



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGÍA

**REDES TRÓFICAS EN LOS ECOSISTEMAS ANQUIHALINOS: UN ESTUDIO DE
ISOTOPIA ESTABLE**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

BRENDA PAOLA DURÁN HERNÁNDEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Fernando Álvarez Noguera
INSTITUTO DE BIOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dra. Guillermina Alcaraz Zubeldia
FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: Dr. Javier Alcocer Durand
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNAM

Ciudad Universitaria, CD. MX., Octubre

2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

OFICIO CPCB/678/2020

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 8 de junio de 2020, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **ECOLOGÍA** de la alumna **DURÁN HERNÁNDEZ BRENDA PAOLA** con número de cuenta 310228947 con la tesis titulada **“REDES TRÓFICAS EN LOS SISTEMAS ANQUIHALINOS: UN ESTUDIO DE ISOTOPIA ESTABLE”**, realizada bajo la dirección del **DR. FERNANDO ÁLVAREZ NOGUERA**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA
Vocal: DRA. KARLA KRUESI CORTÉS
Secretario: DR. JAVIER ALCO CER DURAND
Suplente: DR. BENJAMÍN QUIROZ MARTÍNEZ
Suplente: DR. JAIRO ANDRÉS ARROYAVE GUTIÉRREZ

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 16 de octubre de 2020

COORDINADOR DEL PROGRAMA



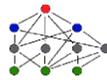
DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIDAD DE POSGRADO

Edificio D, 1º Piso. Circuito de Posgrados, Ciudad Universitaria
Alcaldía Coyoacán. C. P. 04510 CDMX

Tel. (+5255)5623 7002 <http://pcbiol.posgrado.unam.mx/>



AGRADECIMIENTOS

Primeramente, me gustaría agradecer al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM por la oportunidad que me otorgó para seguir creciendo académicamente.

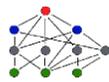
Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca que me fue otorgada la cual me permitió realizar los estudios de maestría.

Agradezco el financiamiento que tuvo este estudio a través de los proyectos 2013-10655 y 2018-044-1 del programa Texas A&M - CONACyT Collaborative Research Grant Program otorgados a Thomas M. Iliffe y Fernando Álvarez; y a los proyectos PAPIIT IN208519 (DGAPA-UNAM) y CONACyT Ciencia Básica A1-S-32846 otorgados al Dr. Fernando Álvarez.

Al Apoyo PAEP otorgado por el Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM el cual me permitió realizar una estancia académica fuera del país y así llevar a cabo los análisis de laboratorio necesarios en el presente estudio.

A mi tutor el Dr. Fernando Álvarez Noguera por siempre apoyarme y creer en mí, por ser un modelo a seguir y motivarme día a día para ser una mejor estudiante. Gracias Dr. por darme la oportunidad de seguir enamorándome de los sistemas anquihalinos.

A los miembros del Comité Tutoral la Dra. Guillermina Alcaraz y el Dr. Javier Alcocer por siempre estar al pendiente de mi proyecto, aportar sus puntos de vista y comentarios los cuales enriquecieron enormemente mi trabajo.



AGRADECIMIENTOS

El orden y la extensión de estos agradecimientos no reflejan lo que significa para mí su apoyo, comprensión y sobre todo su amor. GRACIAS A TODOS POR SER PARTE DE MI VIDA Y DEJARME SER PARTE DE LA SUYA.

Le dedico en su totalidad esta tesis a mi abuela Hilda Núñez, abuela gracias por ser mi inspiración, mi más grande amor y por seguirme paso a paso desde que nací, gracias a todo lo bueno que existe en este mundo por permitirme ser tu nieta y por tenerte presente todos los días en mi mente, en mis sueños y cumpliendo mis metas. Abuela te amo con todas mis fuerzas, eres mi ejemplo a seguir y quiero decirte que eres mi más grande tesoro, gracias por ser mi otra mamá.

A mi madre Olivia por ser el pilar más importante de mi vida por cuidarme, amarme y dar todo lo humanamente posible para que mi hermana y yo seamos las personas más felices que existen. Mamá te amo con todo el corazón te mereces todo lo bueno y especial de este mundo GRACIAS por ser la persona más valiente y enseñarme todo lo que se, GRACIAS por darme el mejor regalo que existe, mi hermana Andrea.

A mi padre, mi Juanito el papá más chido de la vida, te amo.

A mi hermana Andrea mi más grande tesoro. Andrea eres lo que más amo en este mundo. Mi vida no sería nada sin ti, eres mi mejor amiga, consejera, confidente y compañera de vida. Gracias por siempre apoyarme, amarme y estar a mi lado pase lo que pase. Siempre juntas hermana.

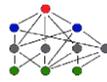
A mis otras mamás, mis tías, ustedes son la energía que todo sobrino necesita son las más consentidoras, amorosas y doy gracias a la vida por tenerlas siempre pendiente de mí, las amo con todo mi ser.

A toda mi familia: Padres, hermana, abuelos y tíos. La vida con ustedes es increíble no hay forma de describir cuanto los amo y lo agradecida que estoy por poder llamarlos familia, soy inmensamente afortunada por tenerlos. LOS AMO.

A la persona más especial que existe en el universo entero, Oscar, gracias por ser mi mejor amigo, mi confidente y mi puchurrumin. Te amooo gracias por seguir soportando esta locura después de 8 años.

A mis lobus: Patraca y Lariza por ser las amigas más increíbles de esta vida, porque llevamos años compartiendo alegrías y tristezas, pero siempre sabiendo que estaremos ahí para lo que sea. Las amo.

Al perrito más peludo y hermoso del mundo, Luke gracias por despertarme todas las mañanas con un lengüetazo para ir a la escuela, por quedarte conmigo hasta tarde cuando estudio y por siempre recibirme con la lengua de fuera cuando llego. Te amo pup. A mi perrita milagro mi Liosa encontrarte y convertirte en parte de la familia es la experiencia más cansada pero más hermosa, te amo Lia.



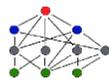
A mis amigos de la Colección Nacional de Crustáceos por siempre dar las mejores retroalimentaciones, por ser la mejor compañía en días pesados y ser el laboratorio más chido del mundo.

A mi amiga Gema por seguir de cerca mi vida académica, por darme tu punto de vista y recomendaciones sobre mi trabajo y por tu amistad, gracias amiga te quiero muchísimo.

A una persona que llegó a mi vida sin aviso y llegó para quedarse, mi casualidad más bonita mi Jozimar gracias por estar siempre. Te amo, te admiro y le doy gracias a la vida por ponerte en mi camino. Sin duda somos los mejores amigos que pueden existir.

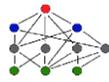
A todos los amigos que me acompañaron en estos dos años de mi vida y algunos desde mucho antes: Dessire, Ricardo, Joshua, Trivi, Lalo, Ñiut, Héctor y Alexia. Los adoro gracias por apoyarme y por estar para mí siempre.

Y, por último, y no por eso menos importante quisiera darle las gracias a la Dra. Dolors Planas y a todo el personal del laboratorio de isotopos estables de la Universidad de Quebec en Montreal UQÀM, por darme la oportunidad de realizar una estancia con ellos. Gracias por su amabilidad, por las enseñanzas y por la oportunidad de experimentar una estancia fuera de mi país. Gracias Agnieszka Adamowicz y Jean-François Hélie por abrirme las puertas del laboratorio y enseñarme tanto.

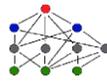


Índice

Resumen	I
Abstract	II
Introducción	
Isótopos estables	1
Análisis de isótopos estables (AIE) en crustáceos	3
Redes tróficas.....	4
Sistemas anquihalinos	5
Justificación	10
Hipótesis	11
Antecedentes	12
Objetivos	14
Materiales y métodos	
Trabajo de campo	
Parámetros físico- químicos del sitio de colecta	15
Recolecta y procesamiento previo al AIE	
Vegetación.....	15
Fauna.....	15
Agua.....	16
Carbono presente en el suelo de la selva y sedimentos de la cueva	17
Análisis de isótopos estables	
Obtención del porcentaje de Carbono y Nitrógeno	18
Obtención de los valores isotópicos	19
Eliminación de carbono inorgánico en crustáceos	20
Nivel trófico de los consumidores	21
Análisis de datos isotópicos	21
Resultados	
Parámetros físico-químicos	23
Carbono disuelto	24
Carbono total en suelo de la selva y en sedimentos de la cueva.....	25
Análisis isotópico	
Fuentes de materia orgánica	26
Fauna anquihalina	28
Contribución de las fuentes alimenticias a la dieta de los consumidores	30
Eliminación de carbono inorgánico en crustáceos estigobios	34



Niveles tróficos en el sistema Vaca Ha	35
Discusión	37
Conclusiones	54
Literatura citada	55
Apéndice I.....	60
Apéndice II	61
Apéndice III	63



Resumen

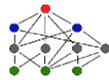
Uno de los ecosistemas acuáticos presentes en México y de los cuales se conoce muy poco sobre la estructura de su red trófica son los sistemas anquihalinos de la península de Yucatán, estos sitios se encuentran expuestos a factores como la contaminación y la eliminación de la cobertura vegetal los cuales podrían modificar la estructura de la red trófica. El análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) ha sido ampliamente utilizado en ecología ya que permite identificar la circulación de la energía en una red trófica.

En el sistema Vaca-Ha ubicado en Tulum, Quintana Roo, se registraron los parámetros físico-químicos de la columna de agua, se recolectaron muestras de agua y sedimento para conocer la cantidad de carbono y se llevó a cabo el análisis de isótopos estables de carbono y nitrógeno ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) en muestras de ocho especies de organismos estigobios (siete especies de crustáceos y una especie de pez), así como el análisis isotópico de cinco posibles fuentes de materia orgánica (vegetación de la selva, suelo de la selva, materia orgánica particulada, *Antromysis cenotensis* y *Typhlatya mitchelli*) las cuales creemos son parte de la dieta de los organismos anquihalinos que habitan el sistema Vaca-Ha.

Se analizaron los valores de isótopos estables de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ y se obtuvieron las contribuciones de cada una de las posibles fuentes de alimentación a la dieta de las especies de crustáceos y del pez a través de un modelo de mezcla. Además, se calculó la posición trófica de cada una de las ocho especies y se analizaron las diferencias en el $\delta^{13}\text{C}$ entre muestras tratadas vs no tratadas con ácido clorhídrico con el fin de eliminar la fracción de carbono inorgánico.

El sistema Vaca-Ha mostró que la columna de agua se encuentra estratificada en tres zonas que se distinguen principalmente por sus diferencias en temperatura, oxígeno disuelto y salinidad. El análisis de las muestras de sedimento mostró que existe un gradiente de carbono orgánico que inicia en la alberca del cenote y recorre parte del sistema de cueva, donde el porcentaje de carbono orgánico disminuye conforme nos adentramos lateralmente a la zona de cueva. De manera inversa el porcentaje de carbono inorgánico mostró un aumento conforme nos adentramos a la cueva.

Typhlatya mitchelli y *Antromysis cenotensis* son las dos especies de crustáceos que contribuyen en mayor proporción a la dieta de los organismos anquihalinos, mientras que la vegetación de la selva (materia orgánica alóctona) fue la fuente con menor aportación a la dieta. La red trófica se compone de tres niveles, la posición trófica más alta fue ocupada por el remipedio *Xibalbanus tulumensis*, mientras que el misidáceo *Antromysis cenotensis* se seleccionó como base de la red trófica. Con respecto a la eliminación de carbono inorgánico en las muestras de crustáceos anquihalinos, los resultados del análisis estadístico mostraron que la eliminación no presentó efectos sobre los valores $\delta^{13}\text{C}$.



Abstract

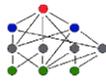
One of the aquatic ecosystems present in Mexico and of which very little is known about the structure of its trophic web are the anchialine systems of the Yucatán peninsula, these sites are exposed to factors such as pollution and the elimination of vegetation cover which could modify the functioning of the trophic web. The analysis of stable isotopes of carbon and nitrogen ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) has been widely used in ecology since it allows to identify the circulation of energy in a trophic web.

In the Vaca-Ha located in Tulum, Quintana Roo system been registered physical-chemical parameters in the water column, taken water and sediment samples to determine the amount of carbon and the analysis of stable isotopes of carbon and nitrogen ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) was carried out on samples of eight species of stygobitic organisms (seven species of crustaceans and one species of fish), as well as the isotopic analysis of five possible sources of organic matter (jungle vegetation, jungle soil, particulate organic matter, *Antromysis cenotensis* and *Typhlatya mitchelli*) that we believe are part of the diet of the anchialine organisms in the Vaca-Ha system.

The stable isotope values of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ were analyzed and the contributions of each of the possible food sources to the diet of the crustacean and fish species were obtained through a mixed model. In addition, the trophic position of each of the eight species was calculated and the differences in $\delta^{13}\text{C}$ between samples treated vs untreated with hydrochloric acid for inorganic carbon removal were analyzed in order to eliminate the inorganic carbon fraction.

The Vaca-Ha system showed that the water column is stratified into three zones that are distinguished mainly by their differences in temperature, dissolved oxygen and salinity. The analysis of sediment samples showed that there is a gradient of organic carbon that begins in the cenote pool and runs through part of the cave system (sideways), where the percentage of organic carbon decreases as we enter the cave area. Conversely, the percentage of inorganic carbon showed an increase as we entered the cave.

Typhlatya mitchelli and *Antromysis cenotensis* are the two species that contribute the greatest proportion to the diet of thanchialine organisms, while the vegetation of the jungle (alloctone organic matter) was the source with the lowest contribution to the diet. The trophic network is made up of three levels, the highest trophic position was occupied by the remipede *Xibalbanus tulumensis*, while the mysid *Antromysis cenotensis* was selected as the base of the trophic network. In regard to the removal of inorganic carbon in the samples of anchialine crustaceans, the results of the statistical analysis showed that there were no effects on the $\delta^{13}\text{C}$ values when performing the fumigation.



INTRODUCCIÓN

Isótopos estables

Todos los elementos químicos están compuestos de unidades diminutas llamadas átomos, éstos a su vez, contienen tres partículas subatómicas principales: electrón (-), el protón (+) y el neutrón (0). Estas tres partículas nos permiten explicar las masas y las propiedades químicas específicas de cada átomo. Todo átomo es neutro en términos de carga eléctrica debido a que tiene el mismo número de protones (+) que de electrones (-). Todos los átomos de un elemento tienen el mismo número de protones y la cantidad de protones presentes en el núcleo de un átomo determinará el número atómico, el cual se representa por la letra "Z". En el caso de los neutrones, los cuales no tienen carga, la suma de éstos y de los protones presentes en el núcleo de un átomo nos permiten conocer la masa atómica, la cual se representa por la letra "A" (Fig. 1; Burns, 2003).

A los átomos de un mismo elemento que presentan el mismo número de protones o número atómico, pero con diferente masa atómica debido a diferencias en el número de neutrones, se les conoce como isótopos. Los isótopos difieren en el número de neutrones que contienen, es decir, tienen las mismas propiedades químicas, pero difieren en sus propiedades físicas (Guerrero y Berlanga, 2000). Los isótopos se clasifican en isótopos estables (menos de 300) y no estables o radiactivos (alrededor de 1,200). El concepto de estabilidad no es exacto, ya que existen isótopos casi estables. Dicha estabilidad se debe al hecho de que, aunque son radiactivos, tienen un periodo de semidesintegración largo comparado con la edad de la Tierra (Kotz y Treichel, 2003).

En la naturaleza todos los elementos tienen isótopos que pueden ser estables o inestables, la diferencia radica en que los isótopos estables mantendrán siempre el mismo número de protones y neutrones y los podemos encontrar ya sea de forma ligera (menos neutrones) o pesada (más neutrones), mientras que los radiactivos debido al exceso de energía nuclear presentarán un periodo de desintegración rápido (Fry, 2006).

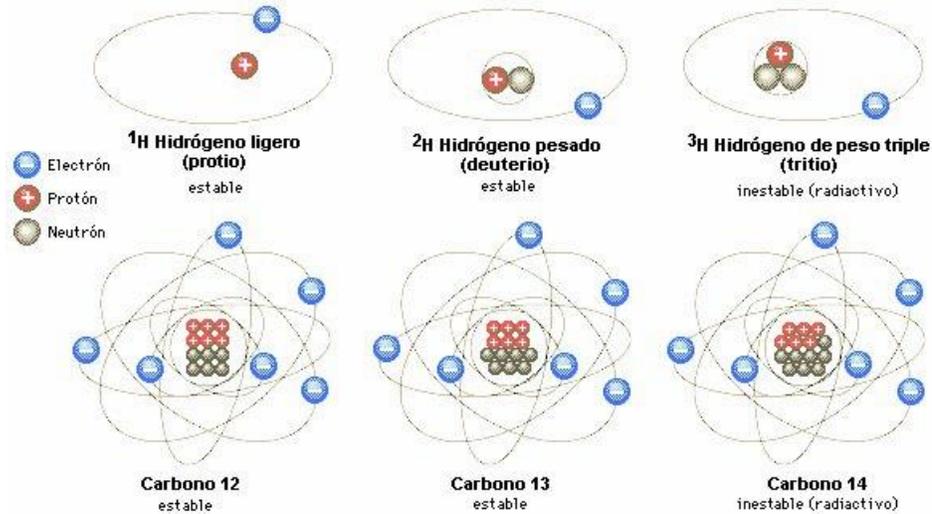
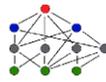
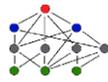


Figura 1. Representación de los isótopos estables y radioactivos de hidrógeno y carbono.

El análisis de isótopos estables (AIE) ha sido utilizado en varias ramas de la ciencia como la medicina, física y biología, ya que permite conocer y trazar diferentes rutas y procesos, desde procesos metabólicos hasta rutas de dispersión de algunas especies. Es posible utilizar los isótopos como "trazadores", y seguir la pista de elementos como: C, S, N, O, H, en las plantas, suelos, agua o atmósfera. Generalmente, sus aplicaciones se han centrado en estudios ecológicos (ciclos biogeoquímicos, cadenas tróficas, contaminantes) y paleontológicos. El estudio isotópico de restos fosilizados, en rocas sedimentarias, permite utilizarlo como posible "biomarcador" para la detección de vida antigua. Recientemente, se ha utilizado como herramienta en el diagnóstico médico de enfermedades infecciosas y enfermedades metabólicas (Guerrero y Berlanga, 2000).

Los valores isotópicos que se obtienen de muestras, ya sea de plantas, animales, suelos o gases. En el caso de los materiales sólidos como lo son tejidos vegetales o animales estos son molidos, pulverizados y quemados hasta obtener un gas simple. Generalmente estos estudios se realizan en analizadores elementales acoplados a un espectrómetro de masas, el cual separa los isótopos de acuerdo con su masa atómica.

Finalmente, un software especializado instalado en una computadora calcula los valores isotópicos y los presenta mediante la notación delta (δ) en partes por mil, la cual representa la



razón del isótopo pesado sobre el ligero de la muestra que deseamos analizar en relación con un estándar establecido para cada elemento (Fig. 2).

$$\delta X(\text{‰}) = \left[\frac{(* X/X)_{\text{muestra}}}{(* X/X)_{\text{estandar}}} - 1 \right] \cdot 1000$$

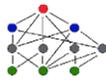
Figura 2. Ecuación utilizada para obtener los valores delta (δ) en el análisis de isótopos estables. Donde *X representa a los isótopos pesados y X representa a los isótopos ligeros de los elementos tanto para la muestra a analizar como para el estándar. El valor estándar para nitrógeno es el nitrógeno atmosférico y para el carbono se toma como estándar Pee Dee Belemnite basado en un fósil marino del Cretácico.

De esta manera, si una muestra contiene más isótopos pesados (^{13}C y ^{15}N) sus valores delta (δ) serán mayores, mientras que muestras con valores bajos de delta (δ) se encuentran enriquecidas con el isótopo ligero (^{12}C y ^{14}N). En el caso de obtener resultados delta (δ) negativos esto quiere decir que la cantidad de isótopo pesado en la muestra a analizar es menor que la presente en el estándar contra el cual estamos comparando (Fry, 2006).

Análisis de isótopos estables (AIE) en crustáceos

El AIE en organismos como los crustáceos, en los cuales la fuente de carbono en la fracción de carbonato en los exoesqueletos no se ha determinado, requiere de ajustes. Por lo tanto, se debe considerar que los crustáceos depositan carbonato de calcio (CaCO_3) en sus exoesqueletos utilizando bicarbonato (HCO_3) derivado del agua marina. Por esta razón los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de los cuerpos de los crustáceos reflejarán principalmente los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del HCO_3 en el agua, en lugar de los de la dieta. Debido a lo mencionado anteriormente los crustáceos deberán ser tratados mediante una limpieza con ácido clorhídrico (HCl) para eliminar la presencia de carbono inorgánico, y de esta manera evitar la alteración de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ (Yokoyama *et al.*, 2005).

Por otra parte, se ha observado que el tratamiento con ácido genera la pérdida de material y los valores de $\delta^{15}\text{N}$ se ven elevados, por ello es que Yokoyama *et al.*, 2005 proponen que en el caso de crustáceos de tallas pequeñas (< 5 cm) se utilice todo el organismo y se realice



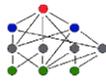
el lavador con HCL mientras que en organismos de mayor talla (> 10 cm) se recomienda solo utilizar el tejido blando, en este último caso no es necesario el lavado con ácido clorhídrico. Para obtener el $\delta^{15}\text{N}$ se utilizan submuestras que no pasan por el proceso de acidificación. Una alternativa para la eliminación de carbonatos es la fumigación con ácido clorhídrico (HCl). A diferencia del lavado con HCl en el cual el material es impregnando completamente con HCL, la fumigación consta de la colocación del material en un desecador el cual contiene en su interior recipientes con HCL al 37% esta técnica ha demostrado eliminar efectivamente la fracción de carbono inorgánico, no se presentan alteraciones significativas en los valores de $\delta^{15}\text{N}$ y la pérdida de material es menor al realizar esta técnica (Harris *et al.*, 2001).

Redes tróficas

El AIE ha aportado información valiosa sobre la conformación de las redes tróficas en ambientes tanto acuáticos como terrestres. Una red trófica es un modelo complejo de cadenas alimentarias interconectadas en el que existen múltiples vínculos entre las especies de un ecosistema.

En biología, sobre todo en ecología trófica, los isótopos estables de carbono y nitrógeno han sido ampliamente utilizados para conocer y trazar las redes tróficas (Inger y Bearhop, 2008). Esto debido al fenómeno conocido como fraccionamiento isotópico, el cual se refiere a la diferencia en la velocidad de reacción entre isótopos ligeros y pesados de un mismo elemento. Los átomos de carbono y nitrógeno ligeros y pesados, al ser consumidos por un organismo, se fraccionan por medio de procesos metabólicos, ya que cada tipo de isótopo tiene diferentes velocidades de reacción, siendo más rápida para los isótopos ligeros. Debido a esto, los tejidos de los consumidores se enriquecen con los isótopos pesados (^{13}C y ^{15}N) con relación a su alimento (Wada *et al.*, 1991; Martínez *et al.*, 2009), por ello encontraremos que el tejido de los consumidores presentará valores mayores de isótopos pesados con respecto a los de su presa.

