

Coatings of micro-organisms (Mycetozoa) and speleothems in a cave in Jurassic limestone of the Leizarán river basin (Gipuzkoa, Basque Country).



Carlos GALÁN¹; Marian NIETO¹ & Carolina VERA MARTIN^{1,2} ¹ Sociedad de Ciencias Aranzadi. Laboratorio de Bioespeleología. E-mail: cegalham@yahoo.es ² Inasmet-Tecnalia. Departamento de Biomateriales y Nanotecnología. E-mail: carolina.vera@inasmet.es Septiembre 2010.

RECUBRIMIENTOS DE MICROORGANISMOS (MYCETOZOA) Y ESPELEOTEMAS EN UNA CUEVA EN CALIZA JURÁSICA DE LA CUENCA DEL RÍO LEIZARÁN (GIPUZKOA, PAÍS VASCO).

Coatings of micro-organisms (Mycetozoa) and speleothems in a cave in Jurassic limestone of the Leizarán river basin (Gipuzkoa, Basque Country).

Carlos GALÁN¹; Marian NIETO¹ & Carolina VERA MARTIN^{1,2}

Sociedad de Ciencias Aranzadi. Laboratorio de Bioespeleología. Alto de Zorroaga. E-20014 San Sebastián - Spain. E-mail: cegalham@yahoo.es ² Inasmet-Tecnalia. Departamento de Biomateriales y Nanotecnología. Paseo Mikeletegi 2, Parque Tecnológico. E-20009 San Sebastián - Spain. E-mail: carolina.vera@inasmet.es

Septiembre 2010.

RESUMEN

Se describen espeleotemas y recubrimientos de microorganismos hallados en una cueva formada en un afloramiento de caliza de edad Jurásico en la cuenca del río Leizarán. Los recubrimientos de microorganismos presentan un intenso color amarillo-oro y brillo metálico. Se localizan en zona oscura formando eflorescencias sobre las paredes de caliza y sobre espeleotemas. Su estudio al microscopio óptico y electrónico muestra que los recubrimientos están constituidos por plasmodios de Mycetozoa, phylum peculiar de protistas, denominados informalmente amebas gigantes o mohos mucilaginosos, situados entre las amebas y los hongos verdaderos. Los plasmodios crecen sobre una superficie de alteración, con cuerpos fructiferos amarillos de gran complejidad y belleza, semejantes morfológicamente a flores de mimosas (= acacias). Entre ellos hay también algunos crecimientos de plasmodios blancos y colonias de probables bacterias quimiolitotrofas Xanthobacter. La cueva posee espeleotemas de calcita (estalactitas, coladas, gours) y flores de aragonito. La espectroscopía Raman no detecta componentes minerales identificables, por lo que se deduce que los recubrimientos citados son exclusivamente orgánicos. Se plantea como hipótesis genética que el substrato de roca (caliza dolomítica rica en hierro y sulfuros) está siendo alterado por acción bacterial y que los plasmodios de Mycetozoa se desarrollan a expensas de las bacterias y subproductos de su metabolismo. Palabras clave: Geoespeleología, bioespeleología, microbiología, karst, cuevas, espeleotemas, microorganismos, Mycetozoa, amebas gigantes.

ABSTRACT

Speleothems and coatings of micro-organisms found in a cave formed in a limestone outcrop of Jurassic age in the Leizarán river basin are described. The coatings of micro-organisms show an intensive yellow-gold colour and metallic bright. It is located in the dark zone of the cave, forming efflorescences on the limestone walls and speleothems. Its optical and electron microscopic survey shows that the coatings are formed by plasmodiums of Mycetozoa, an independent phylum of protista, named informally giant amoebas or slime molds, situated between the amoebas and the true fungi. The plasmodiums grow on a weathering surface, with complex and beautiful yellow fructiferous corps, morphologically similar to mimosa flowers (= acacias). Among them, there grow white plasmodiums and colonies of probable chemolithotrophic Xanthobacter bacteria. The cave has speleothems of calcite (stalactites, mantles, and gours) and aragonite flowers. Raman spectroscopy hasn't detected identifiable mineral components, thus it is deduced that the coatings are exclusively organic. We outline the genetic hypothesis that the rock substrate (dolomite limestone rich in iron and sulphurs) is attacked by bacterial action and the Mycetozoa plasmodiums grow at the expense of bacteria and their metabolic subproducts.

Key words: Geospeleology, biospeleology, microbiology, karst, caves, speleothems, micro-organisms, Mycetozoa, giant amoebas.

INTRODUCCION

La cavidad objeto de estudio llamó nuestra atención por exhibir en numerosos puntos recubrimientos de pequeñas motas o plaquitas de color amarillo intenso que, a luz de nuestras lámparas, brillaban en la oscuridad con tonalidades metálicas doradas, con un llamativo efecto estético. Se presentan sobre pequeñas superficies en paredes, bóvedas y sobre coladas estalagmíticas, a veces en agregados bastante densos, o dispersos como conjuntos de estrellas en el firmamento nocturno. Las motas individuales no alcanzan un diámetro aparente de 1 mm, pero sus agrupaciones llegan a formar manchas amarillas de hasta 50 cm (Figuras 1 y 2), con plaguitas más brillantes que destacan sobre el conjunto. A tenor de la iluminación utilizada (LED's blancos Petzl), de distintas intensidades, su color variaba desde amarillo claro a dorado-bronce. En laboratorio, las muestras iluminadas lateralmente a baja intensidad adquirían tonalidades entre el amarillo y el verde claro. En las fotografías digitales, tomadas en la cueva, el destello del flash da muchos reflejos blancos y plateados, que en la cueva se ven dorados, pero también existen recubrimientos cuyo color natural es blanco-nieve. Su aspecto aparente es sólido e inicialmente pensamos que podría tratarse de espeleotemas. Al tomar las muestras apreciamos con mayor detalle que estos recubrimientos eran frágiles y disgregables, y se disponían a modo de películas sobre una interfase de alteración, más o menos blanda y húmeda, lo que sugería más bien que podía tratarse de films orgánicos.

Cabe destacar que no existen reportes previos para cuevas de Gipuzkoa de recubrimientos comparables, aunque nosotros sí conocemos algunos casos que se asemejan a éste, así como ejemplos de recubrimientos orgánicos en cuevas del Neotrópico, de bacterias y hongos, si bien con otros aspectos y coloridos. Generalmente los recubrimientos orgánicos se presentan en las cuevas sobre restos vegetales, madera muerta, guano de quirópteros, semillas de guácharos, o sustratos arcillosos ricos en materia orgánica. En la mayoría de los casos se trata de micelios de hongos germinados a partir de esporas transportadas por aire (o por animales) y/o de colonias de bacterias.



Figura 1. Recubrimientos parietales amarillo-oro en la cueva del Leizarán. Nótese su disposición sobre las paredes de la roja-caja (calizas y dolomías Jurásicas) y la presencia también de eflorescencias blancas.



