

Oportunidades y errores en el uso de la genética para conocer el origen de una especie: el cangrejo italiano en la península ibérica

Miguel Clavero^{1,*} , Sergio Bedmar¹ , Francisco J. Oficialdegui² 

- (1) Department of Conservation Biology and Global Change, Estación Biológica de Doñana-CSIC. Americo Vespucio 26, Sevilla, Spain.
(2) University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Fisheries and Protection of Waters, South Bohemian Research Center of Aquaculture and Biodiversity of Hydrocenoses, Zátisť 728/II, Vodňany, 389 25, Czech Republic.

* Autor para correspondencia / Corresponding author: Miguel Clavero [miguelclavero@ebd.csic.es]

> Recibido / Received: 12/10/2024 – Aceptado / Accepted: 24/03/2025

Cómo citar / How to cite: Clavero, M., Bedmar, S., Oficialdegui, F.J. 2025. Oportunidades y errores en el uso de la genética para conocer el origen de una especie: el cangrejo italiano en la península ibérica. *Ecosistemas* 34(3): 2892. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2892>

Oportunidades y errores en el uso de la genética para conocer el origen de una especie: el cangrejo italiano en la península ibérica

Resumen: En ocasiones ocurre que el carácter nativo de una especie es incierto, siendo esta duda más frecuente cuando las posibles introducciones hubiesen ocurrido en tiempos remotos. Para resolver estas incertezas, es importante integrar conocimientos generados desde diferentes disciplinas, incluyendo análisis de ADN. Sin embargo, la información genética requiere interpretaciones y tiene una serie de limitaciones que hay que tener en cuenta para identificar correctamente el origen de una especie. Para ello es fundamental i) asegurar un muestreo representativo del acervo genético nativo, ii) priorizar el análisis de la estructura genética sobre la diversidad o la exclusividad de haplotipos, y iii) enmarcar los resultados genéticos en el conocimiento existente. Una interpretación sesgada de los patrones genéticos puede dar lugar a errores en la evaluación del carácter nativo de una especie, con importantes implicaciones para la gestión y la conservación de la biodiversidad. Esta situación la ejemplificamos aquí con caso del cangrejo italiano (*Austropotamobius fulcisanus*) en la península ibérica. Tradicionalmente, en España se ha tratado al cangrejo italiano como especie autóctona, y aún se gestiona como tal. Sin embargo, existen evidencias, numerosas y coherentes, de que la especie fue introducida desde la Toscana en el siglo XVI. Contradiciendo esta narrativa, diferentes trabajos han usado ADN mitocondrial para afirmar que esta especie es en realidad nativa en España, enfatizando una elevada riqueza y exclusividad entre los haplotipos detectados. En este trabajo mostramos que estas interpretaciones se basan en métricas poco informativas y que, además, están lastradas por la pobre representación de muestras italianas, un sesgo que se acentúa notablemente en los trabajos más recientes. De hecho, los patrones genéticos observados en el cangrejo italiano son muy similares a los descritos para el cangrejo rojo (*Procambarus clarkii*), y en los dos casos solo son compatibles con el hecho de ser especies introducidas en la península ibérica.

Palabras clave: análisis genéticos; *Austropotamobius*; ecología histórica; especies criptogénicas; invasiones biológicas; *Procambarus*

How (not) to use genetic data to assess nativeness: the case of the Italian crayfish in the Iberian Peninsula

Abstract: Species' nativeness status sometimes remains unclear, particularly when the putative introductions would have occurred in a distant past. Unravelling these cases should rely on integrating knowledge from multiple disciplines, certainly including DNA analyses. But genetic data should be properly interpreted to contribute solidly to nativeness assessments. Good practices would involve a thorough knowledge of the genetic pool in the native area, prioritizing the analyses of genetic structure over genetic diversity and exclusiveness, and framing genetic results into the existing knowledge. Here, we show that misinterpreting genetic data may provide flawed nativeness assessments with important implications for biodiversity management, using the case of the Italian crayfish (*Austropotamobius fulcisanus*) in the Iberian Peninsula. In Spain, this species has been traditionally considered native and is currently managed as such. However, multiple lines of evidence solidly show that the species was introduced from Tuscany in the late-16th century. Contradicting this narrative, different works in the last two decades have used mitochondrial DNA sequences to claim that the Italian crayfish is native to Spain, emphasizing the number and exclusiveness of haplotypes. We show that this interpretation is based on little-informative haplotype metrics and is loaded by the poor representation of Italian samples, which is particularly worsened in the most recent works. In fact, genetic patterns in Italian crayfish are very similar to those described for the American red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*), and in both cases are only compatible with the non-native status of both species in the Iberian Peninsula.

Keywords: *Austropotamobius*; biological invasions; cryptogenic species; genetic analyses; historical ecology; *Procambarus*

Introducción

Las introducciones de especies son un fenómeno en constante crecimiento a nivel global, con una tendencia exponencial que se acentuó a mediados del siglo XX (Seebens et al. 2017). Sin embargo, no son un fenómeno nuevo, ya que los humanos hemos transportado especies a través de barreras biogeográficas durante milenios, tanto domésticas como silvestres (Wilmschurst et al. 2008; Hofman y Rick 2018; Peters et al. 2022). Como resultado, un número desconocido de organismos pudo haber sido introducido en diversas áreas del mundo antes de que existieran descripciones de las biotas y demasiado temprano como para haber dejado una huella cultural que permita reconocer la introducción en la actualidad (Haydar 2012). Estos taxones pueden estar socialmente aceptados como organismos nativos, generando una forma particular del síndrome de las referencias cambiantes (*shifting baseline syndrome*) (Clavero 2014), o su origen puede permanecer rodeado de incertidumbre, siendo entonces denominados especies criptogénicas (Carlton 1996).

Que una especie sea nativa en un territorio, es decir, que su presencia actual y/o histórica no haya requerido intervención humana activa, es un dato fundamental para planificar la conservación de la biodiversidad (Oficialdegui et al. 2024). Sin embargo, a menudo resulta complejo desentrañar el estatus de especies que pudieron haber sido introducidas en tiempos remotos. La evidencia arqueológica puede proporcionar información útil para datar la llegada de un taxón a un lugar (Detry et al. 2018), mientras que en ocasiones existen documentos históricos que incluyen pruebas directas de eventos de introducción y sus motivaciones (Pipek et al. 2015; Clavero 2022). Los análisis de patrones biogeográficos y la presencia de organismos asociados (comensales, parásitos) también pueden proporcionar información clave para determinar el estatus de un taxón (Blakeslee et al. 2008; 2012). En las últimas décadas, se ha generalizado el uso de análisis moleculares, principalmente basados en marcadores genéticos, para evaluar el origen de poblaciones cuyo estatus (nativo o no) resulta dudoso.

Describir introducciones históricas a través de narrativas sólidas requiere integrar resultados obtenidos desde diversas disciplinas (Szabó 2010; Craven et al. 2019). Cuando surgen conclusiones contradictorias, es necesario revisar las interpretaciones obtenidas desde los diferentes enfoques, evitando otorgar *a priori* la preeminencia de unos sobre otros. Esto es particularmente relevante en los resultados basados en ADN, ya que se tiende a asumir, tanto por parte de la comunidad científica como por el público en general, que éstos son más informativos que los obtenidos a través de aproximaciones más tradicionales, como el estudio de fósiles o de documentos históricos (para prejuicios sobre diferentes disciplinas, ver Pooley et al. 2014). A menudo se pasa por alto que las conclusiones derivadas de los análisis genéticos están mediadas por la interpretación de los resultados que, como en cualquier otro enfoque científico, tiene asociadas limitaciones. En este trabajo discutimos cómo los datos genéticos (principalmente marcadores de ADN mitocondrial) deberían interpretarse, y cómo no debería hacerse, para determinar si un taxón es nativo en un territorio. Para ello, revisamos y describimos las limitaciones que la información genética puede tener en la reconstrucción de movimientos de especies en el pasado.

Como ejemplo, desarrollamos el caso del cangrejo de río italiano (*Austropotamobius fulcisanus*, en adelante, cangrejo italiano), una especie introducida en la península ibérica en el siglo XVI (Clavero 2022). Durante el siglo XX, se hizo una intensa promoción de la explotación de esta especie y, tras su colapso en la década de los 1970s, se ha trabajado para su conservación (Clavero 2016). Aunque la introducción del cangrejo italiano y el subsecuente proceso de invasión se habían descrito integrando evidencias obtenidas por diversas disciplinas (Clavero et al. 2016), distintos estudios basados en ADN han venido afirmando que la especie es en realidad nativa de la península ibérica (por ejemplo, Matallanas et al. 2016; Martínez-Ríos et al. 2023). En la parte final del artículo, utilizamos resultados ya publicados para demostrar que la variabilidad de las secuencias de ADN se ha interpretado erróneamente en distintos trabajos y que, de hecho, los patrones genéticos refuerzan la idea de que el cangrejo italiano es una especie introducida en la península ibérica.

Haplotipos: métricas y redes

Los trabajos que usan marcadores genéticos para discernir si una especie es nativa a menudo se fijan en indicadores de diversidad genética (por ejemplo, la riqueza de haplotipos) y exclusividad (es decir, la presencia de haplotipos privados, no presentes en el área nativa) (Cunningham 2008). Sin embargo, ninguno de estos indicadores puede vincularse de forma unívoca con el estatus nativo o no nativo de un taxón en un territorio (Uller y Leimu 2011).

