



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE GEOLOGÍA  
ECOLOGÍA

**BIOGEOQUÍMICA ISOTÓPICA DE CARBONO, NITRÓGENO Y OXÍGENO EN *Ursus spelaeus* DE LA CUEVA DE GUANTES (SANTIBÁÑEZ DE LA PEÑA, PALENCIA, ESPAÑA).**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:  
**GERARDO ARTURO RODRÍGUEZ FRANCO**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. VÍCTOR ADRIÁN PÉREZ CRESPO  
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR:

DRA. MARISOL MONTELLANO BALLESTEROS  
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

DR. JOAQUÍN ARROLLO CABRALES  
INSTITUTO NACIONAL DE ANTROPOLOGÍA E HISTORIA (INAH)

TUTOR INVITADO:

DR. JESÚS RODRÍGUEZ MÉNDEZ  
CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN SOBRE LA EVOLUCIÓN HUMANA (CENIEH)

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., ENERO, 2021**



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.





**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

INSTITUTO DE GEOLOGÍA  
ECOLOGÍA

**BIOGEOQUÍMICA ISOTÓPICA DE CARBONO, NITRÓGENO Y OXÍGENO EN *Ursus spelaeus* DE LA CUEVA DE GUANTES (SANTIBÁÑEZ DE LA PEÑA, PALENCIA, ESPAÑA).**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

PRESENTA:  
**GERARDO ARTURO RODRÍGUEZ FRANCO**

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. VÍCTOR ADRIÁN PÉREZ CRESPO  
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM

COMITÉ TUTOR:  
DRA. MARISOL MONTELLANO BALLESTEROS  
INSTITUTO DE GEOLOGÍA, UNAM  
DR. JOAQUÍN ARROLLO CABRALES  
INSTITUTO NACIONAL DE ANTROPOLOGÍA E HISTORIA (INAH)

TUTOR INVITADO:  
DR. JESÚS RODRÍGUEZ MÉNDEZ  
CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN SOBRE LA EVOLUCIÓN HUMANA (CENIEH)

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2021**

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
ENTIDAD INSTITUTO DE GEOLOGÍA  
OFICIO CPCB/820/2020  
ASUNTO: Oficio de Jurado

**M. en C. Ivonne Ramírez Wence**  
Directora General de Administración Escolar, UNAM  
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Subcomité de Biología Evolutiva, Ecología, Manejo Integral de Ecosistemas y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **07 de septiembre de 2020** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Ecología** del estudiante **RODRÍGUEZ FRANCO GERARDO ARTURO** con número de cuenta **309217260** con la tesis titulada "**Biogeoquímica isotópica de carbono, nitrógeno y oxígeno en *Ursus spelaeus* de la Cueva de Guantes (Santibáñez de la Peña, Palencia, España)**", realizada bajo la dirección del **DR.. VÍCTOR ADRIAN PÉREZ CRESPO**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. ELLA GLORIA VÁZQUEZ DOMÍNGUEZ  
Vocal: DR. FERNANDO ALFREDO CERVANTES REZA  
Secretario: DRA. MARISOL MONTELLANO BALLESTEROS  
Suplente: DR. ISMAEL FERRUSQUIA VILLAFRANCA  
Suplente: DR. PRIYADARSI DEBAJYOTI ROY

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

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 08 de diciembre 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 INSTITUCIONALES**

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por permitirme realizar mis estudios de maestría.

Al CONACYT, por todo el apoyo otorgado durante mis estudios de maestría y por la beca que me otorgó (CVU:920655), así mismo, por haberme proporcionado el apoyo económico de movilidad internacional para realizar una estancia de investigación en Burgos, España, en el Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH) de junio a septiembre del 2019.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), PAPIIT IA 104017 y IA 102719 por su apoyo para la culminación de esta investigación.

A la Consejería de Cultura y Turismo. Dir. Gral. Patrimonio JCyL (Contrato menor B2019/005300) y por el Ayuntamiento de Santibáñez de la Peña y la Diputación de Palencia (Contrato Menor. 5376/2019) por la financiación de la excavación de la cueva de Guantes.

Al Dr. Víctor Adrián Pérez Crespo por aceptar ser mi tutor principal y permitirme realizar mi tesis de maestría en su línea de investigación, por todo el gran apoyo que me otorgó durante el proceso.

Al Dr. Jesús Rodríguez Méndez por todo el apoyo académico y profesional otorgado durante los cuatro semestres de maestría, así como en mi estancia de investigación en el CENIEH.

Al Dr. Joaquín Arroyo Cabrales, a la Dra. Marisol Montellano Ballesteros, por guiarme adecuadamente en todo momento durante mis estudios de maestría.

## **AGRADECIMIENTOS A TITULO PERSONAL**

Al personal del laboratorio de Isotopos Estables del instituto de Geología, UNAM, al M. en C. Pedro Morales Punte, a la M. en C. Edith Cienfuegos Alvarado, al Q.F.B. Francisco Javier Otero y al Sr. Rafael Puentes por su tiempo y su apoyo para el análisis isotópico de Carbono, Oxígeno y Nitrógeno.

Al Dr. Jesús Rodríguez Méndez y a la Dra. Ana Mateos Cachorro, quienes me recibieron y apoyaron durante mi estancia en el Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, CENIEH.

Al Instituto de Geología, UNAM, y al Laboratorio de Isotopos Estables del Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía, por permitirme el uso de sus instalaciones durante mis estudios.

Al Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana (CENIEH), por abrirme sus puertas para la realización de mi estancia de investigación, así como el uso de sus instalaciones.

## DEDICATORIA

A mi mejor amiga y madre, Martha, y a mi mejor amigo y Hermano, Edher, que siempre confiaron en mí en todo momento y me otorgaron su apoyo y su amor incondicional para poder lograr mis sueños y por haberme inculcado el amor a la ciencia.

A mi padre Jorge, que en todo momento me dio su apoyo. A mis mejores amigos, Jessica Espinosa, Ariel, Irene, Arely, Irely, Javier, Ferny, Bwin, e Itzel, por todos esos momentos inolvidables y llenos de cariño.

Al M. en C. Alberto Barrañon, Paleontólogo y amigo, por sus consejos y por siempre apoyarme durante mis estudios de maestría.

A mis amigas Amanda y María Jesús por su amistad durante mi estancia en España.

A Maria Rodríguez Jiménez, por todo el apoyo otorgado durante todos mis estudios.



## CONTENIDO

|   |    |
|---|----|
| RESUMEN.....  | 1  |
| ABSTRACT.....   | 2  |
| 1. INTRODUCCIÓN.....  | 3  |
| 1.1. Paleobiología del oso de las cavernas ( <i>Ursus spelaeus</i> ).....   | 3  |
| 1.1.1. Ciclo de vida e hibernación.....   | 3  |
| 1.1.2. Aspectos paleobiológicos y estudios isotópicos en <i>Ursus spelaeus</i> .....  | 5  |
| 1.2. Breve introducción a la aplicación de los isótopos estables de carbono, nitrógeno y oxígeno en mamíferos fósiles ..... | 12 |
| 1.2.1. Carbono.....   | 13 |
| 1.2.2. Nitrógeno.....   | 14 |
| 1.2.3. Oxígeno.....   | 15 |
| 2. OBJETIVOS.....   | 17 |
| 3. HIPÓTESIS.....   | 17 |
| 4. ANTECEDENTES.....  | 18 |
| 4.1. Tafonomía e interpretación.....  | 21 |
| 5. METODOLOGÍA.....   | 23 |
| 5.1. Sitio de estudio.....  | 23 |
| 5.2. Métodos.....   | 26 |
| 5.2.1. Material fósil y obtención de muestras.....  | 26 |

|  |    |
|--|----|
| 5.2.2. Obtención de muestras de agua.....                      | 28 |
| 5.2.3. Análisis isotópico del esmalte.....                     | 29 |
| 5.2.4. Análisis isotópico del colágeno.....                    | 31 |
| 5.2.5. Análisis isotópico de muestras de agua.....             | 33 |
| 5.2.6. Análisis estadístico: esmalte dental.....               | 34 |
| 5.2.7. Análisis estadístico: colágeno óseo.....                | 35 |
| 5.2.8. Análisis estadístico: agua.....                         | 35 |
| 6. RESULTADOS.....   | 37 |
| 6.1. Análisis isotópico de esmalte dental.....                 | 37 |
| 6.1.1. Relaciones isotópicas del carbono.....                  | 37 |
| 6.1.2. Relaciones isotópicas del oxígeno.....                  | 37 |
| 6.2. Análisis isotópico de colágeno.....                       | 38 |
| 6.2.1. Proporciones atómicas de C/N.....                       | 38 |
| 6.2.2. Relaciones isotópicas del carbono.....                  | 38 |
| 6.2.3. Relaciones isotópicas de nitrógeno.....                 | 39 |
| 6.3. Relaciones isotópicas de oxígeno del agua muestreada..... | 39 |
| 7. DISCUSIÓN.....  | 40 |
| 8. CONCLUSIONES.....   | 48 |
| 9. REFERENCIAS.....  | 50 |

## RESUMEN

Se efectuó el análisis isotópico del carbono y oxígeno en esmalte dental, además del carbono y nitrógeno en colágeno óseo de restos fósiles pertenecientes a osos de las cavernas (*Ursus spelaeus*) juveniles y adultos, con más de 50 000 AP de antigüedad encontrados en la Galería 1 de Cueva de Guantes (Palencia, España). Los resultados obtenidos sugirieron que los osos probablemente habitaban zonas cercanas a esta cueva, además de que ésta pudo ser usada como refugio para llevar a cabo su hibernación esto fue consistente con: 1) Los estudios tafonómicos anteriores que interpretan este nivel estratigráfico como una osera muy frecuentada; 2) Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  de esmalte dental, que indicaron una alimentación con fuentes similares de carbono y poco desplazamiento espacial; 3) Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  del colágeno óseo, que en el caso de los valores isotópicos del carbono también exhibieron fuentes similares de alimento; y por otra parte, el amplio intervalo mostrado por los valores isotópicos de nitrógeno, que podrían ser consecuencia de los procesos metabólicos que ocurren durante la hibernación. Y finalmente, 4) Los valores de  $\delta^{18}\text{O}$  calculados del agua ingerida por los osos, que sugirieron fuentes similares de agua.

## ABSTRACT

The isotopic analysis of carbon and oxygen in tooth enamel was carried out, in addition to carbon and nitrogen in bone collagen from fossil remains belonging to juvenile and adult cave bears (*Ursus spelaeus*), with more than 50,000 APs found in the Gallery 1 from Cueva de Guantes (Palencia, Spain). The results obtained suggested that the bears probably inhabited areas near this cave, in addition that it could be used as a refuge to carry out its hibernation, this was consistent with: 1) Previous taphonomic studies that interpret this level stratigraphic as a very frequented bone, 2) The values of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  of dental enamel, which indicated a diet with similar sources of carbon and little spatial displacement, 3) the values of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of bone collagen, which in the case of carbon isotopic values they also exhibited similar food sources; and on the other hand, the wide interval shown by the nitrogen isotopic values, which could be a consequence of the metabolic processes that occur during hibernation. And finally, 4) the calculated  $\delta^{18}\text{O}$  values of the water ingested by the bears, which suggested similar sources of water.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Paleobiología del oso de las cavernas (*Ursus spelaeus*).

