

METODOLOGÍA DE ESTUDIO DE LA FAUNA CAVERNÍCOLA DEL GRUPO COLLEMBOLA EN LA PENÍNSULA IBÉRICA

Enrique Baquero^{1,2*}, Enrique Beruete¹ & Rafael Jordana¹

¹Universidad de Navarra, Facultad de Ciencias, Departamento de Biología Ambiental, Campus Universitario, 31080, Pamplona, España

²Universidad de Navarra, Instituto de Biodiversidad y Medioambiente (BIOMA), Campus Universitario, 31080, Pamplona, España – ebaquero@unav.es

Resumen: Desde hace unos años la actividad de la espeleología ha visto enriquecidos sus objetivos con la consideración del estudio de la vida en las cuevas. En la actualidad hay muchos biólogos dedicados al estudio de las biocenosis en miles de cavidades a lo largo de todo el mundo, y se están revisando algunas en las que solo se habían recogido datos geológicos. También hay muchos espeleólogos tradicionales que ahora, durante sus expediciones, además de realizar mapas y recoger parámetros fisicoquímicos, recogen material que envían a taxónomos con los que colaboran. La fauna de las cuevas es muy interesante, pero a la vez delicada y escasa, por lo que la captura de ejemplares debe hacerse con el máximo cuidado y limitación en el número de ejemplares. Tanto la propia visita a una cueva con fauna, como la captura, recogida de información, o envío final al taxónomo deberían hacerse con el máximo rigor. En este trabajo se pretende recopilar de forma clara y resumida todas las cuestiones que permiten conseguir este objetivo. Se consideran las actitudes, metodologías (como captura directa o trampas), los materiales a utilizar, la etiquetación, y el modo de realizar los envíos para el intercambio de material. Aunque la mayoría de las cuestiones metodológicas no están referidas a un área geográfica concreta, la clave de géneros que se incluye está enfocada a la identificación de los presentes en la península ibérica. No obstante, dada la riqueza existente en este territorio, será de cierta utilidad para otras regiones.

Palabras clave: Biodiversidad, clave de géneros, trampas pitfall, captura directa, almacenamiento, envío de material.

Methods for the study of cave-dwelling Collembola in the Iberian Peninsula

Abstract: For some years the activity of speleology has seen its objectives enriched with the study of cavernicolous lifeforms. Many biologists study now the biocoenoses in thousands of cavities throughout the world, including some where only geological data had hitherto been collected. There are also many traditional speleologists who during their expeditions, in addition to making maps and collecting physicochemical parameters, are now collecting biological material that they send to taxonomists with whom they collaborate. The fauna of the caves is at once very interesting and delicate and scarce, so the capture of specimens must be done both with the utmost care and under strict limits in the number of captured specimens. The visit to a cave with fauna, as well as the capture, collection of information, and sample shipment to the taxonomists, should be done with the utmost rigor. We list and summarily describe summarily aspects intended to achieve this objective. The attitudes, methodologies (such as direct capture or traps), materials to be used, labeling, and the shipment procedures are considered. Although most of the methodological issues do not refer to a specific geographic area, we include a key focusing on the genera present in the Iberian Peninsula. However, given the biological wealth existing in this territory, it will be of some use for other regions.

Key words: Biodiversity, key of genera, pitfall traps, direct capture, storage, material delivery.

Introducción

Se interpreta que las especies presentes en las cuevas buscan, y buscan, evitar depredación, competición o las condiciones extremas del exterior. No todos los habitantes de las cuevas son habitantes permanentes u obligados, y se estiman en entre 10 000 y 100 000 las especies presentes en todas las cuevas del mundo (Culver & Holsinger, 1992). La relación entre las cavidades y la fauna llamó la atención de los espeleólogos solo a partir de mediados del siglo XIX (Sendra & Reboleira, 2014). Si las especies son acuáticas se denominan estigobiontes (*stygobionts*). Aunque en su mayoría son invertebrados (Collembola, Arachnida, Coleoptera y Crustacea), también hay ejemplos entre los vertebrados (peces y salamandras). Tradicionalmente se han considerado cuatro categorías ecológicas: 1) troglobiontes (*troglobionts*), habitantes permanentes del ambiente subterráneo, nunca encontrados en el exterior; 2) troglófilos (*troglophiles*), suelen utilizar las cuevas para vivir o reproducirse, pero son encontrados en ambientes del exterior siempre que tengan condiciones de oscuridad y humedad similares a las de las cuevas; 3) troglóxenos (*trogloxenes*), buscan las cuevas como refugio

pero son encontrados frecuentemente en el exterior, sobre todo alimentándose; 4) accidentales (*accidentals*), cualquier especie encontrada en una cueva de manera excepcional (Howart 1983). Las especies terrestres, como lo son la mayoría de los Collembola, con adaptaciones al medio cavernícola (reducción o ausencia de ojos, reducción de la pigmentación, alargamiento de pelos y antenas) son incluidas en las categorías troglófilos de segundo nivel (*second level troglophile*) y troglobiontes (*troglobionts*) (Hamilton-Smith, 1971). En el “ambiente subterráneo” debe considerarse, además de las cavidades de ciertas dimensiones en las que cabe un ser humano, lo que llamamos cuevas o simas, las fracturas del suelo que tienen las mismas condiciones de humedad y oscuridad pero de dimensiones que solo permiten el acceso a pequeños animales. En este sentido se ha descrito el MSS (*Milieu Souterrain Superficiel; Mesovoid Shallow Substratum*) como un dominio subterráneo debajo de la superficie kárstica poco profunda (Juberthie *et al.*, 1980). Con seguridad los ejemplares capturados en cuevas que estén en conexión con un medio fracturado, o en conexión con

el MSS (coluvial o aluvial), serán solo una pequeña parte de la población existente (Mammola *et al.*, 2017; Ortuño *et al.*, 2013). Este trabajo pretende contribuir a que las lagunas de conocimiento existentes en el estudio de la fauna subterránea de la península ibérica (Sendra *et al.*, 2011) lleguen a desaparecer en un futuro próximo.

Las especies cavernícolas (considerando sobre todo los troglófilos y troglobiontes) suelen estar en baja densidad poblacional, se reproducen lentamente, y viven más tiempo, por lo que son vulnerables ante muestreos intensivos (Chapman, 1985).

Procedimiento

La captura de la fauna (en este caso en cuevas) no se restringe al momento en que el investigador contacta con el ejemplar. Antes se deben considerar muchos aspectos, desde el momento en que se visitará la cueva, cuestiones legales, el material a utilizar, la seguridad y, muy importante, el hecho de que la captura no afecte a las poblaciones y pueda sacarse a los ejemplares el máximo partido científico. Es por ello que hemos dividido el trabajo en secciones que permiten no saltarse ninguna de estas cuestiones.