Figura 2. Recubrimientos de coloración amarillo-oro con brillos metálicos.

Las bacterias y los hongos juegan un importante papel en la dinámica de los ecosistemas cavernícolas, contribuyendo a la descomposición de la materia orgánica y haciendo que ésta quede disponible para otros miembros de las biocenosis cavernícolas.

Las bacterias encontradas en las cuevas son de dos grandes tipos: autótrofas y heterótrofas. Las bacterias heterótrofas proceden de la superficie y necesitan materia orgánica para su desarrollo. Las bacterias autótrofas son autóctonas, habitan en el limo y arcilla de las cuevas y su desarrollo sólo depende de la existencia de algunos materiales inorgánicos. Ante la ausencia de luz y de organismos fotosintetizadores, la producción primaria en el ecosistema hipógeo es muy reducida y está restringida a la actividad quimiosintética de las bacterias autótrofas. Estos dos tipos de poblaciones, una exógena y heterotrófica, y otra endógena y autotrófica, comúnmente no son halladas juntas (Caumartin, 1957, 1959). En presencia de materia orgánica predominan formas heterótrofas, mientras que las autótrofas son eliminadas por ser más sensibles a las modificaciones en el equilibrio químico (Manson-Williams & Benson-Evans, 1958).

Los hongos y bacterias heterótrofas se encargan de la descomposición de los residuos muertos y excreciones, disgregando el complejo orgánico en formas inorgánicas simples; a través de esta acción ingresan de nuevo en el ciclo de los elementos combinaciones químicas de carbono, nitrógeno y fósforo que, a no ser por estas transformaciones, se perderían para el resto de los organismos. Las bacterias heterótrofas metabolizan la materia orgánica y sintetizan su propia sustancia, constituyendo así un canal entre la materia orgánica y la biomasa animal, ya que muy diversos protozoos, crustáceos, gusanos y moluscos se alimentan de bacterias. Las bacterias autótrofas quimiosintéticas (Ferrobacteriales, Thiobacteriales y bacterias nitrificantes) son capaces de producir en oscuridad total la síntesis de materia orgánica nueva, ya que gracias a su especial metabolismo obtienen energía de la oxidación de compuestos inorgánicos. Pero tal vez su papel más importante reside en su capacidad de sintetizar vitaminas y oligoelementos, indispensables en la dieta de los troglobios (Galán, 1993; Galán & Herrera, 1998). Los animales han perdido esta capacidad y ante la ausencia de plantas verdes en el medio hipógeo estas sustancias esenciales son aportadas por bacterias (Ginet & Decú, 1977; Gounot, 1960). En conjunto, la acción de las bacterias en las cavernas consiste en determinar los cambios que sufre la materia orgánica, ya sea en el sentido de su mineralización, ya en el de su síntesis (Galán, 1993).

Los hongos y bacterias contribuyen a la dieta de muchos artrópodos cavernícolas, principalmente en sus fases larvarias, pero también como adultos. La dieta de muchos insectos troglobios incluye esporas y micelios de hongos. Al menos esporas de 15 géneros distintos de hongos han sido halladas en la dieta de colémbolos (Cubbon, 1976; Culver, 1982). Los insectos son considerados un efectivo agente dispersor de esporas fúngicas y otros microorganismos, ya que no existen factores específicos para la adhesión de estos a las cutículas de los insectos hospedadores (Boucias et al., 1988). Los quirópteros, insectos y roedores transportan muchas especies fúngicas al guano y ambientes enriquecidos de suelos (Hoff & Bigler, 1981). Todo ello introduce una compleja trama de interacciones entre microorganismos muy poco conocidos, los animales cavernícolas de la macro y meiofauna habitualmente estudiada en bioespeleología, y materiales inorgánicos presentes en las rocas del karst y en las espeleotemas.

En nuestro caso, el estudio de estos singulares recubrimientos de llamativo color amarillo-oro, condujo a revelar que se trataba de recubrimientos orgánicos constituidos por plasmodios de Mycetozoa (= Myxomycota o Myxomycetes), phylum peculiar de protistas, denominados informalmente "amebas gigantes" o "mohos mucilaginosos", que no son bacterias ni hongos, sino que están situados entre las amebas (protozoos). Se caracterizan por presentar como aparato vegetativo un plasmodio (masa unicelular multinucleada, ameboidea y fagocítica), la cual se propaga formando masas gelatinosas que desarrollan cuerpos fructíferos con esporas, similares superficialmente a los esporocarpos de los hongos. Situados entre los animales y los vegetales, actualmente son colocados entre los eucariotas Amoebozoa, en un phylum independiente: Mycetozoa (Baldauf, 2008; Yoon et al, 2008).

El grupo como tal no es raro, ya que son organismos frecuentes en bosques templado-húmedos, donde forman pequeñas masas gelatinosas sobre hojas muertas, madera, corteza de árboles y plantas vivas, con súbitas fructificaciones a menudo de espectacular colorido. Sin embargo, raramente han sido reportados sobre sustratos rocosos o en el interior de cuevas, y en este caso en la zona de entrada, sobre suelos, guano, carcazas o semillas (Culver, 1982; Guillieson, 1996). Existen algunas breves referencias de la mycobiota de cuevas de Puerto Rico (Nieves-Rivera & Carvajal-Zamora, 2000; Nieves-Rivera, 2003), México (Hoffman et al, 1986), Estados Unidos (Voltz & Yao, 1991; Landolt et al, 1992; Rutherford & Huang, 1994; Reeves et al, 2000) y Eslovenia (Gunde-Cimerman et al, 1998). En nuestro caso se trata de hallazgos sobre sustrato rocoso o estalagmítico, en zonas de oscuridad total en el interior de la cavidad, caso que resulta atípico y, en adición, se trata de especies que forman recubrimientos macroscópicos de contrastantes coloridos, observables a simple vista.

La rareza de este hallazgo reside de modo general en la escasez de alimento sobre sustrato rocoso en las porciones profundas de las cuevas desprovistas de guano u otros ricos depósitos orgánicos. Como más adelante veremos, la peculiar litología que presenta la cueva, permite la utilización del sustrato rocoso por bacterias autótrofas y la fagocitosis de las mismas y sus productos por los Mycetozoa plasmodiales, los cuales no podrían sobrevivir ni fructificar en ausencia de materiales orgánicos.

MATERIAL Y METODOS

Prospecciones bioespeleológicas fueron efectuadas en la cueva en 2007. La toma de fotografías y muestras para el presente estudio fue realizada en febrero, junio y agosto de 2010, a fin de cubrir distintas estaciones del ciclo anual. Los trabajos de campo fueron hechos por Carlos Galán y Marian Nieto, con la colaboración de Olatz Zubizarreta en una de las salidas. Fotos digitales fueron tomadas con una cámara Nikon de 6 megapixels de resolución. Fueron colectadas muestras de roca con los recubrimientos



Figura 3. En distintos puntos de las galerías de la cueva del Leizarán, se aprecia la disposición subvertical de las calizas, numerosas espeleotemas y diversos rasgos de su origen en régimen freático.