El oso de las cavernas *Ursus spelaeus* (Rosenmüller, 1794, Mammalia, Carnivora, Ursidae), fue un miembro importante de la megafauna del Cuaternario en Europa, con una gran abundancia fósil y una amplia distribución que se extiende desde el sur de Siberia hasta Grecia, y del Cáucaso hasta el norte de España (Raberder *et al.*, 2008; Mackiewicz *et al.*, 2017). Este úrsido apareció hace unos 300 000 AP (años antes del presente) durante el Pleistoceno y se extinguió poco antes del Último Máximo Glacial (LGM, por sus siglas en inglés), hace aproximadamente unos 26 000 AP cuando el clima se hacía cada vez más frío (Llona *et al.*, 2005). En consecuencia, se ha considerado que este oso cavernario fue desapareciendo simultáneamente en toda su área de distribución; probablemente sus últimas poblaciones sobrevivieron en zonas kársticas, las cuales ofrecían microclimas beneficiosos tanto para plantas como animales que habitaron durante las glaciaciones, por lo que en abundancia se han encontrado restos fósiles de *U. spelaeus* dentro de sistemas de cuevas (Kurtén, 1995; Mackiewicz *et al.*, 2017).

**1.1.1. Ciclo de vida e hibernación.** En el invierno, época del año en la cual las fuentes de alimento escasean, casi todos los osos actuales entran en un estado semihibernante, el cual puede durar más de seis meses. En consecuencia, durante el verano necesitan acumular suficiente grasa que les ayude a sobrevivir en este período (Hellgren, 1998). Actualmente los úrsidos que poseen esta estrategia son los osos negros, los osos pardos y los osos polares; no obstante, existen evidencias

que apuntan a que *Ursus spelaeus* tenía una hibernación similar a las especies actuales y probablemente con los mismos procesos metabólicos (Nelson *et al.*, 1998; Llona *et al.*, 2005; Grandal-d'Anglade y Fernández-Mosquera, 2008).

A finales del verano los osos pueden triplicar su peso, preparándose para un largo período de hibernación en el que no comen, no beben, no defecan, ni orinan (Nelson *et al.*, 1973; Ramsay, 1993). Durante la hibernación no hay cambios importantes en las proteínas sanguíneas, aminoácidos, ácido úrico y amoníaco, además de que no se crean productos catabólicos del metabolismo de proteínas que son normalmente excretados por vía urinaria (Nelson *et al.*, 1973). Se ha documentado que no existe una alteración en su tasa metabólica, su temperatura corporal, su masa muscular, ni su masa ósea y todo esto es posible gracias a un eficiente mecanismo de reciclaje de urea: ésta se hidroliza y se combina con glicerol para producir aminoácidos, haciendo posible metabolizar proteínas durante la hibernación (Hellgren, 1998; Llona *et al.*, 2005). Adicionalmente, durante este periodo su masa ósea presenta una hiperactividad, reciclan calcio perdido y ocurre una redepositación en los huesos; por lo tanto, queda equilibrada la pérdida ósea y la formación de hueso (Hellgren, 1998; Llona *et al.*, 2005).

Por otro lado, los osos hibernantes poseen un mecanismo de defensa, que consiste en la implantación diferida del óvulo fecundado, esto es, que aunque el período de celo de las hembras es en verano, el óvulo no se implanta en el útero hasta el otoño. Como resultado, el periodo de gestación muy corto, de forma que tienen una o varias crías durante el período de hibernación y las cuales se mantienen a su lado hasta el siguiente invierno, ya que las hembras suelen quedar preñadas cada dos-tres años (Torres *et al.*, 2013).

La hibernación en el oso de las cavernas se llevaría a cabo de manera similar a los osos actuales, probablemente el periodo de celo también se presentaría durante el verano y la implantación del embrión en otoño iniciando el periodo de hibernación, el cual pudo haber durado de seis a ocho meses; así, los oseznos nacerían durante la hibernación y posiblemente durante los últimos dos meses del año, circunstancia que sería crítica en cuestiones nutricionales para la madre y los oseznos, en consecuencia, habría una gran probabilidad de mortalidad, por lo que es común encontrar un gran número de restos pertenecientes a individuos infantiles. Las crías que sobrevivían se mantendrían lactando pasando los dos años de vida y, serían independientes hasta el final del tercer año de edad, alcanzando la adultez hasta los 4 años de vida (Liden y Angerbjörn, 1999; Germonpré y Sablin, 2001; Rodríguez y Mateos, 2014).

**1.1.2. Aspectos paleobiológicos y estudios isotópicos en *Ursus spelaeus*.** Poseía un cráneo muy alto y una mandíbula alargada con caninos muy grandes, que a pesar de su tamaño se empleaban principalmente en competencia por hembras; sus extremidades anteriores estaban bien desarrolladas, pero al contrario de esto, las posteriores eran de tamaño pequeño (Llona *et al.*, 2005). Presentaban dimorfismo sexual, los machos eran mucho más grandes y robustos (400 a 500 kg) que las hembras (225 a 250 kg), además tenían unos caninos evidentemente de mayor tamaño, así mismo, presentaban un hueso extra: el hueso peniano (Christiansen, 1999; Torres *et al.*, 2013).

Algunas evidencias muestran que era una especie con pocas posibilidades de ser un depredador, por ese motivo generalmente se considera al oso de las cavernas principalmente herbívoro. Por ejemplo, dado que generalmente los tres

premolares anteriores son importantes para los carnívoros, en los osos fitófagos como el panda gigante actual (*Ailuropoda melanoleuca*) están muy reducidos, mientras que sus molares son anchos y aplanados con poca especialización carnívora. *U. spelaeus* posee los molares más grandes de entre todos los osos y presentan un desgaste excepcional en sus piezas dentales, adicionalmente, los premolares están muy reducidos y muchas veces ausentes (Llona *et al.*, 2005). Los músculos de la masticación son más fuertes en osos con una alimentación basada en vegetación. Grandal-d' Anglade (2010) apoyándose en el cálculo teórico de la fuerza de mordida de *Ursus spelaeus*, demuestra que existe una similitud con la calculada para el panda gigante, sugiriendo una alimentación principalmente herbívora. Adicional a lo anterior, Heteren *et al.*, (2016), utilizando morfometría geométrica 3D (GMM por sus siglas en inglés) analizaron y compararon la morfología mandibular del oso de las cavernas con los miembros existentes de úrsidos actuales y extintos. Sus resultados mostraron una mayor relación morfométrica con el panda gigante actual y en consecuencia, la gran probabilidad de que el oso de las cavernas tuviera una alimentación basada en follaje (Heteren *et al.*, 2016).

Pacher y Sturart (2009), mediante análisis de microdesgaste dental y tomando en cuenta su período de extinción, definieron que estos úrsidos probablemente dependían en gran medida de alimentos vegetales de alta calidad, por lo que el enfriamiento climático provocado por el LGM y la productividad vegetativa disminuida en este periodo, serían posiblemente los responsables de su extinción debido a su tendencia a la herbivoría. Sin embargo, estos autores consideran que estos osos pudieron haber tenido una alimentación prehibernante



parecida a los osos actuales, consumiendo elementos duros e invertebrados, incluso carne y/o materia vegetal. Martini *et al.* (2014), concluyen también que los osos de las cavernas posiblemente eran más vegetarianos que los osos pardos y que pudieron extinguirse cuando la productividad vegetal disminuyó durante la LGM. Bocherens *et al.* (2014), Münzel *et al.* (2014), y Mackiewicz *et al.* (2017), consideran que *U. spelaeus* fue remplazado hace 28 000 años AP por *U. ingressus*, el cual era un organismo omnívoro y por ende, con mejores posibilidades de supervivencia a las condiciones climáticas que se presentaron en el LGM, pudiendo así sobrevivir 4000 años más que los últimos individuos de *U. spelaeus*, según los registros fósiles.

En contraste, trabajos en los que se realiza el análisis isotópicos de carbono y nitrógeno han evidenciado una gran controversia respecto a su flexibilidad alimenticia del oso de las cavernas, en consecuencia, hoy en día existe un importante debate, algunos trabajos apoyan la idea de que este úrsido tenía una dieta estrictamente herbívora y otros más sustentan que pudo haber incorporado proteínas animales a su alimentación, esto actualmente ha provocado una difícil interpretación dietética para esta especie, por ejemplo: Bocherens (2019), basado en el resultado del análisis isotópico de nitrógeno definió una dieta herbívora en estos organismos, y evidenció una superposición de los valores  $\delta^{15}\text{N}$  con mamíferos herbívoros del mismo periodo (Pleistoceno tardío). En contraste, Robu *et al.* (2013) obtienen evidencias de una posible flexibilidad en la dieta del oso de *Ursus spelaeus* al analizar los valores isotópicos de nitrógeno provenientes de colágeno óseo en osos de las cavernas europeos y compararlos con los valores de  $^{15}\text{N}$  del colágeno

provenientes de osos pardos actuales (*Ursus arctos horribilis*). Posteriormente, Robu *et al.* (2018), reafirmaron su hipótesis con los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  de osos de las cavernas provenientes de Rumania, en donde los resultados exhibían evidencias de una flexibilidad en la integración de fuentes de proteína animal en su alimentación.

Recientemente, Ramírez-Pedraza *et al.* (2019a), demuestran que dichas controversias podrían tener su origen en una mala interpretación de los valores  $\delta^{15}\text{N}$ , además evidenciaron que el uso combinado de la composición isotópica del carbono y nitrógeno con otro tipo de estudios podría llevar a interpretaciones diferentes de los hábitos alimentarios, proporcionando un claro ejemplo de cómo los factores fisiológicos y metabólicos del oso de las cavernas pueden llegar a afectar los valores isotópicos del nitrógeno obtenidos del colágeno, enmascarando así sus niveles tróficos. En dicho estudio se combinó el análisis de los valores  $\delta^{15}\text{N}$  del colágeno óseo con un análisis de microdesgaste dental en los molares de los osos estudiados y los resultados mostraron valores de  $\delta^{15}\text{N}$  correspondientes a nitrógeno más ligero que el de herbívoros estrictos encontrados en el mismo nivel estratigráfico, pero al contrario de esto, el patrón de microdesgaste evidenció una dieta omnívora-carnívora. Adicionalmente, Ramírez-Pedraza *et al.* (2019b), apoyan estos resultados con un posterior estudio en el microdesgaste dental de 106 molares de *U. spelaeus*, en donde todos mostraron evidencias de una dieta omnívora o carnívora días o semanas antes de su muerte.

Por otro lado, existen evidencias de que la biología de los úrsidos podría afectar los valores isotópicos del nitrógeno obtenidos del análisis de la bioapatita,

especialmente los procesos metabólicos que ocurren durante la hibernación. En los osos actuales y posiblemente también en *Ursus spelaeus*, estos procesos provocarían que el nitrógeno de ciertos tejidos tienda a ser más pesado debido al reciclaje de urea y a la remodelación ósea, mostrando falsas evidencias de una dieta omnívora (Nelson *et al.*, 1998; Grandal-d'Anglade y Fernández-Mosquera, 2008); además, este cambio en dichos valores no solo ocurre en adultos, en neonatos perinatales también se ven reflejados los valores de las madres, debido a que la formación de los tejidos embrionarios se forman a partir de productos metabólicos derivados de almacenes de grasa de la madre (Grandal-d'Anglade *et al.*, 2019).