1. Antes de la expedición

Lógicamente lo primero es la elección de la cueva o cavidad a estudiar. Será dependiente de nuestro interés, u objetivo. Dado el riesgo que supone la actividad de espeleología en sí es conveniente informar de nuestras intenciones con el fin de que se pueda avisar a los servicios de emergencia si no damos señales de vida pasado un tiempo.

Es imprescindible solicitar los permisos necesarios de la autoridad administrativa correspondiente, que suelen ser los Gobiernos Regionales, aunque hay también casos en que se requiere permiso de otras instituciones, o entidades privadas.

Disponer de la topografía de la cueva –previamente a la visita– es muy muy útil para programar su duración, o realizar un planteamiento previo de muestreo considerando distintas metodologías de muestreo. Hay que considerar la existencia de áreas con distintas características: con agua o sin ella, inundables o no, distintos materiales, distintos niveles, distancia al exterior, etc. Todo lo anterior nos lleva a la fase de preparación del material que deberemos llevar a la cueva: viales, aspiradores, elementos para trampas, cebos, etc. La ropa, y especialmente el calzado, debería ser exclusiva para la exploración, y estar limpia, con el fin de no introducir desde el exterior hongos o pequeños animales que puedan alterar la ecología de la cueva.

2. En la cueva

Las notas necesarias para contextualizar las capturas deberían realizarse con el material adecuado, tanto en el soporte (papel de calidad, o mejor, resistente al agua) como de escritura (lápiz o tinta resistente al agua). Existe en el mercado un “papel” llamado “de piedra” o “mineral” (fabricado con carbonato cálcico y polietileno) que es una buena opción. Con el fin de que el material recolectado pueda ser útil incluso a investigadores no relacionados con el recolector, es conveniente que incluya la mayor parte de esta información: cueva, región, coordenadas geográficas, recolector, lugar de recolección del material dentro de la cueva, fecha, hábitat y número de ejemplares por vial.

Solo si un organismo no puede ser identificado *in situ* debería ser capturado y sacrificado (Chapman, 1985). En este caso, con una simple fotografía se puede obtener la evidencia de la presencia del animal. En todo caso, para que la información sea útil, tanto si se captura al animal como si no, debe registrarse un mínimo de información: fecha, lugar con sus coordenadas (*datum*), condiciones ambientales, y otros, por ejemplo la presencia de materia orgánica de algún tipo, como guano o material vegetal con el que pueda tener relación el animal. Si finalmente se realiza la captura, el número de ejemplares a recoger debe mantener el equilibrio entre la conservación y la necesidad de observar los caracteres que permiten la identificación. Casi nunca es posible la identificación inequívoca si se dispone de un solo ejemplar, puesto que los caracteres suelen ser muy diferentes en juveniles y adultos, y para algunas especies también entre machos y hembras. La conservación de los ejemplares también puede afectar a la calidad de los caracteres, y en el caso de los ejemplares capturados en trampas ésta suele ser deficiente. La pérdida de articulaciones –o sedas– en los ejemplares capturados puede dificultar la identificación. Disponer de un número razonable de ejemplares (6–10) por observación suele ser muy conveniente. Por último, ante el caso de descripción de nuevas especies, las series tipo deberían constar de un número adecuado de ejemplares para asegurar la observación de los caracteres diagnósticos, y también para posibilitar que el material quede depositado en más de una institución.

La decisión de la metodología a adoptar para las capturas depende de muchos factores, que incluyen la tipología de la cueva, la riqueza estimada de especies, la abundancia para cada una de ellas, el tiempo disponible, la posibilidad de volver o no a la cavidad (si no es posible o previsible volver es mejor no utilizar trampas o cebos), y la experiencia de los investigadores.