Figura 4. Diversidad de galerías en la cueva, con pequeñas salas, zonas con gours y profusión de espeleotemas.

usando bolsas de plástico estériles. En laboratorio fueron efectuados intentos de cultivo en placas con varios tipos de agar. Las muestras fueron examinadas con microscopio binocular estereoscópico Nikon y Wild Heerbrugg, con magnificaciones de 200 aumentos, y con un microscopio óptico Olympus. Imágenes-micro fueron obtenidas con la cámara digital directamente a través del ocular. Análisis por espectrometría Raman y fotografías con microscopio electrónico de barrido (SEM) fueron efectuados por Carolina Vera Martín y Adrián Intxaurrandieta, en Inasmet-Tecnalia. Para la identificación y nomenclatura de los Mycetozoa y bacterias se ha seguido en lo esencial a Farr (1976), Ing (1999), Lado (2001), Hernández Haba & Dubón (1992), consultándose artículos adicionales citados en la bibliografía. Sobre aspectos geológicos se ha seguido principalmente el trabajo de Campos (1979) y observaciones en la cueva y sus alrededores, efectuadas por el primer autor.

RESULTADOS

La cavidad está situada en un pequeño afloramiento de caliza Jurásica en la cuenca del Leizarán (a 3 km al E de la localidad de Andoain, Gipuzkoa), pero no en el valle principal del río Leizarán, sino en la cabecera de un valle afluente que nace en el collado existente entre los montes Adarra (817 m) y Usobelartza (647 m). La región ocupa el límite NW del macizo Paleozoico de Cinco Villas, existiendo sobre las calizas de la cueva areniscas y argilitas rojas del Permo-Trías. La boca de la cavidad se abre a escasos metros sobre el cauce del río, en coordenadas UTM: E 582.000; N: 4.785.000. Para proteger la cavidad, sus espeleotemas y recubrimientos orgánicos, dadas su fragilidad y vulnerabilidad ante visitas, nos referiremos a la misma como cueva del Leizarán, sin aportar datos más precisos sobre su localización y acceso.

La cueva es de origen freático y forma una red laberíntica de pequeñas galerías, con algunas salas espaciadas, totalizando 240 m de desarrollo y -10 m de desnivel (Figuras 3 y 4). Excepto la sala de entrada, en penumbra, el resto de la cavidad está en zona oscura, de alta humedad, con temperatura ambiente de 12°C. Los principales recubrimientos orgánicos se encuentran en oscuridad total, a entre 40 y 120 m de la boca, y manifiestan escasa variación a lo largo de las estaciones, siendo algo más pronunciado su colorido a finales de primavera y comienzos de verano (salida de Junio), época que resultó muy húmeda en 2010. En la cavidad habita una diversa representación de invertebrados cavernícolas, con especies troglobias que incluyen: opiliones Travuniidae, isópodos Trichoniscidae, anfípodos Niphargidae, diplópodos lulidae, quilópodos Lithobiidae, colémbolos Entomobryidae, dipluros Campodeidae, coleópteros Carabidae, y Leiodidae Leptodirinae (= Bathysciiinae). Un trabajo sobre la fauna cavernícola de la cavidad está en progreso. En la zona de entrada de la cavidad existe una interesante y diversa flora criptogámica, a la vez que acuden a la misma diversos vertebrados troglóxenos.

CONTEXTO GEOLOGICO

La cueva del Leizarán se desarrolla en un pequeño afloramiento de calizas y dolomías de edad Jurásico (Lías inferior). El mismo es parte de una sucesión de pequeños retazos de materiales del Jurásico que se encuentran pinzados por una zona de fallamiento inverso de dirección N60E que se extiende desde las proximidades de Villabona hasta cerca de Oyarzun, y que constituye el límite NW del Paleozoico de Cinco Villas. Este conjunto ha sido llamado zona de fallas de Ereñozu o, simplemente, falla inversa de Ereñozu. En general, todos los retazos Jurásicos presentan unas secuencias muy reducidas por causas tectónicas.

En el afloramiento de la cueva las calizas se encuentran en disposición subvertical, limitadas a techo (SE) por materiales del Permo-Trías (areniscas y limolitas rojas con algunos conglomerados). El cauce del río corta el afloramiento y al otro lado del mismo (NW) los materiales Jurásicos entran en contacto por falla con margas y lutitas del Cretácico, que ocupan los flancos del sinclinal de Goiburu, también de dirección N60E (Figuras 5 y 6).

Este sistema de pliegues y fallas inversas corresponde a estructuras de compresión que se alinean paralelamente al borde NW del Macizo Paleozoico de Cinco Villas. Su rasgo más sobresaliente es la existencia de estrechos anticlinales con el núcleo extruído, con un marcado carácter diapírico, algunos de los cuales han evolucionado dando fallas inversas de pendiente fuerte.

En opinión de Campos (1979) es probable que la directriz N60E se corresponda con accidentes de zócalo y ello explicaría el importante desnivel estructural que existe a uno y otro lado de las más destacables estructuras de este sistema: los propios accidentes, prolongándose hasta el zócalo, condicionarían el gradiente halocinético y la inyección forzada de arcillas yesíferas del Keuper (Trías), que perforan en diversos sitios las charnelas de los aparatos anticlinales fallados.

LITOLOGIA

La extensión del afloramiento en superficie es muy reducida, mientras que a lo largo de las galerías de la cueva se observa una extensión mayor. En ella alternan tramos de calizo-dolomías laminadas, con bancos de calizas lajeadas de color negro, y de caliza y margocaliza estratificada en bancos delgados, de colores azules en fractura fresca, con nódulos ferruginosos y alto contenido de pirita. Los lechos más margosos se rompen con facilidad, mostrando una estructura hojosa y fractura ligeramente concoidal. La potencia total de la serie es del orden de 60-80 m.



Figura 5. Esquema geológico del área de Villabona-Tolosa. 1, Paleozoico + Trías inferior; 2, Trías superior; 3, Jurásico; 4, Cretácico; Q, Cuaternario. Principales accidentes: A, sinclinal de Gazume; B, falla inversa de Pagoeta; C, sinclinal de Ernio; D, anticlinal de Mendikute; E, anticlinal de Belaunza; F, falla inversa de Ereñozu; G, sinclinal de Goiburu; H, anticlinal de Hernani-Andoain; 1, anticlinal de Ondolar; J, sinclinal de Uzturre. (Fuente: Campos, 1979:98, figura 48). El asterisco rojo indica la posición de la cueva del Leizarán.



Figura 6. Esquema geológico en el que se indican los nombres de las principales estructuras de dirección N60E en el área de San Sebastián-Zarauz-Tolosa (Fuente: Campos, 1979:101, figura 50). El asterisco rojo indica la posición de la cueva del Leizarán.