Adicionalmente, Llona *et al.* (2005) basados en los trabajos de Bocherens *et al.* (1994) y Nelson *et al.* (1973) mencionan que la relación isotópica del nitrógeno también está afectada por periodos de inanición y que, posiblemente la mayoría de los osos de las cavernas encontrados en cuevas podrían haber muerto durante su hibernación (Stiner, 1998), provocando así que las relaciones isotópicas del nitrógeno analizadas en huesos sean más ligeras que herbívoros modernos, evidenciando así una falsa preferencia a la herbivoría.

Asimismo, existen evidencias de que los organismos recién nacidos de osos de las cavernas tienen diferentes valores de  $\delta^{15}\text{N}$  que su madre, debido a los cambios metabólicos que ocurren durante la hibernación (Pérez-Rama *et al.*, 2011). Adicionalmente, la lactancia en animales jóvenes incrementaría los valores isotópicos de nitrógeno con respecto a los adultos, existiendo una diferencia de aproximadamente un equivalente de dos niveles tróficos entre osos lactantes y adultos (Nelson *et al.*, 1998). De manera que el uso de los isótopos estables de

nitrógeno también son una herramienta útil para determinar periodos de lactancia o destete en *Ursus spelaeus* (Fernández-Mosquera *et al.*, 2001).

Además, se ha observado que el carbono que constituye al colágeno de los restos óseos de los juveniles tiende a ser más ligero que en los adultos (Bocherens *et al.*, 1994; Nelson *et al.*, 1998). Dichos resultados podrían ser consecuencia del proceso natural de gestación de la madre, el cual ocurría durante la hibernación (Pérez-Rama *et al.*, 2011a). Pérez-Rama *et al.* (2011b) indican que una reducción de  $^{13}\text{C}$  en la composición isotópica de carbono en el colágeno de los organismos jóvenes es el resultado de un fraccionamiento isotópico provocado por un reciclaje de la urea y del metabolismo de la grasa almacenada que ocurre durante este período; de esta manera, los tejidos embrionarios de los neonatos perinatales reflejarán la composición isotópica de productos metabólicos derivados de la grasa almacenada de la madre (Grandal-d'Anglade *et al.*, 2019). La grasa corporal está compuesta principalmente por triglicéridos, en los cuales las relaciones isotópicas del carbono tienen una disminución en  $^{13}\text{C}$ ; estas moléculas cuando se metabolizan durante la hibernación se separan en ácidos grasos y glicerol, este último entra a la vía glucolítica en la cual los procesos tienen como consecuencia un fraccionamiento isotópico, causando así una reducción adicional en  $^{13}\text{C}$  de la composición isotópica del carbono perteneciente a carboxilos de la molécula, y estos finalmente constituyen una gran parte del colágeno (Keeling y Nelson, 2001). Por lo anterior, es frecuente encontrar valores de  $\delta^{13}\text{C}$  significativamente más negativos para organismos juveniles en *U. spelaeus*. Esto anterior es evidente en el trabajo de Bocherens *et al.* (1994), donde las diferencias de la composición isotópica de

carbono provenientes de dentina (registro durante nacimiento y primeros años de vida) comparados con la del colágeno (registro de últimos meses de vida) son evidentemente más negativos (McGee *et al.*, 2008). Además, Polischuk *et al.* (2001), quienes encuentran que actualmente osos carnívoros juveniles podrían exhibir valores de  $\delta^{15}\text{N}$  más altos que el de sus madres.

Además del análisis isotópico del carbono y nitrógeno en el colágeno óseo, en las últimas décadas ha existido un gran interés por describir algunos aspectos de hábitat y dietéticos en *U. spelaeus* utilizando análisis de las proporciones isotópicas del carbono y oxígeno en el esmalte dental (por ejemplo: Bocherens *et al.*, 1990; Bocherens *et al.*, 1994; Nelson *et al.*, 1998; Ábelová, 2007; Münzel *et al.*, 2011; Pacher y Stuart, 2009; Bocherens *et al.* 2014; Krajcarz y Krajcarz, 2014; Krajcarz *et al.*, 2016; Naito *et al.*, 2016; Robu *et al.* 2018; Ramírez-Pedraza *et al.*, 2019). La mayor parte de los estudios isotópicos del carbono y oxígeno en esmalte son integrados en una descripción paleoambiental y paleoecológico y, éstos han evidenciado que la alimentación de esta especie se llevaba a cabo indudablemente en un hábitat donde prevalecían las plantas  $\text{C}_3$  (Reinhard *et al.*, 1996; Feranec, *et al.*, 2010; Bocherens *et al.*, 2011; Krajcarz y Krajcarz, 2014). Sin embargo, las relaciones isotópicas del oxígeno se han dejado de lado y no han sido ampliamente aprovechadas para constatar la capacidad de migrar o de desplazarse grandes distancias que podrían poseer éstos úrsidos; en cambio, existen estudios en ADN mitocondrial como los efectuados por Fortes *et al.*, (2016) y Grandal-d'Anglade *et al.* (2019), donde aportan información invaluable en este aspecto, proponiendo que los osos de las cavernas podrían tener una fidelidad extrema a la cueva donde

nacieron, siendo cada cueva casi exclusivamente para un grupo de haplotipo estrechamente relacionado, y por lo tanto, estos úrsidos no podrían trasladarse a lugares demasiado lejos de la cueva.

En el presente trabajo se plantea identificar posibles diferencias de alimentación, de hábitat o movimientos geográficos entre osos juveniles y adultos, lo cual actualmente en la literatura no es posible encontrar estudios isotópicos en osos de las cavernas con este enfoque de esta forma, se espera realizar una descripción más completa de la paleobiología de los osos de las cavernas que habitaron la Cueva de Guantes durante el final del Pleistoceno.

## **1.2. Breve introducción a la aplicación de los isótopos estables de carbono, nitrógeno y oxígeno en mamíferos fósiles**

Los tejidos mineralizados de los vertebrados como los huesos, el esmalte dental y la dentina, tienen una gran resistencia a la diagénesis que ocurre postmortem (aproximadamente hasta  $10^8$  años); estos tejidos están compuestos de minerales, proteínas y lípidos, y el mineral que presentan es una forma altamente sustituida de hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$ ) llamada bioapatita (Koch, 2007). El hueso está formado en su mayoría por un 70% de cristales de bioapatita de unos  $100 \times 20 \times 4$  nanómetros, y de una matriz orgánica compuesta principalmente por colágeno proteico (Simkiss y Wilbur, 1989; Hedges, 2003). Por otro lado, los cristales que forman al esmalte constituyen gran parte de su estructura y sólo el 5% de su peso pertenece a materia orgánica, además, los cristales de bioapatita son más grandes ( $1000 \times 130 \times 30$  nm) y por lo tanto su estructura es menos porosa que la del hueso (LeGeros, 1991). Por último, la dentina tiene un tamaño de cristal,

contenido orgánico y una composición orgánica parecida a la que presenta el hueso, constituido por menos del 75% de bioapatita (Lowenstam y Weiner 1989; Morales-Puente *et al.*, 2012).

Los tejidos mineralizados tienen una menor alteración y sustitución de sus composiciones isotópicas originales a lo largo del tiempo comparado a los tejidos blandos compuestos principalmente por lípidos y proteínas (Ayliffe *et al.*, 1994; Fricke *et al.*, 2008; Tütken, 2011). En consecuencia, usualmente los restos fósiles de partes anatómicas mineralizadas son analizados para realizar estudios isotópicos de carbono, oxígeno y nitrógeno (Koch, 2007). El análisis de las relaciones isotópicas principalmente de carbono y nitrógeno en estructuras fósiles puede evidenciar variaciones dietéticas de un individuo dentro de una población, o de una población dentro de una especie, por lo que es una herramienta útil que contribuye de manera importante a la investigación fisiológica, así como a algunos aspectos ecológicos del pasado (Bocherens *et al.*, 1991; Gannes *et al.*, 1998; Morales-Puente *et al.*, 2012).

**1.2.1. Carbono.** Cuando un mamífero herbívoro digiere su fuente de alimento e incorpora a sus tejidos el carbono obtenido de la planta consumida, inicialmente se consideraba que como consecuencia de esto en general el carbono que constituye a la bioapatita de esmalte dental de herbívoros tendía a ser más pesado en un 14‰ respecto a las plantas consumidas y, en el caso de la bioapatita ósea de herbívoros en un 5‰ comparado al alimento (Cerling y Harris, 1999; Cerling *et al.*, 2005). Así, los organismos mostrarán un intervalo de -19‰ a -9‰ en esmalte dental, y de -28‰ a -18‰ para bioapatita ósea de herbívoros con una alimentación de

plantas C<sub>3</sub>. Valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre 2‰ y -2‰ en bioapatita de esmalte dental y un intervalo de -7‰ a -11‰ para los provenientes de hueso perteneciente a animales que se alimenten de plantas C<sub>4</sub>. Finalmente, los mamíferos con una dieta mixta, mostrarían un intervalo de -2‰ a -9‰ en esmalte dental, y de -11‰ a 18‰ en hueso (MacFadden y Cerling, 1996). Sin embargo, Tipple *et al.* (2010), indican que el clima y los niveles de CO<sub>2</sub> atmosférico a través del tiempo no han sido constantes, y que la atmósfera ha cambiado respecto a sus valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , pasando de -6.5‰ durante el Pleistoceno a -8‰ en la actualidad. Por ello, Domingo *et al.* (2013), proponen un ajuste a los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  provenientes de esmalte dental de herbívoros del Pleistoceno. Así, consumidores de plantas C<sub>3</sub> deberían mostrar valores menores a -14.5‰ y hasta -6.5‰, los herbívoros con una dieta mixta exhibirían valores entre -6.5‰ y -1.5‰, y finalmente, los que tuvieran preferencias por plantas C<sub>4</sub> sus valores serían mayores a -1.5‰.

Con respecto a los mamíferos carnívoros, la investigación del fraccionamiento isotópico presenta algunas dificultades, puesto que éstos adquieren carbono que ya ha sido fraccionado por sus presas y las cuales no siempre son de la misma especie. Además, los carnívoros pueden consumir diferentes tipos de tejidos incluyendo huesos, no obstante, algunos estudios consideran que podrían presentar carbono más pesado que su presa en un intervalo de 0‰ a 2‰ en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  del colágeno óseo por cada paso hacia arriba de los niveles tróficos (Bocherens y Drucker, 2003; Palmqvist *et al.*, 2008)

**1.2.2. Nitrógeno.** Las variaciones en la composición isotópica del nitrógeno obtenidas de los tejidos de los mamíferos pueden ayudar a evidenciar el nivel trófico



del organismo, haciendo posible paleoreconstrucciones de las redes tróficas (DeNiro y Epstein, 1981; Fox-Dobbs *et al.*, 2008). El nitrógeno que constituye a los tejidos de los mamíferos es más pesado que su alimento en un 3‰ a 5‰ por cada paso hacia arriba de los niveles tróficos (DeNiro y Epstein, 1981; Bocherens y Drucker, 2003). Así, los carnívoros tendrían una señal isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$  más alta que los herbívoros de los que se alimentan y estos a su vez tendrán valores más altos que las plantas que incorporan a su dieta (Hilderbrand *et al.*, 1996; Ambrose, 2002; Sponheimer *et al.*, 2003). Por lo anterior, en una comunidad, los mamíferos herbívoros serán los que posean el nitrógeno más ligero, identificándose así la base de los niveles tróficos (Wada *et al.*, 1986; Minagawa y Wada, 1984; Schoeninger y DeNiro, 1984; Ambrose, 1993; Sponheimer *et al.*, 2003).