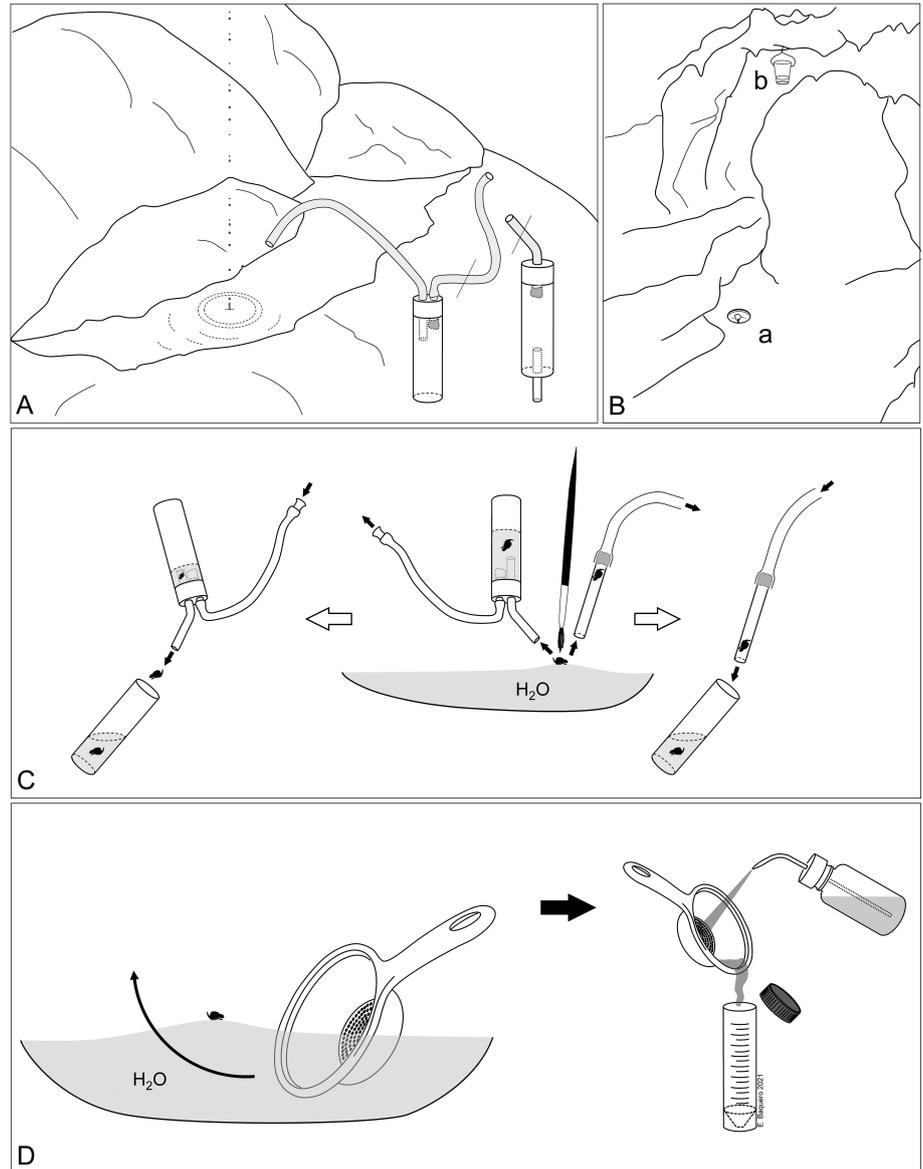
2.1. Captura directa

Es lógico pensar que una buena iluminación ayudará a detectar los animales. La pauta debe consistir en la observación de rocas (sobre todo si parece que mantienen la humedad) y charcos, en un ángulo marcado para que el animal quede resaltado, siendo muy sensibles al movimiento. Debemos buscar sobre todo irregularidades de las superficies, sobre todo en coloración blanca o blanquecina, color habitual de los colémbolos cavernícolas. No son buenos lugares para buscar aquellos en los que el movimiento de aire es evidente y más o menos permanente (disminuye la humedad relativa ambiental), y tampoco en los que el agua discurra con velocidad o violencia. En el caso de que las corrientes de aire sean puntuales, se puede buscar debajo de piedras y en zonas protegidas.

La optimización de la búsqueda de los colémbolos en las cuevas debe considerar el hecho de que los animales están permanentemente buscando alimento en ellas. Es decir, cualquier fuente de materia orgánica (*energy input*) que permita el crecimiento de hongos (alimento principal del grupo Collembola) será un buen sitio para buscar. En las cuevas con presencia de murciélagos el guano es un buen lugar, pero lo es también cualquier material vegetal que haya podido llegar a través de grietas o filtraciones, o los restos de otros animales. Parece que las grandes acumulaciones no favorecen la presencia de los cavernícolas debido a un exceso de competencia. En cambio, pequeñas acumulaciones

Fig. 1. A, detalle de la una cueva, mostrando agua acumulada en un *gour*, un pincel, y dos posibilidades de aspirador de boca para captura de ejemplares; **B,** localización de dos trampas pitfal en una cueva, una en el suelo (a) y otra colgada (b); **C,** modo de captura de los ejemplares localizados sobre la superficie del agua; **D,** otro modo de captura de ejemplares sobre superficie del agua, esta vez utilizando un pequeño colador o instrumento con un filtro.

Fig. 1. A, detail of a cave, showing accumulated water in a *gour*, a brush, and two possibilities of mouth aspirator to capture specimens; **B,** location of two pitfall traps in a cave, one on the ground (a) and the other hanging (b); **C,** mode of capture of the specimens located on the surface of water; **D,** another way of capturing specimens on the surface of water, this time using a small strainer or instrument with a filter.



en lugares apartados son más atractivas para ellos (Hunt & Millar, 2001). Da un buen rendimiento mover cuidadosamente piedras sueltas para buscar los animales que se ocultan bajo ellas, dejándolas de nuevo en la misma posición para no alterar la fisionomía y condiciones ambientales de esos refugios.

La captura en sí de los ejemplares puede hacerse de dos maneras: 1) tocar el ejemplar con el extremo de un pincel suave previamente humedecido en un charco, de forma que la tensión superficial mantenga al ejemplar sujeto a los pelos hasta que lo pongamos en un vial.; 2) usar un aspirador de boca (fig. 1).

Para la captura de ejemplares “epi-neustónicos”, sobre la superficie del agua, en charcos, *gours*, etc., dan buenos resultados los aspiradores de doble tubo: una vez capturado el ejemplar, se aspira cierta cantidad de agua, que lo arrastrará hasta el depósito, el exceso de agua se drena por el tubo de aspiración, provisto de filtro, y al acabar la captura se añade el líquido conservante (alcohol, etc.) y se cierra (fig. 1C). El pincel no es demasiado recomendable porque, al tocar el agua con él, los colémbolos –y cualquier partícula flotante– se alejan por un cambio en la tensión superficial. Si solo se dispone de pincel, habría que dirigir el colémbolo hasta el borde del charco, y una vez fuera del agua,

capturarlo. La capacidad de salto de los colémbolos dificulta ambas metodologías, por lo que hay que realizar una aproximación lenta hasta el último momento y estar atentos, ante un escape, a la nueva posición del ejemplar. Puede utilizarse también un pequeño colador, o un instrumento provisto de un filtro, tal como se describe en la fig. 1D.

2.2. Cebos

Aunque se han empleado distintos atrayentes (hígado, carne, levadura, queso, etc.) se recomienda la utilización de queso y, eventualmente levadura, por ser su empleo más cómodo y limpio. Se recomienda esparcir una pequeña cantidad de queso o, mejor, impregnar de un queso cremoso una zona lisa de roca que no reciba agua en cantidad, aunque colocarlo bajo una piedra lisa puede ayudar al suponer un refugio para los animales mientras comen. El tipo de queso a utilizar es cualquiera que combine solidez con olor fuerte. El cebo debería ser revisado en unos pocos días (2 a 7 días) para evitar que suponga un riesgo para alguna de las poblaciones por facilitarse la depredación. En todo caso nunca se debería dejar un cebo sin revisar durante tiempo indefinido. Pueden colocarse cebos en situaciones distintas, de forma que comprobemos si alguna de ellas tiene mejor rendimiento. Precaución: cualquier alimento dejado por los visitantes a la

cueva, espeleólogos o no, puede suponer una alteración de las condiciones naturales de la cueva en lo que se refiere a la cuestión trófica. Es aconsejable por tanto no dejar cebos tras la segunda visita, y ningún tipo de materia orgánica que no hubiera entrado de forma natural, pero también sacar lo que se encuentre.

2.3. Trampas

La trampa más utilizada es la tipo *pitfal* (Skvarla *et al.*, 2014). Hay que tener en cuenta que, en el caso de que la fauna sea escasa o la abundancia baja para alguna especie —y esto hay que suponerlo siempre así en principio—, la trampa ocasiona la muerte de gran cantidad de ejemplares (Chapman 1985). En el caso de algunos grupos como los coleópteros de la familia Carabidae esto ha sido demostrado (Hunt & Millar, 2001), pero no se sabe qué impacto tiene en el caso de los Collembola. En todo caso se pueden colocar trampas muy pequeñas y recogerlas a los pocos días (7–10 días). Insistimos, nunca se debe dejar una trampa por tiempo indefinido.

