



Laboratorio de Biología Marina
Universidad de Sevilla

**ESTUDIO FAUNÍSTICO Y ECOLÓGICO DE LOS
ANFÍPODOS EN CUEVAS SUBMARINAS DEL SUR DE
LA PENÍNSULA IBÉRICA**

***FAUNISTIC AND ECOLOGICAL STUDY OF THE AMPHIPODS
INHABITING SUBMARINE CAVES IN THE SOUTHERN IBERIAN
PENINSULA***

Tesis presentada para optar al título de Doctor con mención internacional por
la Universidad de Sevilla.

CARLOS NAVARRO BARRANCO
Sevilla, 2015



Los doctores **JOSE CARLOS GARCÍA GÓMEZ**, catedrático de Zoología de la Universidad de Sevilla, **JOSÉ MANUEL GUERRA GARCÍA**, profesor titular en el departamento de Zoología de la Universidad de Sevilla, y **LUIS SÁNCHEZ TÓCINO**, profesor asociado en el Departamento de Biología Animal de la Universidad de Granada,

CERTIFICAN:

Que la presente memoria de Tesis doctoral titulada **Estudio faunístico y ecológico de los anfípodos en cuevas submarinas del sur de la Península Ibérica**, ha sido realizada por **CARLOS NAVARRO BARRANCO** bajo su dirección en el departamento de Zoología de la Universidad de Sevilla. Asimismo, consideran que esta memoria de investigación reúne las condiciones necesarias para optar al Título de Doctor con Mención Internacional.

Sevilla, a 28 de Septiembre de 2015

VºBº de los directores

Fdo. Jose Carlos García Gómez

José Manuel Guerra García

Luis Sánchez Tocino

La presente tesis doctoral ha sido financiada gracias a una “Beca/Contrato predoctoral para Personal Investigador en Formación (PIF)”, otorgada por el Plan Propio de Investigación de la Universidad de Sevilla al doctorando durante el periodo de Abril de 2011 a Marzo de 2015. Durante este periodo, el doctorando también se ha beneficiado de las “Ayudas para estancias breves en el extranjero para beneficiarios de becas predoctorales” de la Universidad de Sevilla en las convocatorias de 2012, 2013 y 2014. Parte de la financiación de la tesis también ha provenido de dos proyectos públicos de investigación concedidos al Dr. José Manuel Guerra García:

-Crustáceos caprelidos invasores del Mediterráneo y del Atlántico Norte: Distribución, Ecología, Taxonomía Molecular y Aplicaciones en Acuicultura (CGL2011-22474/BOS). Ministerio de Educación y Ciencia.

-Crustáceos cáprelidos invasores de las Costas Andaluzas: Aplicaciones en Acuicultura (Proyecto de Excelencia RNM-7041). Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa. Junta de Andalucía.

A mi familia

I'd ask my friends to come and see
An octopus's garden with me
I'd like to be, under the sea
[...] Resting our head, on the sea bed
In an octopus's garden, near a cave

Ringo Star (The Beatles)

Quizá porque mi niñez
Sigue jugando en tu playa
Y escondido tras las cañas
duerme mi primer amor
llevo tu luz y tu olor
por donde quiera que vaya
[...] A fuerza de desventuras
tu alma es profunda y oscura
[...] ¿Qué le voy a hacer si yo
nacé en el Mediterráneo?

Juan Manuel Serrat

ÍNDICE

SUMMARY/RESUMEN	1
1. CAPÍTULO 1. Introducción y objetivos generales	3
- La vida en cuevas submarinas	4
- Interés taxonómico y ecológico de los estudios en cuevas submarinas	8
- El estudio de las cuevas submarinas en el Mar Mediterráneo	13
- Descripción del área de estudio	14
- Cueva de Cerro Gordo	17
- Anfípodos: Importancia en los ecosistemas e interés de su estudio.....	20
- Estudios previos de anfípodos en cuevas submarinas	21
- Objetivos generales	23
- Estructura de la tesis doctoral	24
- Bibliografía	26
2. CHAPTER 2. Soft-bottom communities	
2.1. Cerro Gordo cave: Gradients	33
- Abstract.....	34
- Introduction	35
- Material and Methods	36
• Study area	36
• Sample collection and analyses.....	37
• Statistical analyses	37
- Results.....	38
- Discussion	41
- References	47
2.2. General ecological patterns	51
- Abstract.....	52
- Introduction	53
- Material and Methods	55
• Study area	55
• Sample collection	55
• Statistical analyses.....	56
- Results.....	58

- Species composition and distribution58
- Spatial patterns of the univariate measurements62
- Relation between amphipod species and environmental variables64
- Discussion67
 - Species composition and distribution67
 - Biogeographical considerations68
 - Spatial patterns of the univariate measurements68
 - Small-scale spatial variability70
 - Ecological quality and environmental preferences71
- References74

3. CHAPTER 3. Hard-bottom communities

- 3.1. Cerro Gordo cave: Host specificity81**
 - Abstract82
 - Introduction83
 - Material and Methods84
 - Study site84
 - Sample collection84
 - Statistical analyses85
 - Results87
 - Discussion89
 - Amphipod composition89
 - Host-specificity and implications for conservation91
 - References93
- 3.2. General ecological patterns97**
 - Abstract98
 - Introduction99
 - Material and Methods100
 - Study site and sample collection100
 - Statistical analyses101
 - Results102
 - Discussion105
 - Mobile epifaunal community associated to *Eudendrium* *sp.*105
 - Differences between marine caves and open habitats105
 - References109

4. CHAPTER 4. Colonization and successional patterns	115
- Abstract	116
- Introduction	117
- Material and Methods	118
• Study site and experimental design	118
• Statistical analyses	119
- Results	120
• Temperature measurements	120
• Epifaunal composition	120
• Colonization and succession.....	124
- Discussion	126
• Epifaunal composition.....	126
• Recruitment and successional patterns	127
• Spatial and temporal variation in the small-scale variability	129
• Conclusions.....	129
- References.....	130
5. CHAPTER 5. Feeding habits: Marine caves vs open habitats	135
- Abstract	136
- Introduction	137
- Material and Methods	138
• Samples provenance and analysis.....	138
• Statistical analyses.....	140
- Results	141
- Discussion.....	144
- References.....	147
6. CAPÍTULO 6. DISCUSIÓN GENERAL	151
- Anfípodos del Mar de Alborán	152
- Importancia de los anfípodos en cuevas submarinas.....	160
- Patrones ecológicos espaciales de la fauna asociada móvil	164
- ¿Suponen las cuevas submarinas un hábitat importante para el mantenimiento de la biodiversidad de anfípodos en ecosistemas costeros?	167
- Conservación	169
- Futuras líneas de investigación	176

- Bibliografía	178
7. Conclusiones/Conclusions	185
8. Agradecimientos	191
9. Anexo	195

General summary

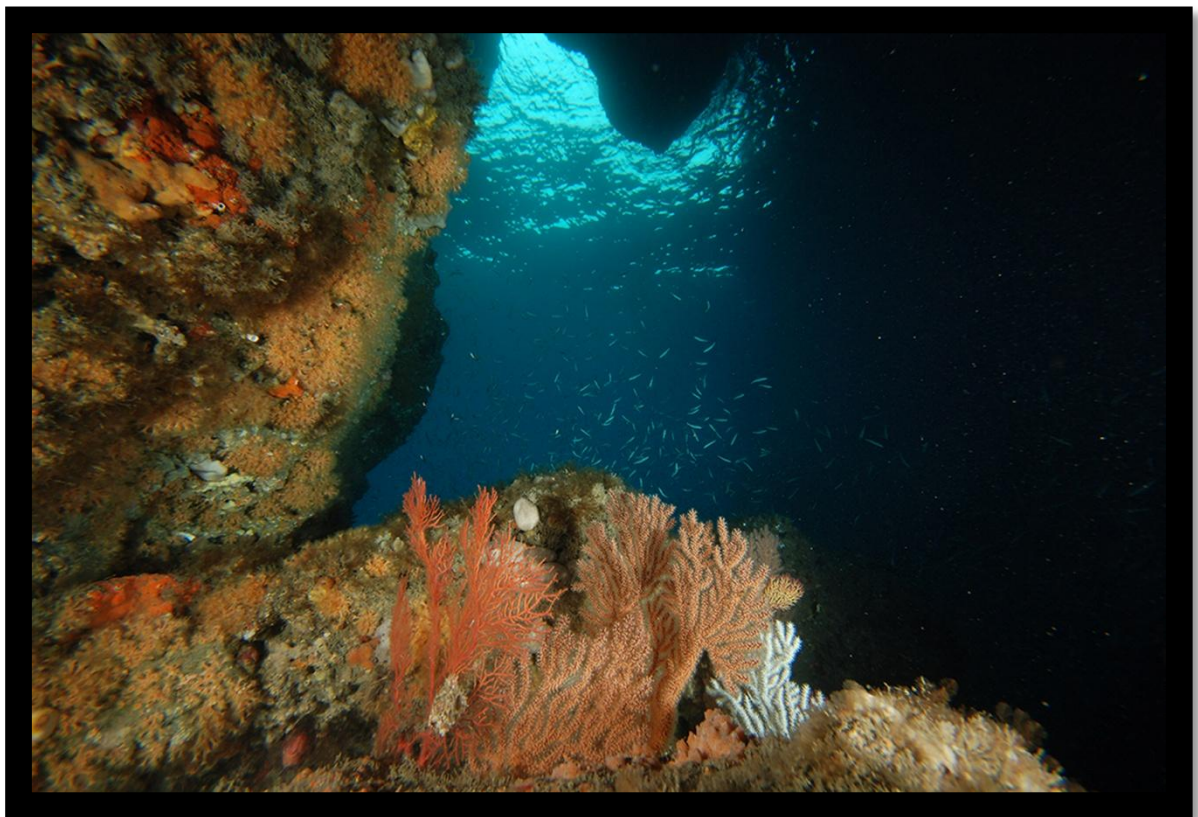
Biotic communities inhabiting marine caves have a high taxonomical and ecological interest due to the strict environmental conditions of such habitats (which determine the existence of intriguing and unusual species compositions and adaptations). However, there are aspects regarding the biology and ecology of marine caves that still remains poorly known, especially those related with their smaller and mobile elements. By studying the amphipod assemblages inhabiting marine caves of Southern Spain, the present work explore the main ecological patterns associated to the mobile macrofauna in these habitats, as well as their causes. Our results highlighted the existence of strong biotic and abiotic gradients inside the caves. The communities of marine caves were significantly different from those present in adjacent open habitats, being generally characterized by an impoverishment in terms of diversity and species richness. According to the experiments and analysis conducted during the present work, limitation in the trophic supply seems to be the key factor determining the main differences in the community structure. Amphipod assemblages also showed a high degree of variability among caves, regardless of the substrate considered. Finally, colonization and succession studies highlighted the high temporal stability and the slow rate of development of cave communities, which could be considered as a signal of the low resilience of these habitats and the importance of its conservation. Other topics, such as the biogeography of the amphipod species, their environmental requirements and their use as bioindicators are also discussed throughout the present study, pointing out the versatility of using amphipods as a model group in benthic ecological studies.

Resumen general

Las comunidades presentes en cuevas submarinas presentan un elevado interés científico desde el punto de vista taxonómico y ecológico, principalmente debido a su singular composición faunística y a las estrictas condiciones ambientales a las que las especies deben adaptarse. Sin embargo, hay aspectos de la biología y ecología de estos ambientes que aún permanecen relativamente inexplorados, especialmente aquellos relacionados con la fauna móvil menos conspicua. El principal objetivo de la Tesis Doctoral es el de, a través del estudio de la fauna de anfípodos que habitan las cuevas submarinas del Sur de la Península Ibérica, identificar los principales patrones ecológicos que presenta la macrofauna móvil de estos hábitats, así como comprender las causas que los determinan. Los resultados obtenidos reflejaron la existencia de fuertes gradientes tanto bióticos como abióticos en el interior de estos hábitats. Las comunidades presentes en cuevas submarinas demostraron ser significativamente diferentes de aquellas presentes en los hábitats abiertos adyacentes, estando generalmente caracterizadas por un empobrecimiento en términos de diversidad y riqueza de especies. Los experimentos y análisis realizados apuntan a la limitación en los recursos tróficos como el factor clave que determina las principales diferencias en la estructura de las comunidades. Independientemente del tipo de sustrato considerado, las poblaciones de anfípodos estudiadas también reflejaron un alto grado de variabilidad entre diferentes cuevas. Finalmente, los estudios de colonización y sucesión pusieron de manifiesto la alta estabilidad temporal y el lento desarrollo de estas comunidades, lo cual apoya la escasa resiliencia generalmente atribuida a estos hábitats. Otros aspectos tales como la biogeografía de las especies de anfípodos observadas, sus requerimientos ecológicos o su uso como bioindicadores ambientales también son discutidos a lo largo de la tesis doctoral, todo lo cual demuestra la versatilidad de los anfípodos como modelo en estudios de ecología bentónica.

1

INTRODUCCIÓN Y
OBJETIVOS GENERALES



LA VIDA EN CUEVAS SUBMARINAS

Algunos autores han intentado definir formalmente qué podemos considerar una cueva submarina (basándose en su volumen interno, su anchura con respecto a las dimensiones de su entrada, las comunidades presentes, etc.), pero esta tarea se ha antojado complicada debido a la enorme variabilidad de estos ambientes (Cicogna et al 2003, Bussotti et al 2015). Ya se trate de una gruta extensa o una simple cavidad o extraplomo en una pared, nos encontramos ante un accidente geográfico sencillo pero que implica muchos cambios ambientales, razón por la cual las cuevas submarinas constituyen uno de los hábitats más particulares dentro de los ecosistemas marinos costeros. Uno de sus rasgos más definitorios y que claramente las diferencia de la mayoría de hábitats someros es la escasez o ausencia de luz, un factor que limita en gran medida la presencia de productores primarios en su interior (Riedl 1966). Otra característica tradicionalmente asociada a estos ambientes es su aislamiento del medio externo, lo que en el caso de las cavernas submarinas se traduce en un reducido intercambio de agua con el mar abierto. Esa lenta renovación del agua junto con la limitada producción primaria determina que las cuevas submarinas generalmente sean ambientes muy oligotróficos (Fichez 1991).

Sin embargo, existen muchas excepciones a este patrón general, las cuales varían en función de parámetros tales como la profundidad, la topografía o la orientación de la cueva (Bussotti et al 2006). La atenuación del hidrodinamismo hacia el interior, por ejemplo, es diferente en cuevas cerradas y túneles con varias aberturas, lo cual a su vez afecta de manera patente a la disponibilidad y distribución de los nutrientes (Riedl 1966, Harmelin et al 1985). En cuevas semisumergidas, por ejemplo, la fuerza del oleaje suele amplificarse hacia el interior de la misma y es precisamente el elevado hidrodinamismo (y no la falta de alimento) uno de los principales factores limitantes para el desarrollo de las comunidades (Bell 2002). Además, la entrada de la cueva hacia el mar no tiene porque ser la única conexión de la cueva con el medio externo; en regiones kársticas es muy frecuente la formación de cuevas subterráneas como consecuencia de la disolución de la roca caliza por parte del agua de lluvia que se filtra a través del subsuelo, por lo que estas cuevas también están comunicadas con ríos subterráneos. El agua dulce que reciben a menudo es muy pobre en nutrientes, por lo que no suponen una fuente significativa de alimento para las comunidades cavernícolas. Sin embargo, muchas cuevas submarinas pueden presentar emisiones sulfurosas que suponen una fuente de alimento para bacterias quimiosintéticas, de manera que la escasez de fotosintetizadores no implica necesariamente la ausencia de producción primaria (Benedetti-Cecchi et al 1997, Airoidi y Cinelli 1997). Por otro lado, es importante diferenciar dos tipos de cuevas: las cuevas submarinas propiamente dichas y las llamadas cuevas anquialinas. Mientras que las primeras son cavidades

• Fotografía página anterior. Comunidad de invertebrados sésiles en la entrada de una de las cuevas situadas en Cantarriján. Luis Sánchez Tocino.

presentes en la costa o en el subsuelo marino, las segundas se encuentran tierra adentro, suelen tener una fuerte influencia de aportes de agua dulce y presentan una conexión subterránea con el mar muy limitada (Iliffe 1992). Algunos ejemplos de cuevas anquialinas son los conocidos cenotes mejicanos (en sistemas cársticos) o los Jameos del Agua de Lanzarote (formados en túneles de lava inundados). El tiempo de residencia del agua marina en estas cavidades es enorme, pudiendo tardar meses o años en renovarse y por tanto las condiciones oligotróficas suelen estar muy acentuadas.

Todas estas particularidades de las cuevas submarinas determinan que los organismos que en ellas habitan deban poseer unas adaptaciones muy particulares. Un ejemplo paradigmático de especie adaptada a la vida en cuevas submarinas es el famoso jameito (*Munidopsis polymorpha*), una especie de decápodo ciego y sin pigmento que habita las anteriormente mencionadas cuevas anquialinas de Lanzarote. Además de modificaciones en la morfología, la vida en las cuevas a menudo también implica adaptaciones en los ciclos vitales y el modo de alimentación. Aunque se trate de organismos dulceacuícolas, dos buenos ejemplos de ello son la salamandra cavernícola *Proteus anguinus* y *Protonemura gevi*, un plecóptero recientemente descubierto en cuevas del sur de la Península Ibérica. La fisiología de *Proteus anguinus* ha sido estudiada para comprender mejor los procesos de envejecimiento y adaptaciones a condiciones prolongadas de ayuno, ya que posee un metabolismo basal tan reducido que puede permanecer años sin comer y se estima que su esperanza de vida puede sobrepasar los 100 años de edad (Voituron et al 2011). Para *Protonemura gevi*, la estabilidad de las cuevas en que habita (con una práctica ausencia de variaciones de luz y temperatura a lo largo del año) ha determinado que su ciclo de vida no siga ningún tipo de patrón estacional, siendo capaz de reproducirse en cualquier época del año (López-Rodríguez and Tierno de Figueroa 2012). En cuanto a adaptaciones tróficas, probablemente el ejemplo más conocido sea el de la esponja *Abestopluma hypogea*, descrita en una cueva marina del sur de Francia en 1996 (Vacelet y Boury-Esnault 1996). Como adaptación a la escasez de recursos tróficos, esta especie desarrolló un modo de vida insólito dentro de los poríferos, perdiendo sus coanocitos y todo su sistema acuífero para adaptarse a una alimentación carnívora. Su dieta se basa fundamentalmente en la captura de pequeños crustáceos, los cuales son atrapados gracias a unas espículas especializadas en forma de gancho. Otra estrategia ante la escasez de alimento a la cual pueden recurrir las especies móviles es su habilidad para realizar migraciones. Las cuevas son buenos ambientes donde refugiarse de los depredadores por lo que son muchas las especies (generalmente de hábitos nocturnos) que permanecen en ellas durante el día pero que han de salir al exterior durante la noche para alimentarse. Entre ellas encontramos especies de peces como *Sciaena umbra*, *Conger conger* o *Apogon imberbis*, así como otros grupos de invertebrados como los misidáceos. Estos últimos pueden alcanzar densidades extraordinarias en determinadas cuevas submarinas, de manera que sus migraciones

diarias pueden implicar el desplazamiento de miles de individuos y, como comentaremos más adelante, afectar de manera significativa a los ciclos biogeoquímicos dentro de la cueva (Rastorgueff et al 2014).

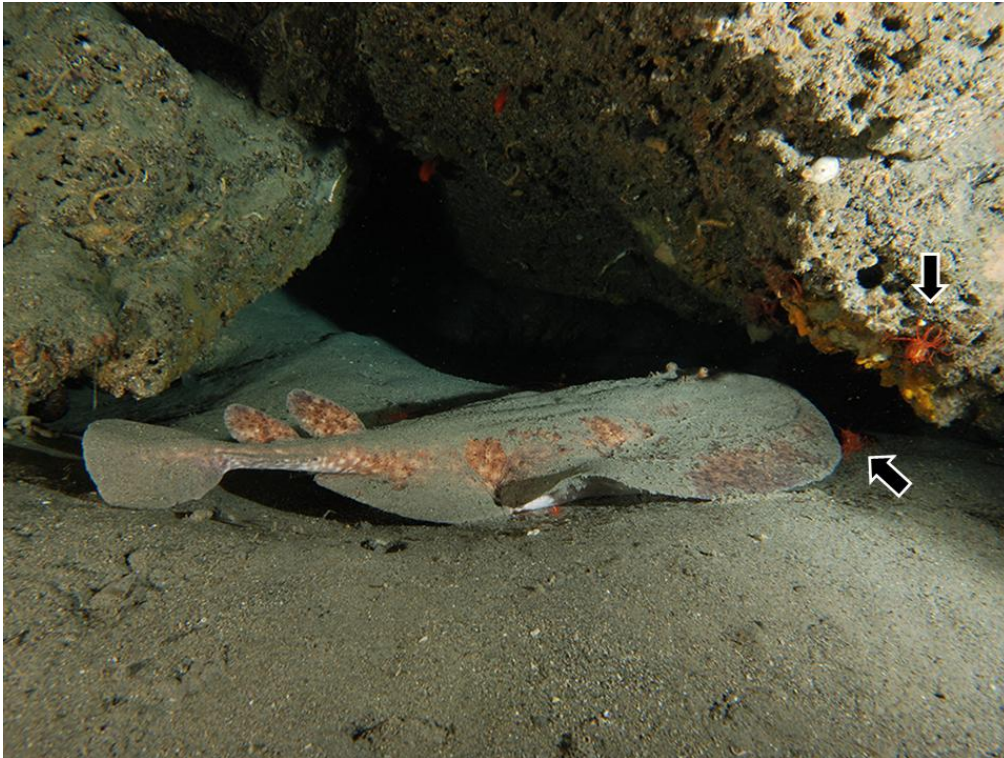


Figura 1. Algunos ejemplares del decápodo *Lysmata seticaudata* (señaladas con flechas en la figura) obtienen alimento desparasitando un ejemplar de tembladera (*Torpedo marmorata*) en el interior de la cueva de Cerro Gordo. Luis Sánchez Tocino.

Del mismo modo que las especies presentan adaptaciones concretas y particulares a estos medios, las comunidades cavernícolas poseen un funcionamiento, composición y estructura característicos. En cuanto a su composición, ya hemos indicado que uno de sus rasgos más evidentes es la disminución en la abundancia de organismos fotosintéticos. Algunos grupos de carácter esciáfilo pueden verse favorecidos en los sectores más próximos a la entrada de la cueva. Tal es el caso de las algas del género *Peyssonelia*, *Lithophyllum*, *Mesophyllum* u otros grupos de algas coralínáceas propias del precoralígeno y el coralígeno. Sin embargo, la ausencia de macroalgas fotófilas compitiendo por el espacio crea las condiciones ideales para que se desarrolle una rica comunidad de invertebrados sésiles. La biocenosis externa, dominada en nuestro caso por macroalgas como *Cystoseira*, *Halopteris* o *Asparagopsis*, es rápidamente sustituida por facies de hidrozoos, esponjas, corales pétreos o briozoos (Martí et al 2004a, Hofrichter 2001) (Figura 2). A medida que seguimos alejándonos de la entrada empieza a disminuir tanto la cantidad de individuos como el número de especies de estas comunidades bentónicas. Solo especies altamente adaptadas a las condiciones tan limitantes que allí imperan pueden sobrevivir, por lo que el porcentaje

de sustrato desnudo aumenta progresivamente hasta que, en aquellas cuevas con longitud suficiente, las paredes pueden aparecer desprovistas de toda vida macroscópica. Este empobrecimiento de las comunidades en las zonas internas de las cuevas es uno de los patrones más constantes y mejor conocidos de estos hábitats (Fichez 1990). Debido a estos importantes gradientes en cuanto al comportamiento y estructura de las comunidades bentónicas asociadas a cuevas submarinas, estas generalmente se diferencian en dos tipos: Comunidades de cuevas semioscuras y comunidades de cuevas oscuras (Balduzzi et al 1989). Obviamente, el primer tipo hace referencia a las zonas más externas, aquellas donde la cantidad de luz que penetra aún permite el desarrollo de algunas especies vegetales y la riqueza de invertebrados bentónicos es alta. Esta comunidad de cuevas semioscuras comparte muchas especies con los hábitats precoralígenos y coralígenos presentes en sustrato duro. En las facies de cuevas oscuras la luz está completamente ausente y el porcentaje de cobertura de las paredes por parte de organismos sésiles suele ser inferior al 50 – 40%. El interés taxonómico y de las especies aquí presente suele ser mayor, puesto que es más frecuente la presencia de especies endémicas y/o relicticas (Hofrichter 2001).

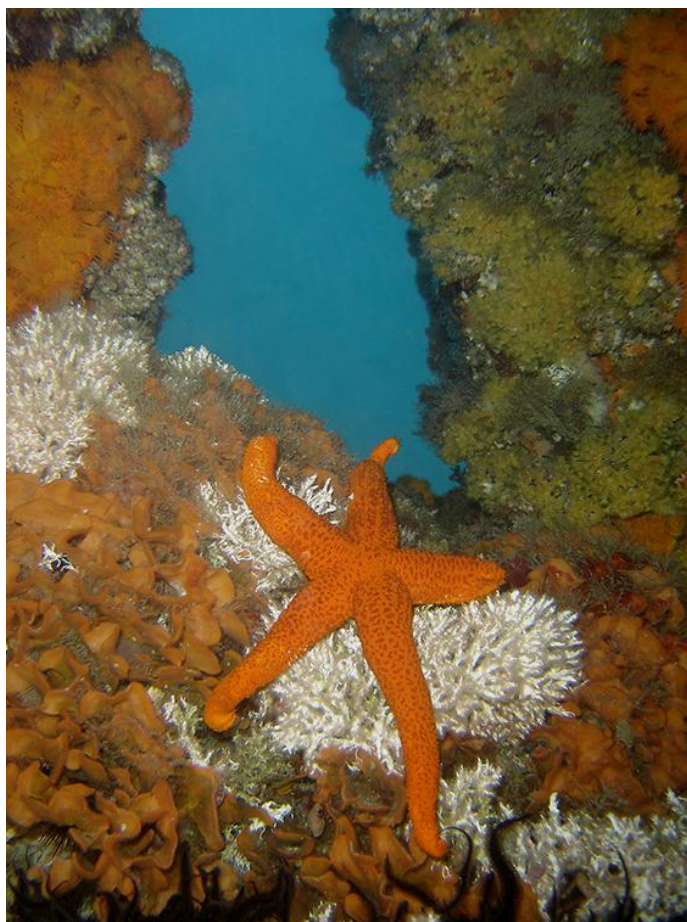


Figura 2. Cnidarios (*Astoides calycularis* y *Parazoanthus axinellae*), briozoos (*Pentapora fascialis*), anélidos (complejo *Filograna/Salmacina*) y equinodermos (*Echinaster sepositus* y ofiuroides) en la entrada superior a la cueva de Cerro Gordo. Luis Sánchez Tocino.

Se asume que la limitación en los recursos tróficos es el principal factor responsable del empobrecimiento de las comunidades bentónicas (Fichez 1990). Obviamente, la disminución de la luz condiciona la presencia de organismos fotosintéticos y de las especies que dependen de ellos. Asimismo, la disminución del hidrodinamismo reduce la cantidad de nutrientes y materia orgánica en suspensión disponible para organismos heterótrofos (Fichez 1990). Gili et al (1986) proponían que, en estos ambientes con escaso movimiento de agua, pueden crearse microcapas en las zonas próximas a las paredes de la cueva (donde el intercambio de nutrientes es menor), lo que limitaría aun más la disponibilidad de recursos para organismos sésiles bentónicos. Sin embargo, en estos ambientes siempre existen excepciones, habiéndose detectado muchas cuevas en las que, si bien se observa un empobrecimiento de sus comunidades, esta disminución en la cantidad de recursos no está presente (ni siquiera en las microcapas más próximas a las paredes) (e.g. Zabala et al 1989). En estos casos han sido otros los factores propuestos para explicar esta reducción de la diversidad. Uno de ellos es la dificultad que puede entrañar la colonización de estos ambientes por parte de las especies presentes en el exterior. Especialmente para aquellas cuyo modo de dispersión sea pasivo (y por tanto dependiente de las corrientes) puede ser muy difícil la llegada de reclutas a estas zonas tan aisladas (Harmelin 1997). Otros gradientes físico-químicos, tales como variaciones en la temperatura, salinidad o en las concentraciones de oxígeno también pueden contribuir al empobrecimiento de las zonas más internas.

INTERÉS TAXONÓMICO Y ECOLÓGICO DE LOS ESTUDIOS EN CUEVAS SUBMARINAS

Estos marcados gradientes en la comunidad son muy interesantes desde el punto de vista ecológico, puesto que permiten estudiar la respuesta de las comunidades a una gran variedad de variaciones en las condiciones ambientales, evaluar los límites de tolerancia de las especies a determinados factores, etc. El efecto de estos gradientes sobre las comunidades de esponjas ha recibido una especial atención, observándose por ejemplo como existe una clara substitución de especies con formas de crecimiento masivo por especies incrustantes hacia el interior de las cuevas (Bell 2002, Gerovasileiou y Voultsiadou 2015). También se ha comprobado como la producción de sustancias bioactivas en esponjas es menor en las zonas más internas, lo cual se achaca a (1) la disminución de la presión de competencia por el espacio y la escasez de depredadores, así como a (2) la existencia de compromisos (*trade offs*) que podrían obligar a las esponjas a reducir su inversión en la producción de metabolitos secundarios en favor de otros procesos fisiológicos más importantes para su supervivencia en estos ambientes tan extremos (Turon et al 2009). Los efectos de estos gradientes ambientales pueden observarse incluso entre ejemplares pertenecientes a una misma especie. Tal es el caso de la demosponja *Chondrosia*

reniformis, cuyo color verdoso-parduzco en ambientes iluminados se debe a la presencia de algas simbiotes pero que en el interior de las cuevas aparece de color blanco por la ausencia de estas cianobacterias. Otro ejemplo similar de pérdida de pigmentación se encuentra en la esponja *Petrosia ficiformis*, la cual exhibe una coloración entre rosa y parda en zonas suficientemente iluminadas. Estudios realizados en cuevas han permitido poner de manifiesto como *P. ficiformis*, a diferencia de otras esponjas, es capaz de compensar la pérdida de las bacterias fotosintéticas promoviendo una activación del metabolismo heterotrófico (Arillo et al 1993). Ello explica su mayor tolerancia ecológica, siendo capaz de colonizar y sobrevivir en zonas muy internas de cuevas submarinas (Arillo et al 1993). El tipo de metabolitos secundarios producidos por *P. ficiformis* también se ve modificado, lo cual implica a su vez adaptaciones en uno de sus depredadores, el nudibranquio *Peltodoris atromaculata* (Cimino et al 1981). Las cuevas pueden resultar ambientes muy útiles para estudiar estas conexiones entre las respuestas fisiológicas de diferentes organismos, así como la importancia de las interacciones bióticas en el funcionamiento de las comunidades. En este sentido, Martí et al (2004a) comprobaron no solo como la mayoría de las especies de esponjas presentaban una distribución agrupada en el interior de las cuevas, sino que aquellas especies que presentaban una frecuencia de contactos con otras especies mayor de la esperada al azar (un posible indicador de la existencia de relaciones de facilitación) eran más dominantes.



Figura 3. Dos ejemplares del nudibranquio *Peltodoris atromaculata* alimentándose de la esponja *Petrosia ficiformis* en el interior de una cueva submarina. Luis Sánchez Tocino.

Además de por sus condiciones ambientales extremas, las cuevas submarinas son interesantes para la realización de estudios ecológicos por otro motivo: su relativa simplicidad. Una de las principales dificultades en el estudio de los ecosistemas naturales es su vasta complejidad. El elevado número de elementos que intervienen, de conexiones entre ellos, de factores que influyen y la variabilidad de todos ellos hacen que muchos sistemas sean difícilmente (si no imposibles) de abarcar de manera holística para los investigadores. Es por ello que a menudo recurrimos a sistemas artificiales, experimentos de laboratorio... los cuales nos permiten simplificar nuestro objeto de estudio y hacerlo manejable y comprensible. Los sistemas costeros de zonas templadas, por ejemplo, son difíciles de estudiar debido a la gran variabilidad estacional en las condiciones ambientales. Los arrecifes de coral, por el contrario, son hábitats con mucha estabilidad estacional pero son difíciles de comprender desde un punto de vista global debido a su enorme diversidad y la infinidad de conexiones entre especies. En comparación con un arrecife, un estuario tiene mucha menor riqueza de especies, pero sin embargo cuenta con el hándicap de ser un sistema extraordinariamente abierto, con muchas entradas y salidas de materia y energía que deben ser tenidas en cuenta. En cambio, las cuevas submarinas son medios ideales en muchos de estos aspectos; gracias a su aislamiento son ecosistemas relativamente cerrados y estables, mientras que el empobrecimiento de sus comunidades facilita un estudio global de sus compartimentos y de las conexiones entre ellos. A todo ello podemos añadirle una ventaja añadida; la enorme variedad de posibilidades de estudio. Como hemos comentado anteriormente, las condiciones ambientales de cada cueva son muy singulares, fruto de la combinación de muchos factores tales como la topografía, orientación o la profundidad. Esta variabilidad puede ser considerada como una desventaja, ya que dificulta la obtención de patrones generales en estos sistemas, pero al mismo tiempo nos brinda una oportunidad excelente para la realización de estudios ecológicos, ya que las características de la comunidad presente en cada cueva submarina (su composición, sus patrones de distribución, etc.) son frutos de un experimento único de colonización y adaptación del que podemos obtener información y aprender.

Las cuevas submarinas nos brindan además la oportunidad de estudiar en zonas someras comunidades generalmente presentes en ambientes más profundos (Vacelet et al 1994, Vacelet 1999). Oscuridad, bajo hidrodinamismo, estabilidad y escasez de recursos tróficos son factores ambientales que caracterizan y comparten ambos ambientes, lo cual determina la existencia de muchas similitudes en el funcionamiento y la fauna de ambos sistemas. A medida que la cueva es más superficial, estas especies profundas ocupan posiciones más internas de la cueva (Riedl 1966). Por ello, a cotas batimétricas muy superficiales, solo cuevas submarinas muy largas o con unas especiales características ambientales pueden presentar organismos propios de zonas batiales o abisales. Un ejemplo es la cueva "*Trois Pépe (3PP)*", en el sur de Francia, una de las cuevas más singulares y sin duda la más estudiada del Mar

Mediterráneo. A diferencia de la mayoría de cuevas marinas de origen kárstico, esta presenta un perfil descendente, lo que determina que el agua fría quede retenida de manera constante en las secciones internas de la cueva, asemejando aún más este ambiente con zonas profundas (Harmelin 1997). Aunque esta particularidad de los ambientes cavernícolas era bien conocido con anterioridad, los estudios realizados durante los años 90 en 3PP y otras cuevas de la costa mediterránea francesa por parte de Jean Vacelet, Nicole Boury-Esnault (ambos con esponjas) y Jean-Georges Harmelin (con briozoos) contribuyeron a poner de manifiesto el interés científico de estos enclaves. Las zonas profundas solo pueden ser estudiadas mediante costosos sumergibles u obteniendo muestras mediante dragas, cores o trineos. Sin embargo, la existencia de estas denominadas como “islas batiales” permite que especies profundas sean accesibles para ser estudiadas *in situ* mediante el buceo con escafandra autónoma, lo que ha permitido la detección de especies crípticas y ha facilitado el estudio de muchos aspectos de su biología. Un ejemplo de ello son los avances llevados a cabo en la comprensión de los fenómenos de reproducción, desarrollo larvario o alimentación en esponjas propias de ambientes profundos (esponjas hexactinélidas, familia Cladorhizidae) tales como *Oopsacas minuta* o *Asbestopluma hypogea* (Boury-Esnault et al 1999, Vacelet y Duport 2004). Además de por su particular modo de alimentación (ya comentado anteriormente) el caso de *Asbestopluma hypogea* es singular por otros motivos. Inicialmente descrita en la cueva 3PP y posteriormente en otras cuevas del sur francés y del mar Adriático, esta esponja carnívora era considerada como un endemismo cavernícola (como bien refleja su etimología). Sin embargo, posteriores trabajos con ROVs (*Remote Operate Vehicles*) comprobaron que las poblaciones principales de esta especie se encontraban en zonas profundas, siendo localizadas en montes submarinos y escarpes batiales del Mar de Alborán, Islas Baleares y el Norte y el Estrecho de Sicilia (Aguilar et al 2011).



Figura 4. *Plesionika narval* (un decápodo generalmente asociado a ambientes profundos en el interior de la cueva de los Gigantes). Luis Sánchez Tocino.

El caso de *Asbestopluma hypogea* no es único ni poco frecuente. A pesar del famoso y ampliamente citado aislamiento de las cuevas submarinas, la mayor parte de su fauna no es exclusiva de estos ambientes. Las especies que habitan estos enclaves a menudo también pueden ser encontradas en otros ambientes esciáfilos y, en el caso de especies móviles, frecuentemente solo utilizan las cuevas como refugio durante parte del día o de su ciclo de vida (Gerovasileiou et al 2012). Sin embargo, ello no resta importancia al papel de estos hábitats en el mantenimiento de la biodiversidad en nuestros sistemas costeros. Aún careciendo de especies endémicas, todos los estudios realizados comparando las comunidades presentes en el interior y exterior de cuevas submarinas reflejan diferencias significativas entre ambos ambientes casi sin excepción. Ello es así hasta para grupos muy móviles como los peces óseos, en los cuales las cuevas submarinas también desempeñan un papel importante como refugio en sus etapas juveniles (Bussotti et al 2002, Bussotti y Guarnieri 2009, Bussotti et al 2015). Además, en comparación con otros hábitats costeros, el número de endemismos que existen en cuevas submarinas es muy superior, especialmente para determinados taxones. En el caso del Mar Mediterráneo, por ejemplo, el porcentaje de especies exclusivas de cuevas en los grupos de esponjas Heteroscleromorpha y Homoscleromorpha alcanza el 46 y el 32% respectivamente (Gerovasileiou et al 2012). Es por ello que las cuevas submarinas han sido reconocidas como un reservorio de biodiversidad para la fauna de esponjas del Mar Mediterráneo (Gerovasileiou et al 2012). Algunas de estas especies endémicas descritas en cuevas tienen un valor añadido por tratarse de especies relícticas, como el caso de la esponja calcárea *Petrobiona massiliana*. Este paleoendemismo mediterráneo fue descrito (tanto la especie como el género) en los años 50 en el Golfo de Marsella, siendo posteriormente encontrado en otras cuevas de Italia, Túnez, Cerdeña... así como en registros fósiles del Pleistoceno en Italia y una cueva terrestre de Creta (Manconi et al 2009). Sin embargo, entre los taxones relícticos descritos en cuevas submarinas el más conocido es el de los remipedios. Desde su descubrimiento en 1979 en Bahamas, todas las especies actuales de remipedios han sido localizadas en el interior de cuevas anquialinas (Yager 1981, Neiber et al 2011). Este tipo de cuevas, debido a su menor grado de conexión con el medio externo, son más susceptibles de presentar especies con una distribución limitada solo a ambientes cavernícolas. Los remipedios son una de las clases de crustáceos más recientemente descritas y, debido a su patrón corporal único, con un cabeza y un cuerpo no dividido en tagmas, inicialmente se consideraron como un grupo muy primitivo, basal dentro de los crustáceos. Sin embargo, posteriores estudios han sugerido que la ausencia de tagmas podría tratarse de un rasgo muy derivado, lo que implicaría una revisión de la posición de los remipedios en el árbol filogenético de los crustáceos (Neiber et al 2011). Hallazgos de este tipo son los que hacen que los taxónomos tengan un gran interés por el estudio de las especies que habitan las cuevas submarinas.

EL ESTUDIO DE LAS CUEVAS SUBMARINAS EN EL MÁR MEDITERRÁNEO

Gran parte del perfil costero del Mar Mediterráneo está compuesto por rocas carbonatadas, donde son frecuentes los procesos de erosión kárstica que dan lugar a la formación de cuevas submarinas. Por tanto, como consecuencia de esta geomorfología, las cuevas submarinas son un elemento abundante y característico de los hábitats costeros mediterráneos (Giakoumi et al 2013). Al menos en comparación con otras zonas del planeta se trata de un hábitat relativamente bien conocido,. El número de publicaciones centradas en el estudio de las comunidades biológicas presentes en las cuevas submarinas del Mar Mediterráneo es muy superior al disponible para cualquier otra área biogeográfica. Sin embargo, al igual que ocurre para la mayor parte de ecosistemas la información disponible está muy sesgada hacia aquellas especies y grupos más conspicuos y de fácil estudio, tales como peces o especies sésiles de sustratos duro (especialmente poríferos) (Gerovasileiou y Voultziadou 2015). Además, dentro del Mar Mediterráneo, la distribución del número de estudios entre sus diferentes regiones no es homogénea. Giakoumi et al (2013) recientemente publicaron el primer mapa de distribución de cuevas submarinas en el Mar Mediterráneo. Un 97% de las cuevas inventariadas se encontraban en costas europeas (Figura 5), lo cual es en parte debido a que un 92.3% de las costas rocosas están en el norte mientras que las costas africanas y del este del Mediterráneo son principalmente arenosas (Stewart y Morhange 2009), pero también refleja el mayor esfuerzo de muestreo llevado a cabo en estas áreas. De las casi 3000 cuevas censadas en el trabajo de Giakoumi et al (2013), solo 6 de ellas se situaban en el Mar de Alborán.

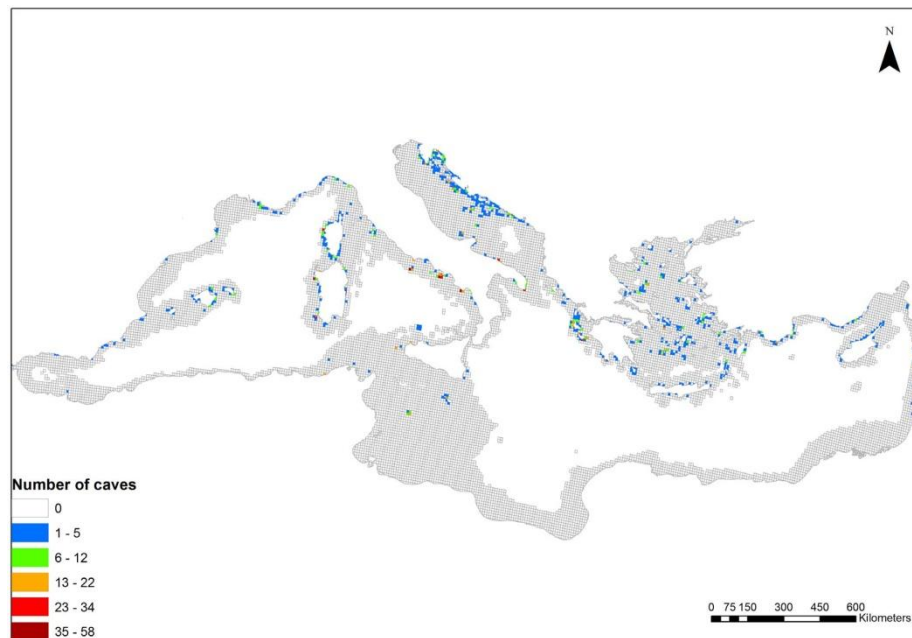


Figura 5. Distribución de las cuevas submarinas en el Mar Mediterráneo (tomada de Giakoumi et al 2013).

A la vista de estos datos, podríamos imaginarnos que las costas del Norte de Marruecos y el Mediterráneo andaluz son pobres en cuanto a la presencia de zonas rocosas o cuevas submarinas. Sin embargo, la causa fundamental de estos patrones es la escasez de censos o registros oficiales acerca del número y localización de las cuevas submarinas en esta región, así como el desconocimiento casi total de las comunidades biológicas que en ellas habitan. De acuerdo con los datos publicados en Gerovasileiou et al (2014), el Mar de Alborán es la región del Mediterráneo con el menor número de estudios realizados en cuevas submarinas y la que presenta menos especies descritas. El número de especies identificadas en cuevas submarinas en otras regiones como el Mar de Liguria o las costas de Túnez es aproximadamente el doble, mientras que si tomamos como referencia el Mar Tirreno, el número de estudios en el Mar de Alborán es seis veces menor y el de especies descritas más de 8 veces inferior.

Esta falta de estudios en el sur peninsular contrasta con los numerosos trabajos realizados en cuevas submarinas de la costa brava catalana (con las Islas Medas a la cabeza) y las Islas Baleares. La temática de los trabajos realizados en estas zonas varían desde estudios generales acerca de la ecología de las comunidades bentónicas (Bibiloni y Gili 1982, Gili et al 1982, Bibiloni et al 1984, Gili et al 1986, Zabala et al 1989, Martí et al 2004a, Martí et al 2004b), el plancton (Garrabou y Flos 1995) o la actividad bioquímica de organismos sésiles (Martí et al 2005, Turón et al 2009), hasta otros trabajos más de carácter taxonómico centrados en el inventario o descripción de nuevas especies de nudribanquios (Ros 1985), esponjas (Bibiloni et al 1989) o crustáceos (Gili y McPherson 1987, Jaume 1991, Jaume y García 1992, Jaume 1997).

DESCRIPCIÓN DEL AREA DE ESTUDIO

El mar de Alborán se encuentra en la confluencia de tres regiones biogeográficas (Mauritánica, Lusitánica y Mediterránea), lo cual le confiere a su fauna unas especiales características. El solapamiento de especies propias del Océano Atlántico y el Mar Mediterráneo, junto con la mayor disponibilidad de nutrientes (en contraste con las oligotróficas condiciones del Mediterráneo oriental), favorecen una mayor biodiversidad en el Mar de Alborán en comparación con otras zonas del Mediterráneo (Templado et al 1986, Guerra-García et al 2009). Los vientos de poniente, junto con el desplazamiento hacia el sur de la corriente de agua superficial atlántica a medida que penetra en el Mar de Alborán, determina la existencia de afloramientos costeros de agua profunda rica en nutrientes y materia orgánica, los cuales determinan una elevada productividad de las comunidades tanto plantónicas como bentónicas (Heburn y La Violette 1990, Sarhan et al 2000, Abad et al 2007). Nuestra zona de estudio, en la costa de Granada, se encuentra afectada por estos giros ciclónicos y afloramientos, lo que ha favorecido el desarrollo de una rica comunidad bentónica. La biomasa animal (especialmente organismos suspensívoros) en este área

es superior a la encontrada en otras zonas rocosas someras del Mediterráneo, tal y como han puesto de manifiesto estudios previos (Cebrián et al 2000, Cebrián y Ballesteros 2004). La biodiversidad de esta zona también viene favorecida por la compleja orografía de la zona, en la que se alternan playas, costas de derrumbe y escarpados acantilados que se adentran profundamente en el mar. En estos últimos, la naturaleza caliza de la roca ha permitido la formación de cuevas, algunas de las cuales se encuentran total o parcialmente sumergidas.

Las cuevas submarinas que han sido objeto de estudio se encuentran principalmente en tres zonas:

- Paraje Natural de Maro Cerro-Gordo. A caballo entre las provincias de Málaga y Granada (concretamente entre las localidades de Maro y La Herradura), este espacio protegido está considerado como Zona de Especial Protección de Interés para el Mediterraneo (ZEPIM) y Lugar de Interés Comunitario (LIC). Se extiende a lo largo de una franja costera de aproximadamente 12 kilómetros de longitud, alcanzando una milla mar adentro en dirección al sur mientras que su límite norte está delimitado por la carretera nacional 340, muy próxima a la costa. Es por ello que la superficie terrestre perteneciente al Paraje Natural es muy reducida en comparación con la correspondiente al ámbito marino (384 ha y 1529 ha respectivamente). El Paraje Natural acoge una de las escasas franjas marítimo-terrestres que han quedado preservadas del intenso proceso urbanizador ocurrido durante las últimas décadas en estas provincias. La región costera que engloba el Paraje Natural de Maro Cerro-Gordo y la Punta de la Mona presenta la mayor concentración de invertebrados amenazados (ya sea marinos o terrestres) de todo el territorio andaluz (Barea-Azcón 2008). Entre las especies marinas protegidas presentes dentro del paraje, destacan las abundantes poblaciones de coral naranja (*Astroides calycularis*) o la presencia de *Charonia lampas*, *Posidonia oceanica* y algunos ejemplares de la lapa *Patella ferruginea*. Geológicamente, el Paraje Natural se ubica en el sector central de las cordilleras Béticas. Con cimas superiores a los 1500 metros de altitud, las últimas estribaciones de la Sierra Almirajara alcanzan aquí el mar, lo que determina el relieve accidentado de la costa, con la presencia de muchos acantilados separados por pequeñas calas. Aunque gran parte de la costa está formada por esquistos y filitas, la Sierra Almirajara está compuesta fundamentalmente por mármoles dolomíticos, los cuales alcanzan la costa en determinados puntos (Cerro-Gordo y las zonas adyacentes a la playa de Cantarrijan) (Perez y Andreo 2007). Es en estas zonas con presencia de rocas carbonatadas donde se encuentran las cuevas submarinas incluidas en nuestros estudios. Dada la escasa batimetría en esta área, las cuevas submarinas se encuentran a poca profundidad (entre 0 y 15 metros). Muchas de ellas presentan un continuo aporte agua dulce, cuyo caudal varía estacionalmente de manera significativa. De

entre las cavernas situadas en esta zona destaca la cueva de Cerro-Gordo, la cual será descrita de manera detallada más adelante debido a su gran tamaño y la especial atención que recibe a lo largo de la tesis doctoral.

- Punta de la Mona. Se encuentra muy próxima al Paraje Natural (apenas 2.5 km al oeste), situada entre las localidades de La Herradura y Almuñécar. Pertenece al mismo sistema hidrogeológico anterior, conocido como Alberquillas, siendo los acantilados de la Punta de la Mona otra de las zonas con presencia de mármoles dolomíticos en la costa. Se trata de un área con especial interés de conservación, estando considerada también como LIC dentro de la Red Natura 2000. La mayor batimetría que alcanzan estos acantilados, con profundidades que alcanzan casi los 50 metros, permiten la presencia en esta zona de unas comunidades marinas muy ricas, con especies emblemáticas propias del piso circalitoral tales como los cnidarios *Paramuricea clavata* o *Dendrophyllia ramea* (Figura 6).



Figura 6. Colonia de *Dendrophyllia ramea* en los fondos de la Punta de la Mona. Luis Sánchez Tocino.

- Acantilados existentes entre las poblaciones de Calahonda y Castell de Ferro. Aunque pertenecen a un sistema montañoso diferente a los anteriores (Sierra de Lujar) las comunidades presentes (tanto terrestres como marinas) son muy similares a las observadas en Maro-Cerro Gordo y la Punta de la Mona. La geología de la zona también es de origen calizo, con abundantes formaciones kársticas, y al igual que en los dos casos anteriores, esta área se encuentra designada como Lugar de Interés Comunitario (LIC). Sin embargo, el esfuerzo de

muestreo en esta zona ha sido mucho menor, limitándose al estudio de una única cueva submarina situada en la Punta del Melonar.



Figura 7. Acantilados situados entre las localidades de Castell de Ferro y Calahonda. Luis Sánchez Tocino

CUEVA DE CERRO GORDO

Se trata de una de las cuevas submarinas de mayor tamaño de la zona, con aproximadamente 100 m de recorrido, y presenta una de las comunidades biológicas más interesantes. En ella se pueden diferenciar dos partes separadas por un estrechamiento o “gatera”. La zona externa presenta una entrada principal sumergida en forma de arco orientada hacia el sur, de base 13,5 m. y cuya parte inferior se encuentra a unos 16 m de profundidad y la superior a unos 7 m. La entrada de luz y el hidrodinamismo en el interior de la cueva se encuentran parcialmente atenuados por la presencia de una roca de grandes dimensiones desprendida del acantilado y situada enfrente de la entrada. Entre la parte superior del arco y la superficie hay otra entrada de unos 2 metros de altura y 1,5 m de ancho. Esta entrada da paso a una amplia sala de unos 25 m de longitud y una anchura que se va reduciendo a medida que nos adentramos en ella, mientras que en su superficie existe una burbuja de aire, comunicada con el exterior a través de una pequeña abertura. En uno de los laterales, existe una pequeña cavidad con salida de agua dulce. En las paredes de esta sala se desarrolla una rica comunidad de invertebrados bentónicos característica de cuevas semioscuras. Algunas especies abundantes son las esponjas *Ircinia fasciculata*, *Oscarella lobularis*, y *Chondrosia reniformis*, cnidarios como *Astroides calycularis*, *Eudendrium* sp. o *Parazoanthus axinellae*, gusanos tubícolas pertenecientes al complejo *Filograna/Salmacina* o *Protula* sp., los briozoos *Aldeonella calveti*, *Pentapora fascialis* y *Myriapora truncata*, ascidias de los género *Diplosoma*, *Ascidia* o *Phallusia*, etc. La epifauna móvil asociada a algunas de estas especies será descrita en los capítulos 3.1 y 3.2. El suelo de esta zona semioscura presenta un sustrato muy heterogéneo, formado principalmente por arenas medias y finas pero también con algunas rocas y zonas de arenas gruesas. En las zonas más internas es común la presencia del gobio leopardo (*Thorogobius ephippiatus*). El estrechamiento en la zona

de la gatera determina un mayor hidrodinamismo en esa zona, por lo que el sustrato tiene una granulometría de mayor tamaño, compuesto principalmente por depósitos de conchas.

Pasada la gatera nos encontramos con un largo túnel de unos 2-3 metros de ancho donde la luz está completamente ausente. Aquí nos encontramos con una comunidad propia de cuevas oscuras, formada fundamentalmente por esponjas incrustantes, serpuloides y un gran porcentaje de sustrato vacío. El evidente gradiente en la comunidad bentónica sésil en las paredes de la cueva de Cerro Gordo puede observarse en la figura (XX). En estas zonas internas solo algunas especies, como las esponjas *Clathrina clathrus* o *Petrosia ficiformis* presentan una estructura tridimensional más desarrollada. Un hecho interesante en una de las secciones de esta zona oscura es la gran abundancia de braquiópodos en las paredes. A diferencia de lo observado en los registros fósiles, la diversidad actual de especies de este grupo es mucho menor. Debido a su presencia generalmente en aguas muy profundas, las poblaciones de braquiópodos en cuevas submarinas son muy atractivas para los investigadores, ya que han permitido el estudio de muchos aspectos de la biología de este grupo (Grobe y Lüter 1999). Una revisión actual de este grupo en el Mar Mediterráneo (para el que solo se conocen 14 especies) indica como, tras un siglo sin ningún hallazgo, el estudio de cuevas submarinas a partir de los años 80 ha permitido la descripción de nuevas especies, siendo este el hábitat más prometedor para la realización de futuros avances en el conocimiento de este filo (Logan et al 2004). Debido al muy reducido hidrodinamismo, el sustrato del suelo en la zona oscura de la cueva tiene una granulometría muy fina. Pocos centímetros bajo la superficie, el sedimento es anóxico, por lo que la vida macroscópica en este fango es muy escasa (tal y como veremos en el capítulo 2.1). Además de algunos vertebrados como congrios (*Conger conger*), corvallos (*Sciaena umbra*), brótolas (*Phycis phycis*) (Figura 8) o algunos ejemplares de *Torpedo marmorata* que se adentran en la cueva para ser desparasitados, uno de los grupos con una presencia más evidente en la zona interna de la cueva son los crustáceos decápodos.



Figura 8. Ejemplar de *Phycis phycis* en la cueva de Cerro Gordo. Luis Sánchez Tocino.

Especies como *Dromia personata*, *Palaemon serratus*, *Galathea strigosa* (Figura 9) o *Stenopus spinosus* son habitantes habituales de esta cueva, mientras que otras especies como el bogavante (*Homarus gammarus*) son observados de manera más esporádica. Aunque no pertenezcan al orden de los decápodos, otro grupo de crustáceos bien conocido, frecuentemente asociados a las cuevas submarinas y muy abundante en la cueva de Cerro Gordo son los misidáceos. Este grupo tiene una gran capacidad natatoria y durante el día es posible observar enjambres de individuos formados por cientos de individuos en el interior de la cueva. Al igual que muchos otros organismos, los misidáceos salen a alimentarse al exterior durante la noche y utilizan las cuevas submarinas como refugios durante el día, donde permanecen digiriendo (y excretando) el alimento ingerido previamente. Estudios previos realizados en el Mediterráneo occidental han puesto de relieve el importante papel que estas migraciones diarias pueden tener en el funcionamiento de la cueva, incorporando materia orgánica al oligotrófico ambiente que reina en el interior (Riera et al 1991, Coma et al 1997, Rastorgueff et al 2011). La especie observada en la cueva de Cerro Gordo es *Hemimysis margarlefi sensu stricto*, siendo esta la población más occidental de este endemismo mediterráneo observada hasta la fecha (Rastorgueff et al 2014).



Figura 9. *Galathea strigosa*. Luis Sánchez Tocino

A medida que nos aproximamos al final de la cueva, el túnel va perdiendo profundidad y la influencia del agua dulce va aumentando progresivamente. En la pared oeste, existe una pequeña abertura de la que parte una galería que rápidamente se estrecha y comunica con el exterior. En la última sección de la caverna es muy

patente la presencia de una haloclina que separa una capa de agua dulce superficial del agua salada más profunda. Por último, la presencia de una pequeña sala con una burbuja de aire en su superficie marca el final de la cueva.

ANFÍPODOS: IMPORTANCIA EN LOS ECOSISTEMAS E INTERÉS DE SU ESTUDIO

El orden Amphipoda se encuentra dentro del Superorden Peracarida, el cual engloba también otros grupos de organismos como cumáceos, isópodos, tanaidáceos o los anteriormente citados misidáceos. Con más de 7000 especies descritas, se trata de uno de los grupos de mayor importancia dentro del subfilo Crustacea.

Aunque también están presentes en hábitats dulceacuícolas la mayor diversidad de anfípodos se encuentra en el medio marino, donde habitan casi todo tipo de hábitats, tanto pelágicos como bentónicos, de sustrato duro o blando y desde la zona supralitoral hasta las profundidades abisales. Pueden presentar una gran variedad de estrategias tróficas: detritívoros, filtradores, depredadores, herbívoros... (Guerra-García et al 2014). A pesar de su pequeño tamaño, los anfípodos pueden desempeñar un papel importante en el funcionamiento de los hábitats en los que están presentes debido a su gran abundancia (Highsmith y Coyle 1990, Taylor 1998). Se ha estudiado, por ejemplo, el significativo papel de los anfípodos ramoneadores en el control de la biomasa de macroalgas o su relevancia en la regulación del asentamiento de algas epífitas o invertebrados sésiles (Duffy and Hay 2000, Cook et al 2011, Myers y Heck 2013, Collin y Johnson 2014). Scinto et al (2008) documentaron como el ataque de una especie de caprélido desencadenó una mortalidad masiva de gorgonias en Indonesia. Asimismo, los anfípodos también desempeñan un importante papel en las redes tróficas marinas al actuar como fuente de alimento para una gran variedad de organismos (Taylor 1998, Stergiou y Karpouzi 2002, Jiménez-Prada et al 2015).

Los anfípodos también presentan muchas aplicaciones por las que son importantes desde el punto de vista antrópico. Debido a su importancia en la dieta natural de muchas especies con interés comercial, sus rápidos ciclos de vida y su demostrado valor alimenticio, los anfípodos han acaparado mucha atención por su potencial uso en acuicultura (especialmente para la alimentación de etapas juveniles de peces y cefalópodos) (Woods 2009, Baeza-Rojano 2010, Baeza-Rojano 2012). También presentan características que los hacen buenos bioindicadores: abundancia, ubiquidad y una amplia variabilidad entre especies en cuanto a su tolerancia al estrés ambiental (Gómez-Gesteira y Dauvin 2000, Guerra-García y García-Gómez 2001, de-la-Ossa-Carretero et al 2011). Es por ello que los anfípodos son un grupo ampliamente utilizado en muchos de los índices bióticos para evaluar la calidad ambiental de los ecosistemas marinos (Borja et al 2000, Simboura y Zenetos 2002, Pinedo y Jordana 2007, Dauvin y Ruellet 2007). El uso de estos índices, generalmente basados en la

presencia y abundancia de macroinvertebrados bentónicos, presenta muchas ventajas entre las que destacan su sencillez, bajo coste y la posibilidad de integrar los efectos de la contaminación en el tiempo (lo cual dependerá del ciclo de vida de las especies utilizadas).

Además de los efectos que perturbaciones con carácter más local o regional puedan tener sobre las poblaciones de anfípodos, existe una creciente preocupación acerca de la respuesta y el papel que este grupo puede desempeñar en relación a problemas globales tales como la acidificación de los océanos o el aumento de invasiones marinas. La disminución del pH asociada al aumento en la disolución de CO₂ dificulta la formación de estructuras calcáreas en muchos grupos tales como corales, equinodermos o foraminíferos. Los crustáceos, con un exoesqueleto calcáreo, no son ajenos a este fenómeno y algunos trabajos ya han documentado los efectos, tanto directos como indirectos que la acidificación oceánica puede tener sobre los anfípodos (Boos et al 2011, Poore et al 2013). El calentamiento global también tendrá efectos sobre sus poblaciones, alterando su fisiología y sus patrones de distribución (Mouritsen et al 2005, Guerra et al 2014). De esta manera, especies generalmente asociadas a zonas ecuatoriales o tropicales, están viendo aumentado su rango de distribución hacia zonas templadas, lo cual a su vez es favorecido por el incremento en el tráfico marítimo. La gran mayoría de las especies de crustáceos introducidos en el Mar Mediterráneo proceden de mares cálidos como el Mar Rojo (Galil 2011). Un ejemplo es el caso del caprélido *Paracaprella pusilla*, cuya distribución nativa está limitada a zonas tropicales y solo muy recientemente ha sido detectada fuera de estas regiones (Ros et al 2013). Sin embargo, teniendo en cuenta que el Mar Mediterráneo está considerado como uno de los mares más invadidos del mundo, el número de anfípodos exóticos registrados hasta la fecha es muy bajo (apenas una docena de especies) (Streftaris et al 2005, Zenetos et al 2012). Los datos más fiables son los existentes para taxones fáciles de detectar e identificar, mientras que el desconocimiento existente para grupos menos conspicuos (como pequeños crustáceos) es muy elevado, por lo que el número de especies de anfípodos actualmente introducidos en el Mar Mediterráneo probablemente está subestimado. La capacidad invasiva de los anfípodos y los posibles efectos de estas invasiones sobre las comunidades nativas ya han sido puestos de manifiesto, siendo quizás el caso mejor conocido el del “killer shrimp” (*Dikerogammarus villosus*) en medios dulceacuícolas (McNeil et al 2013). Es por ello que resulta muy importante identificar y monitorizar la evolución de las poblaciones de estas especies introducidas, así como sus interacciones con la fauna nativa.

ESTUDIOS PREVIOS DE ANFÍPODOS EN CUEVAS SUBMARINAS

A pesar del ya discutido interés que presentan tanto las cuevas submarinas como el grupo de los anfípodos en los ecosistemas marinos, son muy pocos los estudios que combinan estos dos elementos. Es decir, son pocos los trabajos llevados a cabo en cuevas marinas que han prestado atención a este grupo taxonómico, y a su vez son pocos los trabajos con anfípodos que han tenido en cuenta este hábitat.

¿A qué se debe esta falta de estudios? El principal motivo probablemente sea la dificultad del trabajo en cuevas submarinas. La inaccesibilidad de estos hábitats les ha permitido permanecer hasta hace relativamente poco como uno de los ecosistemas más prístinos de los ecosistemas costeros, pero también han determinado que sean uno de los menos conocidos. De la misma manera que permanecían inaccesibles para las artes de pesca y fuera del alcance de los recolectores, la fauna de las cuevas también se mantenía oculta a los ojos de los naturalistas. No es hasta la segunda mitad del siglo XX cuando, gracias al desarrollo de los equipos de buceo autónomo, las cuevas sumergidas se convirtieron en hábitats accesibles para su exploración. A pesar de ello, el buceo en cuevas sigue entrañando muchas dificultades: la ausencia de luz o el trabajo en espacios reducidos y cerrados limitan mucho el tiempo disponible y las metodologías utilizables. La pérdida de visibilidad debido a la resuspensión del fino sedimento depositado en el fondo es uno de los principales peligros asociados al trabajo en cuevas submarinas, razón por la cual la mayor parte de los trabajos realizados se han centrado en la fauna bentónica asociada a sustrato duro. En este contexto, no es de extrañar que aun existan abundantes lagunas en nuestro conocimiento de la biología de muchos de los grupos que habitan las cuevas submarinas, especialmente en aquellos taxones más pequeños y difíciles de observar.

La mayor parte de los artículos científicos centrados en anfípodos presentes en cuevas submarinas se basan en la descripción taxonómica de nuevas especies. Estos trabajos a menudo se encuentran realizados en cuevas anquialinas y los taxones presentes tienen una mayor afinidad por aguas dulces o salobres (algunos de los trabajos realizados por Damiá Jaume en cuevas anquialinas de las Islas Baleares y el sur de Francia son un buen ejemplo de ello) (e.j. Jaume 1991, Bréhevier y Jaume 2009). En comparación con el medio marino, los anfípodos que habitan las aguas continentales subterráneas están mucho mejor estudiados, siendo considerados como uno de los grupos más abundantes, extendidos y diversificados de los presentes en estos hábitats (Holsinger 1994). Entre los pocos trabajos realizados en el medio marino centrados en la descripción de la comunidad de anfípodos en su conjunto se encuentran los trabajos de Beatrice Scipione y Sandro Ruffo en Italia y Tammy Horton en cuevas de Honk Kong (Ruffo 1959, Scipione 1981, Horton 2008). Aunque existen otros trabajos donde se citan las especies de anfípodos encontradas en sustratos blandos o en las paredes de cuevas submarinas (e.j. Ledoyer 1965, Bamber et al 2008, Akoumianaki y

Hughes 2004), los trabajos previamente citados son especialmente interesantes por abordar de manera específica la influencia que tienen sobre estos organismos algunos de los factores ambientales característicos de cuevas submarinas, tales como la disminución de la luz o los cambios en la granulometría a lo largo de la cueva. Sin embargo, la gran mayoría de los aspectos relacionados con la ecología de los anfípodos en estos hábitats aún permanecen inexplorados.