La idea de que las poblaciones no nativas deberían tener una baja diversidad genética se basa en la suposición de que las etapas de transporte, introducción y establecimiento del proceso de invasión (*sensu* Blackburn et al. 2011) conllevan un severo cuello de botella genético, que dejaría una huella detectable en las poblaciones introducidas. Esta suposición puede ser válida cuando se produce un único evento de introducción (o muy pocos) que involucra pocos individuos (es decir, cuando la presión de propágulo es baja). En esas condiciones tiene lugar un efecto fundador, seguido de una deriva genética en la fase de expansión, que resulta en una pérdida de diversidad genética (Ascunce et al. 2011; Bélouard et al. 2019; Sequeira et al. 2022; Lambea-Cambor et al. 2023) (Fig. 1A). Pero este es solo uno de los muchos escenarios posibles en relación con las introducciones, y existen numerosas opciones de generar poblaciones introducidas con una alta variabilidad genética (Cabezas et al. 2014), como se ejemplifica en la Figura 1.

Hace casi 20 años, Roman y Darling (2007) demostraron que la diversidad genética de las poblaciones introducidas está determinada por i) el acervo génico de las poblaciones fuente, ii) el número de eventos de introducción, y iii) el tamaño del propágulo. Está bien descrito que la diversidad genética en poblaciones introducidas puede ser alta, incluso superando los valores observados en poblaciones nativas (Lejeune et al. 2014). Esta situación es especialmente frecuente cuando el propágulo original proviene de diferentes poblaciones fuente (Blumenfeld et al. 2021) (Fig. 1C) o de poblaciones mezcladas (*admixture*; i.e., generadas, dentro del área nativa, a partir de individuos de diversos orígenes, Rius y Darling 2014; van Boheemen et al.

2017) (**Fig. 1D**). Estas poblaciones que combinan artificialmente características genéticas diversas son comunes en especies utilizadas intensamente por el ser humano (por ejemplo, especies ornamentales, de pesca recreativa o de acuicultura) (Barbaresi et al. 2007; Oficialdegui et al. 2019). Independientemente de la diversidad genética de poblaciones fuente, cuanto mayor sea el número de eventos de introducción, mayor será la probabilidad de encontrar más diversidad genética en las poblaciones resultantes (Dlugosch y Parker 2008; Facon et al. 2008), especialmente si los eventos de introducción en un área provienen de diversas poblaciones (**Fig. 1C**). Incluso introducciones repetidas desde la misma fuente aliviarían las reducciones en diversidad genética asociadas al efecto fundador y la deriva genética (**Fig. 1B**) (Uller y Leimu 2011). Las introducciones múltiples también son más frecuentes en especies vinculadas a los humanos, como plantas ornamentales, especies de acuicultura o mascotas, ya que los escapes y liberaciones (i.e., los eventos de introducción) a menudo ocurren en repetidas ocasiones (Kelager et al. 2013; Hunter y Nico 2015; Larroque et al. 2023). Finalmente, aun siendo iguales el resto de las características, cuanto mayor sea el número de individuos involucrados en los eventos de introducción, mayor será la probabilidad de encontrar una diversidad genética alta de las poblaciones resultantes (Hufbauer et al. 2013). En este sentido, el transporte de numerosos individuos es normalmente más frecuente en introducciones intencionadas, dirigidas a establecer poblaciones viables, que en introducciones involuntarias (Blackburn et al. 2013).

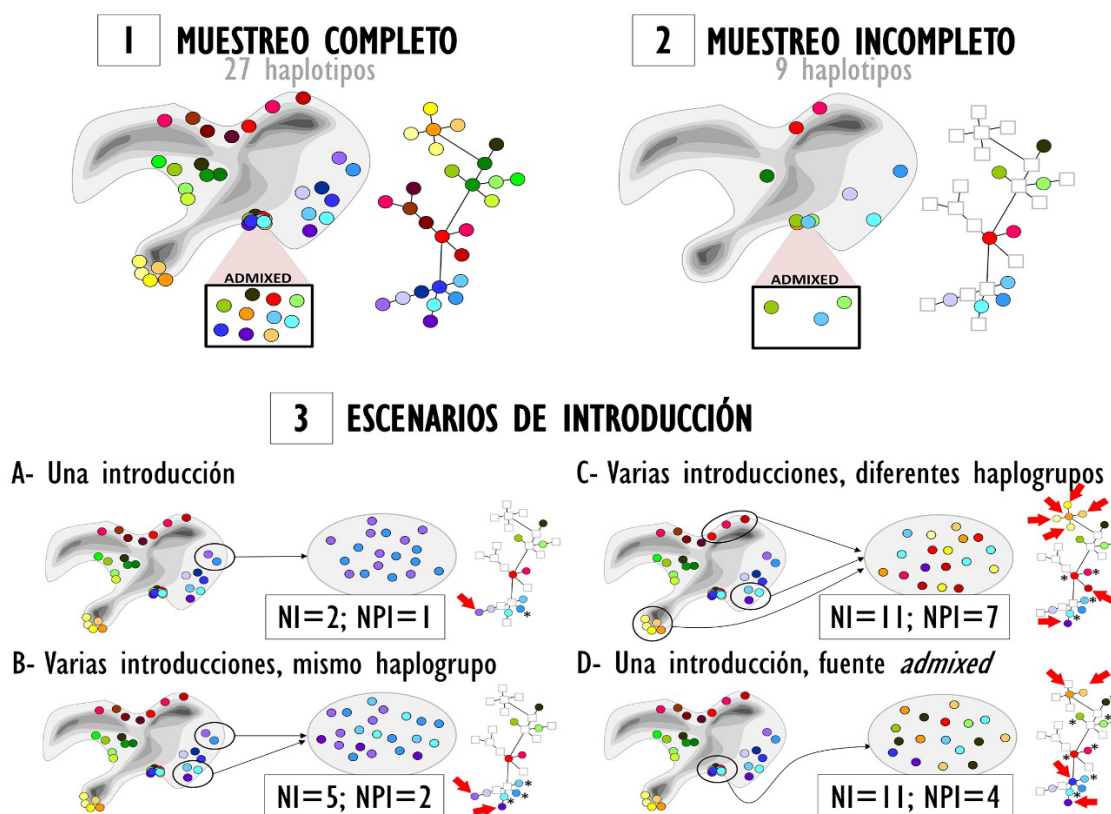


Figura 1. Posibles patrones de diversidad genética de una hipotética especie en su área nativa y no nativa, bajo diferentes escenarios de invasión, ejemplificando los mecanismos por los cuales la diversidad genética puede ser alta en áreas no nativas. En 1 y 2 se representa la situación en el área nativa. En 1, la variabilidad genética de las poblaciones nativas ha sido estudiada en profundidad, identificando todos los haplotipos (27 en total), cuyo sistema de relaciones se muestra, a la derecha, en una red de haplotipos hipotética. El rectángulo inferior amplía un área donde se encuentran poblaciones mezcladas (*admixed*). Sin embargo, esta cobertura completa no es una situación común, por lo que en 2 se presenta un caso en el que el conocimiento de la diversidad genética mucho más limitado (en el ejemplo, solo se identifican 9 haplotipos y la red de haplotipos es notablemente incompleta). En 3 se muestran posibles patrones de diversidad genética (NI = número de haplotipos, NPI = número de haplotipos privados) y estructura (redes de haplotipos) en áreas no nativas bajo diferentes escenarios de invasión, variando el número de eventos de introducción y sus poblaciones de origen. En las redes de haplotipos, los asteriscos (*) marcan los encontrados tanto en áreas nativas como no nativas, y las flechas rojas indican haplotipos exclusivos del área no nativa, asumiendo un muestreo incompleto del área nativa (i.e., 2).

Figure 1. Hypothetical genetic diversity patterns of a species within its native and non-native ranges, under different possible invasion scenarios, exemplifying mechanisms by which genetic diversity can be high in non-native areas. 1 and 2 represent the situation in the native area. In 1 native population and their genetic pools have been thoroughly studied, so that all haplotypes (27 in total) have been identified and their relationships is described by the hypothetical haplotype network shown to the right. The lower rectangle amplifies an area where admixed populations of the species are found. The full coverage shown in 1 is not a common situation and knowledge of the genetic pool is often incomplete due to sampling limitations, as shown in 2 (9 haplotypes identified and notably incomplete haplotype network). 3 shows possible genetic diversity (NI= number of haplotypes, NPI= number of private haplotypes) and structure (networks) outcomes in non-native areas from different invasion scenarios, varying the number of introduction events and their source populations. In the networks, asterisks (*) mark haplotypes found in both native and non-native areas and red arrows indicate those private to non-native area, assuming an incomplete survey of the genetic pool in the native are (i.e., 2).

Dejando de lado la diversidad genética, el hecho de que en poblaciones criptogénicas se detecten haplotipos privados se ha asociado a un supuesto carácter nativo (Cunningham 2008). Este razonamiento asume que si ciertos haplotipos se detectan únicamente en un área es porque habrían surgido allí, lo que indicaría que la especie es nativa de ese territorio. Consideramos que este argumento es erróneo porque la exclusividad de los haplotipos depende en gran medida de la exhaustividad del conocimiento sobre diversidad genética recabado en el área nativa (Muirhead et al. 2008; Fig. 1), y a menudo es difícil garantizar que se haya realizado un muestreo completo de los haplotipos existentes en ella. De hecho, dado que las especies invasoras tienden a ser más estudiadas en lugares en los que no son nativas (Hierro et al. 2005), la probabilidad de detectar haplotipos y considerarlos privados puede ser incluso mayor en éstos. Cabe destacar que este sesgo puede favorecer la percepción de que la diversidad haplotípica es mayor en ciertas áreas no nativas, lo que subraya la necesidad de estandarizar la riqueza haplotípica en función del esfuerzo de muestreo, tanto a nivel poblacional como en el número de individuos. Por ejemplo, Martínez-Laiz et al. (2021) describieron que más de dos tercios de los haplotipos encontrados en poblaciones no nativas del anfípodo *Caprella scaura* eran privados, debido a que gran parte de la variabilidad genética de la especie en su área nativa es desconocida.