**1.2.3. Oxígeno.** Por otro lado, el oxígeno del agua que los mamíferos ingieren se incorpora como carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) y fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) en la bioapatita de los tejidos mineralizados (Koch, 2007; Morales *et al.*, 2012). Por lo que las relaciones isotópicas del oxígeno en el agua se verán reflejadas en estas estructuras, registrando así información ambiental invaluable (Sponheimer y Lee-Thorp, 1999; Schwarcz *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2012). Por lo anterior, el valor de  $\delta^{18}\text{O}$  también es de gran utilidad para evidenciar el origen geográfico de los organismos, proporcionando información necesaria para dar pauta a posibles migraciones, siendo tan específica que incluso abre la posibilidad de crear mapas de datos globales (Bowen *et al.*, 2005). Un solo diente de mamífero conserva el registro desde la vida temprana del organismo donde comienza a formarse la pieza dental, hasta que éstas emergen y detienen su mineralización por completo (Higgins, 2018);

incluso, de información sobre la humedad relativa local, la cual sería inversamente proporcional al valor de  $\delta^{18}\text{O}$  calculado del agua ingerida que está registrada en las piezas dentales (Huertas, *et al.*, 1995).

## 2. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente trabajo de investigación fue inferir algunos aspectos ecológicos y biológicos en los osos de las cavernas que habitaban la Cueva de Guantes durante el Pleistoceno superior, por medio del análisis de las relaciones isotópicas de carbono, nitrógeno y oxígeno. Derivado de lo anterior, los objetivos particulares fueron los siguientes:

1. Inferir los hábitos alimentarios, hábitat y nivel trófico de estos osos.
2. Identificar las posibles diferencias en estos aspectos entre organismos juveniles y adultos.

## 3. HIPÓTESIS

Los ejemplares juveniles de *Ursus spelaeus* de la Cueva Guantes mostrarán diferencias de hábitat, hábitos alimenticios y niveles tróficos respecto a los organismos adultos.

## 4. ANTECEDENTES

En “Galería 1” de la Cueva de Guantes, se ha intervenido con diversas campañas de excavación desde el año 2009, y ha sido objeto de importantes investigaciones arqueo-paleontológicas, Mateos *et al.* (2014), así como Rodríguez y Mateos, (2014), documentaron por primera vez restos fósiles de diferentes mamíferos que se hallaron en el yacimiento arqueo-paleontológico, evidenciando numerosos restos de mamíferos, y en particular, una osera de *Ursus spelaeus*. Posteriormente, Benito-Calvo *et al.* (2017) realizaron un análisis topográfico 3D de alta resolución (TLS y UAV), así como un estudio geofísico a través de las cavidades de la Cueva de Guantes; más recientemente, Fuentes-Sánchez *et al.* (2019) evidenciaron una alteración ósea patológica en un resto fósil de oso de las cavernas, específicamente un bloque vertebral congénito (CBV, por sus siglas en inglés) en las cervicales C6-C7, que se encontraban fusionadas.

Asimismo, en Galería 1 se han realizado cuatro diferentes catas (Figura 1), cada una de éstas con cuadrantes de 1x1 metro; en la cata 2, se han identificado diez niveles estratigráficos (nivel 201 a 210). El nivel 206, es un nivel arcilloso, continuo y claramente *in situ*, hallándose una osera con restos de *Ursus spelaeus*, representado anatómicamente casi en su totalidad, y sin embargo, sin conexión anatómica (Mateos *et al.*, 2019). Esta osera abarca nueve cuadrantes nombrados: R07, R08, R09, S07, S08, S09, T07, T08, T09, U07, U08, U09, V07, V08, y V09 (Figura 2). El nivel 206 es de gran importancia para la presente investigación, ya que es el área de estudio de donde provienen los restos fósiles de los que se

obtuvieron muestras para los análisis isotópicos de carbono, oxígeno y nitrógeno planteados (Cuadrantes R07, R08, R09, S07, S08, S09. Figura 6). Actualmente, este nivel no ha sido excavado en su totalidad y se encuentra en constante estudio, en él se han hallado restos óseos de mamíferos: bóvidos, cánidos, cérvidos, équidos, lepóridos y sciúridos; también, se han encontrado piezas líticas de cuarcita y sílex (Figura 3).

Así mismo, se han realizado dataciones con radiocarbono en más de 45,000 años antes del presente (final del Pleistoceno); esta datación evidenció la necesidad de un método de datación más adecuado (más de 50,000 años) y, por lo tanto, no se tiene una datación válida para este nivel (Mateos *et al.*, 2019).

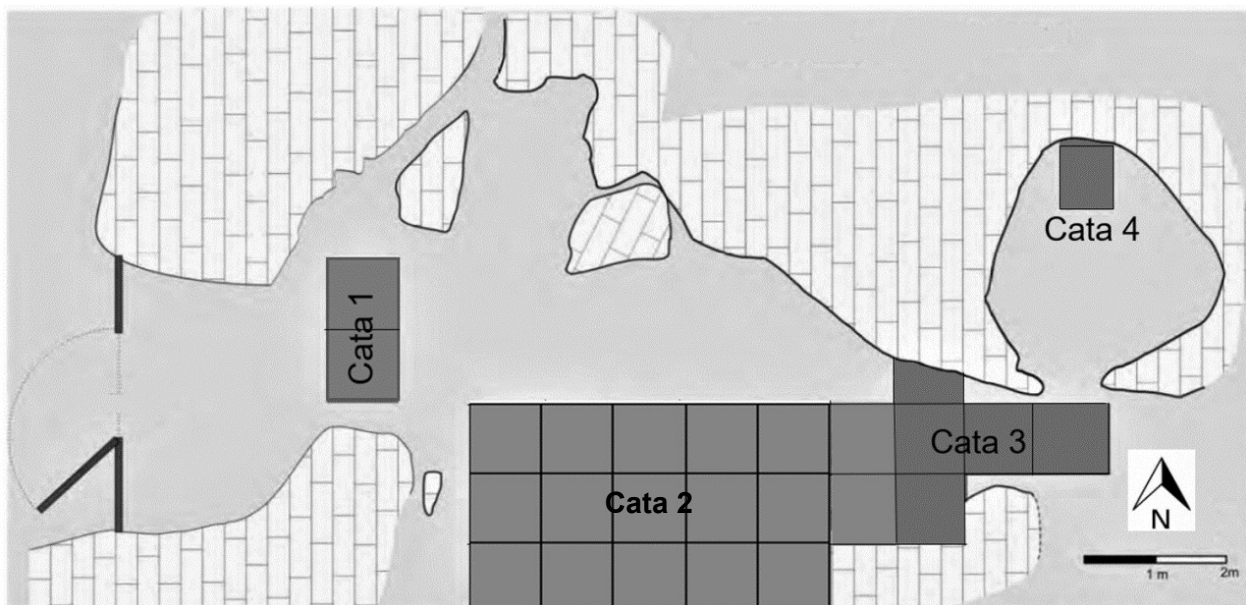


Figura 1. Croquis de "Galería 1" de la Cueva de Guantes, Modificado de Mateos et al. (2019).

|     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| R09 | S09 | T09 | U09 | V09 | W09 |
| R08 | S08 | T08 | U08 | V08 | W08 |
| R07 | S07 | T07 | U07 | V07 |     |




Figura 2. Representación espacial de los cuadrantes de la Cata 2. Cada cuadrante representa un cuadro de 1X1 metro (Mateos *et al.*, 2019).



Figura 3. Excavación y estudio del nivel 206 en la Galería 1.

Mateos *et al.* (2019) indican que los restos de osos de las cavernas recuperados en la cata 2, nivel 206, podrían correlacionarse con los niveles 303A y 303B de la cata 3, ya que en estos últimos se han hallado también fósiles de osos de las cavernas que podrían pertenecer a la misma osera (Figura 4).

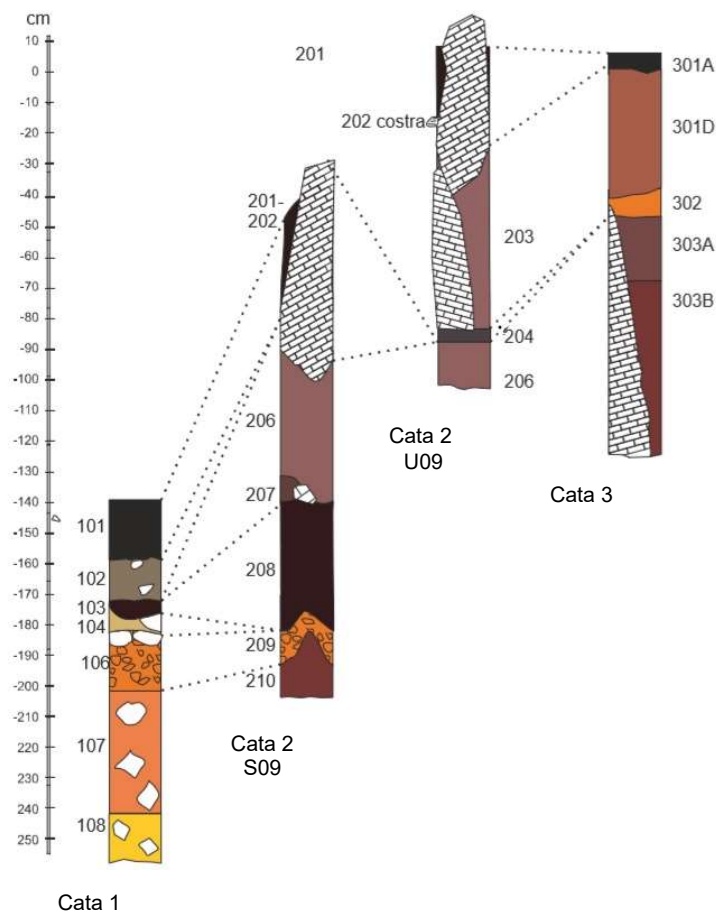


Figura 4. Propuesta de correlación estratigráfica en la Galería 1 (Tomado de Mateos *et al.*, 2019).

#### 4.1. Tafonomía e interpretación.

Los huesos tienen alteraciones químicas; el cambio de humedad en la cueva posiblemente provocó disolución y coloración por manganeso. Se ha observado la

acción de dientes de carnívoro sobre la superficie de algunos restos, mostrándose algunas veces impronta de perforaciones y depresiones (Rodríguez y Mateos, 2014).

Mateos *et al.* (2019), interpretan que la galería fue utilizada como lugar de hibernación por los osos de las cavernas durante el Pleistoceno superior, los miles de restos de *U. spleaeus* permiten establecer una ocupación reiterada de esta galería por los osos durante bastante tiempo y por bastantes individuos. Adicionalmente, establecieron un número mínimo de 18 individuos con un perfil de muerte atricional, dominado por individuos infantiles y menores de un año de edad.