OBJETIVOS GENERALES

Los anfípodos son un grupo habitualmente usado como modelo de estudio. En la presente tesis doctoral han sido utilizados para obtener información acerca del comportamiento de la fauna móvil presente en sustratos blandos y asociada a invertebrados bentónicos, el efecto de los gradientes ambientales sobre la biocenosis cavernícola, el funcionamiento de las redes tróficas en estos sistemas, su dinámica de colonización, la evaluación de su estado ambiental, etc. Además de mejorar nuestra comprensión del funcionamiento de cuevas submarinas, estos estudios permiten a su vez obtener valiosa información sobre la biología de este grupo taxonómico; distribución de especies, requerimientos ambientales y sus límites de tolerancia, etc. A continuación describiremos de manera más específica los objetivos que se persiguen con la presente tesis doctoral.

- Se trata este del primer estudio científico centrado en la biología de las cuevas submarinas del Sur de la Península Ibérica y el Mar de Alborán. Es por ello que el primer objetivo es fundamentalmente descriptivo, basado en llevar a cabo una descripción de las especies presentes (especialmente anfípodos) en las cuevas submarinas de la costa de Granada y, en la medida de lo posible, evaluar la contribución de este grupo a la abundancia total y el número de especies que componen la fauna móvil asociada tanto a sustratos duros como blandos.
- Explorar los patrones espaciales de diversidad, abundancia y riqueza de especies de la fauna bentónica móvil presente en cuevas submarinas, así como los factores que los determinan. Para ello se analiza la variación de estos parámetros a lo largo de las cuevas submarinas y con el medio externo, pudiendo evaluarse de esta manera la influencia que ejercen los gradientes ambientales sobre las comunidades y la particularidad de las comunidades de cuevas submarinas dentro de los ecosistemas costeros.
- Mediante el estudio de diferentes cuevas submarinas, evaluar la constancia de los patrones obtenidos.
- Mejorar nuestro conocimiento relativo a los requerimientos ambientales de las especies de anfípodos. La existencia de marcados gradientes ambientales en una

escala espacial muy reducida nos permite identificar los límites de tolerancia a diferentes factores ambientales (granulometría, salinidad, etc.) de las especies presentes en las cuevas submarinas y sus proximidades, lo cual tiene un especial interés dado el extendido uso de estos organismos en índices bióticos.

- Estudio de los patrones de colonización y sucesión. Estos procesos han sido escasamente estudiados hasta la fecha en cuevas submarinas y la información disponible para organismos con fases adultas móviles o con desarrollo directo (como es el caso de los crustáceos peracáridos) es inexistente.
- Ecología trófica. Estudiar el efecto que tienen las cuevas submarinas sobre las redes y el comportamiento trófico de los organismos bentónicos, analizando las diferencias en la alimentación de las principales especies presentes de anfípodos presentes en el interior y el exterior de estos hábitats.
- Con toda la información obtenida, evaluar el papel que desempeñan las cuevas submarinas dentro de los ecosistemas costeros y su sensibilidad ante posibles perturbaciones, así como plantear medidas de conservación y gestión.

ESTRUCTURA DE LA TESIS DOCTORAL

La mayoría de los capítulos de la tesis doctoral han sido elaborados en inglés y son adaptaciones de artículos científicos ya publicados en revistas internacionales (tal y como está indicado al principio de cada sección). Algunas de las secciones de los capítulos 1 y 6, escritos en castellano, están tomadas de otras contribuciones resultado de la tesis doctoral (ver apéndice), aunque en su mayor parte son de nueva elaboración.

El capítulo 1 es una introducción general, donde se ha discutido el interés del estudio de las cuevas submarinas y los crustáceos anfípodos, así como los estudios previos realizados en este campo. También se indican las principales motivaciones y objetivos de la tesis doctoral.

Los dos principales ambientes en los cuales se han estudiado los anfípodos asociados a cuevas submarinas, sustrato blando y sustrato duro (especies asociadas a invertebrados sésiles), son tratados de manera independiente en los capítulos 2 y 3. Ambas secciones siguen una estructura similar, dividida en un primer apartado centrado de manera específica en la cueva de Cerro Gordo y aspectos concretos de estas comunidades, y un segundo apartado donde se tienen en cuenta varias cuevas submarinas con el objetivo principal de ver la constancia de los patrones observados.

Concretamente, en la primera parte del capítulo 2 se analizó la influencia del amplio gradiente ambiental existente en la cueva de Cerro-Gordo sobre la distribución

de las comunidades de crustáceos asociadas a sustrato blando. En la sección 2.2. se estudió en profundidad la comunidad presente en los sedimentos de 6 cuevas diferentes, comparando en cada localización las diferencias en las condiciones ambientales y la biocenosis dentro y fuera de la cueva. Se evaluó la existencia de patrones generales dentro-fuera y la posible influencia de la profundidad sobre ellos. Se analizaron también aspectos concretos relacionados con la biogeografía de las especies encontradas y su relación con las condiciones ambientales.

Las comunidades bentónicas asociadas a sustrato duro son analizadas en el capítulo 3. En la sección 3.1 se utiliza la excepcionalmente rica comunidad de invertebrados sésiles de la cueva de Cerro Gordo para explorar la diversidad de anfípodos presentes y su especificidad en el uso de determinados sustratos como hospedadores. Solo se consideraron las especies más abundantes presentes en la sección semioscura de la cueva para (1) no afectar negativamente a las poblaciones de especies con menor presencia y (2) debido a la ausencia de sustratos con compleja estructura tridimensional en la sección oscura de la cueva. Por otro lado, entre las especies consideradas no se incluyó al hidrozoo *Eudendrium* sp., ya que la fauna asociada a este sustrato había sido estudiada en profundidad previamente para los trabajos descritos en el siguiente apartado. En la segunda parte del capítulo (3.2) se seleccionaron 4 cuevas donde *Eudendrium* sp. fuese un sustrato abundante tanto en su zona interna como externa. A continuación se caracterizó la fauna de anfípodos y se compararon las diferencias entre ambientes (interior vs exterior) y entre cuevas en cuanto a composición de especies, abundancia total de individuos, riqueza de especies y diversidad.

El capítulo 4 está centrado en los procesos de colonización y sucesión en cuevas submarinas, los cuales fueron estudiados mediante el seguimiento temporal de la fauna presente en sustratos artificiales instalados en diferentes zonas de la cueva.

En el capítulo 5 se realizó el análisis del contenido estomacal de las especies más abundantes obtenidas en el estudio detallado en la sección 2.2, con el objetivo de estudiar las diferencias en el comportamiento alimenticio de las comunidades de anfípodos presentes en el exterior y el interior de cuevas submarinas.

En el capítulo 6 se realiza una discusión general donde se relacionan los principales resultados obtenidos en cada uno de los apartados anteriores y se comentan las principales aportaciones de la tesis doctoral. También se proponen posibles líneas de investigación para el futuro, centradas en resultados de la presente tesis sobre los que sería interesante profundizar así como otros muchos aspectos aún no estudiados.

Por último, las conclusiones más importantes del estudio son enumeradas en el capítulo 7

BIBLIOGRAFÍA

- Abad E, Preciado I, Serrano A, Baro J (2007) Demersal and epibenthic assemblages of trawlable grounds in the northern Alboran Sea (western Mediterranean) *Sci Mar* 71(3):513-524.
- Aguilar R, Lopez-Correa M, Calcinai B, Pastor X, de la Torriente A, García S (2011) First records of *Asbestopluma hypogea* Vacelet and Boury-Esnault, 1966 (Porifera, Demosporgiae Cladorhizidae) on seamounts and in bathyal settings of the Mediterranean Sea. *Zootaxa* 2925:33-40.
- Airoidi L, Cinelli F (1997) Sources and biochemical composition of suspended particulate material in a submarine cave with sulphur water springs. *Mar Biol* 128:537-545.
- Akoumianaki I, Hughes JA (2004) The distribution of macroinfauna along a Mediterranean submarine cave with sulphur springs. *Cah Biol Mar* 45:355-364.
- Arillo A, Bavestrello G, Burlando B, Sarà M (1993) Metabolic integration between symbiotic cyanobacteria and sponges: a possible mechanism. *Mar Biol* 117:159-162.
- Balduzzi A, Bianchi CN, Boero F, Cattaneo-vietti R, Pansini M, Sarà M (1989) The suspension-feeder communities of a Mediterranean sea cave. *Sci Mar* 53(2-3):387-395.
- Bamber RN, Evans NJ, Robbins RS (2008) The marine soft-sediment benthic communities of Hong Kong: a comparison of submarine cave and open habitats. *J Nat Hist* 42:953-965.
- Baeza-Rojano E (2012) Crustáceos anfípodos: una alternativa al alimento vivo usado tradicionalmente en acuicultura. *Chronica naturae* 2:64-72.
- Baeza-Rojano E, García S, Garrido D, Guerra –García JM, Domingues P (2010) Use of amphipods as alternative prey to cultura cuttlefish (*Sepia officinalis*) hatchlings. *Aquaculture* 300(1-4):243-246.
- Barea-Azcón JM, Ballesteros-Duperón E, Moreno D (coords.) (2008) Libro Rojo de los Invertebrados de Andalucía. 4 tomos. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla.
- Bell JJ (2002) The sponge community in a semi-submerged temperate sea cave: density, diversity and richness. *PSZN Mar Ecol* 23(4):297-311.
- Benedetti-Cechi L, Airoidi L, Abbiati M, Cinelli F (1996) Exploring the causes of variation in assemblage of benthic invertebrates from a submarine cave with sulphur springs. *J Exp Mar Biol Eco* 208:153-168.
- Bibiloni MA, Gili JM (1982) Primera aportación al conocimiento de las cuevas submarinas de la isla de Mallorca. *Oecol Aquat* 6:227-234.
- Bibiloni MA, Gili JM, Ros JD (1984) Les coves submarines de les illes Medes. En: Ros JD, Olivella I, Gili JM (eds.) Els sistemes naturals d'elles illes Medes. Institut d'Estudis Catalans, Barcelona.
- Bibiloni MA, Uriz MJ, Gili JM (1989) Sponge communities in three submarine caves of the Balearic Islands (Western Mediterranean): Adaptations and Faunistic Composition. *Mar Ecol* 10:317-334.

- Boos K, Cook EJ, Urzua A, Gutow L, Saborowski R (2011) Effects of ocean acidification on reproductive traits in the caprellid amphipod *Caprella mutica* Schurin, 1935. Deutschsprachige Crustaceologen- Tagung, 1-19 April, Regensburg, Germany.
- Borja A, Franco J, Pérez V (2000) A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within european estuarine and coastal environments. *Mar Pollut Bull* 40:1100-1114.
- Boury-Esnault N, Efremova S, Bézac C, Vacelet J (1999) Reproduction of a hexactinellid sponge: first description of gastrulation by cellular delamination in the Porifera. *Int J Inver Rep Dev* 35(3):187-201.
- Bréhier F, Jaume D (2009) A new species of *Pseudoniphargus* (Crustacea, Amphipoda, Melitidae) from an anchialine cave on the French Mediterranean coast. *Zoosystema* 31(1):17-32.
- Bussotti S, Guidetti P (2009) Do Mediterranean fish assemblages associated with marine caves and rocky cliffs differ? *Est Coast Shelf Sci* 81:65-73
- Bussotti S, Denitto F, Guidetti P, Belmonte G (2002) Fish assemblages in Shallow Marine Caves of the Salento Peninsula (Southern Apulia, SE Italy). *Mar Ecol* 23:11-20.
- Bussotti S, Di Franco A, Francour P, Guidetti P (2015) Fish assemblages of Mediterranean Marine Caves. *PLoS ONE* 1(4):e012632. doi:10.1371/journal.pone.012632.
- Bussotti S, Terlizzi A, Frascchetti S, Belmonte G, Boero F (2006) Spatial and temporal variability of sessile benthos in shallow Mediterranean marine caves. *Mar Ecol Prog Ser* 325:109-119.
- Cebrián E, Ballesteros E (2004) Zonation patterns of benthic communities in an upwelling area from the western Mediterranean (La Herradura, Alboran Sea). *Sci Mar* 68(1):69-84.
- Cebrián E, Ballesteros E, Canals M (2000) Shallow rocky bottom benthic assemblages as calcium carbonate producers in the Alboran Sea (southwestern Mediterranean). *Oceanol Acta* 23(3) 311-322
- Cicogna F, Bianchi CN, Ferrari G, Forti P (eds.) (2003) Grotte marine: cinquant'anni di ricerca in Italia. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, Roma.
- Cimino G, Crispino A, De Rorsa S, De Stefano S, Sodano G (1981) Polyacetylenes from the sponge *Petrosia ficiformis* found in dark caves. *Experientia* 37:924-926.
- Cook K, Vanderklift MA, Poore AGB (2011) Strong effects of herbivorous amphipods in epiphyte biomass in a temperate seagrass meadow. *Mar Ecol Prog Ser* 442:263-269.
- Collin SB, Johnson LE (2014) Invasive species contribute to biotic resistance: negative effect of caprellid amphipods on an invasive tunicate. *Biol Invasions* 16:2209-2219.
- Coma R, Carola M, Riera T, Zabala M (1997) Horizontal transfer of matter by a cave dwelling mysid. *Mar Ecol* 18(3):211-226.
- Dauvin JC, Ruellet T (2007) Polychaete/amphipod ratio revisited. *Mar Pollut Bull* 55:215-224.
- de-la-Ossa-Carretero JA, Del-Pilar-Ruso Y, Giménez-Casalduero F, Sánchez-Lisazo JL, Dauvin JC (2012) Sensitivity of amphipods to sewage pollution. *Est Coast Shelf Sci* 96:129-138.

- Duffy JE, Hay ME (2000) Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecol Monogr* 70:237–263.
- Fichez R (1990) Decrease in allochthonous organic inputs in dark submarine caves, connection with lowering in benthic community richness. *Hydrobiologia* 207:61-69.
- Fichez R (1991) Suspended particulate organic matter in a Mediterranean submarine cave. *Mar Biol* 108,167-174.
- Galil BS (2011) The alien crustaceans in the Mediterranean: an historical overview. En: Galil BS, Clark PF, Carlton JT (eds.) *In the wrong place - alien marine crustaceans: distribution, biology and impacts*. Springer, Berlin.
- Garrabou J, Flos J (1995) A simple diffusion-sedimentation model to explain planktonic gradients within a NW Mediterranean submarine cave. *Mar Ecol Prog Ser* 123: 273-280.
- Gerovasileiou V, Voultziadou E (2012) Marine caves of the Mediterranean Sea: a sponge biodiversity reservoir within a biodiversity hotspot. *PLoS One* 7(7): e39873.
- Gerovasileiou V, Voultziadou E (2014) Mediterranean marine caves as biodiversity reservoirs: a preliminary overview. *Proceedings of the first Mediterranean Symposium on the conservation of Dark Habitats*: 45-50.
- Gerovasileiou V, Voultziadou E (2015) Sponge diversity gradients in marine caves of the eastern Mediterranean. *J Mar Biol Ass UK*. doi:10.1017/S0025315415000697.
- Giakoumi S, Sini M, Gerovasileiou V, Mazor T, Beher J, et al (2013) Ecoregion-Based Conservation Planning in the Mediterranean: Dealing with Large-Scale Heterogeneity. *PLoS ONE* 8, e76449.
- Gili JM, Oliivella I, Zabala M, Ros JD (1982). Primera contribución al conocimiento del doblamiento bentónico de las cuevas submarinas del litoral catalán. *Acta 1^{er} Simp. Ibér. Estudios Bentos Mar* 2:813-836.
- Gili JM, Riera T, Zabala M (1986) Physical and biological gradients in a submarine cave on the Western Mediterranean coast (north-east Spain) 90:291-297.
- Gili JM, Macpherson E (1987) Crustáceos decápodos capturados en cuevas submarinas del litoral Balear. *Inv Pesq* 51: 285-291.
- Gómez-Gesteira JL, Dauvin JC (2000) Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic communities. *Mar Pollut Bull* 40:1017-1027.
- Grobe P, Lüter C (1999) Reproductive cycles and larval morphology of three Recent species of *Argyrotheca* (Terebratellacea: Bachiopoda) from Mediterranean submarine caves. *Mar Biol* 134:595-600.
- Guerra-García JM, García-Gómez JC (2001) The spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar area). *PSZN Mar Ecol* 22:357-367.
- Guerra-García JM, Cabezas P, Baeza-Rojano E, Espinosa F, García-Gómez JC (2009) Is the north side of the Strait of Gibraltar more diverse than the south side? A case study using the

- intertidal peracarids (Crustacea: Malacostraca) associated to the seaweed *Corallina elongata*. *J Mar Biol Assoc UK* 89(2):387-397.
- Guerra-García JM, Tierno de Figueroa JM, Navarro-Barranco C, Ros M, Sánchez-Moyano JE, Moreira J (2014) Dietary analysis of the marine Amphipoda (Crustacea: Peracarida) from the Iberian Peninsula. *J Sea Res* 85:508-517.
- Guerra A, Leite N, Marques JC, Ford AT, Martins I (2014) Predicting the variation in *Echinogammarus marinus* at its southernmost limits under global warming scenarios: Can the sex-ratio make a difference? *Sci Total Environ* 466-467:1022-1029.
- Harmelin JG (1997) Diversity of bryozoans in a Mediterranean sublittoral cave with bathyal-like conditions: role of dispersal processes and local factors. *Mar Ecol Prog Ser* 153:139-152.
- Harmelin JG, Vacelet J, Vasseur P (1985) Les grottes sous-marines obscures: un milieu extreme et un remarquable biotope refuge. *Téthys* 11:214-229.
- Heburn GW, La Violette PE (1990) Variations in the structure of the anticyclonic gyres found in the Alboran Sea. *J Geo Res* 95:1599-1613.
- Highsmith RC, Coyle KO (1990) High productivity of northern Bering Sea benthic amphipods. *Nature* 344:862-864.
- Hofrichter R (2001) *El Mar Mediterráneo*. Ediciones Omega, Barcelona.
- Holsinger JR (1994) Pattern and process in the biogeography of subterranean amphipods. *Hydrobiologia* 287:131-145.
- Horton T (2008) Amphipoda from marine caves of Hong Kong Island. *J Nat Hist* 42(9-12):825-854.
- Iliffe TM (1992) Anchialine cave biology. En: Camacho AI (ed.) *The natural history of biospeleology*. Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid.
- Jaume D (1991) Two new species of the amphipod genus *Pseudoniphargus* (Crustacea) from Cabrera (Balearic Islands). *Stygologia* 6(3):177-189.
- Jaume D, Garcia L (1992) A new *Metacirolana* (Crustacea: Isopoda: Cirolanidae) from an anchihaline cave lake on Cabrera (Balearic Islands). *Stygologia* 7:179-186.
- Jaume D (1997). First record of Superornatiremidae (Copepoda: Harpacticoida) from Mediterranean waters, with description of three new species from Balearic anchihaline caves. *Sci Mar* 61:131-152.
- Jiménez-Prada P, Hachero-Cruzado I, Guerra-García JM (2015) The importance of amphipods in diets of marine species with aquaculture interest of Andalusian coast. *Zool Baetica* 26:3-39.
- Ledoyer M (1965) Note sur la faune vagile des grottes sous-marines obscures. *Rapp Com Int Mer Médit* 18(2):121-124.
- Logan A, Bianchi CN, Morri C, Zibrowius H (2004) The present-day Mediterranean brachiopod fauna: diversity, life habits, biogeography and paleobiogeography. *Sci Mar* 68(1):163-170

- López-Rodríguez MJ, Tierno de Figueroa JM (2012) Life in the dark: on the biology of the cavernicolous stonefly *Protonemura gevi* (Insecta, Plecoptera). *Am Nat* 180(5): 684-691.
- Manconi R, Ledda FD, Serusi A, Corso G, Stocchino A (2009) Sponges of marine caves: Notes on the status of the Mediterranean palaeoendemic *Petrobiona massiliana* (Porifera: Calcarea: Lithonida) with new records from Sardinia. *Ital J Zool* 76(3):306-315.
- Martí R, Uriz JM, Ballesteros E, Turon X (2004a) Benthic assemblages in two Mediterranean caves: species diversity and coverage as a function of abiotic parameters and geographic distance. *J. Mar Biol Ass UK* 84:557-572.
- Martí R, Uriz JM, Ballesteros E, Turon X (2004b) Temporal variation of several structure descriptors in animal-dominated benthic communities in two Mediterranean caves. *J. Mar Biol Ass UK* 84:573-580.
- Martí R, Uriz JM, Turon X (2005) Spatial and temporal variation of natural toxicity in cnidarians, bryozoans and tunicates in Mediterranean caves. *Sci Mar* 69:485-492.
- McNeil C, Boets P, Lock K, Goethals PLM (2013) Potential effects of the invasive 'killer shrimp' (*Dikerogammarus villosus*) on macroinvertebrate assemblages and biomonitoring indices. *Freshwater Biol* 58 :171-182.
- Mouritsen KN, Tompkins DM, Poulin R (2005) Climate warming may cause a parasite-induced collapse in coastal amphipod populations. *Oecologia* 146:476-483.
- Myers JA, Heck KL (2013) Amphipod control epiphyte load and its concomitant effects on shoalgrass *Halodule wrightii* biomass. *Mar Ecol Prog Ser* 483:133-142.
- Neiber MT, Hartke TR, Stemme T, Bergmann A, Rust J, Iliffe TM, Koenemann S (2011) Global Biodiversity and Phylogenetic Evaluation of Remipedia (Crustacea). *PLoS ONE* 6(5): e19627.
- Perez I, Andreo B (2007) Sierra Almirajara y Alberquillas. En: Durán JJ (ed.) Atlas Hidrogeológico de la provincia de Málaga, tomo 2. Instituto Geológico y Minero de España. Madrid.
- Pinedo S, Jordana E (2007) Spain (Catalonia and Balearic Islands). En: Carletti A, Heiskanen AS (eds). Water Framework Directive Intercalibration Technical Report Part 3: Coastal and Transitional waters. JRC Scientific and Technical Reports, JRC andies.
- Poore AG, Graba-Landry A, Favret M, Sheppard Brennand H, Byrne M, Dworjanyn SA (2013) Direct and indirect effects of ocean acidification and warming on a marine plant-herbivore interaction. *Oecologia* 173(3):1113-1124.
- Rastorgueff PA, Chevaldonné P, Arslan D, Verna C, Lejeusne C (2014) Cryptic habitats and cryptic diversity: unexpected patterns of connectivity and phylogeographical breaks in a Mediterranean endemic marine cave mysid. *Mol Ecol* 23:2825-2843.
- Rastorgueff PA, Harmelin-Vivien M, Richard P, Chevaldonné P (2011) Feeding strategies and resource partitioning mitigate the effects of oligotrophy for marine cave mysids. *Mar Ecol Prog Ser* 440:163-176.
- Riedl R (1966) *Biologie der Meereshöhlen*. Verlag Paul Parey. Hamburg and Berlin.

- Riera T, Zabala M, Peñuelas J (1991) Mysids from a submarine cave emerge each night to feed. *Sci Mar* 55(4):605-609.
- Ros JD, Romero J, Ballesteros E, Gili JM (1989) Buceando en aguas azules. El bentos. En: Margalef R El Mediterráneo occidental. Ediciones Omega, Barcelona.
- Ros M, Vázquez-Luis M, Guerra-García JM (2013) The tropical caprellid amphipod *Paracaprella pusilla*: a new alien crustacean in the Mediterranean Sea. *Helgol Mar Res* 67:675-685.
- Sarhan T, García-Lafuente J, Vargas M, Vargas JM, Plaza F (2000) Upwelling mechanisms in the northwestern Alboran Sea. *J Mar Sys* 23:317-331.
- Scinto A, Bavestrello G, Boyer M, Previati M, Cerrano C (2008) Gorgonian mortality related to a massive attack by caprellids in the Bunaken Marine Park (North Sulawesi, Indonesia). *J Mar Biol Ass U.K.* 88(4): 723-727.
- Scipione MB, Taramelli E, Fresi E, Cinelli F, Mazzella L (1981) Distribuzione delle biocenosi bentoniche lungo un gradiente di luce in una grotta marina superficiale: Anfipodi. *Mem Biol Mar Ocean* 11(1):1-16.
- Simboura N, Zenetos A (2002) Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new biotic index. *Med Mar Sci* 3(2):77-111.
- Stergiou KI, Karpouzi VS (2002) Feeding habits and trophic levels of Mediterranean fish. *Rev Fish Biol Fisher* 11:217-254.
- Stewart IS, Morhange C (2009) Coastal geomorphology and sea level change. En: Woodward JC (ed.). Oxford University Press, Oxford, UK.
- Streftaris N, Zenetos A, Papathanassiou E (2005) Globalisation in marine ecosystems: the story of non-indigenous marine species across European Seas. *Oceanogr Marine Biology* 43:419-45.
- Taylor B. (1998) Density, biomass and productivity of animals in four subtidal rocky reef habitats: the importance of small mobile invertebrates. *Mar Ecol Prog Ser* 172:37-51.
- Templado J, García-Carrascosa M, Baratech L, Capaccioni R, Juan A, López-Ibor A, Silvestre R, Massó C (1986) Estudio preliminar de la fauna asociada a los fondos coralíferos del mar de Alborán (SE de España). *Bol Inst Esp Oceanog* 3:93-104.
- Turon X, Martí R, Uriz JM (2009) Chemical bioactivity of sponges along an environmental gradient in a Mediterranean cave. *Sci Mar* 73:387-397.
- Vacelet J (1999) Sponges (Porifera) in submarine caves. *Qatar Univ Sci J* 19:46-56.
- Vacelet J, Boury-Esnault N (1996) A new species of carnivorous sponge (Demospongiae: Cladorhizidae) from a Mediterranean cave. *Bull K Belg Inst Nat* 66:109-115.
- Vacelet J, Boury-Esnault N, Harmelin JG (1994) Hexactinellid cave, a unique deep-sea habitat in the scuba zone. *Deep-Sea Res I* 41(7):965-973.
- Vacelet J, Duport E (2004) Prey capture and digestion in the carnivorous sponge *Asbestopluma hypogea* (Porifera: Demospongiae). *Zoomorphology* 123:179-190.

- Voituron Y, de Fraipont M, Issartel J, Guillaume O, Clobert J (2011) Extreme lifespan of the human fish (*Proteus anguinus*): a challenge for ageing mechanisms. *Biol Lett* 23(1):105-7.
- Woods CMC (2009) Caprellid amphipods: An overlooked marine finfish aquaculture resource? *Aquaculture* 289:199-211.
- Yager J (1981) Remipedia, a new class of Crustacea from a marine cave in the Bahamas. *J Crust Biol* 1:328-333
- Zabala M, Riera T, Gili JM, Barange M, Lobo A, Peñuelas J (1989) Water flow, trophic depletion, and benthic macrofauna impoverishment in a submarine cave from the western mediterranean. *PSZN Mar Ecol* 10:271-287
- Zenetos A, Gofas S, Morri C, Rosso A, Violanti D (2012) Alien species in the Mediterranean Sea by 2010. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part 2. Introduction trends and pathways. *Med Mar Sci* 13(2):328-352.

2

SOFT BOTTOM COMMUNITIES

PART 1: Cerro-Gordo cave: Gradients



Adapted from:

- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2012) Soft bottom crustacean assemblages in Mediterranean marine caves. The cave of Cerro Gordo (Granada, Spain) as case study. *Helgoland Marine Research* 66(4): 567-576

Although marine caves are priority conservation areas according to the Directive 92/43/CEE of the European Community, there is a lack of studies dealing with their soft bottom communities. For a case study we selected the Cerro Gordo cave at 15 m depth. Three different zones were defined: a semi-dark 25 m long entrance area, a dark intermediate area of 35 m, and the final zone at 90 m from the entrance. Sediment samples were taken from these zones as well as from outside the cave (control) by SCUBA diving. Six rectangular cores of 0.0025 cm³ were collected in each site for macrofaunal study and three more replicates were taken to analyse physico-chemical parameters. The granulometry showed a clear gradient from medium sands outside the cave to silt and clay in the inner zone. Measurements of the crustacean assemblages showed that the number of species and abundance were significantly higher outside the cave (30-40 species, >4000 ind m⁻²) than inside (5-10 species, <1000 ind m⁻²). Multivariate analyses showed a clear difference in species composition between outside and inside the cave. Caprellids, tanaids, cumaceans and decapods, were only found outside the cave, while gammarids and isopods were present both outside and inside the cave. The gammarid *Siphonoecetes sabatieri* and the tanaid *Apseudes latreilli* were the dominant species outside the cave, while the gammarids *Harpinia pectinata*, *H. crenulata* and *H. ala* were dominant inside. The present study represents an increase in depth range and geographic distribution for *Kupellonura mediterranea* and *Monoculodes packardi*.

- Previous page photograph. The nudibranch *Dondice banyulensis* in the soft bottom of Cerro Gordo cave. Luis Sánchez Tocino.

INTRODUCTION

Marine cave assemblages have aroused great interest over the last decades (Benedetti-Cecchi et al 1996). This environment is attractive to taxonomists and ecologists for several reasons. It is a simplified and oligotrophic system, depending entirely on energy input from the surrounding productive coastal area. There are strong alterations in the distribution of organisms which reflect marked gradients in the environmental conditions. These special conditions of light deficiency, oligotrophy and low hydrodynamics enable the presence of species in that shallow environment which are otherwise restricted to deeper waters. Moreover, the investigation of marine caves often provides the facility to discover new and endemic species, due to the isolation of cave communities (Ott and Svoboda 1976; Harmelin et al 1985; Ros et al 1989). For all these reasons, submarine caves are unique and vulnerable ecosystems (Sarà 1976), protected by the European Community (Habitat Directive 92/43 EEC). However, the study of marine cave communities has focused primarily on the benthic communities of hard substrates, while very little effort has been devoted to the study of soft bottom communities. The bottom of underwater caves is often formed by muddy sediment. Its suspension, which can result in an almost complete loss of visibility, is one of the greatest dangers to divers advancing into caves.

All cave studies have revealed a marked horizontal zonation within the animal communities on the walls (Laborel and Vacelet 195; Sarà 1961; Riedl 1966; Pérès 1967; Cinelli et al 1978; Balduzzi et al 1989; Bibiloni and Gili 1982; Harmelin et al 1985; Gili et al 1986; Zabala et al 1989; Gili and Mcpherson 1987; Bibiloni et al 1989; Fichez 1990; Benedetti-Cecchi et al 1996; Harmelin 1997; Benedetti-Cecchi et al 1998; Bell 2002; Bussotti et al 2002; Marti et al 2004a,b; Dennito and Licciano 2006; Bussotti et al 2006; Denitto et al 2007; Moscatello and Belmonte 2007; Bussotti and Guidetti 2009). A common feature in these studies is a decrease in species richness, biomass and coverage of benthic organisms from the outermost to the innermost part of the cave. The proposed explanations for these features are the physical gradients inside the cave (light, oxygen, salinity, etc), the trophic supply gradient and the limited capacity of the larvae for dispersion and settlement (Harmelin 1985; Zabala et al 1989; Fichez 1990). All these factors may also apply to soft bottom communities, but until now possible changes in soft substrate assemblages along the gradient of shallow submarine caves have not been investigated.

Peracarid crustaceans are among the most diverse and abundant organisms in soft-bottom benthic fauna (Fincham 1974; Dauvin et al 1994; Prato and Biandiolino 2005; Lourido et al 2008). They also play an important role in structuring benthic assemblages (Duffy and Hay 2000) and their abundance and species diversity may serve as indicators of environmental conditions (Corbera and Cardell 1995; Gómez-Gesteira and Dauvin 2000; Guerra-García and García-Gomez 2004). For anchialine

caves, Iliffe (2005) indicated that this group makes up 90% of species. Furthermore, many new taxa are being described from marine caves, and sediments of these caves are still largely unexplored. It is difficult to find caves with a defined gradient of sediments from the outer to the inner zones. Consequently, the cave of Cerro Gordo, more than 100 m long, is an adequate site to study, for the first time, the soft bottom crustacean communities in a Mediterranean cave gradient.

The aims of this study were: 1) to identify the crustacean species which inhabit the soft bottom of Cerro Gordo cave, and 2) to determine their distribution and abundance along the environmental gradient of the cave in order to assess if soft bottom communities present patterns which are similar to those found for the hard bottom animal communities on the walls of the cave.

MATERIAL AND METHODS

Study area

The study was conducted at the Cerro Gordo cave, a karstic submarine cave located on the coast of Granada (south Spain, Alboran Sea, 33°43'46" N, 3°45'56" O) (Fig. 1). Because of upwelling events, which bring nutrient-rich water from the deep, this area is characterized by very diverse benthic communities.

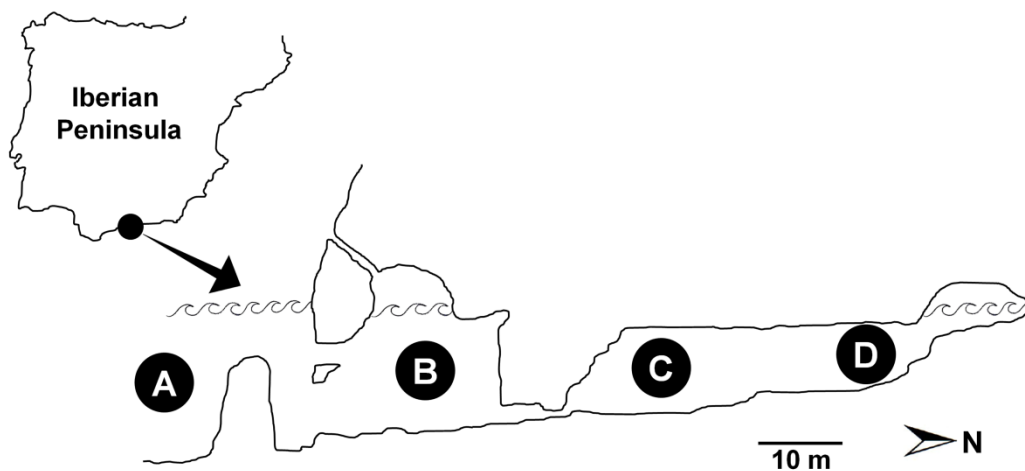


Figure 1. Location and longitudinal section of Cerro Gordo cave, showing the sampling stations (A-D).

Cerro Gordo cave has been previously described in detail (See chapter 1). Sampling stations were established and referred as A, B, C and D. Station A was located outside the cave, in a sandy bottom area near the entrance. Station B was located in the semi-dark area, between 15 and 20 m from the entrance. The other two sampling stations

were in the dark area, one at about 60 m from the entrance and the other at the end of the cave, in an area under freshwater influence (Fig. 1).

Sample collection and analyses

The sample collection was carried out in February 2001, using a hand-held rectangular core of 0.025m² to a depth of 10 cm by SCUBA diving. Six replicate core samples were taken at each station for the crustacean study. Samples were washed through a 0.5 mm mesh sieve with seawater and fixed with ethanol stained with rose bengal. In the laboratory, each sample was examined using binocular microscopes. All crustacean specimens were counted and identified to species level where possible. Species diversity for each sample were calculated applying the (\log_2) Shannon-Wiener diversity index (H') (Shannon and Weaver 1963).

Together with the macrofaunal samples, three more sediment cores were collected at each station for physico-chemical analyses of the sediments. All samples were immediately stored frozen until the laboratory analyses. Granulometric parameters were determined following the method proposed by Guitián and Carballas (1976). For the chemical analysis, the sediments were air-dried, crushed and sieved (2mm) first. Aliquots of sediment samples were also ground to < 60 μm prior to determination of major, minor and trace element concentrations. Organic Matter (OM) was analysed by dichromate oxidation and titration with ferrous ammonium sulphate (Walkley and Black 1934). Kjeldahl-N was determined by the method described by Hesse (1971). Total major, minor and trace element concentrations in sediments (<60 μm) were determined by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES Varian ICP 720-ES axially viewed) following aqua-regia digestion in a microwave oven (Microwave Laboratory Station Mileston ETHNOS 900). The term “total” accounts for the aqua-regia digestion, but it does not completely destroy silicates. The accuracy of the analytical methods was assessed by carrying out analyses of the BCR (Community Bureau of Reference) reference samples: BCR 320R (Channel sediment) and soil sample reference ISE 872 from the Wageningen Evaluating Programs for Analytical Laboratories, International Soil-analytical Exchange (WEPAL; ISE).

Statistical analyses

Biological, chemical and granulometric data were not normally distributed (Kolmogorov-Smirnov test) and did not feature homogeneity of variance (Levene test). Thus, we opted to use Kruskal-Wallis analysis to detect differences among stations. If differences existed, Tamhane *post hoc* tests were used for *post hoc* comparisons. The univariate statistical analyses were carried out using the SPSS 17.0 Statistic program.

Cluster analyses were conducted on abundance per taxonomic group to assess the relationship between stations. Hierarchical clustering with group-average linking,

based on similarity matrices (Bray-Curtis coefficient) was used. Data were previously square root transformed to reduce the importance of extreme values. To the same end, cluster analyses were conducted with the granulometric and chemical data. In such cases, the clustering with group-average linking was based on euclidean distances matrices. These analyses were done using the PRIMER package (Clarke and Gorley 2001).

RESULTS

A total of 36 crustacean species were recorded from the four stations of the study. These comprised 24 amphipod species, four cumaceans, four isopods, two tanaids and two decapods (Table 1). The exterior zone was dominated by the amphipods *Siphonoecetes sabatieri* and *Metaphoxus fultoni*, the tanaid *Apseudes latreilli* and the decapod *Diogenes pugilator*. These four species comprised 74% of the specimens. The most abundant species inside the cave were three species of the genus *Harpinia*: *H. ala*, *H. crenulata* and *H. pectinata*. *Harpinia pectinata*, which has a shallower distribution, was the only one found in all stations, including the one outside the cave. *Harpinia crenulata* was present in the three stations inside the cave, and *Harpinia ala* only occurred in the dark part of the cave. Other interesting deep-water species found inside the cave were the amphipod *Monoculodes packardi* and the isopod *Kupellonura mediterranea*. Amphipods were the dominant group in abundance and number of species for all stations (Fig. 2). However, the number of amphipod species and individuals was lower inside the cave. Species of the suborder Gammaridea were able to colonize the interior of the cave, while species of the suborder Caprellidea were only present in the exterior area. The other crustacean group inhabiting the cave sediment was the order Isopoda. Although its dominance was higher in the inner part of the cave, this group also presented a decrease in richness and abundance inside the cave. Tanaidacea, Cumacea and Decapoda were only present in the external station. Richness, abundance and diversity values clearly decreased towards the inner part of the cave (Fig. 3). The Kruskal-Wallis analysis revealed that these differences among stations were significant for number of species, number of individuals and diversity values, but not for the evenness. The Tamhane *post hoc* test results were different in each case (Table 2).

The granulometric data indicated a progressive increase of the finer fractions in the inner areas of the cave (Fig. 4). The Kruskal-Wallis analysis showed the existence of significant differences in the silt and clay composition among stations ($W = 10.38$; $p = 0.016$). Tamhane *post hoc* test supported the existence of three groups of samples: samples from the exterior zone (A), from the semi-dark zone (B), and from the dark

Table 1. List of crustacean species recorded at Cerro Gordo cave and relative abundances (number of individuals per m² ± SE) in the four stations

SPECIES	STATIONS			
	A	B	C	D
AMPHIPODA				
<i>Ampelisca brevicornis</i> (Costa, 1853)	33 ± 16	0	0	0
<i>Ampelisca serrataudata</i> Chevreux, 1888	47 ± 30	13 ± 8	0	13 ± 13
<i>Ampelisca truncata</i> Bellan-Santini & Kaim-Malka, 1977	20 ± 13	0	0	0
<i>Amphilochus spencebatei</i> (Stebbing, 1876)	20 ± 13	0	0	0
<i>Argissa stebbingi</i> Bonnier, 1896	13 ± 13	0	0	0
<i>Bathyporeia guilliamsoniana</i> (Bate, 1857)	100 ± 36	0	0	0
<i>Cheirocratus sundevallii</i> (Rathke, 1843)	13 ± 8	0	0	0
<i>Harpinia ala</i> Karaman, 1987	0	0	93 ± 33	7 ± 6
<i>Harpinia crenulata</i> (Boeck, 1871)	0	240 ± 45	87 ± 42	27 ± 20
<i>Harpinia pectinata</i> Sars, 1891	13 ± 8	653 ± 145	447 ± 120	13 ± 8
<i>Hippomedon massiliensis</i> Bellan-Santini, 1965	13 ± 8	7 ± 6	0	0
<i>Lembos</i> sp.	87 ± 47	0	0	0
<i>Leucothoe oboa</i> Karaman, 1971	20 ± 9	20 ± 13	0	0
<i>Maera</i> sp.	7 ± 6	0	0	0
<i>Metaphoxus fultoni</i> (Scott, 1890)	387 ± 189	7 ± 6	0	0
<i>Monoculodes acutipes</i> Ledoyer, 1983	0	0	7 ± 6	0
<i>Monoculodes packardii</i> Boeck, 1871	7 ± 6	0	7 ± 6	0
<i>Pariambus typicus</i> (Krøyer, 1844)	47 ± 16	0	0	0
<i>Perioculodes longimanus</i> (Bate & Westwood, 1868)	153 ± 40	7 ± 6	0	0
<i>Photis longipes</i> (Della-Valle, 1893)	147 ± 52	173 ± 103	0	0
<i>Phtisica marina</i> Slabber, 1769	113 ± 74	0	0	0
<i>Pontocrates arenarius</i> (Bate, 1858)	20 ± 18	7 ± 6	0	0
<i>Siphonocetes sabatieri</i> Rouville, 1894	2213 ± 938	0	0	0
<i>Urothoe elegans</i> (Bate, 1857)	73 ± 28	7 ± 6	0	0
CUMACEA				
<i>Campyloopsis</i> sp.	7 ± 6	0	0	0
<i>Cumea</i> sp.	27 ± 20	0	0	0
<i>Dyastilis</i> sp.	7 ± 6	0	0	0
<i>Iphinoe</i> sp.	33 ± 12	0	0	0
DECAPODA				
<i>Diogenes pugilator</i> (Roux, 1929)	320 ± 53	0	0	0
Juvenile	13 ± 13	0	0	0
ISOPODA				
<i>Cymodoce truncata</i> Leach, 1814	7 ± 6	0	0	0
<i>Euridyce</i> sp.	60 ± 42	0	0	0
<i>Paranthura nigropunctata</i> (Lucas, 1846)	7 ± 6	0	0	0
<i>Kupellonura mediterranea</i> Barnard, 1925	0	53 ± 52	20 ± 9	53 ± 9
TANAIDACEA				
<i>Apseudes latreilli</i> (Milne-Edwards, 1828)	547 ± 158	0	0	0
<i>Tanaopsis graciloides</i> (Lilljeborg, 1864)	7 ± 6	0	0	0

zone of the cave (C and D). Concerning chemical analyses, univariate tests showed significant differences between stations for all variables, with the exception of organic matter, nitrogen and phosphorus. Although there were some differences between elements in the results obtained by the Tamhane *post hoc* tests, most tests showed significant differences between all the stations except for stations C and D (Table 3).

The trends observed along the horizontal transect also varied. For Al, As, Ba, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mn, Ni, Pb, V and Zn, there was an increase of their concentrations toward the inner part of the cave. In contrast, we obtained an opposite trend for B, Ca, Cd, Mg, Na, S and Sr (Fig. 5).

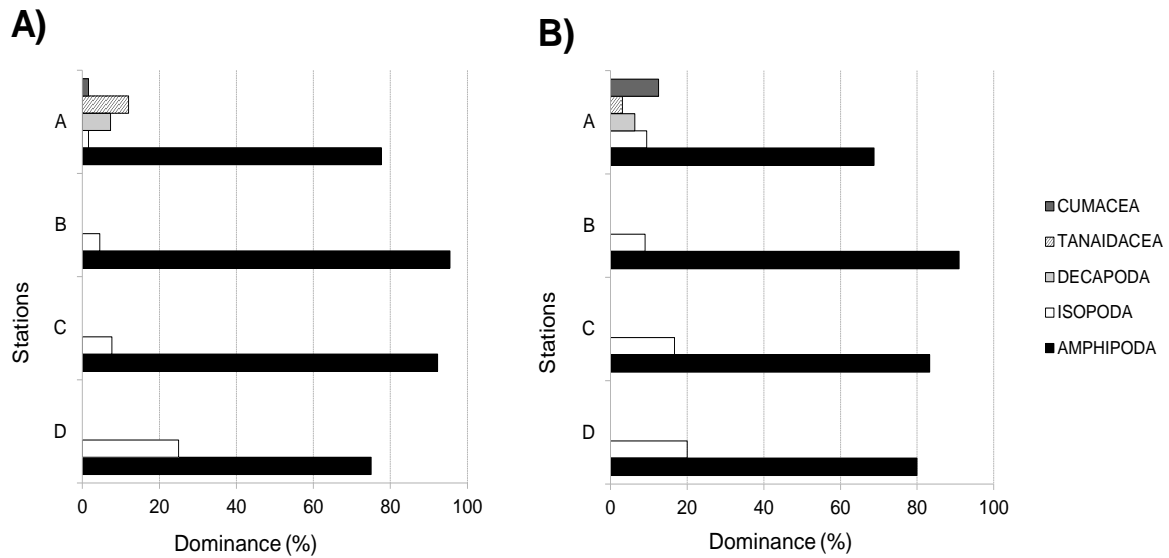


Figure 2. Dominance (%) of different groups for the different sampling stations, calculated with respect to number of species (A) and number of individuals (B).

The cluster analyses performed for the biological, granulometric and chemical data also showed the existence of the three distinct groups mentioned above (Fig. 6). The first group included the samples of station A, with sediments dominated by medium sands and a faunistic composition clearly different from that inside the cave, with less than 20% of similarity. The second group was represented by samples from the semi-dark area (station B). The samples from this zone, where the most abundant sediment fraction was the very fine sands, appeared very close in the three cluster analyses (more than 60% of similarity in their taxonomic composition). Finally, a third group included the samples of stations C and D (the dark zone). This area had the lowest values of richness, abundance and diversity, and its sediments were composed mainly of silt and clay.

Table 2. Kruskal-Wallis and Tamhane post hoc results on biological data per station. S = Number of species; N = abundance; H' = Shannon diversity; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$

	Kruskal Wallis statistics	Tamhane post hoc
S	21.2***	A≠B≠C=D
N	20.6***	A≠B=C=D; B≠D
H'	15.6**	A=B=C=D; A≠D

DISCUSSION

All the analyses showed a zonation in the Cerro Gordo cave. The photic (exterior) area, the semi-dark zone and the dark area were clearly different in both taxonomic composition and physico-chemical characteristics. These three biocoenoses are generally recognized in Mediterranean marine caves and have been identified for both mobile and hard-bottom cave communities (Riedl 1966; Pérès 1967; Bibiloni and Gili 1982; Balduzzi et al 1989; Gili et al 1986; Gili and Mcpherson 1987; Bibiloni et al 1989; Fichez 1990; Marti et al 2004a; Bussotti et al 2006; Denitto et al 2007; Moscatello and Belmonte 2007; Bussotti and Guidetti 2009). Nevertheless, it was unknown so far whether a similar pattern of zonation also applies to soft substrate communities.

The data obtained for the exterior station agree with previously data reported for this area (Sanchez-Moyano et al 2005). More interesting results were obtained inside the cave, where many rare species could be recorded. *Kupellonura mediterranea* was described by Barnard (1925) and redescribed in detail by Wägele (1981) and Kensley (1987). This species was so far known only from 70-880 m depth and from the coasts of Naples, Sicily and the Ligurian Sea. Thus, our finding shows a huge increase in both depth range and geographic distribution of *Kupellonura mediterranea*. Another deep-water species found in the Cerro-Gordo cave was *Monoculodes packardi*, which had a known bathymetric distribution between 90 and 2616 m depth (Ruffo 1993). So our findings represent the shallowest occurrence of this species until know.

The dominance of Amphipoda over other crustacean taxa is a common feature (Sanchez-Moyano et al 2005). The presence of Isopoda and Amphipoda inside the cave was not surprising as both have a great capacity to live in most marine habitats. Kensley (1998) indicated that isopods show their highest diversity in the deep sea (a marked oligotrophic environment with predominantly muddy sediment, like cave environments). Interestingly, caprellids, cumaceans, decapods and tanaids were absent in the inner area of the cave. All these groups have been reported from muddy sediments (e.g. Guerra-García and García-Gomez 2004; Lourido et al 2008) so that factors others than granulometry may account for these findings.

The results showed a clear decline in richness, abundance and diversity of the crustacean soft-bottom community from the exterior to the inner dark parts of the cave. This trend has been observed for many groups such as suspension and filter feeders (sponges, cnidarians, bryozoans and tunicates) (Bibiloni and Gili 1982; Gili et al 1986; Balduzzi et al 1989; Bibiloni et al 1989; Harmelin 1997; Benedetti-Cechi et al 1998; Corriero 2000; Bell 2002; Martí et al 2004a; Bussotti et al 2006), large decapods (Gili and Macpherson 1987), meiofauna (Todaro et al 2006), planktonic organisms (Garrabou and Flos 1995; Moscatello and Belmonte 2007), polychaetes (Denitto and

Licciano 2006), fishes (Bussotti et al 2002; Bussotti et al 2003), etc. However, this trend has not been reported for the macro-infauna so far.

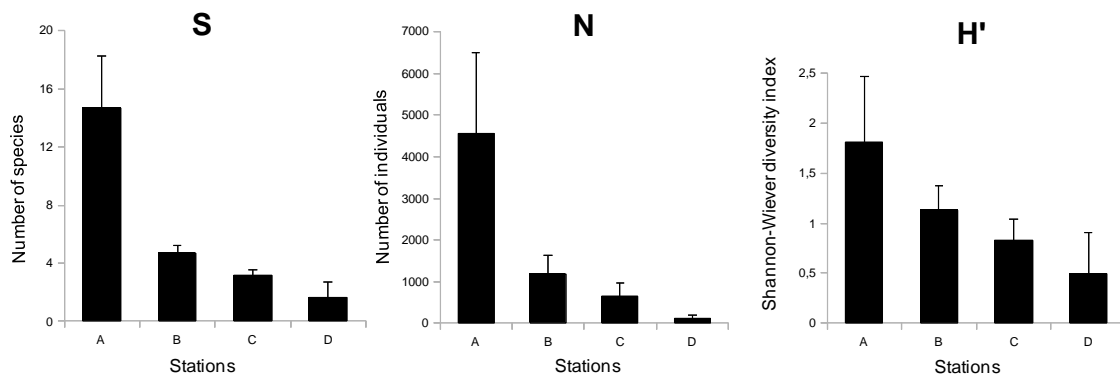


Figure 3. Mean values \pm SE of numbers of species/sample (S), number of individuals/m² (N) and Shannon diversity (H') for the sampling stations (A-D).

There are very few investigations dealing with the macro-infauna of submarine caves, and it is difficult to compare their results with those of the present study. Monteiro-Marques (1981), made a taxonomical description of macro-infauna assemblages from some submarine caves from southern France. As their samples were washed through a 1 mm mesh sieve, most crustaceans were not taken into account. Akoumianaki and Hughes (2004) studied the Grotta Azzurra (Italy) and did not find any decrease in macro-infauna abundance or diversity inside the cave. A possible explanation for this could be the demonstrated existence of sulphur springs at the end of this cave, which provide an additional source of food for an otherwise resource-limited cave environment. Thus, to our knowledge, the present study provides the first evidence of a decrease in soft bottom macro-infauna diversity in Mediterranean marine caves, when compared to communities outside the cave. For hard-bottom communities, this gradient is usually explained by a reduced water turn-over towards the inner part of the cave which generally results in oligotrophic conditions (Harmelin 1985; Fichez 1990). In the Cerro Gordo cave, the gradient in silt and clay percentage in the sediment would support this hypothesis, since it indicates a low water turnover inside the cave.

However, despite of the extreme confinement and the lack of primary production, we did not find significant differences in organic matter or macro-nutrients between different stations. The reason for this remains unclear. Recently, it has been proposed that mobile animals such as fish (Bussotti et al. 2003) or mysids (Coma et al 1997) can play a relevant ecological role in caves by introducing organic matter with their daily migrations. We can find some of these organisms in the Cerro-Gordo cave (e.g. *Scyaena umbra*, *Apogon imberbis* and mysid species), but because of their low abundance, they may not have a significant effect. Nevertheless, this issue should be further studied.

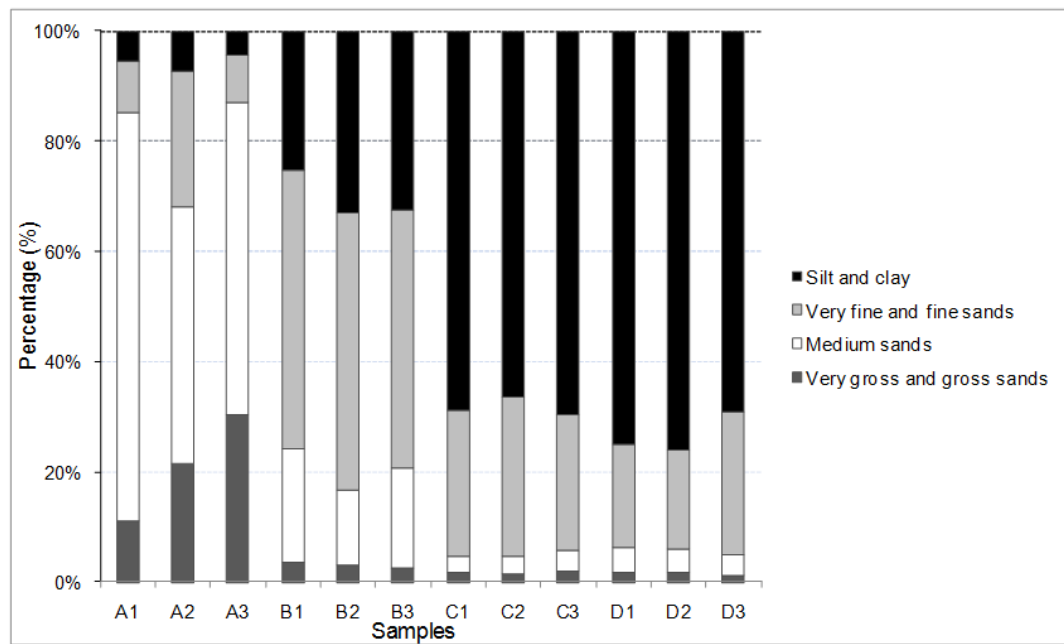


Figure 4. Percentage of the different granulometric fractions in the sediment per sample

There are many other caves where the trophic-depletion hypothesis fails to explain the very poor faunal assemblages of their inner parts, as there is no significant decrease of organic matter. According to studies on hard-bottom assemblages, processes determining spatio-temporal distribution patterns in marine caves are highly complex, being context and scale dependent (Benedetti-Cechi et al 1998; Bussotti et al 2006). Thus, many other factors have been proposed to explain the distribution patterns observed (always for hard-bottom communities): physico-chemical gradients with respect to salinity, temperature, density and dissolved oxygen (Gili et al 1986; Zabala et al 1988; Harmelin 1997), diffusion-sedimentation processes (Garrabou and Flos 1995), the persistence of microlayer gradients along the walls (Gili et al 1986), variation in larval settlement and post-settlement events (Benedetti-Cechi et al 1996, Harmelin 1997, Denitto et al, 2007), biotic interactions between species (Benedetti-Cechi et al 1996; Martí et al 2004b, 2005; Turon et al 2009), presence of hydrothermal springs (Benedetti-Cechi 1996, 1998), the depth and the exposure of the entrance (Corriero 2000; Bell 2002), differences in internal topography (Martí et al 2004a,b), presence or absence of secondary openings (Zabala et al 1989). One of the main explanations for the distribution of crustacean soft bottom communities in the present study could be grain size. This factor significantly affects the distribution and composition of peracarid assemblages in sediments (Robertson et al 1989). The number of species tends to be higher in fine and coarse sands than in muddy sediments (Dauvin et al 1994). So, the decrease of grain size towards the inner part of the cave may explain the richness pattern found. Bamber et al (2008) compared submarine caves and open habitats at Hong Kong, and found that grain size was the

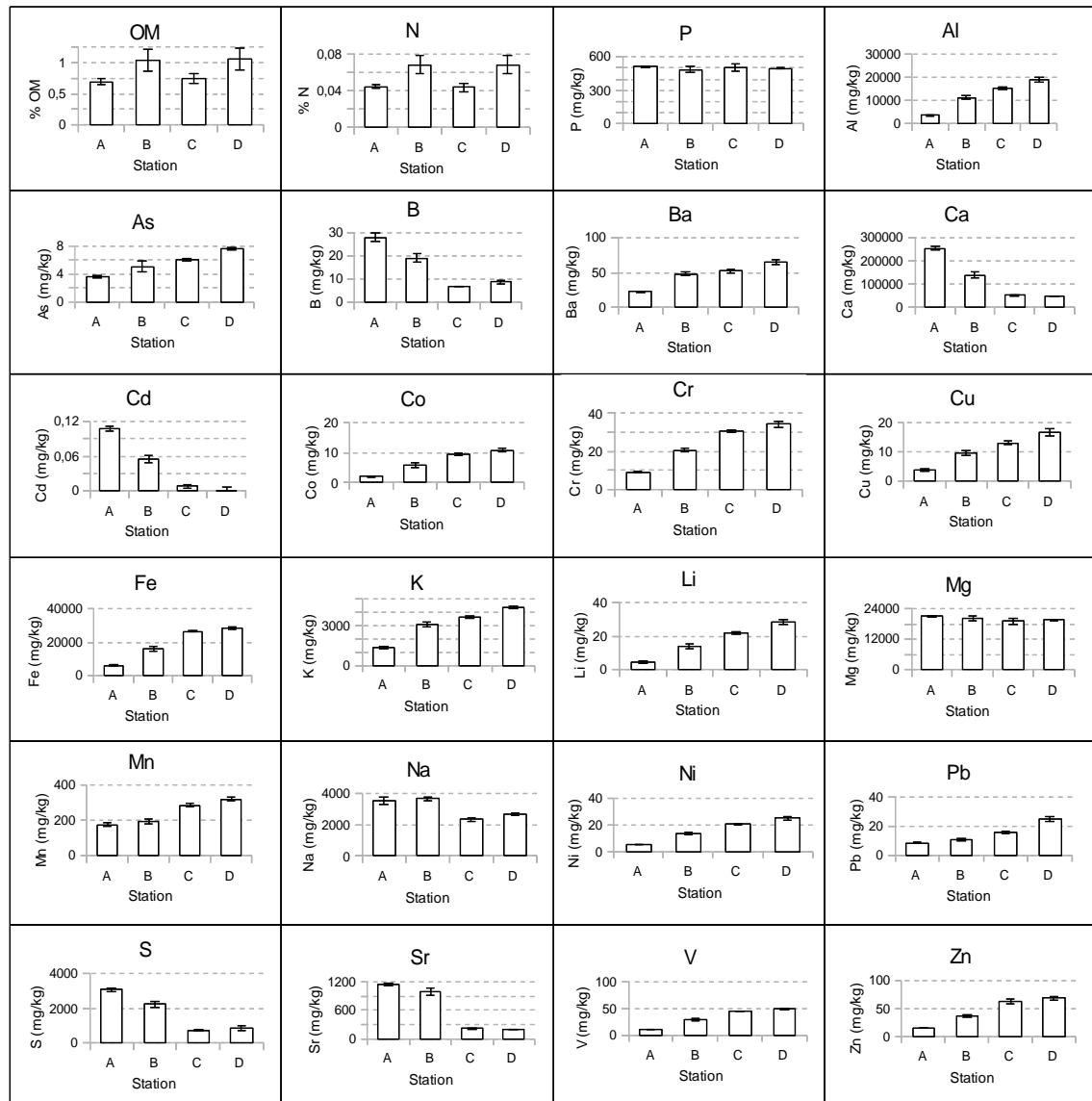
Table 3. Kruskal –Wallis and Tamhane post hoc results on chemical data per station

	Kruskal Wallis statistic	Tamhane post-hoc
OM	8,556 n.s.	
N	8,735 n.s.	
P	3,359 n.s.	
Al	10,385*	A≠B≠C=D
As	10,385*	A=B=C≠D; A≠C A≠D
B	10,385*	A≠B≠C=D
Ba	9,974*	A=B≠C=D
Ca	9,462*	A≠B≠C=D
Cd	9,974*	A≠B≠C=D
Co	10,385*	A≠B≠C=D
Cr	10,385*	A≠B≠C=D
Cu	10,385*	A≠B≠C=D
Fe	10,385*	A≠B≠C=D
K	10,385*	A≠B=C≠D
Li	10,385*	A≠B≠C=D
Mg	7,000 n.s.	
Mn	9,667*	A=B≠C=D
Na	9,667*	A=B≠C=D
Ni	10,385*	A≠B≠C=D
Pb	10,385*	A=B≠C≠D
S	9,462*	A≠B≠C=D
Sr	9,462*	A=B≠C=D
V	10,385*	A≠B≠C=D
Zn	9,974*	A≠B≠C=D

most associated factor with the macro-infauna diversity. However, in that study richness and abundance was often higher inside than outside the cave. In contrast, the crustacean diversity found in Cerro-Gordo cave was very low, comparable to that found in deep Mediterranean sediments (Bellan-Santini 1990). The factor proposed by Bamber et al (2008) to explain their results was the high heterogeneity of the sediments in the caves studied: “The heterogeneity of the substratum, in a stable environment, may be expected to accommodate a wider diversity of taxa (and of niches), as well as potentially offering habitat conditions which may be rare or absent elsewhere, giving potential to support species not commonly found outside the cave habitat”. Gray (1974) also suggested that heterogeneous sediments provide many microhabitats which may support a greater diversity of species than homogeneous sediments do. On the other hand, it has been suggested that the composition of

organic matter may change along the cave, with the fraction easier to degrade being less abundant in the inner parts of the cave (Fichez 1991).

Figure 5. Mean Concentration \pm SD of the different chemical variables per station. OM = Organic matter.



There was an increase in the concentration of most elements towards the inner part of the cave. The reason for this was probably the high capacity of muddy sediments to retain elements, and especially heavy metals (Guerra-García 2001). Many studies have indicated abundance and diversity of peracarid species may serve as indicators of environmental conditions because these animals are highly sensitive to hydrocarbon and heavy metals pollution (Guerra-García and García-Gomez 2004). Thus, the increase in the concentrations of heavy metals such as aluminium and lead, may also be responsible for the decline of richness and abundance of crustaceans. In karstic caves, water salinity is a major factor too. Although the salinity values obtained

in the dark area of the cave were not very low, the supply of freshwater is highly variable, being especially abundant after rains. Therefore, variations of salinity may also contribute to the low diversity in the inner part of the cave, but probably do not affect the semi-dark area, where diversity is also low.

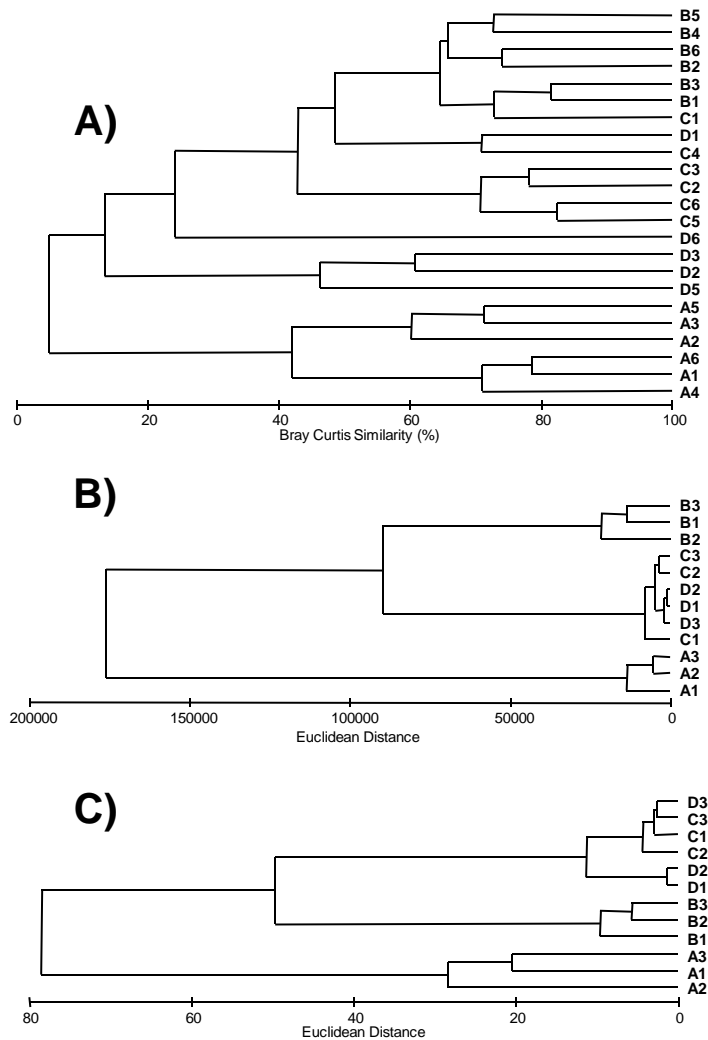


Figure 6. Cluster analysis of samples using the abundance of each species (A), the chemical data (B) and the granulometric data (C)

Furthermore, it has been hypothesised that larvae could have great difficulty in reaching and colonising the dark inner parts of caves. This may be another important factor responsible for the impoverishment of cave faunas (Hamerlin 1997; Denitto et al 2007). Since the communities of the dark inner parts of caves are usually composed of deep-water species, the arrival of these organisms depends on both biotic (the existence of a pool of deep-water organisms in the region with enough dispersal capacity) and abiotic factors (the hydrodynamic conditions in the area and inside the cave) (Harmelin 1997). Peracarids, the dominant crustaceans in the present study, lack dispersive larvae (direct development), and the dispersion of adults by bedload

transport or drift in the water column may be rather limited inside the cave. It would be interesting to conduct experimental studies on recolonization patterns inside the cave.