Figura 7. Cortes geológicos seriados de la zona de falla de Ereñozu. 1, Paleozoico; 2, Trías inferior; 3, Trías superior; 4, Jurásico; 5, Cretácico inferior; 6, Cretácico superior. (Fuente: Campos, 1979:110, figura 57). El área del afloramiento de la cueva está representada en el corte D-D' (flecha roja). El asterisco rojo indica la posición de la cueva del Leizarán.

TECTONICA

El borde NW del Macizo Paleozoico de Cinco Villas se presenta jalonado por una falla inversa de gran salto, según la cual, a lo largo de 18 km, entre Villabona y Ergoyen, el Carbonífero cabalga con vergencia NW, y según una superficie bastante inclinada, a la cobertera mesozoica (Figuras 5, 6 y 7). A ella se asocian otras fallas inversas satélites que delimitan escamas igualmente vergentes, constituidas por materiales cuya edad oscila entre el Lías inferior y el Albiense. Este conjunto de accidentes ha sido denominado zona de fallas de Ereñozu o, simplemente, falla inversa de Ereñozu (Campos, 1979).

Este contacto ha sido estudiado anteriormente, pero sin que se hiciera resaltar su carácter de falla inversa. Lamare (1936) describe con detalle el borde NW del Macizo de Cinco Villas, interpretándolo y resolviéndolo con una familia de pliegues volcados hacia el N, la mayor parte de las cuales muestran su continuidad, especialmente desde el monte Adarra hacia el NE.

En opinión de Campos (1979), el accidente principal que jalona el borde rectilíneo del Macizo es una falla inversa, de salto comprendido entre 1,5 y 3 km, según los cortes. Este accidente produce fuertes arrastres y una escarnación apretada en los términos jurásicos y cretácicos. En los cortes seriados de la Figura 7 se expresan los rasgos más significativos de esta zona de fallas, según los sectores.

La historia de la falla de Ereñozu es compleja y difícil de detallar; es posible que en un principio se tratara de una falla normal o una flexura que, más tarde, ante esfuerzos comprensivos, evolucionó hasta transformarse en falla inversa. La razón que sostiene esta suposición es la coincidencia de la línea de fractura con la zona hacia la cual se acuñan las series que se depositaron en la cuenca mesozoica; si esto es cierto, algunas de las fallas que determinaron la extensión de la cuenca paleogeográfica, han podido representar zonas débiles que absorbieron gran parte de la deformación por compresión.

De acuerdo con los cortes de la Figura 7 es probable que en etapas aún tempranas del desarrollo del accidente se produjeran pliegues isoclinales en la cobertera; los isoclinales serían ya volcados en su origen, apareciendo con la misma vergencia NW de la falla. Después se desarrollarían varias fallas inversas satélites, con trazado más irregular y que, en algún caso, aprovechan parcialmente los trazados de la estratificación deformada por los pliegues primitivos (por ejemplo, escamas del sector de Aizbitarte, corte B de la figura); otras veces las fallas secundarias cortan netamente al plano axial de dichos pliegues (sector de Cucutetxiki, donde se localiza la cueva del Leizarán, corte D de la figura).

Las distintas escamas diferenciadas se acuñan rápidamente en profundidad, como parece desprenderse de la observación de los cortes naturales más profundos, los de Ereñozu (valle del Urumea) y Ergoyen; en ambos casos la sucesión esquistosa de Cinco Villas se superpone al Cretácico superior mediante una superficie de falla inversa.

En algunos cortes, sobre todo en el corte D de la Figura 7, la geometría del conjunto de fallas parece relacionada con una falla principal de superficie cóncava hacia arriba.

En resumen, la estructura del borde NW del Macizo de Cinco Villas se resuelve en una serie de fracturas, con superficies posiblemente alabeadas, que cortan a estructuras isoclinales previas y que en parte de su recorrido pueden y deben aprovechar las trazas de la estratificación, subparalelas a los planos axiales de los pliegues.

El Cretácico superior en la proximidad del accidente, presenta una estructura interna bastante compleja; los lechos de litología alternante que lo constituyen se encuentran muy replegados. Es frecuente observar en él pliegues de tamaño decimétrico a métrico de simetría monoclínica, a veces son muy apretados, casi isoclinales. En ellos, los niveles más carbonatados y los de grano más grueso, es decir, los más competentes, tienden a formar pliegues isópacos, mientras que los arcillosos forman pliegues con geometría próxima a la que desarrolla una esquistosidad muy grosera paralela al plano axial.

Es posible también observar en el Cretácico superior, aunque en menor escala, el desarrollo de pequeñas cizallas que laminan los flancos de los pliegues en los niveles competentes, con una disposición que es congruente con las escamas inmediatas.

Hacia el SW, las escamas que caracterizan a este borde del Macizo, van desapareciendo y el salto de la falla inversa se va haciendo menor, por lo cual el Carbonífero no llega a aflorar en las proximidades de la misma. Al W del meridiano de Villabona el cabalgamiento se amortigua y debe quedar absorbido por el colchón plástico que supone el gran afloramiento del Keuper de Tolosa y Villabona.

HIDROGEOLOGIA

Actualmente la cavidad es fósil o hidrológicamente inactiva, presentando sus galerías extensos depósitos de espeleotemas. La base de la sala de entrada, cota -10 m, alcanza prácticamente el nivel piezométrico a igual cota que la del cauce por el que discurre el río epígeo, hacia el cual drena la cavidad. La actividad hídrica actual se reduce a la infiltración dispersa de las precipitaciones locales, lo cual genera en la cueva numerosos goteos, estalactitas, gours y mantos estalagmíticos.

La cavidad tiene un origen freático, estando actualmente la red subhorizontal de galerías a escasos metros por encima del nivel piezométrico. Este resultado ha sido producto del avance de la erosión normal, la cual ha generado la incisión del cauce del río externo y un consecuente rebajamiento de superficie. Parte de la red de galerías de la cueva, sobre todo las de menor diámetro, muestra secciones circulares u ovales con la típica forma de conducto forzado, indicando una génesis en régimen freático.



Figura 8. La boca de entrada (imagen superior) da paso a una sala con bloques en cuya parte alta, tras un paso estrecho, prosigue la galería principal de la cueva, con numerosas espeleotemas (imagen inferior).



Figura 9. La galería principal, de sección oblicua, alcanza alturas de más de 4 m, y conduce a otras ampliaciones y galerías ampliamente decoradas por espeleotemas.



Figura 10. Circuito laberíntico de galerías, con ampliaciones formadas por excavación de estratos delgados subverticales, en parte margosos y frecuentemente laminados.

DESCRIPCION DE LA CAVIDAD Y SUS ESPELEOTEMAS

La cueva del Leizarán constituye una red subhorizontal de galerías, en general de pequeño diámetro, de 240 m de desarrollo. Su boca, de 2 m de diámetro (Figura 8), da paso a una sala de entrada con caos de bloques en fuerte declive, y en cuya parte baja hay un conjunto de pequeños conductos con charcas de agua, los cuales se obstruyen por estrechez o colapso en la cota -10.

