A., Kucerova M., Madsen A.B., Romanowski J., Roche K., Ruis-Olmo J., Teubner J. and Trindade A. (2000). *Surveying and monitoring distribution and population trends of the Eurasian Otter (Lutra lutra): guidelines and evaluation of the standard method for surveys as recommended by the European section of the IUCN/SSC Otter Specialist Group*. . Sudendorfallee, Hankensbut-tel, Germany.: Gruppe Naturschutz.
- Rui Beja, P. (1990). *Diet of otters (Lutua lutra) in closely associated freshwater, brackish and marine habitats in south-west Portugal*. Cascais (Portugal).
- Ruiz-Olmo, J. (2017). Nutria – *Lutra lutra*. En *Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles*. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid: Salvador, A.; Barja, I.
- Ruiz-Olmo, J., Palazón, S., Bueno, F., Bravo, C., Munilla, I., & Romero, R. (1997). Distribution, status and colonization of the American mink (*Mustela vison*) in Spain. *Wildlife Research*, 30-36.
- Sanchez, M., & Carmona, D. (04 de 2006). Murcia, en: *Nutria (Lutra lutra) en España*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Obtenido de [http://www.mapama.gob.es/es/biodiversidad/temas/conservacion-de-especies-amenazadas/090471228015f138\\_tcm30-195587.pdf](http://www.mapama.gob.es/es/biodiversidad/temas/conservacion-de-especies-amenazadas/090471228015f138_tcm30-195587.pdf)
- Tablado, Z., Tella, J. L., Sánchez-Zapata, J. A., & Hiraldo, F. (2010). The paradox of the long-term positive effects of a North American crayfish on a European community of predators. *Conservation Biology*, 24(5), 1230-1238.

## 9. Anexos

### Anexo I – Protocolo de análisis genético

#### 1. Extracción ADN: FavorPrep™ Stool DNA Isolation Mini Kit.

Notas Importantes:

1. Es importante el uso de guantes y bata de laboratorio cuando se manejan estos buffers ya que son irritantes.
2. Comprobar SDE1 Buffer antes del uso, calentar SDE1 Buffer a 60°C durante 10 minutos si se formó algún precipitado.
3. Agregar el agua destilada al tubo de Proteinasa K, para hacer 10mg/ml de solución madre. Agitar con el Vortex asegurándose de que la proteinasa K ha sido completamente disuelto. Almacenar la solución madre a 4°C.
4. Agregar el volumen indicado de etanol (96-100%) al tampón de lavado antes de su uso.
5. Preparar un bloque calefactor o un baño de agua a 60°C. Si el ADN está aislado de bacterias gram positivas, prepare un bloque de calentamiento o un baño de agua a 95°C para otra incubación.
6. Todos los pasos de la centrifuga se realizan a velocidad máxima (~ 18,000 x g) en una microcentrifuga.
7. Precalentar el tampón de elución o agua destilada a 60°C para el paso de elución.

## **Protocolo general:**

1. Agregar hasta 200mg de muestra de heces a un tubo de cuentas y colocarlos en un bloque de hielo.

--Si la muestra es líquida, agregue 200µl de muestra en un tubo de perlas.

2. Agregue 300µl de tampón SDE1 y 20µl de proteinasa K (10 mg / ml) a la muestra.

Vortex a velocidad máxima durante 5 minutos. Incubar la mezcla de muestra a 60°C durante 20 minutos y agitar con vórtice la muestra para cada 5 minutos durante la incubación.

- Asegurar que la muestra de materia fecal se homogenice por completo.

- Para el aislamiento de ADN de bacteria grampositiva, realizar una incubación adicional a 95°C durante 5 minutos después de la lisis de proteinasa K.

3. Agitar en vortex brevemente el tubo para eliminar las gotas del interior de la tapa.

4. Enfriar la mezcla de muestra y agregar 100µl de tampón SDE2. Mezclar bien agitando en vórtice e incubar la mezcla de muestra en hielo durante 5 minutos.

5. Centrifugue a velocidad máxima (~ 18,000 x g) durante 5 minutos.

6. Con cuidado, transferir el sobrenadante a un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml (no provisto) y desechar el sedimento de heces.

- Evitar pipetear cualquier residuo y gránulo.