REFERENCES

- Akoumianaki I, Hughes JA (2004) The distribution of macroinfauna along a Mediterranean submarine cave with sulphur springs. *Cah Biol Mar* 45:355-364.
- Alfonso MI, Bandera ME, López-Gonzalez PJ, García-Gómez JC (1998) The cumacean community associated with a seaweed as a bioindicator of environmental conditions in the Algeciras Bay (Strait of Gibraltar). *Cah Biol Mar* 39:197-205.
- Balduzzi A, Bianchi CN, Boero F, Cattaneo-Vietti R, Pansini M, Sarà M (1989) The suspension-feeder communities of a Mediterranean sea cave. *Scient Mar* 53:387-395.
- Bamber RN, Evans NJ, Robbins RS (2008) The marine soft-sediment benthic communities of Hong Kong: a comparison of submarine cave and open habitats. *J Nat Hist* 42:953-965.
- Barnard KH (1925) A revision of the family Anthuridae (Crustacea, Isopoda), with remarks on certain morphological peculiarities. *Zool Jour Linn Soc* 36:109-160.
- Bell JJ (2002) The sponge community in a semi-submerged temperate sea cave: density, diversity and richness. *Mar Ecol* 23:297-311.
- Bellan-Santini D (1990) Mediterranean deep-sea amphipods: composition, structure and affinities of the fauna. *Prog Oceanog* 24:275-287.
- Benedetti-Cechi L, Airoidi L, Abbiati M, Cinelli F (1996) Exploring the causes of variation in assemblage of benthic invertebrates from a submarine cave with sulphur springs. *J Exp Mar Biol Eco* 208:153-168.
- Benedetti-Cechi L, Airoidi L, Abbiati M, Cinelli F (1998) Spatial variability in the distribution of sponges and cnidarians in a sublittoral marine cave with sulphur-water springs. *J Mar Biol Ass UK* 78:43-58.
- Bibiloni MA, Gili JM (1982) Primera aportación al conocimiento de las cuevas submarinas de la isla de Mallorca. *Oecol Aquat* 6:227-234.
- Bibiloni MA, Uriz MJ, Gili JM (1989) Sponge communities in three submarine caves of the Balearic Islands (Western Mediterranean): Adaptations and Faunistic Composition. *Mar Ecol* 10:317-334.
- Bussotti S, Denitto F, Guidetti P, Belmonte G (2002) Fish assemblages in Shallow Marine Caves of the Salento Peninsula (Southern Apulia, SE Italy). *Mar Ecol* 23:11-20.
- Bussotti S, Guidetti P, Belmonte G (2003) Distribution patterns of the cardinal fish, *Apogon imberbis*, in shallow marine caves in southern Apulia (SE Italy). *Ital J Zool* 73:153-157.

- Bussotti S, Terlizzi A, Fraschetti S, Belmonte G, Boero F (2006) Spatial and temporal variability of sessile benthos in shallow Mediterranean marine caves. *Mar Ecol Prog Ser* 325:109-119.
- Bussotti S, Guidetti P (2009) Do Mediterranean fish assemblages associated with marine caves and rocky cliffs differ? *Est Coast Shelf Sci* 81:65-73.
- Cinelli F, Fresi E, Mazella L, Pansini M, Pronzato R, Svoboda A (1978) Distribution of benthos phyto- and zoocenoses along a light gradient in a superficial marine cave. In: Keegan BF, O'Ceidigh P (eds) *Biology of Benthic Organisms*. Pergamon Press, Oxford, pp 173-183.
- Clarke KR, Gorley RN (2001) *PRIMER (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research) v5: User manual/tutorial*. PRIMER-E Ltd, Plymouth.
- Coma R, Carola M, Riera T, Zabala M (1997) Horizontal transfer of Matter by a Cave-Dwelling Mysid. *Mar Ecol* 18:211-226.
- Corbera J, Cardell MJ (1995) Cumaceans as indicators of eutrophication on soft bottoms. *Scient Mar* 59 (Suppl 1):63-69.
- Corriero G, Liaci LD, Ruggiero D, Pansini M (2000) The sponge community of a semi-submerged Mediterranean cave. *Mar Ecol* 21: 85-96.
- Dauvin JC, Iglesias A, Lorgere JC (1994) Circalittoral suprabenthic coarse sand community from the Western English Channel. *J Mar Biol Assoc UK* 74:543-562.
- Denitto F, Licciano M (2006) Recruitment of Serpuloidea (Annelida: Polychaeta) in a marine cave of the Ionian Sea (Italy, central Mediterranean). *J Mar Biol Ass UK* 86:1373-1380.
- Denitto F, Terlizzi A, Belmonte G (2007) Settlement and primary succession in a shallow submarine cave: spatial and temporal benthic assemblage distinctness. *Mar Ecol* 28: 35-46.
- Duffy JE, Hay ME (2000) Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecol Monogr* 70:237-263.
- Fichez R (1990) Decrease in allochthonous organic inputs in dark submarine caves, connection with lowering in benthic community richness. *Hydrobiologia* 207:61-69.
- Fichez R (1991) Suspended particulate organic matter in a Mediterranean submarine cave. *Mar Biol* 108:167-174.
- Fincham AA (1974) Intertidal sand-dwelling peracarid fauna of Stewart Island New Zealand. *J Mar Freshw Res* 8:1-14.
- Garrabou J, Flos J (1995) A simple diffusion-sedimentation model to explain planktonic gradients within a NW Mediterranean submarine cave. *Mar Ecol Prog Ser* 123: 273-280.
- Gili JM, Riera T, Zabala M (1986) Physical and biological gradients in a submarine cave on the western Mediterranean coast (NE Spain). *Mar Biol* 90:291-297.
- Gili JM, Macpherson E (1987) Crustáceos decápodos capturados en cuevas submarinas del litoral Balear. *Inv Pesq* 51: 285-291.

- Gómez-Gesteira JL, Dauvin JC (2000) Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic communities. *Mar Pollut Bull* 40:1017-1027.
- Gray JS (1974) Animal-sediment relationship. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 12:223-261.
- Guerra-García JM (2001) Análisis integrado de las perturbaciones antropogénicas en sedimentos del Puerto de Ceuta. Efecto sobre las comunidades macrobentónicas e implicaciones ambientales. PhD. Thesis, University of Sevilla, Spain.
- Guerra-García JM, García-Gómez JC (2004) Crustacean assemblages and sediment pollution in an exceptional case study: a harbour with two opposing entrances. *Crustaceana* 77:353-370.
- Gutián F, Carballas T (1976). Técnicas de análisis de suelos. 2º ed. Pico Sacrp, Santiago de Compostela, Spain.
- Harmelin JG, Vacelet J, Vasseur P (1985) Les grottes sous-marines obscures: un milieu extreme et un remarquable biotope refuge. *Téthys* 11:214-229.
- Harmelin JG (1997) Diversity of bryozoans in a Mediterranean sublittoral cave with bathyal-like conditions: role of dispersal processes and local factors. *Mar Ecol Prog Ser* 153:139-152.
- Hesse PR (1971) Textbook of soil chemical analysis. J.Murray, London.
- Iliffe TM (2005) Biodiversity in anchialine caves. In: Culver DC, White WB (eds) *Encyclopedia of Caves*. Elsevier Academic Press, London, pp 24-30.
- Kensley B (1987) A re-evaluation of the systematics of K. H. Barnard's review of anthuridean isopods. *Steenstrupia* 13:101-139.
- Kensley B (1998) Estimates of species diversity of free-living marine isopod crustaceans on coral reefs. *Coral reefs* 17:83-88.
- Laborel J, Vacelet J (1959) Les grottes sous-marines obscures en Méditerranée. *C R Acad Sci Paris* 248:2619-2621.
- Lourido A, Moreira J, Troncoso JS (2008) Assemblages of peracarid crustaceans in subtidal sediments from the Ría de Aldán (Galicia, NW Spain). *Helgol Mar Res* 62:289-301.
- Martí R, Uriz JM, Ballesteros E, Turon X (2004a) Benthic assemblages in two Mediterranean caves: species diversity and coverage as a function of abiotic parameters and geographic distance. *J. Mar Biol Ass UK* 84:557-572.
- Martí R, Uriz JM, Ballesteros E, Turon X (2004b) Temporal variation of several structure descriptors in animal-dominated benthic communities in two Mediterranean caves. *J. Mar Biol Ass UK* 84:573-580.
- Martí R, Uriz JM, Turon X (2005) Spatial and temporal variation of natural toxicity in cnidarians, bryozoans and tunicates in Mediterranean caves. *Sci Mar* 69:485-492.
- Monteiro-Marques V (1981) Peuplements des planchers envasés de trois grottes sous-marines de la région de Marseille. Etude préliminaire. *Téthys* 10:89-96.
- Moscattello S, Belmonte G (2007) The plankton of a shallow submarine cave ('Grotta di Ciolo' Salento Peninsula, SE Italy). *Mar Ecol* 28: 27-59.

- Ott JA, Svoboda A (1976) Sea caves as model systems for energy flow studies in primary hard bottom communities. *Pubbl Staz Zool Napoli* 40:477-485.
- Pérès JM (1967) The Mediterranean benthos. *Ocenogr Mar Biol Ann Rev* 5:449-533.
- Prato E, Biandolino F (2005) Amphipod biodiversity of shallow water in the Taranto seas (north-western Ionian Sea) *J Mar Biol Assoc UK* 85:333-338.
- Riedl R (1966) *Biologie der Meereshöhlen*. Verlag Paul Parey. Hamburg and Berlin.
- Robertson MR, Hall SJ, Eleftheriou A (1989) Environmental correlates with amphipod distribution in a Scottish sea loch. *Cah Biol Mar* 30:243-258.
- Ros J, Romero J, Ballesteros E, Gili JM (1989) Buceando en las aguas azules. El bentos. In: Margalef R (ed) *El Mediterraneo Occidental*. Omega, Barcelona, pp 235-297.
- Ruffo S (1993) Part 3. Oedicerotidae. In: Ruffo S (ed) *The amphipoda of the Mediterranean*. Mémoires de l'institut océanographique, Monaco, 13, pp 579-615.
- Sanchez-Moyano E, García-Asencio I, García-Adiego E, García-Gómez JC, Leal-Gallardo A, Ollero C, Fraidías-Amarillo J (2005) *Vigilancia ecológica del litoral andaluz*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla.
- Sarà M (1961) Zonazione dei Poriferi nella grotta della "Gaiola". *Ann. Ist. Mus. Zool. Univ Napoli* 12:1-10.
- Sarà M (1976) Il popolamento delle grotte marine: interesse di una salvaguardia. *Publ Staz Zool Napoli* 40:50-505.
- Shannon CE, Weaver N (1963) *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana.
- Todaro MA, Leasi F, Bizarri N, Tongiorgi P (2006) Meiofauna densities and gastrotrich community composition in a Mediterranean Sea cave. *Mar Biol* 149:1079-1091.
- Turon X, Martí R, Uriz JM (2009) Chemical bioactivity of sponges along an environmental gradient in a Mediterranean cave. *Sci Mar* 73:387-397.
- Wägele JW (1981) Study of the Hysuridae (Crustacea: Isopoda: Anthuridea) from the Mediterranean and the Red Sea. *Isr J Zool* 30:47-87.
- Walkley A, Black IA (1934) An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci* 37:29-37.
- Zabala M, Riera T, Gili JM, Barange M, Lobo A, Peñuelas J (1989) Water flow, trophic depletion, and benthic macrofauna impoverishment in a submarine cave from the western mediterranean. *Mar Ecol* 10:271-287.

2 SOFT BOTTOM COMMUNITIES

PART 2: General ecological patterns



Adapted from:

- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2014) Amphipods from marine cave sediments of the southern Iberian Peninsula: diversity and ecological distribution. *Scientia Marina* 78(3): 415-424
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, Jiménez-Prada P, Cea S, García-Gómez JC (2013) Soft-bottom diversity patterns in marine caves; Lessons from crustacean community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 446: 22-28

The present chapter explore the amphipod diversity and the constancy of ecological patterns of macroinfauna inhabiting marine caves. Using a multifactorial design, the soft bottom crustacean fauna of six previously unsampled marine caves was studied, as well as the physicochemical properties of the sediment. Replicate samples were taken both inside and outside each marine cave and the caves selected had a wide range of profundity in order to also explore the influence of depth on the community. Within crustaceans, Amphipoda was the dominant group with forty four different species. *Harpinia* genus (together with *Periculodes longimanus*) was the dominant amphipod taxa inside marine caves. On the other hand, *Siphonoecetes sabatieri*, *Metaphoxus fultoni* and *Photis longipes* were the most abundant species in the external communities. The tanaid *Apseudopsis latreilli* was also dominant at some stations. External sediments had higher species richness, and a significant decline in diversity values inside the caves was found in all marine cave studied. However, the structure and behavior of soft bottom communities inside marine caves was hardly predictable since their environmental conditions depend on a particular combination of topography, depth, orientation, etc. The abundance of organisms was strongly influenced by depth: While at shallow depths caves provide a more stable environment (which allows higher density of individuals), at deeper areas internal sites showed lower abundances than external stations. According to CCA, sediment granulometry, organic matter and nitrogen concentration were the parameters that better explained amphipod composition. Even in the absence of endemic cave taxa, the species assemblage at each cave was clearly different from that present in the exterior habitat and also from that present in another caves sediments. This high variability and strong individuality observed in soft soft-bottom marine caves also support the assumption that there are many and complex factors controlling these communities. The ecological quality of the caves, the suitability of biotic indices, the biogeography of the species found and the small-scale patterns observed were also discussed.

• Previous page photograph. Cerianthid species in the soft bottom of 'Treinta Metros' cave. Luis Sánchez Tocino.

INTRODUCTION

Although marine cave assemblages were of great interest over the last decades, knowledge on marine cave environments are still fragmentary. Most studies are qualitative studies, focused on a small number of taxa and have been carried out on single caves, so that little is known about the constancy of patterns among different caves or geographic areas. To-date quantitative studies which have been conducted simultaneously across different caves, have focused on hard-substrate communities only (Bibiloni et al 1989; Martí et al 2004a; Bussotti et al 2006). Only a few quantitative and experimental studies have tried to determine the broad ecological factors governing the marine cave habitats (e.g. Gili et al 1986; Zabala et al 1989; Benedetti-Cecchi et al 1996, 1998; Denitto et al 2007), being the soft-bottom cave communities in particular poorly studied. Here we use a multifactorial sampling design in order to explore the constancy of the spatial variation (internal vs. external habitats) of the soft-bottom assemblages inhabiting six marine caves along the coast of Granada (southern Spain). The caves represent a wide range of depths from 5–30 m, which allow us to test the importance of this factor in marine cave communities. Riedl (1966) indicates that a displacement associated with the depth occurs in caves communities: When depth increases, cave species move towards the entrance due to the attenuation of light, hydrodinamism, etc. outside the cave.

Together with the study of the spatial patterns, a strong effort has been devoted to the characterization of the soft-bottom biodiversity and their environmental requirements. Marine caves support diverse and distinctive communities, often acting as biodiversity reservoirs for many marine groups (Riedl 1966; Gerovasileiou & Voutsidou 2012). However, in spite of the high number of ecological and taxonomical studies conducted in marine caves, their soft bottom communities have often been overlooked. The sediment assemblages inhabiting marine caves often show a distinctive species composition and usually hold many new and endemic species (Bamber et al 2008; Horton 2008). In the present study we have focused on crustaceans (and mainly amphipods) as one the most diverse and abundant taxa within the macrobenthic fauna inhabiting marine sediments (Dauvin et al 1994; Prato and Biandolino 2005; Lourido et al 2008). Given the sensitivity of most amphipods to different kind of pollution, their abundance, ecological importance, relatively low mobility and their close relation with the sediment, they are often considered as good ecological indicators (Gómez-Gesteira and Dauvin 2000; Guerra-García and García-Gómez 2001; de-la-Ossa-Carretero et al 2012).

In recent years, and especially since the establishment of the European Water Framework Directive (WFD), many biotic indices to evaluate the environmental quality of coastal soft bottom communities have been developed. Amphipoda is a key group in the accuracy of the ecological assessment made by many of these indices (e.g. AMBI,

BENTIX, MEDDOC or BOPA,) (Borja et al 2000; Simboura & Zenetos 2002; Pinedo & Jordana 2007; Dauvin & Ruellet 2007). However, it is essential to know the environmental preferences and tolerances of each taxa, as discrepancies about the assignation of the same species to different ecological groups contribute to variations in the results obtained with each index (de-la-Ossa-Carretero et al 2012; Pinedo et al 2012). In this sense, marine caves are adequate places to conduct these studies, since small scales topographic variability into the caves generate sharp environmental gradients, allowing a great spatial heterogeneity in environmental conditions and benthic assemblages. Moreover, in order to evaluate the suitability of these biotic indices proposed it is necessary to test their effectiveness in different regions, environments and against different types of impacts (Diaz et al 2004; Borja et al 2009). However, its suitability has not been yet tested in marine caves although in the last years there has been an increase in the evidences of impacts by human activities over cave communities; alterations by scuba diving activities, coastal pollution and global warming, among others (Chevaldonné et al 2003; Parravicini et al 2010; Di Franco et al 2010; Guarnieri et al 2012). Due to their high natural stability, this environments show low resilience and a high vulnerability to disturbances (Vacelet et al 1994). So, such ecosystems are considered as priority conservation areas according to the Directive 92/43/EEC of the European Community.

Finally, the presence/absence patterns of species among different marine caves have also a great biogeographic interest. Marine caves are usually been considered as islands, supporting isolated populations. The existence of species with disjunct distributions in distant marine caves raised questions about how these species could keep their metapopulation dynamics. It was suggested that a steeping stones model, by passive larvae from one cryptic habitat to another, was plausible for some cases (Manconi et al 2006; 2009). Recent discoveries highlight that these cave-exclusive species often are deep-water species, which present its denser populations in bathyal areas but are also able to colonize shallow cavernicolous habitats (Bakran-Petricioli et al 2007). However, all these aspects have been often investigated in taxa with free-swimming larvae like sponges or bryozoans (Vacelet et al 1994; Harmelin 1997). It can be expected that organisms with a direct development and relatively low dispersion capabilities, such as amphipods, show different patterns. In this sense, the study of different caves allow us to improve our knowledge about the aptitude of amphipods to colonize these habitats and to what extent marine caves are isolated habitats for these organisms with low mobility.

Consequently, the main objectives of this chapter are to study, using the soft bottom crustacean community (and mainly amphipods), (1) the constancy of diversity patterns observed in marine caves, according to the depth and the location (internal vs

external positions), (2) characterize their unexplored diversity, and (3) their environmental requirements.

MATERIAL AND METHODS

Study site

Our study locations were situated along the coast of Granada (Mediterranean coast of South Spain). This is a karstic region with a relatively low human impact, which allow us to have many submarine caves with little anthropogenic influence and, *a priori*, similar characteristics in a short stretch of coastline (about 30 km). Six marine caves were selected (Figure 1): Cueva de las Gorgonias (GR) (36°44'17''N, 46°46'42''W, 6 m deep), Cueva de Cantarriján (CN) (36°44'16''N, 3°46'41''W, 8 m deep), Cueva de los Treinta Metros (TM) (36°43'12''N, 3°44'9''W, 30 m deep), Raja de la Mona (RM) (36°43'10''N, 3°44'6''W, 30 m deep), Cueva de la Punta del Vapor (PV) (36°43'22''N, 3°42'35''W, 12 m deep) and Cueva de Calahonda (CL) (36°42'46''N, 3°22'18''W, 19 m deep). All of them presented similar length (10–25 m) and morphology, with a single submerged entrance followed by a rectilinear blind-ending tunnel without air chambers.

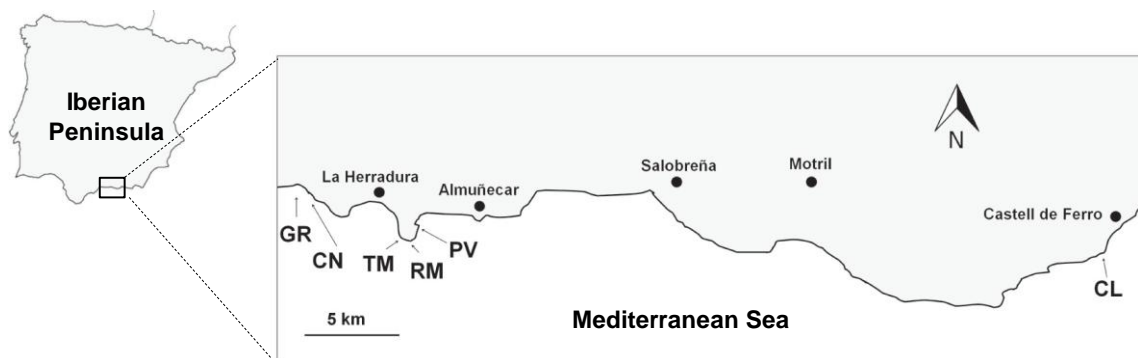


Figure 1. Study area and position of marine caves studied. GR = Gorgonias; CN = Cantarriján; TM = Treinta metros; RM = Raja Mona; PV = Punta del Vapor; CL = Calahonda

Sample collection

Samples were taken during July and August 2011. Two sampling stations were selected in each cave: one in the exterior area and another inside the cave (each one approximately 10 m from the cave entrance). Four replicate samples were taken for the crustacean study at each station using a hand-held rectangular core of 0.025 m² to a depth of 10 cm by SCUBA diving. Samples were washed using a 0.5 mm mesh sieve with seawater, preserved in 70% ethanol and stained with Rose Bengal. Each sample was examined in the laboratory using binocular microscopes. All crustacean specimens were sorted and identified to species level where possible. Most of the effort has been

devoted to the identification of amphipods, the group with the highest abundance and species richness. In addition to the macrofaunal samples, three additional sediment cores were collected at each station for physicochemical analyses of the sediments. Samples were immediately stored frozen until the laboratory analyses. Granulometric parameters were determined following the method proposed by Guitián and Carballas (1976). Organic matter and nitrogen percentage in the sediment, and the composition of phosphorus, lead and copper, were determined following the same methodology described in the previous chapter (2.1.)

Statistical analyses

Spatial patterns of the crustacean community.

Mean and standard deviation of crustacean abundances, number of species and Shannon-Wiener diversity index (Shannon and Weaver 1963) were calculated for each sampling station. Spatial patterns of these parameters were examined using an Analysis of Variance (ANOVA) with the following factors: position (Po), depth (De) and site (Si). Po was a fixed factor with two levels: internal and external marine cave sediments. De, a fixed factor orthogonal with Po, presented three levels: shallow (for caves between 0–10 m deep), medium (10–20 m) and deep (20–30 m). Si was a random factor nested with De and with 2 levels (two marine caves at each depth level). Four samples of sediment were considered from each cave ($n = 4$). Prior to ANOVA analyses, the homogeneity of variances was tested using Cochran's test and appropriate transformations were applied to data when necessary (Underwood 1997). When ANOVA indicated a significant difference for a given factor, the source of difference was identified using the Student-Newman-Keuls (SNK) tests.

Following the same three-factor design, a distance-based Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA) (Anderson 2001) was carried out to test differences in the crustacean species composition. Sixty-five taxa were included in the multivariate data set, and analysis was based on fourth root transformed data. The similarity matrix was generated using the Bray-Curtis similarity index. Terms found to be significant in the analysis were examined individually using appropriate pair-wise comparisons. Non-Parametric Multidimensional Scaling (nMDS) was carried out to examine differences in the crustacean assemblage composition among positions and depths (Clarke and Warwick 1994). The similarity percentages procedure (SIMPER) was used to calculate the contribution of each species to the observed dissimilarity between positions. A cut-off criterion was applied to allow identification of a subset of species whose cumulative percentage contribution reached 90% of the similarity or dissimilarity values and was considered as 'important' in characterizing or separating positions. The same three-factor design applied before was used to explore differences in the abundance of the most important species, as identified by the SIMPER, as characterizing or separating positions.

The similarity values for each station (obtained from the comparison among replicates in PERMANOVA) can be used to estimate the small-scale variability in the crustacean assemblage composition. One-way ANOVA was used to test whether the homogeneity in species composition within stations changes between positions.

Data analysis of ANOVAs were performed using the GMAV5 program (Underwood et al 2002), and multivariate analyses were carried out using the PRIMER v.6 + PERMANOVA package (Clarke and Gorley 2001).

Relation between amphipod species and environmental variables.

A preliminary correlation analysis was done to explore which chemical variables were highly correlated among them ($p < 0.05$) and therefore those were eliminated from ulterior analyses to reduce the number of variables considered. Correlation analyses were also done to evaluate the relationship among environmental (depth, granulometry and chemical data) and biological variables (abundance, species richness and Shannon's diversity). Finally, the relationships among environmental variables and the amphipod species were explored by a Canonical Correspondence Analysis (CCA). The species with very low abundances (those with 5 or less individuals) were not included in the analysis. Correlation analyses were performed using SPSS.15 program and PC-ORD program (McCune and Mefford 1997) was used for CCA.

Biotic indices

Amphipod species were classified in ecological groups in function of their sensitivity to contamination, following the AMBI (Azti Marine Biotic Index) and BENTIX index criteria and classification lists (Borja et al 2000; Simboura and Zenetos 2002). Both indices are among the most widely used and require classification to species level. AMBI is the most applied index and classifies the amphipods in three groups: sensitive, indifferent and tolerant species. On the other hand, BENTIX is a biotic index specifically designed for the Mediterranean Sea and only discriminates between sensitive and tolerant species, including the indifferent species (those always present in low densities and with no-significant variations in time) into the sensitive group. The percentage of species belonging to each group was calculated for internal and external stations.

Biogeographic considerations

Species were also assigned to different biogeographic regions, based on information and classifications in Ruffo (1982-1998), Conradi and López-González (1999), Guerra-García et al (2009) and World Register of Marine Species (WoRMS) (www.marinespecies.org). The groups established were the following:

- I. Mediterranean endemic

- II. Mediterranean and Atlantic Ocean
- III. Mediterranean, Atlantic and Indo-Pacific Ocean
- IV. Mediterranean, Atlantic and Arctic Ocean
- V. Cosmopolitan

RESULTS

Species composition and distribution

A total of 65 species were recorded during this study. Thirty-six species were found inside the caves, while 58 were recorded at exterior sites. In all stations, amphipods had the highest species richness (Figure 2a), with 43 species in total, followed by cumaceans (9 species), tanaids (6), decapods (4) and isopods (2).

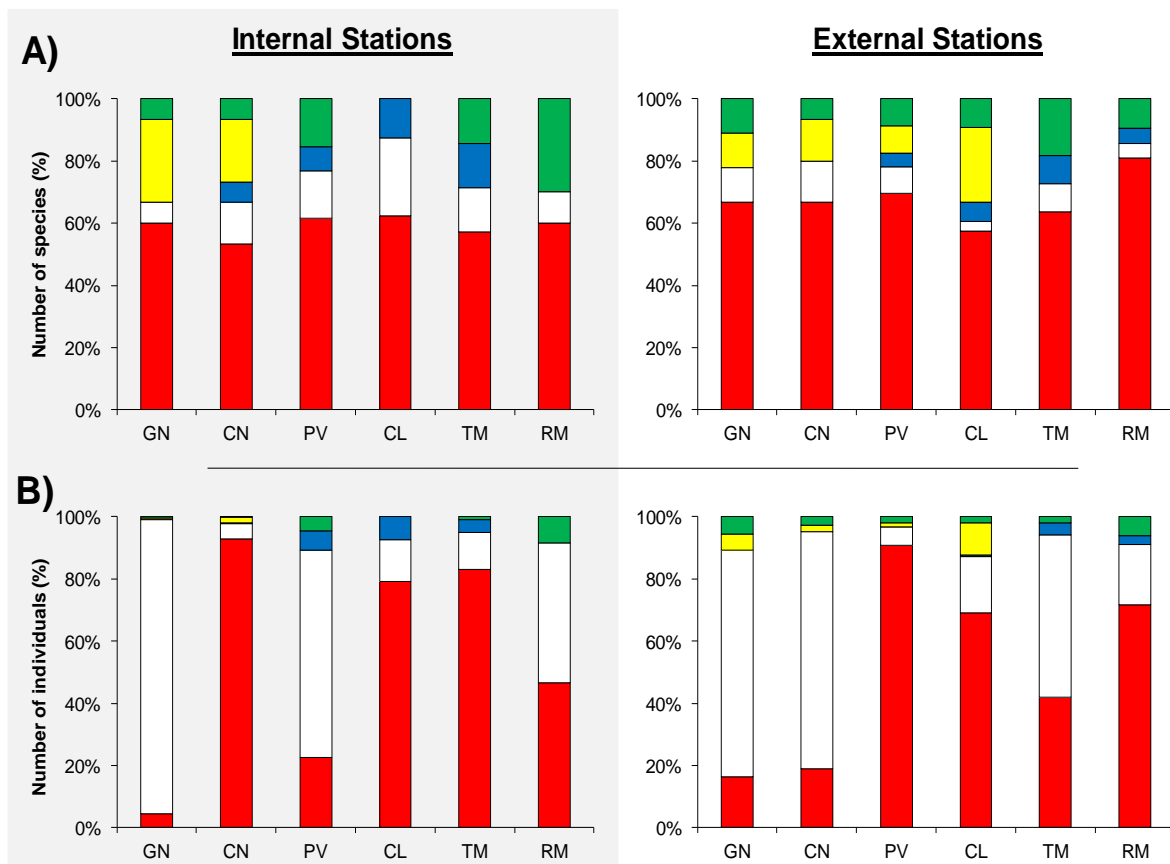
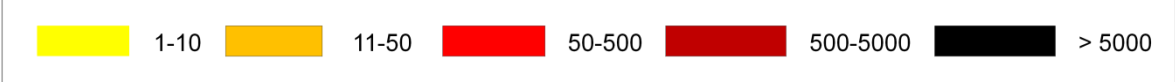


Figure 2. Percentage (%) of crustaceans groups inside and outside each cave sampled, calculated in function of number of species (A) and number of individuals (B). Red = Amphipoda; White = Tanaidacea; Blue = Isopoda; Yellow = Cumacea; Green = Decapoda; GR = Gorgonias: CN = Cantarriján; TM = Treinta metros; RM = Raja Mona; PV = Punta del Vapor; CL = Calahonda.

Table 1. Mean abundance (ind/m²) of the amphipod species at each sampling station

FAMILY	SPECIES	GORGONIAS		CANTARRIJAN		PTA VAPOR		CALAHONDA		30 METROS		RAJA MONA	
		Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior	Interior	Exterior
Acidostomatidae	<i>Acidostoma obesum</i>												
Ampeliscidae	<i>Ampelisca brevicornis</i>												
	<i>Ampelisca typica</i>												
	<i>Ampelisca</i> sp.												
Amphilochidae	<i>Gitana sarsi</i>												
Aoridae	<i>Autonoe spiniventris</i>												
	<i>Lembos</i> sp.												
	<i>Microdeutopus algicola</i>												
Bathyporeiidae	<i>Bathyporeia guilliamsoniana</i>												
	<i>Bathyporeia</i> sp.												
Caprellidae	<i>Pariambus tipicus</i>												
	<i>Phthisica marina</i>												
	<i>Pseudolirius kroyeri</i>												
Corophiidae	<i>Corophium</i> sp.												
	<i>Leptocheirus hirsutimanus</i>												
	<i>Leptocheirus pectinatus</i>												
Dexaminidae	<i>Guerneia coalita</i>												
Ischyroceridae	<i>Jassa</i> sp.												
	<i>Siphonocetes sabatieri</i>												
Leucothoidae	<i>Leucothoe</i> sp.												
Liljeborgiidae	<i>Liljeborgia</i> sp.												
	<i>Idunella</i> sp.												
Lysianassidae	<i>Hippomedon massiliensis</i>												
	<i>Lepidepcreum longicomis</i>												
	<i>Lysianassa</i> sp.												
	<i>Tryphosella similima</i>												
Magaluropidae	<i>Megaluropus monasteriensis</i>												
	cf <i>Melita</i> sp.												
Microprotopidae	<i>Microprotopus maculatus</i>												
Nuuanuidae	<i>Gammarella fucicola</i>												
Oedicerotidae	<i>Deflexilodes griseus</i>												
	<i>Periiculodes longimanus</i>												
	<i>Pontocrates arenarius</i>												
	<i>Synchelidium haplocheles</i>												
	<i>Eusiroides dellavallei</i>												
Photidae	<i>Photis longipes</i>												
Phoxocephalidae	<i>Harpinia antennaria</i>												
	<i>Harpinia ala</i>												
	<i>Harpinia crenulata</i>												
	<i>Harpinia pectinata</i>												
	<i>Harpinia</i> sp.												
	<i>Metaphoxus fultoni</i>												
Stenothoidae	<i>Stenothoe</i> sp.												
Urothoidae	<i>Urothoe elegans</i>												



1-10 11-50 50-500 500-5000 > 5000

Amphipods were also the most abundant group in the study, with approximately 60% of individuals. However, tanaids was the group with higher abundance of organisms in many stations (Figure 2b), although their abundance was highly variable (while in Gorgonias cave, 95% of species belong to tanaids; this value was only 5% in the other shallow cave; Cantarriján). The most abundant tanaid was *Apseudopsis latreillii*. Within Amphipoda, forty-four different species were found in the whole study, belonging to 36 genera and 21 families (Table 1). External assemblages were greatly dominated by *Siphonoecetes sabatieri*, which comprise the 68% of all amphipod individuals. The second dominant species, *Metaphoxus fultoni*, showed much lower abundances, with a 5% of the individuals. Inside the caves, the amphipod community was dominated by the genus *Harpinia*. Four of the seven most abundant species belongs to this genus; *H. pectinata*, *H. crenulata*, *H. antennaria* and *H. ala*, in order of importance. *Periocolodes longimanus*, with a 20% of the individuals, was also very abundant in the internal stations. Species in the Atlantic-mediterranean group were the majority (61.8%) followed by the Mediterranean endemic group (20.6%) (Figure 3)

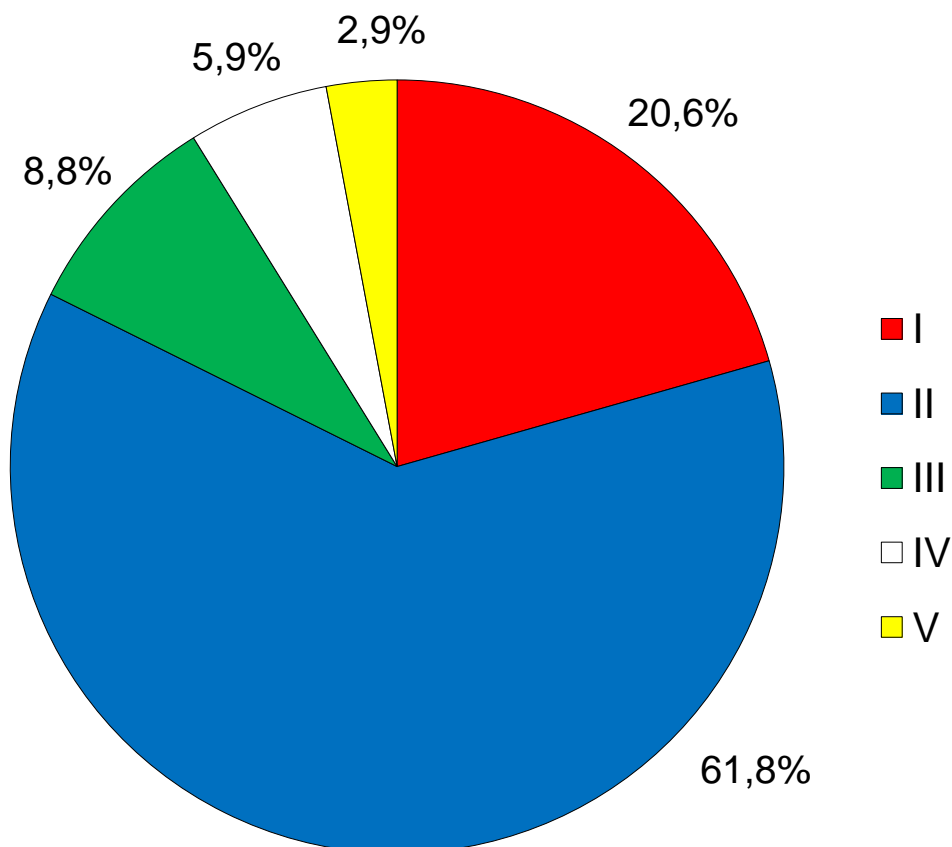


Figure 3. Percentage of recorded taxa belonging to the following groups of geographical distribution: I, Mediterranean endemic; II, Mediterranean and Atlantic Ocean; III, Mediterranean, Atlantic and Indo-Pacific Ocean; IV, Mediterranean, Atlantic and Arctic Ocean; V, Cosmopolitan.

PERMANOVA analysis showed significant differences in the composition of species between external and internal stations (Table 2) and SIMPER showed a dissimilarity of 83.1% in the species composition between both habitats. Within positions, cave stations only presented a similarity of 4.9%, whereas the stations situated outside the caves had 47.7% of similarity. Table 3 showed the most important species in characterizing and separating positions. Only the abundance of *Siphonocetes sabatieri*, *Diogenes pugilator*, *Megaluropus monasteriensis* and *Pariambus tipicus* were significantly different between positions, with higher abundances in the external stations. Although some taxa, such as all *Harpinia* species, showed higher abundances inside the caves, no species presented a significant preference to cave stations.

Table 2. Results of the multivariate analyse PERMANOVA for crustacean assemblages, based on Bray-Curtis dissimilarities of four root transformed data. df = degrees of freedom; MS = mean square; P = level of significance; * = $p < 0.05$.

Source of variation	df	MS	F	P
Position = Po	1	17342	3.8116	0.0392*
Depth = De	2	21828	1.7228	0.1569
Site(De) = Si(De)	3	12670	19.476	0.0196*
Po x De	2	9131.7	2.0071	0.1373
Po x Si(De)	3	4549.7	6.994	0.0196*
Residual	36	650.52		

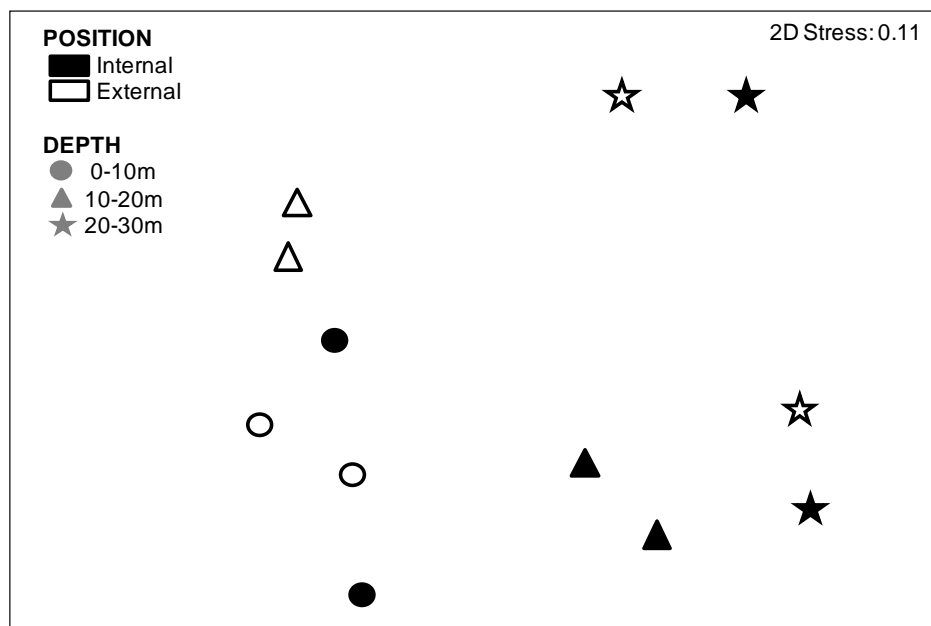


Figure 4. Two-dimensional Nmds plot for species composition. Data were fourth root transformed.

The nMDS analysis (Figure 4) did not reflect a clear separation in species composition between internal and external stations. The single exception were the medium depth stations, for which external and cave stations were clearly separated.

Table 3. Taxa identified as important in characterizing and separating positions, according to the similarity and dissimilarity values obtained by SIMPER analysis. Mean values \pm SE in cave and open stations were also showed for each species. P = level of significance for the null hypothesis of non differences in abundance between stations. * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$.

Species	Internal Stations		External Stations		Internal vs External Stations	
	Abundance	% Similarity	Abundance	% Similarity	% Dissimilarity	P
<i>Siphonocetes sabatieri</i>	-	-	4656 \pm 1267	32.97	22.03	*
<i>Apseudes latreilli</i>	2848 \pm 724	30.75	1365 \pm 238	53.78	13.62	n.s.
<i>Harpinia pectinata</i>	990 \pm 373	13.78	106.67 \pm 40	<0.5	13.62	n.s.
<i>Leptocheirus hirsutimanus</i>	-	-	208 \pm 85	<0.5	4.64	n.s.
<i>Apseudes sp.</i>	88 \pm 36	<0.5	140 \pm 57	<0.5	4.13	n.s.
<i>Photis longipes</i>	8 \pm 2	1.6	150 \pm 59	1.02	3.81	n.s.
<i>Harpinia crenulata</i>	148 \pm 38	17.64	58 \pm 24	<0.5	3.57	n.s.
<i>Periocolodes longimanus</i>	98 \pm 29	9.71	163 \pm 45	1.43	1.84	n.s.
<i>Diogenes pugilator</i>	26 \pm 5	<0.5	180 \pm 28	1.44	1.78	*
<i>Metaphoxus fultoni</i>	5 \pm 2	<0.5	335 \pm 119	0.98	1.63	n.s.
<i>Harpinia antennaria</i>	38 \pm 15	<0.5	7 \pm 3	<0.5	1.29	n.s.
<i>Pariambus tipicus</i>	-	-	190 \pm 49	1.66	0.89	**
<i>Ampelisca sp.</i>	-	-	40 \pm 16	<0.5	0.89	n.s.
<i>Deflexilodes griseus</i>	28 \pm 6	4.81	13 \pm 4	<0.5	0.52	n.s.
<i>Kupellonura mediterranea</i>	27 \pm 5	8.02	23 \pm 7	<0.5	<0.5	n.s.
<i>Megaluropus monasteriensis</i>	-	-	31.67 \pm 7	2.42	<0.5	*

Spatial patterns of the univariate measurements

Results for the three-way ANOVA comparing diversity, species richness and abundance showed different patterns for each case (Table 4). Although all caves showed significant differences between internal and external stations for abundance values, with the exception of Treinta metros cave (Figure 5), no consistent pattern was found, with Po x De and Po x Si(De) interactions. Species richness was always higher in external stations than in internal stations. However, according to SNK tests, these differences were only significant for PV, CL and RM. Diversity values presented the clearest pattern, with significant higher values outside the caves, consistent for all depths and site levels.

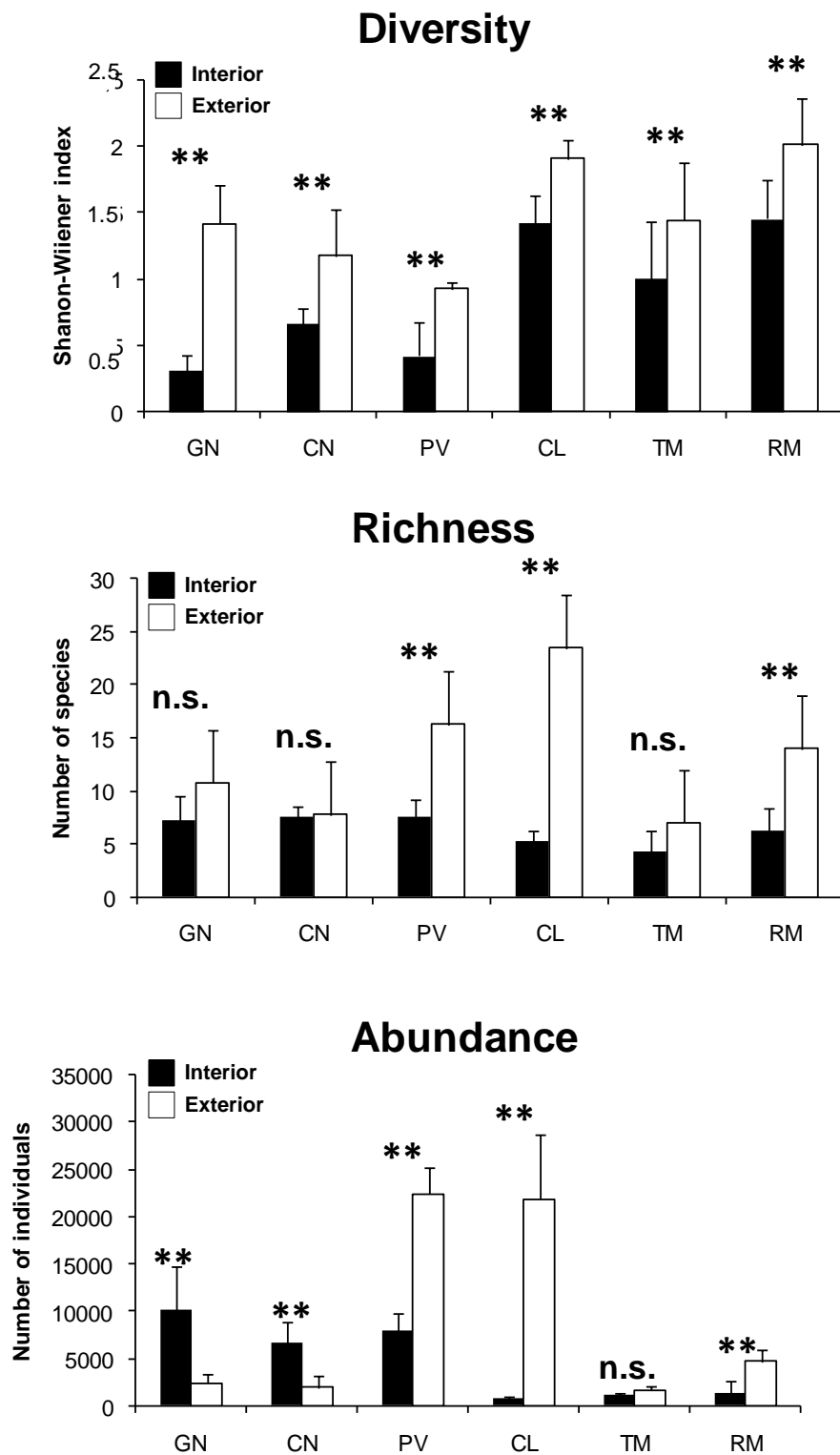


Figure 5. Mean values \pm SE of diversity, number of species and number of individuals m^{-2} for each sampling station. Significance of differences between positions was also represented. ** = $p < 0,01$; n.s. = Non significant. GR = Gorgonias; CN = Cantarriján; TM = Treinta Metros; RM = Raja Mona; PV = Punta del Vapor; CL = Calahonda.

Table 4. Results of the three-factor ANOVA for Shannon-Wiener diversity, species richness and abundance of individuals for the crustacean community. None transformation were necessary for diversity and richness values. Abundance data were Sqrt(x+1) transformed. df = degrees of freedom; MS = mean square; P = level of significance; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$.

Source of variation	df	Shannon diversity			Species richness			Abundance of organisms		
		MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P
Position = Po	1	4.28	34.35	0.009***	567.18	13.52	0.035*	152.44	4.38	0.128
Depth = De	2	1.38	0.83	0.515	135.77	3.59	0.16	349.15	7.71	0.065
Site(De) = Si(De)	3	1.66	20.88	0.000***	37.85	3.53	0.003***	45.27	10.26	0.000***
Po x De	2	0.13	1.06	0.448	143.06	3.41	0.168	450.48	12.93	0.033*
Po x Si	3	0.12	1.57	0.214	41.93	6.13	0.002**	34.83	7.9	0.000***
Residual	36	0.08			6.84			4.41		

The similarity values for species composition between replicates within stations are represented in Figure 5. One-way ANOVA did not find significant differences among positions, so it can be assumed that there was similar small-scale variability in both habitats.

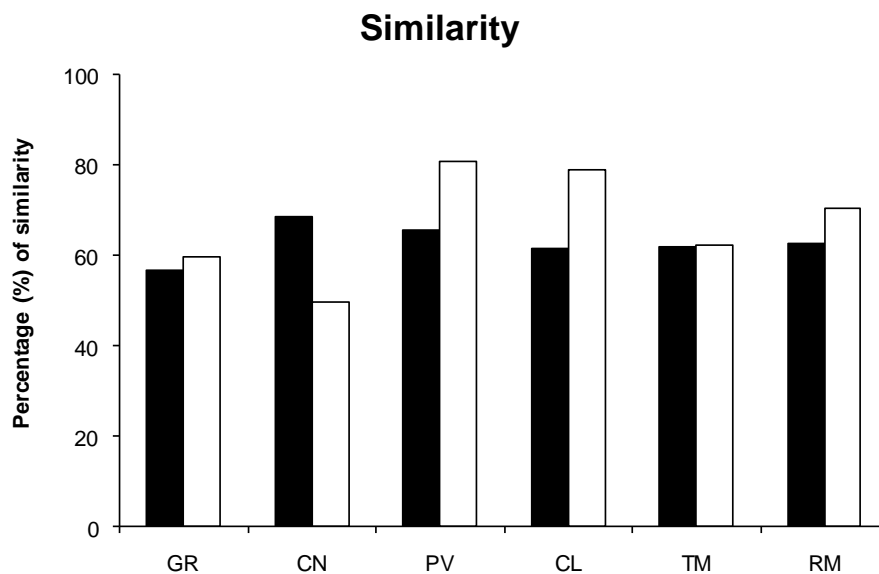


Figure 6. Similarity values (Bray-Curtis index) between replicates within each station. GR = Gorgonias; CN = Cantarriján; TM = Treinta Metros; RM = Raja Mona; PV = Punta del Vapor; CL = Calahonda.

Relation between amphipod species and environmental variables.

Summary of the results of physicochemical variables are exposed in Table 5 and Figure 7. Although there are some stations with a particular behaviour, cave stations often present higher values of nitrogen, phosphorous, organic matter, lead and percentage of silt and clay. On the other hand, external stations were dominated by thicker fraction of sediments. Correlation analyses conducted with chemical analysis

contributed to reduce the number of variables from 23 to 7; organic matter, P, N, Cu, Pb, S and Cr. Pb had a significant correlation ($p < 0.01$) with As, Li and Zn. S was correlated ($p < 0.01$) with B, Ca, Cd, Na and Sr, while Cr showed a strong correlation ($p < 0.01$) with Al, N, Ba, Co, Fe, K, Mn, Ni, V and Zn. There were not significant correlations among the environmental variables and the abundance, species richness and diversity values.

Table 5. Depth and mean values obtained for sediment variables at each sampling station. OM = Organic Matter.

		Depth	O.M.	N	Al	As	B	Ba	Ca	Cd	Co	Cr	Cu
		(m)	(%)		(mg/kg)								
Gorgonias	Internal	6	0.84	0.04	18182.04	5.48	12.34	71.09	82963.75	0.10	8.37	24.48	12.15
	External	6	0.23	0.01	16669.01	4.58	3.93	61.91	49322.88	0.04	8.36	23.74	9.73
Cantarriján	Internal	8	0.74	0.02	18055.49	4.93	7.26	66.72	58619.00	0.17	8.64	24.94	12.31
	External	8	0.18	0.01	13712.99	4.72	3.06	42.09	47420.27	0.05	8.54	21.88	11.37
Pta. Vapor	Internal	12	0.76	0.05	24960.49	7.26	13.85	150.46	79923.38	0.06	13.66	43.98	15.39
	External	12	0.44	0.02	26043.12	5.65	7.11	172.97	53089.43	0.04	14.41	49.91	11.68
Calahonda	Internal	19	0.98	0.07	17663.12	7.39	10.77	41.82	60199.82	0.10	10.47	21.55	17.42
	External	19	0.40	0.03	6591.39	7.18	8.23	10.82	81739.77	0.11	7.00	9.73	7.86
Treinta Metros	Internal	30	1.86	0.12	25053.40	7.88	21.50	91.95	71626.79	0.14	11.27	35.18	19.02
	External	30	1.95	0.17	25902.39	7.28	17.17	61.46	67604.02	0.24	10.38	28.37	10.10
Raja Mona	Internal	32	0.79	0.08	3822.23	3.34	41.35	24.42	289776.85	0.23	1.77	6.12	9.81
	External	32	0.56	0.04	2834.40	3.41	43.64	22.33	303190.25	0.23	1.17	4.76	2.75

		Fe	K	Li	Mn	Na	Ni	P	Pb	S	Sr	V	Zn
		(mg/kg)											
Gorgonias	Internal	18508.70	5975.69	19.93	249.14	6003.37	17.02	448.49	9.27	1400.19	513.62	41.06	41.39
	External	19074.20	4526.50	18.02	253.69	3144.54	15.64	281.04	8.39	420.12	165.68	39.23	32.40
Cantarriján	Internal	19826.50	5336.79	18.73	261.27	4728.77	16.78	363.08	8.77	837.93	244.49	42.18	38.26
	External	19404.90	3385.46	15.73	236.45	2914.77	17.42	283.52	9.63	347.02	141.56	35.92	37.02
Pta. Vapor	Internal	29750.81	9896.94	21.78	426.01	4819.90	27.59	639.36	11.94	1582.53	611.31	65.18	90.92
	External	32208.23	10845.45	20.76	406.45	3609.38	27.63	408.11	7.81	818.66	427.42	70.55	65.29
Calahonda	Internal	25212.95	3759.01	33.44	263.56	5443.29	24.09	778.70	16.36	1140.75	342.73	38.75	75.40
	External	17163.00	1401.77	16.13	200.43	4755.77	17.19	506.33	9.05	999.94	579.19	22.38	44.03
Treinta Metros	Internal	25701.81	7746.73	30.80	279.39	7011.72	27.02	786.90	18.56	2049.61	523.70	54.44	79.19
	External	4456.48	5867.30	20.12	205.02	8306.28	20.00	579.36	15.38	3294.29	865.00	54.13	65.21
Raja Mona	Internal	4139.20	2047.58	5.46	105.88	6642.80	5.32	545.62	7.97	4071.12	3248.41	10.48	25.53
	External	3374.96	1779.27	4.24	102.48	8241.84	4.23	570.48	8.39	3895.80	3774.16	8.36	24.32

According to CCA results (Figure 8, Table 6), the amount of the total variation that can be explained by measured environmental variables is 59.4%. The eigenvalues obtained for the three axes are fairly high, implying that these axes represent a strong gradient. All the environmental variables used in the analysis correlated significantly

with any of the three axes. Axis 1 explained a 21.1% of the species variance and was strongly correlated with the percentage of silt and clay, organic matter and nitrogen. The second axis, mainly associated negatively with the percentage of coarse sand and the concentration of sulfur, explained a 19.5% of the species variance. The majority of stations, and hence also the species, are quite separated in the graph (Figure 8). Only the outer stations of “Gorgonias”, “Cantarrijan”, “Punta del Vapor” and “Calahonda” were closer in the graph, while the other two external stations (the deepest ones) are quite separated. There is not a clear separation among internal and external stations. CCA also showed the existence of some groups of species with very similar relation with the environmental variables. One of them enclosed the species associated to the shallow and medium depth external stations, including species as *Siphonoecetes sabatieri*, *Bathyporeia guilliamsoniana*, *Pariambus tipicus* or *Metaphoxus fultoni*. On the other hand, the external station of Raja de la Mona showed a very characteristic community, with many species, as *Jassa sp.* or *Leptocheirus hirsutimanus*, only present in this station. Besides being the deepest station, the peculiarity of this sampling point is due to the high percentage of coarse sand and gravels. The rest of the species were dispersed in the graphic. Species of *Harpinia* genus were always closely associated to internal stations but separated between those with higher abundances in muddy sediments (*Harpinia antennaria* or *Harpinia crenulata*) and those present in coarse sands (*Harpinia ala* and *Harpinia sp.*).

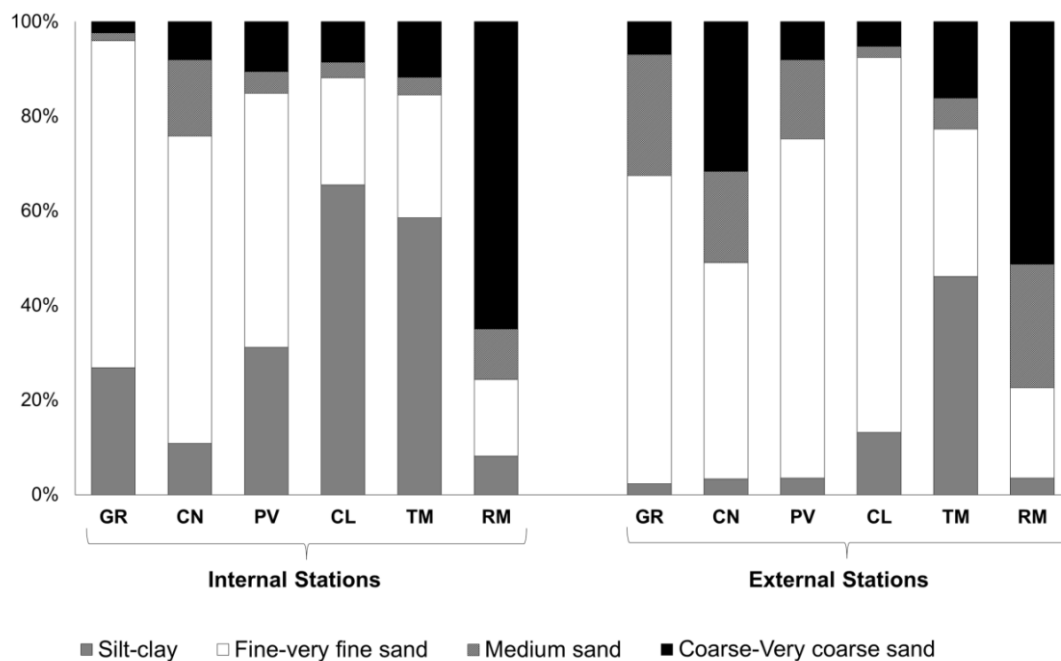


Figure 7. Percentage of the different granulometric fractions at each sampling station.

The percentage of species belonging to each ecological group showed no great variations between stations, being clearly dominated by sensitive species at both external and internal stations (Figure 9). The use of either AMBI or the BENTIX biotic index does not seem to have a great influence on the results, since in both cases sensitive species were also dominant. However, though BENTIX includes the indifferent species as sensitive, the percentage of tolerant species was higher with this index.

DISCUSSION

Species composition and distribution

This study reveals that soft-bottom cave communities are clearly different from soft-bottom communities in open habitats. Each cave has a characteristic crustacean assemblage, which differed from adjacent exterior sediments, and also between marine caves. This high degree of individuality in marine caves has been well reported in the literature (Sarà 1974; Ros et al 1989; Vacelet et al 1994).

The dominance of Amphipoda over other Crustacean orders is a common feature in soft-bottom communities (Sanchez-Moyano et al 2005; Lourido et al 2008). Among the amphipod species only found at external stations, some of them seem to show a special avoidance to cave habitats. *Siphonoecetes sabatieri*, *Urothoe elegans* and *Pontocrates arenarius* are some of the species with wider distribution in the study, being present in most of the sampling areas but with no single individual inside the caves. On the contrary there are some species, such as *Microdeutopus algicola*, *Liljeborgia* sp. or *Gammarella fucicola*, only present in internal stations. However, despite having unique assemblage patterns, marine caves did not have endemic fauna in the present study. None of the species found are cave-exclusive, having all been previously cited in open habitats (Ruffo 1982-1998). This is a common feature in marine caves' fauna, since most of the species only use the caverns for shelter or can be also found outside the caves in similar habitats (Scipione et al 1981; Gerovasileiou and Voultziadou 2012). The species belonging to genus *Harpinia*, for example, have been found predominantly inside marine caves, but they are also present in some external stations. This fact would facilitate the intercommunication among cave assemblages and suggest that the stepping stones model could be a good mechanism to understand the population dynamics in marine caves. On the other hand, whether amphipod cave communities are not as isolated as it could be expected, it remains unknown the factors responsible of the great differences between caves in their species composition.

Biogeographical considerations

It was difficult to compare the diversity results obtained in the present study with those found in shallow soft-bottoms habitats of other localities of the Iberian Peninsula, since there is a great variation among studies in the sampling methodology (number of samples, degree of spatial and temporal replication, etc). Studies carried out in the Atlantic zone of the Iberian Peninsula found between 34 and 79 different amphipod species in the north western area (Cunha et al 1999; Lourido et al 2008; Moreira et al 2008; Cacabelos et al 2010), and 93 species in the southern Portuguese coast (Carvalho et al 2012). On the other hand, in the Mediterranean area, an inventory of soft bottom amphipods from the east coast of Iberian Peninsula revealed the presence of 55 different species (de-la-Ossa-Carretero et al 2010). This value is slightly higher than that found in the present work. However, taking into account the huge differences in the sampling effort between these two studies (forty stations along 250 km of coast, sampled during five consecutive years in the east coast study), total amphipod species richness in shallow sediments could be expected to be higher in the Alboran Sea area. The relevance and high diversity of the Alboran Sea in comparison with other Mediterranean areas, mainly due to the overlap of Atlantic and Mediterranean faunas, has been already reported (Guerra-García et al 2009). In this sense, only in the sediments of Ceuta Harbour and Algeciras Bay (both of them in the Strait of Gibraltar) 44 and 55 amphipod species were collected, respectively by Conradi and López-González (1999) and Guerra-García and García-Gómez (2004). Moreover, the existence of several upwelling areas in the littoral of Southern Spain may also contribute to the high biological richness of this area (Delgado 1990).

Most of the species found have a wide range of distribution, present in more than one biogeographical region. However, only one species, *Ampelisca brevicornis*, can be considered cosmopolitan. The percentage of Mediterranean endemism (20.6%) was similar to that obtained in previous amphipod studies in the Strait of Gibraltar area (Conradi and López-González 1999; Guerra-García et al 2009), but surprisingly higher than the obtained in the east coast of the Iberian Peninsula (12.7%) (de-la-Ossa-Carretero et al 2010).

Spatial patterns in the univariate measurements

Traditionally, a decrease in diversity, richness and abundance values from entrance to the inward end of marine caves has been a widely accepted pattern for hard benthic cave communities (e.g. Gili et al 1986; Balduzzi et al 1989; Zabala et al 1989; True 1970; Cicogna et al 2003; Martí et al 2004b) and, as has been highlighted previously (Chapter 2.1), these parameters seem to act in the same way in soft bottom assemblages. However, our results reveal that the impoverishment of cave faunas can not be considered as a general pattern. A decrease in diversity values into the cave was the only constant pattern found. The usual explanation for this trend is the trophic

supply decrease (Zabala 1989; Fichez 1990a,b), but in some cases, as our caves, that decrease in the organic matter concentrations inside the caves is not detected. As in the previous chapter other factors can be proposed to explain the loss of biodiversity of cave communities: physical gradients inside the cave (light, oxygen, salinity, etc.), the limited capacity of the larvae for dispersion and settlement or the persistence of microlayer gradients along the walls (Harmelin et al 1985; Gili et al 1986; Zabala et al 1989; Harmelin 1997). All these explanations were proposed for hard benthic communities but may also apply to the soft bottom. Moreover, there are other environmental gradients related to sediment characteristics (grain size, heterogeneity, heavy metals concentration, etc.) which can explain the biodiversity decrease into the caves too (Chapter 2.1.).

The species richness values showed a similar pattern: all caves present higher number of species in the external stations, and the analysis reveals the existence of significant differences among positions. However, this general pattern was not consistent across caves (Po x Si (De) interaction).

Although depth is one of the main factors affecting the structure and composition of marine macrobenthic communities (Snelgrove 1998; Martinez and Adarraga 2001; Hoey et al 2004), our ANOVA analyses did not reflect any depth influence in species richness or diversity. In fact, the number of species into the caves remains almost constant between depths. Some studies suggest the existence of a parabolic relationship between depth and both parameters (Rex et al 1993; Gray et al 1997), but these patterns were not found in all habitats and for small depth ranges (Bergen et al 2001). Thus, these generalizations have been questioned and the depth relationship with diversity and species richness in soft sediments still remains unclear (Poore and Wilson 1993; Snelgrove 1998; Gray 2002). ANOVA analyses only showed a significant depth influence for abundance values. A decrease in abundance values inside the caves was expected, but only deeper stations showed this pattern. At shallow sites, there were fewer number of individuals outside the caves. The reason could be related to the bottom stability, a factor highly correlated with the depth (Snelgrove 1998; Hernández-Arana et al 2003). At shallow sites, marine caves provide a more stable environment, protected from the influence of waves, wind and storm events, which allows the establishment of higher number of individuals (Bamber et al 2008). This explanation can not be applied to semi-submerged caves, which present a different behaviour, generally with higher water turbulence (Corriero et al, 2000; Bell, 2002). Our abundance data for open habitats were very similar to those obtained by Carvalho et al (2012) in the southern Portugal coast, where they reported a decrease of amphipod density in shallow sediments (<10 m) related with an environment harshness in terms of wave impact. Below this depth (between 10 and 25 m), they found a density peak, due to the abatement of the hydrodynamism.

As well as Bussotti et al (2006) pointed out for hard benthic cave fauna, it can be concluded that, although some general and consistent patterns can be extracted for soft-bottom communities, there is a high degree of variability among caves. Despite their apparent environmental homogeneity, numerous and complex factors (both physical and biological) influence the sediment community, and each cave has a particular environmental conditions determined by features such as its topography, depth and orientation. As a result, the behavior of the soft bottom communities inside marine caves is difficult to predict and the main processes that govern the marine cave communities are complicated to understand. However, as it has been previously stated in the introduction chapter, this high degree of individuality also converts each cave in a unique habitat, making the study of such habitats more interesting.

Small-scale spatial variability

Marine caves had often been considered as simple, stable and homogenous environments (Ott and Svoboda 1976; Harmelin et al 1985). However, spatial studies in hard benthic communities revealed that the distribution patterns of sessile fauna inside caves could be very complex, with high variability on a scale of few meters (Benedetti-Cecchi et al 1996, 1998). The innermost parts of marine caves usually show a prevalence of species with clumped distribution (Martí et al 2004a). The spatial heterogeneity at small scales in soft-bottom was poorly studied and it had never been investigated in marine caves (Kendall and Widdicombe 1999). Marine soft-sediments can also present high spatial heterogeneity at small scales, with significant variations at scale of meters or even less (Morrysey et al 1992). An apparently homogeneous habitat as the deep sea, which often has been considered analogous to cave habitats (Vacelet et al 1994; Harmelin 1997; Akoumianaki and Hughes 2004), can present an elevate variability in the sediment due to small-scale biotic and abiotic disturbances (Levin and Thomas 1988; Snelgrove et al 1992; Snelgrove 1998).