En cualquier caso, es también posible que existan haplotipos realmente privados en áreas no nativas. Por ejemplo, pueden haber surgido nuevas variantes genéticas después de las introducciones, especialmente en aquellas que hayan ocurrido mucho tiempo atrás (Einfeldt et al. 2020). Además, como desarrollaremos más adelante, los haplotipos encontrados en las áreas no nativas de un taxón pueden haber desaparecido del área nativa original, generando una errónea percepción de exclusividad.

Las posibles interpretaciones erróneas de la riqueza o la exclusividad haplotípica ocurren cuando los haplotipos se consideran unidades independientes, en lugar de analizar las relaciones entre sus secuencias (es decir, la estructura genética), sobre las que informan las redes o árboles de haplotipos. Blakeslee et al. (2008) demostraron que los vínculos entre haplotipos proporcionan una base sólida para evaluar si una especie es nativa de un territorio. Si la especie ha colonizado un territorio de forma natural y ha evolucionado allí, los haplotipos descritos en él deberían formar un grupo coherente e independiente de los observados en otras zonas nativas. Este es el patrón observado en la población ibérica de rabilargo (*Cyanopica*), un género de aves con una distribución vicariante, que incluye un núcleo ibérico y otro en el oriente de Asia. Este peculiar patrón biogeográfico llevó a proponer que el rabilargo hubiese sido introducido en la península ibérica, pero esta posibilidad se descartó tras analizar el gen COI y descubrir dos grupos de haplotipos separados (ibérico y asiático; Fok et al. 2002). Sin embargo, si los haplotipos detectados en dos zonas distantes y/o aisladas aparecen entremezclados en las redes o árboles cabe deducir que el taxón ha sido introducido en una de ellas (Einfeldt et al. 2014), incluso cuando algunos haplotipos solo se hayan detectado allí.

Blakeslee et al. (2008) estudiaron *Littorina littorea*, una especie de caracol propia de costas rocosas, cuyo estatus en América del Norte era incierto, y encontraron que los haplotipos mitocondriales descritos allí aparecían anidados dentro de haplotipos europeos en las redes. A pesar de identificar un gran número de haplotipos en América del Norte ($n = 57$) y que más del 50 % de ellos eran privados, los autores concluyeron que la estructura genética apoyaba el estatus no nativo de *L. littorea* en América del Norte, hipótesis que ya había sido sugerida anteriormente en base a evidencias arqueológicas, históricas y biogeográficas (Blakeslee 2007). De manera similar, Trucchi y Sbordoni (2009) analizaron los patrones genéticos del puercoespín (*Hystrix cristata*) en Italia y el norte de África, mostrando que los 7 haplotipos detectados en Italia (de 161 especímenes) eran privados, pero aparecían entremezclados en las redes con los 6 haplotipos (de solo 6 individuos) identificados en el Magreb. Los autores concluyeron que estos resultados respaldaban el estatus no nativo del puercoespín en Italia y estimaron que habría habido diferentes eventos de introducción, que, en base a diversas evidencias, Masseti et al. (2010) sitúan en la alta edad media.

Problemas insalvables

Incluso aunque los datos genéticos hayan sido recopilados minuciosamente y se analicen e interpreten correctamente, pueden ofrecer una visión errónea sobre el estatus de una especie en un territorio. Esto se puede deber a distintos factores, como la pérdida de la estructura genética en el área nativa debido a introducciones realizadas dentro de ella (por ejemplo, Einfeldt et al. 2020), la incertidumbre o el desconocimiento sobre el área de distribución nativa de una especie (como en la hormiga *Pheidole megacephala*, una especie invasora en muchos lugares del planeta; Fischer y Fisher 2013), o incluso porque especies aún no descritas sean detectadas por primera vez como invasoras (Clavero et al. 2023). Sin embargo, el obstáculo más común para evaluar el carácter nativo mediante marcadores genéticos es la erosión genética en el área nativa causada por extinciones locales o regionales (Marchetti y Engstrom 2016). No es raro que una especie tenga un estado de conservación desfavorable en su área nativa mientras prospera como invasora en otras regiones (Baquero et al. 2023; Tedeschi et al. 2024), un fenómeno que ha sido denominado la "Paradoja Conservación-Invasión" (*Conservation-Invasion Paradox*, Hong et al. 2024). En casos extremos, una especie puede estar extinta en su área nativa mientras sigue existiendo —junto con parte de su acervo genético original, ahora único— exclusivamente en áreas donde había sido introducida (Crain y Moyle 2011).

El declive de una especie a menudo lleva aparejada una pérdida de diversidad genética, que se hace evidente cuando se comparan muestras contemporáneas e históricas (Diez-del-Molino et al. 2018). Se han documentado pérdidas importantes de haplogrupos o linajes ligados a declives severos en varios taxones, como el íbice alpino (*Capra ibex*) (Robin et al. 2022) o el lince ibérico (*Lynx pardinus*) (Casas-Marcé et al. 2017). Podría, por tanto, darse el caso de que en el pasado ocurriesen introducciones que tuvieran como fuentes poblaciones hoy desaparecidas, con haplotipos incluidos en linajes igualmente inexistentes en el área nativa. En este escenario, los patrones genéticos actuales podrían sugerir erróneamente que esas poblaciones introducidas son únicas y han estado aisladas durante mucho tiempo, lo que llevaría a pensar que son nativas de los territorios que hoy ocupan. Aunque pueda parecer inverosímil, este tipo de situaciones han sido documentadas en diferentes especies. Por ejemplo, el ciervo corso (*Cervus elaphus subsp. corsicanus*) representa un linaje único y muy divergente dentro del complejo específico del ciervo rojo. Se encuentra exclusivamente en Córcega y Cerdeña, y se originó a partir de una introducción antigua desde el centro de Italia (Hajji

et al. 2008; Doan et al. 2017). De manera similar, Mallorca alberga una población introducida de conejo (*Oryctolagus cuniculus*) que es genéticamente exclusiva y que divergió de otras poblaciones ibéricas hace más de 100 mil años (Seixas et al. 2014).

Si nos fijásemos exclusivamente en los patrones genéticos contemporáneos, tanto el ciervo corso como algunos de los conejos mallorquines podrían ser considerados especies nativas en sus respectivas islas. Sin embargo, contamos con un extenso conocimiento interdisciplinar (arqueológico, geológico, histórico y biogeográfico) que demuestra que tanto los ciervos como los conejos fueron introducidos en las islas mediterráneas. Estas islas se separaron de las costas continentales hace aproximadamente 5 millones de años (Gippoliti y Amori 2006) y sabemos que los conejos llegaron a Mallorca solo después de la colonización humana de la isla, hace aproximadamente 4300 años (Alcover 2008). Cabe resaltar que la información sobre los linajes exclusivos del ciervo y del conejo en Córcega y Mallorca, respectivamente, no llevó a cuestionar el sólido conocimiento acumulado sobre la evolución de las biotas insulares y el papel de los humanos en su transformación. En cambio, los patrones genéticos observados fueron contextualizados críticamente dentro de los procesos ecológicos y antropogénicos ya conocidos. Sin embargo, este no es siempre el procedimiento seguido en los estudios genéticos, que en ocasiones ignoran otras fuentes de conocimiento.

El cangrejo italiano en España

Austropotamobius, uno de los tres géneros de cangrejos de río nativos de Europa, tiene dos linajes principales, que divergieron hace entre 10 y 15 millones de años (Klobučar et al. 2013; Jelić et al. 2016). Estos linajes se han considerado tradicionalmente dos especies, *A. pallipes* y *A. torrentium* (Grandjean et al. 2002), pero actualmente se consideran complejos específicos, cada uno de los cuales incluye diferentes taxones con categoría de especie o subespecie (Pedraza-Lara et al. 2010; Parvulescu 2019). Dentro del complejo *pallipes* se aceptan actualmente dos especies, el cangrejo de patas blancas (*A. pallipes*, *sensu stricto*) y el cangrejo italiano (*A. fulcisanus*) (Crandall y De Grave 2017). Ha existido cierta confusión respecto al nombre científico del cangrejo italiano, ya que en base a los trabajos de Faxon (1914) se ha usado frecuentemente *Austropotamobius italicus* (por ejemplo, Alonso 2011). Sin embargo, el nombre *A. fulcisanus*, propuesto a finales del siglo XIX como *Astacus pallipes* var. *fulcisiana* (Ninni, 1886), debe prevalecer por ser anterior (Crandall y De Grave 2017). En su descripción, Ninni usó el cangrejo de río italiano (*gambero fluviale italiano*) como nombre común (Ninni 1886), empleo que mantenemos aquí (ver también Favilli y Manganeli 2002).

La península ibérica no alberga ninguna especie nativa de cangrejo de río (Ion et al. 2024). La hipótesis de una introducción histórica del cangrejo italiano en España se había sugerido durante décadas (por ejemplo, Albrecht 1983), pero el evento de introducción original y el posterior proceso de invasión solo se han descrito recientemente. El cangrejo italiano fue introducido para ser criado en los jardines de los Sitios Reales, por deseo del rey Felipe II, quien había negociado su adquisición durante al menos 25 años. Tras intentar obtener cangrejos de río de Flandes (posiblemente *Astacus astacus*) y Francia (*Austropotamobius pallipes*) en la década de 1560 (Clavero 2022), el envío final se realizó desde la Toscana en 1588 (Clavero et al. 2016). Este envío, bien documentado, explica de manera parsimoniosa el hecho de que los cangrejos de río ibéricos pertenezcan a la subespecie *Austropotamobius fulcisanus subsp. fulcisanus* (según Crandall y De Grave 2017), de la cual es sinónimo *Austropotamobius italicus subsp. italicus* (Fratini et al. 2005; Pedraza-Lara et al. 2010). La distribución nativa de esta subespecie se restringe a la Toscana y regiones italianas vecinas (Jelić et al. 2016). Más allá de la introducción documentada de *Austropotamobius fulcisanus subsp. fulcisanus*, Clavero et al. (2016) revisaron evidencias generadas por diferentes disciplinas, incluyendo patrones genéticos y filogeográficos, para construir una narrativa sólida sobre el estatus no nativo del cangrejo italiano en la península ibérica. Además de la evidencia genética, desarrollada a continuación, el estudio destacó: i) las nociones implícitas y explícitas de la ausencia de cangrejos de río en España antes de la introducción de 1588; ii) la falta de un nombre vernáculo para el cangrejo de río en las lenguas ibéricas; iii) el hecho de que el cangrejo de río se menciona por primera vez como alimento en España en el contexto de la corte, a principios del siglo XVII; iv) la ausencia de Branchiobdellida como ectosimbiontes (se habrían perdido debido al transporte), una característica excepcional entre los cangrejos de río europeos, compartida solo con los *Austropotamobius pallipes* irlandeses, que habían sido introducidos desde Francia en época medieval (Gouin et al. 2003; Subchev 2014); y v) el constante proceso de expansión de la especie debido a múltiples introducciones secundarias, que continuó hasta los 1970s.

