

Protocolo de censo de refugios de cría

Los censos de animales emergentes se realizarán:

1. Mediante grabación simultánea de **cámara de vídeo y focos de luz infrarroja emparejados con un detector**:
 - a) o con sistema de división de frecuencias, directamente conectado a la cámara,
 - b) o de grabación continua, que se sincronizará con la cámara mediante una claqueta manual o digital.
2. Cuando un refugio disponga de **más de una entrada/salida** se procederá a **grabar de forma simultánea en cada una de ellas** o, siempre que sea posible, se dejará libre la salida principal cubriendo con mallas de sombreado el resto. De igual forma, cuando las dimensiones de la boca de entrada sean excesivamente grandes se asegurará que el equipo de grabación consiga **visibilidad de toda la boca** o bien se intentará **reducir las dimensiones de la boca** de entrada mediante el empleo de mallas de sombreado.
3. **No deberán realizarse censos estivales con viento fuerte, lluvia** o temperaturas demasiado bajas (**por debajo de los 15°C al ocaso**).
4. Los observadores y el instrumental deberán estar listos **15 minutos antes de la puesta del sol**. Se comenzará a **grabar cuando se observe la salida del primer ejemplar**, y se continuará durante, al menos, **1 hora**, finalizando el censo cuando pasen más de 5 minutos sin salidas de murciélagos. Una vez iniciada la grabación, los observadores se retirarán de la entrada manteniéndose a una distancia prudencial para no interferir en la emergencia. Tras la grabación, si es posible, se entrará al refugio para realizar el recuento de los individuos que no lo abandonaron o comprobar que han salido todos los ejemplares.
5. El **número de individuos** de las colonias reproductoras se muestra **más estable al final de la gestación y/o inicio de la lactancia (1 de mayo a 30 de junio**, aproximadamente, con variaciones según especies y regiones). Cuando sea conocida la fenología del refugio, el período de censo se determinará de acuerdo con el conocimiento que tengan los expertos regionales. En todo caso, **es importante que se realicen los censos estivales ANTES de que los juveniles se incorporen a la emergencia**, para asegurar que se censa la población reproductora o potencialmente reproductora.
6. Se tomarán, además, **otros datos** adicionales que deberán ser anotados en la **ficha de campo**, como fecha, hora de inicio y hora final de la grabación, tipo de grabación, tipo de refugio, coordenadas UTM (Datum ETRS89), si el refugio tiene algún tipo de protección, si hay presencia de agua o no en el refugio, km realizados (ida y vuelta), colaboradores que participan el censo, y otros que se consideren de interés.
7. Las **grabaciones resultantes deberán ser almacenadas** hasta final del proyecto, por si se hace necesaria su revisión en un futuro. El recuento y la identificación se realizarán, a posteriori, en gabinete, visualizando la grabación (si es necesario, a cámara lenta) e identificando los ultrasonidos por ordenador.



Proyecto Informe Sexenal y Atlas de Quirópteros 2023-2025

8. La **identificación de las especies emergentes** se basará en la **observación simultánea de la grabación de vídeo y de los pulsos** emitidos por los murciélagos. La técnica permite, a menudo, diferenciar bien grandes grupos de especies y, en función de la experiencia del observador y de la calidad del material, se pueden identificar con bastante confianza un mayor o menor número de especies. Para facilitar la comparación de los datos y para evitar comprometer su calidad, se identificarán **principalmente las siguientes especies o grupos fónicos**:
 - *Rhinolophus ferrumequinum*
 - *Rhinolophus euryale/mehelyi*
 - *Rhinolophus hipposideros*
 - *Miniopterus schreibersii*
 - *Myotis myotis/blythii*
 - *Myotis* pequeños
9. Los **censos de los vídeos** se realizarán **por uno de los dos colaboradores** que realicen el censo, **en trabajo de gabinete**. Los resultados del censo **se transcribirán a la plantilla de datos Excel** facilitada por el proyecto (<https://secemu.org/protocolo-seguimiento-atlas-2023-2025/>), que se enviará a atlas_murcielagos@secemu.org.
10. Así mismo, **las fotos y vídeos del censo** se harán llegar mediante envío físico de disco duro al equipo del proyecto.
11. Para realizar el censo de colonias reproductoras, **se dispondrá**, de forma previa a la realización del mismo, **de la autorización legal o permiso correspondiente**.