In contrast to observations for hard benthic communities, our results suggest that there are no differences in the small-scale variability of soft benthic communities between cave and external habitats. This difference between soft and hard benthic macrofauna is difficult to explain because there are many factors influencing the heterogeneity in the spatial patterns of both habitats. The scale at which the heterogeneity is detected in soft sediments depends on many poorly-known factors: taxa considered and their life history (dispersal capability, site selection by larvae or juvenile, etc.), sediment characteristics (e.g. grain size) or biotic interactions (competition, facilitation, etc.) (Thrush 1991; Kendall and Wittcombe 1999; Norén and Lindergarth 2005). In hard benthic communities, no small-scale differences in the settlement patterns have been found into the caves, so that the high patchiness in the cave walls might derive from other post-settlement factors (Denitto et al 2007). According to many studies, interactions between species can play an important role

determining the spatial distribution of cave organisms (Benedetti-Cecchi et al 1996; Martí et al 2004b, 2005; Turon et al 2009). Thus, further studies are necessary to understand the relevance of such factors in the distribution patterns of cave fauna.

Ecological quality and environmental preferences

All the variables included in the CCA were significant, but sediment granulometry, organic matter and N concentration were the main parameters explaining the distribution of amphipods, which is a common feature in soft bottom ecology studies (Pearson and Rosenberg 1978, Carvalho et al 2012).

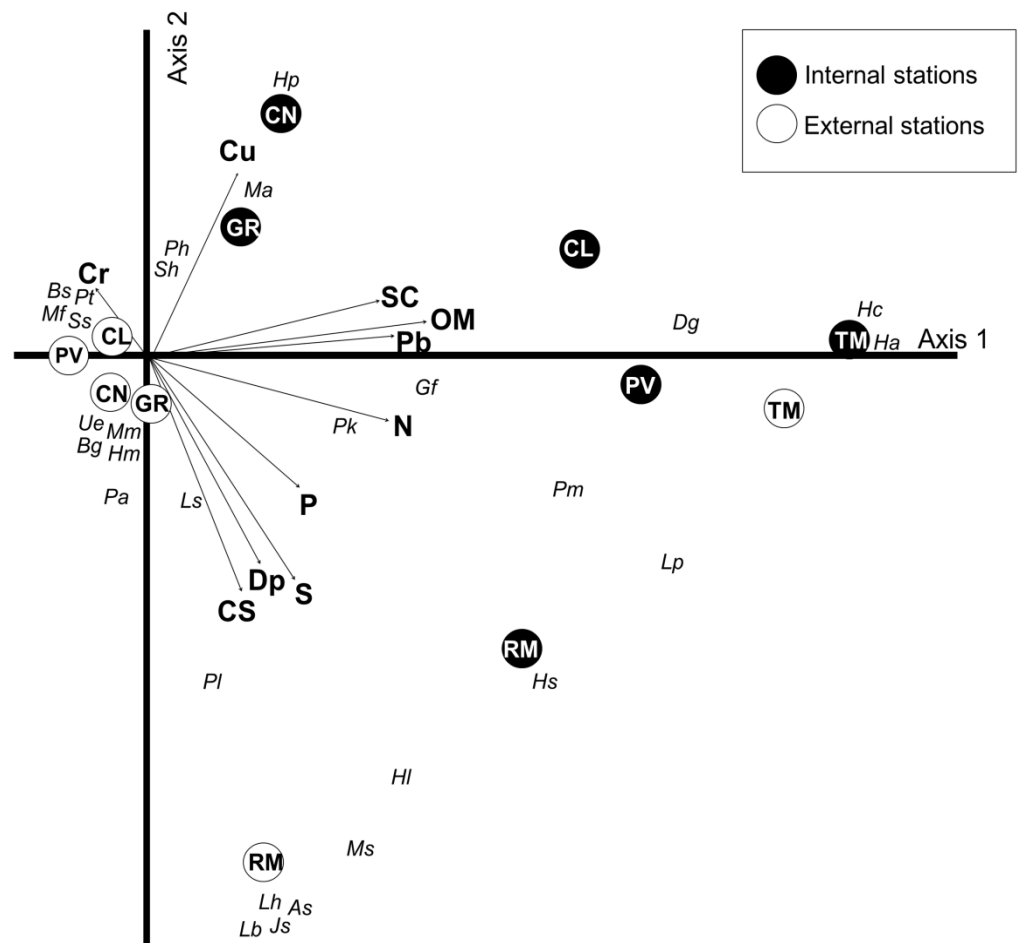


Figure 8. Graphic representation of the stations, species and environmental variables with respect to the first two axes of the canonical correspondence analysis (CCA). SC (silt and clay), CS (Coarse sand), OM (organic matter), Dp (depth), As (*Ampelisca* sp.), Bs (*Bathyporeia* sp.), Bg (*Bathyporeia guilliamsoniana*), Dg (*Deflexilodes griseus*), Gf (*Gammarella fucicola*), Ha (*Harpinia antennaria*), Hc (*Harpinia crenulata*), Hp (*Hippomedon massiliensis*), Hl (*Harpinia ala*), Hs (*Harpinia* sp.), Js (*Jassa* sp.), Lb (*Lembos* sp.), Lh (*Leptocheirus hirsutimanus*), Lp (*Leptocheirus pectinatus*), Ls (*Leucothoe* sp.), Ma (*Microdeutopus algicola*), Mf (*Metaphoxus fultoni*), Mm (*Megaluropus monasteriensis*), Ms (cf. *Melita* sp.), Pa (*Pontocrates arenarius*), Ph (*Photis longipes*), Pk, (*Pseudolirius kroyeri*), Pl (*Pericolodes longimanus*), Pm (*Phtisica marina*), Pt (*Pariambus tipicus*), Ss (*Siphonoecetes sabatieri*), Ue (*Urothoe elegans*).

Table 6. Summary of the results of the CCA analysis. Only the variables that correlated with the first three axes were included. * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$

	Axis 1	Axis 2	Axis 3
Eigenvalue	0.88	0.81	0.78
Species-environment correlation	1	1	1
Percentage of species variance	21.1	19.5	18.8
Correlation with environmental variables			
OM (organic matter) (%)	0.90***	-	-0.61*
N (%)	0.87***	-	-0.60*
Cr (mg/kg)	-	-	-0.55*
Cu (mg/kg)	0.56*	0.65*	-0.59*
P (mg/kg)	0.80**	-	-
Pb (mg/kg)	0.85**	-	-0.76**
S (mg/kg)	-	-0.73**	-
CS (Coarse sand) (%)	-	-0.82***	-
SC (silt and clay) (%)	0.82***	-	-0.63*
Depth (m)	-0.61*	-0.60*	-

Regarding to the ecological quality of the communities studied, the high abundance of sensitive species indicated the good state of these assemblages. The chemical data obtained agree with that conclusion, since almost all the values in all stations are far below the highest reference values tolerated in marine sediment quality guidelines (Grimwood and Dixon 1997, Long et al 1998). Thus, because of the lack of polluted stations, it is not possible for us to evaluate the suitability of the indices to detect the anthropogenic impacts in marine caves. Although the axis 1 in the CCA correlated significantly with the concentration of organic matter, N, P, Pb and Cu, this first axis does not represent a pollution gradient, since the concentration of heavy metals and the organic enrichment levels was not very high in any station. The rise in these concentrations is associated to the increase (mainly in internal stations) in the percentage of silt and clay, which have a higher capacity to retain elements. The *a priori* tolerant species, such as *Gammarella fucicola*, *Pariambus typicus* or *Leptocheirus hirsutimanus*, appear separated in the CCA. However, another way to evaluate the suitability of the indices is to analyze the level of agreement between results obtained by different indices (Borja and Dauer 2008). In this case, the use of both indices showed similar results for the percentage of sensitive species, and slightly higher in BENTIX for tolerant species.

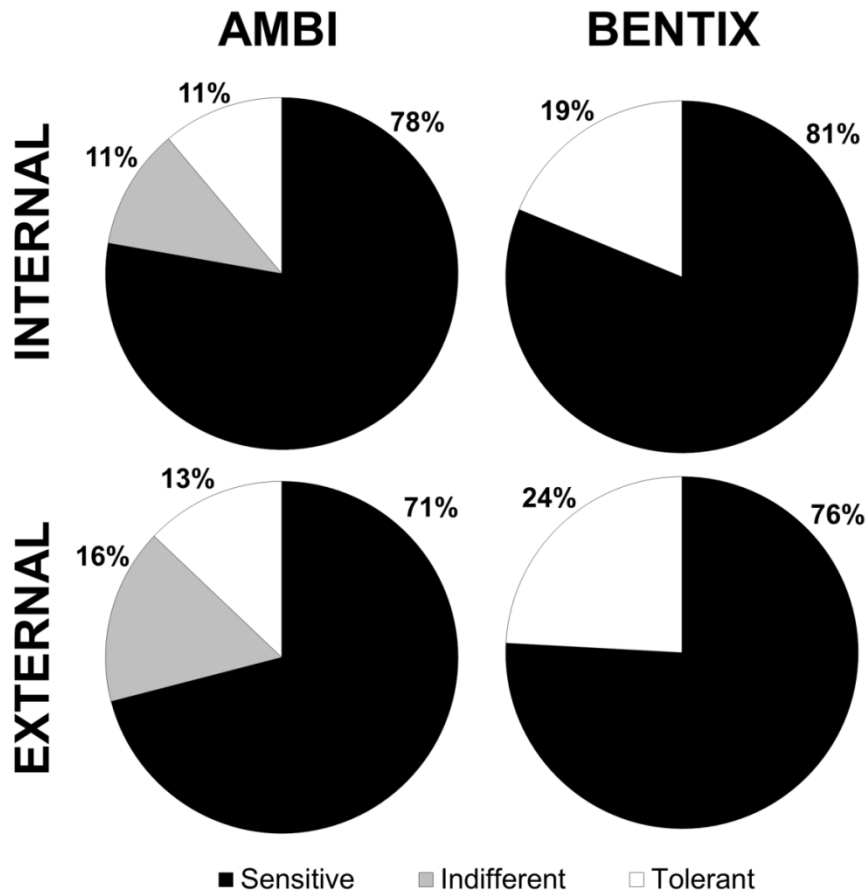


Figure 9. Percentage of species (%) belonging to ecological groups in function of their tolerance to environmental pollution.

These small differences were due to some discrepancies in the assignment of ecological group for some species. The caprellid *Phtisica marina* Slabber, 1769, for example, is classified as tolerant by BENTIX and sensitive by AMBI. The analysis of the ecology of soft bottom caprellids in Southern Spain carried out by Guerra-García and García-Gómez (2001) and Guerra-García et al (2012) supports the BENTIX classification, since it is able to tolerate high conditions of organic enrichment and low oxygen concentrations. The gammarid *Perioculodes longimanus* is considered as a tolerant species, according to AMBI, and sensitive by BENTIX. *P. longimanus* was present in most of the stations, regardless of the granulometry, depth or position (external or internal). Their abundance in these stations with high ecological quality was often very high, suggesting that probably *P. longimanus* should be considered as an indifferent species in AMBI's list of species. Other discrepancies between indices occur for the gammarids *Pontocrates arenarius*, *Leptocheirus pectinatus* (Norman, 1869) or *Microdeutopus algicola*. Nevertheless, since all our stations showed a good conservation state and some of these species are in very low densities, we cannot

discriminate the tolerance of this species. The study area is subjected to a low anthropogenic influence and some of the caves are even inside a marine protected area (Rodriguez et al 2003). Future studies involving marine caves with a higher gradient of pollution stress would be very useful to properly evaluate the tolerances of different taxa and the suitability of biotic indices in marine caves.

REFERENCES

- Akoumianaki I, Hughes JA (2004) The distribution of macroinfauna along a Mediterranean submarine cave with sulphur springs. *Cah Biol Mar* 45:355-364.
- Anderson MJ (2001) A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust Ecol* 26:32-46.
- Bakran-Petricioli T, Vacelet J, Zibrowius H, Petricioli D, Chevaldonne P, Rada T (2007) New data on the distribution of the 'deep-sea' sponges *Asbestopluma hypogea* and *Oopsacas minuta* in the Mediterranean Sea. *Mar Ecol* 28(1):10-23.
- Balduzzi A, Bianchi CN, Boero F, Cattaneo-Vietti R, Pansini M, Sará M (1989) The suspension-feeder communities of a Mediterranean sea cave. *Sci Mar* 53:387-395.
- Bamber RN, Evans NJ, Robbins RS (2008) The marine soft-sediment benthic communities of Hong Kong: a comparison of submarine cave and open habitats. *J Nat Hist* 42:953-965.
- Bell JJ (2002) The sponge community in a semi-submerged temperate sea cave: density, diversity and richness. *Mar Ecol* 23:297-311.
- Benedetti-Cechi L, Airoidi L, Abbiati M, Cinelli F (1996) Exploring the causes of variation in assemblage of benthic invertebrates from a submarine cave with sulphur springs. *J Exp Mar Biol Eco* 208:153-168.
- Benedetti-Cechi L, Airoidi L, Abbiati M, Cinelli F (1998) Spatial variability in the distribution of sponges and cnidarians in a sublittoral marine cave with sulphur-water springs. *J Mar Biol Ass UK* 78:43-58.
- Bergen M, Weisberg SB, Smith RW, Cadien DB, Dalkey A, Montagne DE, Stull JK, Velarde RG, Ranasinghe JA (2001) Relationship between depth, sediment, latitude, and the structure of benthic infaunal assemblages on the mainland shelf of southern California. *Mar Bio* 138:637-647.
- Bibiloni MA, Uriz MJ, Gili JM (1989) Sponge communities in three submarine caves of the Balearic Islands (Western Mediterranean): Adaptations and Faunistic Composition. *Mar Ecol* 10(4):317-334.
- Borja A, Franco J, Pérez V (2000) A marine biotic index to establish the ecological quality of soft-bottom benthos within european estuarine and coastal environments. *Mar Pollut Bull* 40:1100-1114.
- Borja A, Dauer DM (2008) Assessing the environmental quality status in estuarine and coastal systems: comparing methodologies and indices. *Ecol Ind* 8:331-337.

- Borja A, Miles A, Occhipinti-Ambrogi A, Berg T (2009) Current status of macroinvertebrate methods used for assessing the quality of European marine waters: implementing the Water Framework Directive. *Hydrobiologia* 633:181-196.
- Bussotti S, Terlizzi A, Fraschetti S, Belmonte G, Boero F (2006) Spatial and temporal variability of sessile benthos in shallow Mediterranean marine caves. *Mar Ecol Prog Ser* 325:109-119.
- Cacabelos E, Lourido A, Troncoso JS (2010) Composition and distribution of subtidal and intertidal crustacean assemblages in soft-bottoms of the Ria de Vigo (NW Spain). *Sci Mar* 74(3):455-464.
- Carvalho S, Cunha MR, Pereira F, Pousão-Ferreira P, Santos MN, Gaspar MB (2012) The effect of depth and sediment type on the spatial distribution of shallow soft-bottom amphipods along the southern Portuguese coast. *Helgol Mar Res* 66(4):489-501.
- Chevaldonné P, Lejeusne C (2003) Regional warming-induced species shift in north-west Mediterranean marine caves. *Ecol Lett* 6:371-379.
- Cicogna F, Bianchi CN, Ferrari G, Forti P (2003) Grotte marine: cinquant'anni di ricerca in Italia. CLEM, Ministero dell'Ambiente e della tutela del Territorio, Rome.
- Clarke KR, Gorley RN (2001) PRIMER (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research) v5: User manual/tutorial. PRIMER-E Ltd, Plymouth.
- Clarke KR, Warwick RM (1994) Changes in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. Natural Environment Research Council, UK.
- Conradi M, López-González PJ (1999) The benthic Gammaridea (Crustacea, Amphipoda) fauna of Algeciras Bay (Strait of Gibraltar): distributional ecology and some biogeographical considerations. *Helgol Mar Res* 53:2-8.
- Corriero G, Liaci LD, Ruggiero D, Pansini M (2000) The sponge community of a semi-submerged Mediterranean cave. *Mar Ecol* 21:85-96.
- Cunha MR, Sorbe JC, Moreira MH (1999) Spatial and seasonal changes of brackish peracaridan assemblages and their relation to some environmental variables in two tidal channels of the Ria de Aveiro (NW Portugal). *Mar Ecol Prog Ser* 190:69-87.
- Dauvin JC, Ruellet T (2007) Polychaete/amphipod ratio revisited. *Mar Pollut Bull* 55:215-224.
- Dauvin JC, Iglesias A, Lorgeré JC (1994). Circalittoral suprabenthic coarse sand community from the Western English Channel. *J Mar Biol Assoc UK* 74:543-562.
- Delgado M (1990) Phytoplankton distribution along the Spanish coast of the Alboran Sea. *Sci Mar* 54(2):169-178.
- Denitto F, Terlizzi A, Belmonte G (2007) Settlement and primary succession in a shallow submarine cave: spatial and temporal benthic assemblage distinctness. *Mar Ecol* 28:35-46.
- de-la-Ossa-Carretero JA, Dauvin JC, Del-Pilar-Ruso Y, Giménez-Casalduero F, Sánchez-Lizaso JL (2010) Inventory of benthic amphipods from fine sand community of the Iberian

- Peninsula east coast (Spain), western Mediterranean, with new records. *Mar Biod Rec* 3:1-10.
- de-la-Ossa-Carretero JA, Del-Pilar-Ruso Y, Giménez-Casalduero F, Sánchez-Lisazo JL, Dauvin JC (2012) Sensitivity of amphipods to sewage pollution. *Est Coast Shelf Sci* 96:129-138.
- Díaz RJ, Solan M, Valente RM (2004). A review of approaches for classifying benthic habitats and evaluating habitat quality. *J Environ Manage* 73:165-181.
- Di Franco A, Milazzo M, Baiata P, Tomasello A, Chemello R (2010). Can recreational scuba divers alter natural gross sedimentation rate? A case study from a Mediterranean deep cave. *ICES J Mar Sci* 67:871-874.
- Fichez R (1990a). Decrease in allochthonous organic inputs in dark submarine caves, connection with lowering in benthic community richness. *Hydrobiologia* 207:61-69.
- Fichez R (1990b). Absence of Redox Potential Discontinuity in Dark Submarine Cave Sediments as Evidence of Oligotrophic Conditions. *Est Coast Shelf Sci* 31:875-881.
- Gerovasileiou V, Voultziadou E (2012) Marine caves of the Mediterranean Sea: a sponge biodiversity reservoir within a biodiversity hotspot. *PLoS ONE* 7(7): e39873. doi:10.1371/journal.pone.0039873
- Gerovasileiou V, Voultziadou E (2014) Mediterranean marine caves as biodiversity reservoirs: a preliminary overview. In: *Symposia on the conservation of Mediterranean marine key habitats, Portoroz*, 27–31 October 2014 RAC/SPA, pp. 45–50.
- Gili JM, Riera T, Zabala M (1986) Physical and biological gradients in a submarine cave on the western Mediterranean coast (NE Spain). *Mar Biol* 90:291-297.
- Gómez-Gesteira JL, Dauvin JC (2000) Amphipods are good bioindicators of the impact of oil spills on soft-bottom macrobenthic communities. *Mar Pollut Bull* 40:1017-1027.
- Gray JS (1997) Gradients in marine biodiversity, in: Ormond R, Gage J, Grassle JF, (Eds.) *Marine biodiversity: patterns and processes*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 18-34.
- Gray JS (2002) Species richness of marine soft sediments. *Mar Ecol Prog Ser* 244:285-297.
- Grimwood MJ, Dixon E (1997) Assessment of risks posed by List II metals to Sensitive Marine Areas (SMAs) and adequacy of existing environmental quality standards (EQSs) for SMA protection. Report to English Nature.
- Guarnieri G, Terlizzi A, Bevilacqua S, Fraschetti S, (2012) Increasing heterogeneity of sensitive assemblages as a consequence of human impact in submarine caves. *Mar Biol* 159:1155-1164.
- Guerra-García JM, García-Gómez JC (2001) The spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar area). *PSZN Mar Ecol* 22:357-367.
- Guerra-García JM, García-Gómez JC (2004) Crustacean assemblages and sediment pollution in an exceptional case study: a harbour with two opposing entrances. *Crustaceana* 77(3):353-370.

- Guerra-García JM, Cabezas P, Baeza-Rojano E, Espinosa F, García-Gómez JC (2009) Is the north side of the Strait of Gibraltar more diverse than the south side? A case study using the intertidal peracarids (Crustacea: Malacostraca) associated to the seaweed *Corallina elongata*. *J Mar Biol Assoc UK* 89(2):387-397.
- Guerra-García JM, Navarro-Barranco C, Corzo J, Cobos-Muñoz V, García-Adiego EM, Sempere-Giménez F, García-Gómez J (2012) An illustrated key to the soft-bottom caprellids (Crustacea: Amphipoda) of the Iberian Peninsula and remarks to their ecological distribution along the Andalusian coast. *Helgol Mar Res* 67(2):321-336.
- Gutián F, Carballas T (1976) *Técnicas de análisis de suelos*. 2ª ed. Pico Sacrp, Santiago de Compostela.
- Harmelin JG, Vasseur P (1985) Les grottes sous-marines obscures: un milieu extreme et un remarquable biotope refuge. *Téthys* 11:214-229.
- Harmelin JG (1997) Diversity of bryozoans in a Mediterranean sublittoral cave with bathyal-like conditions: role of dispersal processes and local factors. *Mar Ecol Prog Ser* 153:139-152.
- Hernández-Arana HA, Rowden AA, Attrill MJ, Warwick RM, Gold-Bouchot G (2003) Large-scale environmental influences on the benthic macroinfauna of the souther Gulf of Mexico. *Est Coast Shelf Sci* 58:825-841.
- Hoey GV, Degraer S, Vincx M (2004) Macrobenthic community structure of soft-bottom sediments at the Belgian continental shelf. *Est Coast Shelf Sci* 59:599-613.
- Horton T (2008) Amphipoda from marine caves of Hong Kong Island. *J Nat Hist* 42(9-12):825-854.
- Kendall MA, Widdicombe S (1999) Small scale patterns in the structure of macrofaunal assemblages of shallow soft sediments. *J Exp Mar Biol Eco* 237:127-140.
- Levin L, Thomas CL (1988) The ecology of xenophyophores (Protista) on eastern Pacific seamounts. *Deep-Sea Res* 35:2003-2027.
- Long ER, Field LJ, MacDonald DD (1998) Predicting toxicity in marine sediments with numerical sediment quality guidelines. *Environ Toxicol Chem* 17:714-727.
- Lourido A, Moreira J, Troncoso JS (2008). Assemblages of peracarid crustaceans in subtidal sediments from the Ría de Aldán (Galicia, NW Spain). *Helgol Mar Res* 62 :289-301.
- Manconi R, Serusi A, Pisera A (2006) A new Mediterranean 'lithistid' sponge, *Aciculites mediterranea* sp. nov. (Porifera, Demospongiae) from a dark marine cave in Sardinia. *J Mar Biol Assoc UK* 86:691-698.
- Manconi R, Ledda FD, Serusi A, Corso G, Stocchino GA (2009) Sponges of marine caves: Notes on the status of the Mediterranean palaeoendemic *Petrobiona massiliana* (Porifera: Calcarea: Lithonida) with new records from Sardinia. *Ital J Zool* 76(3):306-315.
- Martí R, Uriz JM, Ballesteros E, Turon X. (2004a). Temporal variation of several structure descriptors in animal-dominated benthic communities in two Mediterranean caves. *J Mar Biol Ass UK*. 84:573-580.

- Martí R, Uriz JM, Ballesteros E, Turon X (2004b). Benthic assemblages in two Mediterranean caves: species diversity and coverage as a function of abiotic parameters and geographic distance. *J Mar Biol Ass UK* 84:557-572.
- Martí R, Uriz JM, Turon X (2005) Spatial and temporal variation of natural toxicity in cnidarians, bryozoans and tunicates in Mediterranean caves. *Sci Mar* 69:485-492.
- Martínez J, Adarraga I (2001) Distribución batimétrica de comunidades macrobentónicas de sustrato blando en la plataforma continental de Guipúzcoa (Golfo de Vizcaya). *Bol Inst Esp Oceanogr* 17:33-48.
- McCune B, Mefford MJ (1997). PC-ORD. Multivariate scaling. Sage Publications, Beverly Hills, California, 60pp.
- Monteiro-Marques V (1981) Peuplements des planchers envasés de trois grottes sous-marines de la région de Marseille. Etude préliminaire. *Téthys* 10:89-96.
- Morrise DJ, Howitt L, Underwood AJ, Stark JS (1992) Spatial variation in soft-sediments benthos. *Mar Ecol Prog Ser* 81:197-204.
- Moreira J, Gestoso L, Troncoso JS (2008) Diversity and temporal variation of peracarid fauna (Crustacea: Peracarida) in the shallow subtidal of a sandy beach: Playa América (Galicia, NW Spain). *Mar Ecol* 29(1):12-18.
- Norén K, Lindergarth M (2005) Spatial, temporal and interactive variability of infauna in Swedish coastal sediments. *J Exp Mar Biol Eco* 317:53-68.
- Ott JA, Svoboda A (1976) Sea caves as model systems for energy flow studies in primary hard bottom communities. *Pubbl Staz Zool Napoli* 40:477-485.
- Parravicini V, Guidetti P, Morri C, Montefalcone M, Donato M, Bianchi CN (2010) Consequences of sea water temperature anomalies on a Mediterranean submarine cave ecosystem. *Est Coast Shelf Sci* 86:276-282.
- Pearson TH, Rosenberg R (1978) Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanogr Mar Biol* 16:229-311.
- Pinedo S, Jordana E (2007) Spain (Catalonia and Balearic Islands). In: Water Framework Directive Intercalibration Technical Report Part 3: Coastal and Transitional waters. Carletti A., Heiskanen A.S. (Eds). JRC Scientific and Technical Reports, JRC andies, pp. 62-70
- Pinedo S, Jordana E, Salas F, Subida MD, García-Adiego E, Torres J (2012) Testing MEDOCC and BOPA indices in shallow softbottom communities in the Spanish Mediterranean coastal waters. *Ecol Indic* 19:98-105.
- Poore G, Wilson GDF (1993) Marine species richness. *Nature* 361:597-598.
- Prato E, Biandolino F (2005) Amphipod biodiversity of shallow water in the Taranto seas (north-western Ionian Sea). *J Mar Biol Assoc UK* 85:333-338.
- Rex MA (1993) Global-scale patterns of species diversity in the deep-sea benthos. *Nature* 365:636-639.
- Riedl R (1966) *Biologie der Meereshöhlen*. Verlag Paul Parey, Hamburg/Berlin.

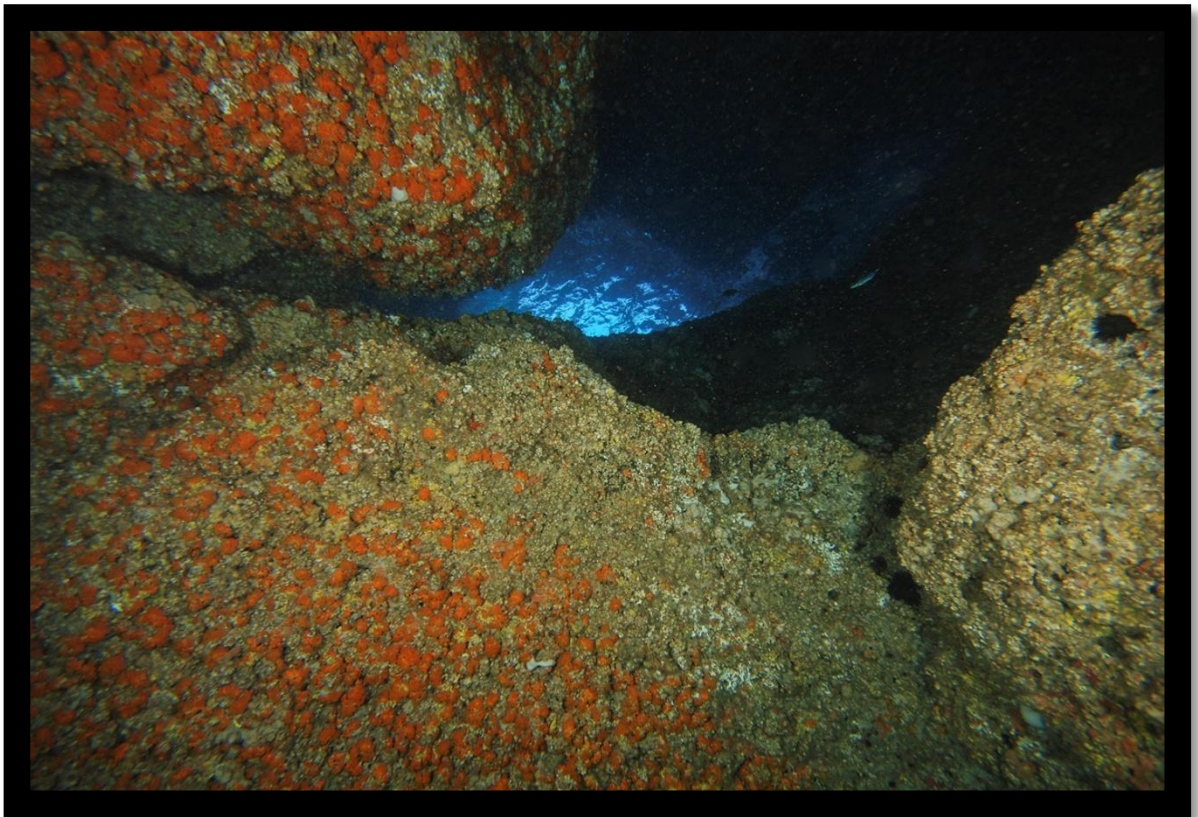
- Rodríguez J, Molina F, Rodriguez M (2003) Paraje Natural de los Acantilados de Maro-Cerro Gordo: nueva ZEPIM. *Medio Ambiente* 43:16-19.
- Ros J, Romero J, Ballesteros E, Gili JM (1989) Buceando en las aguas azules. El bentos, in: Margalef, R., (Ed.), *El Mediterraneo Occidental*. Omega, Barcelona, pp 235-297.
- Ruffo S (1982-1998) *The Amphipoda of the Mediterranean: Parts 1–4*. Mémoires de l'Institut Océanographique, Monaco.
- Sanchez-Moyano E, García-Asencio I, García-Adiego E, García-Gómez JC, Leal-Gallardo A, Ollero C, Fraidías-Amarillo J (2005) Vigilancia ecológica del litoral andaluz. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía, Sevilla.
- Sarà M (1974) Il popolamento delle grotte marine: interesse di una salvaguardia. *Pub Staz Zool Napoli*. 40:50-505.
- Scipione MB, Taramelli E, Fresi E, Cinelli F, Mazzella L (1981) Distribuzione delle biocenosi bentoniche lungo un gradiente di luce in una grotta marina superficiale: Anfipodi. *Memorie di Biologia Marina e di Oceanografia* 11(1):1-16.
- Shannon CE, Weaver N (1963) *The mathematical theory of communication*. University of Illinois Press, Urbana.
- Simboura N, Zenetos A (2002) Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new biotic index. *Med Mar Sci* 3(2):77-111.
- Snelgrove PVR (1998) The biodiversity of macrofaunal organisms in marine sediments. *Biodiv Conserv* 7:1123-1132.
- Snelgrove PVR, Grassle JF, Petrecca RF (1992) Experimental evidence for aging food patches as a factor contributing to high deep-sea macrofaunal diversity. *Limnol Oceanogr* 41:605-614.
- Thrush SF (1991) Spatial patterns in Soft-bottom Communities. *TREE* 6(3):75-79.
- True MA (1970) Etude quantitative de quatre peuplements sciaphiles sur substrat rocheux dans la region marseillaise. *Bull Inst Océanogr Monaco* 69(1401):1-48.
- Turon X, Martí R, Uriz JM (2009) Chemical bioactivity of sponges along an environmental gradient in a Mediterranean cave. *Sci Mar* 73:387-397.
- Underwood AJ (1997). *Experiments in Ecology: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Underwood AJ, Chapman MG, Richards SA (2002) GMAV-5 for Windows. An analysis of variance programme. University of Sydney, Australia.
- Vacelet J, Boury-Esnault N, Harmelin JG (1994). Hexactinellid cave, a unique deep-sea habitat in the scuba zone. *Deep-Sea Res* 41(7):965-973.
- Zabala M, Riera T, Gili JM, Barange M, Lobo A, Peñuelas J (1989) Water flow, trophic depletion, and benthic macrofauna impoverishment in a submarine cave from the western Mediterranean. *Mar Ecol* 10:271-287.

3

HARD BOTTOM COMMUNITIES

PART 1: Cerro Gordo cave:

Host specificity



Adapted from:

- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, Florido M, García-Gómez JC (2015) Amphipod community associated with invertebrate hosts in a Mediterranean marine cave. *Marine Biodiversity*. DOI 10.1007/s12526-015-0328-6

Mobile epifaunal is an essential component of rocky reef ecosystems. In spite of this and the great scientific interest that the study of marine caves has aroused in the last decades, little research has been conducted on the macrofauna associated with animal substrates in submarine caves. The present chapter explores the amphipod communities associated with the dominant host invertebrates inhabiting the marine cave of Cerro Gordo, in order to describe their species composition and distribution patterns. Colonies of six sessile species were collected: *Astroides calycularis*, *Parazoanthus axinellae*, *Pentapora fascialis*, *Alcionella calveti*, *Filograna/Salmacina* and *Ircinia fasciculata*. In each sample the mobile epifaunal community (mainly focusing on the amphipod group) was characterized, with Arthropoda and Amphipoda being the dominant phylum and order respectively. Among amphipods, the gammarid *Lembos websteri* and the caprellids *Phtisica marina* and *Pseudoprotella phasma* were the most abundant species. The endangered coral *Astroides calycularis* showed the most distinctive amphipod community and multivariate analysis highlighted the existence of significant differences in the amphipod assemblages among invertebrate hosts in the cave. However no host-specific species were found. Benthic hosts inside the cave are mainly used as a refuge by amphipods and all the sessile species studied seem to play an equivalent facilitation role. To what extent changes in the composition of sessile species may affect other associated species was also discussed.

• Previous page photograph. Upper entrance to Cantarriján cave with walls and ceiling communities dominated by *Astroides calycularis*. Luis Sánchez Tocino.

INTRODUCTION

As it has been previously highlighted, marine caves represent one of the most remarkable habitats of littoral areas. Marine caves harbour many protected and/or rare species and, because of their peculiar environmental conditions (i.e. relative isolation or marked gradients) marine caves are often used as model habitats to explore the influence of abiotic factors and biotic interactions on benthic communities (Zabala et al. 1989; Vacelet et al. 1994; Martí et al. 2004, 2005; Bussotti et al. 2006; Gerovasileiou and Voultsiadou 2012). In spite of this, the knowledge of such ecosystems is still scarce in many aspects. Even in the Mediterranean basin, where most marine cave studies have been conducted, there is an uneven distribution of data and their presence and ecology in large areas, such as the Alboran Sea, is poorly explored (Giakoumi et al. 2013).

Most of the studies conducted in marine caves have focused on sessile organisms but little attention has been devoted to the mobile epifauna associated with them (Ledoyer 1966; Scipione et al. 1981). Many of these sessile species are considered habitat-forming organisms, supporting a wide diversity of associated mobile species (Birdsey et al. 2012; Bruno and Bertness 2001). Among this mobile epifauna Amphipoda is often the dominant group, both in abundance and number of species. They are also an important link in littoral trophic webs, playing a key role for primary producers (by grazing), sessile invertebrate species (limiting their colonization rate, their feeding rate and sometimes preying on them) and higher trophic levels (acting as a prey source for the majority of demersal fishes) (e.g. Taylor 1998; Duffy and Hay 2000; Scinto et al. 2008; Cook et al. 2011; Collin and Johnson 2014). Thus, it is important to improve our knowledge regarding to this component of marine cave communities in order to get a complete and proper understanding of these ecosystems. Moreover, due to their high sensitivity to environmental conditions, amphipods are often used as bioindicators to evaluate the ecological quality of hard substrates communities (Conradi et al. 1997; Guerra-García and García-Gómez 2001). Marine caves are traditionally considered ecosystems with a high vulnerability to disturbances, due to the temporal stability of these communities and their low rate of recovery (Vacelet et al. 1994). As for most littoral habitats, these ecosystems are exposed to many human impacts, ranging from local coastal pollution to global phenomena such as climate change (Chevaldonné and Lejeusne 2003; Parravicini et al. 2010). Because of that, marine caves are included in the Habitat Directive of the European Community (92/43 EEC) and 56% of the Marine Protected Areas in the Mediterranean Sea contain this environments (Abdulla et al. 2008). Amphipods can be very helpful for identifying and evaluating the relative importance of natural and anthropogenic threats, as well as assessing the effectiveness of the management and protection measures established. However, the sensitivity of this group will be highly

dependent of their host specificity, which has not been studied until now in cave environments.

The aim of the present study is to describe the mobile epifauna (with emphasis on amphipods) inhabiting the main sessile invertebrate species on hard substrate within Cerro-Gordo marine cave (Granada, Spain). We compare the abundances and species richness among different host substrates, as well as the host specificity of amphipod species, in order to evaluate the resilience of such epifaunal communities.

MATERIAL AND METHODS

Study site

Previous studies highlighted the particular composition of the benthic communities in Maro-Cerro Gordo Natural Park (where Cerro-Gordo cave is located), due to the mixing of Mediterranean and Atlantic waters and the upwelling of Mediterranean deep waters (Cebrián and Ballesteros 2004). These hydrographic conditions support a higher animal biomass and higher abundances of suspension feeders than other shallow rocky bottom assemblages in Mediterranean areas (Cebrián et al. 2000). Regarding to the sessile invertebrate communities inhabiting cave walls, there are marked differences between semidark and dark areas. In contrast with the biocoenosis inhabiting the dark inner part of marine caves (characterized by an impoverishment both in abundance and number of species) or the external areas (dominated by algae), semi-dark areas show interesting and rich benthic communities dominated by sessile invertebrates (Balduzzi et al. 1989; Bell 2002; Martí et al. 2004). At Cerro-Gordo cave (whose topography has been commented in previous chapters), only a low percentage of the hard substrate in the dark inner part has been colonized (mainly by brachiopods and encrusting sponges). Thus, all samples were taken in the semi-dark area within the cave.

Sample collection

Samples were collected on 20th June 2013. Six species of invertebrate species were selected due to their high abundance and complex three dimensional growth forms (suitable to host a relatively high abundance of epifauna): *Alcionella calveti*, *Pentapora fascialis*, *Astroides calycularis*, *Parazoanthus axinellae*, *Ircinia variabilis*, *Filograna/Salmacina* complex. Both *A. calveti* and *P. fascialis* are erect, branching and calcified bryozoans species. *A. calycularis* and *P. axinellae* are two cnidarians species typically found in cave entrances and on overhangs. While *A. calycularis* is an endangered scleractinian coral with a calcified skeleton, *P. axinellae* is a zoanthid species, lacking a hard skeleton and widely distributed in the NW Mediterranean. The sponge *I. variabilis* belongs to the family Irciniidae, characterized by a lack of a calcified

or siliceous skeleton (their body shape is quite variable and is supported by an elastic network of proteinaceous fibers). Finally, colonies of *Filograna/Salmacina* are composed of hundreds of tubes of individual polychaetes, fused to form a branching and fragile calcareous structure. Three replicate colonies of each species (separated between 5 and 10 meters) were collected by SCUBA diving. Each colony was first covered with a plastic box to prevent the loss of organisms and was carefully separated from the substrate using a trowel. The trowel (which was wider than the diameter of the box's aperture) kept the box closed once the colony was detached from the substrate. The presence of escapees, although unlikely, could not be completely prevented when the trowel was substituted by the box cover. Samples were later preserved in 70% ethanol and stored in the laboratory. The volume of each colony was measured by the displacement of a known volume of water. Afterwards, each colony was washed through a 0.5 mm mesh sieve with fresh water to collect the mobile fauna and all the organisms were sorted into higher taxa and counted. Finally, all amphipods were identified to species level using a binocular microscope.

Statistical analyses

Mean values (\pm standard error) of amphipod abundance per 1000ml of substrate, and number of species per replicate were calculated for each host. The variation of these univariate measures among host species was explored using a one-way Analysis of Variance (ANOVA), with 'host species' as a fixed factor with six levels and $n=3$. Prior to ANOVA, heterogeneity of variance was tested with Cochran's C test and transformations were applied if variances were different at $P = 0.05$. When variances remained heterogeneous, untransformed data were analyzed, as ANOVA is robust enough to support conclusions based on these assumptions, particularly in a balanced design (Underwood 1997). However, in order to reduce Type I errors, the level of significance was reduced to 0.01. Special care was taken in the interpretation of ANOVA results for species richness, since these values cannot be standardized according to the volume of each replicate. The inclusion of volume as a covariate would improve the power of the statistical analysis (Quinn and Keough 2002). However, ANCOVA could not be performed because of the heterogeneity of slopes, probably due to the different structure of each host species. Multivariate analyses were also conducted in order to test differences in amphipod composition among host species. Abundance data of amphipod species per 1000ml were fourth-root transformed prior to analysis to reduce the importance of extreme values, and a similarity matrix was generated using the Bray-Curtis similarity index. A distance-based permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) was carried out with one factor (host species). Terms found to be significant in the analysis were examined individually using appropriate pair-wise comparisons. Due to the low number of permutations obtained in the pair-wise comparisons, the use of Monte Carlo P -values

was recommended (Anderson 2005). Additionally, a non-parametric multidimensional scaling test (nMDS) was performed to visualize the level of similarity among replicates.

ANOVA analyses were conducted with GMAV program (Underwood et al. 2002) and multivariate analyses were carried out using the PRIMER v.6 + PERMANOVA package (Clarke & Gorley 2001).

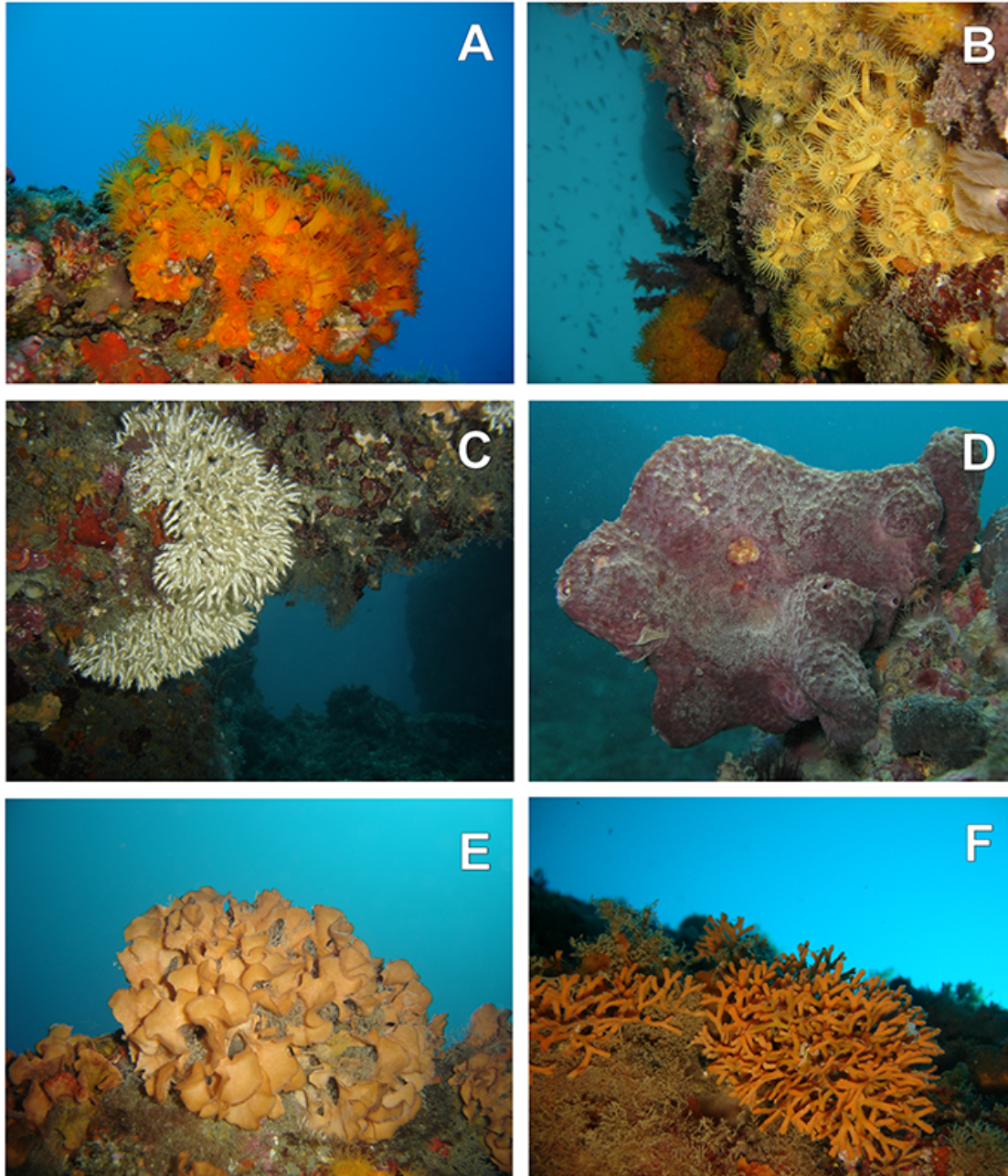


Figure 1. Pictures of the host invertebrates sampled in the study; *Astroides calycularis* (A), *Parazoanthus axinellae* (B), *Filograna/Salmacina* complex (C), *Ircinia fasciculata* (D), *Pentapora fascialis* (E) and *Aldeonella calveti* (F).

RESULTS

Arthropoda was the dominant phylum in all host species, always comprising more than 50% of individuals (Figure 2a). Within Arthropoda, the relative abundance of each order was very variable among different host species (Figure 2b). Amphipoda comprised 69% of all arthropods collected, but its percentage of abundance in each host ranged from less than 30% in *A. calycularis* to more than 90% in *P. fascialis*. Decapoda was the second order in abundance (13.6%, being dominant in *A. calycularis*), followed by Isopoda (9.8%) and Tanaidacea (1.7%). Pycnogonida was another arthropod order also present, but its abundance was always low (excepting *Aldeonella calveti*, where it was the second most abundant group).

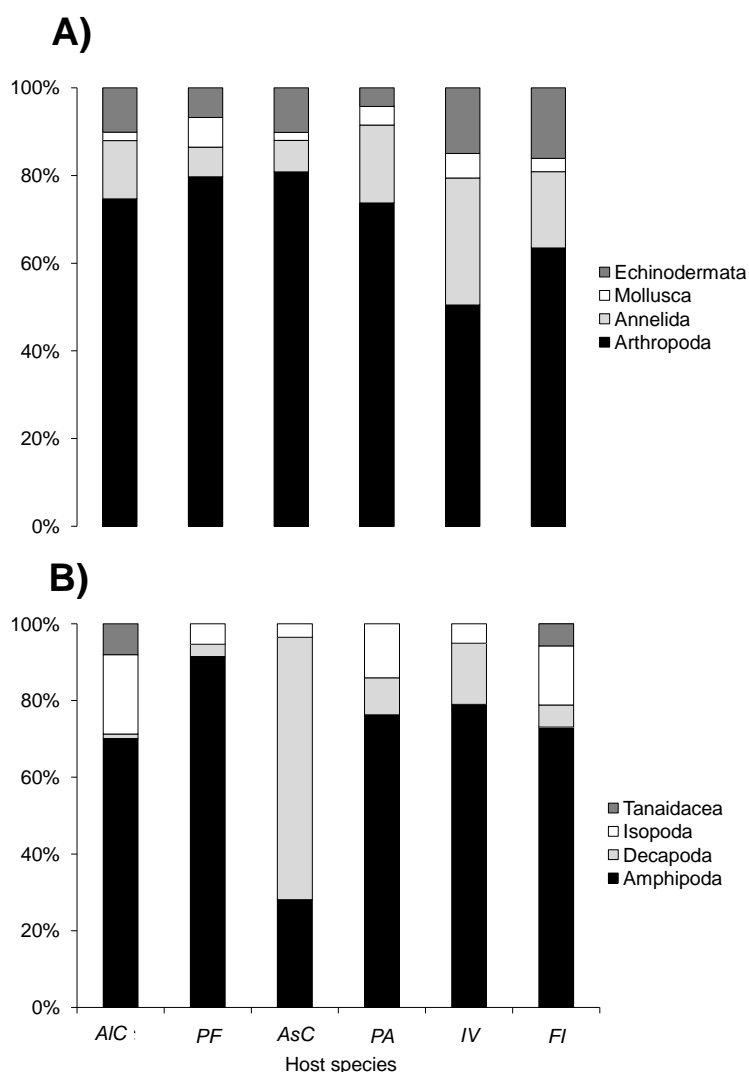


Figure 2. Abundance of individuals (in percentage) of each phylum (A) and crustacean order (B) in each species of invertebrate host. AIC = *Aldeonella calveti*; PF = *Pentapora fascialis*; AsC = *Astroides calycularis*; PA = *Parazoanthus axinellae*; IV = *Ircinia variabilis*; FI = *Filograna/Salmacina*.

A total of 17 amphipod species were found during the study (Table 1). The caprellid *Phtisica marina* and the gammarid *Lembos websteri* were the most abundant species. On the contrary, some species such as *Gammaropsis maculata*, *Elasmopus pecteniscrus*, *Maera inaequipes* or *Synchelidum cf longidigitatum* showed very low abundances and/or low occurrence rates (present as singletons and/or in one replicate). If we exclude these rare taxa, there were two species that only appeared in a single host: *Tritaeta gibbosa* in the sponge *Ircinia variabilis* and *Stenothoe cavimana* in colonies of *Astroides calycularis*. PERMANOVA analysis showed the existence of significant differences among host species (Table 2). According to the pair-wise comparisons, *Astroides calycularis* harboured the most distinctive amphipod community, significantly different from those present on colonies of *Aldeonella calveti*, *Pentapora fascialis*, *Ircinia variabilis* and *Filograna/Salmacina*. The community on the other cnidarian species *Parazoanthus axinellae*, also differed significantly from *Aldeonella calveti* and *Pentapora fascialis*. The same pattern can be observed in the nMDS plot (Figure 3).

Table 1. Abundances (mean number of individuals per 1000ml \pm SE) of the amphipod species recorded for each invertebrate host.

	BRYOZOA		CNIDARIA		PORIFERA	ANNELIDA
	<i>Aldeonella calveti</i>	<i>Pentapora fascialis</i>	<i>Astroides calycularis</i>	<i>Parazoanthus axinellae</i>	<i>Ircinia variabilis</i>	<i>Filograna implexa</i>
<i>Phtisica marina</i>	348 \pm 60	76 \pm 24			22 \pm 11	711 \pm 630
<i>Lembos websteri</i>	149 \pm 9	105 \pm 5	150 \pm 99	140 \pm 56	93 \pm 35	83 \pm 25
<i>Stenothoe dollfusi</i>	76 \pm 39			6 \pm 6		33 \pm 33
<i>Gitana cf abyssicola</i>	40 \pm 5	33 \pm 33		5 \pm 5		22 \pm 22
<i>Lysianassa</i> sp.	27 \pm 16		13 \pm 7	6 \pm 6		
<i>Leucothoe spinicarpa</i>	11 \pm 11				30 \pm 17	17 \pm 17
<i>Liljeborgia dellavallei</i>		17 \pm 17	29 \pm 9	43 \pm 24	17 \pm 9	
<i>Pseudoprotella phasma</i>		17 \pm 17				367 \pm 367
<i>Gammaropsis maculata</i>		10 \pm 10	15 \pm 15			
<i>Elasmopus pecteniscrus</i>		10 \pm 10				
<i>Stenothoe cavimana</i>			94 \pm 27			
<i>Leptocheirus longimanus</i>			92 \pm 54	30 \pm 30		
<i>Gammaropsis</i> sp.			71 \pm 71			
<i>Leptocheirus bispinosus</i>			47 \pm 24	123 \pm 111		
<i>Tritaeta gibbosa</i>					30 \pm 17	
<i>Maera inaequipes</i>					5 \pm 5	
<i>Synchelidum cf longidigitatum</i>					5 \pm 5	

Regarding the univariate measures, neither species richness ($F = 0.79$; $P = 0.576$) nor abundance values ($F = 2.36$; $P = 0.104$) showed significant variation among host species. Figure 4 shows some great differences in mean values, but it should be noted that the degree of variability among colonies within each species was also very high.

DISCUSSION

Amphipod composition

It could be surprising that all the amphipod species found during the study were previously reported in open habitats (Ruffo 1982-1998), since marine caves have traditionally been considered very isolated habitats with a frequent occurrence of endemic species (Harmelin et al. 1985). Nevertheless, as we have previously highlighted in chapter 2.2, most of the species in marine caves are not stygobiotic (cave-exclusive) (Gerovasileiou and Voultsiadou 2012). Moreover, samples were taken in the semi-dark area instead of the inner and more isolated part of the cave. In spite of this, some of the species here reported are of great interest. For example, *Leptocheirus longimanus* a rare gammarid species belonging to the family Corophiidae. This Mediterranean endemism was first described for the coast of Marseille (France) (Ledoyer 1973) and, to our knowledge, it has not been reported since then. The occurrence of *Gitana cf. abyssicola* is also remarkable since it is a bathyal species, often associated with cnidarians between 180-275 meters deep (Ruffo 1982-1998). Interestingly, this species inhabits shallow depths inside marine caves. The appearance of species usually restricted to deeper areas in open habitats is a common feature of marine cave fauna (Vacelet et al. 1994). Some of the species found are quite well adapted to their sessile invertebrate hosts. This is the case, for example, of *Tritaeta gibbosa*, a common inhabitant of sponges' canals, or *Leucothoe spinicarpa*, a well-known cosmopolitan species previously reported living in the branchial chamber of tunicates, inside bivalves and in the aquiferous system of sponges (Voultsiadou et al. 2007; Thiel 1999). On the other hand, the occurrence of other amphipod species in our samples, such as *Synchelidium cf. longidigitatum* (a soft-bottom species), could be considered accidental and/or derived from the bedload transport of sediment species.

The great variation in amphipod abundances between host colonies was already reported for other invertebrate hosts (Poore et al. 2000; Voultsiadou et al. 2007). The differences here observed can be very marked, as in the case of the caprellid *Pseudoprotella phasma*, that shows densities higher than one thousand individuals per 1000ml in one colony of *Filograna/Salmacina* and no single individual in the other replicates. The common explanation for these amphipod aggregations is related to their direct development, which determines that juveniles often recruit in the vicinity of their parents. Some caprellids, as *P. phasma*, even show parental care (Aoki 1999).

Table 2. Results of the multivariate analysis PERMANOVA for amphipod community, based on Bray-Curtis similarities of fourth root transformed data. Significance on pair-wise tests were tested with Monte Carlo p values due to low number of unique permutations. df = degrees of freedom; MS = mean square; P = level of significance; * = p < 0.05; ** = p < 0.01; AIC = *Aldeonella calveti*; PF = *Pentapora fascialis*; AsC = *Astroides calycularis*; PA = *Parazoanthus axinellae*; IV = *Ircinia variabilis*; FI = *Filograna/Salmacina*.

Source of variation	df	MS	Pseudo-F	P
Host species	5	3871.2	3.18	0.001**
Residual	12	1814.1		

Pair-wise tests		AIC	PF	AsC	PA	IV
PF		t = 1.693 P = 0.102				
AsC		t = 3.206 P = 0.012*	t = 2.484 P = 0.016*			
PA		t = 2.555 P = 0.024*	t = 1.862 P = 0.047*	t = 1.441 P = 0.153		
IV		t = 2.123 P = 0.057	t = 1.406 P = 0.196	t = 2.052 P = 0.032*	t = 1.567 P = 0.128	
FI		t = 0.578 P = 0.758	t = 0.808 P = 0.588	t = 2.143 P = 0.033*	t = 1.552 P = 0.127	t = 1.039 P = 0.386

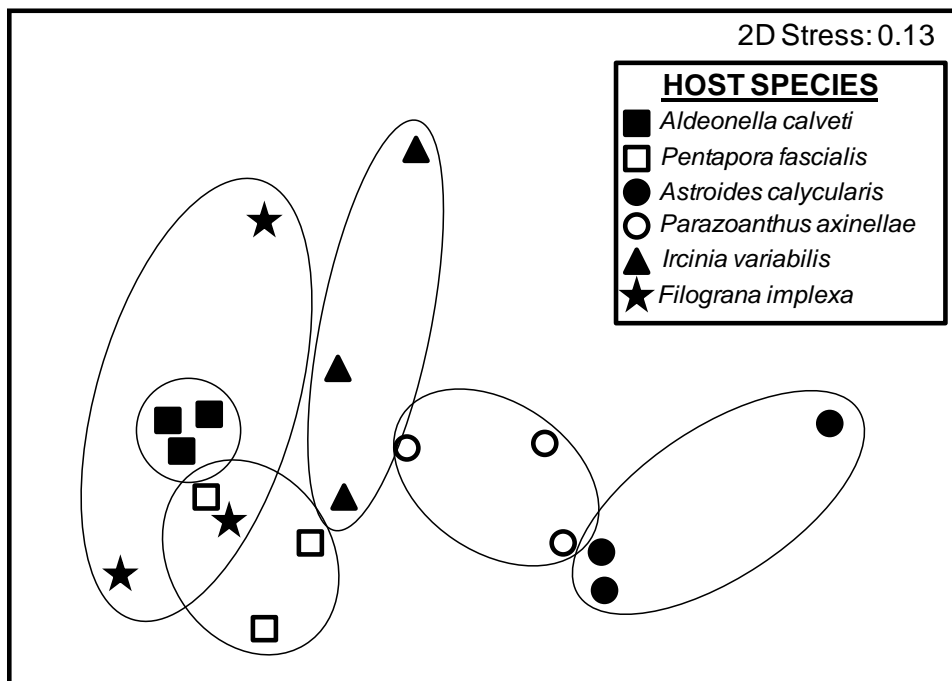


Figure 3. Two-dimensional nMDS plot for amphipod species composition. Data were fourth root transformed. Replicates belonging to the same host species are encircled.

Host-specificity and implications for conservation

The orange coral, *Astroides calycularis*, showed the most characteristic epifaunal community, being significantly different from all host species considered in the study, with the only exception of the other cnidarian species (*Parazoanthus axinellae*). The high richness of the macrofaunal assemblages associated with *A. calycularis* has been recently reported (Terrón-Sigler et al. 2014). Many small polychaetes, crustaceans, mollusks and echinoderms find shelter and/or food resources in the complex hard skeletons of this scleractinian coral. The peculiarity of the mobile epifaunal community associated with *Astroides calycularis* is especially relevant due to the endangered status of this species (protected by Berna and Barcelona Conventions and CITES). Although this Mediterranean endemic coral has suffered a significant regression since the Pleistocene, it attains very high densities in some areas and habitats (such as below overhangs and cave entrances at shallow depths). Because of this spatial distribution, colonies can easily be damage by scuba divers.

However, in spite of multivariate results showing a significant influence of factor “host species”, no host-specific species were found. Although *Tritaeta gibbosa* and *Stenothoe cavimana* only appeared in a single host, these amphipod species have also been found associated with other benthic invertebrates (Ruffo 1982-1998). Differences in the community structure among host species should then be attributed to changes in the relative abundances of the species rather than to changes in the species composition.

Can we assume that specific loss of any of these host species will not entail a loss of epifaunal species in the cave habitat? Disturbances in marine caves do not act homogeneously on the different elements of the benthic community (Guarnieri et al. 2012). One of the main sources of disturbances in marine caves is the recreational visitation by scuba divers, which is the major form of commercial use of marine caves (Humphreys et al. 1999; Di Franco et al. 2010). The effects of diving activities are especially strong on sessile species with erect growth forms and fragile calcareous or corneous skeletons (Guarnieri et al. 2012; Garrabou et al. 1998). These species are especially vulnerable to direct impacts by fins or other scuba equipment and their recovery after such disturbances is often slow (Garrabou et al. 1998). Most of the host species here studied (such as *Alcionella calveti*, *Pentapora fascialis*, *Astroides calycularis* and *Parazoanthus axinellae*) are considered sensitive to diving disturbance (Di Franco et al. 2009; Guarnieri et al. 2012). Thus, to properly quantify the resilience capacity of mobile epifaunal assemblages in marine caves it is essential to evaluate the host specificity of these species. In this sense, our results suggest that the host species considered, at least for amphipod assemblages, are functionally redundant, since none of the amphipod species found are closely related to any host species (they use them mainly as refuge). So, it could be expected that all hosts play an equivalent role and in

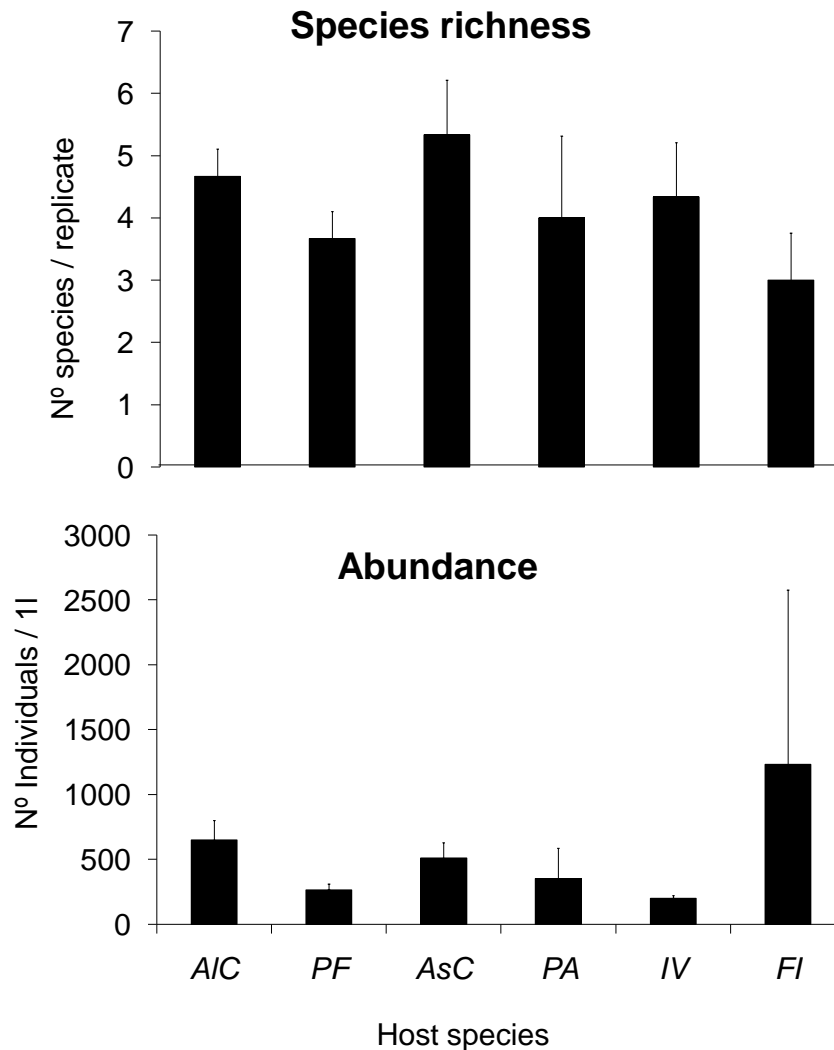


Figure 4. Amphipod species richness and abundance of organisms (mean values \pm SE) in each host species. AIC = *Aldeonella calveti*; PF = *Pentapora fascialis*; AsC = *Astroides calycularis*; PA = *Parazoanthus axinellae*; IV = *Ircinia variabilis*; FI = *Filograna/Salmacina*.

the case of a decline or disappearance of a select taxa, another one could easily replace it. This low habitat specialization seems to be the general trend in epifaunal communities associated to hard substrate (Taylor and Cole 1994). Moreover, amphipod populations have a high turnover rate and can quickly colonize new habitats (Poore 2005). They are all indicators of a probable high resilience of such communities. However, the ecology of epifaunal communities is still poorly understood, and thus it is difficult to predict how changes in the diversity and composition of sessile species may affect other associated species (Birdsey et al 2012; Bruno and Bertness 2001). Future experimental studies, testing the degree to which host organisms may be redundant in

this facilitation role would be necessary to properly evaluate the resilience of these caves' communities.

REFERENCES

- Abdulla A, Gomei M, Maison E, Piante C (2008) Status of marine protected areas in the Mediterranean Sea. IUCN, Málaga and WWF, France
- Anderson MJ (2005) PERMANOVA: a FORTRAN computer program for permutational multivariate analysis of variance. Department of Statistics, University of Auckland, New Zealand
- Aoki M (1999) Morphological characteristics of young, maternal care behavior and microhabitat use of caprellid amphipods. *J Mar Biol Ass UK* 79:629-639.
- Balduzzi A, Bianchi CN, Boero F, Cattaneo Vietti R, Pansini M, Sarà M (1989) The suspension –feeder communities of a Mediterranean sea cave. *Sci Mar* 53(2-3):387-395.
- Bell JJ (2002) The sponge community in a semi-submerged temperate sea cave: density, diversity and richness. *Mar Ecol* 23(4): 297-311.
- Birdsey EM, Johnston EL, Poore AGB (2012) Diversity and cover of a sessile animal assemblage does not predict its associated mobile fauna. *Mar Biol* 159:551-560.
- Bruno JF, Bertness MD (2001) Habitat modification and facilitation in benthic marine communities. In: Bertness MD, Gaines SD, Hay ME (eds) *Marine community ecology*. Sinauer Associates Inc., Sunderland, pp 201-218.
- Bussotti S, Terlizzi A, Fraschetti S, Belmonte G, Boero F (2006) Spatial and temporal variability of sessile benthos in shallow Mediterranean marine caves. *Mar Ecol Prog Ser* 325:109-119.
- Cebrián E, Ballesteros E (2004) Zonation patterns of benthic communities in an upwelling area from the western Mediterranean (La Herradura, Alboran Sea). *Sci Mar* 68(1):69-84.
- Cebrián E, Ballesteros E, Canals M (2000) Shallow rocky bottom benthic assemblages as calcium carbonate producers in the Alboran Sea (southwestern Mediterranean). *Oceanol Acta* 23(3) 311-322.
- Chevalsonné P, Lejeusne C (2003) Regional warming-induced species shift in north-west Mediterranean marine caves. *Ecol Lett* 6:371-379.
- Clarke KR, Gorley RN (2001) *PRIMER (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research) v5: user manual/tutorial*. PRIMER-E, Plymouth
- Cook K, Vanderklift MA, Poore AGB (2011) Strong effects of herbivorous amphipods in epiphyte biomass in a temperate seagrass meadow. *Mar Ecol Prog Ser* 442:263-269.
- Collin SB, Johnson LE (2014) Invasive species contribute to biotic resistance: negative effect of caprellid amphipods on an invasive tunicate. *Biol Invasions* 16:2209-2219.
- Conradi M, López-González PJ, García-Gómez JC (1997) The amphipod community as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Iberian Peninsula) based on a spatio-temporal distribution. *Mar Ecol* 18(2):97-111.