Los isótopos estables de carbono nos permiten distinguir las fuentes que sirvieron de alimento para los organismos, debido al enriquecimiento que existe entre la composición



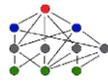
isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) de la dieta y la del consumidor, la cual se ha reportado que es de aproximadamente 1‰ (DeNiro y Epstein, 1978). En cuanto a la composición isotópica de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$), se menciona que existe un enriquecimiento gradual con cada nivel trófico de aproximadamente 3‰ (DeNiro y Epstein, 1981). Por ello ambos isótopos son muy importantes para la reconstrucción de dietas y redes tróficas.

Sin embargo, se ha observado que el fenómeno de fraccionamiento no actúa de igual forma en todas las especies y que los valores de fraccionamiento pueden verse afectados por factores como el tipo de tejido que se utilizó en el análisis y si éstos pasaron o no por un procedimiento para eliminar restos de carbono inorgánico.

Los isótopos estables han sido utilizados en ambientes acuáticos para describir las redes tróficas, sobre todo para identificar a los productores primarios (generalmente plantas y otros fotosintetizadores), que son la puerta de entrada para que la energía ingrese en las redes tróficas. Los productores primarios se alimentan a sí mismos: es decir, fabrican sus propias moléculas orgánicas a partir de compuestos inorgánicos. La energía almacenada en las moléculas orgánicas puede pasar a otros organismos en el ecosistema cuando estos consumen a los productores. De esta manera, todos los consumidores de un ecosistema, incluyendo herbívoros, carnívoros y descomponedores, dependen de los productores para obtener energía.

Sistemas anquihalinos

Uno de los ambientes acuáticos presentes en México son los sistemas anquihalinos estos ecosistemas se desarrollan a gran escala en la península de Yucatán (PY). La península de Yucatán abarca una amplia región fisiográfica/geológica que ocupa no solo tres estados del territorio mexicano (Campeche, Quintana Roo y Yucatán), también incluye la zona norte de Belice y el Petén guatemalteco. Con un territorio de aproximadamente 125,000 km², la Península de Yucatán ubicada al sureste de nuestro país divide el Golfo de México del Mar Caribe (Beddows *et al.*, 2007)

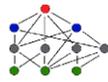


Geológicamente, el subsuelo de la península está formado en su mayoría por una secuencia de sedimentos calcáreos de origen marino del Terciario reciente, hacia las zonas costeras encontramos depósitos calcáreos provenientes del periodo Cuaternario, los cuales se encuentran expuestos después de una ligera emersión de la península. De manera superficial la península se caracteriza por la poca presencia de suelo (20 cm aproximadamente) y se compone principalmente de una caliza muy dura que se formó por la precipitación de carbonato de calcio que cementó granos y fragmentos de conchas (García y Graniel, 2010).

La península de Yucatán carece en su mayoría de rasgos orográficos. La parte norte de la península se caracteriza por ser un terreno extremadamente plano, mientras que la zona sur cuenta con elevación gradual que forma una superficie montañosa de aproximadamente 130 metros denominada Sierrita de Ticul, la cual delimita Campeche y Yucatán (Alcocer *et al.*, 1999). En cuanto a la hidrografía de la región, la península presenta escasos cuerpos de agua superficiales debido a que se considera una superficie kárstica, esto quiere decir, que por medio de la percolación de agua rica en CO₂ se dará la disolución de rocas solubles como calizas y dolomías generando un paisaje que contendrá acuíferos subterráneos llamados sistemas anquihalinos (Lugo-Hubp *et al.*, 1992).

Se denomina sistema anquihalino a aquellos cuerpos de agua que no presentan una conexión superficial con el mar, pero contienen en su interior agua salada o salobre y se encuentran bajo la influencia de las mareas (Holthuis, 1973). Estos ecosistemas se encuentran alrededor del mundo, sobre todo son bien conocidos en regiones tropicales y subtropicales, contando con gran cantidad de registros en la cuenca del Caribe y el Mediterráneo, así como en algunas islas de origen volcánico como Hawaii, Galapagos, Islas Canarias y Bermudas. Los sistemas anquihalinos se concentran predominantemente en roca caliza tropical pero también podemos encontrarlos en rocas volcánicas y a lo largo de los márgenes continentales y penínsulas (Martínez *et al.*, 2016).

Los hábitats anquihalinos se pueden presentar como estanques o pozas en tierra firme, conductos de roca caliza, pozos verticales o dentro de cuevas subterráneas, los cuales se amplían bajo tierra. Las características kársticas de la península permiten que el agua proveniente de la precipitación se infiltre y se acumule en el subsuelo formando una capa de



agua dulce que flota sobre una capa de agua salada proveniente de la intrusión marina. La zona de contacto entre estas dos capas de agua forma una zona de mezcla denominada haloclina (Beddows *et al.*, 2007).

Los ecosistemas anquihalinos presentan una fauna relativamente rica en especies, gran parte de estas son endémicas, siendo los crustáceos el grupo de invertebrados que dominan el ecosistema (Bishop *et al.*, 2015). La PY cuenta con el registro de 45 especies de crustáceos y dos especies de peces que habitan los sistemas anquihalinos (Álvarez e Iliffe, 2008; Álvarez *et al.*, 2015). Además de estos grupos, los sistemas anquihalinos presentan registros de organismos pertenecientes a los phyla Mollusca, Annelida y Echinodermata.

El sistema Vaca Ha se localiza al noreste del municipio de Tulum, Quintana Roo, México a una distancia de 6.67 km de la línea de costa. Vaca-Ha es un sistema en el cual hasta la fecha se desconoce si presenta conexión subterránea con otros sistemas en la zona de Tulum. La entrada al sistema es mediante un cenote tipo aguada con un espejo de agua semi circular con una extensión aproximada de 6 m (Fig. 2).

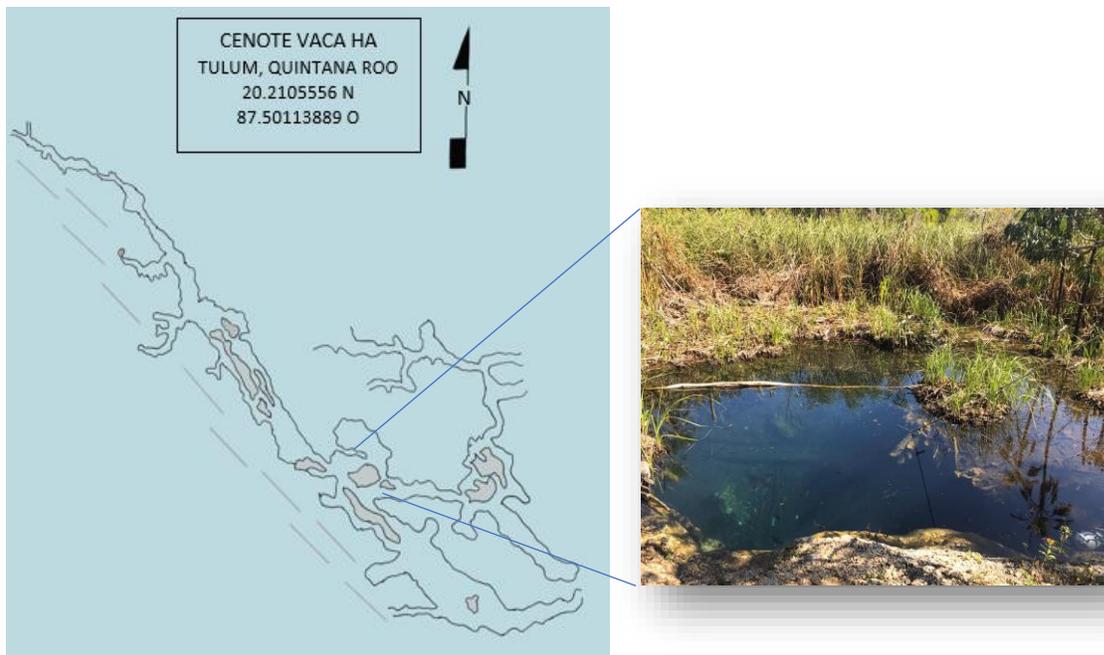
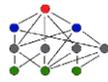


Figura 2. Sistema Vaca-Ha, Quintana Roo México. La entrada a este sistema es mediante un cenote completamente expuesto (abierto), donde la alberca del cenote está en contacto con la selva circundante.



El cenote Vaca Ha se encuentra rodeado por vegetación en su mayoría pastos y arboles perenes, algunas palmeras se encuentran en las zonas aledañas lejos del espejo de agua del cenote, en época de lluvias esta vegetación solía cubrir gran parte del espejo de agua. Recientemente los encargados del lugar colocaron grava alrededor del espejo y se retiró la vegetación natural que lo rodeaba para facilitar la entrada a los espeleobuzos. El cenote fue nombrado “Vaca Ha” debido a que el terreno donde fue descubierto era utilizado como un sitio de mantenimiento de ganado aprovechando el espejo de agua como abrevadero. Actualmente el terreno es privado y la entrada es exclusiva para espeleobuzos quienes deben cubrir una cuota de recuperación. Aunque no es un sitio con gran afluencia de turistas diariamente es visitado por grupos de espeleobuzos ya que en su interior se encuentra una gran cueva con enormes columnas, que siguen a un largo pasaje en el cual la profundidad llega hasta los 24 m en el cual es posible observar la haloclina (Fig. 3).

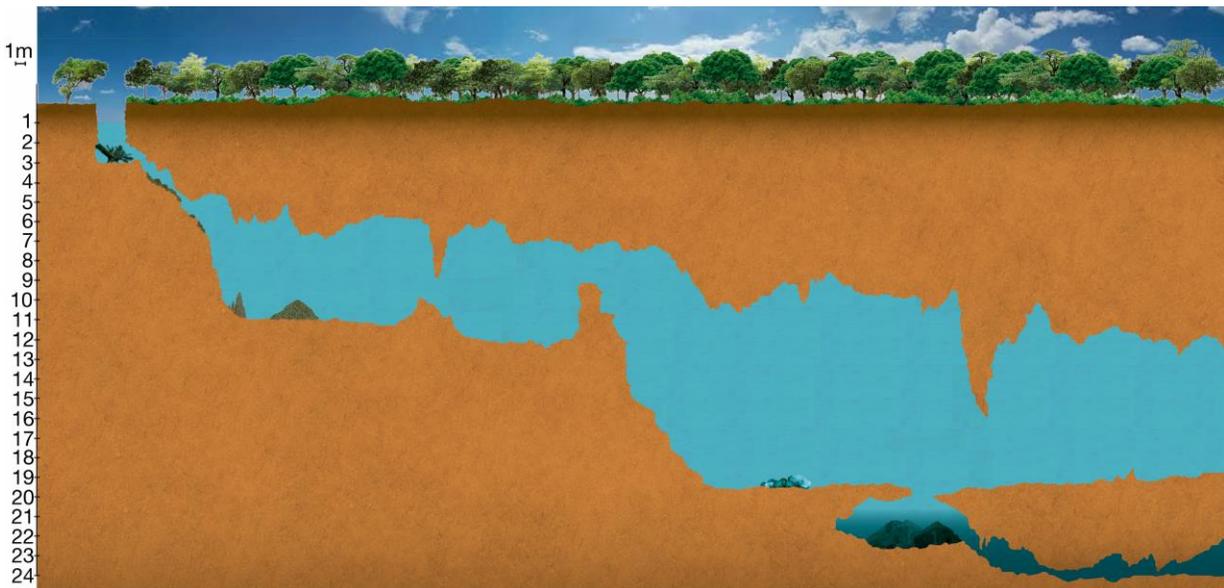
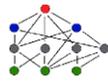


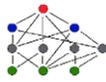
Figura 3. Representación del sistema Vaca Ha, la alberca del cenote tiene una profundidad de 9 m, donde es posible encontrar la entrada al sistema de cueva; a los 23 m de profundidad se presenta la haloclina.



En los ecosistemas anquihalinos se tiene apenas un conocimiento superficial sobre la estructura de sus redes tróficas, esto debido a que son sitios de difícil acceso, lo que ha dificultado la realización de estudios sobre el transporte de nutrientes a través de la matriz calcárea o la entrada de nutrientes a través de las porciones abiertas.

Los sistemas anquihalinos se consideran como ecosistemas pobres en nutrientes debido a la falta de productores primarios fotosintéticos. Sin embargo, es común que estos ecosistemas estén muy relacionados con áreas de alta productividad como manglares y selvas tropicales, dichos ecosistemas adyacentes contribuyen como fuentes de carbono orgánico (vía percolación o mediante las mareas) y son utilizadas por los organismos cavernícolas (Pohlman *et al.*, 1997; Graening y Brown, 2003; Neisch *et al.*, 2011). Es así como la fauna anquihalina obtiene su energía a partir de la vegetación presente en la superficie ya sea mediante el consumo directo de materia orgánica detrítica o mediante la transferencia trófica de organismos quimiótrofos que utilizan compuestos reducidos, como metano (CH₄) y sulfuro de hidrógeno (H₂S), los cuales son producidos durante la degradación de la materia orgánica (Pohlman *et al.*, 1997; Pohlman, 2011; Bishop *et al.*, 2015).

Las redes tróficas en los sistemas anquihalinos se cree que son relativamente simples, compuestas por pocos niveles tróficos y con una transferencia eficiente de la energía. Bacterias, hongos, algas y protozoos ocupan los primeros niveles y son consumidos por micro y macroinvertebrados. La mayoría de las especies anquihalinas son polífagas y sólo algunas son consideradas consumidoras tope (Schmitter-Soto *et al.*, 2002). En respuesta a la oligotrofia presente en estos sitios, se piensa que las especies que habitan los sistemas anquihalinos son resistentes al hambre y procesan eficientemente su alimento. La red trófica de estos ecosistemas es frágil y es posible alterarla fácilmente sobre todo en niveles tróficos superiores (Schmitter-Soto *et al.*, 2002).



JUSTIFICACIÓN

Los ecosistemas anquihalinos se encuentran expuestos a diversos factores que alteran su composición biológica y físico-química, por ejemplo: el turismo, la urbanización, el manejo inadecuado de los residuos, el cambio del uso de suelo y la pérdida de la cobertura vegetal (Beddows *et al.*, 2007). En un principio se consideraba a estos ambientes como prístinos; sin embargo, con el paso de los años el crecimiento de ciudades y los asentamientos humanos los han ido modificando y aprovechando, haciendo uso del agua subterránea para necesidades domésticas y colocando desechos en terrenos aledaños a estos sitios, los cuales debido a la naturaleza de la Península de Yucatán pueden infiltrarse y contaminar el agua subterránea. En conjunto todos estos factores podrían llegar a generar la pérdida de este ecosistema.

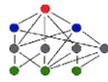
Identificar el esquema que sigue la red trófica en estos sistemas a través del uso de isótopos estables se vuelve relevante ya que nos permitirá identificar la contribución de las fuentes de alimentación hipotetizadas a las especies anquihalinas. Si las fuentes hipotetizadas en el presente estudio y mencionadas en estudios previos de las cuales algunas tienen un origen terrestre son aquellas que están ingresando energía en la red trófica subterránea podremos identificar a los ecosistemas anquihalinos como sitios conectados con la superficie y dependientes de lo que sucede en ella y no como sitios aislados.



HIPÓTESIS

Se considera a los sistemas anquihalinos como ecosistemas pobres en cuanto a nutrientes debido a la falta de productores primarios fotosintéticos, por lo cual se cree que la entrada de carbono orgánico proveniente de áreas adyacentes podría proporcionar la energía necesaria para soportar a todas las especies que habitan este ecosistema.

De manera general se consideran dos fuentes principales de nutrientes en los sistemas anquihalinos de la península de Yucatán: la materia orgánica que entra a través de los cenotes y fisuras del suelo y la contribución de bacterias que degradan materia vegetal del piso de la selva. Considerando la composición isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de los organismos anquihalinos los cuales pueden indicar su fuente de alimentación, podremos determinar cómo se estructura la cadena trófica y la proporción de contribución de cada fuente a la dieta. La hipótesis de este estudio es que si en el sistema anquihalino asociado al cenote Vaca-Ha la cadena trófica está basada en materia orgánica que entra por la alberca del cenote y aquella que se percola a través de la matriz calcárea del suelo, entonces los valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ en el tejido de las especies y en las fuentes propuestas serán similares. En contraste, si se encontraran valores de $\delta^{13}\text{C}$ extremos (empobrecidos o enriquecidos) se podría plantear que el sistema tiene aportes distintos a los propuestos anteriormente.



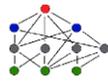
ANTECEDENTES

El AIE ha sido utilizado en diversas ramas de las ciencias biológicas entre ellas la ecología, las ciencias forenses, la medicina, geología e hidrología ayudando a identificar una serie de problemas que van desde estudios de contaminación ambiental hasta dietas fósiles y cambio climático. Sin embargo, a pesar del gran potencial de esta técnica aún no se ha explotado en su totalidad en los ambientes anquihalinos, con el transcurso de los años la información publicada y los avances sobre el AIE en estos ecosistemas ha incrementado dando un panorama más amplio sobre su uso y posibles aplicaciones.

Uno de los trabajos realizados sobre redes tróficas en los ecosistemas anquihalinos haciendo uso de la técnica de isótopos estables fue realizado por Pohlman *et al.* (1997) quienes encontraron que en el sistema Naranjal, ubicado en el estado de Quintana Roo, México existen de 2 a 2.5 niveles tróficos, utilizando un total de ocho especies y tomando en cuenta tres posibles reservorios de materia orgánica los cuales soportan este ecosistema.

Yokoyama *et al.* (2005) demostraron, a través de experimentos con alimento marcado isotópicamente en dos especies de crustáceos decápodos, que el mejor tejido para realizar AIE es el tejido blando (músculo), ya que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se ven afectados por el carbono inorgánico del exoesqueleto cuando se utiliza el cuerpo completo de los organismos. Debido a esto recomendaron en el caso de organismos pequeños realizar un lavado con HCl al 70% para eliminar el carbono inorgánico. Al mismo tiempo sus resultados arrojaron que el lavado con HCl afecta los valores de $\delta^{15}\text{N}$, por lo cual los autores recomendaron utilizar una submuestra tratada con HCl para el análisis de $\delta^{13}\text{C}$ y otra submuestra que no haya pasado por dicho tratamiento para obtener los valores de $\delta^{15}\text{N}$.

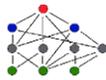
Aguilar (2016) utilizó otro método para estudiar la red trófica del sistema Ox Bel Ha en Quintana Roo. Con los datos reportados en la literatura sobre la alimentación de las especies anquihalinas y utilizando técnicas de modelado, obtuvo diferentes topologías de las redes tróficas de este sistema evaluando las diferentes respuestas de las redes ante disturbios e identificando las especies clave. Encontró al isópodo *Creaseriella anops* como una de las



especies clave, es decir, que es utilizada como recurso para otros organismos y tiene un alto número de conexiones con otras especies.

Pohlman (2011) publicó un panorama amplio sobre las investigaciones realizadas en cuevas anquihalinas en diferentes lugares del mundo, centrándose en los procesos biogeoquímicos que ocurren dentro de estos ecosistemas, los cuales permiten el correcto funcionamiento de estos sitios logrando así el desarrollo y mantenimiento de las especies que los habitan. Su revisión incluyó un estudio realizado en el sistema Naranjal, Quintana Roo, en el cual encontró que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las especies de crustáceos estigobios se presentan en un intervalo de entre -21.2 y -44‰, mientras que la materia orgánica particulada y sedimentaria presenta valores que van de -22.1 a -30.1‰. Asumiendo un enriquecimiento positivo de entre 1 y 2‰ entre la fuente y su consumidor, los valores menores a -29‰ observadas en algunas especies de crustáceos consumen una fuente de alimentación más empobrecida en ^{13}C que las medidas en las fuentes de detrito.

Recientemente, Brankovits *et al.* (2017), utilizando AIE identificaron que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en camarones cavernícolas del género *Typhlatya* son los esperados para el metano microbiano y el suelo terrestre. Estos camarones presentan apéndices alimenticios capaces de atrapar partículas muy pequeñas del tamaño de conglomerados de bacterias o pequeños insectos terrestres que caen en las aguas subterráneas. Con este estudio se confirma que estos camarones tienen como fuente alimenticia bacterias metanótrofas y pequeños organismos terrestres que ingresan a las cuevas.



OBJETIVOS

Objetivo general

Conocer la estructura de la red trófica de un sistema anquihalino en el estado de Quintana Roo.

Objetivos particulares

- Describir las condiciones físico-químicas de la columna de agua.
- Cuantificar la cantidad de carbono (total, orgánico e inorgánico) en el sedimento a lo largo de un transecto dentro del sistema subterráneo.
- Identificar la señal isotópica tanto de los organismos anquihalinos como de las posibles fuentes de alimentación.
- Identificar la proporción de la contribución de las posibles fuentes alimenticias a la dieta de algunos organismos consumidores a través de valores de isótopos estables de carbono y nitrógeno.
- Identificar a qué nivel trófico pertenecen algunas de las especies presentes dentro de la comunidad anquihalina del sistema Vaca-Ha.
- Identificar si existen diferencias en la señal isotópica en el tejido de los organismos que fueron tratados para eliminar carbono inorgánico del exoesqueleto y aquellos que no fueron tratados.



MATERIAL Y MÉTODO

Trabajo de campo

Parámetros físico-químicos del sitio de colecta

Se registraron los parámetros físico-químicos de la columna de agua con una sonda multiparámetro (Hydrolab DS-5X). Esta sonda fue programada para registrar cada 30 segundos los siguientes datos: profundidad (m), temperatura (°C), pH, salinidad (ppm) y oxígeno disuelto (mg/L). Una vez en el laboratorio los datos permitieron realizar un perfil del sistema subterráneo, iniciando la toma de datos en el espejo de agua del cenote y siguiendo hacia la zona de cueva.

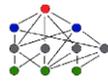
Procesamiento de las muestras previo al análisis de isótopos estables

a) Vegetación

La vegetación se colectó fresca y de forma manual con el uso de pinzas directamente de los árboles cercanos a la alberca del cenote, el material fue secado en un horno a 60°C durante 48 hrs y molido hasta obtener un polvo fino

b) Fauna

Después de su colecta en campo siete especies de crustáceos (*Xibalbanus tulumensis*, *Antromysis cenotensis*, *Stygiomysis cokei*, *Tulluweckelia cernua*, *Creaseriella anops*, *Typhlatya mitchelli* y *Creaseria morleyi*) y una especie de pez estigobio (*Typhlias pearsei*) se mantuvieron vivos en pequeños contenedores de plástico con capacidad de 500 ml, llenos con agua procedente de la cueva (previamente filtrada a través de un filtro de 0.45 µm) y con aireadores mecánicos por un periodo de 24 hrs, con la finalidad de permitir el vaciado del tubo digestivo, durante este periodo se realizó al menos un cambio de agua para evitar la coprofagia (Reid *et al.*, 2008). Los organismos se encontraban expuestos a la luz natural y se decidió no mantenerlos



en oscuridad ya que la finalidad de este procedimiento sólo es el vaciado del tubo digestivo. Una vez concluidas las 24 hrs, los organismos se retiraron del agua y se secaron con papel absorbente para finalmente colocarlos por especie dentro de tubos estériles con capacidad de 50 ml y puestos en congelación a -4°C .