Los primeros estudios sobre la genética del género *Austropotamobius* identificaron la conexión entre las poblaciones italianas e ibérica y destacaron la baja diversidad genética en estas últimas. Grandjean et al. (2001) propusieron que estos patrones habrían surgido "por un efecto fundador debido al origen antropogénico de los cangrejos de río en España", aunque también consideraron otras posibilidades para explicar la vicariancia ibérico-italiana. La principal alternativa era una hipotética desaparición antigua (en el orden de decenas de miles de años) de *A. fulcisanus* en el sur de Francia, debido a una supuesta expansión hacia el sur de *A. pallipes* que, por una igualmente supuesta superioridad competitiva, habría desplazado a *A. fulcisanus*, aislando poblaciones de las dos penínsulas. Este escenario no tiene base biogeográfica, ya que todas las subespecies de *A. fulcisanus* se encuentran confinadas, salvo introducciones, en la península itálica y la costa adriática de la península balcánica, estando su distribución limitada por las barreras que forman los Alpes y los Alpes Dináricos. Poco años después, Trontelj et al. (2005) concluyeron que "la Península Ibérica ha sido repoblada artificialmente desde el norte de Italia", siendo uno de los ejemplos "más evidentes" de la "influencia masiva" que la propagación artificial ha tenido en la distribución de *Austropotamobius* (ver también Gouin et al. 2003; Machino et al. 2004).

Contradiendo estas conclusiones, Diéguez-Urbeondo et al. (2008) afirmaron que el "estatus nativo [de *A. fulcisanus* en la península ibérica] no debería ser cuestionado", sentando las bases para trabajos genéticos posteriores. Aun así, los autores no descartaron la posibilidad de una introducción. Analizaron un fragmento del gen mitocondrial COI y encontraron dos haplotipos en España, que diferían en una sola mutación, uno de los cuales era exclusivo de España (es decir, no presente en poblaciones

italianas). Los propios autores reconocieron que el carácter privado del haplotipo podría deberse a un fuerte sesgo de muestreo, ya que el estudio utilizó 229 individuos de 24 poblaciones españolas y solo 24 individuos de 4 poblaciones italianas de *A. fulcisianus subsp. fulcisianus*. Lejos de ir corrigiéndose, este sesgo de muestreo se ha acentuado notablemente en trabajos posteriores (Fig. 2). Mientras que el tamaño de la muestra ibérica ha aumentado constantemente, tanto en términos de poblaciones como de individuos, no se ha hecho ningún esfuerzo por caracterizar el acervo genético en Italia. Como resultado, la proporción de poblaciones italianas incluidas en los diferentes estudios ha disminuido con el tiempo, cayendo por debajo del 5 % en los artículos más recientes (Fig. 2).

Los trabajos genéticos que presentan al cangrejo italiano como una especie nativa en la península ibérica (Pedraza-Lara et al. 2010; Matallanas et al. 2011; 2016; Martín-Torrijos et al. 2021; Martínez-Ríos et al. 2023) han basado sus conclusiones en la riqueza y exclusividad de haplotipos detectados. Como se discutió anteriormente, este razonamiento nos parece erróneo, y proponemos que una correcta evaluación de las hipótesis en discusión debería centrarse en las relaciones entre haplotipos. De hecho, Clavero et al. (2016) y Clavero (2022) reinterpretaron los datos publicados y demostraron que los patrones genéticos también tienden a confirmar que la presencia de *A. fulcisianus* en la península ibérica se originó a partir de una introducción desde Italia. En lo que sigue, utilizamos los resultados del estudio más reciente (Martínez-Ríos et al. 2023) para ejemplificar el respaldo genético a esta condición no nativa, que contradice la interpretación de los autores originales. Dado que los estudios genéticos tienden a progresar de manera anidada (es decir, los estudios recientes utilizan las secuencias generadas por estudios previos, añadiendo otras nuevas), centrarse en el trabajo más reciente permite una discusión basada en un resumen de todas las contribuciones anteriores.

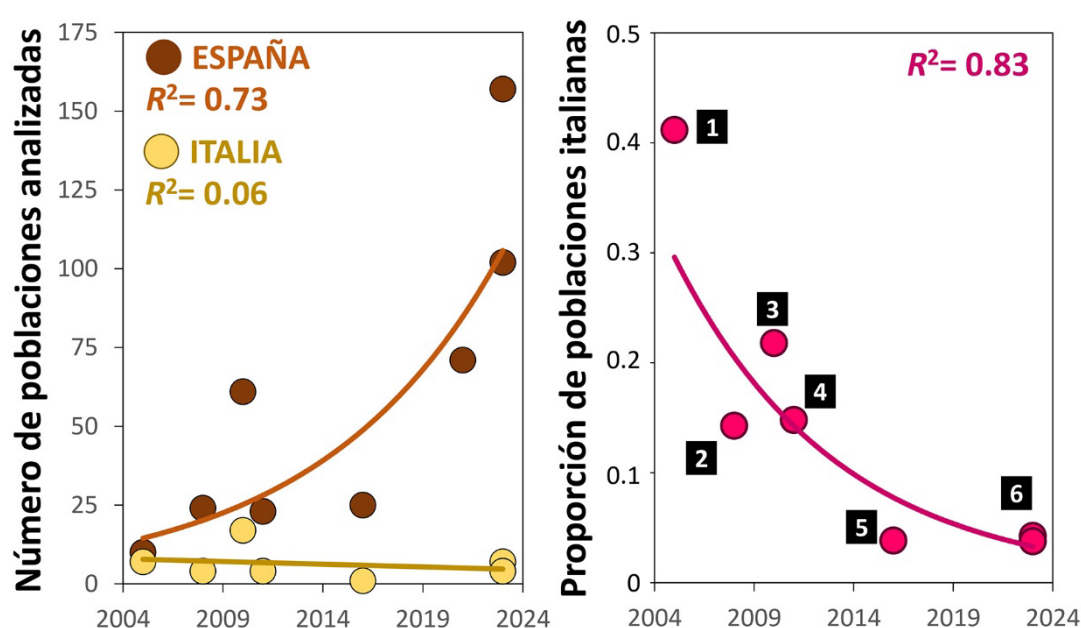


Figura 2. Poblaciones españolas e italianas de cangrejo italiano (*Austropotamobius fulcisianus*) de la subespecie *fulcisianus* utilizadas en estudios genéticos que tratan el estatus de la especie en la península ibérica. El gráfico izquierdo muestra la evolución temporal del número de poblaciones de ambos territorios, mientras el derecho muestra la proporción de poblaciones italianas en los conjuntos de datos utilizados. Las líneas y sus respectivos coeficientes de determinación (R^2) corresponden a funciones exponenciales. Los números en el panel izquierdo indican cada estudio, como sigue: 1) Trontelj et al. (2005); 2) Diéguez-Urbeondo et al. (2008); 3) Pedraza-Lara et al. (2010); 4) Matallanas et al. (2011); 5) Matallanas et al. (2016); 6) Martínez-Ríos et al. (2023), con dos conjuntos de datos (ver Figura 3).

Figure 2. Spanish and Italian *Austropotamobius fulcisianus subsp. fulcisianus* populations used in genetic-based works dealing with the nativeness status of the species in Iberia. Left panel shows the number of populations from both territories in relation to the year of publication of the study, while right one shows the proportion of Italian populations in datasets. Lines and their respective coefficient of determination (R^2) correspond to exponential functions. Numbers in left panel indicate each study, as follows: 1) Trontelj et al. (2005); 2) Diéguez-Urbeondo et al. (2008); 3) Pedraza-Lara et al. (2010); 4) Matallanas et al. (2011); 5) Matallanas et al. (2016); 6) Martínez-Ríos et al. (2023), two datasets (see Figure 3).

Martínez-Ríos et al. (2023) utilizaron dos conjuntos de datos, con secuencias concatenadas de los genes 16S y COI, basados en información extraída de GenBank y en sus propios trabajos de secuenciación. El primer conjunto de datos tenía como objetivo maximizar la cobertura espacial y de linajes a expensas de acortar la longitud de las secuencias (1344 individuos, 249 poblaciones, secuencias de 948 pb para *A. pallipes* y *A. fulcisianus*), mientras que el segundo priorizaba secuencias más largas de *Austropotamobius fulcisianus subsp. fulcisianus* (661 individuos, 106 poblaciones, secuencias de 2449 pb). Ambos conjuntos de datos tenían una representación limitada de muestras italianas (ver punto 6 en Fig. 2), a pesar de lo cual las redes de haplotipos resultantes siguen respaldando el carácter introducido del cangrejo italiano en la península ibérica. Siguiendo el razonamiento propuesto por Blakeslee et al. (2008), ejemplificado arriba con los casos de *Littorina* o *Hystrix*, el hecho de que los haplotipos detectados en España estén entremezclados en las redes con los detectados en Italia (Fig. 3A y 3B) es un indicador

de que el cangrejo italiano fue introducido en España desde Italia. Es verdad que ese patrón también sería compatible con que el cangrejo italiano fuera nativo en la península ibérica y desde allí hubiese sido introducido en Italia. Pero esta posibilidad no tiene, como se ha discutido arriba, ninguna base biogeográfica y no se ajusta a los eventos históricos conocidos. De hecho, la introducción desde Italia, y en concreto desde la Toscana, concuerda con los resultados obtenidos a partir de otras aproximaciones, destacando el hecho de que el conocimiento previo es fundamental para contextualizar los resultados genéticos. Esto es evidente en casos extremos, como los del ciervo corso o el linaje exclusivo de conejo en Mallorca mencionados anteriormente, pero en todos los casos es un paso necesario para construir narrativas filogeográficas o para desarrollar hipótesis que puedan ser evaluadas explícitamente (ver Papadopolou y Knowles 2016).