Respecto a los restos de organismos de otras especies, es importante indicar que los ciervos, rebecos y caballos, no son organismos que frecuenten cuevas y en consecuencia, no existe aún alguna explicación del que porque sus restos se han hallado en el interior de la cueva.



## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. Sitio de estudio

El lugar de estudio en el que se centró la presente investigación es el yacimiento arqueo-paleontológico “Galería 1”, la cual es una galería perteneciente a un sistema kárstico con depósitos del Pleistoceno; este sistema de cavidades se encuentra en una elevación montañosa llamada “La Loma” compuesta principalmente de calizas marinas del Cretácico Superior (Cartografía del IGME, 1982; Figura 5). Galería 1 se localiza en la vertiente sur de la Sierra del Brezo, al noroeste de Palencia, España y pertenece a la comunidad Castilla y León, dentro de la Comarca de La Peña ubicándose entre las localidades de Guardo y Cantoral de la Peña, al sur del poblado Villanueva de Arriba ( $42^{\circ} 47' 8.53''$  N y  $4^{\circ} 46' 39.36''$  O) y a 1145 metros sobre el nivel del mar (msnm) (Figura 6). La cueva en donde se encuentra esta galería, es de gran tamaño (medio kilómetro de largo) y con dos principales entradas que atraviesan la formación montañosa al norte y al sur, y es comúnmente llamada “Cueva de Guantes”. Galería 1 se encuentra a unos metros de la entrada sur de la cueva, en un nivel superior al de la entrada principal.



Figura 5. Apariencia exterior de la Cueva de Guantes.



Figura 6. Ubicación de la Cueva de Guantes, Palencia (España).



La Cueva de Guantes se sitúa en la cuenca del Duero formado por un gran número de ríos y arroyos (Figura 7); el nombre del río principal que atraviesa toda la comunidad Castilla y León mantiene el mismo nombre que la Cuenca y su caudal se enriquece con importantes afluentes. En Palencia, los principales cuerpos de agua son el río Pisuerga y el río Carrión, este último perteneciente al Canal de Castilla (Infraestructura de Datos Espaciales de Castilla y León, IDECYL). La Cueva de Guantes está rodeada por diversos ríos y arroyos, que llevan en sus corrientes aguas de numerosos afluentes que nacen en las muchas elevaciones montañosas que se extienden a los alrededores. Dos ríos permanentes pasan a unos metros de la cueva, el río Heras, al norte, y el río Valdavia, al este, los cuales se unen en un punto al este de la cueva (Figura 8).



Figura 7. Ríos principales que corren a través de la comunidad Castilla y León.

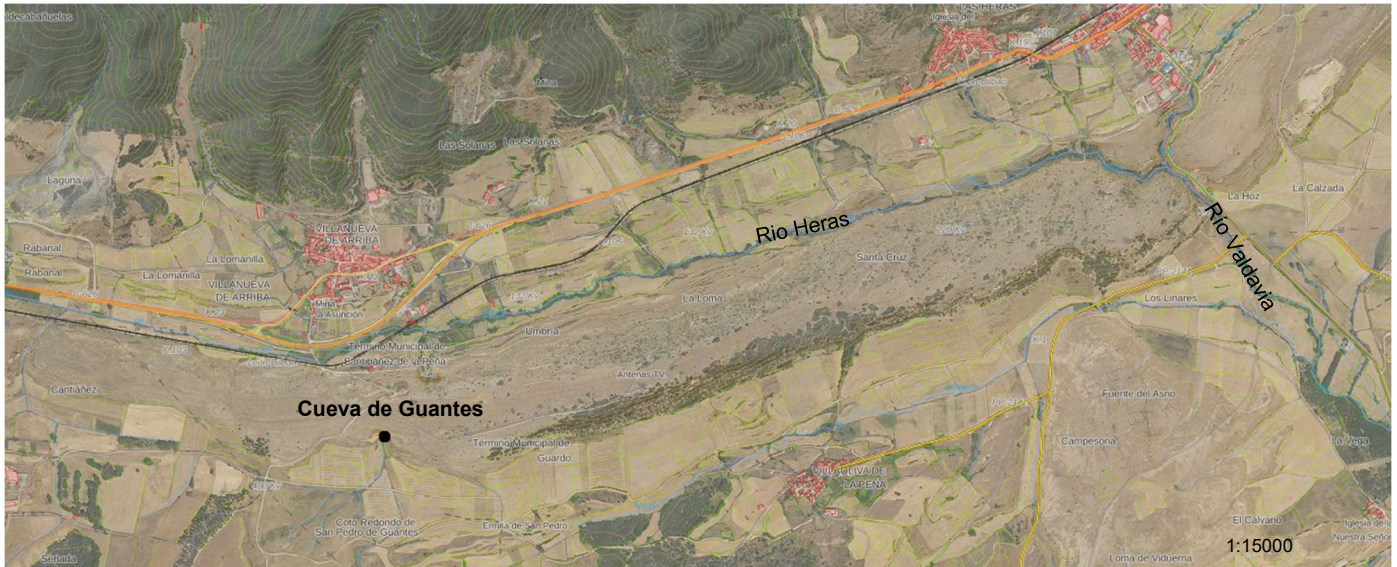


Figura 8. Ubicación de los dos ríos de los que se obtuvo muestras de agua: Río Heras y Río Vadivia.

## 5.2. Métodos

**5.2.1. Material fósil y obtención de muestras.** En el presente trabajo se usó el esmalte dental y el colágeno del hueso de los restos de *Ursus spelaeus* encontrados en el nivel 206 de la Cata 2, situada en la Galería 1 de la Cueva de Guantes. Dichos restos fósiles actualmente se encuentran albergados en el Museo de Palencia, España.

Se escogieron 9 piezas dentales, cuatro de osos juveniles y cinco de adultos (Cuadro 1); así mismo, también se eligieron fragmentos de costilla de cinco osos adultos y un juvenil; además de 4 fragmentos de vértebras pertenecientes a organismos juveniles (Cuadro 2). Para las piezas dentales, la edad de los organismos se estimó con el método propuesto por Rodríguez y Mateos, (2014), basados en Debeljak (1996). Dicho método emplea el grado de desarrollo, erupción y desgaste de las piezas dentales; por ejemplo, los molares se pueden clasificar en función del desarrollo de la corona y la raíz, el desgaste, y si se trata de una pieza

decidua o no. Respecto a los fragmentos de costillas y vértebras, se estimó la edad de los individuos por medio de la observación del proceso de fusión de la epífisis (Marks y Erickson, 1966) y en consecuencia, solo se pudo determinar si se trataba de organismos adultos o inmaduros.

Cuadro 1. Piezas dentales elegidas para el análisis isotópico de carbono y oxígeno. Se muestra la edad estimada para organismo (Debeljak, 1996; Rodríguez y Mateos, 2014).

| <b>Número de catálogo</b> | <b>Pieza dental</b> | <b>Edad Estimada</b> |
|---------------------------|---------------------|----------------------|
| <b>2014/29/2/431</b>      | m1                  | 9 a 12 meses         |
| <b>2010/16/2/55</b>       | m1                  | 6 a 9 meses          |
| <b>2013/13/2/424</b>      | m1                  | 6 a 9 meses          |
| <b>2013/13/2/349</b>      | m1                  | 6 a 9 meses          |
| <b>2010/16/2/53</b>       | m1                  | Adulto (>4 años)     |
| <b>2011/16/2/322</b>      | Canino              | Adulto               |
| <b>2016/22/2/260</b>      | m2                  | Adulto-Senil         |
| <b>2011/16/2/111</b>      | Canino              | Adulto               |
| <b>2011/16/2/598</b>      | P4                  | Adulto               |

Cuadro 2. Vértebra y costillas elegidas para el análisis isotópico de carbono y nitrógeno.

| Número de catálogo | Pieza                 | Edad estimada |
|--------------------|-----------------------|---------------|
| 2014/29/2/52       | Fragmento de costilla | Adulto        |
| 2016/22/2/727      | Fragmento de costilla | Adulto        |
| 2013/13/2/126      | Fragmento de costilla | Adulto        |
| 2013/13/2/374      | Fragmento de costilla | Adulto        |
| 2014/29/2/98       | Fragmento de costilla | Adulto        |
| 2014/29/2/64       | Fragmento de costilla | Juvenil       |
| 2011/16/2/274      | Fragmento de vértebra | Juvenil       |
| 2015/27/2/449      | Fragmento de vértebra | Juvenil       |
| 2015/27/2/433      | Fragmento de vértebra | Juvenil       |
| 2015/27/2/501      | Fragmento de vértebra | Juvenil       |

**5.2.2. Obtención de muestras de agua.** Para una mejor descripción del comportamiento de los valores isotópicos de oxígeno, se muestrearon dos cuerpos de agua cercanos al sitio de estudio, para posteriormente efectuar un análisis de sus proporciones isotópicas de oxígeno. Las mencionadas muestras, fueron tomadas el 28 de junio de 2019, la primera en el Río Heras (42° 47' 23" N y 4° 46' 33" O), que está a unos metros de la entrada norte de la cueva de Guantes y, la segunda, proviene del Río Valdavia (42° 47' 11" N y 4° 43' 35" O), que tiene conexión al este con el río Heras (Figura 9). Estos dos cuerpos de agua son alimentados por diversos ríos y arroyos, muchos de ellos con agua proveniente de alturas mayores a 1300 msnm (Infraestructura de Datos Espaciales de Castilla y León, IDECYL).





Figura 9. Ubicación espacial de dos ríos cercanos a la Cueva de Guantes, Río Heras y Río Valdavia.

**5.2.3. Análisis isotópico del esmalte.** Las 9 muestras obtenidas de esmalte dental se prepararon con la técnica basada en Koch *et al.* (1997) la cual se describe a continuación:

Se limpió con una lija fina y alcohol la superficie de cada una de las piezas dentales, a continuación, se procedió a la obtención de las muestras de esmalte con ayuda de un taladro Dremel 4300 con broca de carburo. Posteriormente cada muestra se pulverizó en un mortero de ágata con pistilo y se tamizó con malla de 125 micrómetros, obteniéndose así un polvo fino que se depositó en tubos separados y debidamente etiquetados. Concluido esto, se agregó a la muestra 10 ml de peróxido de hidrógeno al 30% y se mantuvo en agitación constante por dos horas; posteriormente esta agua oxigenada se descartó y la muestra se lavó tres veces con agua tipo I (18.2 M $\Omega$ ); un solo proceso de lavado se realiza de la siguiente

manera: la muestra se centrifuga a 8000 rpm por 10 minutos a 20°C, luego, se agrega agua tipo I (18.2 MΩ), para posteriormente desechar esta agua. Una vez concluido el lavado de la muestra, se agregó 4 ml de solución buffer de ácido acético-acetato de calcio 1.0 M, con el objetivo de ajustar el pH a 4.75, dejándose reposar durante nueve horas y en agitación constante. Transcurrido este lapso de tiempo, las muestras volvieron a ser lavadas con agua tipo I (18.2 MΩ) tres veces. Finalmente, a cada muestra se le agregó etanol grado reactivo y a continuación, se secaron en un horno a 90°C durante 24 horas.

Las muestras fueron enviadas y analizadas en el Laboratorio de Isótopos Estables del Laboratorio Nacional de Geoquímica y Mineralogía (LANGEM), en del Instituto de Geología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y se midieron las proporciones isotópicas del carbono y oxígeno de los carbonatos de las muestras usando un espectrómetro de masas Finnigan MAT 253.