Las muestras se mantuvieron congeladas (1 semana) hasta el momento de su secado a 60°C durante 48 hrs. Previo al secado las muestras se enjuagaron con agua destilada para eliminar cualquier contaminante. Debido a que la fauna anquihalina está compuesta principalmente por crustáceos los cuales presentan exoesqueleto y son de talla pequeña, fue necesario realizar el AIE por duplicado, esto es, a uno de los grupos se le practicó la eliminación de carbonatos mediante acidificación con HCl, mientras que el otro grupo no fue sometido a este tratamiento.

c) Agua

Para la obtención del carbono orgánico particulado se utilizaron 500 ml de agua los cuales fueron colectados en tres sitios dentro del sistema (Fig. 4), esto se realizó con ayuda de bidones colapsables los cuales fueron transportados por los espeleobuzos, una vez en el laboratorio el agua fue filtrada a través de filtros Whatman de fibra de vidrio GF/F de 47mm de diámetro (pre-calcinados durante 4 horas a 450°C) los cuales se acoplaron a un sistema de filtración al vacío. El material que logra atravesar los poros del filtro es denominado carbono disuelto (COD) de este material fueron recolectaron 100 ml en viales ámbar (previamente tratados), estas muestras fueron tomadas tanto en la zona de la alberca del cenote como en la zona de cueva. Las muestras se analizaron en el Laboratorio Universitario de Nanotecnología Ambiental (LUNA), UNAM con un analizador de carbono orgánico e inorgánico y nitrógeno total en muestras líquidas (Shimadzu TOC-L CSH/CSN).

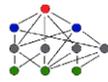


Figura 4. Ubicación de los puntos de recolección de agua para la obtención de COP y COD. El primer punto de recolección fue la alberca del cenote, el segundo punto corresponde a la zona de cueva por encima de la haloclina (agua dulce) la toma de la muestra se realizó muy cerca del techo de la cueva y el tercer punto se localiza por debajo de la haloclina (agua marina) aproximadamente a 23m de profundidad.

d) Carbono presente en el suelo de la selva y sedimentos de la cueva

Para obtener la cantidad de carbono total (orgánico e inorgánico) en el sedimento de la cueva, suelo de la selva y sedimento de la alberca del cenote se recolectó el material en tubos falcon y posteriormente este material fue secado en un horno a 60°C durante 48 horas y molido hasta obtener un polvo fino. Las muestras recolectadas dentro de la cueva fueron un total de cinco, que se tomaron a una distancia de 15 m una de otra con ayuda de una cinta marcada, esto con la finalidad de tener un transecto y aumentando de manera horizontal la penetración en la cueva (Fig. 5). El sedimento fue analizado en el Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología (ICAT) utilizando el analizador Shimadzu TOC-L CSH/CSN con módulo para análisis de carbono total e inorgánico en muestras sólidas SSM-5000^a.

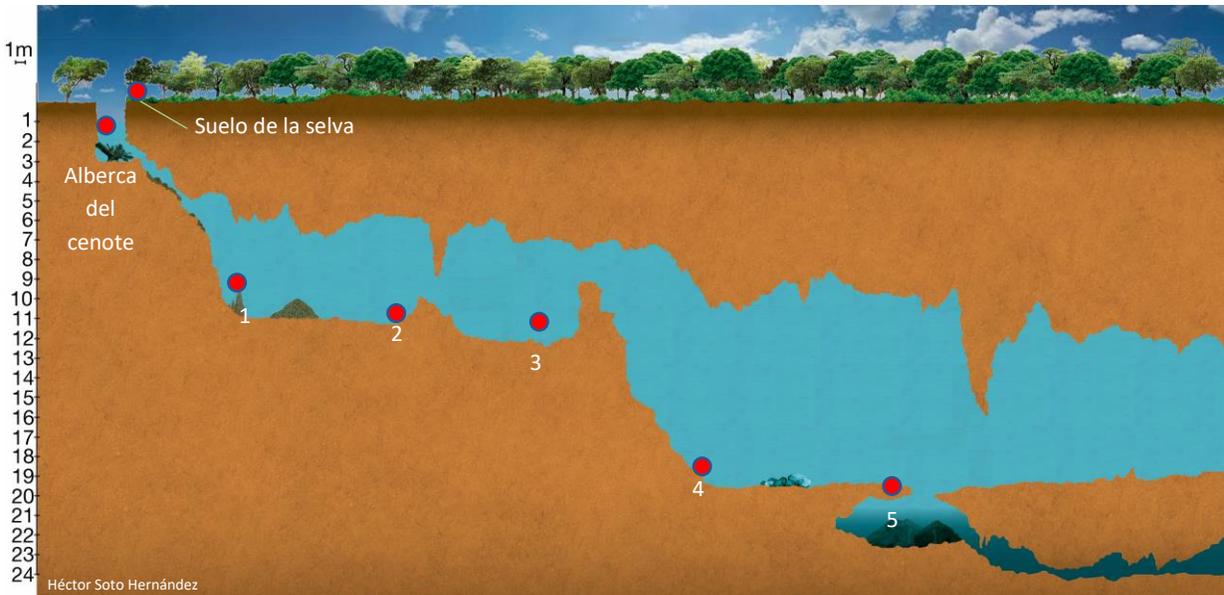
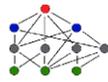


Figura 5. Ubicación de los puntos de recolección de sedimento y suelo de la selva para la obtención de carbono total en muestras sólidas.

Análisis de isótopos estables

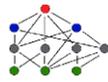
Obtención del porcentaje de carbono y nitrógeno

Antes de conocer los valores isotópicos es necesario conocer el porcentaje de carbono (C) y nitrógeno (N) presente en cada una de las muestras, para ello se requiere entre 1 y 5 mg de cada material a analizar. El material es encapsulado en estaño e ingresa en un analizador elemental automático (Elemental Analyzer CN Instruments 2500 TM). Este análisis fue realizado en el laboratorio de isótopos estables GEOTOP-UQUÀM, Montreal, Canadá. Una vez obtenidos los porcentajes de C y N es posible conocer la cantidad en gramos de C y N presentes en cada muestra, así como la proporción C:N utilizando las siguientes fórmulas:

$$1) C (mg) = \frac{\text{Peso total de la muestra}(mg) * \%C}{100}$$

$$2) N (mg) = \frac{\text{Peso total de la muestra}(mg) * \%N}{100}$$

$$3) C:N = \frac{\%C}{\%N} * \frac{\text{Masa atómica del nitrógeno (14)}}{\text{Masa atómica del carbono (12)}}$$



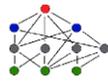
Obtención de los valores isotópicos $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$

Una vez obtenidos los porcentajes de carbono y nitrógeno, es posible determinar la cantidad de muestra que se ingresará al espectrómetro de masas y así obtener su valor delta (δ). Las muestras pulverizadas fueron pesadas en cápsulas de estaño, las cuales ingresan al espectrómetro de masas con relación de isótopos (Isotopic Ratio Spectrometer, Isoprime 100TM, CF-EA), acoplado a un analizador elemental (Vario MicroCube) en modo de "flujo continuo". El espectrómetro de masas tiene la función de contar e identificar la masa molecular de los gases de interés (^{13}C y ^{15}N) generados por combustión. Dicho análisis fue realizado en el laboratorio de análisis de isótopos estables GEOTOP-UQUÀM, Montreal, Canadá.

Las muestras analizadas en el espectrómetro de masas para obtener los valores $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ fueron:

Fuentes de materia orgánica hipotetizadas

- Suelo de la selva: Mezcla compleja de organismos vivos, materia orgánica, minerales y agua recolectada del terreno circundante al espejo de agua del cenote.
- Vegetación de la selva: Hojas frescas de las especies de flora que se encuentran alrededor del espejo de agua del cenote.
- Materia orgánica particulada: Se refiere a la fracción de carbono orgánico total el cual permanece en la superficie de un filtro de fibra de vidrio al realizar el filtrado de ml de agua extraída del sitio de interés. Por el tamaño de las partículas ($0.7 > \mu\text{m}$) estas no logran atravesar los poros del filtro.
- *Antromysis cenotensis*: Organismo perteneciente a la subclase Misidácea considerado una de las principales fuentes de alimentación para la comunidad estigobia.
- *Typhlatya mitchelli*: Camarón cavernícola perteneciente a la familia Atyidae, esta especie ha sido relacionada con el consumo de pequeñas bacterias y partículas diminutas de alimento las cuales atrapan con los mechones de cerdas presentes



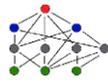
en el primer y segundo par de pereiópodos, siendo uno de los principales eslabones de la transferencia trófica.

Fauna anquihalina (consumidores): Siete especies de crustáceos estigobios (*Xibalbanus tulumensis*, *Antromysis cenotensis*, *Stygiomysis cokei*, *Tulluweckelia cernua*, *Creaseriella anops*, *Typhlatya mitchelli* y *Creaseria morleyi*) y una especie de pez estigobio (*Typhlias pearsei*).

Eliminación de carbono inorgánico en crustáceos

En el caso de las muestras de crustáceos anquihalinos debido a su talla todos fueron sometidos a la eliminación de carbono inorgánico mediante la fumigación con HCL. El polvo fino se pesó por duplicado con la finalidad de comparar los resultados de $\delta^{13}\text{C}$, en muestras en las que se eliminaron los carbonatos y en aquellas a las que no se eliminaron. En el caso del grupo sometido a el tratamiento de fumigación con HCl (posterior al secado y molido de las muestras) el material se colocó dentro de cápsulas de plata al interior de una placa de microtitulación de teflón; la placa se colocó dentro de un desecador de vidrio junto con cuatro vasos de precipitados, cada uno con 25 ml de HCl concentrado (37%). La placa permaneció dentro del desecador por 24 hras, al terminar este periodo las muestras estuvieron listas para el análisis isotópico. Para conocer si existen diferencias entre las muestras tratadas con fumigación y aquellas que no pasaron por el tratamiento se realizó el test de Wilcoxon, el cual compara entre las medianas de las muestras y utiliza dos variables una cuantitativa (valores de $\delta^{13}\text{C}$) y una cualitativa (sin y con fumigación).

Para obtener los valores isotópicos de la materia orgánica particulada los filtros fueron pesados en una balanza analítica y se obtuvo la diferencia de peso antes y después del proceso de filtrado. Siguiendo los cálculos proporcionados por el laboratorio de isótopos estables (GEOTOP) se calculó el peso necesario para el análisis de los filtros basándonos en el porcentaje de carbono y nitrógeno presentes. El peso necesario se relacionó con el número de perforaciones que caben en un filtro así se obtuvo el número de perforaciones requeridas y posteriormente encapsuladas en estaño e ingresadas al espectrómetro para obtener el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$.



Nivel trófico de los consumidores

Utilizando la fórmula propuesta por Post (2002), se calculó la posición trófica relativa de cada uno de los consumidores utilizando los valores isotópicos de $\delta^{15}\text{N}$.

$$\text{NT} = \lambda (\delta^{15}\text{N}_{\text{cons}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{base}}) / F$$

λ = posición trófica del organismo tomado como base de la red trófica

$\delta^{15}\text{N}_{\text{cons}}$ = promedio del $\delta^{15}\text{N}$ de la especie de consumidor del cual se está calculando el nivel trófico

$\delta^{15}\text{N}_{\text{base}}$ = promedio del $\delta^{15}\text{N}$ de la especie usada como base de la red trófica

F = valor de fraccionamiento del nitrógeno en cada nivel (3.4)

Como base de la red trófica y siguiendo las consideraciones de selección descritas por Post 2002, se eligió como consumidor base de este ecosistema el misidáceo *Antromysis cenotensis*, el cual se sabe que basa su alimentación principalmente en materia orgánica presente en el sedimento (Pohlman *et al.*, 2000). *Antromysis cenotensis* es uno de los organismos más abundantes del ecosistema, se ha observado que forma parte de la dieta de la mayoría de las especies, además presenta una alta capacidad de sobrevivencia en condiciones de laboratorio.

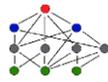
Análisis de datos isotópicos

Una vez que se obtuvieron los valores isotópicos ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) de todas las muestras, estas se representaron gráficamente (valores promedio y desviación estándar).

Los valores de todos los organismos (crustáceos y peces) fueron normalizados, esto quiere decir que se trató de eliminar el aumento en los valores de $\delta^{13}\text{C}$ debido al contenido de lípidos que puede afectar las estimaciones y, consecuentemente, las interpretaciones ecológicas. Se utilizó la fórmula de normalización matemática propuesta por Post *et al.* (2007) para organismos acuáticos. Esta estandariza el contenido lipídico: $\delta^{13}\text{C}_{\text{normalizado}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{no tratado}} - 3.32 + 0.99 \times \text{C:N}$. La normalización de los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se basó en los valores de C:N (i.e., razones C:N > 3.5 para tejido rico en lípidos).



Posteriormente para el análisis de los modelos de mezcla se utilizó R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing utilizando el paquete Andrew Parnell and Andrew Jackson (2013). Siar: Stable Isotope Analysis in R. R package version 4.2. Dicho análisis determinó la contribución relativa de las posibles fuentes de alimentación a la dieta de los crustáceos y el pez consumidor. Este modelo toma en cuenta la incertidumbre asociada a los valores isotópicos de consumidores y presas, así como el enriquecimiento trófico. Siar agrega el factor de fraccionamiento a las fuentes, en lugar de restárselo a los valores de los consumidores, permitiendo que puedan ser asignados diferentes factores de fraccionamiento dependiendo de la fuente de alimentación (Parnell y Jackson, 2013).



RESULTADOS

Parámetros físico-químicos

Cenote Vaca Ha

Los parámetros medidos en la columna de agua del sistema Vaca Ha (incluyendo la alberca del cenote) fueron cinco: profundidad, temperatura, pH, salinidad y oxígeno disuelto estas mediciones se realizaron durante el mes de febrero de 2019 (Fig. 6). Los valores de estos cinco parámetros nos permitieron identificar tres zonas con patrones que las caracterizan. La zona número 1 consta de pocos metros, inicia en el espejo de agua y llega hasta aproximadamente los 6 m de profundidad. En esta zona se observó que conforme la profundidad aumenta la temperatura del agua comienza a disminuir. Por esta razón la zona presentó la mayor temperatura de toda la columna de agua (26.5 °C). Por otro lado, la salinidad y el oxígeno disuelto presentaron los valores más bajos en los primeros metros (1.05 ppm y 2.2 mg/L respectivamente). Sin embargo, conforme la profundidad aumenta tanto la salinidad como la cantidad de oxígeno disuelto comienzan a incrementar (Fig. 6A, B, C, D).

La zona 2 se presentó desde los 7 hasta los 21 m. En esta zona la temperatura del agua se mantuvo en 25.5 °C. La salinidad aumentó levemente (de 1.69 a 1.89 ppm), mientras que la cantidad de oxígeno disuelto aumentó ligeramente de la primer a la segunda zona manteniéndose en 2.1 mg/L (Fig. 6A, B, C, D).

Finalmente, la zona 3 es aquella donde se reporta la mayor profundidad esta zona se caracterizó por la presencia de agua salada, alcanzando una salinidad mayor a 35 ppm. Esta capa de agua comienza aproximadamente en los 21 m de profundidad y va hasta los 24 m (máxima profundidad del sistema Vaca Ha). En esta zona la cantidad de oxígeno disuelto disminuyó dramáticamente hasta 0.67 mg/L, mientras que la temperatura del agua aumentó alrededor de un grado centígrado (Fig. 6A, B, C, D).

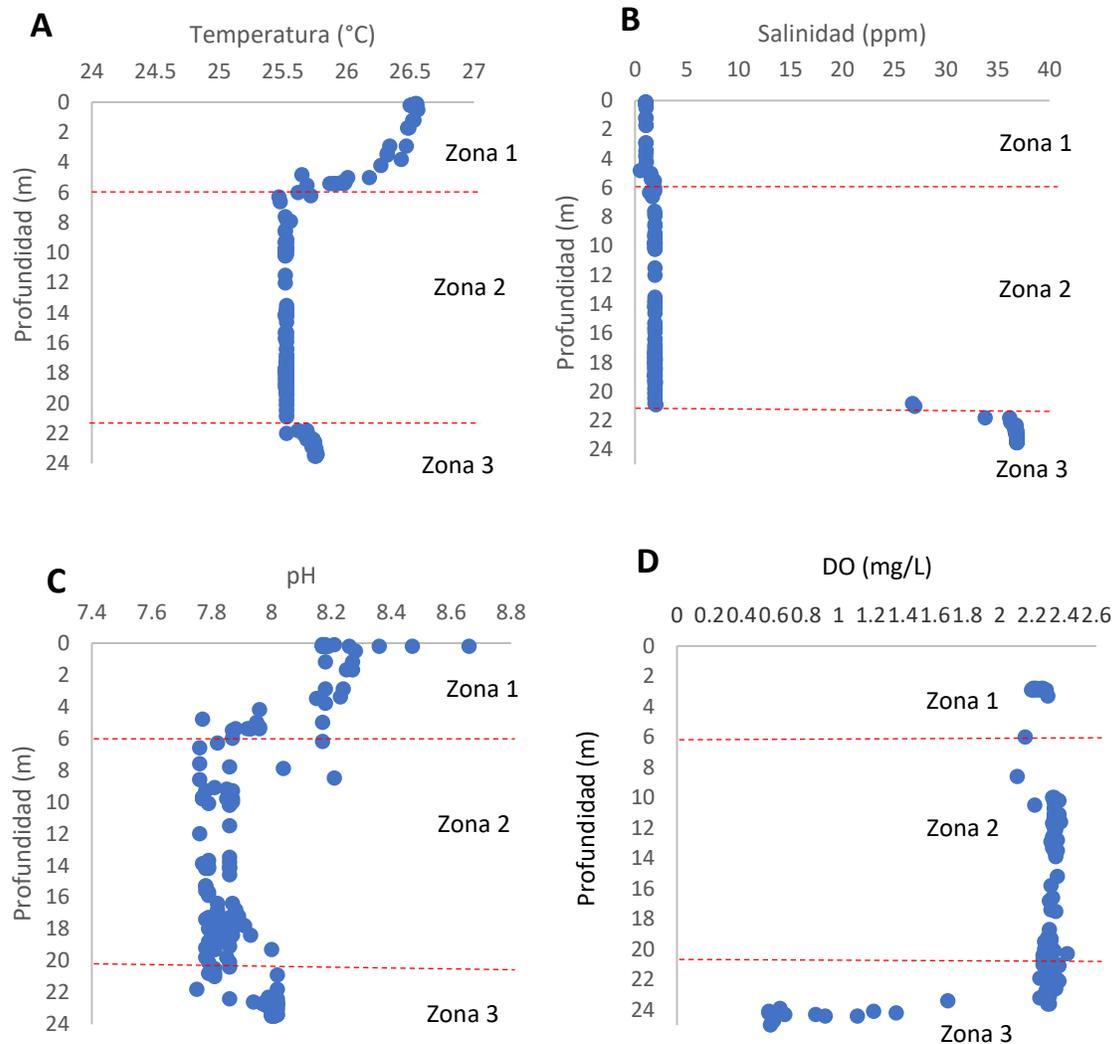
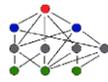
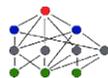


Figura 6. Perfiles batimétricos del cenote Vaca Ha: A) temperatura, B) salinidad, C) pH y D) oxígeno disuelto (DO).

Carbono disuelto

La cantidad de carbono inorgánico (CI) disuelto en la capa de agua dulce dentro de la cueva presentó la mayor concentración (8.58 mg/L), seguida de la que presentó la alberca del cenote (7.78 mg/L) y finalmente la concentración en la capa de agua marina colectada a mayor profundidad fue aquella con el menor contenido de carbono inorgánico (5.07 mg/L) (Tabla 1).

La cantidad de carbono orgánico (CO) en los tres sitios representa más del 80% del carbono total (CT) obtenido en cada una de las muestras de agua. La mayor concentración de CO se presentó en el agua dulce de la cueva (87.43 mg/L) teniendo valores similares a los de la



alberca del cenote (74.04 mg/L) y duplicando la cantidad de carbono orgánico obtenida en la capa de agua marina (36.46 mg/L).

Tabla 1. Cantidad de carbono total (orgánico e inorgánico) y nitrógeno total en la zona de alberca del cenote v cueva en el cenote Vaca Ha.

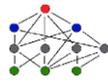
Localidad	Volumen utilizado	Alberca del cenote	Cueva Agua dulce	Cueva Agua marina
Cenote Vaca Ha	100 ml	CT = 81.82 mg/L CO = 74.04 mg/L Cl: 7.78 mg/L	CT= 96.01 mg/L CO = 87.43 mg/L Cl: 8.58 mg/L	CT= 41.53 mg/L CO= 36.46 mg/L Cl: 5.07mg/L

Carbono total en suelo de la selva y a través del transecto dentro de la cueva

Podemos observar que existe un gradiente en el porcentaje de CO, el porcentaje disminuye a medida que aumenta la distancia de los puntos de muestreo con respecto a la alberca del cenote. En el caso del CI observamos un gradiente inverso ya que su porcentaje aumenta conforme nos adentramos en la cueva y la profundidad aumenta (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de carbono total (inorgánico y orgánico) en el transecto al interior de la cueva, la zona de alberca del cenote v el suelo recolectado en la selva circundante.

	Carbono total (%)	Carbono orgánico (%)	Carbono inorgánico (%)
Suelo de la selva	27.01	26.77	0.24
Sedimento de la alberca del cenote	20.94	19.68	1.26
Sitio 1	11.71	4.32	7.39
Sitio 2	11.6	0.33	11.3
Sitio 3	11.39	2.86	8.53
Sitio 4	11.05	1.04	10.01
Sitio 5	10.46	0.44	10.02



Análisis de isótopos estables

Fuentes de materia orgánica

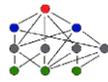
Se obtuvieron los valores isotópicos de carbono y nitrógeno de cinco fuentes de materia orgánica las cuales se considera podrían ser parte de la alimentación para las especies estigobias en el sistema Vaca Ha.

En la tabla 3 se presentan los resultados promedio del análisis isotópico ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$) para cada una de las fuentes. La vegetación y el suelo de la selva presentaron los valores con la menor cantidad de ^{13}C , es decir, cuentan con grandes concentraciones del isótopo ligero ^{12}C . Por el contrario, las muestras que presentaron una mayor cantidad del isótopo pesado de carbono fueron las algas recolectadas en la alberca del cenote (-19%) y el sedimento de la cueva (-12%).