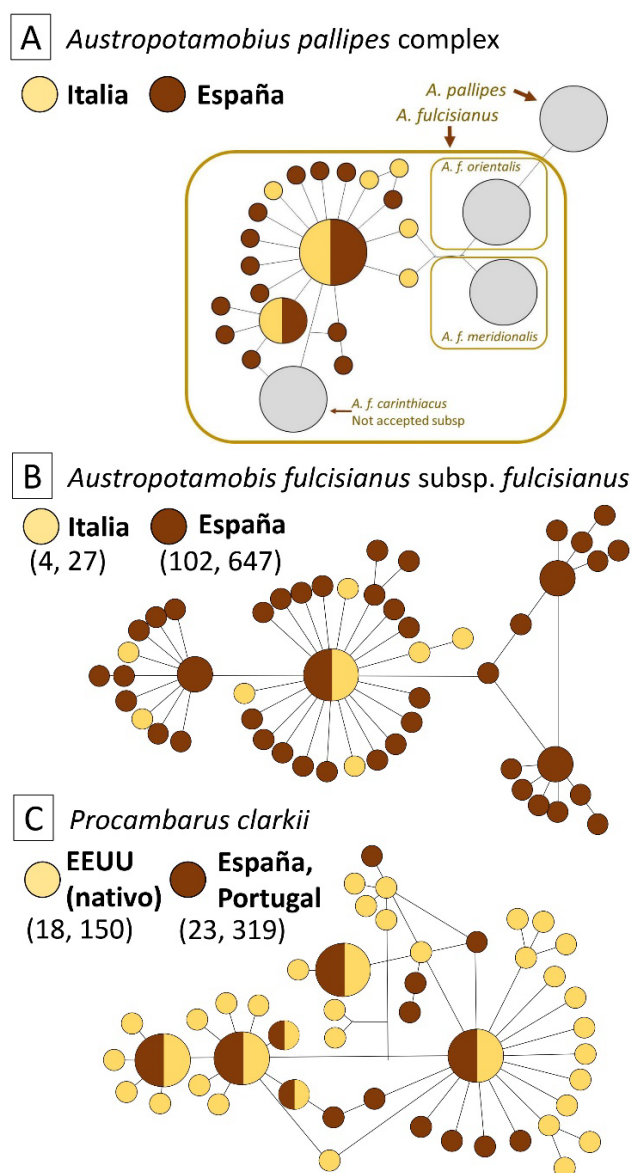


Figura 3. Relaciones entre los haplotipos de ADN mitocondrial detectados en poblaciones ibéricas y nativas de *Austropotamobius* (A, B, modificado de Martínez-Ríos et al. 2023) y *Procambarus clarkii* (C, modificado de Oficialdegui et al. 2019). A muestra una red de haplotipos basada en una secuencia concatenada de 948 bp de los genes 16S y COI para todo el complejo *A. pallipes* (que incluye a *A. pallipes* propiamente dicho y *A. fulcisanus*), aunque solo se resaltan los haplotipos correspondientes a *A. fulcisanus* subsp. *fulcisanus* (la subespecie presente en Iberia). B presenta los resultados a partir de una secuencia concatenada de 2449 bp de los mismos dos genes, cubriendo únicamente muestras de *A. fulcisanus* subsp. *fulcisanus*. C representa las relaciones entre un fragmento de 608 bp del gen COI de *Procambarus clarkii*. Los valores entre paréntesis en B y C indican el número de poblaciones e individuos analizados en cada una de las áreas (España/península ibérica vs. área nativa).

Figure 3. Haplotype networks representing the relationships among mitochondrial DNA haplotypes detected in Iberian and native populations of *Austropotamobius* (A, B, modified from Martínez-Ríos et al. 2023) and *Procambarus clarkii* (C, modified from Oficialdegui et al. 2019). A shows a haplotype network of a concatenated 948bp sequence of the 16S and COI genes for the entire *A. pallipes* complex, although only haplotypes corresponding to *A. fulcisanus* subsp. *fulcisanus* (the subspecies present in Iberia) are highlighted. B results from a concatenated 2449 bp sequence of the same two genes, covering only *A. fulcisanus* subsp. *fulcisanus* samples. C represents the relationships among a 608 bp fragment of the COI gene of *Procambarus clarkii*. Parentheses in B and C reflect the number of populations and individuals analysed in each of the areas (Spain/Iberia vs native area).

Las redes y métricas de haplotipos observadas para *Austropotamobius* en las penínsulas ibérica e itálica pueden compararse con los resultados de análisis homólogos para el cangrejo rojo (*Procambarus clarkii*). Esta especie, nativa del sureste de EE. UU. y el noreste de México, ha sido introducida en más de 40 países en todo el mundo a lo largo de más de 100 años (Oficialdegui et al. 2020). El cangrejo rojo fue introducido en España en dos eventos, en 1973 y 1974, y se expandió rápidamente por la península ibérica (Acevedo-Limón et al. 2020). Oficialdegui et al. (2019) analizaron un fragmento de 608 pb del gen COI en poblaciones de esta especie en gran parte de su distribución actual. De las redes de haplotipos presentadas en este trabajo, retuvimos únicamente los haplotipos presentes en poblaciones nativas e ibéricas, resultando en redes notablemente similares a las del cangrejo italiano (i.e., con una mezcla de haplotipos en áreas nativas y no nativas) (Fig. 3). Al igual que en el caso del cangrejo italiano, el cangrejo rojo en la península ibérica tiene un gran número de haplotipos y alta variabilidad genética en algunas poblaciones. Muchos de esos haplotipos (16) están compartidos con el área nativa en EE. UU., pero hasta 10 de ellos se detectaron únicamente en la península ibérica. Por supuesto, esta diversidad y exclusividad de haplotipos no indica que el cangrejo rojo sea nativo en la península, como no lo hace en el caso del cangrejo italiano. Patrones similares se conocen en otras especies invasoras de cangrejos de río, como el cangrejo señal (*Pacifastacus leniusculus*), una especie nativa del oeste de Norteamérica. Petrusek et al. (2017) reportaron una alta riqueza haplotípica en poblaciones europeas de esta especie, con una mayoría de haplotipos que no habían sido detectados en su área nativa. De nuevo, por supuesto, esto no constituye ninguna evidencia de que el cangrejo señal sea nativa en algún lugar de Europa.

Creemos que la supuesta alta diversidad haplotípica del cangrejo italiano en la península ibérica, que Martín-Torrijos et al. (2021) y Martínez-Ríos et al. (2023) afirman haber desvelado —ambos artículos utilizan el término *unraveling* en el título—, es en realidad un mero resultado del aumento en el esfuerzo de muestreo, tanto en número de poblaciones (Fig. 2) como en la longitud de los fragmentos de ADN analizados (comparar paneles A y B en la Figura 3). Para equilibrar la comparación entre las poblaciones italianas e ibéricas, el número de haplotipos debería estandarizarse en función del tamaño de la muestra y la longitud de los fragmentos de ADN. Aunque las mutaciones de ADN no ocurren con la misma frecuencia en todas las regiones, calculamos el número de haplotipos estandarizado a 10 poblaciones y fragmentos de 1000 pb. Utilizando los fragmentos de ADN más largos (Fig. 3B), estos valores son casi cinco veces mayores en las poblaciones italianas (8.2) que en las españolas (1.7). De hecho, la pérdida de diversidad haplotípica debido a las introducciones es mayor en el cangrejo italiano que en el cangrejo rojo (32 y 9.3 en poblaciones nativas e ibéricas, respectivamente).

En resumen, a pesar de la alta riqueza y exclusividad haplotípica, sabemos que el cangrejo rojo no es nativo en la península ibérica porque: 1) los patrones genéticos así lo sugieren; 2) esto concuerda con el conocimiento biogeográfico; y, especialmente, 3) conocemos las acciones y las motivaciones que llevaron a su introducción en España, así como las fechas en las que ocurrió y las personas que participaron en ella. Estas tres condiciones también se cumplen en el caso del cangrejo italiano. Para ambas especies, la gran cantidad de conocimiento acumulado respalda de manera sólida y coherente su estatus no nativo en la península ibérica.

Conclusiones

En este trabajo mostramos cómo interpretaciones erróneas de los patrones genéticos pueden generar, especialmente si se combinan con muestreos sesgados, descripciones desencaminadas de eventos históricos y patrones biogeográficos. Afortunadamente, existen pautas para interpretar los resultados genéticos adecuadamente, centrando la atención en las relaciones entre secuencias genéticas, lo que permite superar las limitaciones resultantes de evaluar únicamente la riqueza y exclusividad de los haplotipos. Cuando estas pautas se aplican al conflictivo caso del cangrejo italiano en España, queda claro que el debate es artificial y que a día de hoy no existen evidencias que cuestionen que *Austropotamobius fulcisanus* sea una especie introducida (lo mismo que puede decirse de *Procambarus clarkii*). El cangrejo italiano concentra una parte significativa de los esfuerzos dedicados a la conservación de la biodiversidad de las aguas continentales en España (Alonso 2012), y recientemente se ha aprobado una estrategia nacional para su conservación (MITECO 2024). Considerando la alta proporción de especies endémicas y el pobre estado de conservación de la fauna acuática ibérica (por ejemplo, Ribera 2000; Maceda-Veiga 2013; Nakamura et al. 2023), resulta evidente que es necesario reevaluar las estrategias de gestión y adaptarlas al hecho de que el cangrejo italiano sea una especie introducida (Clavero 2014).