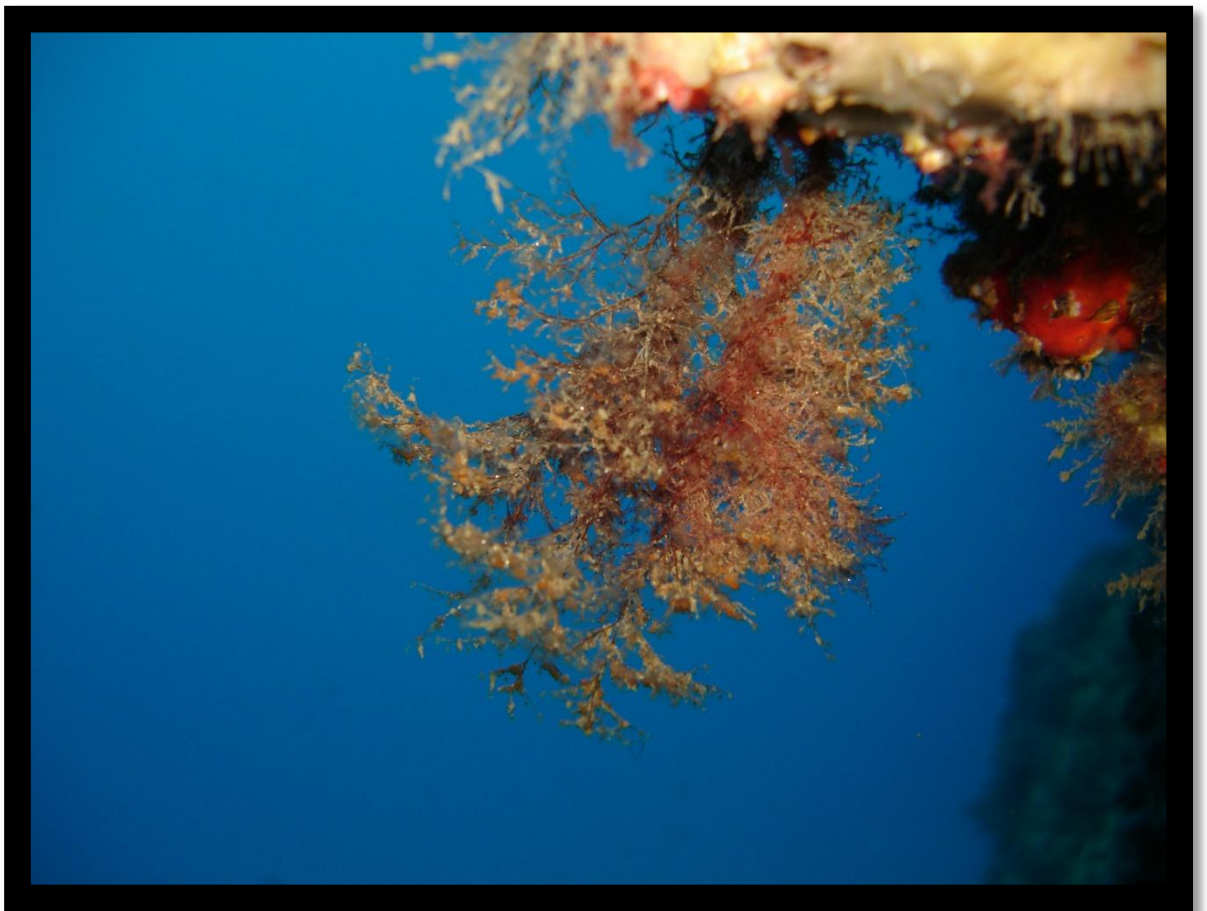
- Di Franco A, Marchini A, Baiata P, Milazzo M, Chemello R (2009) Developing a scuba trail vulnerability index (STVI): a case study from a Mediterranean MPA. *Biodivers Conserv* 18:1201-1217.
- Di Franco A, Ferruzza G, Baiata P, Chemello R, Milazzo M, 2010. Can recreational scuba divers alter natural gross sedimentation rate? A case study from a Mediterranean deep cave. *ICES J Mar Sci* 67(5): 871-874.
- Duffy JE, Hay ME (2000) Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecol Monogr* 70:237–263.
- Garrabou J, Sala E, Arcas A, Zabala M (1998) The impact of diving on rocky sublittoral communities: a case study of a bryozoan population. *Conserv Biol* 12(2):302-312.
- Gerovasileiou V, Voultsiadou E (2012) Marine caves of the Mediterranean Sea: a sponge biodiversity reservoir within a biodiversity hotspot. *PLoS One* 7(7): e39873.
- Giakoumi S, Sini M, Gerovasileiou V, Mazor T, Beher J et al. (2013) Ecoregion-Based Conservation Planning in the Mediterranean: Dealing with Large-Scale Heterogeneity. *PLoS ONE* 8(10): e76449.
- Guarnieri G, Terlizzi A, Bevilacqua S, Fraschetti S (2012) Increasing heterogeneity of sensitive assemblages as a consequence of human impact in submarine caves. *Mar Biol* 159:1155-1164.
- Guerra-García JM, García-Gómez JC (2001) The spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar area). *PSZN Mar Ecol* 22: 357-367.
- Harmelin JG, Vacelet J, Vasseur P (1985) Les grottes sous-marines obscures: un milieu extreme et un remarquable biotope refuge. *Téthys* 11:214-229.
- Humphreys WF, Poole A, Eberhard SM, Warren D (1999) Effects of research diving on the physico-chemical profile of Bundera Sinkhole, an anchialine remiped habitat at Cape Range, Western Australia. *J Roy Soc Western Australia* 82:99-108.
- Ledoyer M (1966) Écologie de la faune vagile des biotopes méditerranéens accessibles en scaphandre autonome. Introduction: données analytiques sur les biotopes de substrat dur. *Rec Trav Sra Mar Endoume* 40:103-149.
- Ledoyer M (1973) Amphipodes Gammariens nouveaux ou peu connus de la region de Marseille. *Tethys* 4(4): 881-897.
- Martí R, Uriz MJ, Ballesteros E, Turon X (2004) Benthic assemblages in two Mediterranean caves: species diversity and coverage as a function of abiotic parameters and geographic distance. *J Mar Biol Ass U.K.* 84:557-572.
- Martí R, Uriz MJ, Turon X (2005) Spatial and temporal variation of natural toxicity in cnidarians, bryozoans and tunicates in Mediterranean caves. *Sci Mar* 69(4):485-492.
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, Ros M, Florido M, García-Gómez J (2015) Colonization and successional patterns of a mobile epifaunal community along an environmental gradient in a marine cave. *Mar Ecol Prog Ser*, doi: 10.3354/meps11126.

- Parravicini V, Guidetti P, Morri C, Montefalcone M, Donato M, Bianchi CN (2010) Consequences of sea water temperature anomalies on a Mediterranean submarine cave ecosystem. *Estuar Coast Shelf S* 86:276-282.
- Poore AGB (2005) Scales of dispersal among hosts in an herbivorous marine amphipod. *Austral Ecol* 30:219-228.
- Poore AGB, Watson MJ, de Nys R, Lowry JK, Steinberg PD (2000) Patterns of host use among alga- and sponge-associated amphipods. *Mar Ecol Prog Ser* 208:183-196.
- Quinn GP, Keough MJ (2002) *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press, Cambridge
- Ruffo S (1982-1998) *The Amphipoda of the Mediterranean: Parts 1-4- Mém Inst Océanogr Monaco* 13:1-959.
- Scinto A, Bavestrello G, Boyer M, Previati M, Cerrano C (2008) Gorgonian mortality related to a massive attack by caprellids in the Bunaken Marine Park (North Sulawesi, Indonesia). *J Mar Biol Ass U.K.* 88(4): 723-727.
- Scipione MB, Taramelli E, Fresi E, Cinelli F, Mazzella L (1981) Distribuzione delle biocenosi bentoniche lungo un gradiente di luce in una grotta marina superficiale: Anfipodi. *Mem Biol Mar Oceanogr* 11: 1-16.
- Taylor RB, Cole RG (1994) Mobile epifauna on subtidal brown seaweeds in northeastern New Zealand. *Mar Ecol Prog Ser* 115:271-282.
- Taylor RB (1998) Density, biomass and productivity of animals in four subtidal rocky reef habitats: the importance of small mobile invertebrates. *Mar Ecol Prog Ser* 172:37-51.
- Terrón-Sigler A, Peñalver-Duque P, León-Muez D, Espinosa Torre F (in Press) First spatio-temporal study of macrofaunal assemblages associated with the endangered orange coral *Astroides calycularis* (Scleractinia: Dendrophylliidae). *Aquat Biol* 21:143-154.
- Thiel M (1999) Host use and population demographics of the ascidian dwelling amphipod *Leucothoe spinicarpa*: indication for expanded parental care and advanced social behavior. *J Nat Hist* 33:193-206.
- Underwood AJ (1997) *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge
- Underwood AJ, Chapman MG, Richards SA (2002) *GMAV-5 for Windows: an analysis of variance programme*. University of Sydney, Sydney
- Vacelet J, Boury-Esnault N, Harmelin JG (1994) Hexactinellid cave, a unique deep-sea habitat in the scuba zone. *Deep-Sea Res* 41: 965-973.
- Voultsiadou E, Pyrounaki MM, Chintiroglou C (2007) The habitat engineering tunicate *Microcosmus sabatieri* Roule, 1885 and its associated peracarid fauna. *Estuar Coast Shelf S* 74:197-204.
- Zabala M, Riera T, Gili JM, Barange M, Lobo A, Peñuelas J (1989) Water flow, trophic depletion and benthic macrofauna impoverishment in a submarine cave from the western Mediterranean. *Mar Ecol* 10: 271-287.

3

HARD BOTTOM COMMUNITIES

PART 2: General ecological patterns



Adapted from:

- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2014) Mobile epifaunal community in marine caves in comparison to open habitats. *Aquatic Biology* 20:101-109.

This study explores the main differences between marine caves and open habitats in terms of species composition and diversity patterns of epifaunal communities in four different shallow marine caves from Southern Spain. Colonies of *Eudendrium* sp., a marine hydroid widely distributed in the Mediterranean Sea, were taken from inside and outside each cave and all associated mobile fauna was sorted and identified. More than 90% of organisms were crustaceans, with Amphipoda as the dominant group. Although the main species did not vary significantly in abundance between open and cave habitats, multivariate analyses carried out for the entire amphipod community showed significant differences between these two habitats. MDS analysis showed that marine cave assemblages were also characterized by a higher degree of individuality and univariate analysis showed significant decrease in Shannon diversity and species richness values inside the cave in comparison with external stations, and this was a consistent pattern for all caves studied. Although the possible role of predation pressure in the structure of such assemblages was also discussed, we propose that the absence of plant substrates inside the caves, in conjunction with oligotrophic conditions and low siltation are the main factors responsible for the impoverishment of the epifaunal community. The near lack of photosynthetic activity reduced the presence of herbivorous species, while the rich detritus-feeder community supported by the animal substrates was limited by the low rate of sedimentation.

• Previous page photograph. Colony of *Eudendrium* sp. growing facing down in an overhang. Luis Sánchez Tocino.

INTRODUCTION

Several comparative studies have been done to explore the differences in distribution of benthic organisms inside marine caves versus open habitats, and an impoverishment of communities is a well-known phenomenon in the inner part of marine caves (e.g. Zabala et al 1989, Harmelin 1997, Martí et al 2004, Bussotti and Guidetti 2009, Janssen et al 2013). However, only a few of these studies have taken into account the epifaunal community inhabiting animal or plant substrates (Ledoyer 1966, True 1970, Scipione et al 1981). Thus, this type of assemblages remains poorly known, although it is essential to consider this part of the marine caves community in order to understand the behavior of these systems. Epifauna associated with hard bottom substrates are major contributors to the flux of materials in rocky habitats, providing up 99% of total secondary productivity, and acting as a prey source for the majority and most productive demersal fishes (Taylor 1998a, Edgar and Aoki 1993). However, they have usually been excluded in trophic models (Taylor 1997).

The presence of sessile species has a positive effect on the diversity of associated assemblages, which is evident when we compare them to bare rock and sedimentary environments (Chapman et al 2005, Birdsey et al 2012). Thus, one could expect that because of the oligotrophic conditions and high percentage of bare substrate in these habitats, caves might support a poor assemblages of mobile organisms. However, the decline in competition for substrate by algae in the semidark areas of marine caves often allows for the development of a rich and heterogeneous community dominated by sessile invertebrates (Day 1983, Bussotti et al 2006).

With respect to differences in the species composition, obviously if the benthic community is different between marine caves and open habitats, the associated epifauna will likely also differ (Birdsey et al 2012). In previous chapters we have highlighted how macroinfauna associated with soft sediments inside marine caves was different from those present outside them (Bamber et al 2008). However, it is difficult to establish how many of those differences in community are due to habitat, because of the presence of confounding factors, such as changes in the granulometry or the chemical properties of the sediment. Thus, in the present study we explore the mobile organisms associated with *Eudendrium* sp. (Cnidaria, Hydrozoa), a substrate present in both habitats (semidark and open). By using the same substrate, we can identify the extent the environment and not the change of substrate plays in determining changes in epifauna composition and biodiversity patterns.

Cnidarian colonies can support a highly diverse epifaunal community, as has been shown in gorgonian gardens and scleractinian reefs (Stella et al 2010, Carvalho et al 2014). Hydroids are also considered to be a foundation species of littoral communities in temperate habitats (Bavestrello et al 1996). Simkina (1980) pointed out that hydroid colonies can constitute the major regulators of zooplankton in some

areas, playing an important role in the mass development of copepod species. They also act as a food supply for many species, such as nudibranchs and amphipods (Cattaneo-Vietti and Boero 1988, Lambert 1991 Bavestrello et al 1996). Moreover, specific studies have pointed out the biodiversity increase of epifauna in rocky habitats when hydroid colonies were present (Bradshaw et al 2003). *Eudendrium* is a common and widely distributed hydroid genus in both natural and polluted Mediterranean environments, forming large arborescent colonies which support a rich community of sessile and mobile epibiotic organisms (Bavestrello et al 1996, Romagnoli et al 2007, Di Camillo et al 2008, Tazioli and Di Camillo 2013). Among its mobile epifauna, crustaceans (mainly copepods and amphipods) comprise more than 90% of individuals (Bavestrello et al 1996), a common feature in most benthic substrates and habitats (also inside marine caves) (Martin-Smith 1993, Jacobi and Langevin 1996, Taylor 1997, Fredriksen et al 2005, Guerra-García et al 2011). Because of their abundance, ubiquity, importance in the structure of benthic assemblages and their sensitivity to environmental changes, amphipod crustaceans are often used as a model group in ecological studies (Sánchez-Moyano and García-Gómez 1998, Duffy and Hay 2000, Guerra-García and García-Gómez 2001).

The main objective of this study was to explore the ecological patterns that characterize mobile epifaunal communities in marine caves. For that, we used the amphipod community associated with *Eudendrium* sp. as a model, studying the possible existence of differences in the abundance, number of species, diversity and species composition in the epifauna associated with hard bottom communities between marine caves and open habitats.

MATERIAL AND METHODS

Study site and sampling collection

Four shallow marine caves were selected and sampled between 20th and 28th August 2012 in La Herradura (southern Spain): 'Cueva de la Punta del Vapor' (36°43'22"N, 3°42'35"W), 'Cueva del Jarro' (36°43'11"N, 3°43'48"W), 'Cueva de los Gigantes' (36°43'20"N, 3°44'08"W), and 'Cueva de Cerro-Gordo' (33°43'46"N, 3°45'56"W). All of these caves are shallow (samples were taken between 6 and 12 m deep) and showed a similar topography in their semi-dark areas. Two sampling stations were selected in each location: one in the exterior area (approximately 5 m outside the cave mouth) and another inside the cave. The abundance of *Eudendrium* sp. decreases in the inner part of the caves, being absent in the completely dark areas. Therefore, the cave samples were taken in the semi-dark area (approximately 10 m from the entrance), where the abundance of *Eudendrium* sp. remains similar to that present outside the caves. Although the distance between the two stations in each

cave was only ca. 15 m, the caves showed marked gradients in many factors, such as light and hydrodynamism. Therefore, changes between both communities were very evident, with an algae-dominated community on one side and an invertebrate-dominated community on the other. Four replicate samples of *Eudendrium* sp. were collected at each station by divers using SCUBA equipment. Each colony was enveloped in a plastic bag before detachment to avoid the loss of organisms, and preserved in 70% ethanol. In the laboratory, each colony was washed through a 0.5 mm mesh sieve with fresh water to collect all mobile organisms, and the volume of each colony was measured by the displacement of a known volume of water when the hydroid was introduced. The organisms were sorted into higher taxa and counted. Additionally, all amphipods were identified to species level using a binocular microscope.

Statistical analyses

Abundance per taxon was calculated for each station (mean \pm SE). For amphipod crustaceans the number of species (mean \pm SE) and Shannon-Wiener diversity index (Shannon and Weaver 1963) were also calculated. The spatial variation in these parameters for the amphipod community was explored using Analysis of Covariance (ANCOVA) with two factors: habitat (Ha) and location (Lo). Habitat was a fixed factor with two levels (internal vs. external stations). Location was a fixed factor, orthogonal with Habitat, with four levels (one for each marine cave). Four samples were considered for each station ($n = 4$). Volume was included as a covariate. It has been proven that the inclusion of factors that cannot be controlled experimentally as covariates increases the power of the statistical analysis (Huitema 2011, Quinn and Keough 2002). Heterogeneity of variance was checked using Cochran's test, and transformations were applied when necessary (Underwood 1997). When variances remained heterogeneous, untransformed data were analyzed, as ANOVA is robust enough to support conclusions based on this assumption—particularly in a balanced design with sufficient replicates (Underwood 1997). In such cases, special care was taken in the interpretation of results, and in order to reduce Type I errors, the level of significance was reduced to 0.01. Prior to analysis, heterogeneity of slopes was also tested by crossing the covariate with the interaction of the other 2 factors and checking for significant interactions (Engqvist 2005). Taking into account that colony volume was not a significant covariate in any analysis, the same general design was tested with an ordinary ANOVA (Quinn and Keough 2002, Martins et al 2007), with 2 factors. When ANOVA indicated a significant difference for a given factor, the source of difference was identified using the Student-Newman-Keuls (SNK) tests.

Multivariate analyses were conducted using the abundances of amphipod species per replicate. Data were previously square root transformed to reduce the importance of extreme values, and a similarity matrix was generated using the Bray-

Curtis similarity index. In order to test differences in amphipod species compositions, a distance-based permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA) was carried out using the previous 2-factor design. Terms found to be significant in the analyses were examined individually using appropriate pair-wise comparisons. A non-parametric multidimensional scaling (nMDS) using the mean values per station was carried out to explore differences in species composition between habitats and locations. A permutational analysis of multivariate dispersions (PERMDISP) was carried out to test differences in the variation of the amphipod community between cave and external habitats. SIMPER was used to calculate the contribution of each species to the observed dissimilarity between internal and external stations. ANOVA was used for those species with higher contribution, to test whether their abundance was different across habitats.

ANOVA analyses were performed using the GMAV5 (Underwood et al 2002) and ANCOVA using SPSS.15 . Multivariate analyses were carried out using the PRIMER v.6 + PERMANOVA package (Clarke and Gorley 2001).

RESULTS

A total of 2877 organisms were collected in the study. Arthropods made up the most abundant group in all stations (Figure 1), and with the exception of a few pycnogonids, all of the arthropods were crustaceans. Molluscs (mainly nudibranchs and bivalves) represented 3.8% of organisms, 2.5% were annelids (polychaetes) and 1% were echinoderms. Within crustaceans, 98.6% were amphipods while the rest were

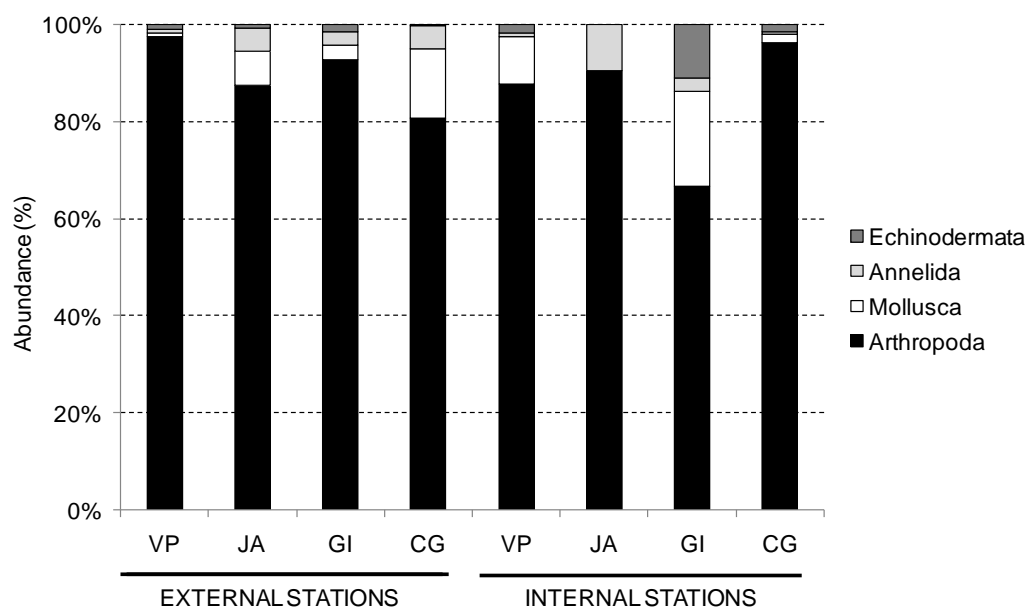


Figure 1. Abundance (%) of each phylum collected per station.

comprised of tanaids, isopods, decapods and cumaceans. Nineteen different amphipod species (17 gammarids and 2 caprellids) were found on *Eudendrium* sp. (Table 1).

Table 1. Mean abundances (ind/1000ml) \pm SE of the amphipod species associated to *Eudendrium* sp. in each station. Ext = External stations; Int = Internal stations.

Species	Punta del Vapor		Jarro		Gigantes		Cerro Gordo	
	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int	Ext	Int
<i>Amphilocheus neapolitanus</i>	-	-	-	-	-	-	62 \pm 62	-
<i>Amphitoe ramondi</i>	187 \pm 71	-	-	-	-	-	-	-
<i>Apocorophium acutum</i>	250 \pm 160	-	-	-	-	-	267 \pm 155	-
<i>Dexamine spiniventris</i>	327 \pm 227	-	87 \pm 59	363 \pm 223	305 \pm 270	-	83 \pm 83	-
<i>Dexamine spinosa</i>	187 \pm 187	-	87 \pm 59	227 \pm 227	-	-	-	-
<i>Elasmopus vachoni</i>	562 \pm 483	-	-	-	355 \pm 169	-	250 \pm 250	-
<i>Erichthonius punctatus</i>	83 \pm 83	-	1666 \pm 1453	3090 \pm 2912	-	-	-	-
<i>Gammaropsis maculata</i>	1684 \pm 1131	375 \pm 375	1600 \pm 299	681 \pm 682	555 \pm 555	1875 \pm 1875	562 \pm 483	125 \pm 125
<i>Ischyrocerus inexpectatus</i>	3107 \pm 939	-	2138 \pm 790	3480 \pm 1409	2716 \pm 1092	1250 \pm 722	3866 \pm 2730	4500 \pm 3304
<i>Lembos websteri</i>	5693 \pm 2376	177 \pm 118	3005 \pm 714	4818 \pm 3032	1350 \pm 662	680 \pm 609	1657 \pm 317	-
<i>Liljeborgia</i> sp.	-	92 \pm 92	-	-	-	-	-	-
<i>Lysianassa</i> sp.	321 \pm 236	-	-	-	-	-	-	-
<i>Maera inaequipis</i>	416 \pm 416	-	-	-	-	-	-	-
<i>Microjassa cumbrensis</i>	4833 \pm 1383	250 \pm 250	291 \pm 172	45 \pm 45	55 \pm 55	-	720 \pm 397	-
<i>Perionotus testudo</i>	386 \pm 179	-	-	-	-	-	-	-
<i>Phtisica marina</i>	1223 \pm 1037	956 \pm 543	62 \pm 62	-	227 \pm 193	-	41 \pm 41	604 \pm 258
<i>Pseudoprotella phasma</i>	38592 \pm 8488	11674 \pm 6025	5925 \pm 1305	5111 \pm 3242	10411 \pm 2743	5055 \pm 3510	10354 \pm 4529	43031 \pm 26474
<i>Stenothoe dulfossi</i>	836 \pm 316	698 \pm 466	622 \pm 242	-	977 \pm 661	-	702 \pm 366	-
<i>Stenothoe</i> sp.	7470 \pm 2638	355 \pm 230	819 \pm 270	1327 \pm 1077	255 \pm 189	-	979 \pm 425	125 \pm 125

The caprellid *Pseudoprotella phasma* var. *minor* was the most abundant species, constituting 58% of the organisms, and reaching densities higher than 50 ind/1000ml in some colonies. The gammarids *Ischyrocerus inexpectatus*, *Lembos websteri* and *Stenothoe* sp. were also very abundant, while other species such as *Amphilocheus neapolitanus*, *Liljeborgia* sp. or *Amphitoe ramondi* were only represented by a few organisms. According to the univariate analyses, the diversity of amphipod communities associated with *Eudendrium* sp. was significantly lower inside the caves (Table 2). No differences were detected among locations, and the absence of a significant interaction between factors (Ha \times Lo) allows us to consider that the diversity decrease inside caves was a constant pattern in all locations. Habitat was also a significant factor in species richness (Table 2). Colonies of *Eudendrium* sp. situated inside the caves hosted less than half of the number of species compared to colonies inhabiting open habitats (Figure 2). All species in the study were present in external stations, but only 12 were present in the colonies inside the caves. Location was also a significant factor, but the patterns were still constant (Ha \times Si not significant). Concerning abundance analysis, there were significant differences between habitats and locations, but these differences were not constant (Table 2). For example, external

colonies in Punta del Vapor contained 10 times more individuals than internal ones, while in Cerro-Gordo the abundances were higher inside the cave (Figure 2). The abundance increase inside Cerro-Gordo cave was due to an unusual rise in the number of *Pseudoprotella phasma*.

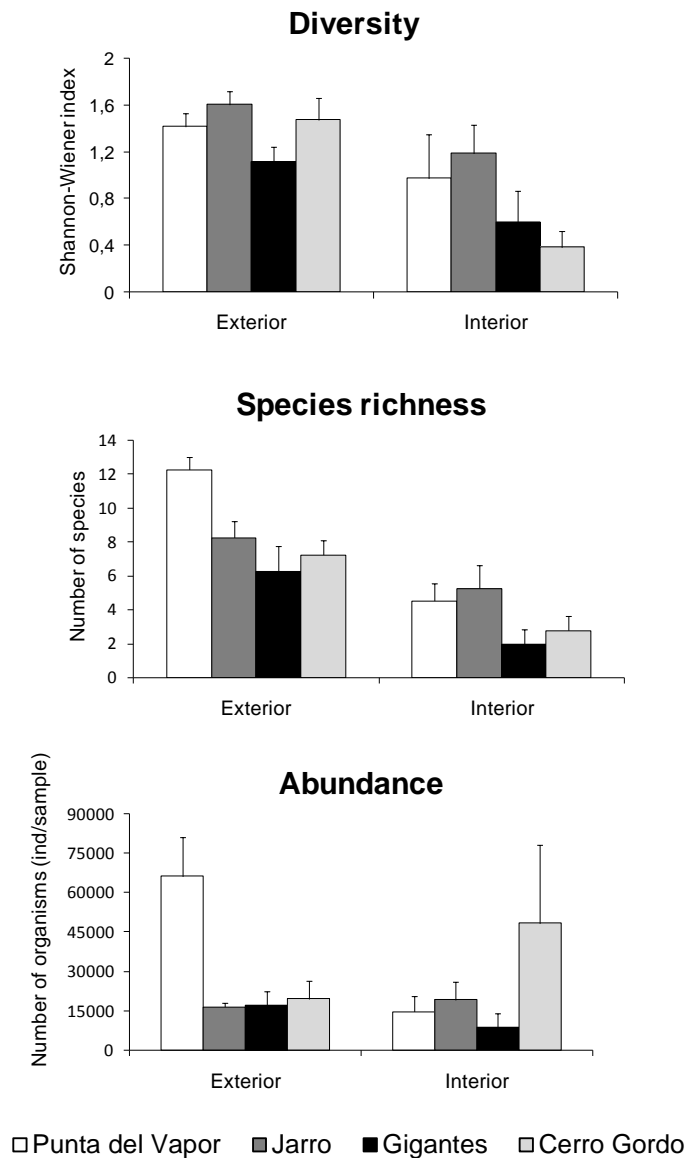


Figure 2. Mean values ± SE of Shannon-Wiener diversity index, number of species and abundance of organisms (ind/sample) inside and outside the caves.

PERMANOVA results showed significant differences in the amphipod community between habitats and among locations (Table 3), with no interaction between them. A clear separation between internal and external communities was not found in the nMDS (Figure 3), although a higher variability of internal stations among caves in comparison with external ones can be observed. PERMDISP results indicated

that cave habitats showed a significantly greater variation than external habitats ($p < 0.05$). The univariate analyses carried out for each of the main species separating habitats (according to SIMPER results) did not show any significant differences between internal and external areas.

DISCUSSION

Mobile epifaunal community associated with *Eudendrium* sp.

The dominance of crustaceans observed in the present study agrees with most of the studies carried out for epifaunal communities associated with hard substrates (see references in Introduction). Polychaetes were also established as the dominant epifaunal group in some areas, but this is usually due to the highly polluted conditions of these environments (Dean 2008). All amphipod species found in the study had been previously recorded as inhabiting multiple hosts (Ruffo 1982-1998). Although some amphipod species have shown strong host specificity (Poore et al 2000, Sotka 2007, Kumagai 2008, Gestoso et al 2013), hard substrate epifaunal taxa (amphipods included) generally do not show habitat specialization (Taylor 1997). Moreover, *Eudendrium* sp. and most benthic hydroids in temperate waters are subjected to sharp seasonal variations in abundance (Bavestrello et al 2006, Di Camillo et al 2012), which might promote lower rates of specialization (Duffy and Hay 1991, Chemello and Milazzo 2002). For example, stenothoids are predominantly found on cnidarians, but also occur on algae, tunicates, sponges, etc. (Ruffo 1982-1998, Vader and Krapp-Schickel 1996). *Ischyrocerus inexpectatus*, the second most abundant species found in our study, is also present in other substrates such as algae and bryozoans, and was only reported to occur occasionally on *Eudendrium glomeratum* (Ruffo 1982-1998, Bavestrello et al 1993, Conradi et al 2000). Only *Pseudoprotella phasma*, the most abundant species in the study, seemed to show a clear preference for hydroids (J. M. Guerra-García unpubl. data), which could be due to the close kleptocommensalism relationship that has been reported between *P. phasma* and *Eudendrium* sp. (Bavestrello et al 1994).

The diverse epifaunal community hosted by *Eudendrium* sp. is usually explained by its role as a small ecosystem engineer (Bavestrello et al 1996). Since *Eudendrium* sp. is among the few erect and ramified organisms living inside marine caves, it could be expected that the role of this hydroid in terms of epifaunal diversity is especially important in this habitat.

Differences between marine caves and open habitats

Some of the patterns here observed agree with the observations previously reported in other chapters. One of them is the high variability in the internal samples

likely due to slight variations in depth, cave topography, size or orientation. The absence of cave exclusive species was also expected, since the samples were not taken in the inner and most isolated part of the caves, and (as has been discussed in previous chapters as well) the vast majority of the species recorded in marine caves are stygophilic (not specialized in subterranean life, found in other similar habitats as well) or stygoxenes (sheltering in caves but feeding outside) (Scipione et al 1981, Gerovasileiou and Voultziadou 2012). However, the absence of significant differences between internal and external areas of the caves in terms of the main species separating habitats is remarkable, since some of them, such as *Lembos websteri* or *Ischyrocerus inexpectatus*, are often related to exposed environments.

In spite of the absence of significant differences between habitats with respect to specific species, the analysis for the whole community showed clear differences between external and internal habitats, with a decrease in species richness and diversity in the latter. What factor(s) could be responsible for these differences? Unfortunately, little effort has been made to test the extent to which differences in the environment might promote changes in the epifauna associated with a given substrate. As mentioned above, most of the species considered here are generalists, so this epifaunal community presumably responds to factors other than just variations in *Eudendrium* sp. properties and abundances. Tanner (2006) highlighted the importance of landscape ecology for the mobile epifauna associated with seagrasses. A factor frequently used to explain the diversity decrease of sessile animals in marine caves is the difficulty involved in reaching and colonizing this semi-enclosed environment (Harmelin 1997, Denitto et al 2007). Nevertheless, this does not seem to be a plausible explanation for mobile epifaunal community, since movement of the major mobile groups associated with hard-bottom substrates is mainly accomplished by crawling from one substrate to another, rather than swimming in the water column (Taylor 1998b). Moreover, amphipods lack planktonic larvae, and there is no discontinuity between internal and external stations in the presence of *Eudendrium* sp. in the caves we studied.

Table 2. Results of two-way ANOVA for Shannon-Wiener diversity, species richness and abundance of individuals for the amphipod community. No transformation were necessary for diversity and richness values, while abundance data were Ln transformed. df = degrees of freedom; MS = mean square; P = level of significance; * = $p < 0.05$; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$.

Source of variation	Df	Shannon diversity			Species richness			Abundance of organisms		
		MS	F	P	MS	F	P	MS	F	P
Habitat=Ha	1	3.07	16.55	0.000***	190.13	43.25	0.000***	22.78	20.83	0.000***
Location=Lo	3	0.49	2.66	0.071	28.54	6.49	0.002**	3.1	3.66	0.027*
Ha x Lo	3	0.2	1.08	0.377	8.21	1.87	0.162	3.45	3.16	0.043*
Residual	24	0.19			4.4			1.09		

Trophic requirement is another main factor affecting the distribution and composition of the amphipod community (Conradi and López-González 2001 and references therein), and the decrease in trophic supply is the most common explanation for impoverishment of cave faunas (Zabala et al 1989). With the exception of some carnivorous (*Amphilocheus neapolitanus*, *Liljeborgia* sp. and stenothoids), and herbivorous species (*Elasmopus vachoni*, *Amphitoe ramondi*, *Perionotus testudo* and *Lysianassa costae*) the rest of amphipods inhabiting *Eudendrium* sp. were detritivorous (Scipione 1989, Guerra-García et al 2014). This association is favored by mucus secretion in the colonies, which retains large amounts of sediment from the water column (Bavestrello et al 1994). Experimental studies in vegetated habitats revealed that species richness and abundance of amphipods were highly and positively related to the detritus content (Vázquez-Luis et al 2009). In many cases cases (e.g. harbours) low hydrodynamism conditions are related to higher sedimentation rates, but marine caves often represent an exception. Due to the highly stable conditions in the caverns, protected from the influence of currents and storms, the amount of suspended particles in the water is very low (Fichez 1991). Because of this low siltation, food supply could be a limiting factor for the detritus-feeding community supported by cave substrates. The near absence of photosynthetic activity inside the cavity contributes to this low diversity as well, as it confines the presence of herbivorous species to illuminated areas (Harmelin et al 1985, Parker et al 2001). All herbivorous species found in this study were only present in the external stations.

Table 3. Results of the multivariate analyse PERMANOVA for amphipod assemblages, based on Bray-Curtis dissimilarities of square root transformed data. df = degrees of freedom; MS = mean square; P = level of significance; ** = $p < 0.01$

Source of variation	df	MS	F	P
Habitat = Ha	1	4926.4	3.224	0.003**
Location = Lo	3	3203.5	2.096	0.007**
Ha x Lo	3	2364.7	1.548	0.078
Residual	24	1528.1		

Lastly, the structure and dynamics of marine epifauna can also be affected by predation pressure by fishes (Nelson 1979, Russ 1980, Vázquez-Luis et al 2010). Mobile epifauna constitute the most important trophic resource for the majority of demersal fishes, and the most productive fishes in rocky reef ecosystems (Taylor 1998a, Edgar and Aoki 1993). Epifauna associated with hard-bottom substrates (mainly crustaceans) appear to be the most abundant food item for several species of the genus *Diplodus*, one of the dominant groups in shallow rocky habitats of the Mediterranean (Sala and Ballesteros 1997). There are differences in the fish assemblages associated with marine caves and rocky cliffs, with a decrease in species richness and abundance

toward the innermost sections of the caves (Bussotti et al 2002, Bussotti and Guidetti 2009). Therefore, a decrease in predation pressure would be expected inside marine caves. Nevertheless, it is not clear which is the primary controlling factor in these systems; prey availability (bottom-up regulation) or predation pressure (top-down regulation). Taylor (1998a) found that these fishes only consumed approximately 20% of epifaunal production, although this work was carried out in New Zealand and his results are difficult to extrapolate to our environments. Edgar and Aoki (1993) also suggested that fish predation affects size structure and composition (preferentially eliminating the largest animals), rather than epifaunal production.

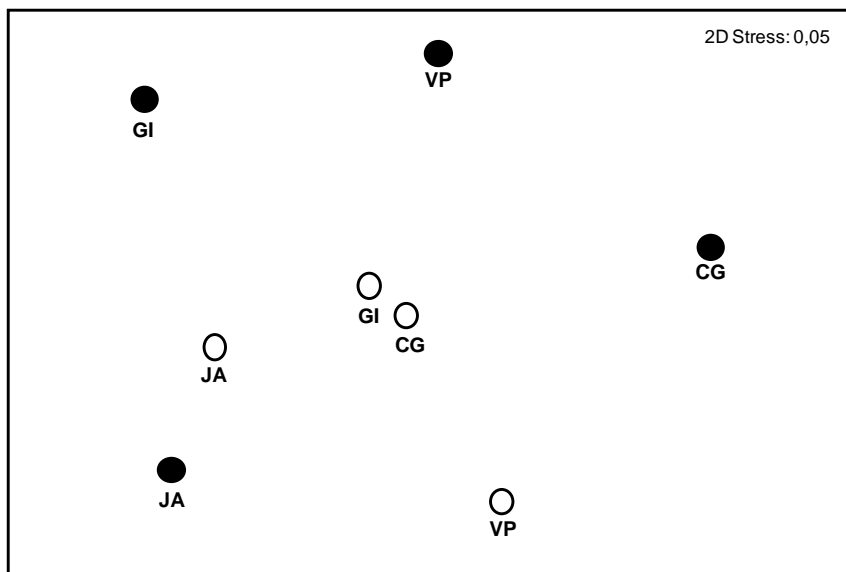


Figure 3. Two-dimensional nMDS plot for species composition. Data were square root transformed. Black circles represent internal stations while circles represent the external ones. VP = Cueva del Vapor; JA = Cueva del Jarro; GI = Cueva de los Gigantes; CG = Cueva de Cerro Gordo.

In conclusion, we suggest that the oligotrophic conditions inside the caves, in conjunction with the absence of algae, were the main factors influencing the diversity and species composition in epifaunal communities of marine cave ecosystems. Further studies will be necessary to clarify the role of predation over epifaunal ecology, and vice versa. In this sense, marine caves represent an ideal environment in which to conduct ecological and experimental investigations because of their impoverished communities, isolated conditions and the strong gradients in predation pressure and epifaunal abundance present in these habitats.

REFERENCES

- Bamber RN, Evans NJ, Robbins RS (2008) The marine soft-sediment benthic communities of Hong Kong; a comparison of submarine cave and open habitats. *J Nat Hist* 42:953-965.
- Bavestrello G, Cerrano C, Cattaneo-Vietti R (1994) Colonies of *Eudendrium glomeratum* (Cnidaria, Hydromedusae) as sediment traps on vertical rocky cliffs. *Boll Mus Ist Biol Univ Genova* 58-59:125-130.
- Bavestrello G, Cerrano C, Cattaneo-Vietti R, Sarà M (1996) Relations between *Eudendrium glomeratum* (Cnidaria, Hydromedusae) and its associated vagile fauna. *Sci Mar* 60(1):137-143.
- Bavestrello G, Puce S, Cerrano C, Zocchi E, Boero N (2006) The problem of seasonality of benthic hydroids in temperate waters. *Chem Ecol* 22:197–205.
- Birdsey EM, Johnston EL, Poore AGB (2012) Diversity and cover of a sessile animal assemblage does not predict its associated mobile fauna. *Mar Biol* 159:551-560.
- Bradshaw C, Collins P, Brand AR (2003) To what extent does upright sessile epifauna affect benthic biodiversity and community composition? *Mar Biol* 143:783-791.
- Bussotti S, Denitto F, Guidetti P, Belmonte G (2002) Fish assemblages in Shallow Marine Caves of the Salento Peninsula (Southern Apulia, SE Italy). *PSZN Mar Ecol* 23(1):11-20.
- Bussotti S, Terlizzi A, Frascchetti S, Belmonte G, Boero F (2006) Spatial and temporal variability of sessile benthos in shallow Mediterranean marine caves. *Mar Ecol Prog Ser* 325:109–119.
- Bussotti S, Guidetti P (2009) Do Mediterranean fish assemblages associated with marine caves and rocky differ? *Est Coast Shelf Sci* 81:65-73.
- Carvalho S, Cúrdia J, Pereira F, Guerra-Garcia JM, Santos MN, Cunha MR (2014) Biodiversity patterns of epifaunal assemblages associated with the gorgonias *Eunicella gazelle* and *Leptogorgia lusitanica* in response to host, space and time. *J Sea Res* 85:37-47.
- Cattaneo-Vietti R, Boero F (1988) Relationships between eolid (mollusk, nudibranchia) radular morphology and their cnidarian prey. *Boll Malac* 24:9-12.
- Chapman MG, People J, Blockley D (2005) Intertidal assemblages associated with natural coralline turf and invasive mussel beds. *Biodivers Conserv* 12:1761-1776.
- Chemello R, Milazzo M (2002) Effect of algal architecture on associated fauna: some evidence from phytal mollusks. *Mar Biol* 140:981-990.
- Clarke KR, Gorley RN (2001) *PRIMER (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research) v5: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E Ltd., Plymouth
- Conradi M, López-González PJ, Cervera JL, García-Gómez JC (2000) Seasonality and spatial distribution of peracarids associated with the bryozoan *Bugula neritina* in Algeciras Bay, Spain. *J Crust Biol* 20:334-349.

- Conradi M, López-González PJ (2001) Relationships between environmental variables and the abundance of peracarid fauna in Algeciras Bay (Southern Iberian Peninsula). *Cienc Mar* 27(4):481-500.
- Day RW (1983) Effects of benthic algae on sessile animals: Observational evidence from coral reef habitats. *Bull Mar Sci* 33(3):597-605.
- Dean HK (2008) The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution: a review. *Rev Biol Trop* 56(4):11-38.
- Denitto F, Terlizzi A, Belmonte G (2007) Settlement and primary succession in a shallow submarine cave: spatial and temporal benthic assemblage distinctness. *Mar Ecol* 28:35–46.
- Di Camillo CG, Bo M, Lavorato A, Morigi C, Segre-Reinach M, Puce S, Bavestrello G (2008) Foraminifers epibiontic on *Eudendrium* (Cnidaria: Hydrozoa) from the Mediterranean Sea. *J Mar Biol Ass UK* 88(3):485-489.
- Di Camillo CG, Betti F, Bo M, Martinelli M, Puce S, Vasapollo C, Bavestrello G (2012) Population dynamics of *Eudendrium racemosum* (Cnidaria, Hydrozoa) from the North Adriatic Sea. *Mar Biol* 159: 1593-1609.
- Duffy JE, Hay ME (1991) Food and shelter as determinant of food choice by an herbivorous amphipod: the roles of selectivity, mixing, and compensation. *Mar Ecol Prog Ser* 218:249-266.
- Duffy JE, Hay ME (2000) Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecol Monogr* 70:237–263.
- Edgar GJ, Aoki M (1993) Resource limitation and fish predation: their importance to mobile epifauna associated with Japanese *Sargassum*. *Oecologia* 95:122-133.
- Engqvist L (2005) The mistreatment of covariate interaction terms in linear model analyses of behavioural and evolutionary ecology studies. *Anim Behav* 70:967-971.
- Fichez R (1991) Suspended particulate organic matter in a Mediterranean submarine cave. *Mar Biol* 108:167-174.
- Frediksen S, Christie H, Saethre BA (2005) Species richness in macroalgae and macrofauna assemblages on *Fucus serratus* L. (Phaeophyceae) and *Zostera marina* L. (Angiospermae) in Skagerrak, Norway. *Mar Biol Res* 1:2-19.
- Gerovasileiou V, Voultsiadou E (2012) Marine Caves of the Mediterranean Sea: A sponge Biodiversity Reservoir within a Biodiversity Hotspot. *PLoS ONE* 7(7): e39873. doi:10.1371/journal.pone.0039873
- Gestoso I, Olabarria C, Troncoso JT (2013) Selection of habitat by a marine amphipod. *Mar Ecol*. DOI: 10.1111/maec.12068.
- Guerra-García JM, García-Gómez JC (2001) Spatial distribution of Caprellidea (Crustacea: Amphipoda): a stress bioindicator in Ceuta (North Africa, Gibraltar área). *PSZN Mar Ecol* 22:357-367.

- Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E, Izquierdo D, Corzo J, Ros M, Sánchez JA, Dugo-Cota A, Flores AM, Soler MM (2011) Abundance patterns of macrofauna associated to marine macroalgae along the Iberian Peninsula. *Zool Baetica* 22:3-17.
- Guerra-García JM, Tierno de Figueroa JM, Navarro-Barranco C, Ros M, Sánchez-Moyano JE, Moreira J (2014). Dietary analysis of the marine Amphipoda (Crustacea: Peracarida) from the Iberian Peninsula. *J Sea Res* 85:508-517.
- Harmelin JG, Vacelet J, Vasseur P (1985) Les grottes sous-marines obscures: un milieu extrême et un remarquable biotope refuge. *Téthys* 11: 214-229.
- Harmelin JG (1997) Diversity of bryozoans in a Mediterranean sublittoral cave with bathyal-like conditions: role of dispersal processes and local factors. *Mar Ecol Prog Ser* 153:139-152.
- Huitema BE (2011) *The Analysis of Covariance and Alternatives: Statistical Methods for Experiments, Quasi-Experiments, and Single-Case Studies, Second Edition*. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, NJ
- Jacobi CM, Langevin R (1996) Habitat geometry of benthic substrata: effects on arrival and settlement of mobile epifauna. *J Exp Mar Ecol Biol* 206:39-54.
- Janssen A, Chevaldonné P, Martínez-Arbizu P (2013) Meiobenthic copepod fauna of a marine cave (NW Mediterranean) closely resembles that of deep-sea communities. *Mar Ecol Prog Ser* 479:99-113.
- Kumagai NH (2008) Role of food source and predator avoidance in habitat specialization by an octocoral-associated amphipod. *Oecologia* 127:287-294.
- Lambert WJ (1991) Coexistence of hydroid eating nudribanchs: recruitment and non equilibrium patterns of occurrence. *J Moll Stud* 57:35-47.
- Ledoyer M. (1966) *Écologie de la faune vagile des biotopes méditerranéens accessibles en scaphandre autonome. Introduction: Données analytiques sur les biotopes de substrat dur*. *Rec Trav Sta Mar Endoume* 40: 103–149.
- Martí R, Uriz MJ, Ballesteros E, Turon X (2004) Benthic assemblages in two Mediterranean caves: species diversity and coverage as a function of abiotic parameters and geographic distance. *J Mar Biol Ass UK* 84:557-572.
- Martin-Smith KM (1993) Abundance of mobile epifauna: the role of habitat complexity and predation by fishes. *J Exp Mar Biol Ecol* 174:243-260.
- Martins GM, Hawkins SJ, Thompson RC, Jenkins SR (2007). Community structure and functioning in intertidal rock pools: effects of pool size and shore height at different successional stages. *Mar Ecol Prog Ser* 329:43-55.
- Nelson WG (1979) Experimental studies of selective predation on amphipods: consequences for amphipod distribution and abundance. *J Exp Mar Biol Ecol* 38: 225-245.
- Parker JD, Duffy JE, Orth RJ (2001) Plant species diversity and composition: experimental effects on marine epifaunal assemblages. *Mar Ecol Prog Ser* 224:55-67.
- Poore AGB, Watson MJ, de Nys R, Lowry JK, Steiberg PD (2000) Patterns of host use among alga- and sponge- associated amphipods. *Mar Ecol Prog Ser* 208:183-196.

- Quinn GP, Keough MJ (2002) *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press, Cambridge
- Romagnoli T, Bavestrello G, Cucchiari EM, De Stefano M, Di Camillo CG, Pennesi C, Puce S, Totti C (2007) Microalgal communities epibiotic on the marine hydroid *Eudendrium racemosum* in the Ligurian Sea during an annual cycle. *Mar Biol* 151:537-552.
- Ruffo S (1982-1998) *The Amphipoda of the Mediterranean: Parts 1-4- Mém Inst Océanogr Monaco* 13:1-959.
- Russ GR (1980) Effects of predation by fishes, competition and structural complexity of the substratum in the establishment of a marine epifaunal community. *J Exp Mar Biol Ecol* 42:55-69.
- Sala E, Ballesteros E (1997) Partitioning of space and food resources by three fish of the genus *Diplodus* (Sparidae) in a Mediterranean rocky infralittoral ecosystem. *Mar Ecol Prog Ser* 152:273-283.
- Sánchez-Moyano JE, García-Gómez JC (1998) The arthropod community, especially Crustacea, as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Spain) based on a spatial distribution. *J Coast Res* 14:1119-1133.
- Scipione MB, Taramelli E, Fresi E, Cinelli F, Mazzella L (1981) Distribuzione delle biocenosi bentoniche lungo un gradiente di luce in una grotta marina superficiale: Anfipodi. *Mem Biol Mar Ocean* 11(1):1-16.
- Scipione MB (1989) Comportamento trofico dei Crostacei Anfipodi in alcuni sistemi bentonici costieri. *Oebalia* 15(1):249-260.
- Shannon CE, Weaver N (1963) *The Mathematical Theory of Communication*. University of Illinois Press, Urbana
- Simkina RG (1980) A quantitative feeding study of the colonies of *Perigonimus megas* (Hydroida, Bougainvillidae). *Zool Zh* 59:500-506.
- Sotka EE (2007) Restricted host use by the herbivorous amphipod *Peramphitoe tea* is motivated by food quality and abiotic refuge. *Mar Biol* 151:1831-1838
- Stella JS, Jones GP, Pratchett MS (2010) Variation in the structure of epifaunal invertebrate assemblages among coral hosts. *Coral Reefs* 29:957-973.
- Tanner JE (2006) Landscape ecology of interactions between seagrass and mobile epifauna: The matrix matters. *Est Coast Shelf Sci* 68:404-412.
- Tazioli T, Di Camillo CG (2013) Ecological and morphological characteristics of *Ephelota gemmipara* (Ciliophora, Suctoria), epibiontic on *Eudendrium racemosum* (Cnidaria, Hydrozoa) from the Adriatic Sea. *Eur J Protistol* Doi: 10.1016/j.ejop.2013.04.006
- Taylor B (1997) *The role of small mobile epifauna in subtidal rocky reef ecosystems*. PhD Thesis, University of Auckland
- Taylor B. (1998a) Density, biomass and productivity of animals in four subtidal rocky reef habitats: the importance of small mobile invertebrates. *Marine Ecology Progress Series*, 172: 37-51.

- Taylor B (1998b) Short-term dynamics off a seaweed epifaunal assemblage. *J Exp Mar Biol Ecol* 227:67-82.
- True MA (1970) Étude quantitative de quatre peuplements sciaphiles sur substrat rocheux dans la région marseillaise. *Bull Inst Oceanogr Monaco* 1410: 1-48.
- Underwood AJ (1997) *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge
- Underwood AJ, Chapman MG, Richards SA (2002) *GMAV-5 for Windows. An Analysis of Variance Programme*. University of Sydney, Australia
- Vader W, Krapp-Schickel G (1996) Redescription and biology of *Stenothoe brevicornis* Sars (Amphipoda: Crustacea), an obligate associate of the sea anemone *Actinostola callosa* (Verrill). *J Nat Hist* 30:51-66.
- Vázquez-Luis M, Borg JA, Sánchez-Jerez P, Png L, Carvallo M, Bayle-Sempere JT, (2009) Why amphipods prefer the new available habitat built by *C. racemosa*?: a field experiment in Mediterranean Sea. *International Symposium on Marine Sciences, University of Alicante*.
- Vázquez-Luis M, Sánchez-Jerez P, Bayle-Sempere JT (2010) Effects of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* on prey availability: an experimental approach to predation of amphipods by *Thalassoma pavo* (Labridae). *Hydrobiologia*, 654:147-154.
- Zabala M, Riera T, Gili JM, Barange M, Lobo A, Peñuelas J (1989) Water flow, trophic depletion, and benthic macrofauna impoverishment in a submarine cave from the western Mediterranean. *PSZNI Mar Ecol* 10(3):271-287.

4

COLONIZATION AND SUCCESSIONAL PATTERNS



Adapted from:

- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, Ros M, Florido M, García-Gómez JC (2015) Colonization and successional patterns of the mobile epifauna community along an environmental gradient in a marine cave. *Marine Ecology Progress Series* 521:105-115.

In the present study, we used novel artificial substrates, deployed at different positions along a cave gradient and retrieved at different times (1.5, 3 and 6 months), to explore the changes in the abundance, number of species, and structure of the epifaunal community. Inner stations showed a significantly lower species richness and abundance values. The dominant species, regardless of their dispersal modes, are able to quickly colonize the inner parts of the caves, yet their abundances were much higher outside the cave during the whole study. This suggests that environmental factors (such as trophic supply or light), rather than isolation conditions, are probably the main factors responsible of the observed differences among cave positions. A gradient in the rate of development was also highlighted, with communities outside the cave developing much earlier than those situated in the innermost parts. Finally, high temporal stability was observed within the cave, which is likely to be related to the little variations in the environmental conditions. A dampening in the thermal oscillations within the cave was also shown. The low rate of development and turnover observed into marine caves supports the actual consideration of these environments as very sensitive habitats to natural and human disturbances, and a top priority for conservation.

- Previous page photograph. Collection of some of the artificial substrates deployed inside the cave of Cerro Gordo. Walls in that station are dominated by brachiopods. Luis Sánchez Tocino.

INTRODUCTION

Colonization and succession processes have a fundamental importance in marine ecosystems and much effort has been devoted to their study during the last decades (Antoniadou et al 2010). However, their patterns and mechanisms are not clearly understood, since colonization and ecological succession can be unpredictable processes driven by many, highly stochastic factors (Sutherland 1974, Chapman 2007, Pacheco et al 2010). Moreover, the interaction among these factors as well as their relative importance is complex and variable, hence requiring system-specific evaluations (Zajac et al 1998, Pacheco et al 2010). In this sense, most studies have primarily focused on large components of intertidal and shallow communities, while the less accessible biota (i.e. cryptic or mobile organisms) and habitats (i.e. deep communities, marine caves) remain poorly studied (Olabarria 2002, Underwood and Chapman 2006, Antoniadou et al 2010).

Understanding the mechanisms and rates of ecological succession in sensitive and protected habitats, such as marine caves (Habitat Directive 92/43 EEC) is mandatory to predict their recovery patterns after human and natural disturbance events. Recruitment limitation is an important factor determining the structure and dynamics of all benthic communities, but its influence in marine caves has been considered to be even stronger (Fraschetti et al 2003, Zabala et al 1989). Together with the limited trophic supply, isolation conditions have been traditionally considered as one of the main responsible factors of the impoverishment of benthic cave communities (Zabala et al 1989, Harmelin 1997). In spite of this, to date the settlement and primary successional patterns in these environments have only been studied for sessile organisms (Denitto et al 2010). As it has been pointed out in chapter 3, mobile invertebrates constitute a diverse group within marine cave fauna and it could be expected that the magnitude of the recruitment limitation and their successional processes may differ from those observed in sessile organisms. Actively swimming animals, such as crustaceans, exhibit more dynamic populations, higher turnover rates, and can quickly colonize new habitats (Virnstein and Curran 1986, Taylor 1998, Poore 2005). On the other hand, unlike most sessile organisms that produce planktonic larvae, a high proportion of mobile epifauna is composed of organisms with direct development (i.e. amphipods, isopods or tanaids) that disperse directly as juveniles and adults by floating in the water column, rafting on biotic and abiotic substrata and also by active swimming or crawling from host to host (Taylor 1998, Thiel 2003, Havermans et al 2007).

In this study, we compared the patterns of colonization and succession by mobile epifauna in artificial substrates, deployed at different positions within a marine cave. The use of artificial substrates limits the extrapolation of our conclusions to the natural environment. However, this is a valuable approach to evaluate colonization and successional processes in different habitats since they provide substrates of

uniform size, complexity and history, thereby minimizing uncontrollable variation among replicates (Underwood and Chapman 2006; Chapman 2007; Tuya et al 2009, García-Sanz et al 2012).

Many of the physical and biotic factors (such as hydrodynamism, temperature, light or competition intensity) that present marked gradients inside marine caves have been proved to modulate the colonization and successional pathways of epifaunal communities (Eggleston et al 1999, Tanaka and Leite 2004, Poore 2005, Havermans et al 2007). Therefore, the main objective of the present study was to test the hypotheses that the gradient in the environmental conditions inside a marine cave would have a strong effect over the recruitment and successional patterns of the epifaunal community. Specifically, it would be expected that higher degree of isolation toward the inner parts of the cave would negatively affect variables such as (1) abundance and number of species and (2) the rate of development of the community. Additionally, it can be presumed that with longer periods available for colonization, there would be a convergence in the taxa present in each substrate (Berlow 1997). Whether artificial substrates deployed at external stations developed earlier, it could be expected that (3) inner positions will shows lower degree of similarity.

MATERIAL AND METHODS

Study site and experimental design

The experiment was carried out at Cerro Gordo cave, situated inside the Maro-Cerro Gordo Natural Park (Granada, South Spain). Four stations, situated between 14 and 9 meters depth, were established following a lengthwise gradient (Figure 1; A, B, C and D). Station A was situated in the external area, where the benthic community was mainly dominated by macroalgae. The second one was situated in a large semidark hall, inhabited by sessile invertebrates. In Station 'C', approximately 60 meters from the cave entrance, the sessile community is composed mainly by encrusting sponges and brachiopods. Finally, in the last station situated at the end of the cave, the hard substrate is almost completely bare. Twelve artificial epifaunal collectors were deployed at each station on 1th of June 2011. Each artificial substrate was composed of a 30 cm rope surrounded by a 20 x 20 cm mosquito net rolled and attached with a cable tie. Similar structures have been successfully used to culture amphipods and have been proved to host a rich and abundant epifaunal community, probably because of the shelter against predator provided by their complex three-dimensional structure (Baeza-Rojano et al 2013). In each station, all the new substrates were deployed in an area less than 1 m², fixing the end of the rope to the wall. Four collectors were retrieved from each station at three different times: 1.5, 3 and 6 months. Using SCUBA equipment, each collector was carefully enveloped in a plastic bag to avoid the loss of

organisms, and preserved in 70% ethanol. In the laboratory, the mosquito net roll was opened and washed through a 0.5 mm mesh sieve to collect the mobile fauna. All organisms were sorted into higher taxa (phylum and class) and counted. Finally, all crustaceans were also identified to species level using a binocular microscope.

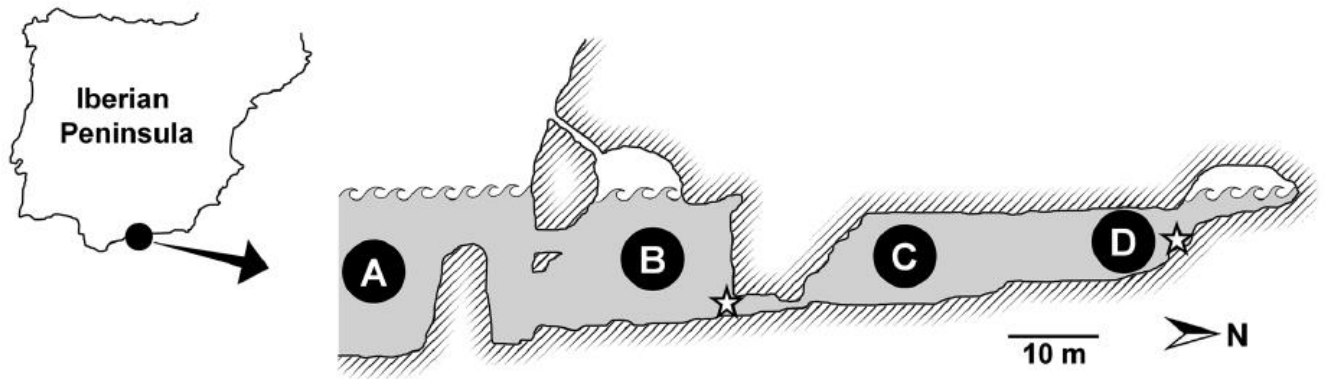


Figure 1. Location and longitudinal section of Cerro Gordo cave, showing the study stations (A - D). Stars indicate the approximate location of the 2 temperature data loggers.

Additionally, in the framework of a monitoring program of the thermal fluctuations within the cave, two temperature data loggers (iBCod 22L) were deployed at the cave entrance and at the end of the cave. The temperature was continuously registered every two hours from 5th January to 12th November 2011.

Statistical analyses

Spatial and temporal variation of the crustacean assemblages was examined using a Permutational multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA) with two factors: position (Po) and time (Ti). Position was a fixed factor with four levels: station A, B, C and D. Time was also a fixed factor, orthogonal with position, with three levels: 1.5, 3 and 6 months (n=4). Data were previously fourth-root transformed to reduce the importance of extreme values, and a similarity matrix was generated using the Bray-Curtis similarity index. Terms found to be significant in the full model were examined individually using appropriate pair-wise comparisons. These comparisons were also useful to obtain the similarity values among replicates in each PoxTi combination. A permutational analysis of multivariate dispersions (PERMDISP) was carried out to test differences in the variation of the crustacean community among positions. The similarity percentage procedure (SIMPER) was conducted to identify those species with higher contribution in characterizing and separating positions. Multivariate analyses were performed using the PRIMER V.6 + PERMANOVA package (Anderson et al 2008).

Following the same two factor design, the influence of position and time in the abundance and number of crustacean species was explored using a two-way Analysis of Variance (ANOVA). Prior to analysis, homogeneity of variance was checked using Cochran's test, and transformations were applied when necessary (Underwood 1997). When ANOVA indicated a significant difference for a given factor (at $\alpha = 0.05$), the source of difference was identified using Student-Newman-Keuls (SNK) tests. Additional one way ANOVA was carried out to test whether the temperature measurements during each month changes between the outer and inner part of the cave. Univariate analyses were implemented using GMAV-5 programme (Underwood et al 2002).

RESULTS

Temperature measurements

Significant differences in the water temperature between outer and inner parts of the cave was observed for most months: February ($F = 17.97$; $p < 0.001$), May ($F = 12.96$; $p < 0.001$), June ($F = 78.98$; $p < 0.001$), July ($F = 111.69$; $p < 0.001$), August ($F = 102.63$; $p < 0.001$), September ($F = 155.63$; $p < 0.001$), October ($F = 16.36$; $p < 0.001$) and November ($F = 187.30$; $p < 0.001$). Mean temperature at the entrance of the cave was 0.8°C lower than at the innermost part. January had the coldest mean T^{a} in both stations (14.9°C in the entrance and 15.2°C in the end) and August was the warmest month (22.1°C in the entrance and 23.3°C in the end). Although the range of T^{a} during the whole year was similar in both stations, the standard deviation was lower in the inner position of the caves in all months (sometimes up to 2 and 3 times smaller). Remarkable differences (observable at different temporal scales) were observed in the frequency of variations between both stations; the temperature was much more stable in the inner part of the cave (Figure 2, A, B, C).

Epifaunal composition

Arthropoda was the most abundant phylum by far, comprising the 96.68% of total individuals, followed by Annelida (1.74%), Mollusca (1.21%) and Echinodermata (0.31%). Arthropoda was the dominant group in all positions and times of colonization (with the only exception of the semidark station at 6 months) (Figure 3). All the individuals belonging to Annelida were polychaetes and, except for some pycnogonids, all arthropods were crustaceans (class Malacostraca). Mollusca specimens belonged to Bivalvia and Gastropoda. Finally within Echinodermata there were both sea urchins and ophiuroids. Thirty four crustacean's species were found during the study; 17 amphipods, 8 decapods, 4 isopods, 3 tanaids and one cumacean species (Table 1). The gammarids *Jassa slatteryi* and *Stenothoe tergestina* were the most abundant species, being dominant in all positions. Other important species were *Elasmopus rapax* and

Lembos websteri at external stations, the caprellids *Pseudoprotella phasma* and *Phtisica marina* in the semidark area, and *Leptocheirus pectinatus* and the decapods *Eualus* sp. and *Athanas* sp. in the three cave positions (stations B, C and D). However, SIMPER results did not show important differences in the main species characterizing positions, because of the dominance of *Jassa slatteryi* and *Stenothoe tergestina* in all stations.