El tipo de envase puede variar, pero no debería ser muy grande para evitar la caída de animales de gran tamaño que no son objetivo. Un diámetro de entre 3 y 5 cm es suficiente, con una profundidad proporcional, por ejemplo 5 a 6 cm. Tras enterrar el envase se debe eliminar cualquier obstáculo entre el interior y el exterior, tanto porque sobresalga el reborde como porque haya una grieta entre el entorno y el borde. La arcilla o arena fina son buenos recursos para conseguirlo. El diseño de la trampa puede afectar mucho a los resultados (Boetzel *et al.*, 2018).

Las trampas sin cebo no son útiles en el ambiente cavernícola puesto que las densidades suelen ser bajas y las capturas muy escasas. Es imprescindible que el cebo quede fuera del alcance de los animales. Esto se puede hacer colocando el cebo en un pequeño envase pegado en el centro del de captura, a modo de isla rodeada del líquido fijador, pero hay muchas otras maneras de conseguirlo. Se ha propuesto que, para algunos grupos, combinar las trampas en el suelo con trampas colgantes desde el techo (fig. 1B) aumenta el rendimiento del muestreo, sobre todo en términos de riqueza (Kozel *et al.*, 2017).

Como líquido preservante pueden utilizarse varios, pero siempre hay que buscar una mínima evaporación equilibrada con buena conservación. Una primera opción es el propilenglicol, un alcohol no tóxico (se utiliza en alimentación) que tiene gran densidad y con el que se consigue una razonable conservación. Otro utilizado desde hace mucho tiempo es la solución de Gault (50 gr de sal común, 10 gr de hidrato de cloral, 10 gr de nitrato potásico, rellenando hasta un litro con agua) (Walker & Crosby, 1988). Recientemente se ha realizado un estudio que compara la eficacia de distintos líquidos preservantes utilizados en trampas para estudio del MSS (no en superficie), que incluye y acaba recomendando el etilenglicol (Jureková *et al.*, 2019), pero siendo un producto tóxico por ingestión para los vertebrados no es recomendable su uso en superficie. En lugares o condiciones en que los vertebrados no tienen acceso a la trampa puede ser una buena opción.

3. Almacenamiento y envío

Se recomienda que cuanto antes (tras la captura directa o desde *pitfal*) los ejemplares estén en el vial de menor tamaño que pueda contenerlos, y evitar burbujas de aire durante su

transporte (para disminuir al máximo el riesgo de rotura de apéndices). Puede utilizarse una pequeña cantidad de algodón para asegurar la inmovilidad, teniendo cuidado de no aplastar los ejemplares. Lo ideal es utilizar viales de cristal para facilitar la visión desde el exterior), que son introducidos en otro de mayor tamaño que disponga de cierre hermético y resistente al etanol (caucho, polietileno) (fig. 2). Es recomendable que el líquido fijador sea etanol 100 % para permitir estudios moleculares posteriores, y evitar en lo posible los Eppendorf™, por no tener un cierre seguro, ser de plástico, y degradarse con el tiempo. Añadiendo una pequeña cantidad de glicerina conseguimos que los animales se mantengan flexibles. Cuando se transportan vivos, aunque es de sentido común, hay que evitar mezclar especies en un mismo vial, sobre todo si una de ellas es de hábitos depredadores.

Para las etiquetas se recomienda utilizar “papel piedra” con lápiz, para evitar que el papel se deshaga, y también que las tintas que ensucien el alcohol. Como lo normal es que necesitemos que sean de pequeño tamaño, es recomendable diseñar para ellas un código con pocos caracteres alfanuméricos, preferiblemente que incluyan la fecha en formato YYYYMMDD para que se pueda ordenar, precedido de un código de lugar o proyecto, e incluir el nombre de la persona o grupo que ha hecho la captura terminado por el código “leg.”, que es la abreviatura de *legit* (en latín), y significa “recolector”. Esta etiqueta debe poder relacionarse sin ninguna duda con la información ampliada recogida en un cuaderno: cueva, región, coordenadas geográficas, recolector, lugar de recolección del material dentro de la cueva, fecha, hábitat y número de ejemplares por vial.

4. En el laboratorio

Es importante, cuanto antes, revisar el estado del material capturado o recibido. En ocasiones los ejemplares no se han hundido en el líquido fijador, o están acompañados de material que enturbia el medio o que puede romperlos (arena, otros objetos). Ponerlos en líquido limpio y con la concentración adecuada es esencial, sobre todo si se tiene intención de utilizarlos para estudios moleculares, que necesitan material almacenado en etanol 100 %. Se puede aprovechar para: a) llevar la información de la identidad (hasta donde se pueda) y su abundancia a una tabla con la información de la muestra; y b) fotografiar los ejemplares. Para esto último se recomienda utilizar un fondo negro con luz lateral de forma que se recorte lo más posible la silueta y permita un cierto reconocimiento.

Para el manejo de los animales se recomienda usar o bien una lanceta (por ejemplo un alfiler entomológico de acero inoxidable con la punta aplastada y doblada), o una pipeta de las dimensiones adecuadas. Hay que tener en cuenta que los colémbolos son animales muy delicados, que pierden fácilmente las antenas (y si están algo degradados también las patas), y que cualquier movimiento brusco, o pellizco dañará su integridad. Si es necesaria la reducción de líquido en la placa de observación puede utilizarse una pipeta con filtro, de modo que los ejemplares pueden ser retenidos en la punta y dispuestos en el vial de almacenamiento únicamente con una pequeña cantidad de líquido. Si son pocos es aconsejable manejarlos con la lanceta.

El almacenamiento final en etanol debe realizarse en doble tubo de cristal, el primero —pequeño— cerrado únicamente con algodón, y el segundo (exterior) con tapón con