La conservación del cangrejo italiano en España se ha basado en gran medida en la cría en cautividad y sueltas en zonas consideradas propicias para establecer nuevas poblaciones, unas acciones a las que la estrategia española pretende dar continuidad (MITECO 2024). Los lugares de suelta tienen que ser sistemas de aguas permanentes y estar libres de la presencia de especies americanas de cangrejos de río. Estos hábitats son cada vez más escasos y son vitales para diversas especies, que pueden verse perjudicados por la generación de nuevas poblaciones de cangrejos de río (Rosewarne et al. 2013; James et al. 2015). De hecho, tanto las especies americanas como las nativas europeas de cangrejo de río tienen un enorme potencial de transformación de los hábitats que ocupan (Gherardi et al. 2001; Weinländer y Füreder 2011; Nyström 2017), por lo que el impacto de las sueltas sobre la biodiversidad nativa debería ser adecuadamente evaluado.

Desde una perspectiva más general, queremos resaltar el valor del conocimiento interdisciplinar y los riesgos de valorar los resultados de un enfoque particular por encima de otros. Cuando diferentes estudios presentan resultados contradictorios, la generación de conocimiento sólido debe basarse en una evaluación crítica de las fortalezas y debilidades de cada metodología, sin asumir *a priori* la superioridad de ninguna en particular. Al comunicar públicamente metodologías y resultados científicos, tanto a la comunidad científica como a colectivos más amplios, es importante reconocer que disciplinas con un componente tecnológico avanzado, como los análisis genéticos, a menudo tienen mayor credibilidad que campos más tradicionales. Como se ha demostrado en el caso del cangrejo italiano, tal asunción puede no estar justificada. En el fomento de la cultura científica y la divulgación del conocimiento es fundamental transmitir el valor de las distintas disciplinas y las incertidumbres asociadas a cada una de ellas.

Financiación, permisos requeridos, potenciales conflictos de interés y agradecimientos

Los autores/as declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Este trabajo es resultado del proyecto CRAYMAP (*Crayfish invasions across time and space, a multidisciplinary approach*, PID2020-20026RB-I00), financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España. Queremos agradecer los comentarios de cuatro revisores anónimos y las observaciones de los editores, que contribuyeron a mejorar este trabajo.

Contribución de los autores

MC, SB y FJO Conceptualización, Curación de datos, Redacción- revisión y edición; MC Redacción- manuscrito original.

Disponibilidad de los datos

Este artículo no utiliza conjuntos de datos.

Referencias

- Acevedo-Limón, L., Oficialdegui, F.J., Sánchez, M.I., Clavero, M. 2020. Historical, human, and environmental drivers of genetic diversity in the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) invading the Iberian Peninsula. *Freshwater Biology* 65: 1460-1474. <https://doi.org/10.1111/fwb.13513>
- Albrecht, H. 1983. Besiedlungsgeschichte und ursprünglich holozane verbreitung der europäischen Flusskrebse. *Spixiana* 6: 61-77.
- Alcover, J.A. 2008. The first Mallorcans: prehistoric colonization in the Western Mediterranean. *Journal of World Prehistory* 21, 19-84. <https://doi.org/10.1111/fwb.13513>
- Alonso, F. 2011. *Austropotamobius italicus* (Faxon, 1914). *Atlas y libro rojo de los invertebrados amenazados de España (Especies Vulnerables)* (pp 651-672). Ministerio de Medio Ambiente Rural y Marino, Madrid.
- Alonso, F. 2012. *Austropotamobius pallipes*. *Bases ecológicas preliminares para la conservación de las especies de interés comunitario en España: Invertebrados* (p. 69). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, Madrid.
- Ascunce, M.S., Yang, C.C., Oakey, J., Calcaterra, L., Wu, W.J., Shih, C.-J., Goudet, J., et al. 2011. Global invasion history of the fire ant *Solenopsis invicta*. *Science* 331: 1066-1068. <https://doi.org/10.1126/science.1198734>
- Baquero, R.A., Oficialdegui, F.J., Ayllón, D., Nicola, G.G. 2023. The challenge of managing threatened invasive species at a continental scale. *Conservation Biology* 37: e14165. <https://doi.org/10.1111/cobi.14165>
- Barbaresi, S., Gherardi, F., Mengoni, A., Souty-Grosset, C. 2007. Genetics and invasion biology in fresh waters: a pilot study of *Procambarus clarkii* in Europe. *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats* (ed F. Gherardi) pp 381-400. Springer Dordrecht. The Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6029-8_20
- Bélouard, N., Paillisson, J.M., Oger, A., Besnard, A.L., Petit, E.J. 2019. Genetic drift during the spread phase of a biological invasion. *Molecular Ecology* 28: 4375-4387. <https://doi.org/10.1111/mec.15238>
- Blackburn, T.M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J.T., Duncan, R.P., Jarošík, V., Wilson, J.R.U., et al. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 26: 333-339. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023>
- Blackburn, T.M., Prowse, T.A., Lockwood, J.L., Cassey, P. 2013. Propagule pressure as a driver of establishment success in deliberately introduced exotic species: fact or artefact? *Biological Invasions* 15: 1459-1469. <https://doi.org/10.1007/s10530-013-0451-x>
- Blakeslee, A.M. 2007. Native or invasive? The case history of the marine snail, *Littorina littorea*, in northeast North America. In: Starkey, D., Holm, P., Barnard, M. (eds.), *Oceans Past: Management Insights from the History of Marine Animal Populations*, pp. 7-24. Earthscan, London, UK.
- Blakeslee, A.M., Byers, J.E., Lesser, M.P. 2008. Solving cryptogenic histories using host and parasite molecular genetics: the resolution of *Littorina littorea*'s North American origin. *Molecular Ecology* 17: 3684-3696. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03865.x>
- Blakeslee, A.M., Altman, I., Miller, A.W., Byers, J.E., Hamer, C.E., Ruiz, G.M. 2012. Parasites and invasions: a biogeographic examination of parasites and hosts in native and introduced ranges. *Journal of Biogeography* 39: 609-622. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02631.x>
- Blumenfeld, A.J., Eyer, P.A., Husseneder, C., Mo, J., Johnson, L.N., Wang, C., Grace, J.K., et al. 2021. Bridgehead effect and multiple introductions shape the global invasion history of a termite. *Communications Biology* 4: 196. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01725-x>
- Cabezas, M.P., Xavier, R., Branco, M., Santos, A.M., Guerra-García, J.M. 2014. Invasion history of *Caprella scaura* Templeton, 1836 (Amphipoda: Caprellidae) in the Iberian Peninsula: multiple introductions revealed by mitochondrial sequence data. *Biological Invasions* 16: 2221-2245. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0660-y>
- Carlton, J.T. 1996. Biological invasions and cryptogenic species. *Ecology* 77: 1653-1655. <https://doi.org/10.2307/2265767>
- Casas-Marce, M., Marmesat, E., Soriano, L., Martínez-Cruz, B., Lucena-Perez, M., Nocete, F., Rodríguez-Hidalgo, A., et al. 2017. Spatiotemporal dynamics of genetic variation in the Iberian lynx along its path to extinction reconstructed with ancient DNA. *Molecular Biology and Evolution* 34: 2893-2907. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx222>
- Clavero, M. 2014. Shifting baselines and the conservation of non-native species. *Conservation Biology* 28: 1434-1436. <https://doi.org/10.1111/cobi.12266>
- Clavero, M. 2016. Species substitutions driven by anthropogenic positive feedbacks: Spanish crayfish species as a case study. *Biological Conservation* 193: 80-85. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.11.017>
- Clavero, M. 2022. The King's aquatic desires: 16th century fish and crayfish introductions into Spain. *Fish and Fisheries* 23: 1251-1263. <https://doi.org/10.1111/faf.12680>
- Clavero, M., Nores, C., Kubersky-Piredda, S., Centeno-Cuadros, A. 2016. Interdisciplinarity to reconstruct historical introductions: solving the status of cryptogenic crayfish. *Biological Reviews* 91: 1036-1049. <https://doi.org/10.1111/brv.12205>
- Clavero, M., Suh, J., Franch, N., Aparicio, E., Buchaca, T., Caner, J., García-Rodríguez, S., et al. 2023. Invaders they are a-changing: A recent, unexpected surge of invasive loaches in Catalonia. *Freshwater Biology* 68: 621-631. <https://doi.org/10.1111/fwb.14051>