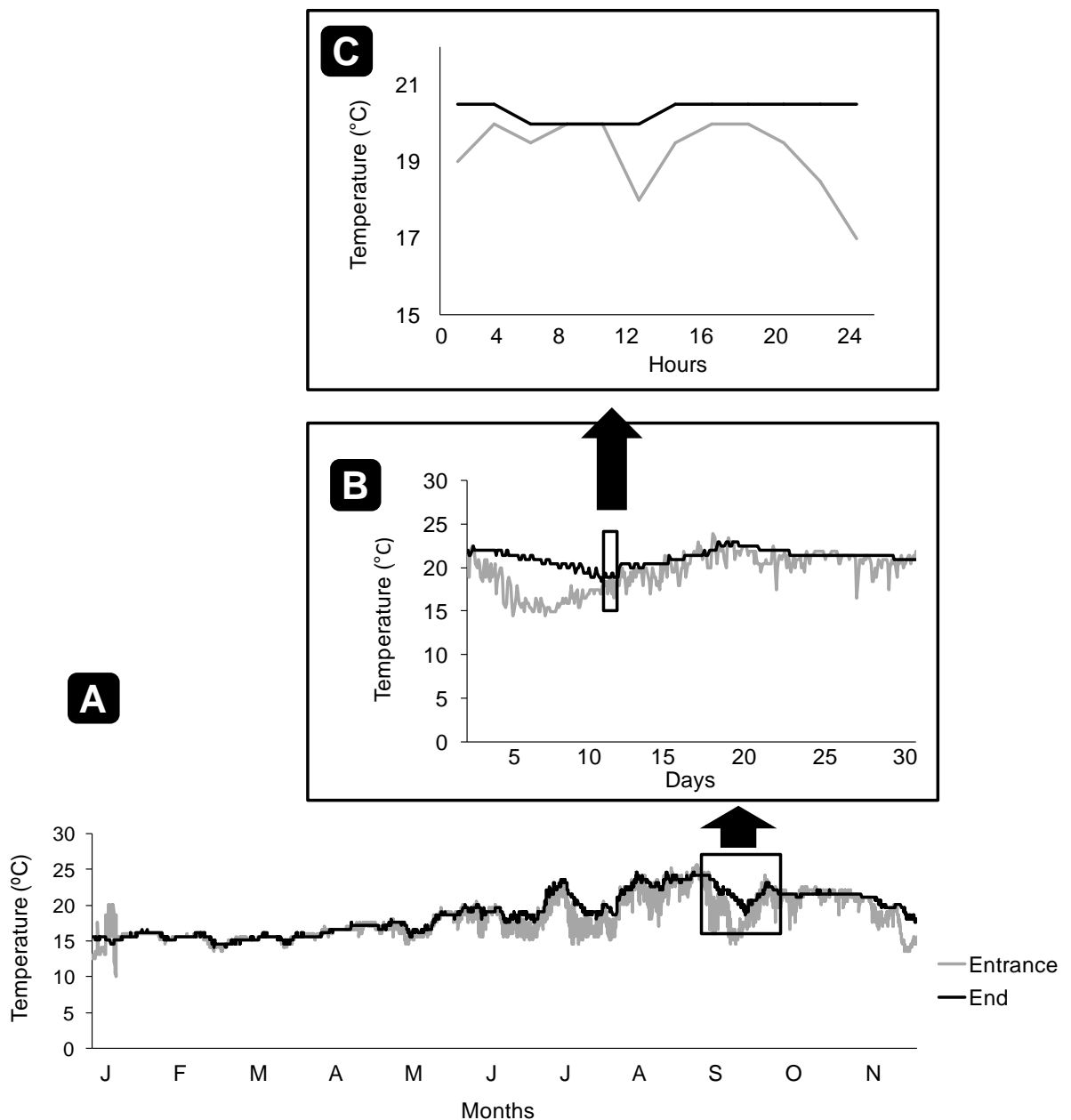


Figure 2. Temperature measurements (2 h frequency) at the entrance and end of the cave over (a) 1 year (2011), (b) 1 month (September), and (c) 1 day (11 September).

Table 1. Mean abundances (individual / collector \pm SE) of the crustacean species in the artificial substrates deployed at each cave position and time of sampling.

	Station A			Station B		
	1.5 months	3 months	6 months	1.5 months	3 months	6 months
Amphipoda						
<i>Apocorophium</i> sp.			0.5 \pm 0.3		0.5 \pm 0.3	
<i>Elasmopus rapax</i>	176 \pm 74.1	41.5 \pm 15.3	63 \pm 7.4			
<i>Gammarella fucicola</i>				0.25 \pm 0.25		
<i>Gammaropsis maculata</i>			58 \pm 20.4		0.5 \pm 0.3	0.25 \pm 0.25
<i>Jassa slatteryi</i>	4549 \pm 763.5	1894.5 \pm 604	44.75 \pm 22.5	0.75 \pm 0.25	1.75 \pm 1.2	
<i>Lembos websteri</i>			13 \pm 8.7		1.5 \pm 0.6	0.25 \pm 0.25
<i>Leptocheirus bispinosus</i>						
<i>Leptocheirus pectinatus</i>				1.25 \pm 0.9		
<i>Maera inaequipis</i>						1 \pm 0.7
<i>Megamphopus</i> sp.					0.25 \pm 0.25	
<i>Monoculodes</i> sp.					0.25 \pm 0.25	
<i>Paracaprella</i> cf <i>pusilla</i>		0.25 \pm 0.25				
<i>Phtisica marina</i>					2 \pm 1.4	0.5 \pm 0.3
<i>Pseudoprotella phasma</i>				0.25 \pm 0.25	4.25 \pm 2.5	0.5 \pm 0.5
<i>Stenothoe dollfusi</i>					0.25 \pm 0.25	0.75 \pm 0.25
<i>Stenothoe tergestina</i>	804 \pm 157.7	418 \pm 71.6	4 \pm 2.6	0.5 \pm 0.3	1 \pm 0.4	
<i>Synchelidium</i> sp.						
Cumacea						
<i>Nannastacus unguiculatus</i>						
Decapoda						
<i>Athanas</i> sp.			0.25 \pm 0.25	1.25 \pm 0.5	0.75 \pm 0.25	1 \pm 0.6
<i>Ebalia</i> sp.						0.25 \pm 0.25
<i>Eualus</i> sp.				2.25 \pm 1.3	0.75 \pm 0.75	1 \pm 0.4
<i>Inachus</i> sp.						
fam <i>Paguridae</i> sp1.					1 \pm 0.7	0.25 \pm 0.25
<i>Periclemenes</i> sp.						0.25 \pm 0.25
<i>Procesa</i> sp.					0.5 \pm 0.3	
fam <i>Xanthidae</i> sp1.	8 \pm 2.8	2.5 \pm 1.9	1 \pm 0.4			0.5 \pm 0.3
Isopoda						
<i>Leptanthura</i> cf <i>tenuis</i>				0.25 \pm 0.25		
<i>Munna</i> sp.					0.5 \pm 0.3	
<i>Paragnathia formica</i>					0.25 \pm 0.25	
<i>Paranthura costana</i>	89 \pm 18.2	5.5 \pm 1.9				
Tanaidacea						
<i>Leptochelia dubia</i>		1 \pm 1	1.5 \pm 0.9			
<i>Tanais dulongii</i>	2 \pm 2	1 \pm 1	6.25 \pm 3.7		0.25 \pm 0.25	
<i>Zeuxo coralensis</i>						

Table 1.Cont.

	Station C			Station D		
	1.5 months	3 months	6 months	1.5 months	3 months	6 months
Amphipoda						
<i>Apocorophium</i> sp.						
<i>Elasmopus rapax</i>						
<i>Gammarella fucicola</i>	0.25 ± 0.25	0.25 ± 0.25		0.25 ± 0.25		
<i>Gammaropsis maculata</i>						
<i>Jassa slatteryi</i>	6.25 ± 1.8	0.75 ± 0.5		1.25 ± 0.9	0.25 ± 0.25	
<i>Lembos websteri</i>						
<i>Leptocheirus bispinosus</i>			0.25 ± 0.25			
<i>Leptocheirus pectinatus</i>	0.5 ± 0.3		1 ± 0.7	0.75 ± 0.75		
<i>Maera inaequipes</i>						
<i>Megamphopus</i> sp.						
<i>Monoculodes</i> sp.						
<i>Paracaprella</i> cf <i>pusilla</i>						
<i>Phtisica marina</i>	0.25 ± 0.25		0.25 ± 0.25			
<i>Pseudoprotella phasma</i>		0.5 ± 0.3				
<i>Stenothoe dollfusi</i>						
<i>Stenothoe tergestina</i>	2.25 ± 0.9	0.25 ± 0.25	0.25 ± 0.25	0.5 ± 0.3		
<i>Synchelidium</i> sp.			0.25 ± 0.25			
Cumacea						
<i>Nannastacus unguiculatus</i>					0.25 ± 0.25	
Decapoda						
<i>Athanas</i> sp.	0.25 ± 0.25	0.25 ± 0.25	0.25 ± 0.25	0.5 ± 0.5	0.25 ± 0.25	0.25 ± 0.25
<i>Ebalia</i> sp.						
<i>Eualus</i> sp.	0.5 ± 0.3		2.75 ± 1.1	1.75 ± 1.75		
<i>Inachus</i> sp.				0.25 ± 0.25		
fam <i>Paguridae</i> sp1.						
<i>Periclemenes</i> sp.						
<i>Procesa</i> sp.		0.5 ± 0.5				
fam <i>Xanthidae</i> sp1.						
Isopoda						
<i>Leptanthura</i> cf <i>tenuis</i>						
<i>Munna</i> sp.						
<i>Paragnathia formica</i>						
<i>Paranthura costana</i>						
Tanaidacea						
<i>Leptocheilia dubia</i>						
<i>Tanais dulongii</i>						
<i>Zeuxo coralensis</i>			0.25 ± 0.25			

Colonization and succession

PERMANOVA highlighted the existence of a significant interaction between both factors considered (PoxTi), which indicate that spatial variation among positions was not constant in time and neither differences among times were constant in space (Table 2). Pairwise comparisons among positions for each time separately showed a progressive differentiation of the communities from the outer stations toward the inner part of the cave (Table 3). After 1.5 months, only the artificial substrates deployed outside the cave showed a distinctive community (significantly different from those present in all other stations), while no significant differences were observed among internal cave positions (Stations B, C and D). At the third month, the community in the semidark area (station B) had also developed a differentiated structure (in contrast, station C and D still remained similar). Finally, after six months of experiment, each position showed an exclusive and characteristic community. On the other hand, pairwise comparisons among levels of factor time for each position revealed that internal areas were much more stable environments than external ones (Table 3). Outside the cave, significant variations were observed in the crustacean community among all sampling times, while there were no differences at station D.

Table 2. Results of the multivariate analyse PERMANOVA for crustacean community, based on Bray-Curtis similarities of fourth root transformed data. df = degrees of freedom; MS = mean square; P = level of significance; ** = $p < 0.01$

Source of variation	df	MS	F	P
Position = Po	3	1656	7.021	< 0.001**
Time = Ti	2	8148.1	3.462	< 0.001**
Po x Ti	6	4591.8	1.951	< 0.001**
Residual	36	2353.9		

Table 3. Multivariate pair-wise comparison for interaction of factor Position and Time. (=) not significantly different; (\neq) significantly different at $p < 0.05$

Pair-wise comparison among position within each time of sampling	
T1.5 months	A \neq B = C = D
T3 months	A \neq B \neq C = D
T6 Months	A \neq B \neq C \neq D
Pair-wise comparison among times of sampling within each position	
Position A	T1.5 \neq T3 \neq T6
Position B	T1.5 \neq T3 = T6
Position C	T1.5 = T3 \neq T6
Position D	T1.5 = T3 = T6

The univariate analyses for abundance and species richness also reflected a significant interaction between factors Position and Time, and SNK analyses revealed similar trends to the previous pairwise comparisons: Differentiation among positions increased over time (Table 4 and 5). At the beginning of the experiment there were significant differences in the species richness only between stations A and D. However, the divergences among positions gradually increased and became significant among all cave positions by the end of the study (with a decrease in the number of species toward the inner part of the cave) (Figure 4b). Abundance values were significantly higher at station A throughout the whole study (Figure 4a). Nevertheless, no significant differences in the number of individuals were observed among cave areas (positions B, C and D), except for positions C and D at 6 months.

Table 4. Results of two-way ANOVA for abundance and species richness values for the crustacean community. No transformation were necessary for species richness. Abundance data were $\ln(X+1)$ transformed. df = degrees of freedom; MS = mean square; P = level of significance; ** = $p < 0.01$; *** = $p < 0.001$.

Source of variation	Df	Abundance of organisms			Species richness		
		MS	F	P	MS	F	P
Position = Po	3	99.12	265.6 1	0.000***	66.24	28.14	0.000***
Time = Ti	2	6.41	17.17	0.000***	0.53	0.22	0.803
Po x Ti	6	3.27	8.81	0.000***	11.99	5.09	0.001**
Residual	36	0.37			2.35		

Table 5. Pair-wise comparisons for the interaction of factor Position and Time in abundance and species richness values. (=) not significantly different; (\neq) significantly different at $p < 0.05$

NUMBER OF INDIVIDUALS		SPECIES RICHNESS	
Pair-wise comparison among position within each time of sampling			
1.5 months	A \neq B = C = D	1.5 months	A = B = C = D; A \neq D
T3 months	A \neq B = C = D	T3 months	A \neq B \neq C = D
T6 Months	A \neq B = C \neq D	T6 Months	A \neq B \neq C \neq D
Pair-wise comparison among times of sampling within each position			
Position A	T1.5 \neq T3 \neq T6	Position A	T1.5 = T3 \neq T6
Position B	T1.5 = T3 = T6	Position B	T3 \neq T1.5 = T6
Position C	T1.5 = T3 = T6	Position C	T1.5 = T3 = T6
Position D	T1.5 = T3 = T6	Position D	T1.5 = T3 = T6

With regard to the temporal changes within each position, univariate analysis also revealed higher stability at internal stations. Only station A showed significant

changes, with an increase in the number of species (mainly due to the occurrence of *Gammaropsis maculata* and *Lembos websteri* at 6 months) and a significant decrease in the number of individuals at 3 and 6 months. No significant differences in abundance and species richness were detected in positions B, C and D. The only exception was a peak in the number of species at the semidark station at 3 months.

PERMDISP results indicated significant variation among positions. Similarity values obtained for each position reflected a decrease in homogeneity among replicates toward the inner parts of the caves; 81.4% at station A, 35.9% at station B, 34.4% at station C and 4.9% at station D. No tendency toward convergence among replicates within position was observed over time.

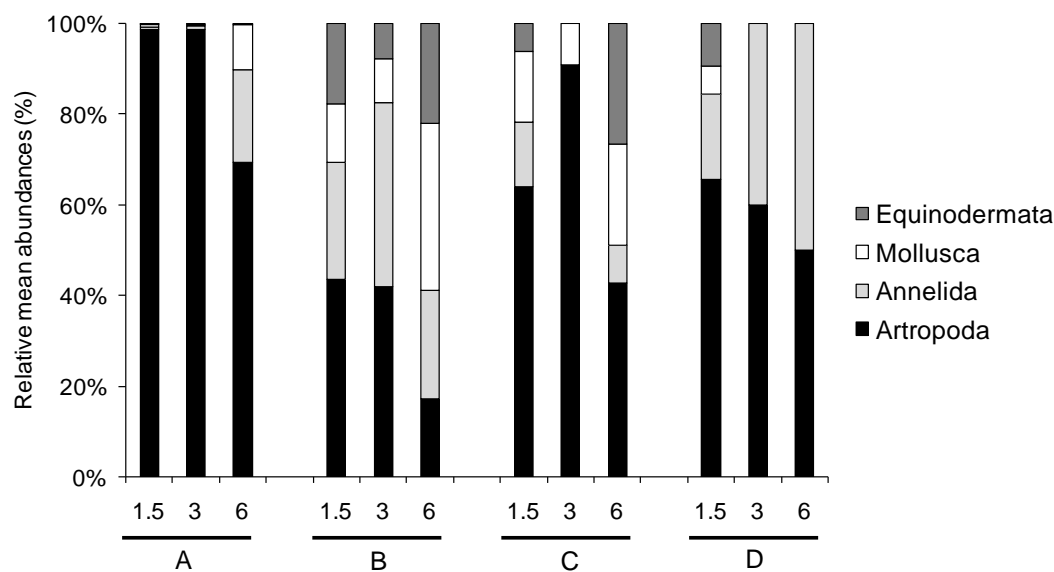


Figure 3. Relative mean abundances (%) of each phylum in each cave position (A, B, C and D) and sampling time (1.5, 3 and 6 months).

DISCUSSION

Epifaunal composition

As it has been observed in soft-bottom cave communities and host invertebrates (Chapters 2 and 3), crustacean is also the dominant group in artificial substrates and none of the 34 species found in the study were cave-exclusive. The overwhelming dominance of genus *Jassa* observed in the deployed substrates has been previously reported in other artificial habitats (Beermann and Franke 2012). This genus shows a great dispersal capability (mainly via drifting juveniles), which explains its presence at all stations and its especially high abundance on the exposed substrates (Havermans et al 2007, Beermann and Franke 2012). Many taxa were found as singletons and/or with densities < 1 individual per replicate. Some of them were some

soft-bottom species (such as *Monoculodes* sp. and *Synchelidium* sp.), whose occurrence in our artificial substrates could be considered accidental. The occurrence of a caprellid species belonging to the genus *Paracaprella*, a common taxa in subtropical and tropical seas around the world but virtually absent in Mediterranean waters, is of note. The species collected probably belongs to the only *Paracaprella* species found in the Mediterranean, *P. pusilla*, which was recently cited as a new exotic species in these waters but until now only found among the fouling communities in harbours (Ros and Guerra-García 2012, Ros et al 2013).

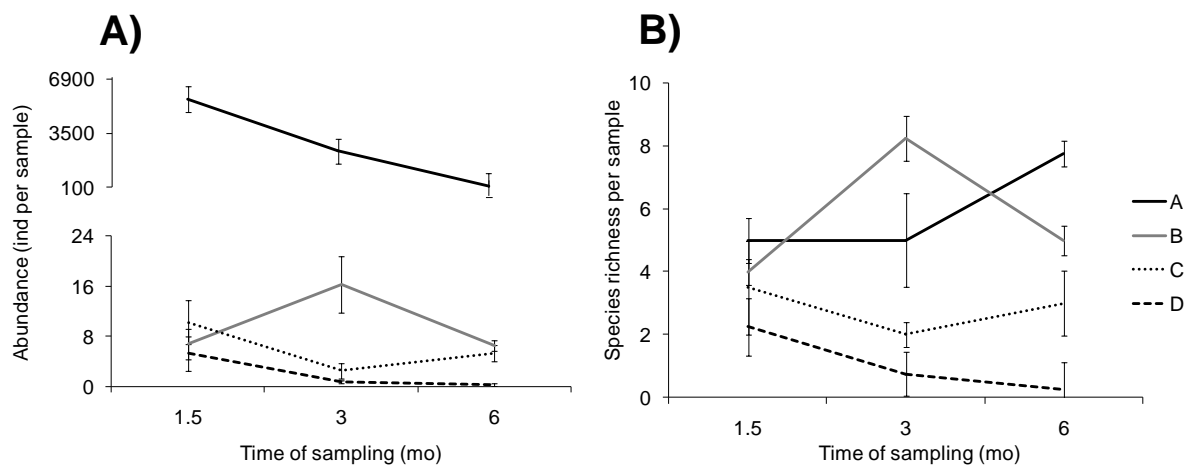


Figure 4. Mean values \pm SE of total abundance (A) and species richness (B) for each cave position and sampling time.

Recruitment and successional patterns

As expected, there was a significant decrease both in species richness and abundance on the artificial substrates toward the inner part of the cave. The main processes commonly used to explain epifaunal distribution patterns are related to: (1) selection of favored substrates, (2) variations in the arrival of recruits and (3) differences in species' ability to cope with the ecological conditions they are exposed to (Beermann and Franke 2012, Vázquez-Luis et al 2012). The host substrate was the same at all positions, so we can exclude this factor as a responsible agent of the observed differences. Since our temperature data show that the water exchange in the cave is limited, it could be expected that these patterns were due to the inability of the organisms to colonize the inner parts of the cave. Laboratory experiments carried out with grazing isopods and amphipods highlighted that propagule supply can play an important role (even higher than resource limitation) in structuring the community (Lee and Bruno 2014). However, the dominant crustacean species outside the cave, regardless of their development mode (direct or indirect), were also present in all the internal positions from the first sampling time. Although we cannot assure that these recruits are coming from outside the cave (they could come from nearby areas via

short-distance dispersal events), these results would agree with some previous studies highlighting that water movement is often enough for propagules to reach the innermost part of the caves, in contrast to the traditional expectations (Denitto et al 2007, Moscatello and Belmonte 2007). In spite of being present at internal stations from the beginning of the experiment, the abundances of these dominant species were much lower into the cave throughout the whole study. Thus, differences in abundance across positions probably depended on changes in the environmental conditions (e.g. trophic supply, light and freshwater inputs) rather than a limitation in the number of propagules that reached and colonized the inner part of the caves.

Our results also confirm that a gradient in the rate of development along cave environments may also be applied to mobile epifauna communities. The lower rate of development is a feature traditionally associated to marine cave communities but still poorly studied. Previous studies with sessile benthic communities highlighted that the time required for colonization and development is much higher in marine caves than in open habitats (Denitto et al 2007). Harmelin (1985) observed that, even after 9 years, the bryozoan community inside a marine cave was still far from reaching the natural richness. The timescale in this study is considerably longer than that usually considered in epifaunal colonization studies (with a time scale of days or weeks), but our observations indicate that such a relatively long time scale is necessary to understand the development of cave communities (Poore 2005, Roberts and Poore 2005, Guerra-García and García-Gómez 2006). Although external stations showed significant differences in abundances, species richness, and structure after 1.5 months (in comparison with those artificial substrates deployed inside the cave), it took 6 months to find differences in these metrics between stations 'C' and 'D'.

The lower rate of successional changes inside the cave is also visible in the higher temporal stability of these communities. Both multivariate and univariate analyses showed similar temporal patterns within positions; epifaunal community outside the cave showed higher temporal variability than those present inside. While the inner station ('D') exhibited similar assemblage structure, number of species and abundance values during the entire study, these variables showed significant differences among times of sampling outside the cave. In this sense, the dampening of thermal oscillations within the cave observed here, and also been reported in other Mediterranean marine and anchialine caves (Harmelin 1997, Novosel et al 2007), could be a responsible factor for the stability of cave communities. The significant decrease in the number of species at 3 and 6 months in the external position probably was due to the decrease in the water temperature from summer to winter (Nakaoka et al 2001, Guerra-García et al 2011, Beerman 2014). Along with temperature, there are many other factors (eg. wave exposure, light conditions, trophic supply and coverage of host substrates) in which variations will be more pronounced outside the cave and that could explain these differences in the temporal stability.

Spatial and temporal variation in the small-scale variability

Although small-scale variability is a general property of benthic assemblages in marine coastal environments, its importance can change among different habitats (Fraschetti et al 2005). Our studies dealing with soft-bottom cave communities (Chapter 2.2) did not show the existence of significant differences between in the small-scale variability between open and cave locations. However our observations in artificial substrates agree previous studies carried out in hard substrates inside marine caves, with pointed out that small-scale patchiness is higher inside the caves (Benedetti-Cecchi et al 1996, 1998, Martí et al 2004). A possible explanation could be related to differences in isolation conditions, since substrates with a higher supply of colonizers host more homogeneous epifauna (Lee and Bruno 2014). However, Denitto et al (2007) suggested that such small-scale variability in cave communities does not derive from a patchy colonization, but from other post-settlement factors. There are many biological interactions and physical processes that may generate large spatial variance at a scale of meters or even centimeters (Benedetti-Cecchi 2001, Fraschetti et al 2005 and references therein). The low densities of individuals could also contribute to this high heterogeneity inside caves, since the movement of epifauna among habitat patches is often positively related with the density within patches (Holmquist 1998, Tanaka and Leite 2004). In this sense, the dense aggregations of individuals in external collectors may determine higher dispersal movement, which favor a higher convergence in the species present in each collector.

With regard to the temporal variation of the small-scale variability, Berlow (1997) proposed several successional models for benthic communities, each of which had different predictions. According to the contingent succession and the canalized succession model, biological interactions are very important in the successional pathway and so, variability should be lower with increasing stages of succession. However, the high heterogeneity among collectors observed inside the cave throughout the study fits better with an externally-driven succession model, in which the successional variation is driven mainly by stochastic variations in the environmental conditions, instead of biological interactions.

Conclusions

Although the observed patterns are quite similar to those initially expected for marine caves, we must be cautious about drawing general conclusions. Chapman (2007) found it difficult to obtain general and predictable patterns in the invertebrate species composition and community structure in the colonization of novel intertidal and shallow subtidal habitats. Moreover, the hydrodynamics (and so the isolation conditions) are highly variable among marine caves in function of the orientation, depth and topography. Anyway, the present study highlight that changes in the environmental conditions along the cave determine significant differences in the

assemblage structure, their small-scale variability, temporal stability and rate of development. Inner positions showed lower abundance and species richness values. This community impoverishment should be attributed to factors such as the decrease in the trophic supply, rather than to a limitation in the ability of propagules to reach the internal part of the caves. The small rate of change and slow succession observed here could be considered a signal of the sensitivity of these habitats and the importance of its conservation. The challenge for future studies is to quantify the resilience capacity of cave communities to specific natural and human disturbances, which is expected to assist management and conservation actions.

REFERENCES

- Anderson MJ, Gorley RN, Clarke KR (2008) PERMANOVA + for PRIMER: guide to software and statistical methods. PRIMER-E, Plymouth UK
- Antoniadou C, Voultsiadou E, Chintiroglou C (2010) Benthic colonization and succession on temperate sublittoral rocky cliffs. *J Exp Mar Biol Ecol* 382:145-153.
- Baeza-Rojano E, Calero-Cano S, Hachero-Cruzado I, Guerra-García JM (2013) A preliminary study of the *Caprella scaura* amphipod culture for potential use in aquaculture. *J Sea Res* 83:146-151.
- Beermann J (2014) Spatial and seasonal population dynamics of sympatric *Jassa* species (Crustacea; Amphipoda). *J Exp Mar Biol Ecol* 459:8-16.
- Beermann J, Franke HD (2012) Differences in resource utilization and behaviour between coexisting *Jassa* species (Crustacea, Amphipoda). *Mar Biol* 159:951-957.
- Benetetti-Cecchi L (2001) Variability in abundance of algae and invertebrates at different spatial scales on rocky sea shores. *Mar Ecol Prog Ser* 215:79-92.
- Benedetti-Cecchi L, Airoidi L, Abbiati M, Cinelli F (1996) Exploring the causes of spatial variation in an assemblage of benthic invertebrates from a submarine cave with sulphur springs. *J Exp Mar Biol Ecol* 208:153-168.
- Benedetti-Cecchi L, Airoidi L, Abbiati M, Cinelli F (1998) Spatial variability in the distribution of sponges and cnidarians in a sublittoral marine cave with sulphur-water springs. *J Mar Biol Assoc UK* 78:43-58.
- Berlow EL (1997) From canalization to contingency: historical effects in a successional rocky intertidal community. *Ecol Monogr* 67:435-460.
- Chapman MG (2007) Colonization of novel habitat: Test of generality of patterns in a diverse invertebrate assemblage. *J Exp Mar Biol Ecol* 348:97-110.
- Denitto F, Terlizzi A, Belmonte G (2007) Settlement and primary succession in a shallow submarine cave: spatial and temporal benthic assemblage distinctness. *Mar Ecol* 28(1):35-46.

- Eggleston DB, Ward EE, Etherington LL, Dahlgren CP, Posey MH (1999) Organism responses to habitat fragmentation and diversity: Habitat colonization by estuarine macrofauna. *J Exp Mar Biol Ecol* 236:107-132.
- Fraschetti S, Giangrande A, Terlizzi A, Boero F (2003) Pre- and post-settlement events in benthic community dynamics. *Oceanol Acta* 25:285-295.
- Fraschetti S, Terlizzi A, Benedetti-Cecchi L (2005) Pattern of distribution of marine assemblage from rocky shores: evidence of relevant scales of variation. *Mar Ecol Prog Ser* 296:13-29.
- García-Sanz S, Tuya F, Navarro PG, Angulo-Preckler C, Haroun RJ (2012) Post larval, short term, colonization patterns: The effect of substratum complexity across subtidal, adjacent, habitats. *Est Coast Shelf Sci* 112:183-191.
- Guerra-García JM, García-Gómez JC (2006) Recolonization of defaunated sediments: Fine versus gross sand and dredging versus experimental trays. *Est Coast Shelf Sci* 68:328-342.
- Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP, García-Gómez JC (2011) Vertical distribution and seasonality of peracarid crustaceans associated with intertidal macroalgae. *J Sea Res* 65:256-264.
- Havermans C, De Broyer C, Mallefet J, Zintzen V (2007) Dispersal mechanisms in amphipods: a case study of *Jassa herdmani* (Crustacea, Amphipoda) in the North Sea. *Mar Biol* 153:83-89.
- Harmelin JG (1985) Bryozoan dominated assemblages in Mediterranean cryptic environments. In: Nielsen C, Larwood GP (eds) *Bryozoans: Ordovician to Present*. Olsen & Olsen, Fredensborg, p 135-364
- Harmelin JG (1997) Diversity of bryozoans in a Mediterranean sublittoral cave with bathyal-like conditions: role of dispersal processes and local factors. *Mar Ecol Prog Ser* 153:139-152.
- Holmquist JG (1998) Permeability of patch boundaries to benthic invertebrates: influences of boundary contrast, light level, and faunal density and mobility. *Oikos* 81:558-566.
- Lee SC, Bruno JF (2014) Propagule supply limits grazer richness equally across a resource gradient. *Ecosphere* 5(1):8.
- Martí R, Uriz JM, Ballesteros E, Turon X (2004) Temporal variation of several structure descriptors in animal-dominated benthic communities in two Mediterranean caves. *J Mar Biol Assoc UK* 84, 573-5807.
- Moscattello S, Belmonte G (2007) The plankton of a shallow submarine cave ('Grotta di Ciolo' Salento Peninsula, SE Italy). *Mar Ecol* 28(1):47-59.
- Nakaoka M, Toyohara T, Matsumasa M (2001) Seasonal and between-substrate variation in mobile epifaunal community in a Multispecific Seagrass Bed of Otsuchi Bay, Japan. *Mar Ecol* 22(4):379-395.
- Novosel M, Jalžić B, Novosel A, Pasarić M, Požar-Domac, Radić I (2007) Ecology of an anchialine cave in the Adriatic Sea with special reference to its thermal regime. *Mar Ecol* 28(1):3-9.

- Olabarria C (2002) Role of colonization in spatio-temporal patchiness of microgastropods in coralline turf habitat. *J Exp Mar Biol Ecol* 274:121-140.
- Pacheco AS, Laudien J, Thiel M, Oliva M, Arntz W (2010) Succession and seasonal variation in the development of subtidal macrobenthic soft bottom communities off northern Chile. *J Sea Res* 64:180-189.
- Poore AGB (2005) Scales of dispersal among hosts in a herbivorous marine amphipod. *Austral Ecol* 30:219-228.
- Roberts DA, Poore AGB (2005) Habitat configuration affects colonisation of epifauna in a marine algal bed. *Biol Cons* 127:18-26.
- Ros M, Guerra-García JM (2012) On the occurrence of the tropical caprellid *Paracaprella pusilla* Mayer 1890 (Crustacea: Amphipoda) in Europe. *Medit Mar Sci* 13(1):134-139.
- Ros M, Vázquez-Luis M, Guerra-García JM (2013) The tropical caprellid amphipod *Paracaprella pusilla*: a new alien crustacean in the Mediterranean Sea. *Helgol Mar Res* 67:675-685.
- Sutherland JP (1974) Multiple stable points in natural communities. *The American Naturalist* 108(964):859-873.
- Tanaka MO, Leite PP (2004) Distance effects on short-term recolonization of *Sargassum stenophyllum* by mobile epifauna, with an analysis of gammarid life habits. *J Mar Biol Ass UK* 84:901-910.
- Taylor RB (1998) Short-term dynamics of a seaweed epifaunal assemblage. *J Exp Mar Biol Ecol* 227:67-82.
- Thiel M (2003) Rafting of benthic macrofauna: important factors determining the temporal succession of the assemblage on detached macroalgae. *Hydrobiologia* 503:49-57.
- Tuya F, Wernberg T, Thomsen MS (2009) Colonization of gastropods on subtidal reefs depend on density in adjacent habitats, not on disturbance regime. *J Mollus Stud* 75:27-33.
- Underwood AJ (1997) *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, Cambridge
- Underwood AJ, Chapman MG (2006) Early development of subtidal macrofauna assemblages: relationships to period -and timing of colonization. *J Exp Mar Biol Ecol* 330:221-233.
- Underwood AJ, Chapman MG, Richards SA (2002) *GMAV-5 for Windows: an analysis of variance programme*. University of Sydney
- Vázquez-Luis M, Borg JA, Sánchez-Jerez P, Bayle-Sempere JT (2012) Habitat colonization by amphipods: Comparison between native and alien algae. *J Exp Mar Biol Ecol* 432-433:162-170.
- Virnstein RW, Curran MC (1986) Colonization of artificial seagrass versus time and distance from source. *Mar Ecol Prog Ser* 29:279-288.
- Zajac RN, Whitlatch RB, Trush SF (1998) Recolonization and succession in soft-sediment infaunal communities: the spatial scale of controlling factors. *Hydrobiologia* 375-376:227-240.

Zabala M, Riera T, Gili JM, Barange M, Lobo A, Peñuelas J (1989) Water flow, trophic depletion, and benthic macrofauna impoverishment in a submarine cave from the western Mediterranean. *Mar Ecol* 10:271-287.

5

FEEDING HABITS

Marine caves vs. Open habitats



Adapted from:

- Navarro-Barranco C, Tierno-de-Figueroa JM, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2013) Feeding habits of amphipods (Crustacea: Malacostraca) from shallow soft bottom communities: Comparison between marine caves and open habitats. *Journal of Sea Research* 78: 1-7.

The organisms that inhabit marine caves are forced to develop specific adaptations to high constraint conditions, such as light absence or oligotrophy, so it can be expected that feeding strategies into caves differ from that present outside them. Nevertheless, in spite of their importance both inside and outside of the caves, no studies have been done to compare the trophic structure of marine caves and open habitats. In the present study, the gut content of the dominant amphipod species living on shallow sediments, both inside and outside six marine caves in western Mediterranean, was characterized. This study is also the first attempt to establish the feeding habit of most of these species. Analysis of digestive contents of the species showed that amphipod diet is less diverse in sediments than in other environments, such as algae and seagrasses. No herbivorous species were found in the sediment and carnivorous amphipods showed a little variety of prey, feeding mainly on crustaceans. Differences in the trophic structure were also found between marine caves and open habitats sediments: while outside the caves detritivorous was the dominant group (both in number of species and number of individuals), amphipods mainly play the role of carnivorous inside the caves. No detritivorous species were found into the caves, where carnivorous represents almost 60% of amphipods species and more than 80% of amphipods individuals. This pattern obtained in amphipods differ from the general trend observed in marine caves organisms, for which a generalist diet, such as omnivory, usually is an advantage in these oligotrophic conditions. The possible causes of this pattern are discussed.

- Previous page photograph. The decapod *Stenopus spinosus* trying to catch mysids in the innermost part of the cave de Cerro Gordo. Luis Sánchez Tocino.

INTRODUCTION

Marine caves can be inhabited by specialized taxa, many of them restricted to live in caves (sometimes exhibiting extreme adaptations), or by more generalist taxa than can find temporal or permanent refuge there (e.g. Bussotti and Guidetti, 2009; Harmelin et al, 1985; Vacelet et al, 1994). In any case, from the feeding point of view, caves are usually poor environments that greatly condition their trophic webs, at a global scale, and the particular diet of the species present, at a low scale. Thus, the absence of light in marine caves (common fact to freshwater and terrestrial caves) avoids the presence of primary producers (except in some cases chemosynthetic bacteria) (e.g. Airoldi and Cinelli, 1996; Pohlman et al, 1997). Parravicini et al (2010) pointed out that, because of the differences in water confinement and trophic depletion among different sectors inside marine caves, consistent variations in the trophic guild of sessile species can be found. Additionally for soft bottom communities, the existence of a lower hydrodynamism influences their habitat structure, usually offering a finer sediment substrate than the surrounding seabed (Bamber et al, 2008). Iliffe and Bishop (2007) notes, at community levels, that the scarcity of food in anchialine caves drives organisms toward a generalist diet, being expected that detritus feeders, together with omnivorous, dominate in these environments. Nevertheless, the role of a particular taxon needs to be evaluated to really categorize it inside the trophic web. In fact, it is amazing how little is known about the ecology of caves in general, particularly when it comes to their trophic structure (Romero, 2009).

In soft-bottom marine substrates, amphipod crustaceans are one of the most important and diverse component of the fauna (Dauvin et al, 1994; Fincham, 1974; Lourido et al, 2008; Prato & Biandolino, 2005) structuring benthic assemblages (Duffy and Hay, 2000). As it has been highlighted in previous chapters and articles, amphipods are frequent both inside and outside caves (Bamber et al, Chapters 2 and 3). In relation with all the previously noted, the study of the feeding habits of amphipods can constitute an interesting tool to understand the trophic webs in the benthos of marine caves and their surroundings.

Thus, the aim of the present study is to describe the feeding habits of the most abundant species of amphipods inhabiting inside and outside of some marine caves in western Mediterranean, to compare the obtained results and to test the hypothesis than species and/or populations living inside the caves are more detritivorous or omnivorous than those living outside of the caves.

MATERIAL AND METHODS

Samples provenance and analysis

For the present study we have used the main species obtained during the study detailed in Chapter 2.2. Six karstic marine caves were sampled during July and August 2011, with two sampling stations selected in each cave (internal and external station). Both the soft-bottom community and the physicochemical parameters of the sediment were characterized (see Material and Methods in chapter 2.2 for a more detailed description of the caves, sampling methodology and the biological and physicochemical analyses).

In order to characterize the feeding habits of the amphipod community, we selected the species which contributed with at least 1% to the total abundance. In total, we studied 137 specimens of 7 species of amphipods living inside caves and 351 specimens of 13 species living outside caves. The whole list of analyzed material and details of provenance is included in the table 1, and the mean abundance of the amphipod species inside and outside the caves is included in Figure 1. The mean values of the granulometry and the organic matter content at internal and external stations is provided in Figure 2.

Table 1. Cave localities where amphipods were collected. **Amb:** *Ampelisca brevicornis* (Costa, 1853); **Bag:** *Bathyporeia guilliamsoniana* (Bate, 1857); **Gaf:** *Gammarella fucicola* (Leach, 1814); **Haa:** *Harpinia antennaria* Meinert, 1890; **Hac:** *Harpinia crenulata* (Boeck, 1871); **Hap:** *Harpinia pectinata* Sars, 1891; **Him:** *Hippomedon massiliensis* Bellan-Santini, 1965; **Leh:** *Leptocheirus hirsutimanus* (Bate, 1862); **Mem:** *Megaluropus monasteriensis* Ledoyer, 1976; **Mef:** *Metaphoxus fultoni* (Scott, 1890); **Mog:** *Monoculodes griseus* Della Valle, 1893; **Pat:** *Pariambus tipicus* (Krøyer, 1884); **Pel:** *Perioculodes longimanus* (Bate & Westwood, 1868); **Phl:** *Photis longipes* (Della Valle, 1893); **Phm:** *Phtisica marina* Slabber, 1769; **Sis:** *Siphonocetes sabatieri* De Rouville, 1894; **Ure:** *Urothoe elegans* (Bate, 1857)

Caves	Coordinates	Depth (m)	Amphipod species	
			Outside	Inside
Gorgonias	36°44'17"N, 3°46'42"W	6	Bag, Mem	Hap, Pel
Cantarriján	36°44'16"N, 3°46'41"W	8	Sis, Ure	Hap, Pel
Treinta Metros	36°43'12"N, 3°44'9"W	30	Hac	Haa, Hac
Raja de la Mona	36°43'10"N, 3°44'6"W	30	Leh, Phl	Gaf, Phm
Punta del Vapor	36°43'22"N, 3°42'35"W	12	Amb, Him, Mem, Pat, Pel, Phl, Sis	Hac
Calahonda	36°42'46"N, 3°22'18"W	19	Hap, Him, Mem Mef, Phl, Pat, Sis, Ure	Hac, Hap, Mog

For the diet study, individuals were analyzed following the methodology proposed by Bello and Cabrera (1999) with slight variations. This method has been successfully used to study the gut contents of different arthropod groups and other animals, both aquatic and terrestrial forms and both ethanol and formalin preserved samples, revealing that it as a very appropriate method for gut content analysis (e.g. Bo et al 2012; Fenoglio et al, 2008; Tierno de Figueroa et al, 2006). Particularly, this method has been successfully used previously and posteriorly in Amphipoda (Guerra-García and Tierno de Figueroa, 2009; Vázquez-Luis et al 2012; Guerra-García et al 2014; Ros et al 2014). Each individual was introduced in a vial with Hertwig's liquid (consisting on 270 g of chloral hydrate, 19 ml of chloridric acid 1N, 150 ml of distilled water and 60 ml of glycerin) and heated in an oven at 65 °C for approximately 3 hours. After this, they were mounted on slides for its study under the microscope. The percentage of the absolute gut content (at 100x), as the total area occupied by the content in the whole digestive tract, and the relative gut content (at 400x), as the area occupied for each component within the total gut content, were estimated using the microscope equipped with an ocular micrometer. Mean and standard error of the

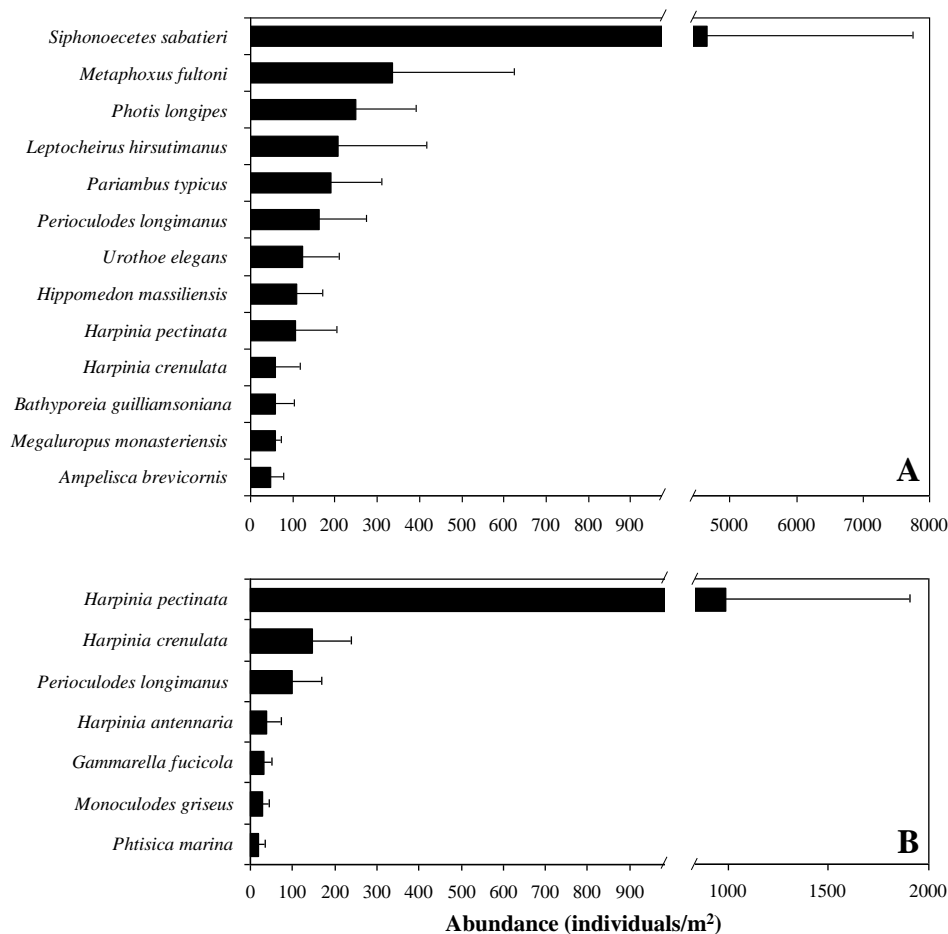


Figure 1. Abundance (individuals/m² ± SE) of the dominant amphipod species (>1%) both outside (A) and inside (B) the studied caves.

mean were calculated. Amphipod species were assigned to their feeding group (detritivorous, carnivorous, omnivorous) according to the diet. When the gut content included more than 50% of prey, we catalogued the species as a carnivorous, considering that other material can appear as the prey gut content or accidentally ingested when preying.

Statistical analyses

The affinities among species according to the dietary analysis were explored by cluster analysis using UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages) and Bray Curtis similarity index. This multivariate analysis was carried out using the PRIMER package (Clarke and Gorley, 2001). For the three species inhabiting both inside and outside of the caves (*Harpinia crenulata*, *Harpinia pectinata* and *Periocolodes longimanus*), we used an analysis of variance (ANOVA) with the following factors: 'Position', a fixed factor with two levels: outside and inside the caves; 'Species' a fixed factor and orthogonal, with three levels (the three species). The number of specimens with detected digestive contents was different among species. Consequently, to properly conduct a balanced ANOVA design, we chose the species with the lowest values ($n=8$ for *Periocolodes longimanus*) and we selected randomly 8 specimens of the remaining species. Additional ANOVA was used to test whether the organic matter and silt and clay percentage in the sediment changes between positions. Prior to ANOVA, heterogeneity of variance was tested with Cochran's C-test. Univariate analyses were conducted with GMAV5 (Underwood et al, 2002).

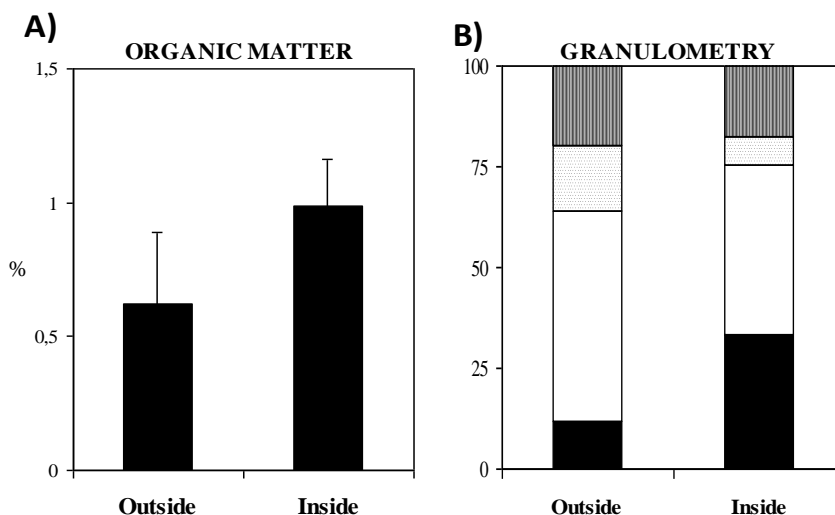


Figure 2. Mean values of organic matter (A) (with standar error of the mean) and granulometry (B) in the six studied caves. For granulometry: Striped section = gross, very gross and gravels; Dotted section = medium sands fraction; white section = Very fine and fine sands; Black section = Silt and clay.

RESULTS

In total, we studied 488 specimens of 17 species of amphipods. Digestive contents were found in 238 of the 351 specimens outside the caves (67.8%) and 82 of the 137 specimens inside the caves (59.9%) (Table 2). The average of the total area occupied by the content in the whole digestive tract ranged from 11.1 to 73.3% outside the caves and from 9.4 to 58.2% inside the caves. Gut contents of the studied amphipod species included mainly detritus and crustaceans, and secondly microalgae and polychaetes. According to the diet, species were included in three different feeding groups: detritivorous (6 species), carnivorous (5 species) and omnivorous (6 species) (Table 2). This classification was supported when the cluster analysis was conducted (Figure 3). Carnivorous and detritivorous constituted well defined groups, while omnivorous species were in an intermediate position, with most of species closer to detritivorous, and one species, *Hippomedon massiliensis*, closer to carnivorous.

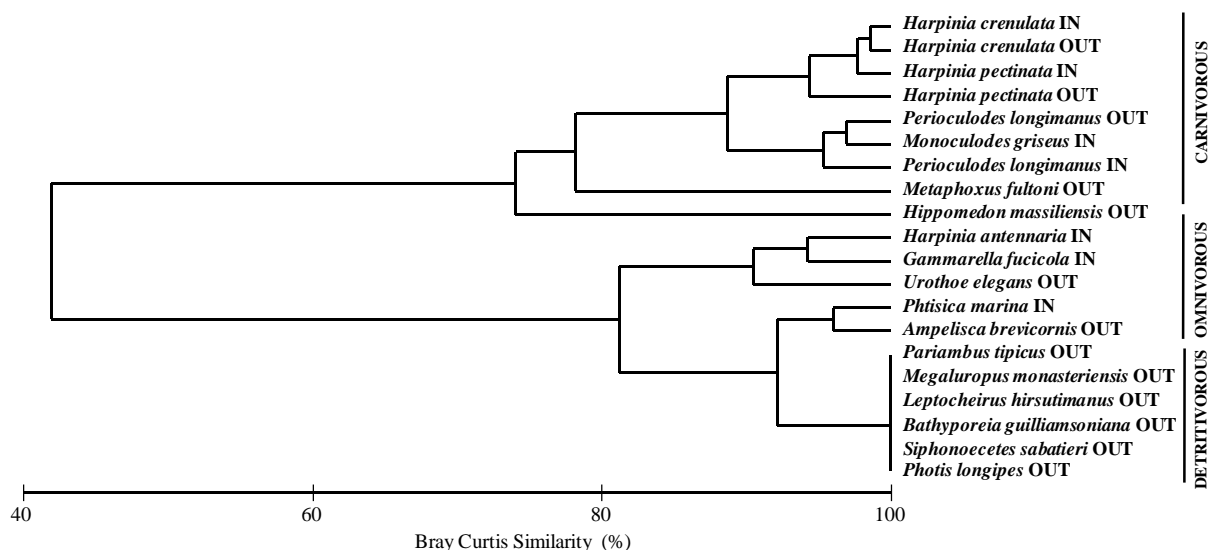


Figure 3. Dendrogram based on the digestive contents of the studied amphipod species inside and outside the caves.

We found species belonging to the three feeding groups outside the caves, while inside the caves the detritivorous were absent. Carnivorous dominated the caves, both in number of species and abundances, while detritivorous were dominant outside the caves (Figure 4). The three studied species which were found inside and outside the caves, *Harpinia crenulata*, *H. pectinata*, and *Periocolodes longimanus*, were carnivorous. There were no significant differences in digestive contents (measured as

Table 2 Gut contents of the studied amphipod species inside and outside of the caves. N = number of specimens of each species examined; n = number of specimens with detected gut content. %Abs = total area occupied by the content in the whole digestive tract. Values: mean values ± standard errors of the mean and, in parenthesis, minimum-maximum. FG (Feeding Group): D = detritivorous; O = omnivorous; C = carnivorous.

	N/n	%Abs	Components (100%)			FG
			%Detritus	%Crustacea	%Polychaeta	
Outside						
<i>Ampelisca brevicornis</i>	12/12	60.8±8.5 (10-90)	92.5±4.5 (50-100)	4.2±4.2 (0-50)	3.3±2.3 (0-20)	O
<i>Bathyporeia gilliamsoniana</i>	14/13	46.5±8.7 (5-90)	100±0 (0-100)	-	-	D
<i>Harpinia crenulata</i>	12/9	11.1±2.9 (5-30)	41.1±7.7 (0-70)	-	-	C
<i>Harpinia pectinata</i>	17/14	28.6±5.5 (5-70)	35.4±7.6 (0-100)	0.5±0.4 (0-5)	60.6±8.8 (0-100)	C
<i>Hippomedon massiliensis</i>	30/17	69.4±6.0 (20-100)	58.2±9.9 (0-100)	0.3±0.3 (0-5)	41.5±9.9 (0-100)	O
<i>Leptocheirus hirsutimanus</i>	25/17	43.5±8.3 (5-100)	100±0 (100-100)	-	-	D
<i>Megaluropus monasteriensis</i>	6/6	73.3±11.1 (20-90)	100±0 (100-100)	-	-	D
<i>Metaphoxus fultoni</i>	49/5	28.0±3.7 (20-40)	14.0±7.5 (0-40)	-	86.0±7.5 (60-100)	C
<i>Pariambus typicus</i>	24/18	44.4±7.1 (5-100)	100±0 (100-100)	-	-	D
<i>Perioculodes longimanus</i>	25/16	16.9±3.1 (5-50)	29.4±7.3 (0-80)	-	70.6±7.3 (20-100)	C
<i>Photis longipes</i>	41/30	29.2±5.2 (5-100)	100±0 (100-100)	-	-	D
<i>Siphonocetes sabatieri</i>	70/60	41.7±4.0 (5-100)	100±0 (100-100)	-	-	D
<i>Urothoe elegans</i>	26/21	21.0±2.5 (10-50)	73.3±5.4 (0-10)	1.4±1.0 (0-20)	25.2±5.6 (0-100)	O
Inside						
<i>Gammarella fucicola</i>	8/7	40.0±10.5 (10-80)	85.7±7.2 (60-100)	-	14.3±7.2 (0-40)	O
<i>Harpinia antennaria</i>	8/6	14.2±2.7 (5-20)	80.0±16.3 (0-100)	-	20.0±16.3 (0-100)	O
<i>Harpinia crenulata</i>	20/12	15.4±3.2 (5-40)	42.5±9.1 (0-90)	-	57.5±9.1 (10-100)	C
<i>Harpinia pectinata</i>	66/34	13.8±1.5 (5-40)	39.1±5.6 (0-100)	-	60.1±5.6 (0-100)	C
<i>Monoculodes griseus</i>	7/4	12.5±2.5 (10-20)	32.5±11.8 (0-50)	-	67.5±11.8 (50-100)	C
<i>Perioculodes longimanus</i>	17/8	9.4±1.8 (5-20)	26.3±9.6 (0-70)	-	73.8±9.6 (30-100)	C
<i>Phitsica marina</i>	11/11	58.2±8.2 (20-90)	91.8±7.2 (20-100)	0.5±0.5 (0-5)	7.7±7.3 (0-80)	O

percentage of detritus) among the three species. Furthermore, each species showed the same feeding pattern inside and outside the caves (Table 3, Figure 5).

In connection with physicochemical parameters, organic matter was higher inside the caves, although values were always low (<1%) both inside and outside the caves (Figure 2). The studied caves showed a dominance of very fine and fine sands and this pattern was obtained inside and outside. However, the percentage of silt and clay was significantly higher inside the caves.

Table 3. Results of the two-factor ANOVA for percentage of detritus in the amphipod species inhabiting outside and inside of the caves: *Harpinia crenulata*, *H. pectinata* and *Periocolodes longimanus*. MS= mean square; df= degrees of freedom.

Source of variation	df	% Detritus		
		MS	F	P
Position (Po)	1	75.00	0.08	0.78
Species (Sp)	2	506.25	0.55	0.58
Po X Sp	2	1406.25	1.53	0.23
Residual	42	921.43		
Cochran's C-test			C=0.22	
Transformation			None	

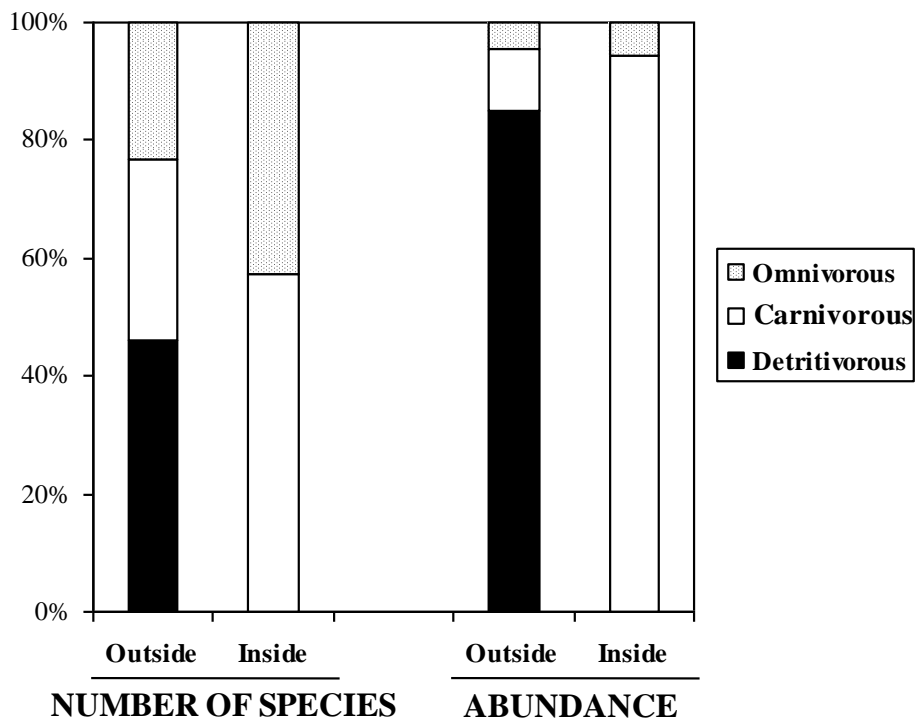


Figure 4. Contribution in percentage of each feeding group to the total number of species and abundance.

DISCUSSION

The present work is the first comprehensive study on the feeding habits of amphipod species inhabiting soft bottom communities. There are very few studies dealing with the diet of amphipod species and this biological aspect is unknown for many of them (Scipione 1989). Moreover, the knowledge about the feeding of many species was based in assumptions from fecal pellets composition or morphological characters, but these assumptions must be taken carefully since they are not always fulfilled. For example, the feeding habit of caprellids have been traditionally inferred from mouthparts or antennae morphology (Caine 1974, 1977); however, Guerra-García and Tierno de Figueroa (2009) showed that there are not always clear relationships among these characters and the digestive contents.

Only the diet of 2 of the 17 species considered had previously been studied based in the gut contents. The data obtained in the present study for these two species, *Pariambus typicus* and *Phtisica marina*, agree with those obtained by Guerra-García and Tierno de Figueroa (2009). On the other hand, the knowledge about feeding habits in amphipods is limited, in some cases, to family level. In this sense, our results usually agree with the previous literature. According to our data, *Siphonocetes sabatieri* is a strictly detritivorous species, which agree with the previously recorded for the Corophidae family (Bellan-Santini and Ruffo, 1998). Studying the crop contents of some phoxocephalid species, Oliver et al (1982) concluded that this group acts as a key taxon in soft bottom communities, playing an important functional role as carnivorous. Other studies using stable isotope analyses also showed the carnivorous behavior of *Harpinia* species (Fanelli et al, 2009). Our data support this assertion, since almost all the phoxocephalid species studied (*Harpinia pectinata*, *H. crenulata* and *Metaphoxus fultoni*) had a diet mainly composed by crustaceans. Nevertheless, in some cases, species belonging to the same family or even genus showed different feeding habits. For example, *Harpinia antennaria*, in contrast with the other species belonging to genus *Harpinia*, had an omnivorous diet in the present study. These results show that the feeding habits of an unstudied species cannot be inferred from studies of congeners, as it has been noted for other aquatic invertebrates (e. g. Stewart and Stark, 2002), and consequently gut content analyses are needed to correctly assign each taxon to each feeding group. On the other hand, these trophic differences between close taxa can be useful to detect taxonomic problems. Traditionally, genus *Urothoe* and *Bathyporeia* were included in the same family (Haustoridae), but according to our data *Urothoe elegans* was omnivorous while *Bathyporeia guilliamsoniana* fed exclusively on detritus. Actually, this two genus are separated in two independent families (Urothoidae and Bathyporeiidae) (Horton and De Broyer 2015; Vader et al 2015).

Within a same species, variations in the trophic preferences can also be found when studying different environments. In a comparative work carried out in the Mediterranean to study the variations in the gut contents of some amphipod species living in native and invasive seaweeds, Vazquez-Luis et al (2012) found that some species (such as *Amphitoe ramondi* or *Dexamine spiniventris*) had different feeding modes depending on the habitat they live on. In the same way, Alarcón-Ortega et al (2012) reported variations in the feeding behavior of the caprellids *Aciconula acanthosoma* and *Caprella equilibra* when they live in algae, hydroids or gorgonians. In our study, the three species found both inside and outside the caves did not show significant changes in their gut components between both habitats. The absence of differences in the feeding modes for *Harpinia crenulata*, *H. pectinata*, and *Periocolodes longimanus* (all of them carnivorous) between habitats could be due to the availability of this food source inside and outside the caves.

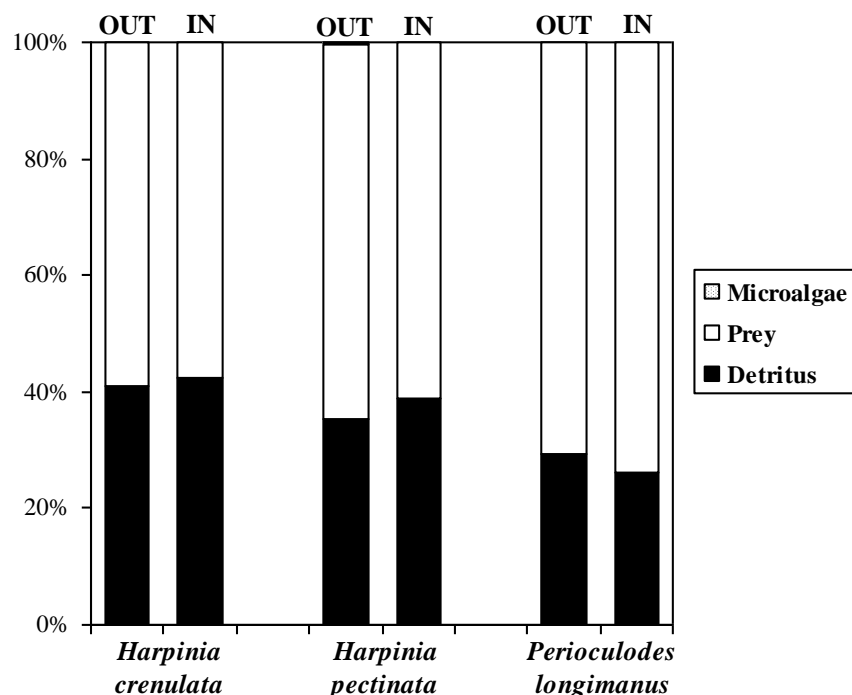


Figure 5. Contribution of each feeding component for the three species inhabiting both inside and outside of the caves. See also Table 3.

Strong differences between habitats can also be found when all amphipod assemblages are considered. Our data reflects that amphipod diet in sediments is less diverse than in other environments such as algae, seagrasses (Guerra-García & Tierno de Figueroa, 2009; Vázquez-Luis et al, 2012). The percentage of algae in the gut contents was zero or very low in all cases. Obviously, that pattern was expected inside the caves, where no primary producer is present, but it is remarkable that no herbivorous species could be found in the external sediments. The variety of prey in

carnivorous species was also lower, composed mainly (and often exclusively) by crustaceans.

Diet diversity in soft bottom amphipod assemblage was even less diverse inside the caves. No detritivorous species was present inside the caves and, while this feeding group was the dominant group (both number of species and number of individuals) in the external sediments, cave community was dominated by carnivorous species. This pattern in amphipod species is highly unexpected since the general pattern in cave communities drives organisms toward a generalist diet (with a dominance of omnivorous and detritivorous species). However, as in such case, some particular groups can follow a different trend. Bianchi (1985) found a high percentage of carnivorous species in polychaetes assemblages inhabiting marine caves. Accordingly to Romero (2009), caves amphipods feeds mostly on detritus but our data show that they occupy mainly the role of carnivorous. The reason of the absence of detritivorous amphipods into these caves still remains uncertain. A potential factor could be the limited food supply, since marine caves are usually considered as oligotrophic habitats. Experimental studies in vegetated habitats reveal that species richness and abundance of amphipods was highly and positively related with the detritus content (Vazquez-Luis et al, 2009). However, our chemical data showed significant higher concentrations of organic matter inside the caves, although it has been suggested that the quality of organic matter in marine caves may decrease towards the inner parts (Fichez, 1991). The feeding behavior, not only the feeding group, should be also an important factor to consider. Because of the low hidrodinamism inside caves, strong differences between habitats can be expected in the way in which such organic matter is available to organisms. Thereby, while inside the caves the organic matter percentage in the sediment is higher, the suspended detritus is much less abundant. In that way, gatherer-collectors find abundant settle detritus to feed inside caves while filter feeders should have more problems to colonize cave environments, since they need more exposed habitats, with a greater degree of turbulence. Nevertheless, little is known about the feeding behavior of detritivorous species present inside our caves and about amphipods in general. Moreover, Shillaker and Moore (1987) pointed out that some detritivorous species can even change its feeding methods, using alternative techniques in poor feeding conditions. So, we cannot relate assertively the absence of detritivorous species inside the caves with their feeding behavior. The finer sediment inside the caves neither seems to be the problem, since many of the detritivorous species present outside the caves usually inhabit muddy sediments (Ruffo 1982-1998). Thus, further studies about the ecological conditions in marine caves and the feeding habit and behavior of all the soft-bottom community are necessary to understand the trophic dynamic of such environments.