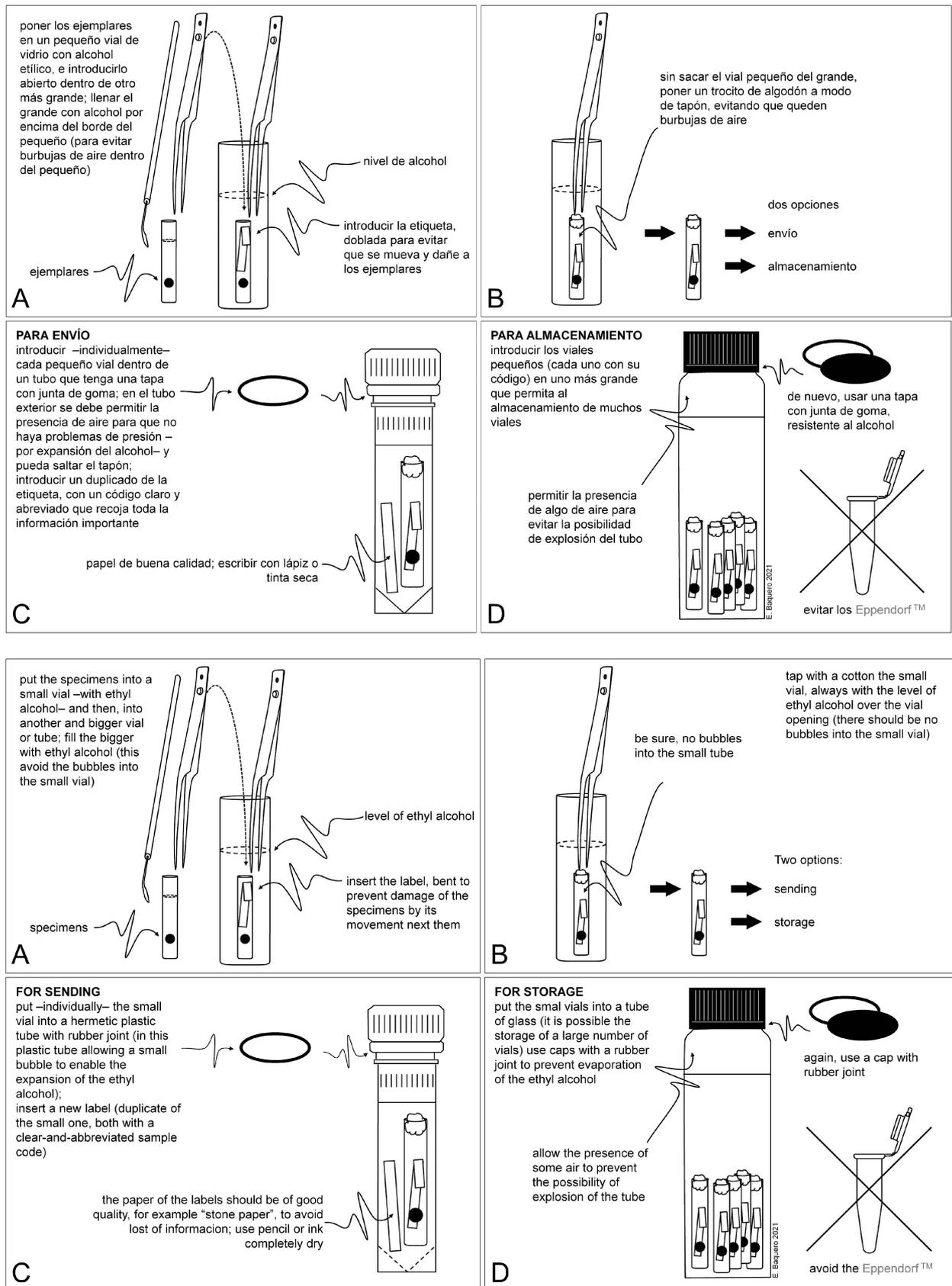


Fig. 2. Procedimiento a seguir para el envío y almacenamiento de pequeños artrópodos en alcohol etílico: **A**, modo de llenar completamente el vial pequeño que contiene los ejemplares y de introducir la etiqueta, utilizando una pinza y no solo las manos; **B**, modo de cerrar el vial con un algodón, también utilizando pinzas; **C**, ejemplo de almacenaje para enviar un pequeño vial; **D**, ejemplo de almacenaje compacto para grupos de muestras o sub-muestras, utilizando viales pequeños de vidrio y un tarro mayor, también de vidrio –con tapón con junta de goma– para evitar la desecación por evaporación del etanol.

Fig. 2. Procedure to be followed for the shipment and storage of small arthropods in ethyl alcohol: **A**, mode to fill completely the small vial containing the specimens and insert the label, using a forceps and not just your hands; **B**, mode to close the vial with a cotton ball, also using forceps; **C**, example of storage to send a small vial; **D**, example of compact storage for groups of samples or sub-samples, using small glass vials and a larger tube, also made of glass –with a rubber seal– to avoid drying by evaporation of ethano).

cierre hermético a la desecación. La etiquetación debería ser doble: una interior que garantiza la relación información-ejemplares, y otra exterior que facilita la ordenación sin tener que abrir los tubos. Hay que procurar que la interior sea visible sin tener que sacar el vial pequeño del grande, aunque esto no es siempre posible.

Para el montaje de los ejemplares en preparaciones para observación al microscopio (*slides*) se recomienda el medio original que describió Hoyer en 1882 (Hidrato de cloral, 200 g; Agua destilada, 50 ml; Goma arábica -escamas-, 30 g; Glicerina, 20 ml), descrito para su uso en Oseto & Gibb (2005). Para prepararlo hay disolver la goma arábica en agua a temperatura ambiente, añadir el hidrato de cloral y mezclar con paciencia hasta que todos los sólidos se hayan disuelto antes de añadir la glicerina y filtrar. Es verdad que, si después del montaje, y un secado parcial de varios días, no se sellan los bordes del cubre, el medio se deshidratará y encogerá, apareciendo entonces zonas secas y pudiendo estropear el ejemplar. Pero si el sellado es correcto el montaje puede considerarse definitivo y además tiene la ventaja de que es posible desmontar la preparación (este medio se disuelve en agua) para realizar un nuevo montaje o cualquier estudio necesario. Womersley, en 1943, publicó un trabajo que recogía la modificación hecha de este medio por Berlese y De Faure. Cuando es necesario aclarar los ejemplares, o partes de ellos, se recomienda la utilización del medio de Nesbit: hidrato de cloral (80 g), agua destilada (50 ml) y ácido clorhídrico concentrado (5 ml) (Krantz & Walter, 2009), manteniendo los ejemplares el tiempo necesario para obtener la transparencia necesaria (es recomendable hacerlo con el medio caliente, y vigilando constantemente el efecto del producto bajo la lupa). En el caso de algunos géneros, por ejemplo algunos de *Symphyleona*, es recomendable montar por separado la cabeza (en vista dorsal) y el cuerpo (en vista lateral). Algunos investigadores separan todavía más partes, por ejemplo las patas, para evitar solapamientos y poder observar mejor todas las sedas, muy útiles para la identificación en el caso de algunos grupos.

Los caracteres a observar para identificar los animales son muy variados dependiendo del grupo, algo que queda demostrado en los Anexos 1: Clave gráfica de los géneros presentes en las cavidades de la península ibérica y Anexo 2: *Graphic key of the genera present in the cavities of the Iberian Peninsula*. Lo ideal es que tanto el montaje como la identificación sean realizados por taxónomos especialistas del grupo Collembola.