- Crain, P.K., Moyle, P.B. 2011. Biology, history, status and conservation of Sacramento perch, *Archoplites interruptus*. *San Francisco Estuary and Watershed Science* 9. <https://doi.org/10.15447/sfews.2011v9iss1art5>
- Crandall, K.A., De Grave, S. 2017. An updated classification of the freshwater crayfishes (Decapoda: Astacidea) of the world, with a complete species list. *The Journal of Crustacean Biology* 37: 615-653. <https://doi.org/10.1093/jcbl/rux070>
- Craven, D., Winter, M., Hotzel, K., Gaikwad, J., Eisenhauer, N., Hohmuth, M., König-Ries, B., et al. 2019. Evolution of interdisciplinarity in biodiversity science. *Ecology and Evolution* 9: 6744-6755. <https://doi.org/10.1002/ece3.5244>
- Cunningham, C.W. 2008. How to use genetic data to distinguish between natural and human-mediated introduction of *Littorina littorea* to North America. *Biological Invasions* 10: 1-6. <https://doi.org/10.1007/s10530-007-9099-8>
- Detry, C., Cardoso, J.L., Heras Mora, J., Bustamante-Álvarez, M., Silva, A.M., Pimenta, J., Fernandes, I., et al. 2018. Did the Romans introduce the Egyptian mongoose (*Herpestes ichneumon*) into the Iberian Peninsula? *The Science of Nature* 105: 1-13. <https://doi.org/10.1007/s00114-018-1586-5>
- Diéguez-Urbeondo, J., Royo, F., Souty-Grosset, C., Ropiquet, A., Grandjean, F. 2008. Low genetic variability of the white-clawed crayfish in the Iberian Peninsula: its origin and management implications. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 18: 19-31. <https://doi.org/10.1002/aqc.811>
- Díez-del-Molino, D., Sánchez-Barreiro, F., Barnes, I., Gilbert, M.T.P., Dalén, L. 2018. Quantifying temporal genomic erosion in endangered species. *Trends in Ecology & Evolution* 33: 176-185. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2017.12.002>
- Dlugosch, K.M., Parker, I.M. 2008. Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions. *Molecular Ecology* 17: 431-449. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03538.x>
- Doan, K., Zachos, F.E., Wilkens, B., Vigne, J.D., Piotrowska, N., Stanković, A., Jędrzejewska, B., et al. 2017. Phylogeography of the Tyrrhenian red deer (*Cervus elaphus corsicanus*) resolved using ancient DNA of radiocarbon-dated subfossils. *Scientific Reports* 7: 2331. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02359-y>
- Einfeldt, A.L., Doucet, J.R., Addison, J.A. 2014. Phylogeography and cryptic introduction of the ragworm *Hediste diversicolor* (Annelida, Nereididae) in the Northwest Atlantic. *Invertebrate Biology* 133: 232-241. <https://doi.org/10.1111/ivb.12060>
- Einfeldt, A.L., Jesson, L.K., Addison, J.A. 2020. Historical human activities reshape evolutionary trajectories across both native and introduced ranges. *Ecology and Evolution* 10(13), 6579-6592. <https://doi.org/10.1002/ece3.6391>
- Facon, B., Pointier, J.P., Jarne, P., Sarda, V., David, P. 2008. High genetic variance in life-history strategies within invasive populations by way of multiple introductions. *Current Biology* 18: 363-367. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.01.063>
- Favilli, L., Manganello, G. 2002. The Italian freshwater crayfish (*Austropotamobius fulcisanus*) (Crustacea, Decapoda, Astacidae) in the Farnate-Merse basin (Southern Tuscany). *Atti della Società Toscana di Scienze Naturali Residente in Pisa. Memorie. Serie B* 108: 43-49.
- Faxon, W. 1914. Notes on the crayfishes in the United States National Museum and the Museum of Comparative Zoology with descriptions of new species and subspecies to which is appended a catalogue of the known species and subspecies. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology at Harvard College* 40: 352-427. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.49092>
- Fischer, G., Fisher, B.L. 2013. A revision of *Pheidole* Westwood (Hymenoptera: Formicidae) in the islands of the Southwest Indian Ocean and designation of a neotype for the invasive *Pheidole megacephala*. *Zootaxa* 3683: 301-356. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3683.4.1>
- Fok, K.W., Wade, C.M., Parkin, D.T. 2002. Inferring the phylogeny of disjunct populations of the azure-winged magpie *Cyanopica cyanus* from mitochondrial control region sequences. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 269: 1671-1679. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2057>
- Fratini, S., Zaccara, S., Barbaresi, S., Grandjean, F., Souty-Grosset, C., Crosa, G., Gherardi, F. 2005. Phylogeography of the threatened crayfish (genus *Austropotamobius*) in Italy: implications for its taxonomy and conservation. *Heredity* 94: 108-118. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800581>
- Gherardi, F., Renai, B., Corti, C. 2001. Crayfish predation on tadpoles: a comparison between a native (*Austropotamobius pallipes*) and an alien species (*Procambarus clarkii*). *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 361: 659-668. <https://doi.org/10.1051/kmae:2001011>
- Gippoliti, S., Amori, G. 2006. Ancient introductions of mammals in the Mediterranean Basin and their implications for conservation. *Mammal Review* 36: 37-48. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2006.00081.x>
- Gouin, N., Grandjean, F., Pain, S., Souty-Grosset, C., Reynolds, J. 2003. Origin and colonization history of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes*, in Ireland. *Heredity* 91: 70-77. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800282>
- Grandjean, F., Gouin, N., Souty-Grosset, C., Diéguez-Urbeondo, J. 2001. Drastic bottlenecks in the endangered crayfish species *Austropotamobius pallipes* in Spain and implications for its colonization history. *Heredity* 86: 431-438. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00849.x>
- Grandjean, F., Frelon-Raimond, M., Souty-Grosset, C. 2002. Compilation of molecular data for the phylogeny of the genus *Austropotamobius*: one species or several? *Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture* 367: 671-680. <https://doi.org/10.1051/kmae:2002058>
- Hajji, G.M., Charfi-Cheikrouha, F., Lorenzini, R., Vigne, J.D., Hartl, G.B., Zachos, F.E. 2008. Phylogeography and founder effect of the endangered Corsican red deer (*Cervus elaphus corsicanus*). *Biodiversity and Conservation* 17: 659-673. <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9297-9>
- Haydar, D. 2012. What is natural? The scale of cryptogenesis in the North Atlantic Ocean. *Diversity and Distributions* 18: 101-110. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2011.00863.x>
- Hierro, J.L., Maron, J.L., Callaway, R.M. 2005. A biogeographical approach to plant invasions: the importance of studying exotics in their introduced and native range. *Journal of Ecology* 93: 5-15. <https://doi.org/10.1111/j.0022-0477.2004.00953.x>
- Hofman, C.A., Rick, T.C. 2018. Ancient biological invasions and island ecosystems: tracking translocations of wild plants and animals. *Journal of Archaeological Research* 26: 65-115. <https://doi.org/10.1007/s10814-017-9105-3>
- Hong, Y., Yuan, Z., Liu, X. 2024. Global drivers of the conservation-invasion paradox. *Conservation Biology* e14290. <https://doi.org/10.1111/cobi.14290>
- Hufbauer, R.A., Rutschmann, A., Serrate, B., Vermeil De Conchard, H., Facon, B. 2013. Role of propagule pressure in colonization success: disentangling the relative importance of demographic, genetic and habitat effects. *Journal of Evolutionary Biology* 26: 1691-1699. <https://doi.org/10.1111/jeb.12167>
- Hunter, M.E., Nico L.G. 2015. Genetic analysis of invasive Asian Black Carp (*Mylopharyngodon piceus*) in the Mississippi River Basin: evidence for multiple introductions. *Biological Invasions* 17: 99-114. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0708-z>
- Ion, M.C., Bloomer, C.C., Bărbăscu, T.I., Oficialdegui, F.J., Shoobs, N.F., Williams, B.W., Scheers, K., et al. 2024. World of Crayfish™: a web platform towards real-time global mapping of freshwater crayfish and their pathogens. *PeerJ* 12: e18229. <https://doi.org/10.7717/peerj.18229>
- James, J., Slater, F.M., Vaughan, I.P., Young, K.A., Cable, J. 2015. Comparing the ecological impacts of native and invasive crayfish: could native species' translocation do more harm than good? *Oecologia* 178: 309-316. <https://doi.org/10.1007/s00442-014-3195-0>