REFERENCES

- Airoidi L, Cinelli F (1996) Variability of fluxes of particulate material in a submarine cave with chemolithoautotrophic inputs of organic carbon. *Mar Ecol Prog Ser* 139:205-217.
- Alarcón-Ortega LC, Guerra-García JM, Sánchez-Moyano JE, Cupul-Magaña FG (2012) Feeding habits of caprellids (Crustacea: Amphipoda) from the west coast of Mexico. Do they feed on their hosting substrates? *Zool baetica* 23:11-20.
- Bamber RN, Evans NJ, Robbins RS (2008) The marine soft-sediment benthic communities of Hong Kong: a comparison of submarine cave and open habitats. *J Nat Hist* 42(9-12):953-965.
- Bello CL, Cabrera MI (1999) Uso de la técnica microhistológica de Cavender y Hansen en la identificación de insectos acuáticos. *Bol Ent Ven* 14:77-79.
- Bianchi CN (1985) Structure trophique du peuplement annélidien dans quelques grottes sous-marines méditerranéennes. *Rapports et process-verbaux de la Commission Internationale pour l'étude scientifique de la Mer Méditerranée*. 29(5):147-148.
- Bo T, Fenoglio S, López-Rodríguez MJ, Tierno de Figueroa JM (2012) Trophic behaviour of the dragonfly *Cordulegaster boltoni* (Insecta, Odonata) in small creeks in NW Italy. *Ann Entomol Fenn* 22:255-261.
- Bussotti S, Guidetti P (2009) Do Mediterranean fish assemblage associated with marine caves and rocky cliffs differ? *Est Coast Shelf Sci* 81:65-73.
- Clarke KR, Gorley RN (2001) *Primer (Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research) v5: User Manual/Tutorial*. PRIMER-E Ltd, Plymouth.
- Dauvin JC, Iglesias, A, Lorgeré JC (1994) Circalittoral suprabenthic coarse sand community from the Western English Channel. *J Mar Biol Assoc UK* 74:543-562.
- Duffy JE, Hay ME (2000) Strong impacts of grazing amphipods on the organization of a benthic community. *Ecol Monogr* 70:237-263.
- Fanelli E, Cartes JE, Badalamenti F, Rumolo P, Sprovieri M (2009) Trophodynamics of suprabenthic fauna on castal muddy bottoms of the southern Tyrrhenian Sea (western Mediterranean). *J Sea Res* 61:174-187.
- Fenoglio S, Bo T, Tierno de Figueroa JM, Cucco M (2008) Nymphal growth, life cycle and feeding habits of *Potamanthus luteus* (Linnaeus, 1767) (Insecta, Ephemeroptera) in the Bormida River (NW Italy). *Zool Stud* 47(2):185-190.
- Fichez R (1991) Suspended particulate organic matter in a Mediterranean submarine cave. *Mar Biol* 108:167-174.
- Fincham AA (1974) Intertidal sand-dwelling peracarid fauna of Stewart Island New Zealand. *J Mar Freshw Res* 8:1-14.
- Guerra-García JM, Tierno de Figueroa JM, Navarro-Barranco C, Ros M, Sánchez-Moyano JE, Moreira J (2014) Dietary analysis of the marine Amphipoda (Crustacea: Peracarida) from the Iberian Peninsula. *J Sea Res* 85:508-517.

- Gutián F, Carballas T (1976) Técnicas de análisis de suelos. Second edition. Pico Sacrp, Santiago de Compostela.
- Guerra-García JM, Tierno de Figueroa JM (2009) What do caprellids (Crustacea: Amphipoda) feed on? *Mar Biol* 156:1881-1890.
- Harmelin JG, Vacelet J, Vasseur P (1985) Les grottes sous-marines obscures: un milieu extrême et un remarquable biotope refuge. *Téthys* 11:214-229.
- Horton T, De Broyer C (2015) Urothoidae Bousfield, 1978. In: Horton, T.; Lowry, J. & De Broyer, C. (2013 onwards) World Amphipoda Database. Accessed through: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=101412>
- Iliffe TM (2005) Biodiversity in anchialine caves, in: Culver, D.C., White, W.B., (Eds.), *Encyclopedia of caves*, Elsevier Academic Press, London, pp. 24–30.
- Iliffe TM, Bishop RE (2007) Adaptations to life in Marine Caves, in: Patrick Safran (Ed.), *Fisheries and Aquaculture, Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, Eolss Publishers, Oxford.
- Lourido A, Moreira J, Troncoso JS (2008) Assemblages of peracarid crustaceans in subtidal sediments from the Ría de Aldán (Galicia, NW Spain). *Helgol Mar Res* 62:289–301.
- Oliver JS, Oakden JM, Slattery PN (1982) Phoxocephalid amphipod crustaceans as predators on larvae and juveniles in marine soft-bottom communities. *Mar Ecol Prog Ser* 7:179-184.
- Parravicini V, Guidetti P, Morri C, Montefalcone M, Donato M, Bianchi CN (2010) Consequences of sea water temperature anomalies on a Mediterranean submarine cave ecosystem. *Est Coast Shelf Sci* 86(2):276-282.
- Pohlman JW, Iliffe TM, Cifuentes LA (1997) A stable isotope study of organic cycling and the ecology of an anchialine cave ecosystem. *Mar Ecol Progr Ser* 155:17-27.
- Prato E, Biandolino F (2005) Amphipod biodiversity of shallow water in the Taranto seas (north-western Ionian Sea). *J Mar Biol Assoc UK* 85:333–338.
- Romero A (2009) *Cave Biology, life in darkness*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Ros M, Tierno de Figueroa JM, Guerra-García JM, Navarro-Barranco C, Lacerda MB, Vázquez-Luis M, Masunari S (2014) Exploring trophic strategies of exotic caprellids (Crustacea: Amphipoda): comparison between habitat types and native vs introduced distribution ranges. *Est Coast Shelf Sci* 139:88-98.
- Ruffo S (1982-1998) *The Amphipoda of the Mediterranean: Parts 1-4- Mém Inst Océanogr Monaco* 13:1-959.
- Scipione MB (1989) Comportamento trofico dei Crostacei Anfipodi in alcuni sistemi bentonici costieri. *Oebalia* 15(1):249-260.
- Stewart KW, Stark BP (2002) *Nymphs of North American stonefly genera (Plecoptera)*. Second edition. Caddis press, Columbus, Ohio.
- Tierno de Figueroa JM, Vera A, López-Rodríguez MJ (2006) Adult and nymphal feeding in the stonefly species *Antarctoperla michaelsoni* and *Limnoperla jaffueli* from Central Chile (Plecoptera, Gripopterygidae). *Entom Gen* 29(1):39-45.

-
- Underwood AJ, Chapman MG, Richards SA (2002) GMAV-5 for Windows. An analysis of variance programme. Centre for Research on Ecological Impacts of Coastal Cities, Marine Ecology Laboratories, University of Sydney, Australia.
- Vacelet J, Boury-Esnault N, Harmelin JG (1994) Hexactinellid cave, a unique deep-sea habitat in the scuba zone. *Deep-Sea Res* 41(7):965-973.
- Vader W, Horton T, Lowry J (2015) Bathyporeiidae d'Udekem d'Acoz, 2011. In: Horton, T.; Lowry, J. & De Broyer, C. (2013 onwards) World Amphipoda Database. Accessed through: <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=533675>
- Vázquez-Luis M, Borg JA, Sanchez-Jerez P, Png L, Carvallo M, Bayle-Sempere JT (2009) Why amphipods prefer the new available habitat built by *C.recemos*?: a field experiment in Mediterranean Sea. International Symposium on Marine Sciences, University of Alicante.
- Vázquez-Luis M, Sanchez-Jerez P, Bayle-Sempere JT (2012) Does the invasion of *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* affect the feeding habits of amphipods (Crustacea: Amphipoda)? *J Mar Biol Assoc UK* 93(1):87-94.
- Walkley A, Black IA (1934) An examination of Degtjareff method for determine soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci* 37:29-37.

6

DISCUSIÓN GENERAL



Parte de los contenidos han sido adaptados de:

- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2014) Unnoticed inhabitants of marine caves: amphipod assemblages in caves of the Alboran Sea. Proceedings of the First Symposium on the Conservation of Dark Habitats, Portorož (Slovenia):51-56.
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, Florido M, García-Gómez JC (2015) Amphipod community associated with invertebrate hosts in a Mediterranean marine cave. Marine Biodiversity, DOI 10.1007/s12526-015-0328-6.

En los capítulos anteriores ya se ha realizado la discusión por separado de los principales resultados obtenidos. Sin embargo, dada la variedad de ambientes muestreados (sustrato duro, blando y estructuras artificiales), las diferencias observadas en cuanto a composición de especies y patrones ecológicos, así como los diferentes objetivos y enfoques de cada uno de los capítulos (patrones espaciales, temporales, estudios descriptivos, trabajos experimentales, etc.), consideramos interesante hacer un balance global donde se relacionen los principales resultados obtenidos en cada uno de los capítulos para obtener así una imagen más clara de las principales aportaciones de la presente tesis doctoral.

ANFÍPODOS DEL MAR DE ALBORÁN.

Por tratarse de un campo donde el número de estudios es relativamente escaso, un importante componente de esta tesis doctoral se basa en el estudio descriptivo de la fauna presente. Por ello, resulta obvio preguntarse: ¿En qué grado ha supuesto este trabajo una mejora en el conocimiento existente de las especies de anfípodos presentes en el hábitat y la zona de estudio?

Con respecto a cuevas submarinas, nuestros trabajos constituyen la primera cita en este hábitat para muchas de las especies encontradas, lo cual no es de extrañar dado el escaso número de estudios previos. Las siguientes especies sí han sido citadas en cuevas submarinas por Ruffo (1959), Ledoyer (1965), True (1970) o Scipione et al (1981): *Apocorophium acutum*, *Dexamine spiniventris*, *Dexamine spinosa*, *Tritaeta gibbosa*, *Erichthonius punctatus*, *Leucothoe spinicarpa*, *Liljeborgia dellavallei*, *Pseudoprotella phasma*, *Ischyrocerus inexpectatus*, *Stenothoe dollfusi*, *Maera inaequipes*, *Lembos websteri* y *Leptocheirus pectinatus*.

La contribución de la tesis doctoral al número de especies conocidas en el Mar de Alborán resulta más complicado de evaluar ya que no se disponen de listados que recopilen las especies de anfípodos citadas en la región. A pesar de las particularidades ecológicas y el interés biogeográfico del Mar de Alborán (ya comentado en anteriores capítulos), la fauna de anfípodos presentes en esta área había sido muy escasamente estudiada hasta fechas relativamente recientes. Una revisión de las citas bibliográficas para anfípodos del Mar Mediterráneo, realizada por Bellan-Santini y colaboradores en 1982 mostraba el Mar de Alborán, y las costas españolas en general, como un área prácticamente inexplorada, en contraste con la numerosos estudios existentes para las costas francesas o el Mar Adriático (Ruffo 1982-1998). Sin embargo, durante las últimas dos décadas el litoral del Sur de la Península Ibérica ha sido objeto de una creciente atención por parte de los investigadores, lo cual ha mejorado rápidamente

• Fotografía página anterior. Comunidad dominada por esponjas incrustantes, braquiópodos y poliquetos tubícolas en la zona interna de la cueva de Cerro Gordo. Luis Sánchez Tocino.

nuestro grado de comprensión en cuanto a la composición, distribución y biología de la fauna de anfípodos en este área. Es por ello que, con el objetivo de evaluar la aportación de la presente tesis doctoral al conocimiento general de la fauna de anfípodos en el Mar de Alboran, se ha realizado una revisión bibliográfica de los principales trabajos publicados con esta temática en revistas internacionales. En lo que respecta al límite occidental del Mar de Alboran, han sido incluidos todos los estudios llevados a cabo al este de Tarifa y Ceuta, ambas inclusive. El límite oriental de este mar se encuentra bien definido por el denominado eje Almería-Orán.

Esta recopilación de citas indica la presencia de al menos 243 especies de anfípodos en el Mar de Alborán, pertenecientes a 49 familias diferentes (tabla 1). Las costas españolas han sido objeto de la gran mayoría de los estudios y las localidades con mayor cantidad de información disponible son las situadas en el Estrecho de Gibraltar (Tarifa, Ceuta y la Bahía de Algeciras), con una gran cantidad de trabajos realizados por Guerra-García, Sánchez-Moyano, Conradi-Barrena y colaboradores (ver figura 1). Al margen de los trabajos realizados en las proximidades de Ceuta y algunas citas antiguas correspondientes a Chevreux y colaboradores para Melilla y Cabo Agua, los únicos estudios faunísticos realizados en la margen sur del Mar de Alborán son los trabajos de Menioui en la región de Nador (1988) y la tesis doctoral de Martí en las islas Chafarinas (1996). Para la región de Argelia, aunque existen varios trabajos realizados en sus costas orientales, desconocemos la existencia de citas o listados de especies al oeste de la ciudad de Orán. En cuanto a los hábitats estudiados, la gran mayoría de las investigaciones se han realizado con especies asociadas a macroalgas o sedimento en aguas someras. Los estudios que tengan en cuenta la fauna asociada a invertebrados bentónicos, especies pelágicas o zonas profundas son muy escasos (ej. Bellan-Santini 1985, Madin 1991 o Terrón-Sigler et al 2014).

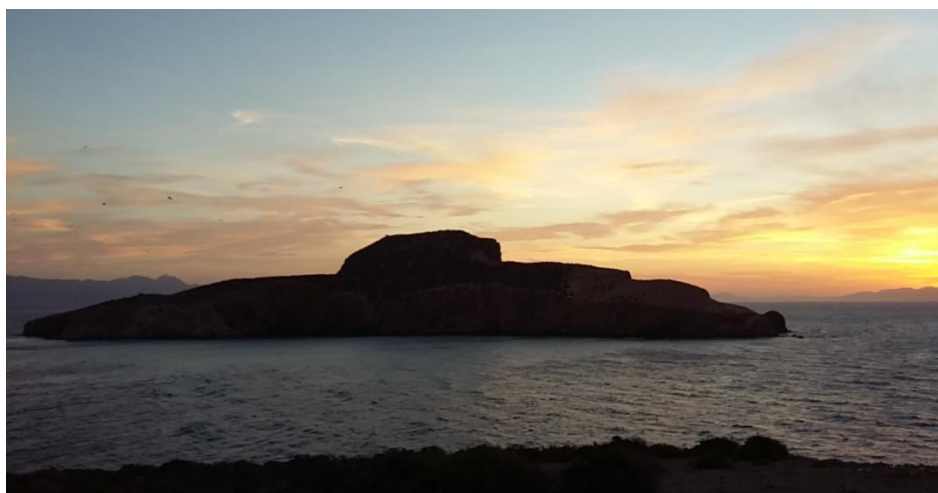


Figura 1. Vista de la isla de Congreso, en el archipiélago de las Chafarinas. Las comunidades de anfípodos asociadas a sustrato blando en las Islas Chafarinas son una de las mejor conocidas de la región. Luis Sánchez Tocino.

Un total de 68 especies de anfípodos han sido citadas en la tesis doctoral, de las cuales 17 constituyen nuevas citas para el Mar de Alborán (lo que implica un incremento del 7% en las especies de anfípodos conocidas para esta región). En cuanto a niveles taxonómicos mayores, las identificaciones realizadas en la presente tesis doctoral solo implican la primera cita de una familia para el Mar de Alborán, la familia Argissidae. Sin embargo, sí se ha mejorado sustancialmente el número de especies conocidas para algunas familias, como es el caso de la familia Phoxocephalidae, para la cual solo existían citas de 6 especies para el Mar de Alborán y ahora se ha ampliado a 9. Además se han encontrado algunos ejemplares de una nueva especie del género *Harpinia*, localizada anteriormente en las islas Chafarinas (Martí et al 1996) pero cuya descripción taxonómica no ha sido realizada formalmente aún. También se han citado 3 nuevas especies de la familia Oedicerotidae para el Mar de Alborán, si bien la mejora en el conocimiento de esta familia es proporcionalmente menor, ya que, con 16 especies, esta familia es una de las que presenta una mayor riqueza de especies, solo por detrás de la familia Caprellidae. El alto número de especies de caprelídidos descritas (28) son fruto del elevado esfuerzo de muestreo dedicado sobre esta familia específica por parte del Dr. Guerra-García y colaboradores, siendo el sur de la Península Ibérica una de las zonas del mundo con un mejor conocimiento de su fauna de caprelídidos.

Al igual que en la presente tesis doctoral, otros trabajos recientes realizados en sustratos blandos someros en la costa este peninsular también se han traducido en el descubrimiento de nuevas especies para el litoral español e incluso en la descripción de nuevas especies de anfípodos (de-la-Ossa-Carretero 2014, 2015). Estos resultados confirman la necesidad de ampliar nuestros datos acerca de las comunidades de anfípodos que habitan el litoral mediterráneo español, incluso para las zonas someras, teóricamente mucho más exploradas y conocidas.

De las 17 especies de anfípodos citadas por primera vez para el Mar de Alborán, dos de ellas están catalogadas como especies invasoras en el Mediterráneo: *Elasmopus pecteniscrus* y *Paracaprella pusilla*. Tal y como se discutió en el capítulo 4, la presencia de *P. pusilla* en nuestra zona de estudio debería ser confirmada. Por su parte, *Elasmopus pecteniscrus* es una especie con una distribución cosmopolita en zonas tropicales y su presencia en el Mediterráneo se asocia a la apertura de canal de Suez. Zenetos et al (2010) la consideran como bien establecida en el Mediterráneo oriental, central y en el Mar Adriático, mientras que su presencia en el Mediterráneo occidental es dudosa. La presencia de esta especie por primera vez en Mar de Alborán junto con su reciente localización también en la costa de Alicante (de-la-Ossa-Carretero 2015) confirma la expansión de esta especie en el Mediterráneo occidental. Si bien el número de ejemplares encontrados de esta especie en el interior de cuevas submarinas ha sido muy escaso, citas como esta reflejan como incluso hábitats relativamente aislados, poco frecuentados y escasamente perturbados también

Tabla 1. Especies de anfípodos citados en el Mar de Alborán. (+) = Primeras citas para el Mar de Alborán de la presente tesis doctoral; (*) = Posteriormente descrita formalmente en de-la-Ossa-Carretero y Martí (2014); Alg = Algas; Ann = Anélidos; ArS = Sustratos artificiales; Asc = Ascidiás; Bry = Briozoos; Cni = Cnidarios; Ech = Equinodermos; Mol = Moluscos; Pel = Pelágica; Raf = Sobre objetos flotantes; Sea = Fanerógamas marinas; Sed = Sedimento; Spo = Esponjas; 1 = Chevreux (1902); 2 = Chevreux y Fage (1925); 3 = Bellan-Santini (1985); 4 = Menioui (1988); Madin (1991); Conradi-Barrena (1995); 7 = Martí (1996); 8 = Sánchez-Moyano y García-Gómez (1998); 9 = Conradi-Barrena et al (2000); 10 = Guerra-García (2001); 11 = Guerra-García y García-Gómez (2004); 12 = Sánchez-Moyano et al (2007); 13 = González et al (2008); 14 = Guerra-García et al (2009a); 15 = Guerra-García et al (2009b); 16 = Guerra-García et al (2011); 17 = Izquierdo y Guerra-García (2011); 18 = Soler y Guerra-García (2011); 19 = Guerra-García et al (2012); 20 = Guerra-García et al (2013); 21 = Guerra-García et al (2014); 22= Ros et al (2014); 23 = Terrón-Sigler et al (2014); INT = Interior de las cuevas submarinas; EXT = Exterior de las cuevas submarinas.

Familia	Especie	Sustrato	Citada por:	Citada en la tesis doctoral
Acidostomatidae	<i>Acidostoma obesum</i>	Sed	3,7	EXT
Ampeliscidae	<i>Ampelisca brevicornis</i>	Sed	6,7,11,21	EXT
	<i>Ampelisca diadema</i>	Alg, Sea, Sed	6,7,12,21	
	<i>Ampelisca gibba</i>	Sed	6	
	<i>Ampelisca latifrons</i>	Sed	7	
	<i>Ampelisca multispinosa</i>	Sed	7	
	<i>Ampelisca remora</i>	Sed	7	
	<i>Ampelisca rubella</i>	Alg, Sed	4,7	
	<i>Ampelisca sarsi</i>	Alg, Sed	6,7	
	<i>Ampelisca serraticaudata</i> (+)	Sed		EXT/INT
	<i>Ampelisca spinifer</i>	Sed	7	
	<i>Ampelisca tenuicornis</i>	Sed	7	
	<i>Ampelisca truncata</i> (+)	Sed		EXT
	<i>Ampelisca typica</i>	Sed	6,7	INT
<i>Ampelisca cf unidentata</i>	Alg	8		
Amphilochoidea	<i>Apolochus picadurus</i>	Alg, Bry	6,8,9,21	
	<i>Apolochus neapolitanus</i>	Alg, Bry, Cni, Sea	4,6,8,14,16,17,19,21	EXT
	<i>Amphilochochus brunneus</i>	Sed	6,21	
	<i>Amphilochochus spencebatei</i> (+)	Cni	23	EXT
	<i>Gitana cf abyssicola</i> (+)	Ann, Bry, Cni		INT
<i>Gitana sarsi</i>	Alg, Bry, Sed	4,9,21	EXT	
Amphitoeidae	<i>Ampithoe ferox</i>	Alg, Bry, Sed	4,6,7,16,17,18,19	
	<i>Ampithoe gammaroides</i>	Alg	17,19	
	<i>Ampithoe helleri</i>	Alg	4	
	<i>Ampithoe ramondi</i>	Alg, Bry, Cni, Sea, Sed	7,8,9,12,16,17,18,21	EXT
	<i>Ampithoe riedli</i>	Alg	4,6,17,19,21	
	<i>Cymadusa crassicornis</i>	Alg	4	
	<i>Sunamphitoe pelagica</i>	Alg, Sed	4,7	
Aoridae	<i>Aora gracilis</i>	Sed	6,7	
	<i>Aora spinicornis</i>	Alg, Bry, Sed	8,9,11,21	
	<i>Autonoe rubromaculatus</i>	Bry	6	
	<i>Autonoe spiniventris</i>	Alg, Bry, Cni, Sed	66,18,23	EXT
	<i>Lembos websteri</i>	Alg, Ann, ArS, Cni, Bry, Sea, Spo	9,12,17,21,23	EXT/INT
	<i>Microdeutopus algicola</i>	Sed	6,7	INT
	<i>Microdeutopus armatus</i>	Alg, Cni, Sed	6,7,8,23	
	<i>Microdeutopus chellifer</i>	Alg	4,6,8,16	
	<i>Microdeutopus obtusatus</i>	Alg	4,14	
	<i>Microdeutopus similis</i>	Alg	4	
	<i>Microdeutopus stationis</i>	Alg, Sed	6,7,8	
	<i>Microdeutopus versiculatus</i>	Alg, Sea, Sed	6,7,8,12,21	
	<i>Tethylembos viquieri</i>	Alg, Sea	6,8	
Argissidae	<i>Argissa hamatipes</i> (+)	Sed		EXT
Atylidae	<i>Atylus massiliensis</i>	Alg	16	
	<i>Atylus vedlomensis</i>	Sed	6,11,21	
	<i>Nototropis guttatus</i>	Alg, Sed	4,7	
	<i>Nototropis swammerdamei</i>	Sed	6	
Bathyporeiidae	<i>Bathyporeia guilliamsoniana</i>	Sed	6,11,21	EXT
	<i>Bathyporeia lindstromi</i>	Sed	21	
	<i>Bathyporeia megalops</i>	Sed	6	
	<i>Bathyporeia nana</i>	Sed	6	
Brachyscelidae	<i>Brachyscelus cruscolum</i>	Pel	5	
Calliopiidae	<i>Apherusa alacris</i>	Alg	4,6,21	
	<i>Apherusa bispinosa</i>	Alg, Bry, Sed	6,7,8,9,21	
	<i>Apherusa chiereghinii</i>	Alg, Bry	6,9,18,19	
	<i>Apherusa mediterranea</i>	Alg	4,14,16,17,18,19	

Familia	Especie	Sustrato	Citada por:	Citada en la tesis doctoral	
Caprellidae	<i>Caprella acanthifera</i>	Alg, Asc, Bry, Cni, Sea, Spo	4,8,9,10,13,15,16,17,18,19,21,23		
	<i>Caprella andreae</i>	Raf	21		
	<i>Caprella cavedinae</i>	Cni	10		
	<i>Caprella ceutiae</i>	Cni	10		
	<i>Caprella danilevskii</i>	Alg	10,21		
	<i>Caprella dilatata</i>	Alg	4,1		
	<i>Caprella equilibra</i>	Bry, Sed	7,9,16,21		
	<i>Caprella erethizon</i>	Asc, Cni	10,21		
	<i>Caprella fretensis</i>	Alg	10		
	<i>Caprella grandimana</i>	Alg, Cni	8,10,14,15,16,17,18,19,21,23		
	<i>Caprella hirsuta</i>	Alg, Sed	4,7,10,14,15,17,18,21		
	<i>Caprella liparotensis</i>	Alg, Cni	4,8,10,14,15,16,17,18,21		
	<i>Caprella monai</i>	Cni	10		
	<i>Caprella mitis</i>	Alg	8		
	<i>Caprella penantis</i>	Alg, Bry, Cni	4,8,9,10,14,15,16,17,18,19,21,23		
	<i>Caprella sabulensis</i>	Sed	10,2,21		
	<i>Caprella santosrosai</i>	Bry, Bry, Cni, Spo	9,1,21		
	<i>Caprella scaura</i>	Alg, Bry, Cni	22		
	<i>Caprella takeuchii</i>	Alg	10		
	<i>Caprella tuberculata</i>	Alg, Cni	10,21		
	<i>Liropus elongatus</i>	Sed	7		
	<i>Paracaprella cf pusilla (+)</i>	ArS		EXT	
	<i>Pariambus typicus</i>	Alg, Ech, Sea, Sed	8,10,11,12,13,20,21	EXT	
	<i>Pedoculina garciagomezi</i>	Alg, Bry	8,9,10,21		
	<i>Phthisica marina</i>	Alg, Ann, Asc, Bry, Cni, Sea, Sed	7,8,9,10,11,12,13,20,21,23	EXT/INT	
	<i>Pseudolirius kroyeri</i>	Sed	7,2,21	EXT/INT	
<i>Pseudoprotella inermis</i>	Cni	10			
<i>Pseudoprotella phasma</i>	Alg, Asc, Bry, Cni, Sea, Sed	7,8,9,11,13,17,18,21,23	EXT/INT		
Cheirocratidae	<i>Cheirocratus sundevalli</i>	Alg, Sed	6,8,11,21	EXT	
Colomastigidae	<i>Colomastix pusilla</i>	Alg, Bry	4,6,8,9,21		
Corophiidae	<i>Apocorophium acutum</i>	Alg, Bry, Cni, Sed	4,6,7,8,9,21,23	EXT/INT	
	<i>Apocorophium orientale</i>	Sed	4,6		
	<i>Medicorophium annulatum</i>	Alg, Sea, Sed	4,6,7,11,12,21		
	<i>Medicorophium runcicorne</i>	Sea, Sed	6,7,11,21		
	<i>Monocorophium acherusicum</i>	Alg, Sed	4,6		
	<i>Monocorophium insidiosum</i>	Alg, Bry, Mol	4,6		
	<i>Monocorophium sextonae</i>	Alg, Bry, Sed	6,7,8,9,11		
	<i>Leptocheirus bispinosus (+)</i>	ArS, Cni		INT	
	<i>Leptocheirus hirsutimanus</i>	Sed	6,7,11,21	EXT	
	<i>Leptocheirus longimanus</i>	Cni, Sed	11	INT	
	<i>Leptocheirus mariae</i>	Sed	6,7		
	<i>Leptocheirus pectinatus</i>	ArS, Sed	6,7,8	EXT/INT	
	<i>Leptocheirus pilosus</i>	Sed	6		
Cressidae	<i>Cressa cristata</i>	Alg	6,8,21		
	<i>Cressa mediterranea</i>	Alg, Bry	6,8,9,21		
Cyproideidae	<i>Peltocoxa gibbosa</i>	Bry, Alg	6,8,9,21		
	<i>Peltocoxa marioni</i>	Bry, Alg, Sed	6,9,21		
Dexaminiidae	<i>Dexamine spiniventris</i>	Sed, Alg, Bry, Cni	4,6,7,8,9,18,21	EXT/INT	
	<i>Dexamine spinosa</i>	Sed, Alg, Bry, Mol, Cni	4,6,7,8,9,11,14,21	EXT/INT	
	<i>Guernea (Guernea) coalita</i>	Sed, Alg	4,6,7,8,9,16,21	EXT	
	<i>Tritaeata gibbosa</i>	Bry, Alg, Spo	6,8,9,21	INT	
Eriopisidae	<i>Eriopisa elongata</i>	Sed	3		
	<i>Eriopisella ruffoi</i>	Sed	7		
Eusiridae	<i>Rhachotropis caeca</i>	Sed	3		
Gammaridae	<i>Gammarus insensibilis</i>	Alg, Mol, Sed	4,6		
Haustoriidae	<i>Haustorius sp.</i>	Sed	6		
Hyalidae	<i>Apothyale cf prevostii</i>	Alg	16		
	<i>Hyalae camptonyx</i>	Alg	4,6,14,16		
	<i>Hyalae crassipes</i>	Alg	4,6		
	<i>Hyalae perieri</i>	Alg, Bry	4,6,9,14,16,17,18,19,21		
	<i>Hyalae pontica</i>	Alg	14,16,17,19,21		
	<i>Hyalae schmidtii</i>	Alg, Mol, Sed	4,6,7,8,14,16,17,18,19,21		
	<i>Hyalae stebbingi</i>	Alg	14,16,17,19,21		
	<i>Parhyale eburnea</i>	Alg	14		
	<i>Parhyalella richardi</i>	Sea	1		
	<i>Serejohyale spinidactylus</i>	Alg	16,21		
	Iphimediidae	<i>Coboldus nitior</i>	Alg	6	
<i>Iphimedia brachygnatha</i>		Alg	6		
<i>Iphimedia minuta</i>		Alg, Bry, Sed	6,7,8,9,21		
<i>Iphimedia obesa</i>		Alg	6		
<i>Iphimedia vicina</i>		Bry	6		
Ischyroceridae	<i>Erichtonius punctatus</i>	Alg, Bry, Cni, Mol, Sea, Sed	4,6,8,9,12,21	EXT/INT	
	<i>Ischyrocerus inexpectatus</i>	Alg, Bry, Cni, Sea	4,6,8,9,21	EXT/INT	
	<i>Jassa cadetta</i>	Alg	16,17		
	<i>Jassa falcata</i>	Alg	4,16,17		
	<i>Jassa marmorata</i>	Alg, Bry, Sed	6,7,8,9,14,18,19		
	<i>Jassa ocia</i>	Alg	4,16,17,21		
	<i>Jassa slateryi (+)</i>	ArS		EXT/INT	
	<i>Microjassa cumbrensis</i>	Alg, Bry, Cni	6,9	EXT/INT	
	<i>Parajassa pelagica</i>	Alg	14		
	<i>Siphonoecetes (Centraloecetes) bulbosum</i>	Sed	7(*)		
	<i>Siphonoecetes (Centraloecetes) kroyeranus</i>	Sed	7		
	<i>Siphonoecetes (Siphonoecetes) sabatieri</i>	Sed	11,21	EXT	
	Kamakidae	<i>Cerapopsis longipes</i>	Sed	7	
	Kuriidae	<i>Micropythia carinata</i>	Alg	4	

Familia	Especie	Sustrato	Citada por:	Citada en la tesis doctoral
Leucothoidae	<i>Leucothoe incisa</i>	Sed	7	
	<i>Leucothoe cf liljeborgii</i>	Sed	11	
	<i>Leucothoe oboa</i>	Sed	6,11	EXT/INT
	<i>Leucothoe occulta</i>	Sed	6	
	<i>Leucothoe procera</i>	Sed	7	
	<i>Leucothoe spinicarpa</i>	Alg, Ann, Bry, Cni, Sed	6,7,8,9,21,23	INT
Liljeborgiidae	<i>Idunella nana</i>	Sed	6,11	
	<i>Liljeborgia dellavallei</i>	Cni, Bry, Sed, Spo	7,21,23	EXT/INT
	<i>Liljeborgia psaltrica</i>	Cni	23	
Lysianassidae	<i>Hippomedon massiliensis</i>	Bry, Sed	6,7,9,11,21	EXT/INT
	<i>Hippomedon oculatus</i>	Sed	7,21	
	<i>Lepidepcreum crypticum</i>	Sed	6,11	
	<i>Lepidepcreum longicornis</i>	Alg, Sed	4,7,21	EXT
	<i>Lysianassa costae</i>	Alg, Bry, Sed	4,6,7,8,9,14,16,21	
	<i>Lysianassa insperata</i>	Sed	7	
	<i>Lysianassa pilicornis</i>	Sed	6,7	
	<i>Lysianassina longicornis</i>	Bry, Sed	6,7,9	
	<i>Orchomene humilis</i>	Sed	7	
	<i>Paracentromedon crenulatus</i>	Sed	3	
	<i>Socarnes filicornis</i>	Sed	21	
	<i>Tryphosa nana</i>	Sed	6,7	
	<i>Tryphosella minima</i>	Sed	7,21	
	<i>Tryphosella simillima (+)</i>	Sed		EXT
	<i>Tryphosites longipes</i>	Sed	6,7,11	
	Maeridae	<i>Animoceradocus semiserratus</i>	Sed	7,21
<i>Ceradocus orchestipes</i>		Bry	6,9	
<i>Elasmopus pecteniscus (+)</i>		Bry		INT
<i>Elasmopus pocillimanus</i>		Alg, Cni	4,14,16,17,18,19,21,23	
<i>Elasmopus rapax</i>		Alg, ArS, Mol	4,17	EXT
<i>Elasmopus vachoni</i>		Alg, Cni, Sed	7,16,17,19,21	EXT
<i>Maera grossimana</i>		Alg, Mol, Sed	4,6,7,21	
<i>Maera hirondelei</i>		Sed	7	
<i>Maera inaequipes</i>		Alg, ArS Bry, Cni, Sed, Spo	4,6,7,9,14,18	EXT/INT
<i>Maera revelata</i>		Sed	7	
<i>Othomaera othonis</i>		Sed	7,21	
Megaluropidae	<i>Megaluropus massiliensis</i>	Sed	2,6,21	
	<i>Megaluropus monasteriensis</i>	Sed	11,21	EXT
Melitidae	<i>Abludomelita gladiosa</i>	Bry, Sed	6,7,9	
	<i>Melita bulla</i>	Alg, Sed	7,18,19	
	<i>Melita coroninii</i>	Alg	4	
	<i>Melita hergensis</i>	Sed	7,21	
	<i>Melita palmata</i>	Alg, Bry, Mol, Sed	4,9,16	
Microprotopidae	<i>Microprotopus</i> sp.	Alg, Bry, Sed	6,8,9,21	EXT
Nuuanuidae	<i>Gammarella fucicola</i>	Alg, ArS, Sea, Sed	4,6,7,8,21	INT
	<i>Gammarella garciai</i>	Sed	7	
Oedicerotidae	<i>Bathymedon acutifrons</i>	Sed	3	
	<i>Bathymedon banyulsensis</i>	Sed	3	
	<i>Deflexilodes acutipes (+)</i>	Sed		INT
	<i>Deflexilodes gibbosus</i>	Sed	7	
	<i>Deflexilodes griseus (+)</i>	Sed	21	EXT/INT
	<i>Monoculodes carinatus</i>	Sed	6,7,11,21	
	<i>Monoculodes latissimanus</i>	Sed	3	
	<i>Monoculodes packardii (+)</i>	Sed		INT
	<i>Oediceropsis brevicornis</i>	Sed	3	
	<i>Perioculodes aequimanus</i>	Alg	4,21	
	<i>Perioculodes longimanus</i>	Sed	6,7,11,21	EXT/INT
	<i>Pontocrates arenarius</i>	Sed	6,7,11	EXT/INT
	<i>Synchelidium haplocheles</i>	Sed	7	EXT/INT
	<i>Synchelidium longidigitatum</i>	Alg, Bry, Sed, Spo	6,7,8,9,11,21	INT
	<i>Synchelidium maculatum</i>	Sed	7,9	
	<i>Westwoodilla caecula</i>	Sed	3,7	
Oxycephalidae	<i>Streetsia porcella</i>	Pel	5	
Pardaliscidae	<i>Pardalisca mediterranea</i>	Sed	3	
Philantidae	<i>Pereionotus testudo</i>	Alg, Cni, Sed	4,6,7,8,21	EXT
Photidae	<i>Gammaropsis maculata</i>	Alg, ArS, Bry, Cni, Sed	6,7,8,9,18,21	EXT/INT
	<i>Gammaropsis ostroumowi</i>	Alg	21	
	<i>Gammaropsis palmata</i>	Alg, Bry	6,8,21	
	<i>Gammaropsis sophiae</i>	Sed	7	
	<i>Megamphopus cornutus</i>	Alg, Bry, Sed	6,8,9	
	<i>Photis lamellifera</i>	Sed	11	
	<i>Photis longicaudata</i>	Sed	7,11	
	<i>Photis longipes</i>	Alg, Sed	6,8,11,21	EXT/INT
Phoxocephalidae	<i>Harpinia antennaria (+)</i>	Sed	21	EXT/INT
	<i>Harpinia ala (+)</i>	Sed		EXT/INT
	<i>Harpinia crenulata (+)</i>	Sed	21	EXT/INT
	<i>Harpinia dellavallei</i>	Sed	3,7	
	<i>Harpinia pectinata</i>	Sed	7,21	EXT/INT
	<i>Harpinia</i> sp.	Sed	7	INT
	<i>Harpinia truncata</i>	Sed	21	
	<i>Metaphoxus fultoni</i>	Sed	6,21	EXT/INT
<i>Paraphoxus</i> sp.	Sed	6		
Platyscelidae	<i>Platyscelus ovooides</i>	Pel	5	
Pleustidae	<i>Stenopleustes</i> sp.	Bry	6	
Podoceridae	<i>Podocerus variegatus</i>	Alg, Bry	4,6,8,9,14,17,21	
Pontogeneiidae	<i>Fusiroides dellavallei</i>	Alg, Bry, Cni, Sed	6,7,8,9,21,23	EXT/INT

Familia	Especie	Sustrato	Citada por:	Citada en la tesis doctoral
Scopelocheiridae	<i>Scopelocheirus polymedus</i>	Sed	3	
Stegocephalidae	<i>Andaniexis mimonectes</i>	Sed	3	
	<i>Stegocephalooides christianiensis</i>	Sed	3	
Stenothoidae	<i>Stenothoe cavimana</i> (+)	Cni	23	INT
	<i>Stenothoe dollfusi</i>	Alg, Ann, ArS, Bry, Cni, Sed	6,7,8,9,16,21	EXT/INT
	<i>Stenothoe eduardi</i>	Bry	6	
	<i>Stenothoe gallensis</i>	Alg, Sed	4,6,18	
	<i>Stenothoe marina</i>	Alg	4	
	<i>Stenothoe monoculoides</i>	Alg, Bry, Cni, Sed	4,6,7,8,9,14,16,17,19,21,23	
	<i>Stenothoe tergestina</i>	Alg, ArS, Bry	4,6,9,14,16,17,19,21	EXT/INT
Urothoidae	<i>Urothoe elegans</i>	Alg, Sed	4,11,21	EXT/INT
	<i>Urothoe grimaldii</i>	Sed	2,7,21	
	<i>Urothoe hesperiae</i>	Sed	6	
	<i>Urothoe intermedia</i>	Sed	21	
	<i>Urothoe marina</i>	Sed	7	
	<i>Urothoe poseidonis</i>	Sed	7	
	<i>Urothoe pulchella</i>	Sed	2,7	
	<i>Talitrus saltator</i>	Sed	6,11	

pueden ver amenazada su biodiversidad por el creciente número de especies invasoras. Un reciente censo para el Mar Mediterráneo pone de manifiesto la presencia de al menos 70 especies invasoras de peces, crustáceos, tunicados, moluscos, cnidarios, briozoos, macroalgas y poliquetos en cuevas submarinas (Gerovasileiou et al 2015). La mayor parte de estas especies se distribuyen por el Mediterráneo oriental, son de origen lessepsiano y han sido observadas principalmente en la entrada y las zonas más externas de las cuevas. Aunque las condiciones limitantes en el interior probablemente dificultan el asentamiento de especies invasoras oportunistas, se requiere aún mucha más información para poder evaluar la susceptibilidad de estos ecosistemas a las invasiones marinas.

Además de las 2 especies exóticas observadas durante la tesis doctoral, nuestra revisión bibliográfica indica la presencia de otras tres especies de anfípodos alóctonos en el Mar de Alborán; *Caprella scaura*, *Photis lamellifera* y *Stenothoe gallensis*. De todos ellos, es el caprelido *Caprella scaura* para el que se dispone de una mayor información acerca de su distribución en el Mar de Alborán (actualmente restringida solo a ambientes portuarios) (Ros et al 2014). Aunque Zenetos et al (2010) cuestionan su presencia en el Mediterráneo occidental, *Stenothoe gallensis* parece ser una especie bien establecida en el Mar de Alborán, habiendo sido localizada por Menioui en la costa de Nador en 1988, por Conradi et al (1995) en la Bahía de Algeciras y por Soler y Guerra-García (2011) en Torreguadiaro y Maro-Cerro Gordo. La presencia de *Photis lamellifera* en la costa de Ceuta podría considerarse dudosa y debería ser confirmada, dado al escaso número de ejemplares encontrados y por tratarse de una especie de origen lessepsiano y cuyas únicas citas en el Mar Mediterráneo se limitan a las costas próximas al Canal del Suez. Muchas de las citas disponibles para anfípodos en la literatura pertenecen a trabajos ecológicos, donde es frecuente la presencia de errores en grupos con una taxonomía tan compleja como la de este grupo. Estos errores, unidos a la frecuente falta de información, determinan que en muchos casos sea difícil conocer los rangos nativos de distribución de las especies y, por tanto, poder evaluar el carácter nativo o exótico de muchas especies. Los listados disponibles que citan

especies introducidas de anfípodos habitualmente se engloban dentro de estudios más generalistas, por lo que tienen poco en cuenta esta problemática. Son escasos los estudios especializados y fiables centrados en especies invasoras de anfípodos, y el resultado de ello es una creciente confusión en cuanto a la existencia y distribución de estas especies.

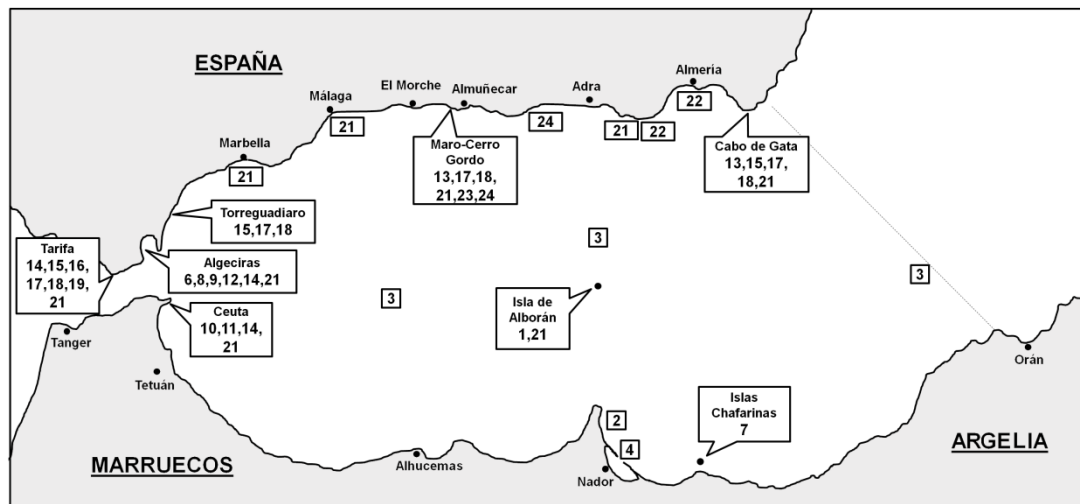


Figura 2. Localización de los estudios realizados en el Mar de Alborán donde son citadas especies de anfípodos. 1 = Chevreux (1902); 2 = Chevreux y Fage (1925); 3 = Bellan-Santini (1985); 4 = Menioui (1988); Conradi-Barrena (1995); 7 = Martí (1996); 8 = Sánchez-Moyano y García-Gómez (1998); 9 = Conradi-Barrena et al (2000); 10 = Guerra-García (2001); 11 = Guerra-García y García-Gómez (2004); 12 = Sánchez-Moyano et al (2007); 13 = González et al (2008); 14 = Guerra-García et al (2009a); 15 = Guerra-García et al (2009b); 16 = Guerra-García et al (2011); 17 = Izquierdo y Guerra-García (2011); 18 = Soler y Guerra-García (2011); 19 = Guerra-García et al (2012); 21 = Guerra-García et al (2014); 22 = Ros et al (2014); 23 = Terrón-Sigler et al (2014); 24 = Presente tesis doctoral. Desconocemos la localización exacta de las muestras obtenidas en Madin (1991). El estudio de Guerra-García et al (2013) comprende todo el litoral del sur peninsular.

Obviamente, estos problemas con las identificaciones no sólo se limitan a especies exóticas. Como ejemplo del alto grado de confusión existente para otros grupos podemos citar a otra de las especies por primera vez citadas para el Mar de Alborán en la presente tesis doctoral: El gammárido *Jassa slateryi*. Dada la abundancia de ejemplares observada (capítulo 4), resulta llamativo que la presencia de esta especie haya pasado desapercibida en estudios previos. Otros 11 estudios han encontrado especies de género *Jassa* en el Mar de Alborán, siendo *Jassa marmorata* la especie más citada (Tabla 1). La mayoría de estas referencias son anteriores a la descripción en el Mediterráneo de una nueva especie de *Jassa*: *Jassa cadetta* (Krapp et al 2008). La morfología de esta especie, posteriormente citada también en el Mar de Alborán, es muy similar a la de *Jassa marmorata*. De hecho, fueron análisis del cariotipo de algunos ejemplares los que pusieron de manifiesto la existencia de esta nueva especie (Krapp et al 2008). Probablemente debido a la ausencia de citas de

Jassa slateryi en el Mediterráneo, en la descripción de *Jassa cadetta* no se realizaron comparaciones con *Jassa slateryi*, a pesar de que la morfología de esta última es idéntica a la de *Jassa cadetta* (razón por la cual algunos autores han puesto en duda la validez de *Jassa cadetta*; J. Beermann comunicación personal). La identificación de las especies de este género es compleja debido al elevado grado de variabilidad morfológica que presentan a lo largo de su desarrollo, pudiendo distinguirse numerosos estados desde su fase juvenil hasta la etapa de hiperadulto. Este hecho, unido a la enorme similitud entre las especies y la ausencia de *Jassa slateryi* en las claves dicotómicas disponibles para el Mediterráneo nos hacen sospechar que probablemente muchas de las identificaciones atribuidas a otras especies de *Jassa* en el Mar de Alborán pueden corresponder en realidad a *Jassa slateryi*.

Probablemente sean muchas las especies de anfípodos presentes en el Mar de Alborán de las que aún desconocemos su existencia, muchas de las cuales estarán presentes en las numerosas cuevas submarinas que aún permanecen sin explorar en la región. Tal y como hemos visto, las cuevas submarinas presentan una fauna particular y nos permiten localizar especies asociadas a los medios profundos aún poco conocidos. Sin embargo, considerando un posible objetivo de mejorar nuestro conocimiento del número de especies de anfípodos presentes en el Mar de Alborán, la estrategia más efectiva no sería la de explorar estos hábitats poco accesibles y difíciles de muestrear. Estudios previos han puesto de manifiesto las grandes diferencias biológicas e hidrológicas entre el norte y el sur del Mar de Alborán (Tintoré et al 1990, Guerra García et al 2009a), por lo que probablemente baste con aumentar los esfuerzos de muestreo en comunidades intermareales o submareales someras del norte de Marruecos y Argelia (aún muy poco conocidas) para ver incrementado rápidamente el número de especies de anfípodos presentes en este área de estudio.

IMPORTANCIA DE LOS ANFÍPODOS EN CUEVAS SUBMARINAS

A lo largo de los capítulos anteriores hemos citado numerosos ejemplos de estudios que indican la relevancia del papel desempeñado por los anfípodos a la hora de definir la estructura y el funcionamiento de las comunidades que habitan, pero ninguno de estos trabajos habían sido realizados en cuevas submarinas. Una primera aproximación para evaluar su importancia es conocer cómo de abundantes son los anfípodos dentro de estos hábitats. En este sentido, la figura 3 nos resume los resultados obtenidos durante la tesis doctoral en relación a los grupos dominantes en cada uno de los sustratos muestreados en el interior y exterior de las cuevas submarinas. Los artrópodos fueron con diferencia el grupo más abundante de entre los filos que componían la infauna o epifauna móvil presente en sustratos artificiales, invertebrados sésiles y los sedimentos de las zonas externas próximas a las cuevas muestreadas. Con la excepción de algunos picnogónidos, la práctica totalidad de los anfípodos

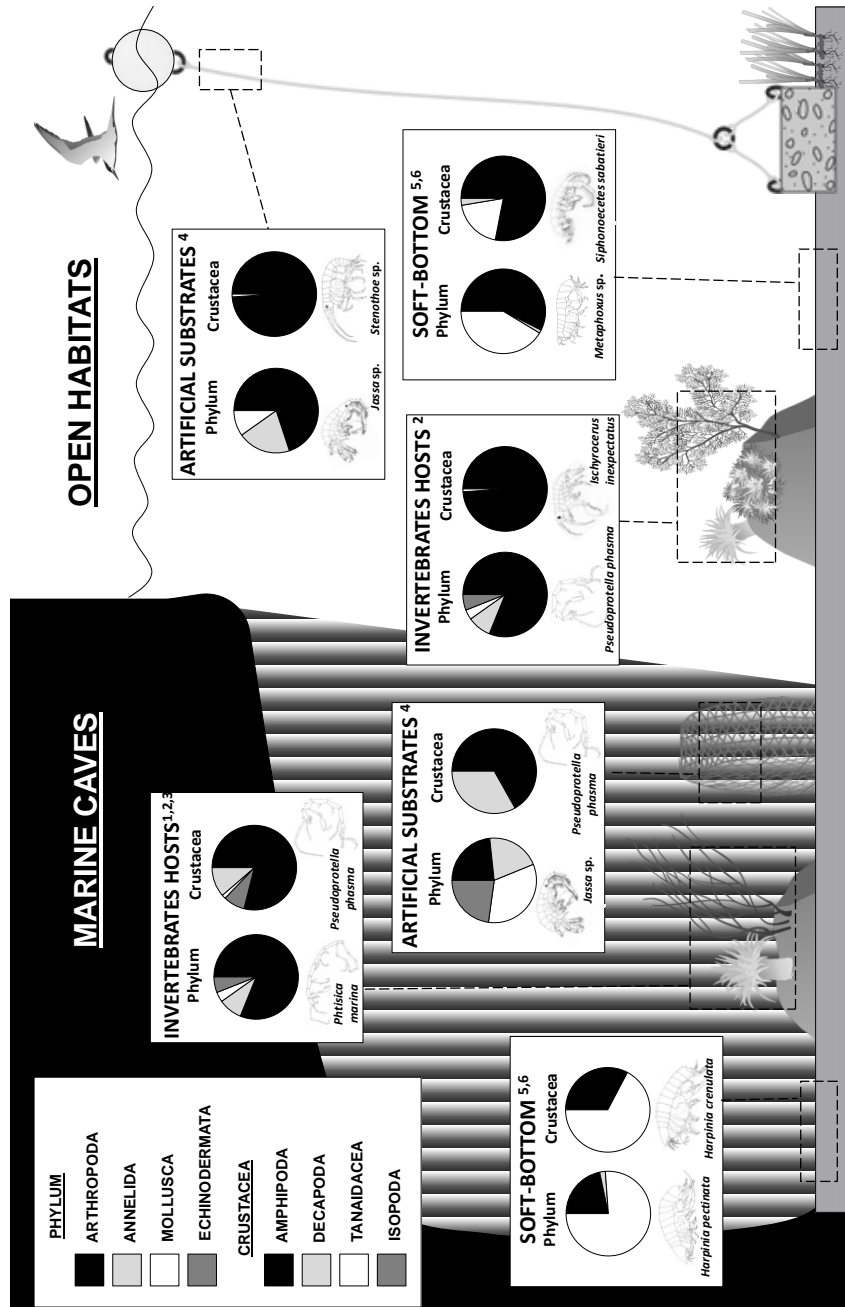


Figura 3. Resumen de algunos descriptores (abundancia relativa de los filos y ordenes de crustáceos, así como las especies de anfípodos dominantes) de la fauna móvil asociada a sustratos blandos, invertebrados bentónicos y sustratos artificiales tanto en el interior de las cuevas como en los hábitats abiertos adyacentes.

identificados fueron crustáceos, entre los cuales dominaban claramente los anfípodos (este grupo suponía más del 95% de los crustáceos encontrados en sustratos artificiales y sobre invertebrados sésiles). La abundancia relativa de los anfípodos dentro de las cuevas era menor que la observada en el exterior de ellas y dependía en mayor medida del hábitat estudiado. Su menor grado de representación fue observado en los sedimentos cavernícolas, donde el filo dominante era el de los moluscos (75% de la macrofauna muestreada) y el orden más abundante entre los crustáceos era el de los tanaidáceos. Sin embargo, tal y como observamos en el capítulo 2, la variabilidad observada en los sedimentos era muy alta, de forma que se han encontrado cuevas donde los anfípodos sí eran el grupo de crustáceos más abundante. Los artrópodos tampoco eran dominantes sobre sustratos artificiales (su porcentaje era similar al de moluscos, equinodermos o anélidos), pero los anfípodos sí fueron el orden de crustáceos con mayor representación. Finalmente, fue tan solo sobre invertebrados sésiles donde se observó una clara dominancia tanto del filo Arthropoda como del orden Amphipoda.

De esta manera, aunque su abundancia pueda ser muy variable en función del sustrato o la cueva considerada, podemos considerar que, en términos generales, los anfípodos son un grupo bien representado dentro de la fauna que habita las cuevas submarinas, constituyendo unos de los grupos principales de entre los que componen la macrofauna móvil asociada a sustratos duros y blandos.

No obstante, que sean un grupo dominante en términos de abundancia no tiene porqué implicar que su papel en el funcionamiento de estos hábitats sea especialmente relevante. La biomasa que constituyen este u otros grupos en estos ambientes aún no ha sido estudiada pero, debido a su reducido tamaño, sus representaciones en estos términos presumiblemente será inferior a la de otros grupos mucho menos abundantes. Por otro lado, no existen modelos tróficos para cuevas submarinas y el número e importancia de las interacciones entre grupos taxonómicos aún es muy poco conocido, especialmente para pequeños invertebrados como los anfípodos. Muy recientemente Rastorgueff et al (2015) han establecido un modelo teórico de funcionamiento de las cuevas submarinas del Mediterráneo, identificando cuales son, a priori, los diferentes compartimentos principales a tener en cuenta así como la intensidad de los flujos de materia orgánica dentro de ellos. El estudio se centra en identificar aquellas comunidades o especies que a simple vista son útiles para evaluar la calidad ecológica de las cuevas, razón por la cual los anfípodos u otros taxones de pequeño tamaño no son citados en el trabajo (decápodos y misidáceos son los únicos crustáceos incluidos). Sin embargo, este y otros estudios sí comentan el presumible papel relevante que pequeños grupos de organismos detritívoros y omnívoros pueden jugar en las cadenas alimenticias cavernícolas (Russo y Bianchi 2003, Rastorgueff et al 2015). Dada la ausencia de luz, las cadenas tróficas están muy simplificadas y estos pequeños grupos son los únicos elementos capaces de reciclar la

materia orgánica que está atrapada en forma de detritus, permitiendo que esta vuelva a estar disponible para niveles tróficos superiores (Rastorgueff et al 2015, Russo and Bianchi 2003). La pregunta en este caso es: ¿Son los anfípodos importantes en este sentido? ¿Son muchas las especies que se alimentan de ellos en el interior de las cuevas? Aunque la mayoría de las especies analizadas en el capítulo 5 eran carnívoras, muchas otras de las especies observadas en la tesis siguen una dieta omnívora y detritívora. En cuanto a su papel como presas, los principales grupos que se alimentan de ellos, tales como peces de la familia Sparidae, Labridae o Mullidae, pueden ser observados a la entrada de las cuevas pero claramente su alimentación no está estrechamente ligada a estos hábitats ni depende de los anfípodos presentes en ellos. Estudios previos utilizando isótopos estables han puesto de manifiesto como otras especies depredan activamente pequeños invertebrados en el interior de las cuevas (Rastorgueff et al 2011). Este es el caso del pez cardenal (*Apogon imberbis*), el gobio leopardo (*Thorogobius ephippiatus*) o decápodos como *Stenopus spinosus*, *Palaemon serratus* o *Lysmata* sp. Sin embargo, algunas de estas especies también pueden ser observadas alimentándose en el exterior durante la noche por lo que desconocemos su grado de dependencia de los recursos tróficos en el interior de la cueva. Obviamente, cuanto más específica sea su tipo de alimentación y mayor sea el tiempo que estos predadores pasen alimentándose en el interior de la cueva, más relevante podrá ser el papel que los anfípodos cavernícolas desempeñen en estas poblaciones. Especies como *Thorogobius ephippiatus* (Figura 4), con un claro comportamiento espeleofílico, presentarán una mayor dependencia de estos recursos tróficos.



Figura 4. Gobio leopardo (*Thorogobius ephippiatus*) en el interior de la cueva de Cerro Gordo. Luis Sánchez Tocino.

En el caso de los decápodos del género *Palaemon*, estos pueden ser observados en hábitats abiertos y tradicionalmente se ha asumido que las poblaciones que habitaban cuevas submarinas migraban al exterior durante la noche para alimentarse (tal y como se observa en otros decapodos del género *Homarus*, *Palinurus* o *Scyllarus*). Sin embargo, un estudio de seguimiento llevado a cabo en una cueva submarina a lo largo de un año no detectó la existencia de estas migraciones, de manera que los ejemplares parecían encontrar en el interior de la cueva todo lo que necesitaban para sobrevivir (Denitto et al 2009). Estudios nutricionales de algunas especies del género *Palaemon* han reflejado la importancia de pequeños crustáceos como los anfípodos en su dieta (Guerao 1995, Guerao y Ribera 1996), por lo que es posible que los anfípodos presentes en cuevas supongan una importante fuente de alimento para estas poblaciones cavernícolas. El misidáceo *Harmelinella mariannae* o la esponja carnívora *Asbestopluma hypogea* constituyen dos más de los pocos ejemplos de especies características de cuevas oscuras que se alimentan de pequeños invertebrados móviles y no requieren salir al exterior (Rastorgueff et al 2011, 2015). *Asbestopluma hypogea* exhibe una dieta enormemente variada en la que se incluyen anfípodos, copépodos, misidáceos, poliquetos o isópodos entre otros. Para el caso de *H. mariannae* aún existen pocos datos de su dieta específica pero se le atribuye igualmente una dieta diversa basada principalmente en crustáceos copépodos. La importancia de los anfípodos como recurso puede variar dependiendo de la época del año o la fase de desarrollo de sus predadores. Por ejemplo, las cuevas submarinas desempeñan un importante papel como refugio en las etapas juveniles de *Apogon imberbis*. Posteriores análisis del digestivo de algunos de estos ejemplares indican que ingieren especialmente pequeños anfípodos, por lo que la abundancia de este recurso trófico podría afectar al grado de reclutamiento de estas poblaciones (Rastorgueff et al 2011).

Aunque valiosa, la información que nos aportan estos ejemplos aún es muy limitada. Además, el papel de los anfípodos en los ecosistemas bentónicos no se limita a actuar como presa para otras especies. Como hemos comprobado en el capítulo 5, la mayoría de los anfípodos que habitan el sustrato blando son organismos depredadores. Sin embargo, aún desconocemos muchos factores acerca de la biología de estas poblaciones como para poder evaluar la importancia de estas interacciones (¿Se alimentan los anfípodos exclusivamente en el interior de las cuevas?, ¿Cuáles son sus tasas de captura?, ¿Cómo de abundantes son las poblaciones de sus presas potenciales?...).

PATRONES ECOLÓGICOS ESPACIALES DE LA FAUNA ASOCIADA MÓVIL

Por tratarse de uno de los grupos más abundantes dentro de lo que consideramos como fauna asociada (aquellas especies bentónicas con capacidad de movimiento que habitan sustratos blando o viven asociados a los organismos sésiles

que colonizan los sustratos duros), los anfípodos son un buen grupo de estudio para explorar los patrones ecológicos de estas comunidades hasta ahora pobremente investigadas en cuevas submarinas. A este respecto, ¿Qué conclusiones hemos obtenido de los capítulos anteriores?

Obtener patrones comunes es complicado. La presencia o no de patrones constantes en cuevas submarinas es uno de los aspectos en los que se ha hecho un mayor hincapié y en el que la presente tesis doctoral hace una aportación más significativa. Tanto en el capítulo 2.2 como en el capítulo 3.2 las investigaciones se basaban en el estudio de varias cuevas submarinas y en ambos las conclusiones eran que, tal y como previamente se había puesto de manifiesto en comunidades sésiles (Bussotti et al 2006), la variabilidad entre cuevas era muy alta. Esta elevada heterogeneidad se observa en casi todos los parámetros y sustratos estudiados. En relación a la composición de especies, los análisis estadísticos reflejan que la variabilidad entre las estaciones externas es mucho menor que la existente entre zonas internas. Por ello, salvo algunos patrones comunes como la dominancia de especies del género *Harpinia* en el sedimento o la ausencia de otras especies que claramente no se adaptan bien a los ambientes cavernícolas, resulta difícil predecir cuál será la comunidad de anfípodos que habitarán una cueva submarina.

Sin embargo, en este apartado queremos centrarnos con especial atención en los patrones espaciales observados en variables como la diversidad, el número de especies o la abundancia, así como las causas que los determinan. ¿Podemos afirmar que existe un empobrecimiento de estas comunidades? Para responder a esta cuestión disponemos de los resultados obtenidos en los capítulos 2.1, 2.2, 3.2 y 4, que comprenden un total de 9 cuevas y 3 tipos de sustratos (sedimento, *Eudendrium* sp. y sustratos artificiales). Debido a la reducida longitud de las cuevas consideradas, la mayoría de las muestras fueron tomadas en zonas semioscuras. Los datos existentes para comunidades de cuevas oscuras se limitan exclusivamente a la cueva de Cerro Gordo pero todos reflejan un marcado descenso en todos los parámetros considerados. Con respecto a las secciones semioscuras de las cuevas, la abundancia fue el único parámetro en el que, si bien en la mayoría de los casos los valores observados en las zonas externas fueron superiores, puntualmente se encontró un patrón opuesto al esperado (sedimentos de Cantarriján y Gorgonias, así como en la fauna asociada a *Eudendrium* sp. en la cueva del Jarro y Cerro Gordo). Salvo en el caso de la cueva de Cerro-Gordo, donde esta inversión del patrón general era debido a un pico anormalmente alto en la abundancia de *Pseudoprotella phasma*, el resto de excepciones tienen en común el haberse producido en las cuevas más someras estudiadas en la tesis doctoral (en torno a 5-8 m). Por tanto, cobra más fuerza la hipótesis discutida en el capítulo 2.2, donde planteábamos que las cuevas situadas a poca profundidad podían favorecer mayores abundancias en sus comunidades semioscuras gracias a la protección y estabilidad que estos ambientes proporcionan.

Los patrones observados para diversidad y riqueza de especies fueron mucho más constantes, de manera que aunque las diferencias no fuesen significativas en todas las cuevas muestreadas, los valores de diversidad y riqueza de especies en las zonas internas siempre fueron inferiores a los observados en las zonas externas. En base a todo ello podemos afirmar que, salvo excepciones concretas, el empobrecimiento de las comunidades cavernícolas observado para la fauna sésil también es un fenómeno extrapolable a la infauna y epifauna móvil asociada tanto al sustrato duro como blando en estos ambientes.

La siguiente pregunta por tanto es: ¿Cuáles son las causas de este empobrecimiento? Aunque este ha sido un tema previamente discutido en los capítulos anteriores, consideramos interesante poner aquí en común todos los resultados a fin de obtener una imagen más clara de las posibles causas de estos patrones. En el capítulo 2 se ponía en duda la hipótesis de la limitación en la disponibilidad de recursos tróficos en base a los resultados de materia orgánica presentes en el sedimento de las cuevas submarinas. Sin embargo, el profundo cambio en la estructura trófica posteriormente observado en el capítulo 5 nos indica lo contrario. A pesar de que la materia orgánica presente en los sustratos blandos no es significativamente menor en el interior de las cuevas, las especies detritívoras (dominantes en zonas externas) no están presentes en las zonas internas. Tal y como se sugería en el capítulo 2, quizás es la escasa calidad de la materia orgánica (y no su escasez) la que limita el desarrollo de las comunidades. De hecho, Fichez et al (1991) y Rastorgueff et al (2011) pusieron de manifiesto la menor calidad de la materia orgánica sedimentada y en suspensión en el interior de las cuevas mediante el análisis de su relación C:N. Para el caso de las especies asociadas a sustrato duro, la limitación de recursos tróficos también se postula como la principal causa de la disminución de la abundancia y la riqueza de especies. Las especies herbívoras ven limitada su presencia a las zonas externas y las especies detritívoras también se encuentran desfavorecidas por la menor tasa de sedimentación.

Por otro lado, la ausencia de especies endémicas, así como los datos que muestran la rápida colonización de las zonas internas (capítulo 4) nos indican que estos hábitats no son ambientes tan aislados como en un principio podíamos suponer. Las especies sésiles que presentan fases larvarias de vida planctónica dependen en mayor medida del hidrodinamismo para su dispersión. Muchas especies de anfípodos, a pesar de presentar desarrollo directo, también confían en las corrientes de agua para la colonización de nuevas áreas. En esos casos, la escasa renovación del agua en estos ambientes puede determinar que esas pequeñas distancias (un escala espacial de apenas decenas de metros) supongan una barrera insalvable para algunas especies de anfípodos. Sin embargo, nuestros datos muestran que, aunque su capacidad de dispersión activa (vía natación o "*crawling*") es limitada, parece ser suficiente para colonizar las zonas internas de las cuevas submarinas. Obviamente esta capacidad de

dispersión será variable entre unas especies y otras, de manera que este aislamiento, aunque limitado, probablemente sea responsable de la ausencia de algunas especies. Sin embargo nuestros datos sugieren que en la mayoría de los casos las especies pueden alcanzar estos medios con relativa facilidad, pero son factores posteriores al asentamiento los que dificultan el crecimiento en abundancia de estas poblaciones. Todo apunta por tanto a la limitación trófica como el principal factor responsable del empobrecimiento.