Una galería prosigue la parte alta de la sala, a una cota similar a la de la boca (Figura 8). Esta viene a ser la galería principal, de sección oblicua siguiendo la estratificación, y alcanza alturas de 4 m x 2 m de ancho (Figura 9). Otra pequeña sala da paso a una continuación más amplia, de la cual parten diversas pequeñas galerías que conforman un circuito laberíntico. En parte del trayecto existen salas o ampliaciones formadas por derrumbe de los bancos más margosos de la serie Jurásica (Figura 10). Estos han sido excavados por la infiltración dispersa actual en zona vadosa y enmascaran los rasgos anteriores, a la vez que en sus paredes es posible apreciar el dispositivo estructural, en bancos delgados subverticales, frecuentemente laminados.

De modo general, gran parte de las paredes de la red de galerías está tapizada de espeleotemas, principalmente coladas y mantos estalagmíticos, existiendo un sector de unos 40 m con numerosos gours sobre suelo estalagmítico. Estos igualmente se encuentran dispersos en distintos puntos de la cavidad. Son también abundantes los rellenos arcillosos, producto de la deposición de los materiales insolubles que quedan como residuo de la disolución de la caliza (Figura 11).

La diversidad morfológica de las espeleotemas es considerable, siendo en su mayoría de calcita. En una de las salas terminales hay buenos ejemplos de espeleotemas de aragonito, con aspecto de flores de crecimiento radial (Figura 12).

LOS RECUBRIMIENTOS ORGANICOS

En diversos puntos de las galerías son muy visibles zonas y manchas blancas opacas sobre las paredes húmedas de roca y espeleotemas de colores ocres. Estos films, de aspecto seco, parecen ser de calcita, pero sugieren un avance de procesos de alteración sobre el sustrato preexistente. Existen puntos más reducidos recubiertos de pequeñas placas de intenso color amarillooro y contrastante brillo metálico. Dado que entre y cerca de ellos hay también manchas blanco-opacas, inicialmente pensamos que podrían tratarse todas ellas de films o delgadas películas de espeleotemas, siendo las plaquitas amarillas depósitos, en pequeñas cantidades, de algún mineral secundario o incluso de perlas de pirita.

Pero un examen más atento mostraba que los recubrimientos amarillos parecían desarrollarse sobre una interfase de alteración blanda y húmeda, muy frágil y disgregable sobre las paredes y bóvedas de roca-caja, y algo más sólida sobre las espeleotemas. Creando la consiguiente duda de si se trataba de películas orgánicas, minerales, o una combinación de ambas cosas. Dado que macroscópicamente no era posible resolver esa duda, y que en cualquiera de los casos resultaba de interés conocer su composición, decidimos tomar algunas muestras para observarlas al microscopio y determinar que tipo de análisis sería conveniente realizar. Además de ello, decidimos tomar fotografías que sirvieran para ilustrar las características de estos raros recubrimientos amarillos y de todo el conjunto de rasgos que presenta la cueva (Figuras 13 y 14).

El examen al microscópico en laboratorio, resultó más sorprendente que lo esperado. Los recubrimientos amarillos parecían ser exclusivamente orgánicos. Lo que en la cueva y a simple vista parecía sólido, se presentaba al microscopio como una masa de borlas o fructificaciones amarillas, ramificada, que se extendía sobre un sustrato blando y húmedo, de aspecto gelatinoso, en el cual también se distinguía una estructura de túbulos festoneados y entrelazados. La masa mucilaginosa era notable en las muestras más húmedas tomadas sobre las paredes hojosas de caliza, mientras que, aunque discernible, resultaba menos aparente en las muestras de superficie de espeleotemas. No obstante, todo el conjunto era delicado y disgregable (Figura 15).

El estudio de las muestras permitió determinar que los recubrimientos consistían en plasmodios de Mycetozoa, un phylum de protistas que ocupa una posición intermedia entre las amebas y los hongos. En las muestras tomadas sobre sustrato rocoso (caliza hojosa) son muy patentes las masas mucilaginosas plasmodiales, de coloraciones grises-hialinas sólo levemente amarillentas. Los colores amarillos corresponden en realidad a los cuerpos fructíferos, y no cubren toda la superficie. En las muestras tomadas sobre espeleotemas o roca más compacta, los mucílagos son menos visibles, y las fructificaciones amarillas destacan sobre un fondo blanco, en el cual la estructura de los plasmodios sólo se insinúa, pudiendo confundirse con las superficies de calcita (Figura 15). Detalles adicionales sobre la biología de estos organismos son presentados en el siguiente apartado y en las Figuras 16 á 18. Imágenes obtenidas con microscopio electrónico de barrido (= SEM) son presentadas en las Figuras 19 y 20.

MYCETOZOA

La estructura vegetativa de los Mycetozoa es denominada plasmodio. Está constituido por una masa de citoplasma multinucleado, que carece de una pared rígida limitante y que se desplaza de manera ameboidea sobre el sustrato, ingiriendo bacterias y microorganismos más pequeños. Su aspecto es el de una sustancia mucosa.

Mientras las condiciones son favorables para el crecimiento vegetativo, el plasmodio continúa aumentando de volumen, lo que va acompañado de repetidas divisiones de los núcleos. El organismo puede así convertirse en una masa de citoplasma con miles de núcleos y con un peso de varios gramos.



Figura 11. Los rellenos arcillosos son comunes en las partes profundas de la cueva. Junto a las espeleotemas predominantes de calcita, en distintos puntos existen flores de aragonito (bóvedas de la imagen superior e inferior, derecha).



Figura 12. Detalle de espeleotemas de aragonito.



Figura 13. Diversos ejemplos de recubrimientos orgánicos amarillo dorados sobre la roca-caja. Nótese también la presencia de eflorescencias blancas.



Figura 14. Los recubrimientos amarillos también se presentan sobre coladas y mantos estalagmíticos.

La fructificación tiene lugar cuando un plasmodio emigra a una región relativamente seca del sustrato. En el exterior del plasmodio indiferenciado se produce entonces una estructura fructifera que con frecuencia es de extremada complejidad y belleza (Figuras 15 á 20). A medida que se desarrolla este cuerpo fructífero, pequeñas secciones uninucleadas del plasmodio quedan rodeadas por paredes, formando un gran número de esporas uninucleadas que nacen de la estructura fructífera. Las esporas formadas están rodeadas de filamentos (capilicios) que contribuyen a su dispersión. Si las condiciones son desfavorables las esporas permanecen en anabiosis, en caso contrario germinan y el ciclo comienza de nuevo. Las esporas germinadas producen gametos ameboides uniflagelados que se fusionan por pares para formar zigotos biflagelados. Después, el zigoto ameboide pierde sus flagelos y se desarrolla formando un nuevo plasmodio, que puede fusionarse con otros. Los núcleos vegetativos de un plasmodio son diploides y la meiosis tiene lugar justamente antes de la formación de las esporas (Stanier et al, 1996).