Referencias

BOETZL, F.A., RIES, E., SCHNEIDER, G. & KRAUSS, J. 2018. It's a matter of design—how pitfall trap design affects trap samples and possible predictions. *PeerJ*, **6**: e5078. <https://doi.org/10.7717/peerj.5078>

CHAPMAN, P. 1985. Cave Biology on Tropical Expeditions. *Cave Science*, **12**(3): 81-84.

CULVER, D.C. & J.R. HOLSINGER 1992. How many species of troglobites are there? *Bulletin of the National Speleological Society*, **54**: 79-80.

HAMILTON-SMITH, E. 1971. The classification of cavernicoles. *Bulletin of the National Speleological Society*, **33**(1): 63-67.

HOWART, F.G. 1983. Ecology of Cave Arthropods. *Annual Review of Entomology*, **28**: 365-89.

HUNT, M. & MILLAR, I. 2001. *Cave Invertebrata Collecting Guide. Series: Department of Conservation technical series*, **26**: 28 pp.

JUBERTHIE, C., D. DELAY & M. BOUILLON 1980. Extension du milieu souterrain en zone non calcaire: description d'un nouveau milieu et de son peuplement par les Coléoptères troglobies. *Mémoires de Biospéologie*, **7**: 19-52.

JUREKOVA, N., N. RACHMANOVA, L. KOVAE, D. MIKLISOVA, M. ÈERVENA & J. CHRISTOPHORYOVA 2019. Type of fixative solution in pitfall traps as a decisive factor affecting community parameters of Collembola (Hexapoda) inhabiting superficial subterranean habitats. *The Science of Nature*, **106**: 21. <https://doi.org/10.1007/s00114-019-1611-3>

KOZEL, P., T. PIPAN, N. ŠAJNA, S. POLAK & T. NOVAK 2017. Mitigating the conflict between pitfall-trap sampling and conservation of terrestrial subterranean communities in caves. *International Journal of Speleology*, **46**(3): 359-368. <https://doi.org/10.5038/1827-806X.46.3.2123>

KRANTZ, G. W. & D.E.E. WALTER 2009. *A Manual of Acarology*. Third Edition. Lubbock (Texas): Texas Tech University Press. 807 pp.

MAMMOLA, S., E. PIANO, P.M. GIACHINO & M. ISAIA 2017. An ecological survey of the invertebrate community at the epigeal/hypogean interface. *Subterranean Biology*, **24**: 27-52. <https://doi.org/10.3897/subtbiol.24.21585>

ORTUÑO, V.M., J.D. GILGADO, A. JIMÉNEZ-VALVERDE, A. SENDRA, G. PÉREZ-SUÁREZ *et al.* 2013. The "Alluvial Mesovoid Shallow Substratum", a New Subterranean Habitat. *PLoS ONE*, **8**(10): e76311. <https://doi.org/journal.pone.0076311>

OSETO, C. & T.J. GIBB 2005. *Arthropod Collection and Identification: Laboratory and Field Techniques*. Academic Press, 336 pp.

SENDRA, A., A. ACHURRA, P. BARRANCO, E. BERUETE, P.A.V. BORGES, J.J. HERRERO-BORGOÑÓN, A.I. CAMACHO, C. GALÁN, L.I. GARCÍA, D. JAUME, R. JORDANA, J. MODESTO, M.A. MONSALVE, P. OROMÍ, V.M. ORTUÑO, C. PRIETO, A.S. REBOLEIRA, P. RODRÍGUEZ, J.M. SALGADO, S. TERUEL, A. TINAUT & J.A. ZARAGOZA 2011. Biodiversidad, Regiones Biogeográficas y Conservación de la Fauna Subterránea Hispano-Lusa. *Boletín de la Sociedad Aragonesa (S.E.A.)*, **49**: 365-400. www.sea-entomologia.org

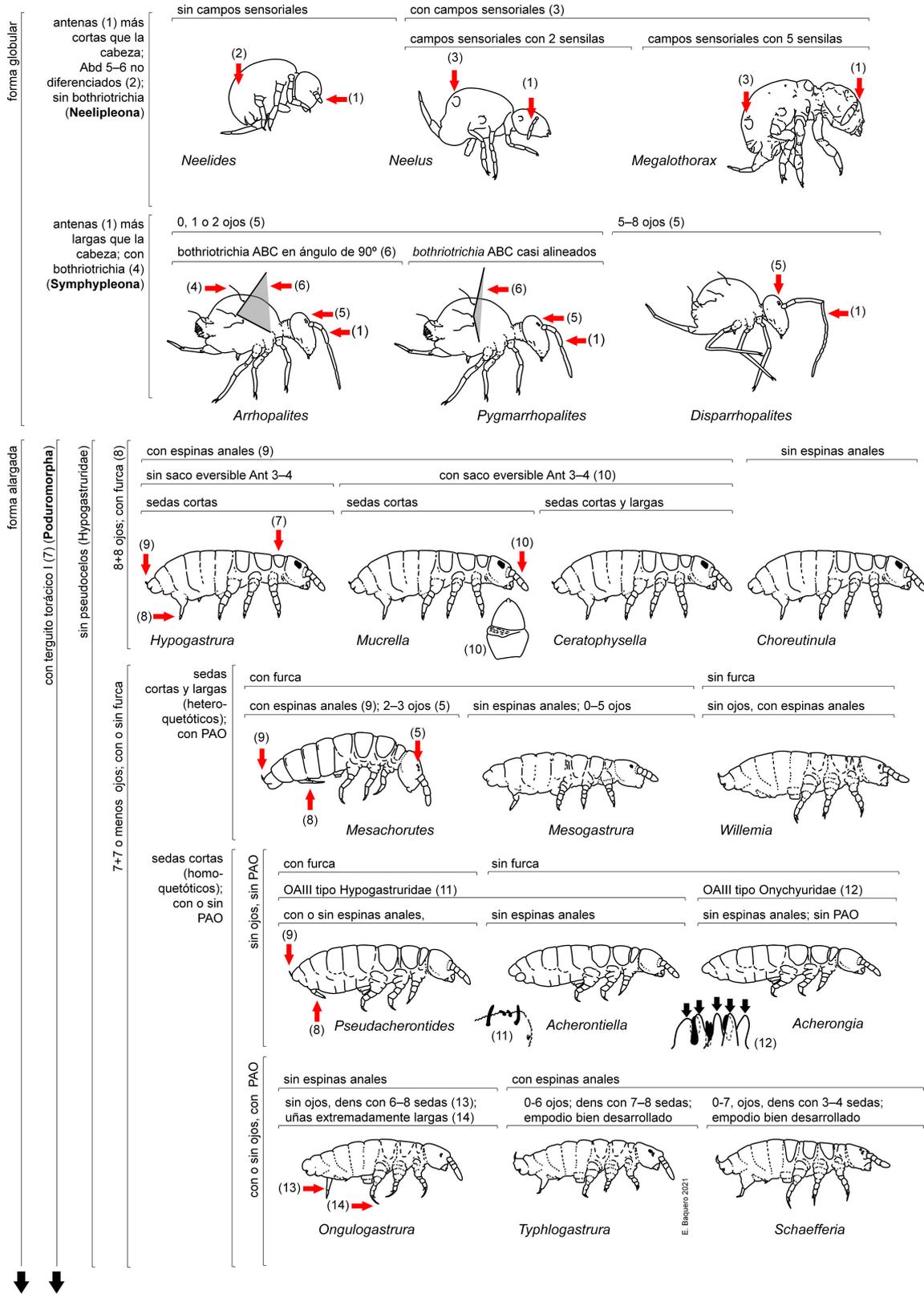
SENDRA, A. & A.S.P.S. REBOLEIRA 2014. La extensión y los límites de la fauna en los hábitats subterráneos. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, **38**(3-4): 203-224.