7. Agregar 200µl de tampón SDE3. Mezclar bien agitando en vórtice e incubar la mezcla de muestra a temperatura ambiente durante 2 minutos.

--Nota: SDE3 Buffer debe agitarse en el vortex antes de cada uso ya que precipita muy rápido.

- Cortar el extremo de la punta de 1 ml para que sea más fácil pipetear el tampón SDE3.

8. Centrifugar a velocidad máxima durante 2 minutos.

9. Con cuidado, transfiera 250µl de sobrenadante a un tubo de microcentrífuga de 1,5ml (no provisto).

- Evite pipetear cualquier residuo y gránulo que quede en el fondo.

10. Agregue 250µl de tampón SDE4 y 250µl de etanol (96 ~ 100%). Mezclar bien con el vortex.

11. Colocar una columna SED en una colección. Transferir toda la mezcla de muestra a la Columna SDE y centrifugar a máxima velocidad, 1 minuto y descartar el flujo. Finalmente, se coloca la columna SDE en un nuevo tubo de recolección.

12. Agregar 750µl de tampón de lavado (etanol añadido) a la columna SDE. Centrifugar a velocidad máxima durante 1 minuto y luego descartar el flujo. Devolver la Columna SDE al Tubo de Colección.

--Asegurar que se haya agregado etanol (96 ~ 100%) al tampón de lavado cuando se usa por primera vez.

13. Repetir el paso 12.

14. Centrifugar a velocidad máxima durante 3 minutos adicionales para secar la columna SDE.

--Este paso evitará que el líquido residual inhiba las reacciones enzimáticas posteriores.

15. Colocar la columna SDE en un tubo de microcentrífuga de 1.5ml (no incluido). Agregue 50 ~ 200µl de tampón de elución precalentado o agua destilada al centro de la membrana de la columna SDE. Coloque la columna SDE durante 2 minutos a temperatura ambiente.

-- Para una elución efectiva, dispensar el Tampón de elución o ddH<sub>2</sub>O en el centro de la membrana y comprobar que es absorbido por completo.

16. Centrifugar a velocidad máxima durante 4 minutos para eluir el ADN.

## 2. PCR:

Técnica de amplificación de ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

En el C1000 Thermal Cyclor se ponen las muestras:

Tª	Tiempo	
94°	5min	
94°	1min	35 ciclos
63,5°	1min	
72°	1min	
72°	10min	
4°	Infinito	

Grisp Master Mix  
Grisp Green DNA Stain  
Primer Forward Mm H1  
Primer Reverse Mn L1  
Volumen final: 21µl  
Total DNA: 3µl

} 24µl x tubo

## 3. Electroforesis en gel de agarosa.

La electroforesis es la técnica en la cual se separan las biomoléculas en disolución cuando se ven sometidas a un campo eléctrico.

Reactivos:

- TAE 1X (tª ambiente)
- AGAROSE D1 LOW EEO (tª ambiente)
- REDSAFE (en frigorífico)

Cubeta Grande	Agarosa (gr)	TAE 1X (ml)	RedSafe (µl)
Agarosa al 3%	4,5	150	Unas gotas

## Protocolo:

1. Con el vaso de precipitado tarado, se pesan los 4,5 gr de agarosa.
2. Añadir los 150ml de TAE 1X.
3. Agitar y calentar en un agitador magnético termostatzado con una mosca, hasta que la solución se vuelva transparente, justo cuando comience a hervir.
4. Mientras se calienta la disolución, se prepara el molde para el gel. Tiene que estar limpio, seco y calibrado para que no haya ningún desnivel.
5. Cuando la disolución comience a hervir, llevar a una campaña extractora con cuidado, y añadir el RedSafe con una mascarilla puesta ya que es cancerígeno. Agitar para homogeneizar.
6. Verter la solución en el molde previamente preparado, con cuidado de que no se formen burbujas.
  - Si se forman burbujas, con ayuda de una pipeta, llevarlas rápidamente hacia los laterales para que no interfieran en la trayectoria de las moléculas.
7. Mientras se enfría el gel, se prepara la cubeta electroforética añadiendo TAE 1X a las dos hendiduras que presenta, hasta que cubra finamente el escalón donde irá el gel.
8. Cuando el gel esté endurecido, se saca con cuidado del molde intentando no desfigurar los huecos formados. Y se coloca en el escalón de la cubeta bien ajustado.
9. Completar las muestras en los pocillos:
  - Observar si hay pocillos de la PCR evaporados y añadir 5µl de agua ultrapura para suspender.
  - Tapar bien y agitar en vórtex levemente la placa para homogeneizar.
  - Dar un choque de centrifuga para bajar el volumen al fondo del pocillo.
  - Cargar 2µl de marcador molecular: primer pocillo de cada fila (2 pocillos).
  - Cargar 10µl de la muestra en el resto de pocillos.
1. Rellenar con TAE 1X la cubeta hasta cubrir el gel por completo.
2. Conectar la electroforesis, BIO-RAD POWER BASIC.
  - Voltaje = 100 V.
  - Tiempo = 50 minutos.
3. Fotografiar gel resultante con el TRANSILLUMINATOR.