El estado vegetativo plasmodial y amorfo de los Myxomycetes es poco o nada semejante al estado vegetativo de los hongos, cuya forma es la de un micelio ramificado, y sugiere en cambio una auténtica relación con los protozoos amebianos. No obstante, el plasmodio y el micelio son estructuras análogas; ambas son cenocíticas y en ambas el citoplasma puede fluir, aunque en el micelio está confinada por paredes rígidas. La controversia acerca de si son animales u hongos depende de lo que se considere esencial. Para unos autores, sus células ameboides móviles y su nutrición por fagocitosis hacen claramente de ellos animales (protozoos). La partícula de alimento, usualmente una bacteria, es fagocitada e introducida en una vacuola, para ser digerida mediante enzimas hidrolíticas. Esta es una de las razones por las que los mixomicetos no se consideran hongos, puesto que, en estos últimos, las células poseen paredes celulares y la alimentación se realiza por absorción. Para otros autores, en cambio, serían hongos, por sus esporas con pared celular, estructuras fructíferas semejantes a esporangios, y falta de fotosíntesis. Actualmente, en base a secuencias de ARNr y por comparación de ciertos genes y proteínas son considerados un phylum independiente (= Mycetozoa), situado entre los eucariotas protozoos Amoebozoa (Baldauf, 2008; Bapteste et al, 2002; Yoon et al, 2008). Su sistemática es también compleja y los taxa reportados en esta nota parecen corresponder al orden Trichiida, o tal vez a Physarida, pero su ajustada identificación requiere de un estudio especializado. En las Figuras 15 a 18 se ilustra la morfología de los Mycetozoa hallados en la cueva del Leizarán. Con mayor detalle, las Figuras 19 y 20 muestran imágenes obtenidas con microscopio electrónico de barrido (MEB), en las cuales se aprecia su compleja ultraestructura.

Otro aspecto que llama nuestra atención, según la bibliografía revisada, es su modo de ocurrencia. En primer lugar, en la cueva y no sobre restos orgánicos, sino sobre paredes de roca en zona oscura. En segundo lugar, es generalmente aceptado que los plasmodios, una vez formados, presentan fototaxia, es decir, huyen de la luz para ir a zonas oscuras y húmedas reptando; posteriormente los plasmodios migran a zonas expuestas a la luz e inician la formación de la estructura fructifera en cuyo interior se forman las esporas. En nuestro caso las esporas penetran en la cueva y dan origen a plasmodios en la zona oscura. De hecho, estos recubrimientos plasmodiales se presentan en la primera parte de la zona oscura de la cueva, donde son frecuenten gotitas de agua de condensación sobre las paredes, y por tanto se trata de una zona de alta humedad. Lo destacable es que los plasmodios no abandonan esta zona sino que es precisamente en ella donde generan los cuerpos fructíferos amarillos. Estas peculiares características nos inclinan a suponer, con las debidas reservas, que probablemente se trate de taxa nuevos para la Ciencia de Mycetozoa cavernícolas, cuyo ciclo biológico difiere del que es habitual en este grupo de organismos.

BACTERIAS

La presencia de plasmodios de Mycetozoa sobre sustrato rocoso sugería que el mismo debía poseer colonias de bacterias u otros microorganismos que pudieran ser utilizadas como alimento y soportaran el crecimiento y desarrollo plasmodial. Aunque las muestras fueron colectadas sin los requisitos de esterilidad para un estudio microbiológico (Starr et al, 1981), intentamos en laboratorio ensayar si se daba algún tipo de crecimiento en placa, probando con los tipos de agar que pudimos obtener (Potato dextrosa agar acidificada, Saboraud dextrosa agar, y un medio con alcohol como fuente de carbono). Se colocaron fragmentos de las muestras directamente sobre las placas de cultivo y fueron mantenidas a temperatura ambiente. En la mayoría de los casos los resultados fueron negativos, pero en el medio con alcohol como fuente carbonada obtuvimos unas colonias opacas y mucosas, pigmentadas de amarillo, de aparentes bacilos alargados a cocáceos de hasta 10 µm de longitud. Diversos indicios sugieren la posibilidad de atribuirlos a bacterias quimiolitótrofas Xanthobacter o algún género afín (Jenni & Aragno, 1987; Hernández Haba & Dubón, 1992; Krieg & Holt, 1984; Staley et al, 1989).

Las bacterias del grupo Xanthobacter son aerobios estrictos, catalasa positivos, gram negativos, quimioorganótrofos o quimiolitótrofos, capaces de fijar el nitrógeno atmosférico (10-20 mg N / g de glucosa consumida), y se encuentran libremente en suelos húmedos y en el agua, en un amplio rango de pH (5.8-9) (Hernández Haba & Dubón, 1992).

Con las debidas reservas sobre su atribución a Xanthobacter, sí parece que existen microorganismos quimiolitótrofos sobre el sustrato rocoso. Estos podrían aprovechar materiales inorgánicos contenidos en la roca-caja (materiales ferruginosos, pirita, carbonatos) y/o en el agua de percolación, y producir así en oscuridad total la síntesis de materia orgánica nueva, sirviendo de soporte trófico para el desarrollo de los plasmodios de Mycetozoa. En todo caso, la evidencia hasta ahora disponible es incompleta y no excluye que se puedan obtener resultados adicionales más precisos mediante un adecuado estudio microbiológico, aspecto éste que sobrepasa la naturaleza y alcance de esta nota.



Figura 15. Micrografías de los plasmodios de Mycetozoa. Vista general de las masas mucilaginosas con fructificaciones amarillas a doradas, sobre paredes de roca (arriba) y sobre espeleotemas de calcita (debajo). Como referencia de escala, la imagen superior tiene una anchura de 18 mm y la inferior de 3 mm.



Figura 16. Plasmodios con cuerpos fructíferos de Mycetozoa. Muestras sobre sustrato rocoso. En las micrografías inferiores de la derecha, con luz lateral de menor intensidad, las imágenes aparecen con tonalidades verdes. Nótese que también hay algunos plasmodios blancos.



Figura 17. Micrografías de Mycetozoa de las muestras tomadas sobre espeleotemas de calcita. Como referencia de escala, la imagen superior, y la inferior izquierda, tienen anchuras de 3 mm.



Figura 18. Micrografías de Mycetozoa de la cueva del Leizarán. En las imágenes superiores se aprecia claramente la estructura ameboidea de los plasmodios, con seudópodos tubulares, y finos capilicios en la superficie de los cuerpos fructíferos amarillos. En las imágenes superior e inferior-derecha se aprecia claramente ejemplos adicionales de cuerpos fructíferos blancos.



Figura 19. Micrografías en blanco y negro con microscopio electrónico de barrido MEB (= SEM), de los plasmodios y cuerpos fructíferos de Mycetozoa de la cueva del Leizarán. Magnificación: 300 aumentos (arriba), 1000 aumentos (debajo).