SKVALRLA, M.J., J.L. LARSON, & A.P.G. DOWLING 2014. Pitfalls and preservatives: a review. *Journal of the Entomological Society of Ontario (JESO)*, **145**: 15-43.

WALKER, A.K. & T.K. CROSBY 1988. *The preparation and curation of insects*. DSIR Information series 163. Science Information Publishing Centre, DSIR, Wellington.

WOMERSLEY, H. 1943. A modification of Berlese's medium for the microscopic mounting of Acarina and other small arthropods. *Transactions of the Royal Society of South Australia*, **67**: 181-182.

Anexo 1. Clave gráfica de los géneros presentes en las cavidades de la península ibérica.



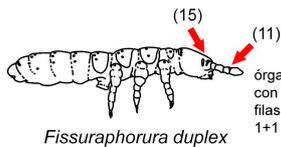
Anexo 1. Clave gráfica de los géneros presentes en las cavidades de la península ibérica (cont.).

forma alargada

con terguito torácico I (7) (Poduromorpha)

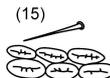
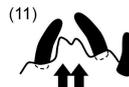
con pseudocelos (Tullbergidae y Onychiuridae)

OAIII (adultos): 2-3 gruesas sensilas dorsales, sin papilas de guarda (11)



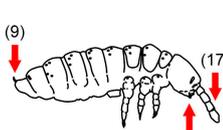
Fissuraphorura duplex

órgano post-antenal con 6-8 vesículas con aspecto de 'grano de café', en dos filas (15); primer segmento torácico con 1+1 pseudocelos



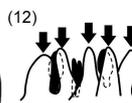
OAIII con papilas de guarda (12)

con espinas anales (9)
Pseudocelos cefálicos dorsales presentes

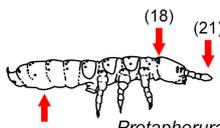


Hymenaphorura (16)

labium con 4 papilas, papila lateral 'E' ausente (16); OAIII con 4 sedas de guarda (17); furca reducida a un área finamente granulada con sedas posteriores

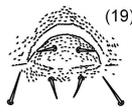
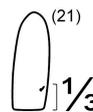


Pseudocelos cefálicos dorsales presentes (18)
furca: pliegue cuticular granuloso o liso (19-20)

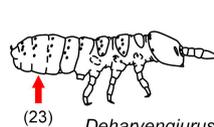


Protaphorura

microsensillum del Ant 4 localizado al nivel de la primera fila de sedas basales (21); furca reducida a un bolsillo cuticular granuloso con 2+2 o 1+1 sedas (19)

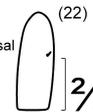


Pseudocelos cefálicos dorsales presentes (18)
furca: sin pliegue cuticular granuloso (23), o sin furca (23)



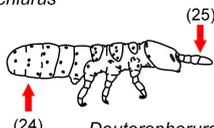
Yoshiiphorura

microsensillum del Ant 4 localizado en la parte basal del tercio apical (22); furca reducida a un bolsillo cuticular liso, con 1+1 sedas en su base y 1+1 sobre él (20)



sin espinas anales
uñas normales

furca reducida a un área finamente granulada con 2 + 2 sedas en una sola fila (24)



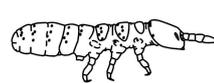
Deuteraphorura

AOIII con 5 papilas que protegen las sensilas especiales con morfología de palo de golf (25); uña como mucho tan larga como el último segmento antenal

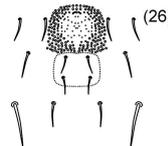


sin espinas anales
uñas muy desarrolladas (27)

furca reducida a un área finamente granulada con 2 + 2 sedas en dos filas (26)

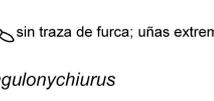


Micronychiurus



sin espinas anales
uñas muy desarrolladas (27)