Protocolo de censo de refugios de hibernación

Los censos de colonias de hibernación se realizarán:

1. **Accediendo al interior del refugio** y prospectando la totalidad del mismo, siempre que sea posible. En caso contrario, se trataría de un censo parcial y habría que indicarlo en la plantilla de datos Excel.
2. En refugios de desarrollo vertical, de difícil acceso o recorrido, debe haber **una persona** que no acceda al refugio, que sea **a la que se le informe** de las personas que realizan el censo, la hora de entrada y hora estimada de salida. Se realizará una llamada al iniciar la actividad y otra llamada al finalizar la misma para dar cuenta de su correcta finalización. En algunas ocasiones, se contempla la ayuda de grupos espeleológicos para realizar los censos en cavidades de difícil acceso y/o recorrido.
3. Se contarán todos los individuos:
 - c) **visualmente**, en el caso de ejemplares aislados o en grupos reducidos, fáciles de contar,
 - d) o bien, **tomando fotografías de las piñas** de hibernación, para su posterior conteo en gabinete. Siempre que sea posible, se debe hacer la foto **justo debajo** de la piña para poder observar a todos los individuos. Para ello, se debe contar con un equipo fotográfico e iluminación eficientes, especialmente en el caso de tener que fotografiar ejemplares ubicados en paredes y bóvedas altas.

Cuando se trate de piñas muy grandes, se tomarán fotografías parciales y se tendrán en cuenta referencias visuales (grietas, marcas en la pared...), para poder solaparlas entre sí hasta completar la imagen de toda la piña en conjunto para su posterior conteo.
4. Si la **identificación in situ de algún ejemplar** resultara compleja, siempre que sea posible y causando la menor de las molestias, se procurará tomar alguna imagen de visión frontal y lateral, de forma que puedan resaltar aspectos clave de su morfología, tales como oreja, trago y estructura nasal, forma de plegar las alas, tamaño comparado con individuos próximos de especies positivamente identificadas, etc.
5. Se tomarán, además, **otros datos** adicionales que deberán ser anotados en la **ficha de campo**, como fecha, hora de inicio y hora final del censo, tipo de refugio, coordenadas UTM (Datum ETRS89), si el refugio tiene algún tipo de protección, si hay cursos de agua activos y pasillos inundados, km realizados (ida y vuelta), colaboradores que participan el censo, y otros que se consideren de interés. Así mismo, cuando sea posible, se registrará la meteorología local del día de censo, si los ejemplares están hibernando o muestran algún tipo de actividad, la presencia de individuos muertos o enfermos, la distancia de las colonias a la entrada de la cavidad, indicios o datos de frecuentación humana y su magnitud, y todo aquello que se considere de interés.
6. Los censos se realizarán en periodos de **meteorología estable**, para prevenir el riesgo de inundación súbita en la vía de salida de las cavidades.
7. Para facilitar la comparación de los datos y para evitar comprometer su calidad, se identificarán mediante esta metodología **principalmente las siguientes especies o grupos de especies**:



Proyecto Informe Sexenal y Atlas de Quirópteros 2023-2025

- *Rhinolophus ferrumequinum*
- *Rhinolophus euryale/mehelyi*
- *Rhinolophus hipposideros*
- *Miniopterus schreibersii*
- *Myotis myotis/blythii*
- *Myotis pequeños*