- Jelić, M., Klobučar, G.I., Grandjean, F., Puillandre, N., Franjević, D., Futo, M., Amouret, J., et al. 2016. Insights into the molecular phylogeny and historical biogeography of the white-clawed crayfish (Decapoda, Astacidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 103: 26-40. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.07.009>
- Kelager, A., Pedersen, J.S., Bruun, H.H. 2013. Multiple introductions and no loss of genetic diversity: invasion history of Japanese Rose, *Rosa rugosa*, in Europe. *Biological Invasions* 15: 1125-1141. <https://doi.org/10.1007/s10530-012-0356-0>
- Klobučar, G.I., Podnar, M., Jelić, M., Franjević, D., Faller, M., Štambuk, A., Gottstein, S., et al. 2013. Role of the Dinaric Karst (western Balkans) in shaping the phylogeographic structure of the threatened crayfish *Austropotamobius torrentium*. *Freshwater Biology* 58: 1089-1105. <https://doi.org/10.1111/fwb.12110>
- Lambeck-Cambor, A., Morcillo, F., Muñoz, J., Perdices, A. 2023. Genetic and ecological approaches to introduced populations of pumpkinseed sunfish (*Lepomis gibbosus*) in Southwestern Europe. *Diversity* 15: 1059. <https://doi.org/10.3390/d15101059>
- Larroque, J., Chevret, P., Berger, J., Ruelle, S., Adriaens, T., van den Berge, K., Schockert, V., et al. 2023. Microsatellites and mitochondrial evidence of multiple introductions of the invasive raccoon *Procyon lotor* in France. *Biological Invasions* 25: 1955-1972. <https://doi.org/10.1007/s10530-023-03018-2>
- Lejeune, C., Saunier, A., Petit, N., Bégue, M., Otani, M., Carlton, J.T., Rico, C., et al. 2014. High genetic diversity and absence of founder effects in a worldwide aquatic invader. *Scientific Reports* 4: 5808. <https://doi.org/10.1038/srep05808>
- Maceda-Veiga, A. 2013. Towards the conservation of freshwater fish: Iberian Rivers as an example of threats and management practices. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 23: 1-22. <https://doi.org/10.1007/s11160-012-9275-5>
- Machino, Y., Füreder, L., Laurent, P.J., Petutschnig, J. 2004. Introduction of the white-clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* in Europe. *Berichte des naturwissenschaftlich-medizinischen Vereins in Innsbruck* 91: 187-212.
- Marchetti, M.P., Engstrom, T. 2016. The conservation paradox of endangered and invasive species. *Conservation Biology* 30: 434-437. <https://doi.org/10.1111/cobi.12642>
- Martín-Torrijos, L., Buckley, D., Doadrio, I., Machordom, A., Diéguez-Urbeondo, J. 2021. Unraveling the hidden diversity of the native white claw crayfish in the Iberian Peninsula. *Frontiers in Ecology and Evolution* 9: 669292. <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.669292>
- Martínez-Laiz, G., Ros, M., Guerra-García, J.M., Faasse, M., Santos, A.M., Cabezas, M.P. 2021. Using molecular data to monitor the post-establishment evolution of the invasive skeleton shrimp *Caprella scaura*. *Marine Environmental Research* 166: 105266. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2021.105266>
- Martínez-Ríos, M., Martín-Torrijos, L., Casabella-Herrero, G., Tedesco, P., Machordom, A., Diéguez-Urbeondo, J. 2023. On the conservation of white-clawed crayfish in the Iberian Peninsula: Unraveling its genetic diversity and structure, and origin. *Plos One* 18: e0292679. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0292679>
- Masetti, M., Albarella, U., Mazzorin, J.D.G. 2010. The crested porcupine, *Hystrix cristata* L., 1758, in Italy. *Anthropozoologica* 45: 27-42. <https://doi.org/10.5252/az2010n2a2>
- Matallanas, B., Ochando, M.D., Vivero, A., Beroiz, B., Alonso, F., Callejas, C. 2011. Mitochondrial DNA variability in Spanish populations of *A. italicus* inferred from the analysis of a COI region. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401: 30. <https://doi.org/10.1051/kmae/2011052>
- Matallanas, B., Ochando, M.D., Alonso, F., Callejas, C. 2016. Update of genetic information for the white-clawed crayfish in Spain, with new insights into its population genetics and origin. *Organisms Diversity & Evolution* 16: 533-547. <https://doi.org/10.1007/s13127-016-0268-4>
- MITECO 2024. Estrategia para la conservación del cangrejo de río ibérico (*Austropotamobius pallipes*) en España. Disponible en: <https://www.miteco.gob.es/content/dam/miteco/es/biodiversidad/publicaciones/estrategias/Estrategia-cangrejo-25-1.pdf>.
- Muirhead, J.R., Gray, D.K., Kelly, D.W., Ellis, S.M., Heath, D.D., Macisaac, H.J. 2008. Identifying the source of species invasions: sampling intensity vs. genetic diversity. *Molecular Ecology* 17: 1020-1035. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03669.x>
- Nakamura, K., Sousa, R., Mesquita-Joanes, F. 2023. Collapse of native freshwater mussel populations: Prospects of a long-term study. *Biological Conservation* 279: 109931. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2023.109931>
- Ninni, A.P. 1886. Sul gambero fluviale italiano. *Atti della Società Italiana di Scienze Naturali* 29: 323-326.
- Nyström, P. 2017. Ecological impact of introduced and native crayfish on freshwater communities: European perspectives. In: Gherardi, F., Holdich, D.M. (eds.), *Crayfish in Europe as alien species*, pp. 63-85. Routledge. <https://doi.org/10.1201/9781315140469-6>
- Oficialdegui, F.J., Clavero, M., Sánchez, M.I., Green, A.J., Boyero, L., Michot, T.C., Klose, K., et al. 2019. Unravelling the global invasion routes of a worldwide invader, the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*). *Freshwater Biology* 64: 1382-1400. <https://doi.org/10.1111/fwb.13312>
- Oficialdegui, F.J., Sánchez, M.I., Clavero, M. 2020. One century away from home: how the red swamp crayfish took over the world. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 30: 121-135. <https://doi.org/10.1007/s11160-020-09594-z>
- Oficialdegui, F.J., South, J., Courchamp, F., Clavero, M. 2024. Nativeness is a binary concept—Invasiveness and its management are not. *Biological Conservation* 294: 110631. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2024.110631>
- Papadopolou, A., Knowles, L.L. 2016. Toward a paradigm shift in comparative phylogeography driven by trait-based hypotheses. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113: 8018-8024. <https://doi.org/10.1073/pnas.1601069113>
- Pârvolescu, L. 2019. Introducing a new *Austropotamobius* crayfish species (Crustacea, Decapoda, Astacidae): A miocene endemism of the Apuseni Mountains, Romania. *Zoologischer Anzeiger* 279: 94-102. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2019.01.006>
- Pedraza-Lara, C., Alda, F., Carranza, S., Doadrio, I. 2010. Mitochondrial DNA structure of the Iberian populations of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius italicus italicus* (Faxon, 1914). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 57: 327-342. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.06.007>
- Peters, J., Lebrasseur, O., Irving-Pease, E.K., Paxinos, P.D., Best, J., Smallman, R., Callou, C., et al. 2022. The biocultural origins and dispersal of domestic chickens. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 119: e2121978119. <https://doi.org/10.1073/pnas.2121978119>
- Petrusek, A., Filipová, L., Kozubíková-Balcarová, E., Grandjean, F. 2017. High genetic variation of invasive signal crayfish in Europe reflects multiple introductions and secondary translocations. *Freshwater Science* 36: 838-850. <https://doi.org/10.1086/694866>
- Pipek, P., Pyšek, P., Blackburn, T.M. 2015. How the Yellowhammer became a Kiwi: the history of an alien bird invasion revealed. *Neobiota* 24: 1-31. <https://doi.org/10.3897/neobiota.24.8611>
- Pooley, S.P., Mendelsohn, J.A., Milner-Gulland, E.J. 2014. Hunting down the chimera of multiple disciplinary in conservation science. *Conservation Biology* 28: 22-32. <https://doi.org/10.1111/cobi.12183>
- Rosewarne, P.J., Mortimer, R.J.G., Dunn, A.M. 2013. Size-dependent impacts of the endangered white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) (Lereboullet) on the littoral community. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 409: 06. <https://doi.org/10.1051/kmae/2013047>

- Ribera, I. 2000. Biogeography and conservation of Iberian water beetles. *Biological Conservation* 92: 131-150. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(99\)00048-8](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(99)00048-8)
- Rius, M., Darling, J.A. 2014. How important is intraspecific genetic admixture to the success of colonising populations? *Trends in Ecology & Evolution* 29: 233-242. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.02.003>
- Robin, M., Ferrari, G., Akgül, G., Münger, X., von Seth, J., Schuenemann, V.J., Dalén, L., et al. 2022. Ancient mitochondrial and modern whole genomes unravel massive genetic diversity loss during near extinction of Alpine ibex. *Molecular Ecology* 31: 3548-3565. <https://doi.org/10.1111/mec.16503>
- Roman, J., Darling, J.A. 2007. Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution* 22: 454-464. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2007.07.002>
- Seebens, H., Blackburn, T.M., Dyer, E.E., Genovesi, P., Hulme, P.E., Jeschke, J.M., Pagad, S., et al. 2017. No saturation in the accumulation of alien species worldwide. *Nature Communications* 8: 14435. <https://doi.org/10.1038/ncomms14435>
- Seixas, F.A., Juste, J., Campos, P.F., Carneiro, M., Ferrand, N., Alves, P.C., Melo-Ferreira, J.M. 2014. Colonization history of Mallorca Island by the European rabbit, *Oryctolagus cuniculus*, and the Iberian hare, *Lepus granatensis* (Lagomorpha: Leporidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 111: 748-760. <https://doi.org/10.1111/bij.12248>
- Sequeira, F., Aguilar, F.F., Madeira, F.M., Teixeira, J., Crespo, E., Ferrand, N., Rebelo, R. 2022. What can genetics tell us about the history of a human-mediated introduction of the golden-striped salamander south of its native range? *European Journal of Wildlife Research* 68: 78. <https://doi.org/10.1007/s10344-022-01628-0>
- Subchev, M. 2014. The genus *Branchiobdella* Odier, 1823 (Annelida, Clitellata, Branchiobdellida): a review of its European species. *Acta Zoologica Bulgarica* 66: 5-20.
- Szabó, P. 2010. Why history matters in ecology: an interdisciplinary perspective. *Environmental Conservation* 37: 380-387. <https://doi.org/10.1017/S0376892910000718>
- Tedeschi, L., Lenzner, B., Schertler, A., Biancolini, D., Essl, F., Rondinini, C. 2024. Threatened mammals with alien populations: distribution, causes, and conservation. *Conservation Letters*: e13069. <https://doi.org/10.1111/conl.13069>
- Trontelj, P., Machino, Y., Sket, B. 2005. Phylogenetic and phylogeographic relationships in the crayfish genus *Austropotamobius* inferred from mitochondrial COI gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 34: 212-226. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.09.010>
- Trucchi, E., Sbordoni, V. 2009. Unveiling an ancient biological invasion: molecular analysis of an old European alien, the crested porcupine (*Hystrix cristata*). *BMC Evolutionary Biology* 9: 1-10. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-109>
- Uller, T., Leimu, R. 2011. Founder events predict changes in genetic diversity during human-mediated range expansions. *Global Change Biology* 17: 3478-3485. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2011.02509.x>
- van Boheemen, L.A., Lombaert, E., Nurkowski, K.A., Gauffre, B., Rieseberg, L.H., Hodgins, K.A. 2017. Multiple introductions, admixture and bridgehead invasion characterize the introduction history of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe and Australia. *Molecular Ecology* 26: 5421-5434. <https://doi.org/10.1111/mec.14293>
- Weinländer, M., Füreder, L. 2011. Crayfish as trophic agents: effect of *Austropotamobius torrentium* on zoobenthos structure and function in small forest streams. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 401: 22. <https://doi.org/10.1051/kmae/2011039>
- Wilmshurst, J.M., Anderson, A.J., Higham, T.F., Worthy, T.H. 2008. Dating the late prehistoric dispersal of Polynesians to New Zealand using the commensal Pacific rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105: 7676-7680. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801507105>