En el caso del isótopo de nitrógeno, el suelo de la selva mostró estar enriquecido con el isótopo pesado, mientras que la vegetación de la selva presentó un empobrecimiento de este isótopo mostrando valores negativos (esto indica que la vegetación contiene una menor cantidad del isótopo pesado con respecto al estándar el nitrógeno atmosférico). Por otra parte, el $\delta^{15}\text{N}$ de la MOP presentó valores positivos, aunque muy cercanos a cero lo que nos indica que la muestra se encuentra empobrecida en isótopo pesado.

Tabla 3. Valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ para cada una de las posibles fuentes de materia orgánica en el cenote Vaca Ha, también se incluyen los resultados de la proporción carbono-nitrógeno (C:N) para cada fuente.

Fuente	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	C:N
Vegetación de la selva	-31.8142±0.8206	-1.30±1.19	17.31
Suelo de la selva	-27.8118±1.3268	3.3492±0.2943	13.17
Matéria orgánica particulada	-24.21±1.1	0.57±2.1	8.37
AC (<i>Antromysis cenotensis</i>)	-26.87±0.39	6.61±0.43	4.45
TM (<i>Typhlatya mitchelli</i>)	-32.86±1.31	11.64±0.45	4.58



En la figura 7 podemos observar los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de todos los componentes recolectados en el sistema (fuentes y consumidores), además se integraron resultados previos de $\delta^{13}\text{C}$ de dos fuentes de carbono propuestas por otros autores quienes las consideran parte de la red trófica. Las dos fuentes son bacterias nitrificantes y bacterias oxidantes del metano (BOM), también se integraron sus respectivas fuentes de carbono. En el caso de las bacterias nitrificantes su fuente es el carbono inorgánico disuelto (CID) y en el caso de las BOM su fuente es el metano biogénico.

En el caso de la vegetación y suelo de la selva estos presentaron valores de $\delta^{13}\text{C}$ en un intervalo de -27 a -31‰. La materia orgánica particulado de la alberca del cenote y la materia orgánica particulado de la alberca de la cueva presentaron con valores muy similares (-24.99 y -23.43 respectivamente), ambas con un pequeño enriquecimiento del isótopo pesado en comparación con la vegetación y el suelo de la selva. Los sedimentos de la alberca del cenote mostraron valores $\delta^{13}\text{C}$ que se encuentran en un intervalo de -24 a -26‰, mientras que los sedimentos de la cueva muestran valores con una mayor cantidad del isótopo pesado de carbono (-11‰). Y finalmente las algas colectadas en la alberca del cenote presentaron valores entre -18 y -21‰ (Fig.7).

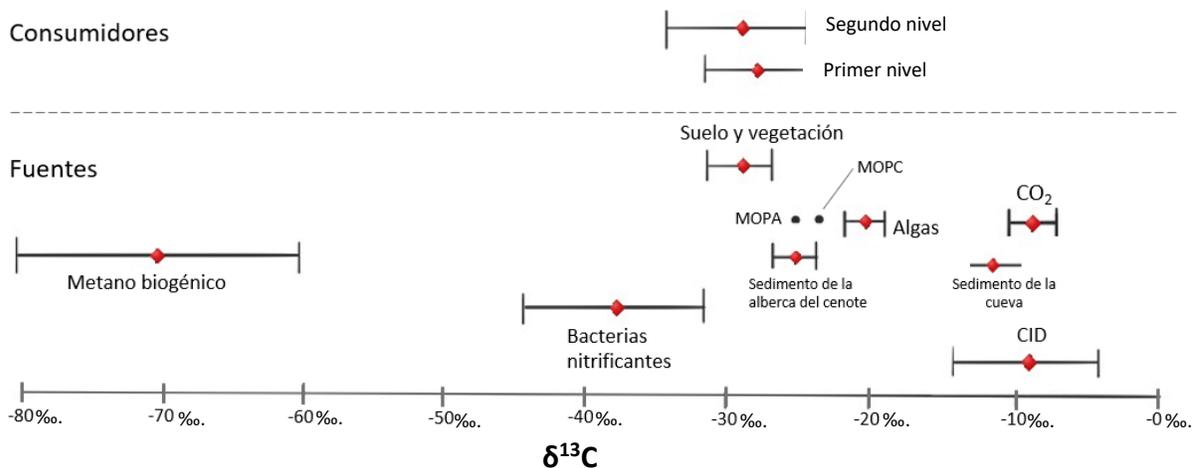
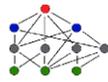


Figura 7. Variaciones en el $\delta^{13}\text{C}$ de los compuestos de carbono en las fuentes y consumidores recolectados en el sistema Vaca Ha, Quintana Roo, México. CID: carbono inorgánico disuelto, MOPA: materia orgánica particulada de la alberca del cenote, MOPC: materia orgánica particulada de la cueva



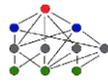
Fauna anquihalina

Se utilizaron un total de 55 organismos de ocho especies (siete especies de crustáceos y una especie de pez) consideradas como fauna anquihalina, las cuales ocupan diferentes hábitats. En la Tabla 4 podemos observar los valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ de las ocho especies utilizadas en el presente estudio.

Tabla 4. Hábitat de cada una de las especies anquihalinas del sistema Vaca Ha (**AD**: Agua dulce, **EU**: Eurihalino y **AS**: Agua salada), valores promedio de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (± 1 desviación estándar) así como la cantidad de organismos utilizados para el análisis isotópico (**N**).

Especies	Hábitat	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	N
Crustáceos				
Remipedia				
<i>Xibalbanus tulumensis</i>	AS	-33.66 \pm 0.20	12.64 \pm 0.03	4
Mysidacea				
<i>Stygiomysis cokei</i>	AD	-30.231 \pm 1.27	11.75 \pm 0.38	4
<i>Antromysis cenotensis</i>	AD	-27.08	6.91	15
Amphipoda				
<i>Tulluweckelia cernua</i>	AD	-33.33 \pm 0.39	9.37 \pm 0.53	12
Isopoda				
<i>Creaseriella anops</i>	EU	-22.91 \pm 0.7	10.25 \pm 0.40	4
Decapoda				
<i>Typhlatya mitchelli</i>	AD	-33.60 \pm 0.4	11.50 \pm 0.053	10
<i>Creaseria morleyi</i>	AD	-25.13 \pm 0.55	9.24 \pm 0.09	2
Peces				
Actinopterygii				
<i>Typhlias pearsei</i>	AD	-24.82 \pm 0.46	9.89 \pm 0.39	2

Las especies *Typhlatya mitchelli*, *Xibalbanus tulumensis* y *Tulluweckelia cernua* presentaron los valores más bajos para $\delta^{13}\text{C}$ -32.86 a -33.36 (empobrecidos en ^{13}C), mientras que especies como *Antromysis cenotensis*, *Creaseria morleyi*, *Creaseriella anops* y *Typhlias pearsei* presentaron valores $\delta^{13}\text{C}$ que van de -18 a -28‰, lo que corresponde a una mayor cantidad del isótopo pesado.



La figura 8 nos muestra una representación de dos ejes en la cual podemos identificar los valores de $\delta^{13}\text{C}$ contra $\delta^{15}\text{N}$ (± 1 desviación estándar) para cada una de las especies anquihalinas, también se incluyen los valores isotópicos $\delta^{13}\text{C}$ contra $\delta^{15}\text{N}$ de las posibles fuentes de alimentación en el cenote Vaca Ha.

Podemos observar en la parte inferior del gráfico los valores isotópicos de las fuentes de materia orgánica, cada una presentó valores diferentes; sin embargo, el suelo de la selva y la MOPA fueron similares. Por otra parte, la vegetación y la MOPC mostraron valores similares en el $\delta^{15}\text{N}$ mientras que su $\delta^{13}\text{C}$ fue completamente diferente siendo la vegetación aquella más empobrecida en ^{13}C .

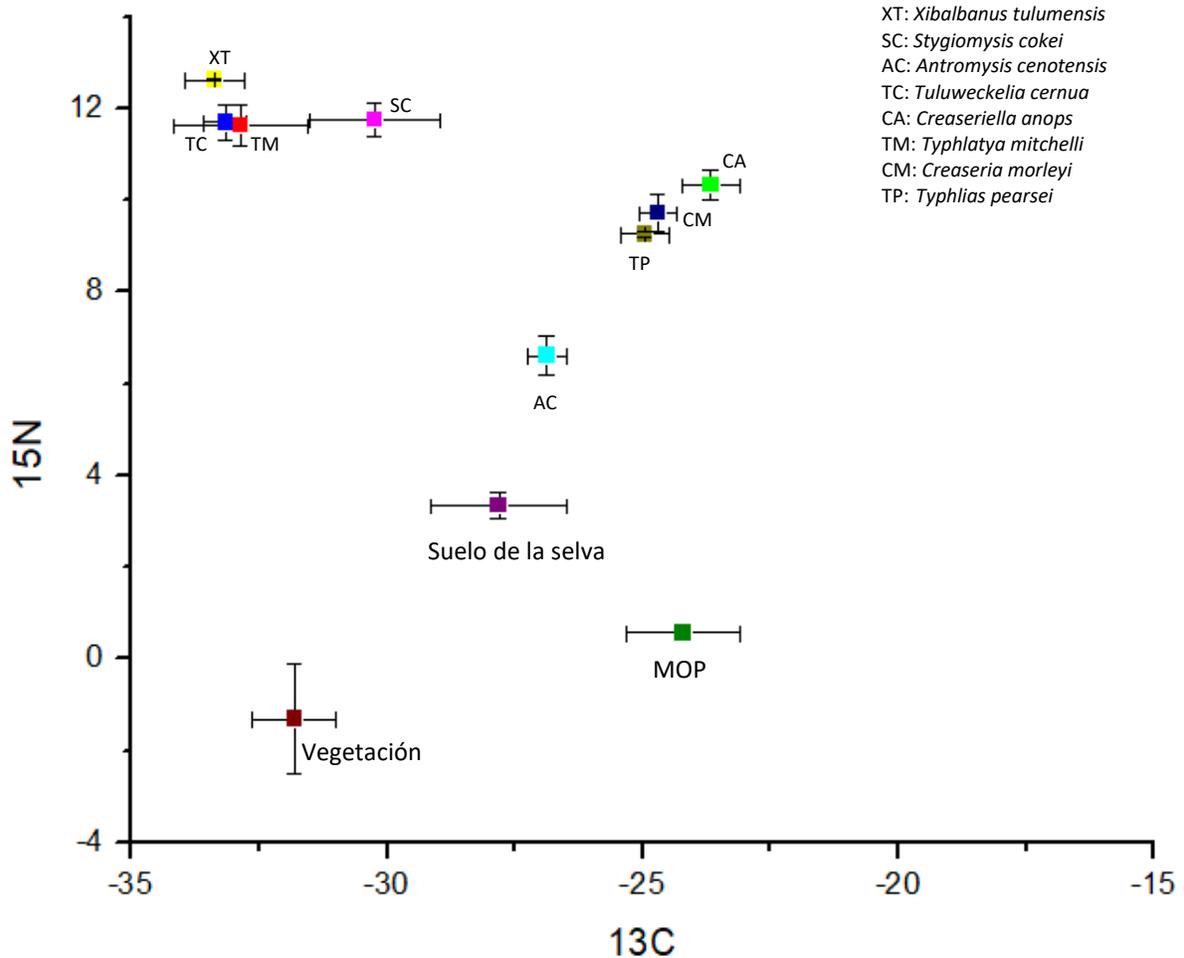
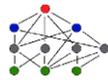


Figura 8. Bi-plot de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ (± 1 desviación estándar) para cada una de las especies estigobias y las posibles fuentes de alimentación en el cenote Vaca Ha.

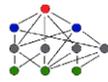


Contribución de las fuentes alimenticias a la dieta de los consumidores

La contribución a la dieta se realizó para cada una de las especies y los resultados se presentan en un intervalo que va de cero (no existe aporte) a uno (el aporte es del 100%) (Fig. 8, 9). Las fuentes de alimentación sugeridas en el presente estudio para cada especie estigobia fueron cinco: suelo, vegetación, MOP, *Antromysis cenotensis* (AC) y *Typhlatya mitchelli* (TM).

Además, se muestran dos esquemas con el porcentaje de contribución de las fuentes con mayor aportación a los consumidores (Fig. 9) y un esquema con el porcentaje de contribución de *T. mitchelli* a la dieta de las demás especies anquihalinas (Fig. 10).

Xibalbanus tulumensis muestra que su fuente de alimento con mayor contribución es *Typhlatya mitchelli* con 75%, mientras que fuentes como la vegetación y el suelo de la selva presentan contribuciones muy bajas alrededor 0.05% (Fig. 9A). *Antromysis cenotensis* mostró que en promedio el 30% de su dieta es aportado por la MOP, seguido por el suelo de la selva (25%). La menor contribución para esta especie es la aportada por *Typhlatya mitchelli* (Fig. 9B). Para *Stygiomysis cokei*, *Typhlatya mitchelli* representó un promedio de 57% de su dieta. La vegetación, el suelo de la selva y la MOP, fueron las fuentes de menor importancia con una contribución de menos del 10% (Fig. 9C). El anfípodo *Tulluweckelia cernua* mostró que en promedio el 60% de su dieta es aportada por *Typhlatya mitchelli*, mientras que la MOP fue la fuente con menor aporte con menos del 10% (Fig. 9D). Para el isópodo cirolánido, *Creaseriella anops*, dos de las fuentes presentaron una contribución alta, *Typhlatya mitchelli* y *Antromysis cenotensis* (35% y 40%, respectivamente). Por otro lado, la fuente con menor contribución a la dieta del isópodo es la vegetación de la selva (menos del 10% de contribución media) (Fig. 10A). El camarón cavernícola *Typhlatya mitchelli* presentó como mayor aportación a su dieta su propia firma isotópica, esto se debe a que ninguna de las señales isotópicas de las demás fuentes es similar a la de esta especie y siguiendo el enriquecimiento trófico propuesto de entre 0.5 y 1‰ ninguna de las fuentes lograría aportar cierto porcentaje a la alimentación de esta especie. Podemos observar como las fuentes restantes mostraron una pobre contribución media con menos del 20% cada una de ellas (Fig. 10B). Para *Creaseria morleyi* tanto *Typhlatya mitchelli* como *Antromysis cenotensis* representaron las mayores contribuciones a su dieta seguido del suelo de la selva (25%, 25% y 20%, respectivamente). Mientras que la vegetación



de la selva fue la fuente con menor contribución a la dieta de este organismo (Fig. 10C). En el caso del pez ciego *Typhlias pearsei* las dos fuentes con mayor contribución fueron *Typhlatya mitchelli* y *Antromysis cenotensis* con 30 y 25%, de respectivamente, mientras que la fuente con menor contribución fue la vegetación de la selva con alrededor de 0.05% (Fig. 10D).

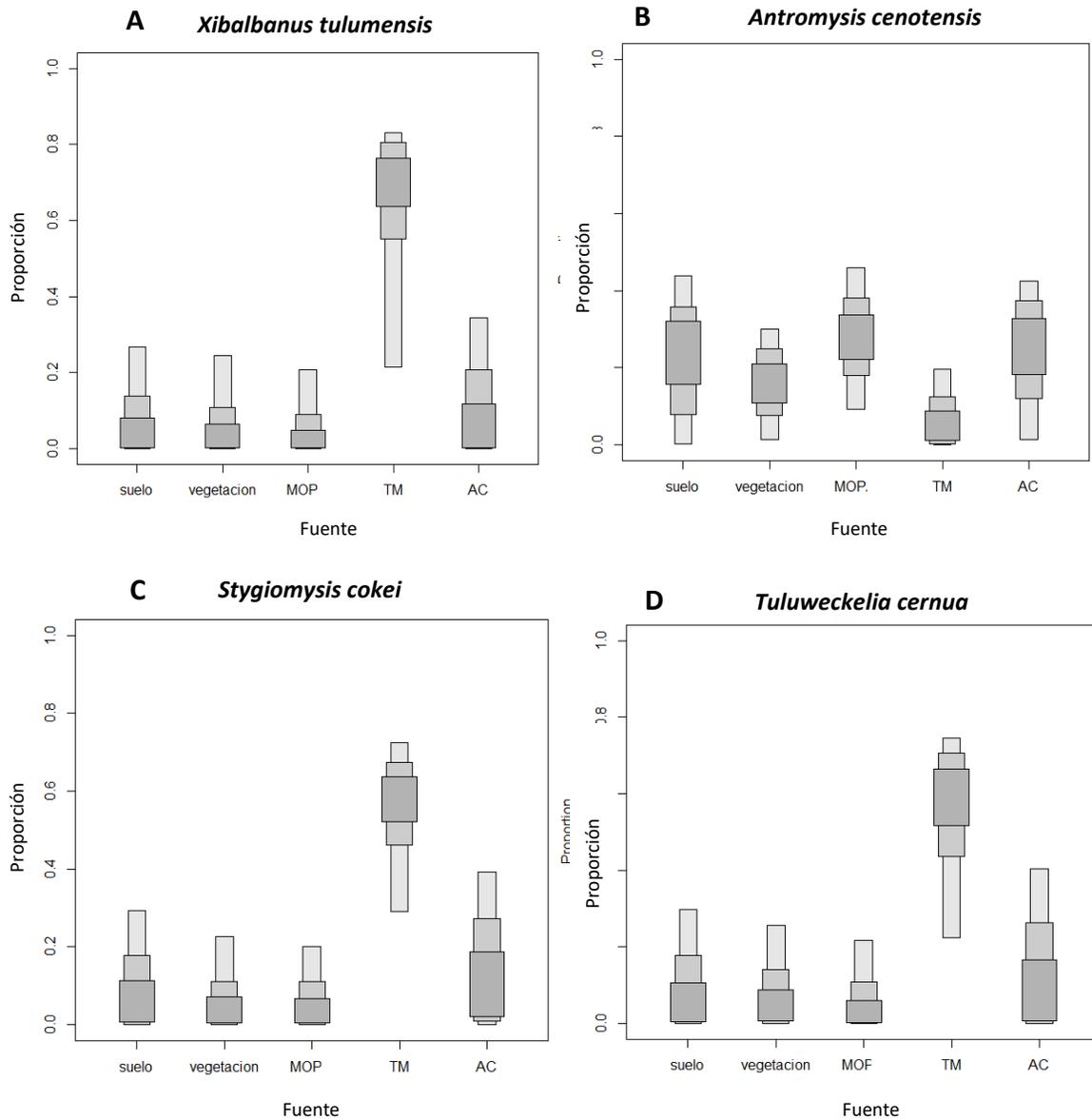


Figura 9. Proporción de la contribución de cada una de las fuentes a la dieta de: A) *Xibalbanus tulumensis*, B) *Stygiomysis cokei*, C) *Antromysis cenotensis*, D) *Tuluweckelia cernua* en el sistema Vaca Ha. Se muestran los intervalos de credibilidad del 95%, 75% y 50% de la contribución de las fuentes a los consumidores.

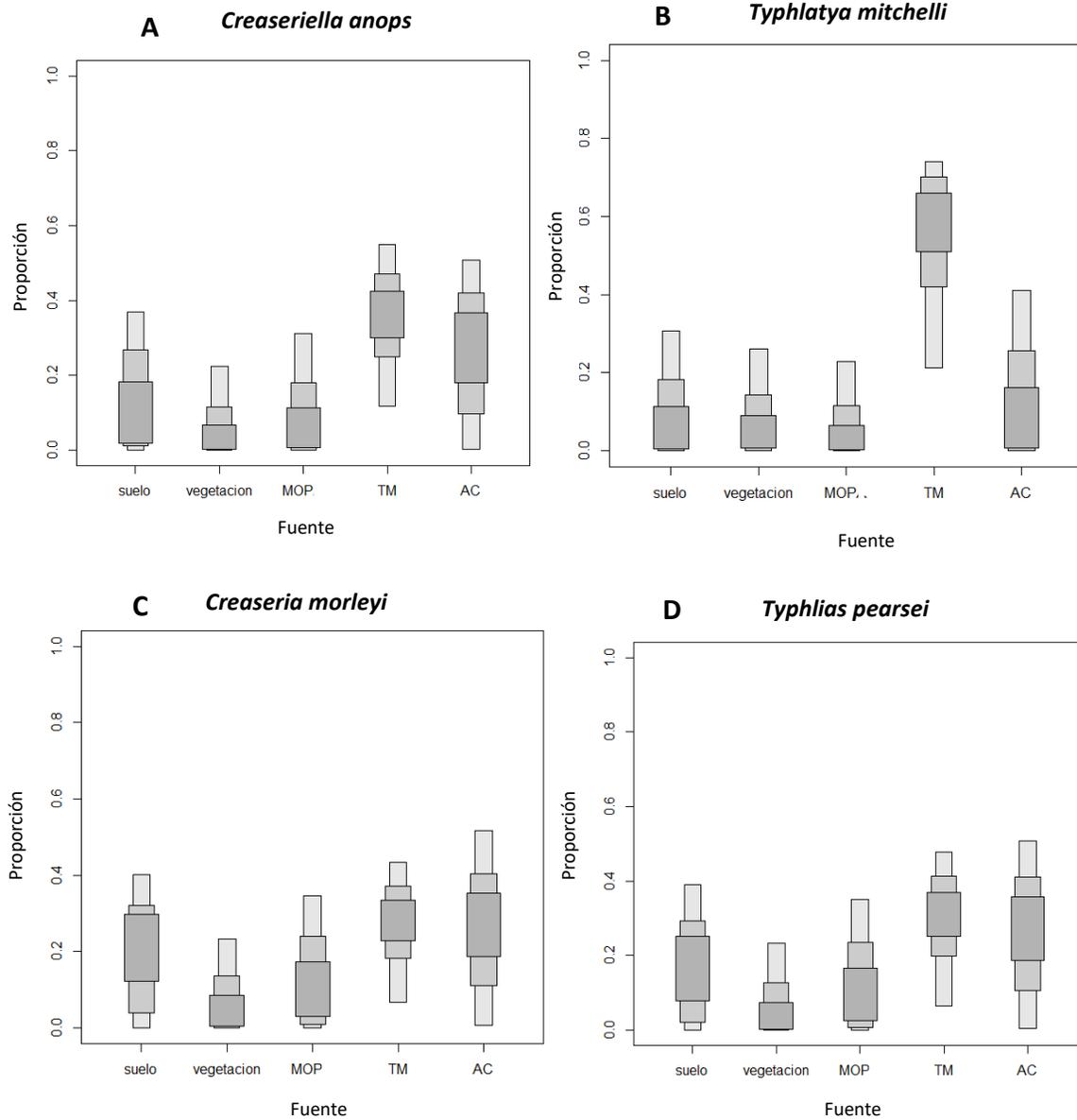
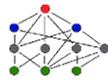


Figura 10. Proporción de la contribución de cada una de las fuentes a la dieta de: A) *Creaseriella anops*, B) *Typhlatya mitchelli*, C) *Creaseria morleyi* y D) *Typhlias pearsei* en el sistema Vaca Ha. Se muestran los intervalos de credibilidad del 95%, 75% y 50% de la contribución de las fuentes a los consumidores.