## Anexo II – Protocolo de disección

### ➤ Procedimiento de disección de los peces de la cuenca del Río Segura (piezas duras):

1. Si el pez o los peces están congelados, se tienen que dejar descongelar durante un tiempo.
2. Medir el tamaño del pez, luego la cola, la cabeza y el tamaño de las escamas durante su descongelación.
3. Quitar las escamas.
4. Guardar las escamas bien divididas en una placa Petri (una buena cantidad) y sellarla con film.
5. Hervir el pez.
6. Sacar el pez del agua y dejarlo enfriar.
7. Diseccionar el pescado con el bisturí, removiendo con cuidado los tejidos hasta la liberación de la columna vertebral.
8. Remover la columna vertebral con mucho cuidado, intentando no fracturar las rasps.
9. Separar la cola del cuerpo.
10. Desmontar con cuidado el cráneo, liberando el diente faríngeo.
11. Reponer todos los tipos de huesos en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dependiendo del tamaño del pez.
12. \*La cantidad de peróxido varía según el tamaño del pez.
13. Dejar actuar el peróxido 24 horas para remover toda la mucosa y los tejidos blandos.
14. Remover el contenido en un colador con una reja de tamaño de 2mm y limpiar con agua del grifo.
15. Dejar secar totalmente los huesos y conservarlos en una placa Petri sellada con film.
16. Finalmente marcar con nombre científico y nombre común las placas.

➤ **Procedimiento de disección de los animales de la cuenca del Río Segura (piezas blandas):**

1. Si el animal o los animales están congelados, dejarlos descongelar durante un tiempo.
2. Medir el tamaño del animal o de las piezas (partes) del animal durante su descongelación.
3. Preparar los tubos llenos de alcohol 96° para su conservación.
4. \*Por ejemplo, un cangrejo rojo americano se puede guardar en tubos de 20ml.
5. En el caso de que sea necesario, diseccionar el animal con el bisturí, removiendo con cuidado los tejidos hasta la liberación de las partes quitinosas o queratinosas.
6. Remover todas las partes duras con mucho cuidado.
7. Separar las partes diagnósticas del cuerpo, desmontándolas con cuidado.
8. Reponer todos los tipos de piezas en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dependiendo del tamaño del animal.
9. \*La cantidad de peróxido varía según el tamaño del animal.
10. Dejar actuar el peróxido 24 horas para remover toda la mucosa y los tejidos blandos.
11. Remover el contenido en un colador con una reja de tamaño de 2mm y limpiar con agua del grifo.
12. Dejar secar totalmente las partes del animal, conservarlos en un tubo con alcohol 96° y sellarlos con film.
13. Finalmente marcar con nombre científico y nombre común los tubos.



## Anexo III – Tablas de composición de la dieta

**Tabla 1.** Composición de la dieta de la nutria en la Región de Murcia. FO% - frecuencia de ocurrencia, FRO% - frecuencia relativa de ocurrencia, V% - volumen, Vm% - volumen medio.