La unidad empleada para expresar el resultado del análisis isotópico de carbonatos en esmalte dental fue  $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ ,  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$  y en por mil (‰). Estas unidades determinan las relaciones isotópicas de carbono ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ) y de oxígeno ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) con respecto al estándar internacional *VPDB (Viena Pee Dee Belemnite Limestone)*. Se calculó la  $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$  y  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$  mediante las siguientes fórmulas:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[ \left( \frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{muestra}}}{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}_{\text{VPDB}}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

$$\delta^{18}\text{O} = \left[ \left( \frac{^{18}\text{O}/^{16}\text{O}_{\text{muestra}}}{^{18}\text{O}/^{16}\text{O}_{\text{VPDB}}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

Adicionalmente el LANGEM proporciona el resultado de los valores de  $\delta^{18}\text{O}$  en escala VSMOW, y en unidades por mil (‰).



**5.2.4. Análisis isotópico del colágeno.** Las 10 muestras obtenidas de fragmentos de costilla y vértebras de los osos de las cavernas se prepararon con la técnica basada en Koch et al. (1997), la cual se describe a continuación:

Se limpió la superficie de cada fragmento de costilla y vértebra con acetona, luego, se usó el taladro Dremel 4300 con un trepanador de 1 cm de diámetro para tomar una muestra de hueso con un peso aproximado de 400 mg.

Posteriormente, cada muestra se pulverizó en un mortero de ágata con pistilo y se tamizaron con malla de 125 micrómetros; una vez obtenido un polvo fino, se colocaron cantidades no menores de 1 gramo de cada muestra pulverizada en tubos, a continuación, se agregaron 10 ml de ácido clorhídrico (HCl) 0.5 M para mantener un pH menor a 1 y se agitó durante 30 minutos posterior a esto, al igual que con las muestras de esmalte dental, se realizaron tres lavados, luego, se verificó con un papel indicador que el pH fuera igual a 7 (Figura 10).



Figura 10. Procesamiento de muestras en el Laboratorio de Isótopos Estables en el Instituto de Geología de la UNAM

Para la remoción de los ácidos húmicos que pudieran existir en la muestra, se adicionó 5 ml de NaOH 0.1 M por una hora y en agitación constante; después, se centrifugó a 8000 rpm por 10 minutos y a 20°C, desechando el sobrenadante. Se lavó cada muestra tres veces y se constató un pH igual a 7.

Posteriormente se agregó 5 ml de HCl 0.5 M por una hora con agitación constante, y se volvió a centrifugar por 10 minutos a 8000 rpm a 20°C. Una vez concluido este procedimiento, se lavó cada muestra tres veces y se verificó que el pH fuera igual a 7. El sobrenadante fue desechado.

Una vez concluido el procedimiento anterior, se adicionaron 12 ml de agua tipo I (18.2 MΩ) y se ajustó el pH de la solución a 3, añadiendo 2 ml de HCl 0.01 M; efectuado esto, se colocaron en un horno a 80°C por 20 horas, este proceso provoca que el colágeno se disuelva como "gelatina". Finalmente se filtró la solución (caliente) usando filtros de plata de 25 mm de diámetro y 0.45 μm de tamaño de poro, así, se colocó la solución en tubos, que se congelaron y se secaron por medio de liofilización por 24 horas.

Concluido el procesamiento de las muestras, estas fueron enviadas y analizadas en el Laboratorio de Isótopos Estables, LANGEM, Instituto de Geología, UNAM y se midieron las proporciones isotópicas de carbono y nitrógeno del colágeno proveniente de las muestras en un espectrómetro de masas Finnigan MAT 253.

Las unidades empleadas para expresar los resultados del análisis isotópico del colágeno óseo fueron  $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$  y  $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$ , y en por mil (‰). Se calculó la  $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$  y  $\delta^{18}\text{N}_{\text{AIR}}$  mediante las siguientes fórmulas:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[ \left( \frac{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}_{\text{muestra}}}{{}^{13}\text{C}/{}^{12}\text{C}_{\text{VPDB}}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

$$\delta^{18}\text{N} = \left[ \left( \frac{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{muestra}}}{{}^{15}\text{N}/{}^{14}\text{N}_{\text{AIR}}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

Para verificar que las muestras de colágeno no hayan modificado por procesos diagenéticos se realizó la prueba propuesta por DeNiro (1985), donde se mide la concentración de carbono y nitrógeno presente en él (proporciones atómicas de C/N de “gelatina” obtenida), ésta prueba fue proporcionada y realizada por el LANGEM. DeNiro (1985), Schoeninger *et al.* (1989), y Ambrose (1990) indican un intervalo de valores de C/N de 2.6 a 3.5 para indicar una conservación óptima del colágeno en restos fósiles y esto garantiza un apto análisis de la composición isotópica de las muestras.

**5.2.5. Análisis isotópico de muestras de agua.** Las muestras de agua fueron enviadas inmediatamente después de ser tomadas (apartado 5.2.2) al LANGEM-UNAM, donde fueron filtradas con filtros “Titan 3” y tamaño de poro: 0.20  $\mu\text{m}$ , membrana PES (Polietilen sulfona) de 30 mm de diámetro, marca Thermo Scientific, posteriormente se colocó 1.75 mL de cada muestra en viales de vidrio de 2.0 mL con septa de teflón.

Las proporciones isotópicas de las muestras de agua se analizaron utilizando un equipo LWIA (Liquid Water Isotope Analyzer, Los Gatos Research, Inc.) y un automuestreador LC PAL. Para la expresión de los valores isotópicos de las muestras de los cuerpos de agua, se usó la unidad de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$  y en por mil (‰). Esta unidad determina las relaciones isotópicas de oxígeno ( $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ) con respecto al estándar internacional *VSMOW* (*Vienna Standard Mean Ocean Water*). Se calculó la  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$  mediante la siguiente fórmula:

$$\delta^{18}\text{O} = \left[ \left( \frac{^{18}\text{O}/^{16}\text{O}_{\text{muestra}}}{^{18}\text{O}/^{16}\text{O}_{\text{VSMOW}}} \right) - 1 \right] \times 1000$$

**5.2.6. Análisis estadístico: esmalte dental.** Se obtuvo el valor máximo, el mínimo y el valor promedio de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ ; posteriormente se buscaron diferencias estadísticamente significativas de los valores obtenidos entre los dos grupos de edad. El software utilizado para todas las pruebas estadísticas fue IBM SPSS Statistics versión 20 (Portilla, 2006).

Ya que se trabajó con una muestra pequeña se decidió realizar la prueba de normalidad Shapiro-Wilk con un nivel de significancia de 0.05. Esta prueba fue realizada para los valores obtenidos de  $\delta^{13}\text{C}$  y para valores  $\delta^{18}\text{O}$ .

La prueba de normalidad arrojó un valor de 0.643 para los valores de  $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ , esto nos indicaría que los datos se distribuyen de manera normal, sin embargo, para los valores de  $\delta^{18}\text{O}$  se obtuvo un nivel de significancia de 0.021, por

consiguiente, se decidió usar una prueba no paramétrica para la comparación de los dos grupos de edad.

Por lo anterior, para conocer diferencias significativas entre los organismos juveniles y adultos se optó por un análisis no paramétrico U de Mann-Whitney con un nivel de significancia de 0.05.

**5.2.7. Análisis estadístico: colágeno óseo.** Se obtuvo el valor máximo, el mínimo y el valor promedio de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  y dado que son pocos datos obtenidos, se optó por realizar la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, con el propósito de identificar posibles diferencias significativas entre organismos adultos y juveniles. Dicha prueba se efectuó con el software *IBMSPSS Statistics versión 20* con un nivel de significancia de 0.05 (Portilla, 2006).

**5.2.8. Análisis estadístico: agua.** Los valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$  del agua ingerida por los osos se calcularon a partir de los valores obtenidos del análisis isotópico en los carbonatos del esmalte dental en escala VSMOW; se usó la fórmula propuesta por Iacumin *et al* (1996):

$$\delta^{18}\text{O}_{\text{agua ingerida (VSMOW)}} = \frac{\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW de CO}_3} - 33.63}{0.998}$$

Para una mejor interpretación de los resultados, se compararon con los valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$  obtenidos de las muestras de los dos afluentes; sin embargo, los valores obtenidos de esmalte dental representarían un registro de agua ingerida por los osos en una escala de tiempo más amplia que la que representan las dos

muestras de agua (mes de junio); por lo tanto, para una descripción más amplia de éstos resultados adicionalmente se calcularon los valores promedio de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$  anuales y mensuales del agua meteórica para el sitio. Esto se llevó a cabo con la herramienta en línea “OPIC: The Online Isotopes in Precipitation Calculator” (Bowen y Revenaugh, 2003; Bowen *et al.*, 2005; IAEA / WMO, 2015; Bowen, 2017); esta herramienta utiliza las coordenadas, elevación, y una base de datos para definir un valor específico para un punto del globo terráqueo.

## 6. RESULTADOS

### 6.1. Análisis isotópico de esmalte dental.

**6.1.1. Relaciones isotópicas del carbono.** El valor máximo de  $\delta^{13}\text{C}$  obtenido fue de  $-12.9\text{‰}$ , el valor mínimo fue de  $-15.6\text{‰}$ , mientras que el valor promedio fue de  $-14.1\text{‰}$  (Cuadro 3). La prueba no paramétrica U de Mann-Whitney tuvo como resultado una significancia de 0.624, lo que indica que no se encuentran diferencias significativas de los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre organismos adultos y juveniles.

**6.1.2. Relaciones isotópicas del oxígeno.** Respecto a lo que se refiere a los valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$ , se obtuvo un valor máximo de  $-5.0\text{‰}$ , un valor mínimo de  $-5.9\text{‰}$  y un valor promedio de  $-5.6\text{‰}$  (Cuadro 3). El análisis no paramétrico U de Mann-Whitney mostró un valor de significancia de 0.105 y mayor que 0.05, lo que indica que no hay diferencias significativas entre valores de adultos y juveniles.

La estimación de los valores correspondientes de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$  para el agua meteórica ingerida por cada organismo se muestra en el Cuadro 4 y mostró un valor promedio de  $-8.5\text{‰}$ .

Cuadro 3. Resultados del análisis isotópico del esmalte dental

| Oso  | Pieza dental | $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$ (‰) | $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$ (‰) | $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ (‰) | $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$ (‰) | Edad estimada    |
|------|--------------|---|---|--|--|------------------|
| O-11 | m1           | -14.3                                   | -5.7                                    | 25                                       | -8.6                                     | 9 a 12 meses     |
| O-12 | m1           | -15.4                                   | -5.3                                    | 25.5                                     | -8.2                                     | 6 a 9 meses      |
| O-13 | m1           | -14.7                                   | -5                                      | 25.8                                     | -7.9                                     | 6 a 9 meses      |
| O-14 | m1           | -12.9                                   | -5.7                                    | 25.1                                     | -8.6                                     | 6 a 9 meses      |
| O-15 | m1           | -15.6                                   | -5.8                                    | 25                                       | -8.7                                     | Adulto (>4 años) |
| O-16 | Canino       | -13.7                                   | -5.8                                    | 24.9                                     | -8.7                                     | Adulto           |
| O-17 | m2           | -13.8                                   | -5.9                                    | 24.8                                     | -8.9                                     | Adulto-Senil     |
| O-18 | Canino       | -13                                     | -5                                      | 25.7                                     | -7.9                                     | Adulto           |
| O-19 | P4           | -14                                     | -5.9                                    | 24.8                                     | -8.9                                     | Adulto           |

## 6.2. Análisis isotópico de colágeno.

**6.2.1. Proporciones atómicas de C/N.** Esta prueba diagenética indicó que ocho de las diez muestras analizadas se encuentran dentro del intervalo 2.6‰ a 3.5‰ óptimo en colágeno y apto para el análisis isotópico, en consecuencia, solo dos muestras se excluyeron (DeNiro, 1985; Schoeninger *et al.*, 1989; Ambrose; 1990) (Cuadro 4).