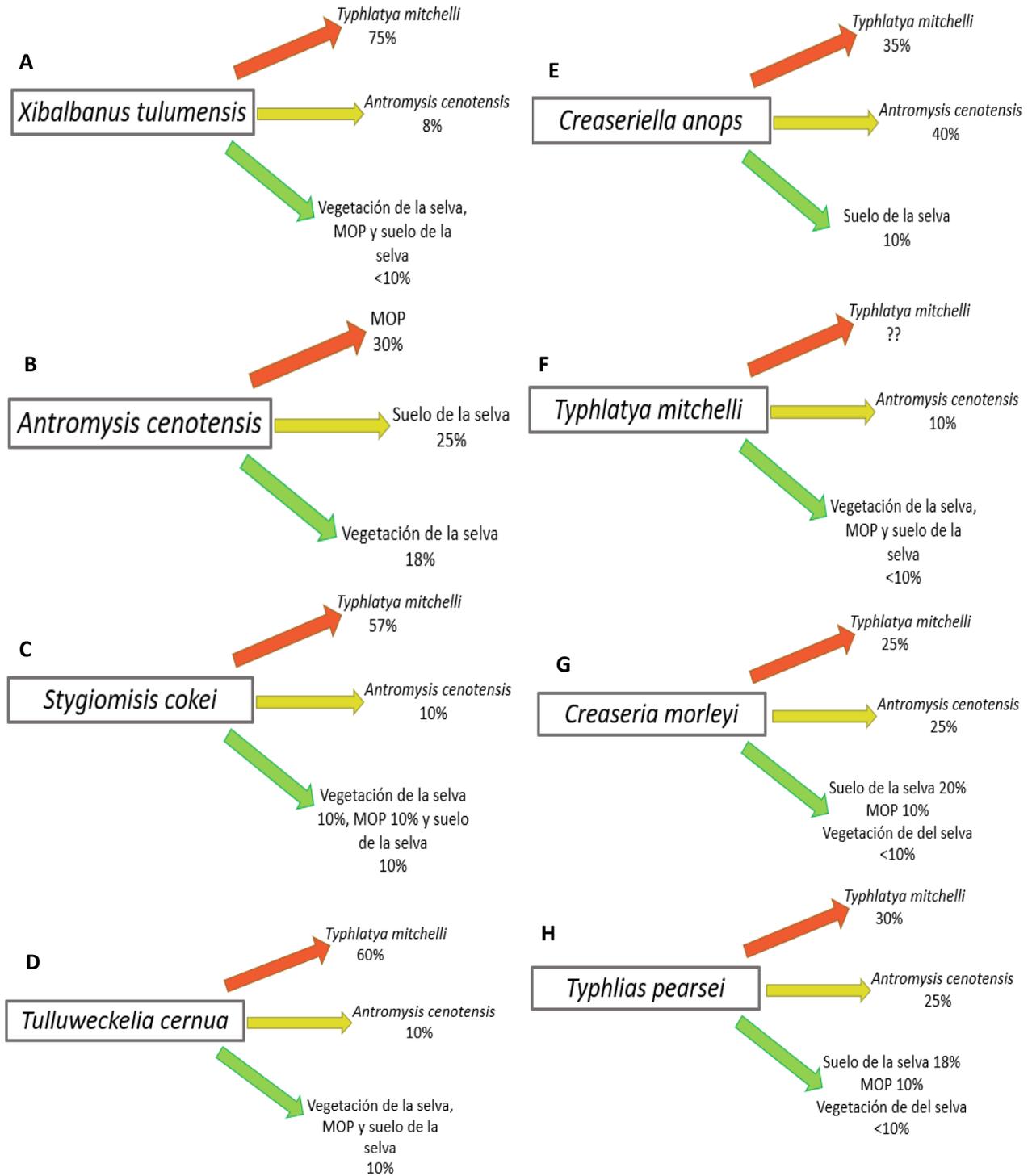
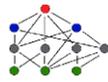


Figura 11. Contribución de cada una de las fuentes a la dieta de: A) *Xibalbanus tulumensis*, B) *Antromysis cenotensis*, C) *Stygiomysis cokei*, D) *Tulluweckelia cernua*, E) *Creaseriella anops*, F) *Typhlatya mitchelli*, G) *Creaseria morleyi* y H) *Typhlias pearsei* en el sistema Vaca-Ha. Se muestran las fuentes que tuvieron una mayor contribución a la dieta de los consumidores.

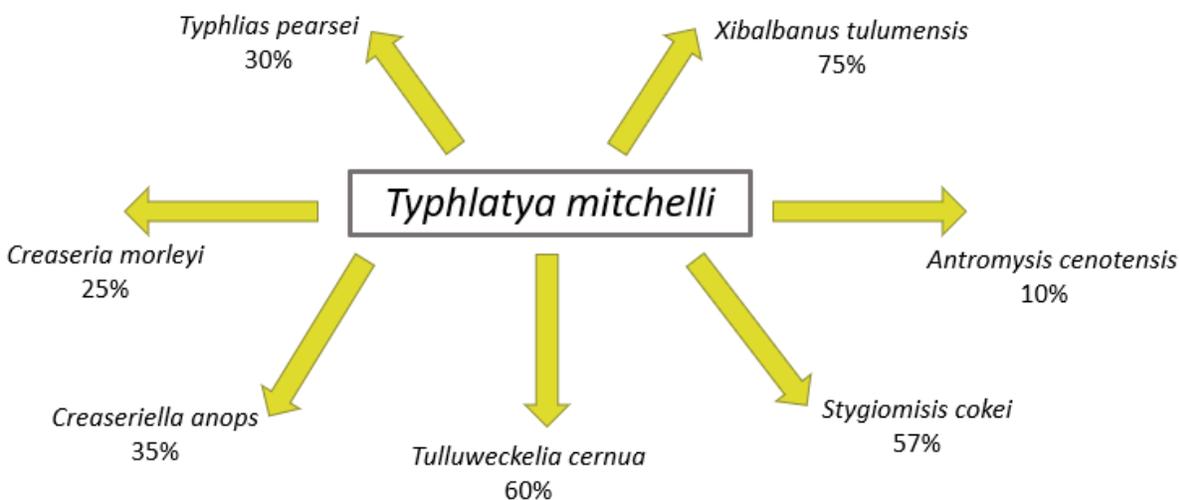
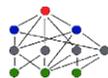


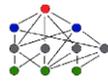
Figura 12. Porcentaje de contribución de *Typhlatya mitchelli* a la dieta de siete especies anquihalinas, en el sistema Vaca-Ha.

Eliminación de carbono inorgánico en las muestras de crustáceos estigobios

Los resultados del AIE en muestras sometidas a la fumigación y aquellas que no lo hicieron (Tabla 5) mostraron que estadísticamente no existen diferencias entre las medianas de las muestras, por lo tanto, podemos concluir que la fumigación con HCl no alteró los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en estas especies (Tabla 6).

Tabla 5. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ para las especies estigobias que fueron sometidas al tratamiento de fumigación con HCl para la eliminación de carbono inorgánico. Se incluye el hábitat de cada una de las especies (**AD**: Agua dulce, **EU**: Eurihalino y **AS**: Agua salada), los valores obtenidos de $\delta^{13}\text{C}$ tanto con tratamiento como sin tratamiento.

	Hábitat	$\delta^{13}\text{C}$ con tratamiento	$\delta^{13}\text{C}$ sin tratamiento
<i>Xibalbanus tulumensis</i>	AS	-32.75	-33.52
<i>Stygiomysis cokei</i>	AD	-32.27	-30.31
<i>Tulluweckelia cernua</i>	AD	-32.88	-31.80
<i>Creaseriella anops</i>	EU	-27.18	-23.26
<i>Typhlatya mitchelli</i>	AD	-33.82	-33.30
<i>Creaseria morleyi</i>	AD	-24.63	-25.52



Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

		Rangos		
		N	Rango promedio	Suma de rangos
CT - ST	Rangos negativos	3 ^a	4.00	12.00
	Rangos positivos	3 ^b	3.00	9.00
	Empates	0 ^c		
	Total	6		

a. CT < ST

b. CT > ST

c. CT = ST

Estadísticos de prueba^a

		CT - ST
Z		-.314 ^b
Sig. asintótica (bilateral)		.753

a. Prueba de rangos con signo de Wilcoxon

b. Se basa en rangos positivos.

Tabla 6. Resultados del Test de Wilcoxon aplicado a seis especies de crustáceos estigobios. SPSS 24.

Niveles tróficos en el sistema Vaca Ha

Se encontró que el sistema Vaca Ha presenta un total de tres niveles tróficos mostrando como consumidor superior a la especie de remipedio *Xibalbanus tulumensis*.

En el primer nivel trófico teóricamente encontramos a los productores primarios, estos fungen como alimento para las especies de peces y otros organismos que habitan las albercas de los cenotes. En el nivel trófico dos encontramos a los consumidores primarios con un total de tres especies, *Antromysis cenotensis*, *Creaseria morleyi* y *Typhlias pearsei* (Fig. 13).

El nivel trófico tres contiene a los consumidores secundarios. En este nivel trófico se encontraron cinco especies: *Creaseriella anops*, *Typhlatya mitchelli*, *Tuluweckelia cernua*, *Stygiomysis cokei* y *Xibalbanus tulumensis* (Fig. 13).

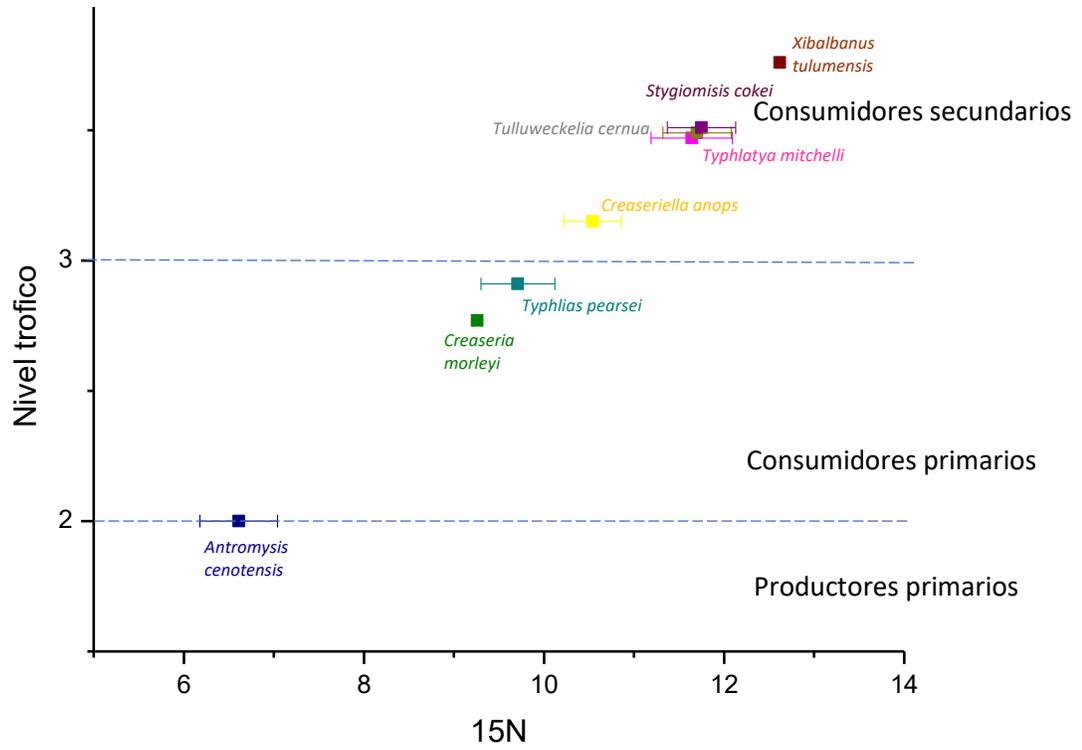
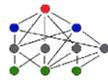
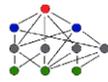


Figura 13. Niveles tróficos de los consumidores de la red trófica del sistema Vaca Ha, utilizando como base de la red al misidáceo *Antromysis cenotensis* y como factor de fraccionamiento trófico 3.4.



Discusión

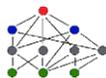
Parámetros físico-químicos en el cenote Vaca Ha

En el caso de la temperatura, la zona 1 es aquella que está expuesta a variaciones, ya que se encuentra en contacto directo con la alberca del cenote donde los cambios climáticos (radiación solar, precipitación y temporada del año) provocan cambios en la temperatura. Por otra parte, la zona 2 mantiene casi todos los parámetros constantes (a excepción del pH), esta zona es muy estable debido a su lejanía con el exterior permitiendo que las variaciones sean mínimas. Finalmente, en la zona 3 observamos un ligero aumento en la temperatura del agua, esta zona es completamente marina con una salinidad de 35 ppm.

En cuanto al pH se observó que existen pequeños cambios a lo largo de la columna de agua, teniendo en los primeros metros de la alberca del cenote valores básicos (8.2 a 8.6). La alcalinidad dentro de la zona 1 puede verse modificada debido a la entrada de agua meteórica (agua infiltrada a través del suelo) la cual está enriquecida con carbonatos y bicarbonatos, así como de agua de lluvia, la cual disminuye la concentración de estos iones por dilución (Navarro-Mendoza, 1988; Schmitter-Soto *et al.*, 2002). Al ingresar a la capa freática, el agua adquiere CO₂ del suelo y de la oxidación de la materia orgánica disuelta y particulada, disminuyendo la concentración de oxígeno y aumentando la acidez, la cual se puede neutralizar gracias a la solución de la roca caliza (Schmitter-Soto *et al.*, 2002).

La zona 2 presentó valores de pH menores (7.7-8.2), los cuales pudieran llegar a ser ácidos debido a que en esta zona (especialmente antes de llegar a la haloclina) se da la formación de H₂S en condiciones casi anóxicas (Schmitter-Soto *et al.*, 2002). Finalmente, la zona 3 donde tenemos la presencia de agua oceánica (la cual es ligeramente alcalina), el valor de su pH está entre 7.5 y 8.4, se sabe que estos valores pueden variar en función de la temperatura. Si la temperatura aumenta, el pH disminuye y tiende a la acidez; los valores de pH también pueden variar en función de la salinidad, de la presión o profundidad, así como de la actividad de organismos que habitan esta capa de agua (Cifuentes *et al.*, 2002).

En un cuerpo de agua hay producción y consumo de oxígeno. La producción de oxígeno disuelto (OD) está relacionada con la fotosíntesis, mientras que el consumo dependerá de la



respiración, descomposición de sustancias orgánicas y otras reacciones químicas (Arocena y Conde, 1999). También puede intercambiarse oxígeno con la atmósfera por difusión o mezcla turbulenta. La concentración total de oxígeno disuelto dependerá del balance entre todos estos fenómenos, además, la salinidad y la altitud (fundamentalmente por la presión) son factores que pueden afectar los niveles de OD (Muñoz *et al.*, 2015). La zona 1 presenta una concentración de oxígeno alta que podría deberse al oxígeno producido por algas presentes en la alberca del cenote y al intercambio de oxígeno con la atmósfera. La zona 2 presenta valores de oxígeno disuelto constantes debido a la ausencia de organismos fotosintetizadores que generen oxígeno, así como la desaparición de intercambio de oxígeno con la atmósfera. Finalmente, la zona 3 contiene agua marina que presenta una mayor temperatura, ambas características (salinidad y temperatura) son factores que generan que la cantidad de oxígeno disuelto disminuya (Bain y Stevenson, 1999).

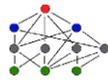
De manera general el sistema muestra una estratificación del acuífero marcada por el cambio en la salinidad del agua genera una haloclina aproximadamente a los 23.5 m de profundidad.

Carbono

Carbono orgánico disuelto en el agua del sistema

En general los compuestos de CO son resultado de la descomposición de la MO, incluyendo plantas y animales (Rosell, 1999; Martínez *et al.*, 2008). Es por ello que la cantidad de carbono orgánico disuelto, particulado y presente en las muestras de sedimentos colectados en el sistema Vaca Ha dependerá en gran parte de la cantidad de MO presente en el cuerpo de agua. La concentración de carbono orgánico que encontremos en el sistema subterráneo dependerá de la cantidad de MO que logre ingresar a estos sitios, la cual puede ser alóctona, es decir, proveniente de terrenos adyacentes del suelo de la selva (vía percolación o mediante el flujo subterráneo) o ser materia autóctona, producida *in-situ* en los cenotes y transportada a la zona de cuevas mediante el flujo subterráneo (Schmitter-Soto *et al.*, 2002).

En el caso del COD, este deriva de diversas fuentes, una de las más importantes es la liberación de carbono por parte de las algas durante la fotosíntesis, tanto microalgas como

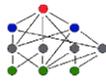


macrofitas que segregan parte del carbono asimilado como MO disuelta. Debido a la presencia de algas en la alberca del cenote, la cantidad de COD en este sitio es elevada (74.04 mg/L) representando el 90% del carbono total. Esta liberación de carbono se denomina exudación y es resultado de la excreción de metabolitos de desecho, liberación de productos finales o pérdidas difusivas inevitables a través de la membrana en un medio acuoso. El carbono orgánico disuelto (COD) es potencialmente valioso para los heterótrofos y es una parte muy importante de la producción primaria (González y Pozo, 1995).

Otra de las fuentes de COD es la degradación bacteriana, la MO (animal o vegetal) que ingresa en estos sistemas y no se incorpora de forma inmediata a la red trófica, sino que es degradada por parte de bacterias y hongos para eventualmente convertirse en COD y ser utilizado principalmente por bacterias (Schmitter-Soto *et al.*, 2002). En el caso de los sistemas anquihalinos se ha identificado una ruta mediante la cual el carbono orgánico ingresa al ecosistema subterráneo proveniente de la degradación de MO del suelo de la selva. La degradación se da en los primeros metros de saturación de la roca caliza y como resultado se obtiene: COD, carbono orgánico particulado (COP) y metano (Brankovits *et al.*, 2017). En el presente estudio encontramos que en la región más cercana al techo de la cueva (la más cercana a la zona de saturación de la roca) mostró la mayor cantidad de COD con 87.43 mg/L.

Composición de carbono y nitrógeno en sedimentos del sistema y suelo de la selva

Debido al proceso de formación de la península de Yucatán, la cual está conformada por sedimentos calcáreos de origen marino (Fernández *et al.*, 2012), hipotetizamos que los sedimentos tanto de la alberca del cenote como de la cueva, presentarían altos porcentajes de carbono inorgánico, ya que los sedimentos calcáreos contienen gran cantidad de carbonato de calcio. Por este motivo eliminamos esta fracción de carbono para evitar verlo reflejado en los valores tanto del análisis isotópico como del porcentaje total de carbono. El porcentaje de CO presente en el sedimento de la alberca del cenote es casi 10 veces más alto que el porcentaje encontrado en la cueva, esto podría deberse a que en la zona de alberca existe la presencia de algas, las cuales cubren la superficie de la roca caliza, así como detrito proveniente de la materia orgánica alóctona que ingresa y se deposita en el fondo de la alberca, es por ello que el sedimento de la alberca es rico en CO.



Por otro lado, la zona de cueva se encuentra en completa oscuridad (zona afótica) y en consecuencia carece de organismos fotosintéticos que aporten CO a los sedimentos es por ello que el porcentaje de carbono orgánico se ve disminuido. En la zona de cueva los sedimentos se componen en su mayoría por carbonato de calcio (carbono inorgánico), lo cual es posible confirmar por su color blanquecino muy similar al de las rocas calizas (Pohlman *et al.*, 1997).

En cuanto al porcentaje de nitrógeno, se encontraron bajos porcentajes tanto al interior de la cueva como en la zona de la alberca del cenote, de igual manera se observó que existe una disminución del porcentaje de nitrógeno conforme nos adentramos a la cueva. La cantidad de nitrógeno en ambas zonas fue tan baja que el análisis isotópico tuvo que realizarse por separado, ya que la relación C:N supera los estándares aceptados por el espectrómetro de masas.

Mientras que el porcentaje de CO se refiere a la cantidad de materia orgánica presente dentro del sedimento, los porcentajes de nitrógeno total y fósforo total son una forma de evaluar los nutrientes del sedimento, y pueden provenir tanto de fuentes orgánicas como inorgánicas. Los valores obtenidos de nitrógeno total tanto en la zona de alberca como en la cueva fueron muy bajos, lo cual nos indica que los sedimentos son pobres en nutrientes.

Para el caso del suelo de la selva, el porcentaje de CO presente varía dependiendo de factores como el tipo de suelo, el paisaje, clima y si éste ha sido sometido a cultivo. El CO del suelo representa menos del 5% en promedio de la masa de las capas superiores del suelo y va disminuyendo con respecto a la profundidad (FAO, 2017). Se ha observado que en las selvas tropicales el CO del suelo puede ser superior al 10%, mientras que en los suelos pobres o muy explotados el porcentaje puede ser inferior al 1% (FAO, 2017). En el caso de la muestra de suelo presente alrededor del cenote Vaca Ha presentó un 26.77%, lo cual podría catalogarse como un suelo rico.

La relación C:N en los suelos varía en función de la relación C:N de la materia orgánica vegetal que presente. Algunas especies de plantas como las leguminosas, mantienen una relación C:N entre 9-10, lo que es muy beneficioso para el suelo ya que contiene nutrientes suficientes para el crecimiento de la vegetación. Se ha determinado que suelos fértiles son aquellos que presentan una relación en torno a 10. En este caso los valores obtenidos del C:N



en las muestras del suelo de la selva en el cenote Vaca Ha fue de 14.53, lo cual lo clasificaría dentro de la categoría de suelos fértiles.

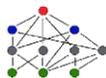
Carbono presente en los sedimentos, a través de un transecto al interior de la cueva

La cantidad de carbono orgánico e inorgánico cuantificado en las muestras de sedimento tomadas a lo largo del transecto en el interior de la cueva mostró un gradiente inversamente proporcional. El porcentaje de CO disminuye al aumentar la distancia de la entrada (cenote) hacia el interior de la cueva. Este gradiente está estrechamente relacionado con la entrada de MO a través del cenote, a medida que el transecto avanza en el pasaje de la cueva, la cantidad de material orgánico que logra transportarse desde el cenote es menor por lo tanto la concentración de CO en los sedimentos disminuye.

La cantidad de material orgánico presente en sistemas acuáticos no siempre está relacionada con su producción *in-situ*, sitios como los cenotes, considerados oligotróficos obtienen recursos de la parte exterior es decir material alóctono (Camargo, 2015). Los cenotes presentan baja cantidad de fósforo esto se debe a que los carbonatos capturan y precipitan este material generando una baja productividad primaria. Sin embargo, la estructura de los cenotes y el aporte de material alóctono logran soportar grandes comunidades de organismos en estos cuerpos de agua (Schmitter-Soto *et al.*, 2002).