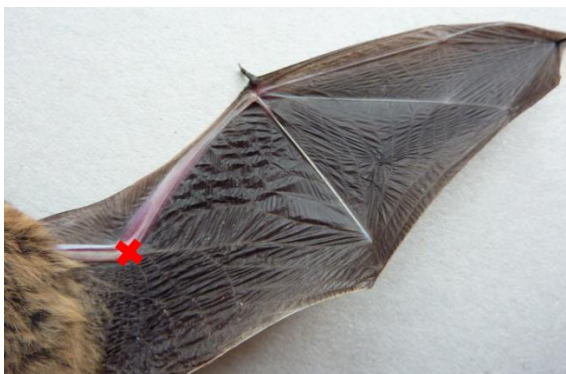
8. El **recuento e identificación** de las piñas se realizará **por uno de los colaboradores** que realizan el censo, tras la visita a las cavidades, **en trabajo de gabinete**. Para ello, se visualizarán las imágenes tomadas, en un ordenador, en el que poder numerar e identificar sobre imágenes a los individuos hibernantes. Las fotografías y tablas de datos resultantes serán almacenadas hasta final del proyecto de cara a posibles revisiones futuras.
9. Los **detalles de los censos y recuentos resultantes** han de transcribirse en la plantilla de datos Excel facilitada por el proyecto (<https://secemu.org/protocolo-seguimiento-atlas-2023-2025/>) y enviarla a atlas_murcielagos@secemu.org.
10. Así mismo, **las fotos del censo** se harán llegar mediante envío físico de disco duro al equipo del proyecto.
11. Los censos de las colonias se llevarán a cabo entre el **15 de diciembre del presente año y el 15 de febrero** del siguiente, coincidiendo con la época de mayor concentración de murciélagos en los refugios hibernación.
12. Se deberá contar con **el preceptivo permiso de la administración** para realizar los censos y se tendrán en cuenta las directrices establecidas en los mismos.

Protocolo de estaciones de captura

Para garantizar un esfuerzo mínimo común, se establecen las siguientes condiciones en las estaciones de captura:

1. Las estaciones de captura se realizarán con **condiciones atmosféricas favorables**: sin lluvia, sin viento o con viento suave (que no hinche las redes) y con temperatura mínima recomendada a la puesta de sol igual o superior a 15°C (aunque este último factor debe ser evaluado en función de la experiencia en la zona de muestreo).
2. En todas las estaciones de captura **se instalará una grabadora de ultrasonidos**, alejada una distancia prudencial del punto de instalación de las redes, para que no interfiera con las capturas, así como para que no registre las emisiones del equipo de reclamo, si este se utiliza. Con ello se pretende registrar aquellas especies más fácilmente identificables con medios acústicos: *Pipistrellus* spp., *H. savii*, *B. barbastellus*, *Eptesicus* spp. (fuera de las zonas de simpatria), *Nyctalus* spp., *T. teniotis*, *Rhinolophus* spp. Las grabaciones deben realizarse en full *spectrum* y a una frecuencia de muestreo de, al menos, 256 Khz. Esta grabadora permanecerá funcionando mientras se mantengan las redes abiertas.
3. En la selección de las estaciones de captura se procurará maximizar las posibilidades de capturar la **mayor diversidad posible de especies** y se enfocará principalmente a las **especies cuya identificación acústica es más compleja**, especialmente *Myotis* spp., *Plecotus* spp. Para ello, se seleccionarán, dentro de la cuadrícula elegida, los entornos más favorables para especies forestales.
4. Las redes se colocarán en **puntos de atracción para la actividad de los murciélagos**: como puntos de agua en los que beber (depósitos, remansos, zonas encharcadas, etc.), pasos o caminos entre la vegetación, pasos angostos, proximidad a roquedos, etc., o zonas habitualmente utilizadas en los desplazamientos y/o para alimentación, como cursos fluviales o líneas de vegetación, así como lugares de descanso nocturno (construcciones abiertas como pajares, establos, molinos, etc.). Cuando para realizar el censo se utilicen varias trampas, colocadas a diferentes distancias dentro del mismo punto, cada ubicación será considerada como una **subzona** distinta de la misma localidad.
5. Las estaciones de captura constarán de, **al menos, 18 metros de red fina, tipo monofilamento**. Los 18 metros pueden alcanzarse con una única red de esa medida o por combinación de varias redes hasta alcanzar dicha longitud. Estas redes pueden colocarse seguidas o por separado. Podrá aumentarse el esfuerzo de muestreo mediante más metros lineales de red, redes de doble altura, trampas arpa o trampas de hilos, si se dispone de material. Solamente podrá evitarse completar el total de los 18 metros de red en casos donde las localizaciones óptimas para especies forestales contemplen puntos de agua o corredores reducidos y no sea viable desplegar el total de metros de red. La disposición, número de metros y número de redes y trampas arpa han de especificarse en la ficha de campo.
6. Las **redes permanecerán abiertas, desde al menos 4 horas seguidas desde la puesta de sol hasta un máximo de 6 horas**. También deberá de especificarse el número total de horas seguidas muestreadas en la ficha de campo.