TOTAL	FO%	FRO%	V%	Vm%
<i>Procambarus clarkii</i>	59,53757	33,11897	64,85437	38,61272
Peces	64,73988	36,01286	77,05357	49,88439
<i>Cyprinus carpio</i>	4,624277	2,572347	65	3,00578
<i>Luciobarbus sclateri</i>	35,83815	19,93569	67,82258	24,30636
<i>Gobio lozanoi</i>	1,734104	0,96463	81,66667	1,416185
<i>Pseudochondrostoma polylepis</i>	5,202312	2,893891	66,66667	3,468208
<i>Sander lucioperca</i>	22,54335	12,54019	78,46154	17,68786
Aves	5,202312	2,893891	47,22222	2,456647
<i>Gallinula chloropus</i>	5,202312	2,893891	47,22222	2,456647
<i>Anas platyrhynchos</i>	-	-	-	-
Fam. Ranidae	15,0289	8,360129	18,84615	2,83237
<i>Natrix maura</i>	0,578035	0,321543	20	0,115607
Fam. Muridae	8,67052	4,823151	24	2,080925
Materia vegetal	16,76301	9,324759	16,55172	2,774566
Invertebrados	4,046243	2,250804	30,71429	1,242775
Ord. Coleoptera	3,468208	1,92926	31,66667	1,098266
Clas. Gastropoda	0,578035	0,321543	25	0,144509
		100		100

**Tabla 2.** Composición de la dieta de la nutria en la temporada de otoño-invierno en la Región de Murcia. FO% - frecuencia de ocurrencia, FRO% - frecuencia relativa de ocurrencia, V% - volumen, Vm% - volumen medio.

<b>OTOÑO-INVIERNO</b>	<b>FO%</b>	<b>FRO%</b>	<b>V%</b>	<b>Vm%</b>
<i>Procambarus clarkii</i>	50,89286	25,90909	48,15789	24,50893
<b>Peces</b>	79,46429	40,45455	77,41573	61,51786
<i>Cyprinus carpio</i>	5,357143	2,727273	66,66667	3,571429
<i>Luciobarbus sclateri</i>	41,96429	21,36364	67,44681	28,30357
<i>Gobio lozanoi</i>	0,892857	0,454545	95	0,848214
<i>Pseudochondrostom a polylepis</i>	7,142857	3,636364	71,875	5,133929
<i>Sander lucioperca</i>	30,35714	15,45455	77,94118	23,66071
<b>Aves</b>	8,035714	4,090909	47,22222	3,794643
<i>Gallinula chloropus</i>	8,035714	4,090909	47,22222	3,794643
<i>Anas platyrhynchos</i>	-	-	-	-
<b>Fam. Ranidae</b>	14,28571	7,272727	20,625	2,946429
<i>Natrix maura</i>	0,892857	0,454545	20	0,178571
<b>Fam. Muridae</b>	9,821429	5	21,81818	2,142857
<b>Materia vegetal</b>	23,21429	11,81818	17,11538	3,973214
<b>Invertebrados</b>	3,571429	1,818182	26,25	0,9375
<b>Ord. Coleoptera</b>	2,678571	1,363636	26,66667	0,714286
<b>Clas. Gastropoda</b>	0,892857	0,454545	25	0,223214
		100		100

**Tabla 3.** Composición de la dieta de la nutria en la temporada de primavera-verano en la Región de Murcia. FO% - frecuencia de ocurrencia, FRO% - frecuencia relativa de ocurrencia, V% - volumen, Vm% - volumen medio.

<b>PRIMAVERA- VERANO</b>	<b>FO%</b>	<b>FRO%</b>	<b>V%</b>	<b>Vm%</b>
<i>Procambarus clarkii</i>	75,40984	50,54945	85,54348	64,5082
Peces	37,70492	25,27473	75,65217	28,52459
<i>Cyprinus carpio</i>	3,278689	2,197802	60	1,967213
<i>Luciobarbus sclateri</i>	24,59016	16,48352	69	16,96721
<i>Gobio lozanoi</i>	3,278689	2,197802	75	2,459016
<i>Pseudochondrostom a polylepis</i>	1,639344	1,098901	25	0,409836
<i>Sander lucioperca</i>	8,196721	5,494505	82	6,721311
Aves	-	-	-	-
<i>Gallinula chloropus</i>	-	-	-	-
<i>Anas platyrhynchos</i>	-	-	-	-
Fam. Ranidae	16,39344	10,98901	16	2,622951
<i>Natrix maura</i>	-	-	-	-
Fam. Muridae	6,557377	4,395604	30	1,967213
Materia vegetal	4,918033	3,296703	11,66667	0,57377
Invertebrados	4,918033	3,296703	36,66667	1,803279
Ord. Coleoptera	4,918033	3,296703	36,66667	1,803279
Clas. Gastropoda	-	-	-	-
		100		100