Dentro de los recursos que alóctonos que caen en los cuerpos de agua podemos encontrar: insectos, frutos, hojas, flores y semillas (Prieto, 2000). Estos materiales aportan gran cantidad de carbono el cual es utilizado por las comunidades que los habitan. Al alejarnos de la alberca del cenote sitio por donde ingresan los recursos alóctonos la huella de los recursos que ingresaron se ve disminuida (es decir la concentración de carbono orgánico) y al aumentar la distancia de penetración en el sistema de cuevas cada vez será más evidente la disminución en la concentración de carbono orgánico ya que el transporte del material está limitada por factores como el flujo subterráneo.

En el caso del carbono inorgánico observamos que su porcentaje tiende a aumentar conforme nos adentramos en la cueva, esto se debe a que el sedimento de la cueva se conforma únicamente por roca caliza (formada por carbonato de calcio) la cual aporta carbono inorgánico.



Análisis de isótopos estables

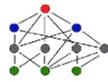
Fuentes de materia orgánica

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ obtenidos de las muestras de vegetación circundante al cenote Vaca Ha fueron de $\delta^{13}\text{C}$ -30 a -32‰, que coinciden con los valores reportados para tejidos de plantas que llevan a cabo fotosíntesis C3: $\delta^{13}\text{C}_{\text{plantasC3}} = -24$ a -34 ‰ (Smith *et al.*, 2002).

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de la vegetación, se encuentran en el intervalo de -0.45 a 0.58, con un promedio negativo. Los valores negativos nos indican que la cantidad de nitrógeno pesado (^{15}N) en estas muestras es menor a la presente en el estándar representado por el nitrógeno atmosférico (N_2). Por lo tanto, muestra un enriquecimiento con el isótopo ligero ^{14}N , lo cual sugiere que alrededor de la alberca de este sistema hay plantas fijadoras de nitrógeno. Considerando que el nitrógeno del suelo es generalmente más rico en ^{15}N que el nitrógeno atmosférico, se espera que plantas no-fijadoras de nitrógeno, las cuales tienen como fuente primaria de nitrógeno el suelo, contendrán más ^{15}N en comparación con aquellas plantas fijadoras, las cuales toman el nitrógeno de la atmósfera y del suelo (Valles y Cadisch, 2010).

Se encontraron algas adosadas a la roca calcárea alrededor de la alberca del cenote Vaca Ha estas se presentaron en cantidades muy pequeñas (al menos en la temporada en que se realizó la recolecta, febrero 2019). Los $\delta^{13}\text{C}$ para las algas van de -18.9 a -20.8 y de 5.3 a 6 para $\delta^{15}\text{N}$, entrando en el intervalo considerado para algas verdes ($\delta^{13}\text{C}$ -20.3‰ a -8.8‰; Maberly *et al.*, 1992). Con dichos resultados confirmamos que las muestras recolectadas pertenecen a este grupo de algas verde, sin embargo, los deltas de carbono de las algas no concuerdan con ninguno de los $\delta^{13}\text{C}$ de la fauna estigobia por ello se decidió no agregar algas como una de las potenciales fuentes de materia orgánica disponibles para la fauna estigobia.

Los deltas de carbono obtenidos de la vegetación de la selva presentaron valores negativos (-31.81 ‰). Los organismos fotosintéticos presentan valores negativos en los deltas de carbono debido a que carecen del isótopo pesado en sus tejidos, lo cual puede deberse a dos mecanismos: uno físico y otro bioquímico. En el caso del físico se refiere a que la difusión



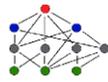
de ^{13}C es más lenta en los tejidos de las plantas debido a un mayor peso atómico, mientras que el mecanismo bioquímico se debe a la preferencia de ^{12}C por dos enzimas: RuBisCO y fosfoenolpiruvato carboxilasa (Guerrero y Berlanga, 2000).

Para los deltas de carbono obtenidos en las muestras de suelo de la selva (-27.81‰), esperábamos encontrar valores muy similares al delta de la vegetación de la selva (-31.81‰), ya que ésta es su principal fuente. Sin embargo, notamos una diferencia de 2.89‰, lo cual es posible atribuir al proceso de degradación del suelo, el cual provoca un enriquecimiento tanto de carbono como de nitrógeno pesado. Es por ello que los valores del suelo se ven aumentados en comparación con los de la vegetación de la selva (Boutton, 1991; Nadelhoffer y Fry, 1994; Pohlman *et al.*, 1997).

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de los sedimentos de la alberca del cenote (-25.83‰) salen del intervalo esperado para la presencia de carbonatos de origen marino ($\delta^{13}\text{C} = 0\text{‰}$ VPDB estándar obtenido a partir de una caliza marina), lo mismo sucede con los valores de $\delta^{13}\text{C}$ del sedimento de la cueva (-11). Ambos sedimentos se esperaba que mostraran valores de $\delta^{13}\text{C}$ alrededor de $0 \pm 3\text{‰}$ debido al origen kárstico de la península la cual se compone en su mayoría de roca caliza de origen marino y debido a que el estándar contra el que se analizan las muestras es VPDB, una caliza marina (Clark y Fritz, 1997). Los valores obtenidos serían cercanos a cero ya que su composición sería muy parecida. Esta diferencia en el $\delta^{13}\text{C}$ podría deberse a la presencia de material orgánico presente en los sedimentos, el cual está aportando ^{13}C a dichas muestras.

Los valores $\delta^{13}\text{C}$ del sedimento recolectado en la alberca del cenote (-25.83‰) son similares a los obtenidos del suelo de la selva (-27.81), con lo cual podemos confirmar que la materia orgánica presente en el suelo de la selva ingresa a la alberca del cenote. Sin embargo, los sedimentos recolectados en la zona de alberca del cenote presentaron un enriquecimiento con el isótopo pesado de carbono, lo cual se podría atribuir al proceso de degradación de la materia orgánica presente (Pohlman, 1997).

El $\delta^{13}\text{C}$ del carbono disuelto en aguas subterráneas se presenta con valores muy variables que pueden estar muy enriquecidos (+13/15‰) o muy empobrecidos (-25‰). Esto se debe a que el carbono disuelto en las aguas subterráneas procede habitualmente de la disolución de minerales, del humus del suelo, de la descomposición de la materia vegetal o



también del CO₂ atmosférico (Vazquez-Suñé *et al.*, 2009). La obtención de $\delta^{13}\text{C}$ del carbono disuelto es un procedimiento complicado desde la toma y mantenimiento de las muestras hasta su envío a laboratorios fuera del país, es por ello que no nos fue posible obtener estos resultados, obtener dichos valores nos permitiría conocer sobre las fuentes de carbono en la columna de agua e identificar para darle seguimiento a la ruta de entrada del carbono y así poner mayor atención en el cuidado y conservación de estos sitios.

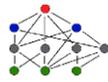
Contribución de las fuentes alimenticias a la dieta de los consumidores mediante el uso de isótopos estables

Xibalbanus tulumensis

Xibalbanus tulumensis ha sido considerado uno de los depredadores tope de los ecosistemas anquihalinos. Se tienen registros de algunas especies de remipedios del género *Speleonectes* que se alimentan del camarón *T. garciai* en localidades de las Indias Occidentales, las presas son sujetadas con sus apéndices, flexionadas y presionadas fuertemente contra la boca (Ilfiffe, 1992). Debido a estas observaciones *T. mitchelli* fue incluida como una de las posibles fuentes de alimentación, *X. tulumensis* posee maxilípedos robustos y prensiles, lo cual podría implicar que presenta un modo carnívoro de alimentación apoyando las observaciones hechas por Ilfiffe, (1992). Obtuvimos que *T. mitchelli* aporta el mayor porcentaje de contribución de la dieta del remipedio, con un 75%.

Antromysis cenotensis

Antromysis cenotensis mostró que, en conjunto, tres de las fuentes propuestas (vegetación 18%, MOP 30% y suelo de la selva 25%) aportan un buen porcentaje a su dieta. Esta especie es considerada detritívora y se ha observado que obtiene su alimento del material particulado el cual tuvo un aporte promedio del 28%. El suelo de la selva es la fuente a partir de la cual se genera el MOP de la cueva, por lo cual también mostró tener un aporte a la dieta de este organismo. *Antromysis cenotensis* ha sido colectado desde las albercas del cenote y a partir de los primeros metros de la cueva (Benítez com. pers.) por lo cual podría ser que el material que ingresa por medio de la alberca del cenote sea parte de su alimentación.



Basándonos en los porcentajes de aportación a la dieta la importancia de este organismo recaería en su capacidad para trasladar energía a los niveles tróficos superiores, ya que a partir del consumo de la producción primaria (vegetación 18%, MOP 30% y suelo de la selva 25%) es capaz de transferir energía a consumidores secundarios y ser un eslabón intermedio entre la producción primaria que ingresa a estos sistemas y los organismos que se alimentan de este misidáceo.

Stygiomysis cokei

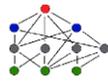
Esta especie es considerada completamente carnívora, es por ello que al realizar el análisis se incluyó como una posible fuente de alimentación al camarón *T.mitchelli*, la cual podría ser una de sus presas potenciales. *Typhlatya mitchelli* presentó un promedio de 57% a la contribución a la dieta de *S.cokei*. Aunque la mayoría de los misidáceos son filtradores, existen especies que utilizan sus apéndices en forma de garra como pinzas para capturar pequeños animales cuando están disponibles (Mauchline, 1980).

Tuluweckelia cernua

El 60% de la dieta de *T. cernua* fue aportada por *Typhlatya mitchelli*. Observaciones realizadas por buzos encargados de coleccionar el material utilizado en el presente estudio confirman que es común observar este anfípodo alimentándose de exuvias sobre todo de camarones del género *Typhlatya*, dicho comportamiento ha sido documentado en video. Además, durante su colecta se han atrapado organismos que mantienen las exuvias tomadas con sus apéndices. Por otro lado, la MOP de la selva fue la fuente con menor aporte a la dieta del anfípodo, el cual es considerado un organismo carnívoro. En general los anfípodos habitantes de cuevas tienen hábitos omnívoros o carnívoros, aunque en la mayoría de los casos suelen ser considerados completamente carnívoros (Aguilar, 2016).

Creaseriella anops

Para el isópodo cirolánido *Creaseriella anops* la fuente con mayor proporción de contribución a la dieta fueron *A. cenotensis* y *T. mitchelli*. Debido a sus características es considerada omnívora y carroñera (Álvarez e Iliffe, 2008). Además de ser una especie comúnmente encontrada sobre el sustrato, se sabe que basa su alimentación en el consumo de



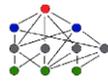
material depositado en el fondo de las cuevas (Botosaneanu, 2001; Ruiz-Cancino, 2010) y por lo tanto, es muy probable que este isópodo aproveche los cadáveres o exuvias de organismos, los cuales complementarían con partículas orgánicas del suelo.

Por otro lado, la fuente con menor contribución a la dieta del isópodo es la vegetación de la selva, aunque es posible que esta ingrese a los sistemas de cuevas por medio de los cenotes no se presenta en grandes concentraciones al interior de la cueva ya que su transporte es mínimo y dependerá de si existe el flujo que permita que el material llegue a la zona de cueva.

Typhlatya mitchelli

Al ingresar esta especie de camarón como consumidor y también como probable fuente de alimento el programa arrojó que la contribución a su dieta es ella misma, esto se debe a que al analizar los valores de $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ el programa busca una relación de enriquecimiento entre 0.5 a 1‰ entre la dieta y el consumidor. En este caso ninguna de las otras fuentes propuestas en el análisis lograría aportar dicho enriquecimiento. Camarones del género *Typhlatya* se han relacionado con el consumo de bacterias nitrificantes y oxidantes de metano, debido a la presencia de estructuras especializadas en el primer y segundo par de pereiópodos las cuales le permiten ramonear partículas muy pequeñas. Sin embargo, hasta el momento no se ha logrado obtener el $\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$ del metano disuelto o de bacterias nitrificantes presentes en el agua, debido a la dificultad que representa la toma de muestras y su análisis en laboratorio.

Revisiones del contenido estomacal de camarones del género *Typhlatya* (Cruz, 2008) confirman que el contenido de la bolsa gástrica de estos organismos está basado predominantemente en bacterias, diatomeas y materia orgánica particulada. Mientras que solo en una ocasión se observó la presencia de fragmentos de metazoarios en el contenido estomacal. La presencia de estas bacterias en el contenido estomacal apoya las observaciones hechas por Brankovitz *et al.* (2017) quienes, mediante el análisis de isótopos estables, demostraron que esta especie recibe un porcentaje de su alimentación gracias a bacterias metanotrofas y que es así como el carbono ligero proveniente del metano llega y forma parte de su dieta y posteriormente mediante la transferencia trófica podría ser parte de otros organismos de la comunidad anquihalina. En la figura 14 se muestran los valores de $\delta^{13}\text{C}$ para



el género *Typhlatya* obtenidas en otras localidades de colecta, así como los valores obtenidos en el presente estudio.

Los valores de $\delta^{13}\text{C}$ que han sido analizados en organismos de diferentes localidades mostraron diferencias, mientras que en algunos sitios los ejemplares presentaron valores muy empobrecidos en ^{13}C . Por otra parte, existen ejemplares que no muestran enriquecimiento del isótopo ligero y sus valores de $\delta^{13}\text{C}$ mostraron mayor similitud con otras fuentes de alimentación. Es por ello que consideramos que las condiciones específicas de los sitios de colecta influyen de manera importante en los valores isotópicos que reflejan los organismos.

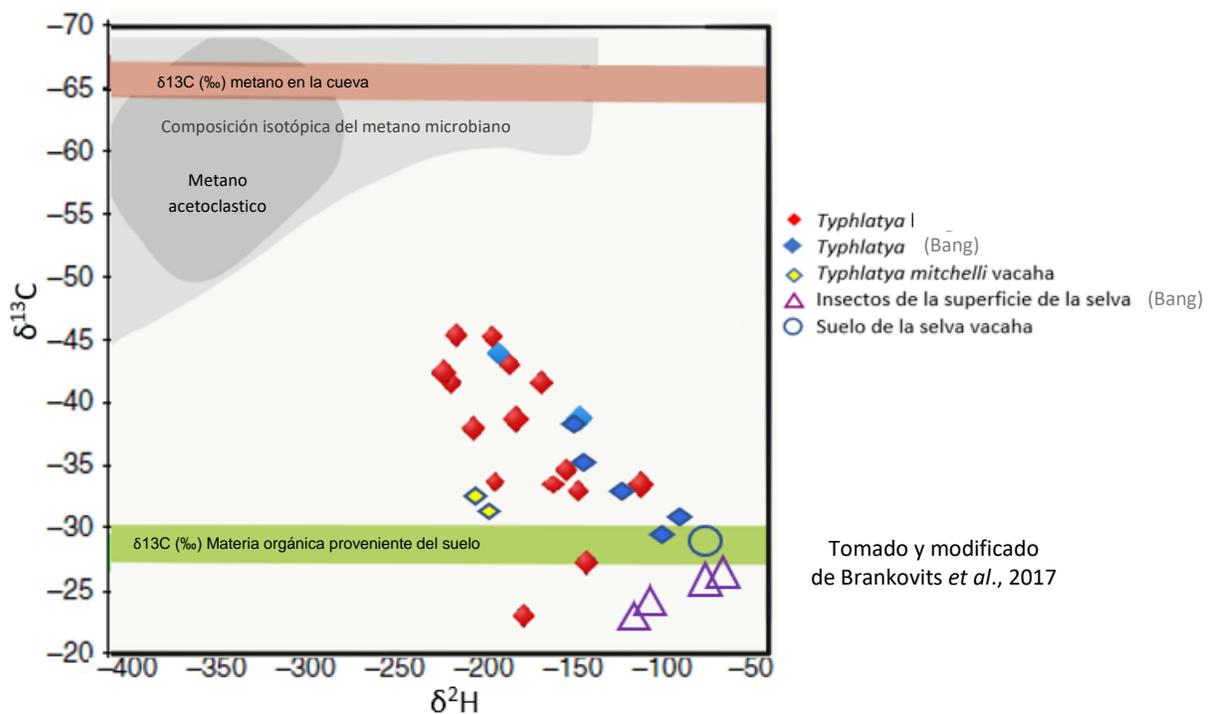


Figura 14. Valores $\delta^{13}\text{C}$ obtenidos en ejemplares de *Typhlatya* recolectados en diferentes localidades en la península de Yucatán.

Creaseria morleyi

Uno de los organismos que llegan a mostrar las mayores tallas en los sistemas anquihalinos es *C. morleyi*, que es considerada uno de los mayores depredadores del ecosistema y se le ha observado consumiendo camarones del género *Typhlatya*, así como materia orgánica presente en el sedimento (Chávez-Solís, 2015). La materia orgánica particulada (15%), el suelo de la selva (20%) y *A. cenotensis* (22%) presentaron valores de



aportación a la dieta con los que podemos concluir que esta especie utiliza una mezcla de todas ellas para complementar su dieta a la par del consumo del camarón.

Typhlias pearsei

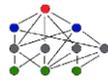
Este pez es considerado un activo depredador dentro de las cuevas anquihalinas de la península y se le ha observado *in-situ* consumiendo algunas especies de crustáceos sobre todo al camarón *T. mitchelli* (Benítez com. pers.). Los resultados del análisis de contribución a la dieta arrojaron que tanto *T. mitchelli* como *A. cenotensis* presentaron la mayor contribución a la dieta de esta especie. *Typhlias pearsei* cuenta con un armamento de cavidades y papilas sensoriales que le permiten detectar a sus presas que consisten en cualquier organismo que se encuentre en su entorno y que presente una talla menor (Navarro-Mendoza, 1988).

Niveles tróficos en el sistema Vaca Ha

Se decidió tomar como base de la red trófica al misidáceo *A. cenotensis*, ya que fue el organismo más abundante durante la colecta realizada para el presente estudio, su abundancia no solo se limita a esta localidad también cuenta con reportes de otros sitios de recolecta donde la mencionan como la especie más abundante (Álvarez e Iliffe, 2008). Es por ello que *A. cenotensis* se coloca en la posición trófica número dos como un consumidor primario, tomando en cuenta que el nivel trófico uno estaría ocupado por los productores primarios.

En la posición trófica número dos se encuentran los consumidores primarios que son aquellos que se alimentan principalmente de los productores primarios. Se encontraron un total de tres especies, las cuales de acuerdo a la literatura podemos confirmar basan su alimentación principalmente en el consumo de materia orgánica y detrito. Estas especies fueron: el misidáceo *A. cenotensis*, el palemónido *C. morleyi* y la dama blanca yucateca *T. pearsei*.

Creaseria morleyi es uno de los organismos que pueden alcanzar las mayores tallas en este ecosistema, por ello se le considera uno de los depredadores tope. En este caso los valores de $\delta^{15}\text{N}$ resultaron bajos y al aplicar la fórmula correspondiente, el resultado arrojó una posición trófica más baja que la esperada para esta especie. Sin embargo, debido a la talla del organismo

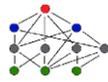


utilizado para el análisis (4 cm de largo) puede que el organismo se encontrara en una etapa juvenil y por ello su alimentación se basó en otro tipo de fuente ya que debido a su talla sería difícil ser un depredador activo. Además de tener registros de esta especie como depredadora de camarones del género *Typhlatya* (Chávez, 2015) también se le ha considerado carroñera ocasional y se ha observado que se alimenta de materia orgánica presente en el sedimento, así como de excretas de aves y guano.

La posición trófica tres se caracterizó por contener a consumidores secundarios, es decir, aquellos que se alimentan de un consumidor primario. En este caso las especies son depredadores o carroñeros que cuentan con estrategias que les permiten alimentarse de otras especies. En este nivel se encontraron un total de cinco especies: *C. anops*, *T. mitchelli*, *T. cernua*, *S. cokei* y *X. tulumensis*. *Creaseriella anops* es un isópodo perteneciente a la familia cirolanidae, considerados omnívoros, detritívoros y carroñeros. Se ha observado que en específico esta especie obtiene su alimento del material depositado en el sedimento de la cueva, así como de restos de organismos muertos. En el caso de *T. cernua*, a este anfípodo se le considera omnívoro y carnívoro puesto que se le ha reportado alimentándose de carroña, pero sobre todo se tienen múltiples registros visuales en los cuales esta especie utiliza como alimento las exuvias de otros crustáceos principalmente de *T. mitchelli* (Aguilar, 2016).

Typhlatya mitchelli es uno de los organismos más importantes de este ecosistema ya que se considera que es un eslabón importante en la transferencia de carbono a través de la trama trófica. Los valores obtenidos de $\delta^{13}\text{C}$ son muy interesantes, ya que salen del intervalo esperado tomando en cuenta las fuentes propuestas. Dichos valores provienen de una fuente agotada en carbono pesado y con abundante carbono en su estado ligero ^{12}C . Además de que esta especie aporta un alto porcentaje de contribución a la dieta de organismos carnívoros como *Stygiomysis cokei* y *Xibalbanus tulumensis*.

Finalmente, en el punto más alto de red trófica encontramos a *S. cokei* y al remipedio *X. tulumensis*. *Stygiomysis cokei* presenta apéndices prensiles que le permiten capturar pequeños organismos cuando están disponibles, mientras que *Xibalbanus tulumensis* cuenta con glándulas de veneno ubicadas en los maxilípedos, que producen un conjunto de enzimas que al



ser inyectadas en las presas le permite inmovilizarla y posteriormente consumirla (Von-Reumont *et al.*, 2014).

Tomando en cuenta los resultados de análisis de isotopos estables y los resultados del nivel trófico se observó que los organismos que conforman el segundo nivel trófico en este sistema obtienen el carbono necesario para su alimentación a través de una mezcla de fuentes de CO, la cual aprovechan al máximo explotando no solo una fuente en específico si no aprovechando varios tipos de recursos, lo que a su vez beneficiará a los organismos que se encuentran en el tercer nivel de la trama trófica.

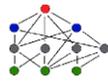
Eliminación de carbono inorgánico en las muestras de crustáceos estigobios

En el caso de las especies que presentan un exoesqueleto que contiene carbonato de calcio en su conformación, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ pueden verse modificados ya que el carbonato de calcio aporta carbono inorgánico e interfiere con los resultados del análisis isotópico.

Los resultados de la prueba de Wilcoxon mostraron que no existen diferencias entre las medianas de las muestras de los organismos que fueron sometidos al tratamiento de fumigación y aquellas que no lo hicieron. Por lo tanto, podemos inferir que la fumigación con HCl no altera significativamente los valores de $\delta^{13}\text{C}$ en estas especies. Podríamos pensar que la causa de que los organismos anquihalinos no contengan grandes cantidades de carbonato de calcio en su exoesqueleto es la talla pequeña, poca rigidez y sobre todo es un gasto metabólico alto para la formación de un exoesqueleto rígido en un ambiente pobre en nutrientes.