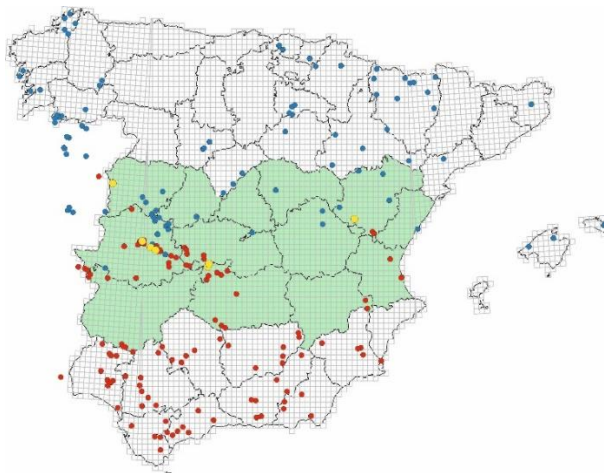
7. Puede utilizarse un **reclamo**, si se dispone de él, y habrá que indicarlo en la ficha de campo, especificando el modelo, marca y especie o especies emitidas.
8. En las **fichas de campo**, se anotarán: km realizados (ida y vuelta), colaboradores que realizan el censo, fecha, hora de apertura y cierre, subzonas establecidas y puntos de atracción para la colocación de las redes, **coordenadas UTM** (Datum ETRS89) **de cada subzona**, y si es posible, se describirá la colocación de las redes mediante un croquis, en la misma ficha, con la finalidad de poder reproducir el esfuerzo de captura, si se han empleado trampas arpa o de hilos, así como otros datos que se consideren de interés.
9. De **cada ejemplar capturado** se anotará, al menos, la hora, subzona y tipo de trampa de la captura, especie, sexo, edad, estado reproductivo, así como se recomienda anotar los datos de la longitud del antebrazo y el peso (sobre todo, para las especies crípticas). Para evitar contar en numerosas ocasiones a un mismo individuo, a la hora de liberar a los murciélagos procesados, se marcarán de manera temporal con un rotulador indeleble. Para ello, se dibujará una cruz en el hueso del codo en la parte interior/ventral del ala, según la imagen:



10. Las **redes se revisarán con una periodicidad de 10 minutos** y se liberarán lo antes posible a las hembras reproductoras y juveniles.
11. Las **personas que manipulen los murciélagos deben estar vacunadas contra la rabia y deben disponer de una titulación de anticuerpos que asegure su protección (0,5 U/ml o superior)**. Así mismo, es obligatorio el uso de guantes adecuados durante la manipulación.
12. Se tomará muestra de patagio con un **biopunch de 2/3 mm en cada ala para los grupos crípticos según el protocolo de muestras genéticas de especies crípticas**:
 - Complejos crípticos prioritarios a analizar molecularmente dentro del proyecto:
 - Malc/Mmys (para toda España).
 - Mesc/Mcry (Galicia, Asturias, Cantabria, País Vasco, Cataluña, La Rioja, Navarra, Aragón, Castilla y León, Madrid, Cáceres, Guadalajara, Cuenca, Toledo, Castellón).
 - Pmac (Navarra, Huesca, Lérida, Gerona).
 - Eser/Eisa (en zonas de simpatria: Badajoz, Cáceres, Salamanca, Ávila, Madrid, Guadalajara, Toledo, Ciudad Real, Cuenca, Albacete, Teruel, Valencia, Castellón - ver mapa).
 - Además, en caso de plantearse cualquier asomo de duda en la identificación específica (e.g. color, tamaño inusual...) se tomarán también muestras genéticas en los siguientes complejos, que se analizarán posteriormente según disponibilidad de fondos:

- Mmyo/Mbly
- Paur/Paus/Pmac
- Ppip/Ppyg
- Por último, el complejo morfológico de Mdau, se podrá muestrear genéticamente de forma optativa y según la carga eventual de trabajo en las redes. Estas muestras se incorporarán al conjunto de muestras del proyecto tanto para su análisis como para mantenerlas y poder analizarlas en el futuro.