**6.2.2. Relaciones isotópicas del carbono.** El análisis mostró un valor de  $\delta^{13}\text{C}$  mínimo de -22.6‰, un valor máximo de -21.3‰, y un valor promedio de -21.7‰. La prueba no paramétrica U de Mann-Whitney mostró una significancia de 0.043 para los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  sin embargo, aunque la prueba indicó diferencias



estadísticas entre los dos grupos de edad, sin embargo, los valores se mantienen en un pequeño intervalo de 1.3‰ (Cuadro 4).

**6.2.3. Relaciones isotópicas de nitrógeno.** Se obtuvo un valor de  $\delta^{15}\text{N}$  máximo de 9.7‰, un mínimo de 2.2‰ y un promedio de 4.9‰. La prueba no paramétrica U de Mann-Whitney mostró una significancia de 0.663, no existiendo diferencias significativas entre la composición isotópica de nitrógeno de los organismos adultos y juveniles (Cuadro 4).

Cuadro 4. Resultados del análisis isotópico en colágeno óseo.

| Oso  | $\delta^{15}\text{N}_{\text{AIR}}$<br>(‰) | $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$<br>(‰) | C/N | Pieza    | Edad<br>estimada |
|------|---|--|-----|----------|------------------|
| O-1  | 3.1                                       | -21.4                                      | 2.8 | Costilla | Adulto           |
| O-2  | 8.3                                       | -21.7                                      | 2.6 | Costilla | Adulto           |
| O-3  | 3.5                                       | -21.3                                      | 2.9 | Costilla | Adulto           |
| O-4  | 5.3                                       | -21.5                                      | 2.6 | Costilla | Adulto           |
| O-5  | 3.3                                       | -22  | 2.5 | Costilla | Adulto           |
| O-6  | 4.2                                       | -22.6                                      | 2.6 | Costilla | Juvenil          |
| O-7  | 2.2                                       | -21.9                                      | 2.6 | vértebra | Juvenil          |
| O-8  | 3.1                                       | -21.6                                      | 2.6 | vértebra | Juvenil          |
| O-9  | 9.7                                       | -21.8                                      | 3.3 | vértebra | Juvenil          |
| O-10 | 10  | -22.4                                      | 3.9 | vértebra | Juvenil          |

### 6.3. Relaciones isotópicas de oxígeno del agua muestreada.

El resultado del análisis de las proporciones isotópicas de las dos muestras de agua mostró un valor de  $\delta^{18}\text{O}$  de -9.4‰ para el Río Heras, y de -9.6‰ para el Río Valdavia. Por otro lado, los valores anuales calculados con la herramienta OIPC (Cuadro 5) para el agua meteórica correspondiente al sitio, mostraron que los valores del agua muestreada coinciden mejor con los valores calculados para el

mes de noviembre (9.7‰); no obstante, el valor promedio anual calculado para el agua meteórica del sitio exhibió un valor de -8.8‰.

Cuadro 5. Valores isotópicos de oxígeno calculado mensualmente para el sitio a partir de la herramienta OIPC.

| <b>Mes</b> | <b>Valor <math>\delta^{18}\text{O}_{\text{vsmow}}</math> mensual</b> |
|------------|--|
| Enero      | -11.4  |
| Febrero    | -11.4  |
| Marzo      | -10.4  |
| Abril      | -8.4   |
| Mayo       | -6.2   |
| Junio      | -4.6   |
| Julio      | -3.3   |
| Agosto     | -3.9   |
| Septiembre | -5.0   |
| Octubre    | -7.5   |
| Noviembre  | -9.7   |
| Diciembre  | -10.3  |

## 7. DISCUSIÓN.

El análisis de las relaciones isotópicas del carbono en el esmalte dental (Figura 11) y en el colágeno óseo (Figura 12) mostraron intervalos que evidenciaron la posibilidad de que todos los osos, independientemente de su edad, se alimentaban de fuentes similares con intervalos correspondientes a plantas  $\text{C}_3$ ,

según la propuesta de Domingo *et al.* (2013). Sin embargo, esto último sólo sería válido si los úrsidos estudiados fueran estrictamente herbívoros como anteriormente lo han inferido diversas investigaciones (Llona *et al.*, 2005; Grandal-d' Anglade, 2010; Robu *et al.*, 2013; Martini *et al.*, 2014; Heteren *et al.*, 2016; Bocherens, 2019). No obstante, habría también que tomar en cuenta otras propuestas que difieren en este sentido, como Ramírez-Pedraza *et al.*, (2019a; 2019b), quienes observaron una probable alimentación omnívora y carnívora usando un análisis de microdesgaste dental en conjunto con un análisis isotópico del nitrógeno para una mejor interpretación dietética; Harrison (2018) utilizando el análisis de microdesgaste dental, también encuentra una gran variabilidad alimenticia.

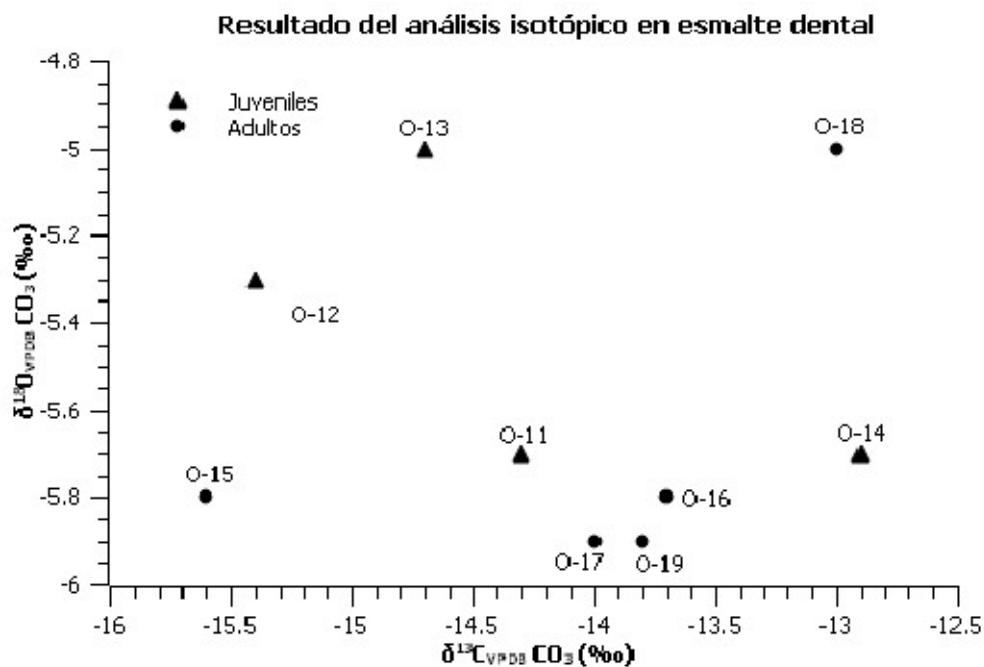


Figura 11. Valores  $\delta^{13}\text{C}_{\text{VPDB}}$  y  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VPDB}}$  obtenidos de muestras de esmalte dental. Los organismos adultos están representados por círculos, los organismos juveniles están representados por triángulos. Cada punto en la gráfica muestra el número de muestra.

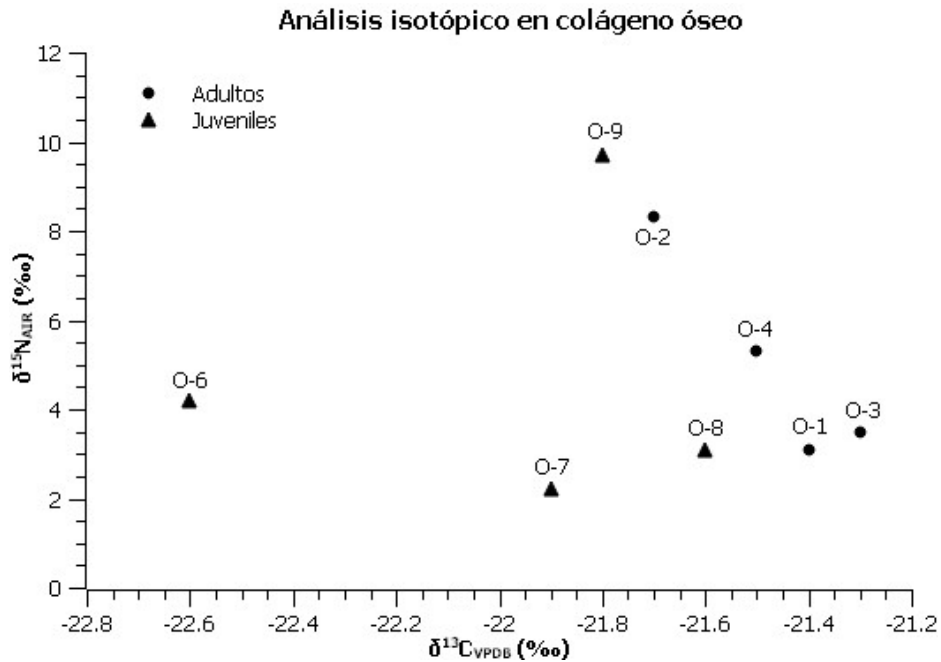


Figura 12. Resultados del análisis isotópico en el colágeno óseo, los organismos juveniles están representados por triángulos y los organismos adultos por círculos. Se dividen en tres niveles tróficos, teniendo un aumento de 3‰ en cada paso hacia arriba.