Fuentes de carbono en sistemas anquihalinos

Los valores obtenidos $\delta^{13}\text{C}$ en las especies de crustáceos en el sistema Vaca Ha mostraron valores que van de -23 a -33.80‰. Comparado con otros cenotes de la península de Yucatán, como Mayan Blue (-21 a -42.5), Carwash (-26.5 a -44) y Najaronc (-26 a -44.5), éstos presentan valores aún más empobrecidos. Como ha sido sugerido, el empobrecimiento puede ser atribuido a la quimiosíntesis, la cual es un proceso ya documentado en varios sistemas anquihalinos.



En el caso del sistema Vaca Ha la MOP y el sedimento presentaron valores que van de -23 a -27‰, si asumimos que el enriquecimiento positivo que existe entre la fuente de alimento y su consumidor es de entre 0.5 y 1‰, los valores de $\delta^{13}\text{C}$ de las especies de crustáceos que muestran valores $\delta^{13}\text{C}$ menores a -29‰ están utilizando alguna fuente de alimentación con valores isotópicos mucho más empobrecidos en ^{13}C que los obtenidos en la MOP y el sedimento (Fig. 15).

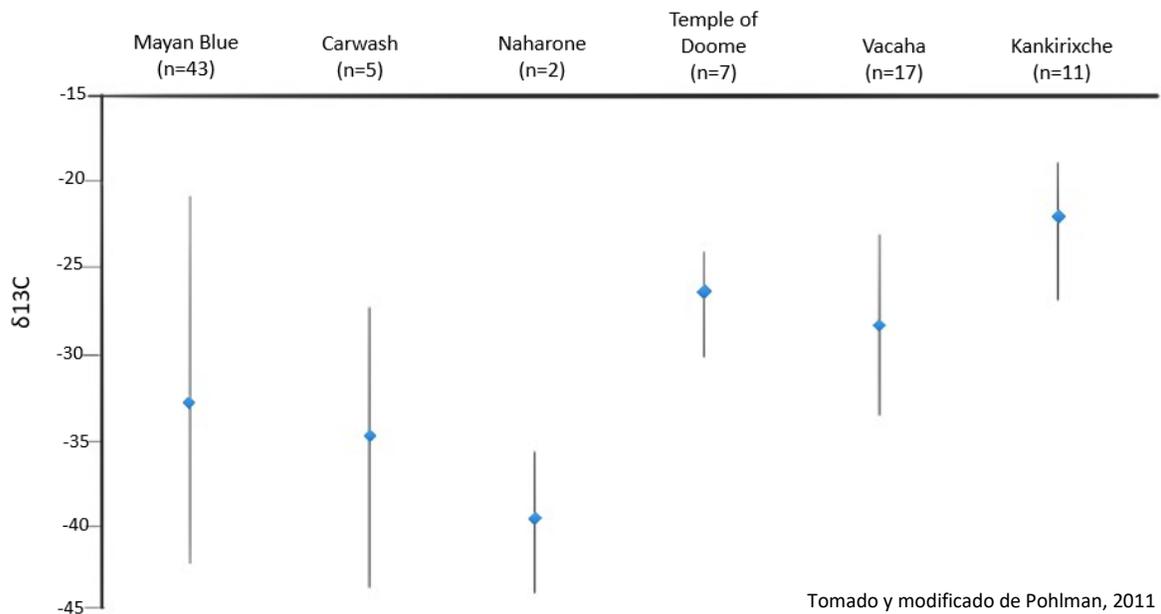
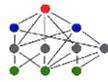


Figura 15. Valores $\delta^{13}\text{C}$ obtenidos en especies de crustáceos estigobios obtenidos en seis cuevas, los rombos muestran el valor promedio y los extremos los valores máximos y mínimos, así como el número de muestras provenientes de cada cueva.

Dos procesos bien documentados en sistemas anquihalinos son la obtención de carbono a partir del consumo de bacterias nitrificantes y a través del consumo de bacterias metanotrofas (Brankovits *et al*, 2017; Pohlman, 1997, 2011). Utilizando el valor de fraccionamiento trófico para bacterias nitrificantes se obtiene que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ para estas irían de -31 a -44, siendo su fuente de carbono el carbono inorgánico disuelto (CID), el cual presenta valores entre -4 y -14‰. Los valores propuestos para las bacterias nitrificantes muestran un empobrecimiento en C^{13} y encajan perfectamente con los $\delta^{13}\text{C}$ analizados en las especies de crustáceos estigobios del sistema Vaca Ha, por lo cual se podría pensar que dichas bacterias son utilizadas como alimento por la comunidad de crustáceos en este sistema.

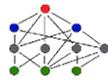
Otra de las fuentes de carbono propuesta para estos sitios es el metano, el cual se ha registrado con valores que van de -60 a -80‰ (Jones y Grey, 2011). El metano es utilizado por



las bacterias oxidantes del metano (BOM) las cuales al igual que las bacterias nitrificantes son consumidas directamente por organismos de la comunidad anquihalina ingresando así a la red trófica del sistema. Valores muy empobrecidos obtenidos del AIE de la fauna anquihalina podrían estar señalando que ciertos organismos utilizan como fuente de alimentación a las BOM dejando así la señal isotópica del metano presente dentro de la red trófica de la comunidad.

Brankovits *et al.* (2017) corroboraron mediante la toma de muestras de agua y su posterior análisis molecular la presencia de bacterias metanógenas y bacterias oxidantes de metano, así como la obtención del $\delta^{13}\text{C}$ del metano y su concentración en una zona cercana al techo de la cueva. El COD, incluyendo el metano que se forma a partir de la descomposición de la vegetación terrestre, dentro de la roca caliza saturada debajo de la selva, proporciona carbono y energía para la comunidad microbiana que a su vez apoya la red trófica subterránea.

Una pregunta muy importante sería, ¿si el proceso de quimiosíntesis basado en metano es un proceso aislado, es decir, si solo ocurre en sitios muy específicos con características especiales o es un proceso que ocurre a gran escala en estos ambientes? El sitio de estudio Bang utilizado por Brankovits *et al.* (2017) mostró dos condiciones especiales, las cuales podrían ayudar a que ocurra este proceso quimiosintético y aporte de carbono a la red trófica. La primera de estas condiciones está relacionada con la ubicación del sistema. El terreno sobre el cual se encuentra el sistema es un sitio completamente rodeado por vegetación, alejado de construcciones y asentamientos humanos, en el cual podemos observar una gran capa de vegetación en descomposición sobre el suelo de la selva. La segunda característica es la conformación de la cueva inundada. La distancia que existe entre el suelo de la selva que reposa sobre el techo de la cueva es aproximadamente de tres metros, a diferencia del sistema Vaca Ha, visitado en el presente estudio, donde la distancia entre el suelo de la selva y el techo de la cueva es de seis metros aproximadamente (en la zona más somera de la cueva y va aumentando gradualmente). En el caso de Bang el proceso de descomposición de la materia orgánica del suelo que se está llevando a cabo dentro de la roca caliza saturada está en estrecho contacto con la parte más somera del acuífero a través de fisuras y poros de la roca de carbonatada (Fig. 16).



Para el sistema Vaca Ha la parte más somera del suelo de la cueva está a 11 m de profundidad y el techo se encuentra aproximadamente a 6 m de profundidad, esta diferencia en cuanto a la cercanía con el suelo de la selva podría estar afectando los procesos de obtención de carbono a través de fuentes quimiosintéticas.

Aunque en ambos sitios se podría estar generando metano a partir de la degradación de la materia orgánica en zonas no muy profundas del suelo de la selva donde la matriz de roca carbonatada presenta anoxia y se encuentra saturada, la capacidad del metano de percolarse a través de las fracturas y poros de la roca caliza en un sitio como Vaca Ha donde la distancia entre el suelo de la selva y el techo de la cueva duplica la que se presenta en el cenote Bang por podría generar que esta forma de reducida de carbono orgánico no esté disponible para ser consumido por parte de bacterias oxidantes del metano (MOB) y las bacterias heterótrofas (HEB) y posteriormente ser transferido a otros componentes de la red trófica.

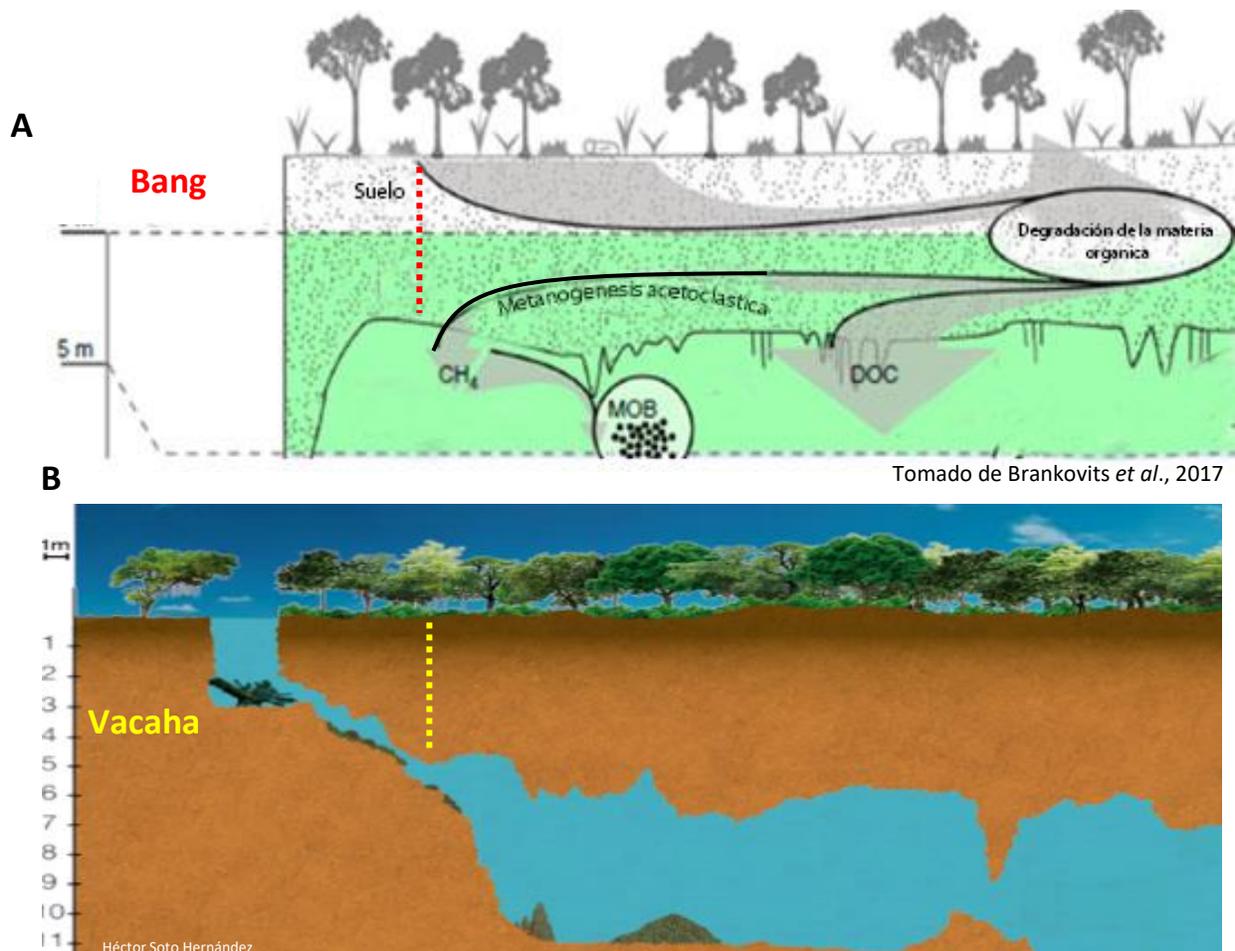
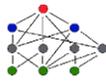
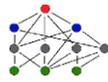


Figura 16. Representación gráfica de dos sitios de colecta ubicados en Quintana Roo. A) Distancia existente entre el suelo de la selva y la zona más somera del sistema de cueva Bang (3 metros aprox.); B) Distancia aproximada de 11 metros entre el suelo de la selva y la parte más somera de la cueva en el sistema vacaha.



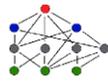
CONCLUSIONES

- Existe un gradiente de carbono orgánico que inicia en la alberca del cenote y recorre parte del sistema de cueva. El porcentaje de carbono orgánico presente en los sedimentos disminuye conforme nos adentramos a la cueva.
- De manera inversa el porcentaje de carbono inorgánico va en aumento conforme nos adentramos a la cueva.
- *Typhlatya mitchelli* fue la especie anquihalina que mostró los valores más empobrecidos en $\delta^{13}\text{C}$, que podrían estar señalando que esta especie obtiene carbono de alguna fuente empobrecida en ^{13}C .
- *Typhlatya mitchelli* y *Antromysis cenotensis* son las dos especies que contribuyen en mayor proporción a la dieta de los organismos anquihalinos.
- *Antromysis cenotensis* es una de las especies clave de la red trófica de este ecosistema, su alimentación se basa en una mezcla de: vegetación, suelo de la selva y materia orgánica particulada. Al ser consumido por otros organismos esta especie es la encargada de transferir la energía a los consumidores secundarios.
- La vegetación de la selva fue la fuente con menor aportación a la dieta de los organismos anquihalinos analizados en el presente estudio.
- La eliminación de carbono inorgánico en las muestras de crustáceos anquihalinos mediante la técnica de fumigación con ácido clorhídrico no presentó efectos sobre los valores $\delta^{13}\text{C}$.
- Se caracterizaron tres niveles tróficos en el sistema Vaca Ha, el trófico más alto contiene un total de cinco especies, mientras que el nivel trófico número dos un se integra por tres especies.
- Se encontraron diferencias importantes con respecto a estudios anteriores donde la quimiosíntesis juega un papel muy importante en la cadena trófica, en el presente estudio los valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ no resultaron los esperados cuando el metano forma parte de la red trófica.

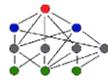


Literatura Consultada

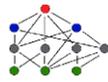
- Aguilar, J.F. 2016. Modelación de la red trófica del sistema Ox Bel Ha, Península de Yucatán México: Un enfoque topológico. Tesis de Licenciatura. México: Facultad de Ciencias, UNAM. 56 pág.
- Alcocer, J., A. Lugo, M. Sánchez y E. Escobar. 1999. Contaminación del agua subterránea en la Península de Yucatán, México: Proyecto de Conservación y Mejoramiento del Ambiente (pp. 42-50). México, DF: Unidad de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias de la Salud y la Educación (UIICSE).
- Álvarez, F. y T.M. Iliffe. 2008. Fauna Anquihalina de Yucatán. Crustáceos de México: Estado actual de su conocimiento. Dirección de Publicaciones, UANL, p.p 379-414.
- Álvarez, F., T. M. Iliffe, S. Benítez, D. Brankovits y J. L Villalobos. 2015. New records of anchialine fauna from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Check List Journal of species list and distribution*, **11**(1): 1505.
- Arocena, R. y D. Conde (ed.). 1999. Métodos en Ecología de Aguas Continentales, con ejemplos de Limnología en Uruguay. DIRAC/FC/UEDELAR, Montevideo, p.p 34-35 pp.
- Bain, M.B. y N.J. Stevenson (ed.). 1999. Aquatic habitat assessment: common methods. American Fisheries Society, Bethesda, Maryland.
- Beddows, P., P. Blanchon, E. Escobar y O. Torres-Talamante. 2007. Los cenotes de la Península de Yucatán. *Arqueología Mexicana*, **14**(83): 32- 35.
- Bishop, R.E., W. F Humphreys, N. Cukov, V.Zic, G.A Boxshall, M. Cukov, T.M Iliffe, F.Krsinié, W.S Moore, J.W Pohlman y B. Sket. 2015. Anchialine redefined as a subterranean estuary in a crevicular or cavernous geological setting. *Journal of crustacean biology*, **35**(4), 511-514.
- Botosaneanu, L. 2001. Morphological rudimentation and novelties in stygobitic Cirolanidae (Isopoda, Cymothoidae). *Vie et Milieu*, **51**: 37:54.
- Boutton, T.W. 1991. Stable carbon isotope ratios of natural material: II Atmospheric terrestrial, marine, and fresh water environmental. En Coleman DC, Fry B. (eds) Carbon isotope techniques. Academic press, New York, p 173:185.
- Brankovits, D., J. W. Pohlman, H. Niemann, M. B. Leigh, M. C. Leewis, K. W. Becker, T. M. Iliffe, F. Alvarez, M. F. Lehmann, y B. Phillips. 2017. Methane-and dissolved organic carbon-fueled microbial loop supports a tropical subterranean estuary ecosystem. *Nature Communications*, **8**(1), 1835. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01776-x>.
- Burns, R.A. 2003. Fundamentos de química. Pearson educación. p.p 784.



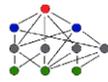
- Camargo, T. 2015. Diferencias en la estructura de la comunidad de peces en cenotes con distintas características morfológicas en la RBSK (Quintana Roo). Tesis de doctorado. México: Instituto de Biología, UNAM, 133 pp.
- Chávez-Solís, E.M. 2015. Aspectos ecológicos y etológicos de decápodos estigobios (*Creaseria moleyi* y *Typhlatya* spp.) en cenotes de Yucatán: Utilización espacio-temporal, cambios anuales y relaciones intraespecíficas. Tesis de maestría. México: Facultad de Ciencias, UNAM, 76 pp.
- Cifuentes, J.L., M.D.P. Torres y M. Frías. 2002. El océano y sus recursos, II. Las ciencias del mar: Oceanografía geológica y oceanografía química. Fondo de cultura económica, México.
- Clark, I.D. y P. Fritz. 1997. Environmental isotopes in hydrogeology, CRC Press/Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 328 pp.
- Córdova, F. 2011. Caracterización de la estructura trófica del lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. Tesis de licenciatura. México: Facultad de ciencias, UNAM, 53 pp.
- DeNiro, M.J. y S. Epstein. 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **42**: 495–506.
- Durán R. y M. Mendez (Eds.). 2010. Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán. CICY, PPD-FMAM, CONABIO, SEDUMA. 496 pp.
- FAO. 2017. Soil Organic Carbon: the hidden potential. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome, Italy.
- Fernández Carnevali, G. C., J. L. Tapia Muñoz, R. Duno de Stefano, I. M. Ramírez Morillo, L. Can Itzá, S. Hernández Aguilar y A. Castillo. 2012. La flora de la Península de Yucatán Mexicana: 250 años de conocimiento florístico. CONABIO. *Biodiversitas*, 101:6-10.
- Fry, B. 2006. *Stable isotope ecology*. Springer. New York. 308 pp.
- González, E. y J. Pozo. 1995. El carbono orgánico disuelto en el Río Agüera (Norte de España) en condiciones de estabilidad hidrológica. *Limnética*, **11**: 57–62.
- Guerrero, R. y Berlanga, B. 2000. Isótopos estables: Fundamentos y aplicaciones. Sociedad Española de Microbiología. **29**:17-30.
- Harris, D., W.R Horwáth y C.V Kessel. 2001. Acid fumigation of soils to remove carbonates prior to total organic carbón or carbon-13 isotopic analysis. *Soil Science Society of America Journal*. **65**(6): 1853-1856.
- Illiffe, T.M. 1992. An annotated list of the troglobitic, anchialine and freshwater cave fauna of Quintana Roo; pp. 197–215, en: D. Navarro and E. Suárez-Morales (eds.). *Diversidad Biológica en la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México*, Vol. II. CIQRO, Chetumal, México.
- Jones, I.R y J. Grey. 2011. Biogenic methane in freshwater food webs. *Freshwater Biology*, **56**: 213–229.



- Kotz, J. C y P. M Treichel. 2003. Química y reactividad química, 5° edición, Thomson Paraninfo. Cap. 13.
- Laboratorio de análisis de isótopos estables de la unidad académica de ciencias y tecnología de la UNAM en Yucatán: <http://laie.pcyt.unam.mx/>
- Layman, G. A., D. A Arrington, C. G Montaña y D. M. Post. 2007. Can stable isotope ratios provide for community-wide measures of trophic structure. *Ecology*, **88**(1): 42–48.
- Maberly, S. C., J.A. Raven y A. M. Johnston. 1992. Discrimination between ^{12}C and ^{13}C by marine plants. *Oecologia*, **91**: 481-492.
- Martínez, E., J.P, Fuentes E, y E. Acevedo. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, **8**(1): 68-96.
- Martínez, C., N. Wolf, S.A Carleton y L.Z Gannes. 2009. Isotopic ecology ten years after a call for more laboratory experiments. *Biological Reviews*, **84**: 91–111.
- Martínez, A., B. C Gonzalez, K. Worsaae, H. Wilkens, J. Núñez, P. Oromí y T.M Iliffe. 2016. Guide to the anchialine ecosystems of Jameos del Agua and Túnel de la Atlántida. Medio Ambiente, Cabildo de Lanzarote, Arrecife, Lanzarote.
- Mauchline, J. 1980. The Biology of Mysids and Euphausiids. Part I. The Biology of Mysids. London: Academic Press.
- Mejía-Ortiz, L., M. López-Mejía, J. Pakes, R.G. Hartnoll y E. Zarza-González. 2013. Morphological adaptations to anchialine environments in species of five shrimp species (*Barbouria yanezi*, *Agostocaris bozanici*, *Procaris mexicana*, *Calliasmata nohochi* and *Typhlatya pearsei*). *Crustaceana*, **86**(5): 578-593.
- Muñoz, H., S. Orozco, A. Vera, J. Suárez, E. García, M. Neria y J. Jiménez. 2015. Relación entre oxígeno disuelto, precipitación pluvial y temperatura: río Zahuapan, Tlaxcala, México. *Tecnología y ciencias del agua*, [S.I.], **6**: 59-74.
- Nadelhoffer, K. J. y B. Fry. 1994. Nitrogen isotope studies in forest ecosystems. En Lajtha K. y Michener R.H (eds). *Stable isotopes in ecology and environmental science*. Blackwell Scientific Publications, Londres, 22:44 pp.
- Navarro-Mendoza, M. 1988. Inventario íctico y estudios ecológicos preliminares de los cuerpos de agua continentales en la reserva de la biosfera de Sian Ka'an y áreas circunvecinas en Quintana Roo, México. Centro de Investigaciones de Quintana Roo/Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología/ United States Fish & Wildlife Service, Chetumal, México, .
- Neisch, J. A., J. W Pohlman y T. M. Iliffe. 2011. The use of stable and radiocarbon isotopes as a method for delineating sources of organic material in anchialine systems. *Natura Croatica*, **21**: 83-85.