sin traza de furca; uñas extremadamente largas

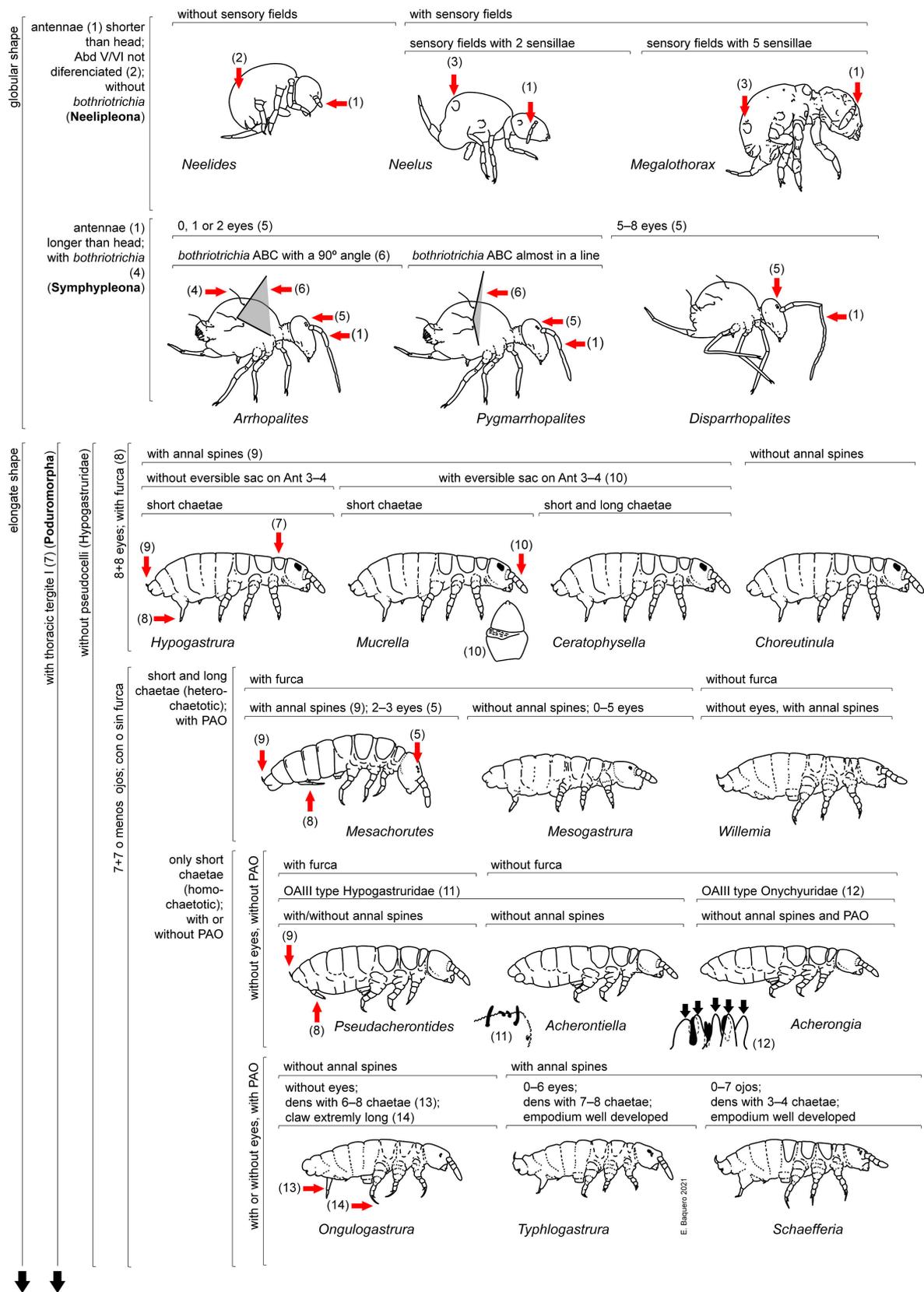


Ongulonychurus

(27)

E. Baquero 2021

Anexo 2. Graphic key of the genera present in the cavities of the Iberian Peninsula.



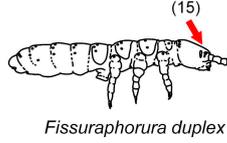
Anexo 2. Graphic key of the genera present in the cavities of the Iberian Peninsula (cont.)

elongate shape

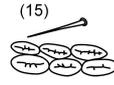
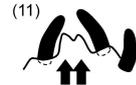
with thoracic tergite I (7) (**Poduromorpha**)

with pseudocelli (Tullbergidae y Onychiuridae)

OAIII (adults): 2-3 thickened dorsal sensory clubs, without guard papillae (11)



postantennal organ with 6-8 coffee-bean-like vesicles in 2 rows (15); first thoracic segment with 1+1 pseudocelli

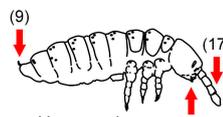


Fissuraphorura duplex

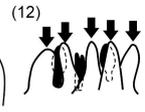
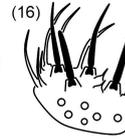
OAIII with guard papillae (12)

with annal spines (9)

posterior cephalic pseudocelli absent



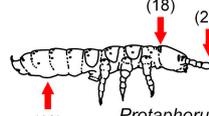
labium with four papillae, lateral 'E' papilla absent (16); AOIII with 4 guard chaetae (17); furca reduced to finely granulated area with chaetae posteriorly



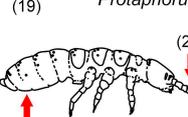
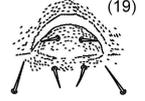
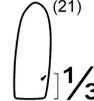
Hymenaphorura (16)

posterior cephalic pseudocelli present (18)

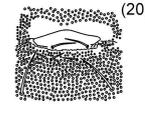
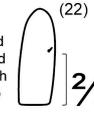
furca: cuticular fold granulated or smooth (19-20)



microsensillum of fourth antennal segment located at the level of second row of chaetae (21); furca reduced to cuticular granulated pocket with 2+2 or 1+1 chaetae (19)

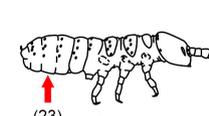


microsensillum of fourth antennal segment located on the basal part of apical third (22); furca reduced to cuticular pocket with an area not granulated with 1+1 chaeta at its base, and 1+1 chaetae on it (20)



Yoshiiphorura

furca: without fold granulated area (23)

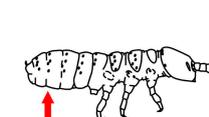


distal whorl of chaetae on tibiotsarsi with 11 pointed chaetae; furca reduced to finely granulated area with 1+1 chaetae posteriorly (23), or without trace of furca

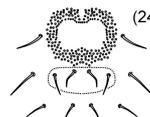


Deharvengiurus

furca: only a finely granulated area (23-24)



distal whorl of chaetae on tibiotsarsi with 9 or 7 pointed chaetae; furca reduced to finely granulated area with 2+2 chaetae (24) or 1+1 chaetae posteriorly (23).

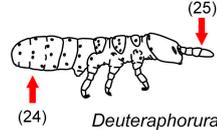


Onychiurus

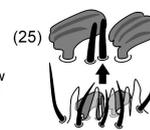
without annal spines

claw of normal length

furca reduced to finely granulated area with 2 + 2 chaetae in one row, posteriorly (24)

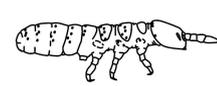


dorsal sense organ of third antennal segment with 5 papilla and bent sensory clubs (25); claw as long as first proximal antennal segment



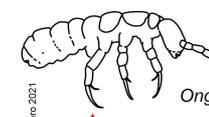
Deuteraphorura

furca reduced to finely granulated area with 2 + 2 chaetae in two rows, posteriorly (26)



Micronychiurus

claw very developed (27)



without trace of furca

Ongulonychius

E. Blaquiere 2021

Anexo 2. Graphic key of the genera present in the cavities of the Iberian Peninsula (cont.)