Se adjunta también un **protocolo de muestras genéticas**, con una tabla detallada de las **especies a las que tomar muestras genéticas según región biogeográfica** y el **código completo a atribuir para cada muestra [aquí](#)**.



Mapa de las distribuciones conocidas de E. serotinus (en azul) y E. isabellinus (en rojo). Las zonas de solapamiento aparecen en amarillo. Las provincias a muestrear en color verde.

13. Para la toma de muestras se debe **esterilizar, quemando con un mechero, tanto el biopunch como las pinzas de recogida** de la muestra, cada vez que se utilicen con cada uno de los ejemplares y al comienzo y final del muestreo. Las **muestras se almacenarán en tubos eppendorf** de 2 ml (a ser posible de cierre de rosca) **y en alcohol etílico al 70 % glacial y/o de laboratorio. Es importante NO utilizar alcohol que se adquiere en farmacias.** Por otro lado, se debe extremar el cuidado cuando se rotulen los eppendorf para evitar que se borre su etiquetado. Este material se facilitará a los colaboradores que lo requieran. Puedes consultar el protocolo de toma de muestras genéticas específico para el atlas [aquí](#).
14. Para los **individuos de los que se tome muestra genética, se anotará el código completo de la muestra** en la ficha de campo, **según el protocolo de muestras genéticas, coloración** y, siempre que sea posible, **aquellos datos y características morfológicas de interés** para el complejo críptico, como la venación, mechones, manchas, tamaño de verruga, etc. que luego se puedan contrastar y validar con la identificación molecular.
15. Para la **identificación de ejemplares en mano** se recomienda utilizar como referencia:
 - En general, la guía: Dietz & von Hellversen (2004) Illustrated identification key to the bats of Europe (versión en castellano por Fulgencio Lisón). Descargable en: <https://www.researchgate.net/publication/267973468> **CLAVES DE IDENTIFICACION ILLUSTRADAS DE LOS MURCIELAGOS DE EUROPA**



Proyecto Informe Sexenal y Atlas de Quirópteros 2023-2025

- Una versión actualizada y mejorada de la anterior clave se encuentra en: Dietz & Kiefer (2016). Bats of Britain and Europe.
 - Para **diferenciar *M. escalerai*/*M. crypticus*** (no incluido en las guías anteriores): Salicini, Ibañez y Juste (2012) El complejo *Myotis nattereri* en Iberia: una larga historia. Descargable aquí:
https://secemu.org/wp-content/uploads/2022/05/Salicini_et_al_2012.pdf
16. Los censos de capturas se realizarán entre el **1 de mayo y el 30 de septiembre**, según latitudes, a excepción de [especies raras](#), cuyo plazo podrá ampliarse entre los meses de abril y octubre inclusive.
 17. Los **detalles y datos de capturas resultantes** han de transcribirse en la plantilla de datos Excel facilitada por el proyecto (<https://secemu.org/protocolo-seguimiento-atlas-2023-2025/>) y enviarla a atlas_murcielagos@secemu.org.
 18. Así mismo, **los audios de las capturas** se harán llegar mediante envío físico de disco duro al equipo del proyecto.
 19. Para la realización de estaciones de captura es imprescindible **disponer de autorización legal**, de forma previa a la realización de la estación de captura, así como atender a los requisitos indicados en la misma.

Protocolo de grabadoras automáticas

Las grabaciones de ultrasonidos se realizarán conforme a las pautas siguientes:

1. Desde el 1 de mayo hasta el 30 de septiembre se grabarán, al menos, 3 noches consecutivas (máximo 7) en cada localidad muestreada. A excepción de [especies raras](#), cuyo plazo podrá ampliarse entre los meses de abril y octubre inclusive.
2. Durante la grabación, las **condiciones atmosféricas han de ser favorables**:
 - a. Durante el ocaso, temperatura mínima recomendada igual o superior a 15°C.
 - b. Durante todas las noches, sin lluvia, sin viento o con viento suave.
3. Las grabaciones empezarán 30 minutos antes de la puesta del sol y finalizarán 30 minutos después de la salida del sol.
4. La configuración de las grabaciones se podrá descargar del enlace <https://secemu.org/protocolo-seguimiento-atlas-2023-2025/> según modelo de grabadora. Es importante seguir estas instrucciones. Deberá garantizar:
 - a. Frecuencia de grabación de 250kHz o superior.
 - b. En caso de usarse un sistema de triggering (recomendable) deberán establecerse los siguientes parámetros:
 - i. Duración mínima de los pulsos de 0,5 ms.
 - ii. Frecuencia mínima de los pulsos de 8kHz.
 - iii. SNR. Ventana de 3 segundos y pulsos por encima de los 12dB.
5. Se usarán **preferentemente grabadoras de Wildlife Acoustics**, para homogeneizar los muestreos, aunque se podrán utilizar otros modelos que graben de forma continua. El proyecto podrá aportar grabadoras a quien las necesite, previa solicitud al coordinador del trabajo.
6. Las grabadoras **AudioMoth** se configurarán **según el protocolo de QuiroHabitats**: <https://www.quiropteros.org/habitats/es/protocolo/>. Los AudioMoth deberán grabar de forma continua, sin filtros de amplitud o de frecuencia. Es importante seguir las instrucciones facilitadas.
7. La **unidad de muestreo** serán las cuadrículas MGRS 10x10. Dentro de cada cuadrícula muestreada se instalará **1 grabadora en el hábitat más representativo de la misma. No se debe muestrear en dos cuadrículas adyacentes**. Las cuadrículas a muestrear serán seleccionadas por los informadores de cada comunidad autónoma en el siguiente enlace (<https://secemu.org/protocolo-seguimiento-atlas-2023-2025/>) y deben ser repartidas al 50% entre cuadrículas que:
 - a) Incluyan espacios de la Red Natura 2000, más del 40% de la cuadrícula se encuentra en espacio Red Natura 2000.
 - b) Y que no incluyan espacios de la Red Natura 2000, menos del 40% de la cuadrícula se encuentra en espacio Red Natura 2000.

Se colocarán en el hábitat más representativo, pudiendo priorizar puntos de atracción dentro de dicho hábitat, pero no en hábitats de rivera o en puntos de agua directamente si



Proyecto Informe Sexenal y Atlas de Quirópteros 2023-2025

no son el hábitat representativo, pues luego no es comparable con otras localidades de grabadoras. La colocación de la grabadora debe estar a la altura de la vegetación (desde el suelo a unos 2-3 m máximo) y alejada de edificaciones.

8. Se rellenarán las **fichas de campo** con: fecha de colocación y retirada de la grabadora, provincia, localidad, nombre de la localidad (que será el código alfanumérico UTM de la cuadrícula muestreada, se puede observar en el mapa <https://secemu.org/protocolo-seguimiento-atlas-2023-2025/>), coordenadas UTM (Datum ETRS89), hábitat de la localidad, modelo de grabadora, micrófono si procede, colaborador que realiza la jornada y km de desplazamiento realizados en esa jornada de campo. Además, se realizarán cuatro fotos de la localidad muestreada desde el punto donde está colocada la grabadora (norte, sur, este y oeste), así como otra foto a la grabadora instalada en el campo, según el protocolo QuiroHabitats <https://www.quiropteros.org/habitats/es/protocolo/>.
9. Las **grabaciones** se harán llegar mediante **envío físico de discos duros**, por correo postal, a la sede de SECEMU. En este disco duro se adjuntarán, además de las grabaciones, las fotografías y el .txt de configuración de cada localidad muestreada.
10. Así mismo, para cada sitio muestreado **se creará la localidad y sesión en el portal web** <http://www.quiropteros.org>, donde se registrarán todos los detalles de la misma. No se subirán los audios al portal web. Se ha de seleccionar que son trabajo del Atlas de España y para el nombre de la cuadrícula, preferentemente, se indicará su código UTM (que se puede observar en el mapa <https://secemu.org/protocolo-seguimiento-atlas-2023-2025/>).
11. **El análisis de las grabaciones lo realizará el equipo del atlas.**
12. Los **datos resultantes analizados se subirán al portal** y se informará a cada colaborador para que pueda revisar los resultados de los audios. Dichos resultados se **validarán, a posteriori**, por los informadores de las comunidades autónomas, debido a la variedad de dialectos según especies y zonas geográficas. Posteriormente, se integrarán las aportaciones de los informadores en la base de datos.

Para cualquier duda, escribir a atlas_murcielagos@secemu.org