- NOAA (2010). Metano en el Océano. Actualizada el 25 de agosto del 2010. Consultado el 25 de mayo del 2019.
- Parnell Andrew y A. Jackson (2013). siar: Stable Isotope Analysis in R. R package version 4.2. <https://CRAN.R-project.org/package=siar>. Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Pohlman, J. W., T. M. Iliffe y L. A. Cifuentes. 1997. A stable isotope study of organic cycling and the ecology of an anchialine cave ecosystem. *Marine Ecology- Progress Series*, **155**: 17-27.
- Pohlman, J. W. 2011. The biogeochemistry of anchialine caves: progress and possibilities. *Hydrobiologia*, **677**: 33-51.
- Pohlman, J.W., L.A. Cifuentes y T.M. Iliffe. 2000. Food web dynamics and biogeochemistry of anchialine caves: A stable isotope approach. En: *Ecosystems of the World* (H. Wilkens, D. Culver & W. Humphreys, eds.), pp. 351–363, Elsevier, Amsterdam.
- Post, D. M. 2002. Using stable isotopes to estimate trophic position: models, methods, and assumptions. *Ecology*, **83**(3): 703-718.
- Prieto, P. 2000. Estudio ictiológico de un caño de aguas negras de la amazonia colombiana. Fac. Cien. Dto. Biología. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, pp.98.
- Reid, D. J., G. P Quinn, P. S Lake y P. Reich. 2008. Terrestrial detritus supports the food webs in lowland intermittent streams of south-eastern Australia: a stable isotope study. *Freshwater Biology*, **53**: 2036-2050.
- Rosell, R.A. 1999. Materia orgánica, fertilidad de suelos y productividad de cultivos. Proceed. XIV Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo, Pucón, Chile.
- Ruiz-Cancino, G. 2010. Aspectos de la biología y ecología poblacional de *Creaseriella anops* (Creaser, 1936) (Isopoda: Cirolanidae) en cenotes del norte de Quintana Roo. Tesis de maestría. México: Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM, 50 pp.
- Rush-Miller, R. 2009. Peces dulceacuícolas de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Sociedad Ictiológica Mexicana A. C., El colegio de la Frontera Sur y Consejo de los Peces del Desierto México-Estados Unidos. México, D.F, 52-53 pp.
- Schmitter-Soto, J. J., F. A. Comín, E. Escobar-Briones, J. Herrera-Silveria, J. Alcocer, E. Suárez-Morales, M. Elías-Gutiérrez, V. Díaz-Arce, L. E. Marín y B. Steinich. 2002. Hydrogeochemical and biological characteristics of cenotes in the Yucatan Peninsula (SE Mexico). *Hydrobiologia*, **467**: 215-228.



Schmitter-Soto, J. J. 1998. Catálogo de los peces continentales de Quintana Roo. Col. Guías Científicas ECOSUR. San Cristóbal de las Casas. El Colegio de la Frontera Sur. 239 pp.

Smith, K. F., Z. D. Sharp y J. H. Brown. 2002. Isotopic composition of carbon and oxygen in desert fauna: investigations into the effects of diet, physiology, and seasonality. *Journal of Arid Environments*.

Stable Isotope Facility, University of California:
<http://stableisotopefacility.ucdavis.edu/about.html>

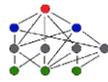
Valles, B. y G. Cadisch. 2010. Determinación de la fijación biológica de N₂ usando la técnica de abundancia natural del N¹⁵ en tres ecotipos de cacahuate forrajero. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, **2**: 99-114.

Vazquez-Suñé, E., M. Manzano, A. Soler. 2009. Isotopía ambiental aplicada a aguas subterráneas. En: Escuder, R., Fraile, J., Jordana, S, Ribera, F. Sanchez-Vila, X, Vazquez-Suñé, E. Hidrogeología: conceptos básicos de Hidrología Subterránea. Fundación Centro Internacional de Hidrología Subterránea, 472-529 pp.

Von Reumont, B. M., A. Blanke, S. Richter, F. Alvarez, C. Bleidorn y R.A. Jenner. 2014. The first venomous crustacean revealed by transcriptomics and functional morphology: Remipede venom glands express a unique toxin cocktail dominated by enzymes and a neurotoxin. *Molecular Biology and Evolution*, **31**: 48–58.

Wada, E., H. Mizutani y M. Minagawa. 1991. The use of stable isotopes for food web analysis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **30**: 361–371.

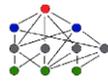
Yokoyama, H., A. Tamaki, K. Harada, K. Shimoda, K. Yokama y Y. Ishihi. 2005. Variability of diet-tissue isotopic fractionation in estuarine macrobenthos. *Marine ecology progress series*. **296**: 115–128



Apéndice I

Peso de las muestras utilizadas para obtener el porcentaje de carbono y nitrógeno para el sistema Vaca Ha.

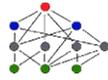
Muestra	Peso utilizado (mg)	%C	% N	C(mg)	N (mg)	C:N
<i>Typhlatya mitchelli</i>	0.737	36.77	9.36	36.77	0.06897537	4.583959177
<i>Tuluweckelia cernua</i>	0.646	38.92	5.84	0.25139551	0.03770364	7.778950928
<i>Xibalbanus tulumensis</i>	0.723	52.17	9.81	0.3772114	0.07093304	6.204160554
<i>Creaseria morleyi</i>	2.428	41.34	12.79	1.003719	0.31053928	3.770877246
<i>Stygiomysis cokei</i>	0.803	40.72	7.24	0.32699726	0.05814363	6.56128239
<i>Antromysis cenotensis</i>	0.334	44.16	11.57	0.14748258	0.03865136	4.451667088
Sedimento alberca del cenote	8.081	19.54	1.28	1.57882756	0.10355072	17.78805083
Suelo de la selva Vacaha	8.066	25.04	2.01	2.0196934	0.16213591	14.53292492
Algas	7.788	12.45	0.60	0.96990397	0.04709205	24.02856938
Suelo de la selva	8.963	21.90	2.16	1.96265831	0.1936962	11.82144006
Vegetación	6.137	35.97	2.42	2.20743613	0.14876886	17.3110302
Vegetación	.279	31.60	2.24	2.61655201	0.18528005	16.47583801
Sedimento de la Cueva	0.662	10.35	0.01	0.95675314	0.00100875	1106.533221



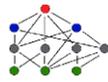
Apéndice II

Hábitos alimenticios de las especies anquihalinas.

Espece	Hábitat	Fuentes de alimentación
Remipedia <i>Xibalbanus tulumensis</i>	Agua salada	Se les considera organismos detritívoros y carroñeros ocasionales, aunque principalmente carnívoros, se les ha visto consumir camarones del género <i>Typhlatya</i> .
Mysida <i>Antromysis cenotensis</i>	Agua dulce	Se le considera un organismo detritívoro, su alimentación se basa principalmente en el consumo de material orgánico particulado.
<i>Stygiomysis cokei</i>	Agua dulce	La alimentación de esta especie se cree que es carnívora consumiendo otros organismos presentes en el ecosistema además complementa su dieta con materia orgánica suspendida en el agua.
Amphipoda <i>Tuluweckelia cernua</i>	Agua dulce	Se consideran organismos omnívoros. Principalmente se alimenta de carroña y se les ha observado consumiendo exuvias de otros crustáceos.
Isopoda <i>Creaseriella anops</i>	Agua dulce	Considerados omnívoros/detritívoros y carroñeros, obtienen su alimento directamente del material depositado en el sedimento.
Decapoda <i>Typhlatya mitchelli</i>	Agua dulce	Estos organismos son detritívoros y filtradores. El primer y segundo par de pereiópodos presentan diferentes tipos de cerdas con las cuales atrapan diminutas partículas de detrito y bacterias.
<i>Creaseria morleyi</i>	Agua dulce	Depredador y carroñero ocasional. Se le ha observado alimentarse de camarones del género <i>Typhlatya</i> , así como de materia orgánica presente en el sedimento. En ocasiones se le ha observado consumir guana y excretas de aves.



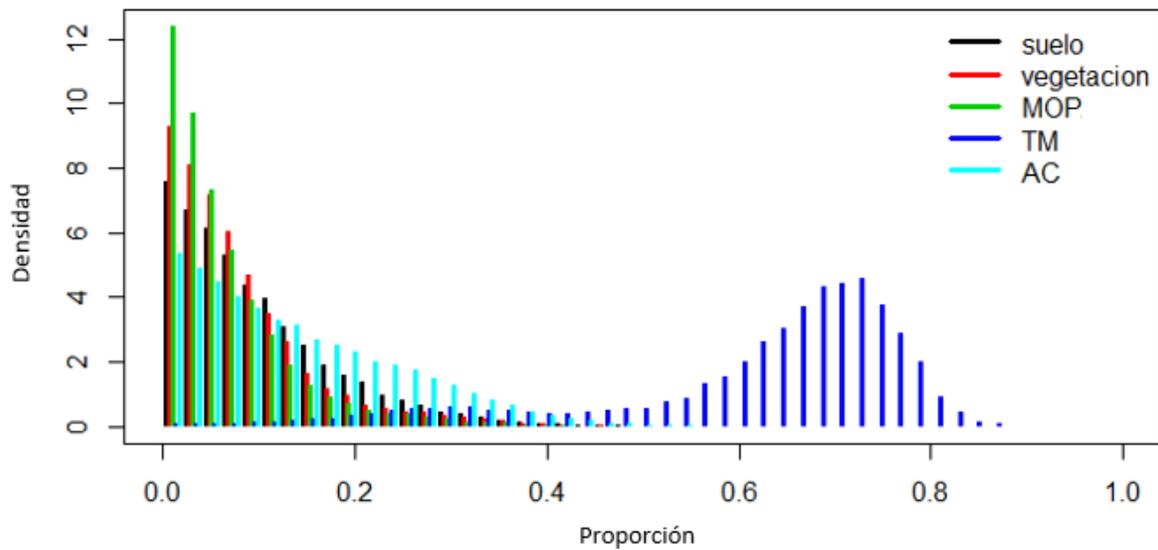
Chordata <i>Typhlas pearsei</i>	Agua dulce	Activo depredador de las cuevas anquihalinas. Se le ha observado alimentándose de algunas especies de crustáceos.
------------------------------------	------------	---



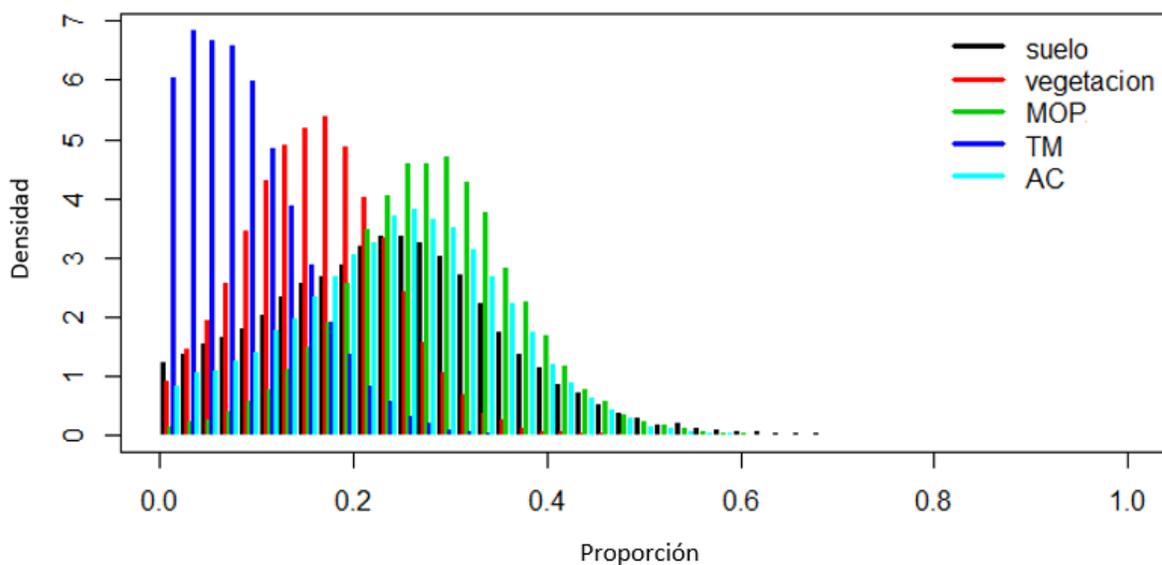
Apéndice III

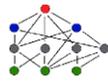
Proporciones obtenidas en SIAR para cada una de las especies de consumidores utilizando como fuente de alimentación: vegetación de la selva, suelo de la selva, materia orgánica particulada (MOP), *Typhlatya mitchelli* (TM) y *Antromysis cenotensis* (AC).

Xibalbanus tulumensis

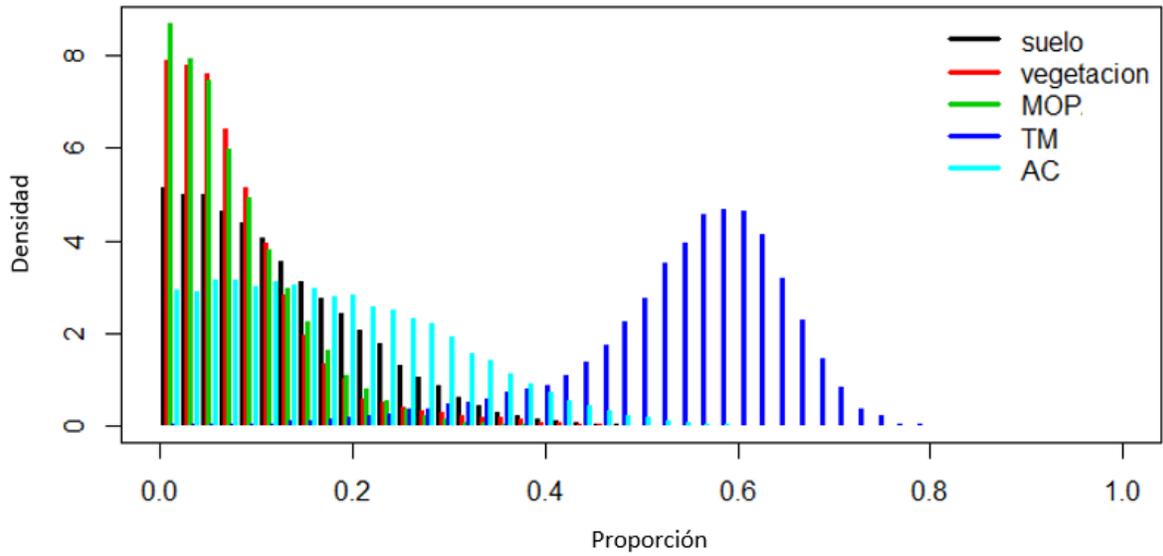


Antromysis cenotensis

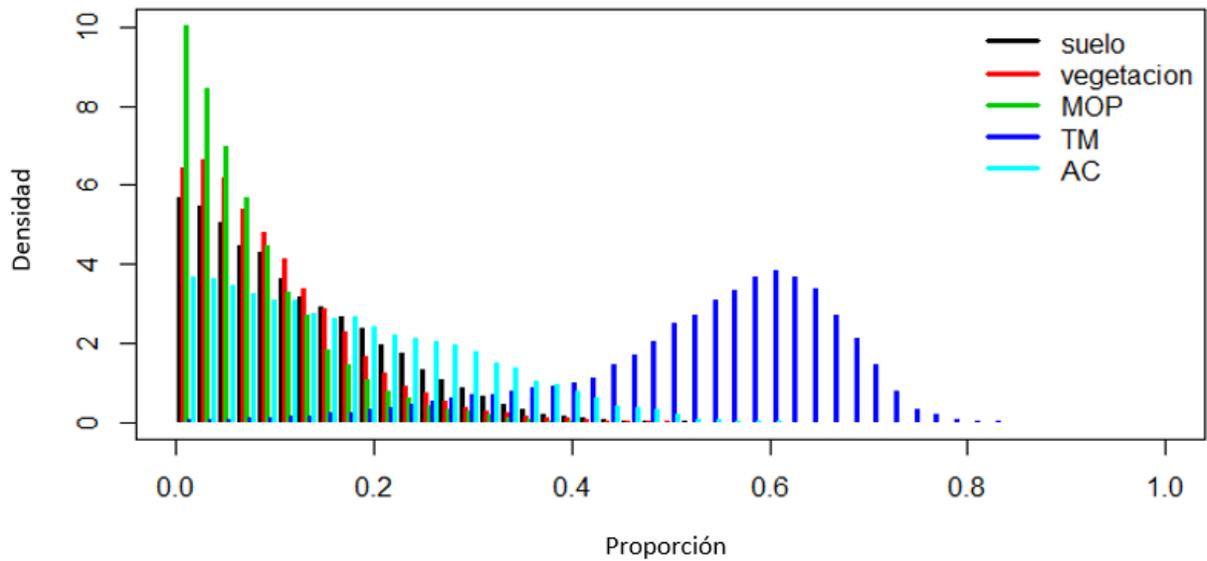


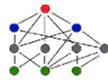


Stygiomysis cokei

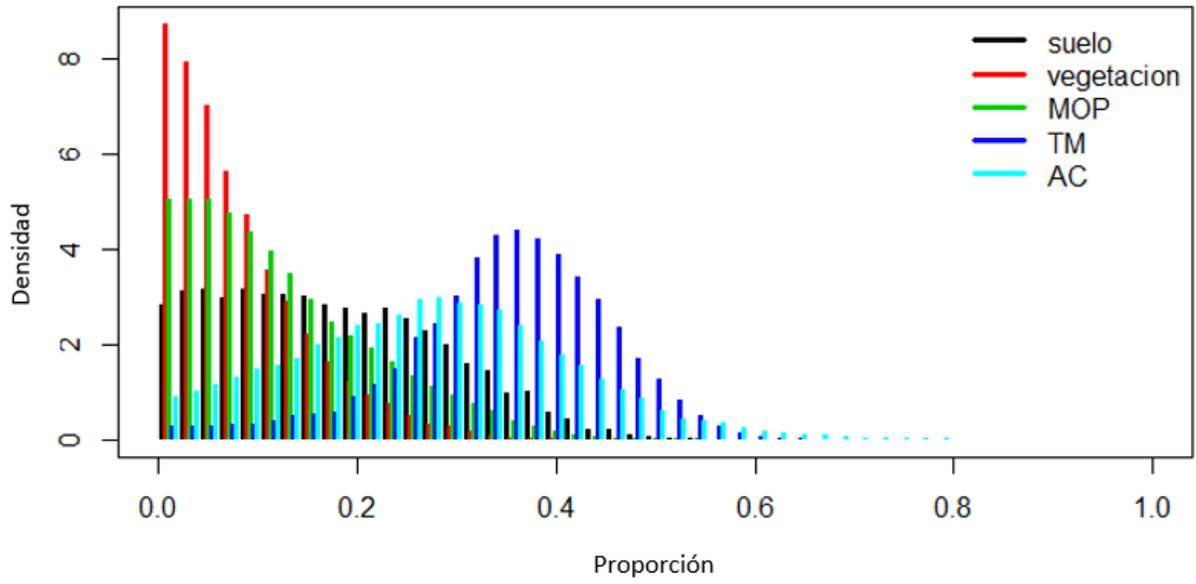


Tulluweckelia cernua

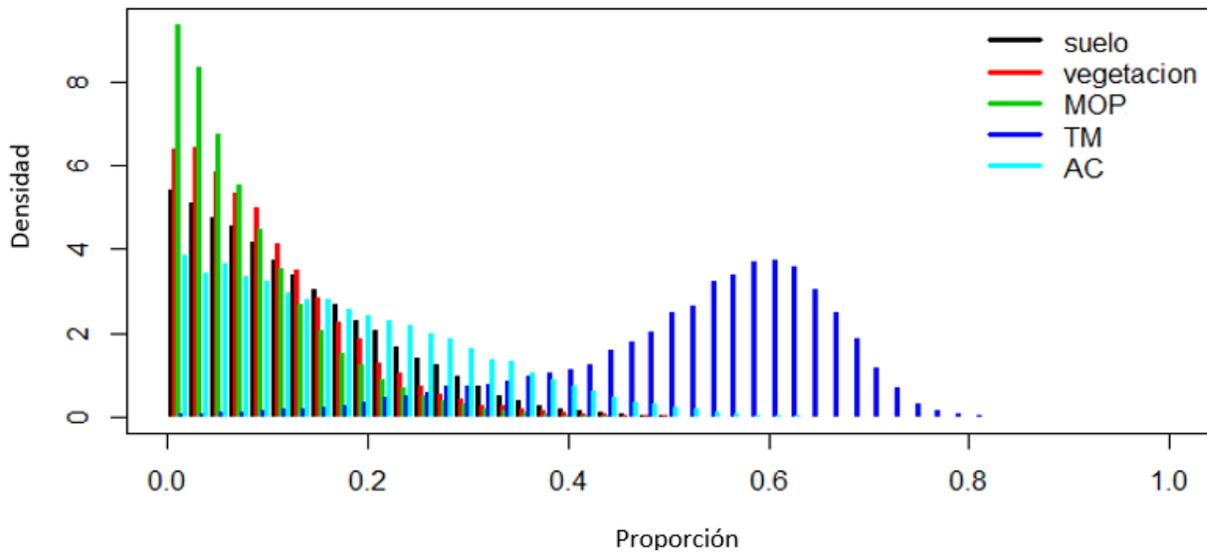


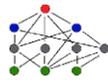


Creaseriella anops

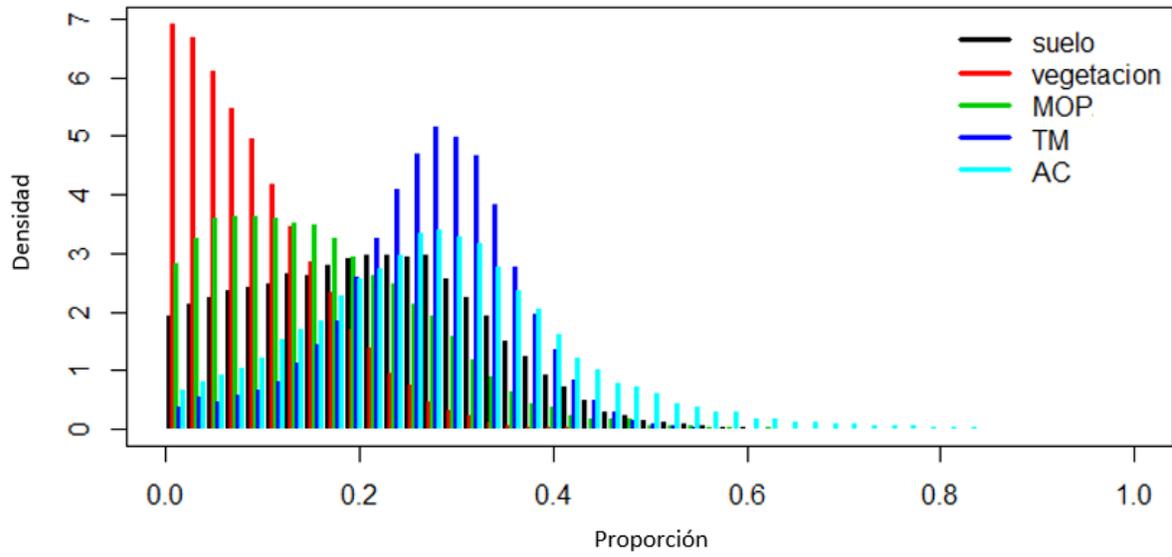


Typhlatya mitchelli





Creaseria morleyi



Typhlias pearsei