Figura 19. Micrografías en blanco y negro con microscopio electrónico de barrido MEB (= SEM), de los plasmodios y cuerpos fructíferos de Mycetozoa de la cueva del Leizarán. Magnificación: 3.000 aumentos (arriba), 10.000 aumentos (debajo).

ESPECTROSCOPIA RAMAN Y MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO

Fueron realizados análisis por espectroscopía Raman y microfotografías con MEB (magnificaciones de hasta 20.000 aumentos) en el Departamento de Biomateriales y Nanotecnología de Inasmet-Tecnalia. La espectroscopía Raman no detecta componentes minerales identificables en las zonas de crecimientos orgánicos, excepto calcita en el sustrato adyacente, por lo que se deduce que los recubrimientos citados son exclusivamente orgánicos. Las imágenes al microscopio óptico ilustran la morfología de los taxa de Mycetozoa, con seudópodos y cuerpos fructíferos de 50-80 µm de diámetro como promedio para formas cilíndricas, pero las imágenes al microscopio electrónico muestran una ultraestructura extremadamente fina y compleja, con formas filamentosas y borlas globulares de hasta 1 µm de diámetro y una trama de filamentos orgánicos incluso menores (Figuras 19 y 20), es decir, de dimensiones tan pequeñas que están en el límite de detección del equipo.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

El trabajo efectuado con macro y micrografía digital y MEB sobre las muestras colectadas en la cueva, permite determinar que las eflorescencias amarillo-doradas encontradas en la cueva corresponden a masas de plasmodios y cuerpos fructíferos de Mycetozoa, probablemente del orden Trichiida. Adicionalmente pudiera haber colonias de bacterias quimiolitótrofas Xanthobacter.

Se plantea como hipótesis genética que el substrato de roca (caliza dolomítica rica en hierro y sulfuros) está siendo alterado por acción bacterial y que los plasmodios de Mycetozoa se desarrollan a expensas de las bacterias y subproductos de su metabolismo.

Esta alteración ocurre en la zona oscura de la caverna, más próxima a la entrada, donde a menudo se observa también la presencia de gotitas de agua de condensación. El crecimiento de los Mycetozoa y la formación de esporas ocurren sobre sustrato rocoso y estalagmítico, aparentemente desprovisto de materia orgánica, lo que resulta del todo inusual, no existiendo en la literatura reportes previos de ocurrencias similares. El conjunto de características observadas sugiere que se trata de taxa nuevos de Mycetozoa de ciclo biológico inhabitual.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Hasta el presente son por demás escasos los reportes de taxa de Mycetozoa en cavernas, ya que se trata de un grupo cuyo habitat típico es el bosque templado-húmedo, donde ocurren como crecimientos de mohos mucilaginosos y pequeñas masas gelatinosas sobre la hojarasca, madera, corteza de árboles y plantas, algunas de ellas de llamativos colores. Los raros reportes citados de cavernas corresponden a zonas de penumbra en las bocas o bajo claraboyas sobre suelos orgánicos, guano, carcazas o semillas (Culver, 1982; Nieves-Rivera, 2003; Hoffman et al, 1986; Reeves et al, 2000). Otros casos de mycobiota reportados de cuevas corresponden a micro-hongos y micelios de hongos, no a Mycetozoa.

Probablemente el factor más importante para la ausencia de este grupo en cavernas, reside en la escasez de materia orgánica en la zona profunda de las cuevas (= deep cave environment). Y, sobretodo, que ésta suele estar asociada a guano, restos orgánicos importados por crecidas, y suelos enriquecidos por depósitos orgánicos. En las cuevas de Gipuzkoa, a diferencia de cavernas del Neotrópico, son infrecuentes y por demás escasos los depósitos orgánicos. Los suelos arcillosos típicos de cuevas guipuzcoanas tienen un contenido orgánico muy bajo. Un ejemplo de ello lo suministra la cueva de Guardetxe, en el monte Andatza, donde los valores de carbono orgánico en las arcillas de la cueva son de 0,48 á 0,20 % de peso seco según la técnica de Möhr, mientras que en el MSS y arcilla del suelo superior alcanza valores de 10,82 á 12,25 % de peso seco, lo que representa una fracción de 1/20 a 1/40 del contenido de carbono con respecto a las arcillas del edáfico (Galán, 2003), y mucho menos aún que los valores de los horizontes orgánicos de los suelos de bosque. En adición, en nuestro caso no encontramos los crecimientos de Mycetozoa sobre los suelos arcillosos, sino sobre espeleotemas y paredes expuestas de roca, donde el contenido debe ser bajísimo o estar ausente. Es decir, que estos plasmodios de Mycetozoa se desarrollan sobre el sustrato más pobre, rocoso y estalagmítico, en zonas de oscuridad total en el interior de la cavidad.

Por todo ello planteamos como hipótesis que un conjunto de características y la peculiar litología de la cueva, permiten la utilización del sustrato rocoso por bacterias autótrofas y la fagocitosis de las mismas y/o productos de su metabolismo por los plasmodios de Mycetozoa, los cuales no podrían sobrevivir ni fructificar en ausencia de nutrientes.

Concluimos que el caso presentado resulta interesante y atípico. En adición, se trata de especies que forman recubrimientos macroscópicos de contrastantes coloridos, de notable belleza estética, observables a simple vista. No existían reportes previos de recubrimientos semejantes y algunos casos que pudieran haber sido observados por espeleólogos, habrían pasado desapercibidos, con la impresión de que se trataba de films de sustancias minerales sin mayor interés.

Durante el desarrollo del trabajo, observamos con mayor detenimiento ambientes parecidos en otras cuevas de Gipuzkoa. Nuestra impresión es que puede haber recubrimientos análogos en algunas otras cuevas en calizas Urgonianas (de edad Cretácico temprano), pero requiere confirmación. Un trabajo en progreso podrá aportar nuevas evidencias, de las que de momento sólo contamos con algunas macrofotografías tomadas en algunas de las cuevas. De confirmarse que la presencia de este tipo de recubrimientos está más generalizada, se descartaría la importancia relativa de factores litológicos, siendo otros a determinar los factores bio-ecológicos que comandan la ocurrencia de especies de Mycetozoa cavernícolas.

El presente hallazgo añade un ingrediente más a la compleja trama de interacciones que existe en el medio hipógeo entre microorganismos, animales cavernícolas y materiales inorgánicos presentes en las cuevas y en sus espeleotemas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a todos aquellos integrantes y colaboradores de la Sociedad de Ciencias Aranzadi que han aportado su ayuda en la realización de las prospecciones en cuevas que sustentan este trabajo. De modo especial a: Iñigo Herraiz, Olatz Zubizarreta, Aize García, Alberto Camaraza, Izaskun Katarain, José Mari Beobide, Christian Besance, y Brian Reckt. Agradecemos a Adrián Intxaurrandieta Aizpurua (Dpto. Tecnológico - Caracterización de Materiales y sus Procesos) de Inasmet - Tecnalia, y al Dpto de Biomateriales y Nanotecnología, de la misma Institución, por su valiosa colaboración en los análisis por espectroscopía Raman y microfotografía con microscopio electrónico de barrido. A Imanol Goikoetxea, por su apoyo y útiles sugerencias.