¿SUPONEN LAS CUEVAS SUBMARINAS UN HÁBITAT IMPORTANTE PARA EL MANTENIMIENTO DE LA BIODIVERSIDAD DE ANFÍPODOS EN ECOSISTEMAS COSTEROS?

Tradicionalmente, unos de los principales valores atribuidos a las cuevas submarinas ha sido su interesante composición de especies y su papel como reservorio de biodiversidad (Gerovasileiou et al 2012). Por ejemplo, las cuevas submarinas del Mar Mediterráneo albergan un 46.7% de todas las especies de esponjas presentes en este mar, un 56.4% de los briozoos o un 64.3% de los braquiópodos (Gerovasileiou y Voultziadou 2014). El porcentaje obtenido para anfípodos es considerablemente menor (18.5%), aunque hemos de tener en cuenta que ello también es consecuencia de la enorme variabilidad en los esfuerzos de muestreo e identificación entre grupos taxonómicos.

En la presente tesis doctoral citamos un total de 49 especies de anfípodos en el interior de las cuevas submarinas. Basándonos en la anterior recopilación de citas para el Mar de Alborán, las cuevas muestreadas en el litoral de Granada albergan un 20% de todas las especies presentes, lo cual es un porcentaje relativamente elevado si tenemos en cuenta el esfuerzo de muestreo y la limitada superficie que ocupa nuestra área de estudio. Si consideramos tan solo las especies observadas en ambientes externos durante la tesis doctoral, estas suponen casi un 25% de la fauna de anfípodos del Mar de Alborán, un porcentaje solo ligeramente superior al observado en el interior de las cuevas. Podríamos pensar que estos datos contradicen el supuesto empobrecimiento de las comunidades cavernícolas que hemos mencionado frecuentemente a lo largo de la tesis doctoral. Sin embargo, debemos tener en cuenta que el número de muestras y sustratos estudiados en el interior de las cuevas ha sido superior (el capítulo 2.1, por ejemplo, no considera los sustratos de las zonas externas). Tal y como hemos discutido en el apartado anterior, todos los estudios en los cuales hemos comparado ambas comunidades (exterior vs interior) siempre han reflejado una mayor riqueza de especies fuera de las cuevas. Además, durante la tesis doctoral no se han muestreado ninguno de los sustratos vegetales existentes en las zonas externas (e.j. *Cystoseira*, *Asparagopsis*, *Halopteris* o *Ellisolandia*), para los cuales estudios previos han demostrado que pueden presentar una fauna asociada muy

diversa (ej. Russo 1997, Bedini et al 2014, Tabla 1) . Por tanto, no podemos asegurar que las cuevas submarinas actúen como un reservorio de biodiversidad de anfípodos mejor que el que puedan suponer otros hábitats fotófilos someros (Figura 5).



Figura 5. Comunidad de algas fotófilas dominadas por el alga parda *Halopteris scoparia*. Luis Sánchez Tocino.

Por otro lado, en ninguna de las cuevas muestreadas y ninguno de los sustratos considerados hemos observado fauna endémica de cuevas submarinas. Aunque es cierto que algunas de las especies citadas en nuestro estudio han sido exclusivamente localizadas en el interior de las cuevas submarinas (ej. *Gammarella fucicola*, la cual ha sido localizada en los sedimentos internos de la cueva de la cueva de Cantarriján y Raja de la Mona, así como en los sustratos artificiales dispuestos en todas las zonas internas de Cerro Gordo) en todos los casos se trata de especies que previamente han sido encontradas en ambientes abiertos y nuestras citas generalmente se basan en la observación de individuos aislados (Ruffo 1982-1998, Tabla 1). Las abundancias observadas para estas especies no son muy elevadas por lo que estos patrones pueden ser debidos simplemente al azar. Por tanto, salvo por algunas pocas especies generalmente asociadas a ambientes profundos (*Periocolodes packardi*, *Gitana abyssicola*) las cuevas submarinas no incrementan significativamente el número de especies de anfípodos presentes en ecosistemas costeros someros.

Si hemos llegado a la conclusión de que las comunidades de anfípodos cavernícolas son generalmente comunidades empobrecidas y los elementos que las componen no son especialmente singulares; ¿Implica ello que las cuevas no son ambientes tan singulares y valiosos? ¿Estamos restando importancia a la conservación de estos hábitats? Trataremos estos aspectos en el siguiente apartado.

CONSERVACIÓN

No es necesario volver a citar aquí los estudios previos que demuestran el interés biológico de las cuevas submarinas o los impactos antropogénicos a los que están sometidas. Aunque desconozcamos aún gran parte de los valores ecológicos de estos ambientes, su funcionamiento o su vulnerabilidad ante los impactos, los estudios hasta ahora realizados (ampliamente comentados en anteriores capítulos) justifican sobradamente las medidas de conservación actualmente establecidas para estos hábitats. No obstante, si nos centramos en algunos de los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral podríamos llegar a la conclusión de que los anfípodos presentes en las cuevas de la costa de Granada no suponen un excepcional valor añadido a estos hábitats, al menos en términos de biodiversidad o especies emblemáticas. Obviamente desempeñan un papel dentro de la ecología trófica de estos ambientes pero, al margen de ello, ¿cuál es el interés que los estudios realizados con anfípodos cavernícolas nos aportan en materia de conservación?

En primer lugar, los estudios realizados reflejan la singularidad en la estructura de estas comunidades. A pesar de que no se hayan observado especies exclusivas de estos ambientes, todos los análisis multivariantes indican que las comunidades cavernícolas son diferentes de las observadas fuera. Los resultados no solo muestran la peculiaridad de estos hábitats en comparación con ambientes abiertos, sino también el carácter único de cada cueva de manera independiente. Es en esta combinación única de especies, adaptaciones e interacciones donde se encuentra la principal riqueza ambiental e interés científico de estas comunidades. Las medidas de conservación aplicadas al mantenimiento de los procesos ecológicos, las interacciones y los procesos naturales de evolución de los organismos se encuentran tan justificadas como aquellas destinadas a la conservación de poblaciones de especies concretas o de la biodiversidad en general (Primack 1995).

Por otro lado, los anfípodos han demostrado ser un grupo muy útil para estudiar el funcionamiento de estos ecosistemas. Los estudios de colonización y sucesión realizados han puesto de manifiesto el lento desarrollo de estas comunidades en las zonas más internas, advirtiendo de la posible escasa resiliencia de estos ecosistemas ante perturbaciones externas.

Finalmente, debido a las abundancias observadas, su facilidad de muestreo y su comprobada sensibilidad ante cambios ambientales (analizada en capítulos anteriores) consideramos que los anfípodos constituyen un grupo eficaz y práctico para el estudio de la calidad ambiental de las cuevas submarinas.

Propuesta de medidas de conservación para la cueva de Cerro-Gordo

Todas las cuevas consideradas se encuentran dentro de áreas con algún nivel de protección. Muchas actividades dentro de estas áreas, tales como la pesca, el

fondeo o la construcción de infraestructuras, se encuentran reguladas, lo cual favorece (aunque no garantiza) la conservación de estos hábitats. Algunas de las medidas necesarias para asegurar el buen estado ecológico de los ambientes cavernícolas, así como de los hábitats que los rodean, pasan por medidas a mayor escala. Un ejemplo es el control de fuentes de polución marina, un problema creciente tanto a escala global como regional. Aunque la agricultura y el turismo son los dos principales sectores económicos de la zona de estudio aún existe una escasa regulación de los vertidos agrícolas y urbanos. Localidades adyacentes al Paraje Natural de Maro Cerro-Gordo, como el caso de Nerja, aún no disponen de una estación de depuración de aguas residuales, por lo que los vertidos de sus más de 60.000 habitantes durante la época estival son liberados directamente al mar sin tratar.



Figura 6. Gorgonias (*Leptogorgia* sp. y *Eunicella* sp.) junto a restos de redes de pesca en la entrada del puerto de Marina del Este. Luis Sánchez Tocino.

Por sus especiales características, la conservación de la cueva de Cerro-Gordo tiene un especial interés y se enfrenta a problemas particulares. Los mismos factores que convierten a esta cueva en un punto especialmente atractivo para los científicos también hacen de ella un lugar de interés turístico. La posibilidad de realizar inmersiones dentro del Paraje Natural es uno de los principales reclamos turísticos de los centros de buceo de la zona y, en este sentido, la cueva de Cerro-Gordo (también conocida como Cueva del Sifón) es uno de los puntos de buceo más atractivos.

En anteriores capítulos ya hemos citado algunos de los estudios científicos que recalcan el impacto del buceo recreativo sobre estos ambientes y los beneficios obtenidos de la regulación de estas actividades (Humphreys et al 1999, Di Franco et al 2010, Guarnieri et al 2012). En base a los datos obtenidos en esta tesis doctoral,

¿Podemos estimar cuál es el estado de conservación de la cueva de Cerro-Gordo? y ¿Qué medidas concretas podemos proponer? En el capítulo 2.2 pudimos comprobar que la mayor parte (más del 75%) de los ejemplares de anfípodos que habitaban los sedimentos de cuevas submarinas estaban considerados como especies sensibles a la polución ambiental. Usando los datos obtenidos en el capítulo 2.1 para centrarnos tan solo en la cueva de Cerro Gordo, observamos como el porcentaje de ejemplares sensibles observados en el interior de la cueva fue mayor del 99% y ninguna de las especies encontradas estaba asociada a zonas con baja calidad ambiental, independientemente del índice utilizado (AMBI, BENTIX, MEDOCC) (Borja et al 2000, Simboura y Zenetos 2002, Pinedo y Jordana 2007). Sin embargo, estos resultados han de ser tomados con cautela, dado que la gran mayoría de los anfípodos incluidos en estos índices están considerados dentro de la categoría de especies sensibles. Además, la información que estos datos nos proporcionan es limitada puesto que, si bien los anfípodos han demostrado ser buenos bioindicadores de las condiciones ambientales y los niveles de polución, su respuesta a otros tipos de perturbación puede que no sea tan clara. Serán necesarios aún muchos estudios en este campo si queremos poner a punto métodos de detección y evaluación de impactos ambientales en cuevas submarinas basándonos en la macrofauna asociada.

Otros grupos taxonómicos de los que habitan las cuevas submarinas llevan siendo investigados durante décadas. Sin embargo, no ha sido hasta muy recientemente cuando se ha recopilado esa información y experiencia en la elaboración de un índice para evaluar la calidad ecológica de las cuevas en el Mediterráneo (Rastorgueff et al 2015). Aunque su fiabilidad aún debe ser testada de manera más amplia y existen muchos grupos (tales como los anfípodos) que no son incluidos, el índice ofrece una visión bastante completa puesto que incorpora muchos elementos diferentes de la comunidad así como la importancia relativa de cada uno de ellos. Otras ventajas son la posibilidad de incorporar datos procedentes de distintos tipos de fuentes y la existencia de un índice de confianza que informa de la robustez de las conclusiones obtenidas. Hemos aplicado este índice usando los datos disponibles para la cueva de Cerro-Gordo. Los elementos o aspectos principales en los que se basa el índice son:

- 1-Filtradores pasivos (cobertura de especies).
- 2-Grandes filtradores activos (cobertura de especies)
- 3-Pequeños filtradores activos (cobertura de especies)
- 4-Estratificación tridimensional de la comunidad bentónica (evaluación semicuantitativa de su complejidad)
- 5-Detritívoros y omnívoros (riqueza de especies y densidad de especies objetivo)
- 6-Misidáceos (análisis semicuantitativo de la abundancia)

7-Carnívoros característicos de ambientes cavernícolas (riqueza de especies objetivo)

8-Carnívoros asociados (riqueza de especies objetivo y análisis semicuantitativo de la abundancia)

Los datos para los primeros dos apartados han sido obtenidos del análisis de transectos fotográficos realizados al inicio de la presente tesis doctoral. Por ser la zona con mayor interés para el buceo recreativo, se han considerado las imágenes tomadas en la parte semioscura de la cueva. Los datos de cobertura obtenidos son el resultado de los valores medios del análisis de 48 fotografías (6 fotografías realizadas a 5, 10, 15 y 20 metros de la entrada, tanto en la pared derecha como en la izquierda). El análisis de estas imágenes se realizó siguiendo el método propuesto por Bussotti et al 2006 y Parravacini et al 2009. Carecemos de información para los apartados 3 y 4, mientras que el resto de datos de presencia de determinadas especies detritívoras, carnívoras, etc. se basan en las observaciones realizadas durante los muestreos que formaron parte de la presente tesis doctoral (Figura 7).

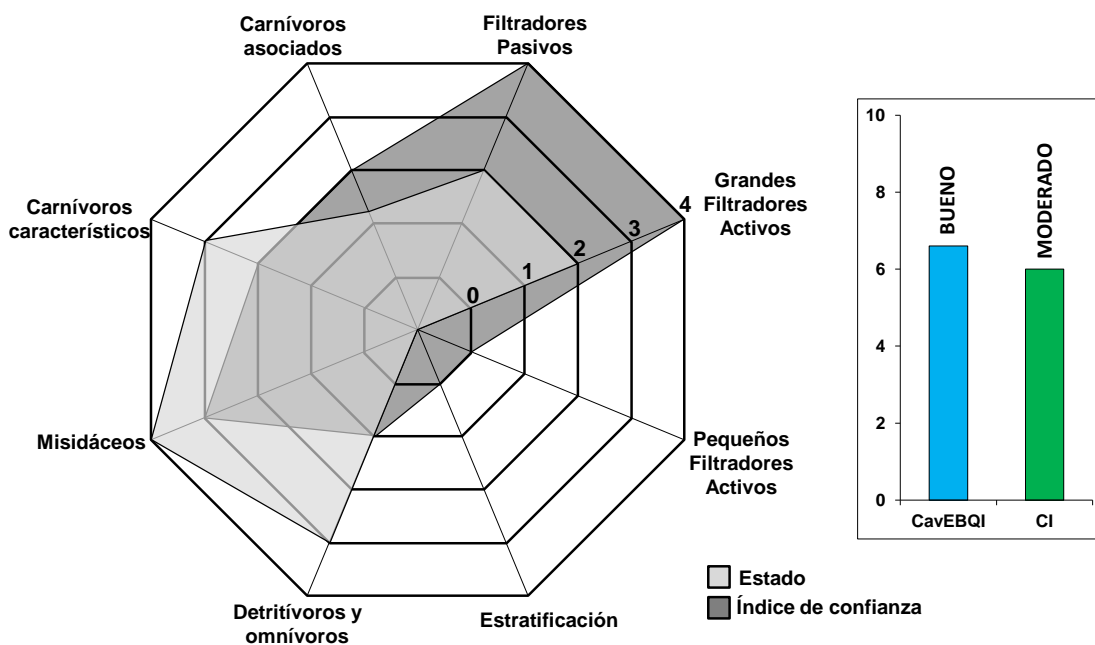


Figura 7. Resultado de la evaluación del estado ecológico de la cueva de Cerro Gordo. El gráfico de la izquierda muestra el estado ecológico y los índices de confianza obtenidos para cada uno de los componentes del ecosistema considerados (escala semicuantitativa de 0 a 4, ver Rastorgueff et al 2015 para más detalles). El gráfico de la derecha indica los resultados totales del índice CavEBQI y los índices de confianza.

Filtradores pasivos y grandes filtradores pasivos presentaron una abundancia moderada, con unos porcentajes de cobertura del 31 y el 26,5% respectivamente. Otros apartados como la diversidad de organismos detritívoros, omnívoros y

carnívoros característicos obtuvieron valoraciones ligeramente superiores mientras que la sección relativa a la abundancia de misidáceos (uno de los aparatados con mayor peso en el índice) presentó el máximo valor de calidad ambiental.

Valores globales por debajo de 2 indican una mala calidad ambiental; entre 2 y 4 son reflejo de una calidad ambiental pobre; entre 4 y 6 es considerado un estado moderado; entre 6 y 8 es indicador de una buena calidad ambiental y finalmente, valores por encima de 8 indican que la cueva submarina presenta una alta calidad ecológica. Por tanto el valor obtenido para la sección semioscura de Cerro Gordo (6,6) nos permite afirmar que esta zona presenta un buen estado de conservación. El valor del coeficiente de confianza es moderado (6), por lo que sería recomendable obtener datos de abundancia de pequeños filtradores pasivos, estratificación y seguir las metodologías propuestas por los autores del índice con el objetivo de tener una comprensión más completa de la comunidad y, por tanto, unas conclusiones más robustas.

Como ya ha sido comentado anteriormente, no faltan ejemplos en la literatura relacionados con el impacto de turismo de buceo masivo sobre comunidades marinas (ej. Tratalos y Austin 2001, Hasler y Ott 2008). De igual manera, los beneficios socioeconómicos relacionados con estas actividades también han sido puestos de manifiesto frecuentemente (ej. Asafu-Adjaye 2008, Vianna et al 2012). Es en las áreas marinas protegidas donde el conflicto entre su uso recreativo y los objetivos conservacionistas es más intenso, por lo que es en estas zonas donde la regulación de las actividades se hace más necesaria (Davis y Tisdell 1996). De acuerdo al recientemente aprobado Plan de Ordenación de los Recursos Naturales del Paraje Natural de Maro-Cerro Gordo (BOJA, 17/3/2015), el desarrollo de actividades de buceo con equipo autónomo queda prohibida en el área de reserva (Cerro-Gordo) y en la Playa del Molino de Papel (Apartado 6.4.7. Actividades de uso público, turismo activo y ecoturismo). Basándonos en los datos obtenidos y las observaciones realizadas durante estos años; ¿Está justificada esta prohibición al buceo recreativo en la cueva de Cerro Gordo? Ciertamente, existen indicios de impactos humanos sobre esta cueva, como el aumento patente en la tasa de sedimentación debido a la resuspensión del sedimento por parte de buceadores (Figura 8). Otro ejemplo es la ausencia o escasez de decápodos como el bogavante, el santiaguillo o la cigarra de mar en estos ambientes, cuya causa más probable sea el exceso de pesca y recolección. Por tanto, es un hecho obvio que esta prohibición determina un menor número de perturbaciones sobre estas comunidades y favorece la conservación de estos ambientes.

Sin embargo, la prohibición del buceo en la cueva es una medida relativamente reciente y los resultados del análisis de calidad ambiental reflejan que, pese a que el submarinismo ha estado permitido de manera regulada durante muchos años, el

estado de conservación de la cueva es aceptable. Algunos sectores podrían argumentar que la prohibición total del acceso a buceadores recreativos es una medida demasiado extrema, mientras que está demostrado que la gestión más adecuada en estos casos suele pasar por una razonable combinación de los intereses conservacionistas, económicos y sociales (Davis y Tisdell 1996). Pese a que, como justificaremos más adelante, consideramos que mantener la actual prohibición sería recomendable al menos a corto-medio plazo, resulta útil plantear una serie de medidas y recomendaciones a tener en cuenta en caso de ser planteada una futura reapertura de la cueva de Cerro Gordo al buceo recreativo:

1- La zona oscura de la cueva debería mantenerse siempre como una zona restringida al buceo recreativo. Tal y como hemos comprobado en la presente tesis doctoral, esta zona presenta una alta estabilidad ambiental (temperatura, hidrodinamismo, etc.) y las singulares comunidades que en ella habitan requieren de un tiempo muy elevado para alcanzar un estado maduro. Es por tanto esperable que la visita frecuente de buceadores pueda alterar el frágil y constable equilibrio existente en estas zonas oscuras. Asimismo, esta es la sección más estrecha, donde existe un mayor riesgo de contacto con los organismos de las paredes y donde se han observado un mayor impacto relacionado con el aumento de las tasas de sedimentación.



Figura 8. Abundante sedimentación en la pared izquierda de la zona oscura de la cueva de Cerro Gordo. Luis Sánchez Tocino.

2- Regulación del buceo recreativo en la entrada y zona semioscura. Nuestros estudios con la comunidad de anfípodos muestran como la singularidad de las comunidades en el área anterior a la gatera no son tan significativamente diferentes como las presentes en la zona oscura. Debido a las grandes dimensiones de

la entrada de la cueva, no existe un elevado aislamiento del medio externo en esta zona y las comunidades se desarrollan de una manera más rápida. Por otro lado, a diferencia de otras cuevas de la región, la sección semioscura de la cueva de Cerro Gordo es muy amplia, lo que permite la presencia y el movimiento de varios submarinistas en su interior sin que exista un riesgo importante de colisión con los organismos situados en las paredes. Además esta es la sección con un mayor atractivo para la mayoría de los submarinistas debido a la menor peligrosidad que entraña y la riqueza de sus comunidades de invertebrados. Existen una serie de limitaciones y medidas especiales que pueden contribuir a minimizar el impacto de estas actividades:

- 2.1- Educación y control por parte de instructores y guías. Varios estudios han analizado el impacto del turismo de buceo en áreas marinas protegidas en base al comportamiento tanto de los turistas como de los responsables que los acompañaban (Barker y Roberts 2004, Luna et al 2009). Estos trabajos comprobaron la importancia que tenía remarcar en los “*briefings*” previos a la inmersión el valor y fragilidad de los ecosistemas visitados, las reglas a seguir y muy especialmente la supervisión atenta y la corrección de determinados comportamientos durante la inmersión. Estos factores relacionados con la educación y el control “*in situ*” de la actividad son complicados de aplicar en caso de inmersiones por parte de particulares, por lo que sería recomendable que las licencias de buceo en estas áreas se restringiesen a empresas de turismo activo. El interés del público por las actividades realizadas por estas empresas se basa en gran medida en los valores ambientales de la zona donde se realizan, por lo que, razonablemente, han de ser estas empresas las principales implicadas e interesadas en la conservación de estos ambientes.
- 2.2- Limitación en la cualificación de los buceadores. Un buen control de la flotabilidad en estos ambientes es imprescindible para evitar el contacto con los organismos de las paredes o resuspender el fino sedimento del fondo. Los buceadores inexpertos son más susceptibles a generar impactos sobre los organismos bentónicos (Luna et al 2009), por lo que limitar el acceso a buceadores con determinados certificados de buceo o número de inmersiones es una buena opción de minimizar los posibles daños producidos.
- 2.3- Limitación en el número de buceadores. Establecer la capacidad de carga de los puntos de buceo es probablemente la medida de gestión más utilizada para la regulación del submarinismo en áreas marinas protegidas (Davis y Tisdell 1995). La limitación actual para el acceso de centros de buceo a las zonas permitidas del Paraje Natural es de 10 personas más el patrón de barco. Basándonos en la anteriormente mencionada importancia de un estricto control por parte de los guías de

buceo y por tratarse de un ambiente relativamente confinado y especialmente sensible a las perturbaciones, este número se antoja elevado. Aunque obviamente los resultados serán muy variables en función del público y las zonas, Arin y Kramer (2002) comprobaron la disposición de la mayoría de los buceadores a pagar precios especiales por la visita a santuarios marinos especialmente relevantes y protegidos, por lo que podría ser esta una manera de compensar a los centros de buceo por la especial limitación en el número de buceadores y así mantener la rentabilidad de estas actividades. Además del número de buceadores por inmersión, otro aspecto a tener en cuenta es el de la frecuencia de visita, lo cual probablemente sea el aspecto más complicado de gestionar ya que requeriría de una coordinación entre los diferentes centros de buceo.

Aunque implementar estas medidas contribuiría a reducir considerablemente el impacto del buceo sobre estas comunidades, el principio de precaución nos hace sugerir que el mantenimiento actual de la prohibición es la medida más recomendable actualmente. Tras varias décadas ininterrumpidas sometidas a la visita más o menos frecuente de buceadores, desconocemos por completo cuál es el estado prístino de esta cueva submarina y por tanto el nivel exacto de conservación en el que se encuentra. La actual suspensión de las actividades de buceo nos ofrece una interesante oportunidad para realizar un seguimiento de la evolución de las comunidades y de esta forma analizar su posible recuperación (en caso de llevarse esta a cabo), así como la eficacia de las medidas de gestión realizadas y la posibilidad de mejorarlas en el futuro. Llevar a cabo la evaluación del estado ambiental de la cueva siguiendo las metodologías propuestas por Rastorgueff et al (2015) tan solo implica entre 5 y 6 buceos por cada evaluación periódica y supondría una buena oportunidad para al mismo tiempo evaluar la fiabilidad y exactitud del índice.

FUTURAS LINEAS DE INVESTIGACIÓN

La relevancia atribuida al papel desempeñado por los anfípodos en los ecosistemas marinos está viéndose incrementada a medida que aumentan el número de estudios centrados en estos crustáceos. Las cuevas submarinas siguen siendo unas grandes desconocidas en este sentido y la presente tesis supone tan sólo un avance en algunas de las muchas incógnitas existentes así como el punto de partida para otras muchas preguntas.

El enorme grado de variabilidad entre cuevas puesto de manifiesto en algunos de los capítulos anteriores puede desalentarnos ante la posibilidad de comprender el funcionamiento de estas comunidades. Sin embargo, a medida que se muestreen más cuevas conseguiremos una mejor idea de los factores que determinan la distribución de los organismos que en ellas habitan. ¿Realmente las cuevas más someras actúan como refugios de estabilidad que fomentan la abundancia de anfípodos? ¿Qué factor específico determina que las especies detritívoras del sedimento no estén presentes en el interior de las cuevas? ¿Por qué razón *Harpinia pectinata* es tan abundante en la cueva de Cerro-Gordo, Gorgonias, Cantarrián, o Calahonda pero no está presente en Pta de Vapor? En relación a estas y otras preguntas las cuevas ya muestreadas aún tienen mucha más información que aportar. La influencia de la salinidad, por ejemplo, no ha sido tenida en cuenta en aquellas cuevas con aportes de agua dulce. ¿Hasta donde llega la influencia de estos ríos subterráneos? ¿Cómo pueden afectarles a los organismos los cambios en la intensidad de estos aportes? ¿Pueden representar una fuente relevante de nutrientes en estos ambientes tan oligotróficos? Por otro lado, el hidrodinamismo de estas cuevas es un factor que ha podido ser estimado en base a la granulometría del sedimento pero que no ha sido cuantificado de manera específica. ¿Podrían los valores de hidrodinamismo contribuir a explicar los patrones fisicoquímicos observados en el sedimento? Son todas ellas preguntas sobre aspectos muy concretos pero cuya respuesta nos puede aportar valiosa información sobre cómo se estructuran y organizan estos sistemas.

A pesar de los estudios publicados durante la presente tesis doctoral, el Mar de Alborán sigue siendo una de las zonas del Mediterráneo más pobremente estudiadas. Algunas de las zonas de la costa mediterránea marroquí, como el parque natural de Alhucemas o el Cabo Tres Forcas, presentan abundantes cuevas submarinas. Prospeccionar las comunidades de anfípodos de estas zonas, además de presumiblemente aportar muchas nuevas citas para especies de anfípodos en cuevas submarinas del Mediterráneo, permitiría plantear interesantes comparaciones con las comunidades observadas en la presente tesis doctoral y las presentes en otras zonas biogeográficas.

Aunque los resultados obtenidos han puesto de manifiesto el aparente escaso grado de aislamiento que las comunidades de anfípodos presentan en cuevas submarinas. Estudios comportamentales y genéticos podrían profundizar en estos aspectos; ¿realizan migraciones al exterior las especies más comunes situadas en el interior de las cuevas? ¿Con qué frecuencia? ¿Están aisladas las poblaciones que habitan una cueva o sistema de cuevas y otros? Los pocos estudios genéticos realizados hasta ahora en cuevas submarinas han aportado importante información para entender la dinámica metapoblacional de las comunidades cavernícolas (Rastorgueff et al 2014, Rastorgueff y Bianchimani 2015).

No debemos pasar por alto tampoco la posible contribución que los anfípodos en particular y la fauna asociada en general pueden aportar a los índices encargados de definir el estado ambiental de las cuevas submarinas. Nuestros estudios han reflejado la sensibilidad de este grupo ante cambios ambientales en cuevas submarinas. Un primer paso interesante sería analizar el estado ecológico de diferentes cuevas submarinas (por medio del índice de Rastorgueff et al 2015) y analizar las comunidades de anfípodos presentes.

Es mucho lo que desconocemos, muchas las cuevas sin muestrear y los grupos taxonómicos para los que no existen datos de su composición o distribución. Sin embargo, a medida que vamos rellenando estas lagunas se pone cada vez más de manifiesto lo necesario que es conocer las interacciones entre ellos. La gran mayoría de los estudios en cuevas submarinas (incluyendo la presente tesis doctoral), se centran un grupo muy concretos, por lo que existe una urgente necesidad de realizar estudios más globales que comiencen a conectar todos estos eslabones. Para el caso concreto de los anfípodos planteábamos algunas de estas preguntas en un apartado anterior; ¿Influyen los anfípodos depredadores de manera significativa en la dinámica de sus presas? ¿Hasta qué punto suponen los anfípodos de cuevas una fuente de alimento relevante para las especies de peces que se alimentan de ellos? Son necesarios estudios concretos para ir aclarando estas preguntas. Sin embargo, en base a la información disponible se pueden iniciar los trabajos para realizar modelos tróficos que marquen las líneas que unen cada uno de estos elementos y definan de manera general el comportamiento de estos ambientes. Hemos comprobado el valor científico que presenta ver las diferentes composiciones de especies para grupos concretos entre distintas cuevas submarinas. Sin embargo, una vez podamos ir completando nuestros modelos relacionados con el comportamiento de estas comunidades comprobaremos como estas diferentes condiciones ambientales, composición y estructura de las comunidades se traducen en diferentes esquemas y modelos de funcionamiento, de manera que las preguntas y las comparaciones se irán haciendo mucho más interesantes. Tan solo estamos comenzando a intuir las posibilidades del estudio científico de las cuevas submarinas, pero habrá que ir paso a paso.

BIBLIOGRAFÍA

- Arin T, Kramer RA (2002) Divers' willingness to pay visit marine sanctuaries: an exploratory study. *Ocean Coast Manage* 45:171-183.
- Asafu-Adjaye J, Tapsuwan S (2008) A contingent valuation study of scuba diving benefits: Case study in Mu Ko Similan Marine National Park, Thailand. *Tourism Manage* 29:1122-1130.

-
- Bedini R, Bonechi L, Piazzì L (2014) Mobile epifaunal assemblages associated with *Cystoseira* beds: comparison between areas invaded and not invaded by *Lophocladia lallemandii*. *Sci Mar* doi:10.3989/scimar.03995.28B
- Bellan-Santini D (1983) Amphipodes profonds de Méditerranée (Campagnes Biomède I Polymède I et II). *Boll Mus Civ St Nat Verona* 10:263-313.
- Barker NHL, Roberts CM (2004) Scuba diver behavior and the management of diving impacts on coral reefs. *Biol Cons* 120:481-489.
- Borja A, Miles A, Occhipinti-Ambrogi A, Berg T (2009) Current status of macroinvertebrate methods used for assessing the quality of European marine waters: implementing the Water Framework Directive. *Hydrobiologia* 633:181-196.
- Bussotti S, Terlizzi A, Frascchetti S, Belmonte G, Boero F (2006) Spatial and temporal variability of sessile benthos in shallow Mediterranean marine caves. *Mar Ecol Prog Ser* 325:109-119.
- Chevreaux E (1902) Campagnes scientifiques de SA le Prince Albert I de Monaco. Description d'un Amphipode marin appartenant au genre *Hyaella* Smith. *Bull Soc Zool France* 27:223-227.
- Chevreaux E, Fage L (1925) Amphipodes. Faune de France. Lechevalier. Paris. Vol 9.
- Conradi-Barrena M (1995) Contribución espacio temporal de los peracáridos (Crustacea) asociados a *Bugula neritina* (L. 1758) en la bahía de Algeciras. Aspectos faunísticos y zoogeográficos. Tesis Doctoral. Universidad de Cádiz.
- Conradi-Barrena M, López-González PJ, Cervera JL, García-Gómez JC (2000) Seasonality and Spatial distribution of peracarids associated with the Bryozoan *Bugula neritina* in Algeciras Bay, Spain. *J Crust Biol* 20(2):334-349.
- Davis D, Tisdell C (1995) Recreational scuba-diving capacity in marine protected areas. *Ocean Coast Manage* 26(1):19-40.
- Davis D, Tisdell C (1996) Economic management of recreational scuba diving and the environment. *J Environ Manage* 48:229-248.
- de-la-Ossa-Carretero JA, Dauvin JC, Del-Pilar-Ruso Y, Giménez-Casalduero F, Sánchez-Lizaso JL (2010) Inventory of benthic amphipods from fine sand community of the Iberian Peninsula east coast (Spain), western Mediterranean, with new records. *Mar Biod Rec* 3:1-10.
- de-la-Ossa-Carretero JA, Del-Pilar-Ruso Y, Giménez-Casalduero F, Sánchez-Lizaso JL (2014) Amphipoda assemblages in a disturbed area (Alicante, Spain, Western Mediterranean) *Mar Ecol*. Doi:10.1111/meac.12264
- de-la-Ossa-Carretero JA, Martí A (2014) A new species of Siphonoecetes Krøyer, 1845 *Siphonoecetes (Centraloecetes) bulborostrum* sp. nov. (Crustacea, Amphipoda, Ischyroceridae) from the western Mediterranean, coast of Iberian Peninsula. *Zootaxa* 3765(1):69-76.

- Denitto F, Moscatello S, Belmonte G (2009) Occurrence and distribution pattern of *Palaemon* spp. Shrimps in a shallow submarine cave environment: a study case in South-eastern Italy. *Mar Ecol* 30:416-424.
- Di Franco A, Ferruzza G, Baiata P, Chemello R, Milazzo M, 2010. Can recreational scuba divers alter natural gross sedimentation rate? A case study from a Mediterranean deep cave. *ICES J Mar Sci* 67(5):871-874.
- Fichez R (1991) Suspended particulate organic matter in a Mediterranean submarine cave. *Mar Biol* 108:167-174.
- Gerovasileiou V, Voultsiadou E (2012) Marine caves of the Mediterranean Sea: a sponge biodiversity reservoir within a biodiversity hotspot. *PLoS ONE* 7(7): e39873.
- Gerovasileiou V, Voultsiadou E, Issaris Y, Zenetos A (2015) Alien biodiversity in Mediterranean marine caves. *Mar Ecol*. Doi:10.1111/maec.12268.
- González AR, Guerra-García JM, Maestre MJ, Ruiz-Tabares A, Espinosa F, Gordillo I, Sánchez-Moyano JE, García-Gómez JC (2008) Community structure of caprellids (Crustacea: Amphipoda: Caprellidae) on seagrasses from southern Spain. *Helgol Mar Res* 62:189-199.
- Guarnieri G, Terlizzi A, Bevilacqua S, Fraschetti S (2012) Increasing heterogeneity of sensitive assemblages as a consequence of human impact in submarine caves. *Mar Biol* 159:1155-1164.
- Guerao G (1995) Locomotor activity patterns and feeding habits in the prawn *Palaemon xiphias* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) in Alfacs Bay, Ebro Delta (northwest Mediterranean). *Mar Biol* 122:115–119.
- Guerao G, Ribera C (1996) Locomotor activity patterns and feeding habits in the prawn *Palaemon serratus* (Pennant, 1777) (Decapoda, Palaemonidae) in the Alfacs Bay, Ebro Delta, Spain. *Crustaceana* 69(1):101–112.
- Guerra-García JM (2001) Habitat use of the Caprellidea (Crustacea: Amphipoda) from Ceuta, North Africa. *Ophelia* 55(1):27-38.
- Guerra-García JM, Baeza-Rojano E, Cabezas MP, Pacios I, Díaz-Pavón JJ, García-Gómez JC (2009) Spatial patterns and seasonal fluctuations of the intertidal Caprellidae (Crustacea: Amphipoda) from Tarifa Island, Southern Spain. *Zool Baetica* 20:59-71.
- Guerra-García JM, Cabezas MP, Baeza-Rojano E, Espinosa F, García-Gómez JC (2009a) Is the north side of the Strait of Gibraltar more diverse than the south side? A case study using the intertidal peracarids (Crustacea: Malacostraca) associated to the seaweed *Corallina elongata*. *J Mar Biol Ass UK* 89: 387-397.
- Guerra-García JM, García-Gómez JC (2004) Crustacean assemblages and sediment pollution in an exceptional case study: a harbour with two opposing entrances. *Crustaceana* 77(3): 353-370.
- Guerra-García JM, Navarro-Barranco C, Corzo J, Cobos-Muñoz V, García-Adiego EM, Sempere Giménez F, García-Gómez JC (2013) An illustrated key to the soft-bottom caprellids

- (Crustacea: Amphipoda) of the Iberian Peninsula and remarks to their ecological distribution along the Andalusian coast. *Helgol Mar Res* 67:231-336.
- Guerra-García JM, Ros M, Izquierdo D, Soler-Hurtado MM (2012) The invasive *Asparagopsis armata* versus the native *Corallina elongata*: differences in associated peracarid assemblages. *J Exp Mar Biol Ecol* 416-417: 121-128.
- Guerra-García JM, Sánchez JA, Ros M (2009b) Distributional and ecological patterns of caprellids (Crustacea: Amphipoda) associated to the seaweed *Stypocaulon scoparium* in the Iberian Peninsula. *Mar Biodivers Rec* 2:1-8.
- Guerra-García JM, Tierno de Figueroa JM, Navarro-Barranco C, Ros M, Sánchez-Moyano JE, Moreira J (2014) Dietary analysis of the marine Amphipoda (Crustacea: Peracarida) from the Iberian Peninsula. *J Sea Res* 85:508-517.
- Hasler H, Ott JA (2008) Diving down the reefs? Intensive diving tourism threatens the reefs of the northern Red Sea. *Mar Pollut Bull* 56:1788-1794.
- Humphreys WF, Poole A, Eberhard SM, Warren D (1999) Effects of research diving on the physico-chemical profile of Bundera Sinkhole, an anchialine remiped habitat at Cape Range, Western Australia. *J Roy Soc Western Australia* 82:99-108.
- Izquierdo D, Guerra-García JM (2011) Distribution patterns of the peracarid crustaceans associated with the alga *Corallina elongata* along the intertidal rocky shores of the Iberian Peninsula. *Helgol Mar Res* 65:233-243.
- Krapp T, Rampin M, Libertini A (2008) A cytogenetical study of Ischiroceridae (Amphipoda) allows the identification of a new species, *Jassa cadetta* sp.n., in the Lagoon of Venice. *Org Divers Evol* 8:337-345.
- Ledoyer M (1965) Note sur la faune vagile des grottes sous-marine obscures. *Rapp Comm int Mer Médit* 18(2):121-124.
- Luna B, Valle Pérez C, Sánchez-Lizaso JL (2009) Benthic impacts of recreational divers in a Mediterranean Protected Area. *ICES J Mar Sci* 66:517-523.
- Madin LP (1991) Distribution and taxonomy of zooplankton in the Alboran Sea and adjacent Western Mediterranean: a literature survey and field guide. Woods Hole Oceanographic Institution, Massachusetts.
- Martí-Gil A (1996) Anfípodos de los fondos de sustratos blandos de las Islas Chafarinas (Mar de Alborán): Faunística y Ecología. Tesis Doctoral. Universitat de València.
- Menioui M (1988) Contribution à la connaissance des peuplements infralittoraux superficiels des côtes atlanto-méditerranéennes du Maroc. Etude faunistique, écologique et biogéographique. Thèse Etat Univ Mohamed V, Rabat.
- Parravicini V, Morri C, Ciribili G, Montefalcone M, Albertelli G, Bianchi CN (2009) Size matters more than method: Visual quadrats vs photography in measuring human impact on Mediterranean rocky reef communities. *Est Coast Shelf Sci* 81:359-367.

- Pinedo S, Jordana E (2007) Spain (Catalonia and Balearic Islands). En: Carletti A, Heiskanen AS (eds) Water Framework Directive Intercalibration Technical Report Part 3: Coastal and Transitional waters. JRC Scientific and Technical Reports, JRC andies.
- Primack R (1995) A primer of conservation biology. Sinauer- Sunderland, USA.
- Rastorgueff PA, Bellan-Santini D, Bianchi CN, Bussotti S, Chevaldonné P, Guidetti P, Harmelin JG, Montefalcone M, Morri C, Perez T, Ruitton S, Vacelet J, Personnic S (2015) An ecosystem-based approach to evaluate the ecological quality of Mediterranean undersea caves. *Ecol Indic* 54:137-152.
- Rastorgueff PA, Bianchimani O (2015) Niche differentiation, habitat fragmentation and population connectivity implications in Mediterranean marine cave-dwelling mysids. *Mar Biod. Oceanarium*:1-2.
- Rastorgueff PA, Chevaldonné P, Arslan D, Verna C, Lejeusne C (2014) Cryptic habitats and cryptic diversity: unexpected patterns of connectivity and phylogeographical breaks in a Mediterranean endemic marine cave mysid. *Mol Ecol* 23:2825-2843.
- Rastorgueff PA, Harmelin-Vivien M, Richard P, Chevaldonné P (2011) Feeding strategies and resource partitioning mitigate the effects of oligotrophy for marine cave mysids. *Mar Ecol Prog Ser* 440:163-176.
- Ros M, Guerra-García JM, Navarro-Barranco C, Cabezas MP, Vázquez-Luis M (2014) The spreading of the non-native caprellid (Crustacea: Amphipoda) *Caprella scaura* Templeton, 1836 into southern Europe and Northern Africa: a complicated taxonomic history. *Med Mar Sci* 15:145-155.
- Ruffo S (1959) Contributo alla conoscenza degli Anfipodi delle grotte sottomarine. *Pubbl Staz Zool Napoli* 30:402-416.
- Ruffo S (1982-1998) The Amphipoda of the Mediterranean: Parts 1–4. Mémoires de l'Institut Océanographique, Monaco.
- Russo AR (1997) Epifauna living on sublittoral seaweeds around Cyprus. *Hydrobiologia* 344(1-3):169-179.
- Russo GF, Bianchi CN (2003) Organizzazione trofica. En: Cicogna F, Bianchi CN, Ferrari G, Forti P (eds) Grotte marine: cinquant'anni di ricerca in Italia. Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio, Roma.
- Sánchez-Moyano JE, García-Gómez JC (1998) The arthropod community, especially Crustacea, as a bioindicator in Algeciras Bay (Southern Spain) based on a spatial distribution. *J Coast Res* 14(3):1119-1133.
- Sánchez-Moyano JE, García-Asencio I, García-Gómez JC (2007) Effects of temporal variation of the seaweed *Caulerpa prolifera* cover on the associated crustacean community. *Mar Ecol* 28:324-337.
- Scipione MB, Taramelli E, Fresi E, Cinelli F, Mazzella L (1981) Distribuzione delle biocenosi bentoniche lungo un gradiente di luce in una grotta marina superficiale: Anfipodi. *Mem Biol Mar Ocean* 11(1):1-16.

-
- Simboura N, Zenetos A (2002) Benthic indicators to use in ecological quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new biotic index. *Med Mar Sci* 3(2):77-111.
- Soler MM, Guerra-García JM (2011) Study of the crustacean community associated to the invasive seaweed *Asparagopsis armata* Harvey, 1855 along the coast of the Iberian Peninsula. *Zool Baetica* 22:33-49.
- Terrón-Sigler A, Peñalver-Duque P, León-Muez D, Espinosa Torre F (2014) Spatio-temporal macrofaunal assemblages associated with the endangered orange coral *Astroides calycularis* (Scleractinia: Dendrophylliidae). *Aquat Biol* 21:143-154.
- Tintoré J, Gomis D, Alonso S, Parrilla G (1990) Mesoscale dynamics and vertical motion in the Alborán Sea. *J Phys Oceanogr* 21(6):811-823.
- Tratalos JA, Austin TJ (2001) Impacts of recreational SCUBA diving on coral communities of the Caribbean island of Grand Cayman. *Biol Cons* 102:67-75.
- True MA (1970) Étude quantitative de quatre peuplements sciaphiles sur substrat rocheux dans la region marseillaise. *Bull Inst Océanogr Monaco* 69(1401):1-48.
- Vianna GMS, Meejan MG, Pannell DJ, Marsh SP, Meeuwig JJ (2012) Socio-economic value and community benefits from shark-diving tourism in Palau: A sustainable use of reef shark populations. *Biol Cons* 145:267-277.
- Zenetos A, Gofas S, Verlaque M, Çınar ME, García-Raso JE, Bianchi C, Morri C et al (2012) Alien species in the Mediterranean Sea by 2010. A contribution to the application of European Union's Marine Strategy Framework Directive (MSFD). Part 2. Spatial distribution. *Med Mar Sci* 11(2):381-493.

7

CONCLUSIONES



- Fotografía superior. Imagen área de los acantilados de Cerro Gordo. Luis Sánchez Tocino.

CONCLUSIONES

1. Los anfípodos son un grupo bien representado dentro de la fauna que habita las cuevas submarinas, constituyendo uno de los taxones principales de entre los que componen la macrofauna móvil asociada a sustratos duros y blandos.
2. Se han registrado un total de 68 especies de anfípodos, 17 de las cuales constituyen nuevas citas para el Mar de Alboran (lo que implica un incremento del 7% en las especies de anfípodos conocidas para esta región). Del total de especies observadas, 49 de ellas han sido recolectadas en el interior de cuevas submarinas.
3. Las cuevas submarinas constituyen un habitat característico. Todos los análisis llevados a cabo comparando la estructura de la comunidad de anfípodos dentro y fuera de cuevas submarinas han reflejado la existencia de diferencias significativas.
4. Cada cueva submarina representa un enclave de gran singularidad, con una composición y estructura diferenciada. La variabilidad observada al comparar la fauna de anfípodos presentes en diferentes cuevas submarinas siempre fue significativamente superior a la existente entre diferentes estaciones de los habitats abiertos adyacentes. Esta elevada singularidad hace que sea muy difícil extraer patrones ecológicos constantes.
5. Existe una tendencia general al empobrecimiento de las comunidades de anfípodos hacia el interior de las cuevas. El gradiente en las condiciones ambientales va acompañado de un descenso en la diversidad, abundancia de organismos y riqueza de especies. Este patrón solo se ha visto invertido para el caso de cuevas muy someras, donde sí se observaron mayores abundancias en sus comunidades semioscuras, probablemente debido a la protección del oleaje y estabilidad que estos ambientes proporcionan.
6. No se observó ninguna especie exclusiva de cuevas submarinas. Sin embargo, al igual que lo observado para fauna sésil, las comunidades en las zonas más internas presentaron mucha afinidad con las existentes en fondos profundos.
7. Una explicación plausible para esta baja endemidad de las poblaciones de anfípodos en cuevas es la relativamente buena capacidad de colonización observada. A pesar del evidente bajo hidrodinamismo de los ambientes muestreados, la capacidad de dispersión de este grupo fue suficiente para alcanzar las zonas más aisladas de las cuevas submarinas.
8. La velocidad de desarrollo de las comunidades cavernícolas presenta un gradiente descendente hacia el interior de las cuevas. De esta manera, en las zonas más externas las comunidades se estructuran más rápido y alcanzan una composición diferenciada de manera más temprana. En cambio, en las zonas más internas el

proceso de sucesión ecológica ocurre a una tasa mucha más lenta, de modo que se requiere más tiempo para poder encontrar diferencias significativas en la estructura de la comunidad entre unas secciones y otras. Además, aunque las especies colonizadoras alcancen esas zonas internas de la cueva, la densidad de sus poblaciones siempre permanece muy por debajo de los valores observados en las zonas externas.

9. Las comunidades internas están sometidas a un menor número de variaciones en las condiciones ambientales. Además de la obvia reducción en las fluctuaciones de luz (nulas en las zonas de completa oscuridad) e hidrodinamismo, también se ha observado un amortiguamiento en la frecuencia de las variaciones de temperatura en la Cueva de Cerro Gordo. Como consecuencia de ello, la dinámica temporal de las comunidades es mucho más estable.

10. A pesar de que no se han observado diferencias en las concentraciones de materia orgánica en el interior y exterior de cuevas submarinas, los marcados cambios entre ambos ambientes en la estructura trófica de las poblaciones de anfípodos sugieren que la disponibilidad de alimento es probablemente el factor clave que determina las principales diferencias en la estructura de las comunidades. La diversidad de grupos tróficos ha sido siempre inferior en el interior de las cuevas, tanto en el sustrato duro (las especies hervíboras solo estaban presentes fuera de las cuevas) como blando (las especies detritívoras, dominantes en el exterior, estaban ausentes en zonas internas).

11. El estudio de la comunidad móvil asociada a diferentes sustratos sésiles presentes en la comunidad semioscura de la cueva de Cerro Gordo reveló que la mayoría de las especies de anfípodos no mostraban especificidad por determinados hospedadores. Sin embargo, la comunidad asociada al coral naranja (*Astroides calycularis*) sí presentó una estructura significativamente diferente a la encontrada en la mayoría de sustratos considerados.

12. El presente estudio tiene implicaciones en la gestión y conservación de estos ambientes. Algunos resultados como el empobrecimiento de las comunidades, la ausencia de especies endémicas, la capacidad de colonización superior a la esperada de muchas especies o el carácter poco especialista de las especies asociadas a invertebrados bentónicos podrían relajar las preocupaciones existentes relacionadas con la protección de estos ambientes. Sin embargo, otros muchos factores como la elevada singularidad de sus comunidades, su lento desarrollo o la elevada estabilidad ambiental apuntan a una escasa capacidad de resiliencia de estos hábitats.

CONCLUSIONS

1. Crustaceans amphipods are a well represented group inside marine caves, being one of the dominant taxa within the mobile macrofauna communities associated with hard and soft substrates.

2. Sixty-eight different species have been identified in the whole study, 17 of them are new reports for the Alboran Sea (which implies a 7% increase in the number of amphipod species known in the area so far). 49 species have been found inside marine caves.

3. Marine caves constitute a characteristic habitat. All the statistical analyses carried out showed significant differences between marine caves and open habitats regarding their amphipod assemblages.

4. Each marine cave shows a high degree of singularity, with a differentiate faunistic composition and structure. The variability observed among different caves was always higher than that obtained comparing the adjacent outer stations. This high degree of variability makes difficult to obtain constant ecological patterns.

5. There is an amphipod community impoverishment toward the inner part of the caves. Together with the environmental gradients there is a decrease in diversity, abundance and species richness values. The opposite pattern was observed in several shallow caves (where higher abundances of amphipods were observed in semidark areas), which is probably related with the shelter against storms and more stable habitat provided by marine caves.

6. No cave-exclusive amphipod species were found. However, as it has been previously highlighted for sessile fauna, inner communities resembled to those inhabiting deeper areas.

7. The explanation for this absence of endemism in amphipod cave populations could be related with the relatively high colonization capabilities of such species. In spite of the low hydrodynamism in these environments, dispersal capabilities in many species were enough to reach the inner parts of submarine caves.

8. Amphipod communities showed a decreasing rate of development toward the inner part of the caves. External communities reached a differentiate composition/structure earlier than internal ones. Into the caves, successional processes follow a slower rate, so that it takes more time to find significant differences among internal stations. Moreover, although colonizers were present, their densities inside the cave stay far below those values observed outside the cave.

9. Internal communities showed less number of environmental changes. Besides the obvious reduction in light fluctuations (nonexistent in completely dark areas) and hidrodinamism, temperature data also reflect a dampening in the frequency of thermal oscillations inside Cerro Gordo cave. As a consequence, biotic communities showed higher stability in their temporal dynamics.

10. In spite of the absence of significant differences in the organic matter concentration between cave and external stations, the marked changes in the trophic structure between both habitats suggest that food availability should be the key factor determining the observed differences in the communities. Internal stations showed less diversity of feeding groups than external ones. For example, soft bottom communities outside the caves were dominated by detritivorous, while this feeding group was absent inside the cave. Regarding hard substrate, the presence of herbivorous amphipod species was limited to external well-lighted areas.

11. Amphipod species associated to invertebrate hosts inhabiting the semidark area of Cerro Gordo cave did not showed host-specificity. However, the endangered coral *Astroides calycularis* had an amphipod community significantly different to those present in most of the other hosts species considered.

12. The present study has management and conservational implications. Some of the results obtained, such as the absence of cave-exclusive and host-specific species, the community impoverishment or the high colonization capabilities observed in many amphipod species, could reduce the current concern about the protection of these habitats. Nevertheless, other factors such as the high singularity, slow development rate or high temporal stability of cave communities highlighted the low resiliency of these environments.

8 – AGRADECIMIENTOS

Si estás leyendo estas líneas lo más probable es que nos conozcamos. Y si nos conocemos y te has molestado en echarle un vistazo a esta tesis estoy convencido de que tengo algo que agradecerte. Pero si por casualidad tu nombre no aparece en los siguientes párrafos te pido perdón (míralo por el lado bueno, cuando me lo digas me va a dar cargo de conciencia y querré al menos invitarte a unas tapas). Me temo que he de admitir que los recuerdos y amistades que ha generado esta tesis doctoral son mucho más amplios, bonitos y valiosos que las conclusiones científicas que hayamos podido obtener. Sara nunca se cansa de decirme, utilizando esa curiosa expresión mezcla de botánica y anatomía humana, que soy una persona con mucha suerte. Como en tantas otras cosas, no suelo hacerle mucho caso cuando me lo dice, pero ahora que me pongo a escribir estos agradecimientos empiezo a pensar que quizás Sara no ande del todo desencaminada; soy un tipo afortunado de tener tanta gente a la que darle las gracias por tantas cosas.

Puedo empezar por mis tres directores de tesis. Por orden de aparición en toda esta historia: Luis Sánchez Tocino, José Carlos García Gómez y José Manuel Guerra García. Durante estos años nunca he escuchado un NO por su parte, así que lo único que puedo reprocharles es el hecho de malcriarme de esa manera y lo mal que será acostumbrarme a mis jefes del futuro. Gracias Luis por tantos buenos ratos bajando de Granada entre semana para bucear, comiendo en el Mirador... Quizás sea por el pasado militar de Luis pero me gusta comparar mis años de alumno interno con una especie de mili, en el sentido de que me hizo espabilar aunque sea un poco (Si, sé que estaréis pensando que sigo estando “innortao”, ¡pero de verdad que antes lo estaba incluso aún más!). Gracias por enseñarme las cuevas y por tener siempre un par de bridas, gafas y plomos de repuesto. No se me ocurre mejor maestro para empezar mis andaduras científicas y submarinas. Gracias también a Jose Carlos por su apoyo, por sus esfuerzos por el LBM y por contar conmigo desde aquel día que le corté los filetes a Carlitos en el asador de Almuñecar. Que me trajera a Sevilla ha sido uno de mis grandes golpes de suerte. Y gracias infinitas a Jose, porque cruzarme contigo ha sido una de las mejores cosas que me han podido pasar tanto profesional como personalmente. Todo el que conoce a Jose sabe que me quedaré corto escriba lo que escriba aquí. Si he disfrutado tanto haciendo la tesis doctoral ha sido gracias a él y si este pequeño libro tiene algo de valor es por su trabajo y ayuda. De nadie he aprendido tanto. Gracias Jose por ser mi mejor amigo durante estos años.

¡Gracias a Maca! Por contagiar ilusión y por compartir conmigo tus descubrimientos en tus muchas investigaciones, ya sean estadísticas (¿cómo y cuándo uso el test de Montecarlo?) o policiales (¿entonces el piloto había abierto o no los flaps del avión?). Este camino ha sido muy fácil y alegre porque en muchas ocasiones solo tenía que ir por las puertas que habías ido abriendo delante mía. “Perdone que le corrija caballero, pero somos doctores viva la virgen” ☺

El LBM tiene una fórmula mágica. No sé la receta en detalle pero intuyo que será una mezcla de alcohol al 70%, pequeñas trazas de bromuro de rosa de bengala y liquido de Hertwig, lejía a granel (solo esporádicamente un taponcito de don limpio azul) y restos de

peracáridos bajos las pollatas, todo ello recalentado en las tardes de Sevilla en verano. El resultado es un ambientecillo especial y adictivo, responsable de que los alumnos internos sientan la necesidad de acercarse por allí en horas libres y que, aquellos que escaparon del efecto tóxico al mudarse de Sevilla, no puedan evitar pasarse por allí cuando entran en un radio de acción cercano. También hace que los becarios echemos allí las horas sin apenas darnos cuenta y fomenta la interacción social, de modo que no se me ocurre nadie que haya pasado por allí un tiempo sin convertirse en un buen amigo. A todos tengo que agradecerles mil cosas y montones de buenos ratos pero, intentando seguir mi línea argumental bastante poco seria, solo diré 4 pamplinas.

Puedo empezar por Pablo y Sara. Poco tardé en perder el respeto de las dos primeras personas en mi vida sobre las que tenía aunque sea un mínimo de autoridad. De Sara hablaremos más adelante pero a Pablo tengo que darle las gracias no solo por la infinita paciencia de separar gran parte de los bichos que dan lugar a esta tesis sino por muchísimas conversaciones chorras, fiestas, viajes... Por compartir las ofertas de napolitanas del DIA conmigo y muchas cosas más.

Marta nunca podrá contar una anécdota de la Motilla sin remontarse a algún evento ocurrido dos siglos atrás y posteriormente enlazarlo con otra anécdota de la facultad (total: otras dos horas más que me he ‘escaqueao’ del curro). Mil gracias porque ese don me ha alegrado muchísimas tardes en el laboratorio.

Aun a riesgo de perder mi fama de hombre rudo y varonil he de admitir que he disfrutado muchísimo cantando a duo Ella Baila Sola con Elena (te echo de menos en la mesa de al lado!), cantando Frozen con Pablo González y haciendo de gogó con peluca junto a Paco Sedano (empieza a ser preocupante el tema). A Sedano también agradecerle que convirtiera su cocina de Almuñecar en laboratorio húmedo por un día. Gracias también a Gema chachi, mi rummy, la mejor compañera con la que hacer amigos y perder dignidad y credibilidad científica en congresos (una vez ella y otra yo). Tampoco me puedo olvidar de Pili (dejaste a Bisbal solo y abandonado!). Ojalá tuviese más tiempo y espacio para escribir a todos los alumnos (Juan Sempere, Manolo, Víctor, Maria, Mariu, Gonzalo, Alvaro, Rubén, Jusep, Irene, Isa, Ángela, Alex...) y compañeros de departamento (Carlos María, César, Emilio, Miguel Ángel, Liliana, Joaquín...) con los que he compartido buenos ratos.

Además de nuestros proyectos terminales de “motivaos” en el rocódromo, las experiencias con Free (especialmente los muestreos) siempre son memorables. Las risas mientras fregábamos platos rodeados de cucarachas en la oscuridad del hotel abandonado de Zembra o todas las anécdotas con él, Roi y Manu en las campañas de Tres Forcas son recuerdos increíbles (por citar algunos ejemplos está la nueva modalidad de pesca de buzos con ancla, el rescate de melillenses a la deriva y, cómo no, el “échame otro plato de tajín que no sabemos cuándo nos darán de comer otra vez”) Gracias tragapanes!!

Igual que la gente que se va de viaje al Tibet a encontrar paz y serenidad, yo tengo claro que si alguna vez paso una crisis existencial mi viaje de peregrinación será al Jun Zoological Research Center. Como si fuera un maestro zen de la investigación, Manolo Tierno transmite ilusión por investigar, cariño y tranquilidad como nadie que conozca. Hasta consigue que casi disfrute las películas de terror (siempre que tenga a mano el peluche del jabalí). Juan Moreira han sido para mí otro ejemplo de investigador (punteiro!) de los que da gusto

escuchar y que me han enseñado el tipo de ciencia que me gustaría hacer y los científicos de los que rodearme. Gracias a los dos!

Las estancias en el extranjero también han sido parte de esta tesis, aunque no fueran para trabajar en cuevas submarinas. En ellas he aprendido muchísimo sobre biología (además de recopilar un buen número de anécdotas mágicas y absurdas). Así que un enorme gracias para toda la gente con la que me he cruzado y me ha ayudado en las estancias y campañas en Australia, Maldivas (*Barabaro!*), Inglaterra, Arabia, Túnez y Marruecos (especialmente a Lauren Hughes, Hocein Bazairi, Steve Widdicombe, Susana Carvalho y todo el pueblo de Magoodhoo).

Los días de muestreo en Almuñecar han sido de los mejores de la tesis y por ello le tengo que dar las gracias a muchos amigos y compañeros de buceo del CUGAS y la Bernarda. Gracias a Boychi, Pepe, Maybe, Teo, Carlos de Málaga, Sole... y muy en especial a Charly. De ellos he aprendido muchísimo del mar, de buceo, de cómo elegir 'aleatoriamente' quién tiene que subir el muerto del barco, de cómo enjuagar trajes radiactivos, del valor de un buen cabo o mosquetón de acero inoxidable...

Gracias al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad de Sevilla y en especial a Esperanza y Emilio, por ser tan eficaces y pacientes con mis fallos en el papeleo. ¡Ojalá la burocracia siempre fuera tan sencilla!

Muchísimas gracias a todos los que pacientemente han revisado el inglés de los trabajos científicos, mis presentaciones y posters; mi cuñá Inma, Kathryn Gavira, Ed Hendricks y Sophie McCoy, entre otros. También a los muchos revisores científicos de las publicaciones por sus sugerencias y comentarios (Maite Vázquez Luis, Vasilis Gerovasileiou y muchos otros anónimos).

Gracias a mis amigos. A los de siempre (los de El Morche, la "peña la jardinera", como sigue llamándonos mi cuñi), y a los de la facultad en Granada, porque pese a mis muchos meses dando tumbos siguen haciéndome sentir en casa cuando estoy con ellos. Javi, Chico, Julen, Nando, Ñoñi, Javi Cope, Franci, Juanjo, Ana, Cristian, Paco, Ana Mellado, Girela... y muchos más! Es verdad que los recuerdos son fundamentalmente de fiestas temáticas (troglodita, esquizofrénica, india...), tardes de playa y Lukas, ferias, tapas o viajes, pero también fueron los primeros en enseñarme que esas pelotas negras son puestas de jibia, las diferencias entre jureles y caballas, entre especies de anfibios y especies de plantas. Con ellos han sido mis primeros debates sobre ecología y han sido compañeros de muchas tardes de biblioteca, guardándome un sitio en Biosanitaria.

Y puestos a agradecer tengo que acordarme también de dos empresas que han tenido un papel muy activo a lo largo de esta tesis doctoral. De no existir probablemente mi tesis habría sido más productiva y mis niveles de colesterol más saludables, pero no habría estado tan feliz. Así que doy las gracias de todo corazón a los empleados que fabrican DINOSAURIOS LU y a los frikis que crearon y suben videos a YOUTUBE.

Mi familia no ha parado de darme facilidades desde siempre. No hay forma suficiente de agradecerse porque me vienen millones de recuerdos bonitos; Mi padre y mi madre ayudándome a cribar muestras de sedimento, casi de madrugada, en el callejón de atrás de mi ferretería. Mi hermano y mi cuñá Inma llegando al aeropuerto de Sidney a visitarme. María señalando un dibujo de un buzo y diciendo “Tito”. Es una sensación maravillosa cuando te hacen sentir así de especial. Os quiero.

Por último tengo que reconocer que mi mayor descubrimiento de la tesis fue un ejemplar de picnogónido al poco de empezar la tesis doctoral. Tiene unas características propias que rápidamente te hacen ver que es un individuo especialmente valioso y singular (sobre todo si lo ves bailando o lo escuchas pidiéndote el desayuno de manera “bonica”). Convivo con él desde hace un par de años con el objetivo de comprender mejor su compleja etología; divertida, altruista, sensible, infantil pero también madura, racional pero también impredecible. Afortunadamente está bien adaptado al medio terrestre (de hecho he podido comprobar que son necesarios muchos kilos de plomos y piedras para conseguir sumergirlo). He de agradecer al picnogónido en cuestión (que por cierto responde al nombre de Sara) su apoyo, ayuda y buena predisposición a formar parte de este estudio. Espero poder continuar recopilando datos a largo plazo, ya que los resultados preliminares están siendo muy prometedores y satisfactorios. Gracias por hacerme feliz.

Comencé estos agradecimientos diciendo que muy probablemente tú y yo ya nos conociéramos pero... ¿y si no? ¡Quizás tenga esa suerte! Me hace ilusión pensar que quizás no te conozca y que esta modesta contribución científica pueda llegar a manos de un científico del futuro y resultarle útil. A ese hipotético coleguita del futuro le doy las gracias porque, de existir y estar leyendo esta tesis, me estaría haciendo enormemente feliz. Espero que para entonces las *Harpinias* sigan viviendo “agustito” en la oscuridad de las cuevas y que Maro - Cerro Gordo siga siendo tan precioso.

ANEXO 1

Lista de publicaciones derivadas de esta tesis doctoral

- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2012) Soft bottom crustacean assemblages in Mediterranean marine caves. The cave of Cerro Gordo (Granada, Spain) as case study. *Helgoland Marine Research* 66(4): 567-576
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, Jiménez-Prada P, Cea S, García-Gómez JC (2013) Soft-bottom diversity patterns in marine caves; Lessons from crustacean community. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 446: 22-28
- Navarro-Barranco C, Tierno-de-Figueroa JM, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2013) Feeding habits of amphipods (Crustacea: Malacostraca) from shallow soft bottom communities: Comparison between marine caves and open habitats. *Journal of Sea Research* 78: 1-7.
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2014) Amphipods from marine cave sediments of the southern Iberian Peninsula: diversity and ecological distribution. *Scientia Marina* 78(3): 415-424
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2014) Mobile epifaunal community in marine caves in comparison to open habitats. *Aquatic Biology* 20:101-109
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2014) Unnoticed inhabitants of marine caves: amphipod assemblages in caves of the Alboran Sea. *Proceedings of the First Symposium on the Conservation of Dark Habitats, Portorož (Slovenia)*:51-56
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Tierno de Figueroa JM, Sánchez-Tocino L, García-Gómez JC (2014) Las cuevas submarinas del litoral granadino y su fauna de crustáceos. *Quercus* 338:36-43
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, Florido M, García-Gómez JC (2015) Amphipod community associated with invertebrate hosts in a Mediterranean marine cave. *Marine Biodiversity*. DOI 10.1007/s12526-015-0328-6
- Navarro-Barranco C, Guerra-García JM, Sánchez-Tocino L, Ros M, Florido M, García-Gómez JC (2015) Colonization and successional patterns of the mobile epifauna community along an environmental gradient in a marine cave. *Marine Ecology Progress Series* 521:105-115