BIBLIOGRAFIA

Baldauf, S. 2008. An overview of the phylogeny and diversity of eukaryotes. Journal of Systematics and Evolution, 46 (3): 263-273.

- Bapteste, E., Brinkmann, H., Lee, J.A., Moore, D.V., Sensen, C.W., Gordon, P., Durufle, L., Gaasterland, T., Lopez, P., Muller, M. & H. Philippe. 2002. The analysis of 100 genes supports the grouping of three highly divergent amoebae: Dictyostelium, Entamoeba, and Mastigamoeba. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 99: 1414-1419.
- Boucias, D.G., Pendland, J.C. & J.P. Latge. 1988. Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. Applied and Environmental Microbiology, 54: 1795-1805.

Campos, J. 1979. Estudio geológico del Pirineo vasco al W del río Bidasoa. Munibe, S.C.Aranzadi, 31 (1-2): 3-139.

Caumartin, V. 1957. Recherches sur une bactérie des argiles de cavernes et de sediments ferrugineux. Comp.Rend.Acad.Sci.Paris, 245.

Caumartin, V. 1959. Quelques aspects nouveaux de la microflore des cavernes. Ann.Spéléol., 14: 147-158.

Cubbon, B.D. 1976. Cave flora. In: Ford, T.D. & C.H. Cullingford (eds). The Science of Speleology: London, Academic Press, p. 423-452.

Culver, D.C. 1982. Cave life. Evolution and ecology. Harvard University Press. Cambridge. 190 pp.

Farr, M.L. 1976. Myxomycetes. Flora Neotropica, 16: 1-305.

Galán, C. 1993. Fauna hipógea de Gipuzkoa: su ecología, biogeografía y evolución. Munibe (Cienc.Nat.), S.C.Aranzadi, 45: 1-163.

Galán, C. 2003. Ecología de la cueva de Guardetxe y del MSS circundante: un estudio comparado de ecosistemas subterráneos en materiales del Cretácico tardío del Arco Plegado Vasco. Página web SCA. Archivo PDF: 20 pp.

Galán, C. & F.F. Herrera. 1998. Fauna cavernícola: ambiente y evolución (Cave fauna: environment and evolution). Bol.Soc.Venez.Espeleo, 32: 13-43. Gillieson, D. 1996. Caves: Processes, development and management. Cambridge, Massachusetts: Blackwell Publishers.

Ginet, R. & V. Decú. 1977. Initiation á la biologie et á l'écologie souterrain. Ed.Delarge, Paris, 345 p.

Gounot, A. 1960. Recherches sur le limon argileux souterrain et sur son role nutritif pour les Niphargus (Amphipodes, Gammarides). Am.Spéléol., 15: 501-526.

Gunde-Cimerman, N., Zalar, P., & S. Jeram. 1998. Mycoflora of cave cricket Troglophilus neglectus cadavers. Mycopathologia, 141: 111-114.

Hernández Haba, J. & F. Dubón. 1992. Sistemática Bacteriana. 3ª edición. Dpto. Biotecnología Univ. Politécn. Valencia & Dpto. Microbiol. Univ. Valencia. Imp.: Copión S.L., Valencia,

Hoff, G.L., & W.J. Bigler. 1981. The role of the bats in the propagation and spread of histoplasmosis: A review. Journal of the Wildlife Diseases, 17: 191-196.

Hoffman, A.., Palacios-Vargas, J. & J.B. Morales-Malacara. 1986. Manual de bioespeleología (con nuevas aportaciones de Morelos y Guerrero, México). México, D.F., Universidad Nacional de México.

Ing, B. 1999. The Myxomycetes of Britain and Ireland: An Identification Handbook. Richmond Publishing Co. Ltd. England. 374 p.

Jenni, B. & M. Aragno. 1987. Xanthobacter agilis sp. nov., a motile, dinitrogen-fixing, hydrogen-oxidizing bacterium. Syste. Appl. Microbiol. 9: 254-257.

Krieg, N.R. & J.G. Holt. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 1. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Lado, C. 2001. Nomenmyx. A nomenclatural taxabase of Myxomycetes. Cuadernos de Trabajo Flora Micológica Ibérica, 16: 1-221.

Lamare, P. 1936. Recherches géologiques dans les Pyrénées basques d'Espagne. Mem. Soc. Géol. France N. S. 12 (1-4) : 1-463.

Landolt, J.C., Stephenson, S. L. & C.W. Stihler. 1992. Cellular slime molds in West Virginia caves including notes on the occurrence and distribution of Dictyostelium rosarium. Mycologia, 84: 399-405.

Manson-Williams, A. & K. Benson-Evans. 1958. A preliminary investigation into the bacterial and botanical flora of caves in South Wales. Cave Research Group, Great Britain, 8: 11-32.

Nieves-Rivera, Á.M. 2003. Mycological Survey of Río Camuy Caves Park, Puerto Rico. Journal of Cave and Karst Studies, 65 (1): 23-28.

Nieves-Rivera, Á.M. & Carvajal-Zamora, J.R. 2000. Cave mycobiota of Puerto Rico, with special reference to those inhabiting bat-guano enriched soil: Memorias XIX Simposio Flora y Fauna del Caribe, Universidad de Puerto Rico, Humacao, Abstracts, p. 17.

Reeves, W.K., Jensen, J.B. & J.C. Ozier. 2000. New faunal and fungal records from caves in Georgia, USA. Journal of Caves and Karst Studies, 62: 169-179.

Rutherford, J.M. & L.M. Huang. 1994. A study of fungi of remote sediments in West Virginia caves and a comparison with reported species in the literature. National Speleological Society Bulletin, 56: 38-45.

Staley, J.T., M.P. Bryant; N. Pfennig & J.G. Holt. 1989. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 3. The Williams and Wilkins Co., Baltimore.

Stanier, R., J. Ingraham, M. Wheelis & P. Painter. 1996. Microbiología (Segunda Edición). Ed.Reverté, Barcelona, 750 pp.

Starr, M.P., H.G. Stolp, H.G. Truper, A. Balows & H.G. Schlegel (ed.). 1981. The prokaryotes: a handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Springer-Verlag. Berlin.

Volz, P.A. & J.P. Yao. 1991. Micro-fungi of the Hendrie River Water Cave, Mackinac County, Michigan. Nat. Speleol. Soc. Bulletin, 53: 104-106.

Yoon, H.S., Grant, J., Tekle, Y.I., Wu, M., Chaon, B., Cole, J., Logsdon, J.M. Jr., Patterson, D.J., Bhattacharya, D. & L.A. Katz. 2008. Broadly sampled multigene trees of eukaryotes. BMC Evolutionary Biology, 18: 8-14.