Aunado a lo anterior, todos los valores isotópicos de oxígeno provenientes de esmalte dental indicaron que los osos habitaron áreas geográficas similares; adicionalmente, los valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$  calculados para el agua ingerida por los osos sugirieron que las piezas dentales analizadas pertenecieron a osos que probablemente obtendrían agua de fuentes similares. Si bien se sabe que los valores de  $\delta^{18}\text{O}$  del agua son susceptibles a diversos factores ambientales (por ejemplo: altura, temperatura y precipitación) y pueden ofrecer información en reconstrucciones paleoambientales (Epstein *et al.*, 1951; Epstein y Mayeda, 1953; Rozanski y Araguás-Araguás, 1995; Higgins, 2018), los valores calculados de  $\delta^{18}\text{O}$  del agua ingerida por estos osos no son lo suficientemente consistentes para una inferencia paleoambiental, esto es que el agua ingerida sólo representa los meses activos de estos organismos, puesto que en los meses más fríos se refugiarían en

la cueva para iniciar su hibernación (Fernandez-Mosqueira *et al.*, 2001). Germonpré y Sablin (2001) basados en la hibernación del oso pardo y en la edad de muerte de osos de las cavernas en la Cueva de Goyet (Bélgica) estiman que el periodo activo en los osos de las cavernas probablemente tendría lugar durante los meses de mayo-junio a octubre (Nelson *et al.*, 1973, 1975; Grandal-d'Anglade y Mosquera, 2008). En consecuencia, las relaciones isotópicas del oxígeno calculadas para el agua ingerida por los osos de las cavernas de la Cueva de Guantes durante su periodo activo es de -8.5‰, y el cual es evidentemente más negativo que el promedio de los valores calculados que se esperarían en el agua meteórica durante los meses de mayo a octubre utilizando la herramienta OIPC (-5‰). Así mismo, se conoce que actualmente en Palencia los meses de julio, agosto y septiembre son los más cálidos y los que poseen la menor cantidad de precipitación en el año (Agencia Estatal de Meteorología, 2016). Si bien estos resultados podrían hablarnos de condiciones más frías y húmedas que en la actualidad, la falta de una datación para los restos fósiles del nivel 206, aunado a una falta de otros proxys paleoclimáticos (por ejemplo, el registro palinológico) imposibilitan esta aseveración.

Adicionalmente, la variación que existe entre los valores de  $\delta^{18}\text{O}_{\text{VSMOW}}$  obtenidos del análisis del agua muestreada (-9.4‰ y -9.6‰) con los valores calculados para el agua meteórica (-4.6‰), exhibe las dificultades que se presentan en la descripción de posibles migraciones u origen geográfico de los osos de las cavernas estudiados. Las fuentes potenciales de agua para los organismos en gran parte son cuerpos de agua y no agua de lluvia, por lo que los organismos podrían

tomar agua en más de uno de estos primeros, y los cuales posiblemente podrían llevar consigo corrientes provenientes de sistemas de cuencas originados en las diversas elevaciones montañosas de la Sierra del Brezo, como actualmente ocurre y puede constatarse en estos dos ríos muestreados (Infraestructura de Datos Espaciales de Castilla y León, IDECYL).

Sería ideal contar con otros estudios que ayudaran a interpretar los resultados obtenidos, el análisis de los isótopos de estroncio ( $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ ) podría ayudar en gran medida a la descripción de posibles migraciones o movimientos geográficos, además, el resultado de dichos análisis son independientes del agua ingerida por los organismos y de las fuentes potenciales de agua (Price *et al.*, 2002, 2004; Copeland *et al.*, 2016), y por lo anterior, se constataría el poco movimiento geográfico de los osos. Dicha herramienta actualmente se ha aprovechado muy poco en *Ursus spelaeus* y en la literatura hay escasas investigaciones sobre el tema, sin embargo, investigaciones como la de Abelova (2006), apuntan a poca capacidad de desplazamiento geográfico y nula migración. Por otro lado, otro tipo de estudios también concuerdan con lo anterior, por ejemplo, Fortes *et al.* (2016) y Grandal-d'Anglade *et al.* (2019) analizando el ADNm de osos de las cavernas encuentran que estos pudieron haber mantenido una fidelidad extrema a la cueva en donde nacieron durante toda su vida.

Por otro lado, los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  obtenidos del colágeno exhibieron un amplio intervalo (2.2‰ a 9.7‰). Dentro de una comunidad de mamíferos, se esperaría que los herbívoros posean los valores menos positivos de  $\delta^{15}\text{N}$ , no obstante, como ya se ha mencionado, en la literatura existe una extensa

incertidumbre respecto a la flexibilidad alimentaria de los osos de las cavernas (Wada *et al.*, 1986; Minagawa y Wada, 1984; Schoeninger y DeNiro, 1984; Ambrose, 1993; Sponheimer *et al.*, 2003). El fraccionamiento isotópico del nitrógeno y carbono no ocurre de igual forma en todos los mamíferos, dependiendo entre otras cosas, de la biología del organismo, su biomasa, y de la contribución relativa que aporte el alimento (Palmqvist *et al.*, 2008); sin embargo, en los úrsidos existe un factor más, la hibernación, durante la cual pueden cambiar las proporciones isotópicas del nitrógeno (Nelson *et al.*, 1998; Fernandez-Mosquera *et al.*, 2001). Cuando los úrsidos entran en hibernación, comienza un periodo donde básicamente aprovechan la energía de la grasa almacenada en la pre-hibernación para sobrevivir, ya que no comen, beben, ni excretan ningún tipo de sustancia de desecho, además de que mantienen su masa muscular casi sin cambios (Nelson *et al.*, 1973; Ramsay, 1993; Lohuis *et al.*, 2007). Su tasa metabólica, su temperatura corporal, y su masa ósea no cambian durante este periodo, además, su organismo mantiene los azúcares en sangre, esenciales para el buen funcionamiento del cerebro. Para lograr esta eficiencia deben evitar la intoxicación del cuerpo por acumulación de sustancias de desecho y al mismo tiempo mantener su masa muscular y los azúcares en sangre, para ello poseen un complicado sistema de reciclaje de urea: esta sustancia se hidroliza y se combina con glicerol para producir aminoácidos, haciendo posible metabolizar proteínas, reciclándose un 99.7% de la urea en el cuerpo durante la hibernación (Barboza *et al.*, 1997; Hellgren 1998; Llona *et al.*, 2005).

La descomposición de las proteínas durante el ayuno en este periodo elimina selectivamente  $^{14}\text{N}$  de los tejidos catabolizados, causando un aumento en la

proporción del  $^{15}\text{N}$ ; así mismo, el anabolismo y la síntesis de proteínas durante este periodo tienen valores elevados de  $\delta^{15}\text{N}$ , y por lo tanto, en los aminoácidos plasmáticos (Lee *et al.*, 2012). Como consecuencia de estos procesos existe un incremento del valor  $\delta^{15}\text{N}$  en un 18% a 20% después de varios meses de hibernación (Lohuis *et al.*, 2007).

Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  obtenidos del colágeno no tuvieron diferencias significativas entre los organismos adultos y juveniles, no obstante, está documentado que es posible encontrar diferencias significativas entre mamíferos juveniles y adultos (Jenkins *et al.*, 2001) incluso en osos carnívoros actuales (Polischuk *et al.*, 2001) debido a cambios de alimentación o periodos de lactancia materna. El amplio intervalo encontrado hace imposible identificar individuos juveniles que pudieran hallarse con una dieta diferente a la de los adultos, esto aunado a la poca información sobre la edad de los organismos de los cuales se tomaron las muestras de hueso. Cabe mencionar, que los osos de las cavernas tenían un tiempo especialmente largo de lactancia, aproximadamente de dos años, pudiendo así aumentar la señal isotópica de los cachorros durante este periodo de tiempo y que además estaría afectada por los procesos metabólicos de la hibernación (Liden y Angerbjörn, 1999). La lactancia por sí sola provocaría que los valores isotópicos de nitrógeno aumentaran en un nivel trófico respecto a las madres, esto independientemente de si la especie es hibernante o no (Jenkins *et al.*, 2001).

Adicionalmente, Nelson *et al.* (1998) proponen que, a diferencia de otros mamíferos, los neonatos de *U. spelaeus* nacían poseyendo en su colágeno óseo,



nitrógeno más pesado que el que exhibiría su madre originalmente (aproximadamente en un 5‰) y, esto sería consecuencia del reciclaje de urea que ocurre en la hibernación.

Por lo anterior las relaciones isotópicas del nitrógeno podrían estar reflejando valores que no corresponden necesariamente a la contribución relativa de la dieta o periodos de lactancia. Los cambios metabólicos que ocurren en estos mamíferos hibernantes son de especial importancia, ya que los restos fósiles de úrsidos encontrados en cuevas frecuentemente podían haber muerto durante su hibernación.

## 8. CONCLUSIONES

Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$  obtenidos del esmalte dental evidenciaron que las piezas dentales pertenecían a osos de las cavernas que independientemente de su edad, se alimentaban y bebían agua de fuentes similares. Sin embargo, esto arrojaría nuevos datos para esta especie, los cuales serían congruentes con la interpretación tafonómica de la osera en el nivel estratigráfico de donde provienen los restos fósiles (nivel 206). Así, probablemente estos organismos habitaban zonas cercanas a la cueva de Guantes, la cual usarían reiteradamente para refugiarse al iniciar su hibernación, aportando en gran medida a investigaciones recientes que infieren la gran fidelidad que poseían los osos de las cavernas a la osera en donde nacieron.

Por otro lado, los análisis isotópicos de carbono y nitrógeno en el colágeno, exhibieron valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  que también sugieren una poca variabilidad en sus fuentes de alimentación, por lo que no fueron útiles para una descripción trófica ni una identificación de periodos de lactancia materna o cambios alimentarios y por ende, hallar diferencias en tales rasgos entre juveniles y adultos. Derivado de lo anterior, es interesante el amplio intervalo de valores obtenido del análisis isotópico de nitrógeno, que bien podrían ser el resultado de los procesos fisiológicos y metabólicos que ocurren durante la hibernación de *U. spelaeus* como se ha constatado en diversos trabajos.

Por lo anterior, sería ideal incrementar el número de individuos, combinando técnicas de microdesgaste e isotopos estables de carbono y oxígeno, así como de

estroncio del esmalte dental y, de las relaciones isotópicas de carbono y nitrógeno del colágeno de mandíbula, a fin de corroborar si existen diferencias entre los hábitos alimentarios, de hábitat, nivel trófico y movimientos geográficos entre juveniles y adultos y, de esta forma comprender mejor la paleobiología de esta especie de úrsido, corroborando las hipótesis que indican que los úrsidos no se desplazaban lejos de las oseras donde nacían e hibernaban.

## 9. REFERENCIAS

Ábelová, M. (2007). Paleodiet inferred from *Ursus spelaeus* (Rosenmüller et Heinroth) tooth from Tmavá skala cave (Slovak Republic) using carbon isotope analyses. *Acta Musei Moraviae, Scientiae Geologicae* (Brno). 92, 151-156.

Abelova, M. (2006). Migration pattern inferred from *Ursus spelaeus rosenmuller* tooth from Tmava skala cave (Slovak republic) using strontium isotope analyses. *Επιστημονική Επετηρίδα του Τμήματος Γεωλογίας (ΑΠΘ)*, 98, 123-126.

Agencia Estatal de Meteorología (AEMET): [www.aemet.es](http://www.aemet.es)

Ambrose, S. H. (1990). Preparation and characterization of bone and tooth collagen for isotopic analysis. *Journal of Archaeological Science*. 17(4), 431-451.

Ambrose, S. (1993). Isotopic analysis of paleodiets: methodological and interpretive considerations. En: Sandford MK (ed) *Investigations of ancient human tissue: chemical analyses in anthropology*. Pennsylvania, Gordon and Breach. 59-130.

Ambrose, S. H. (2002). Controlled diet and climate experiments on nitrogen isotope ratios of rats. En: *Biogeochemical approaches to paleodietary analysis*. 243-259.

Ambrose, S. H., DeNiro, M. J. (1986). The isotopic ecology of East African mammals. *Oecologia*. 69(3), 395-406.

Ambrose, S. H., DeNiro, M. J. (1989). Climate and habitat reconstruction using stable carbon and nitrogen isotope ratios of collagen in prehistoric herbivore teeth from Kenya. *Quaternary Research*. 31(3), 407-422.

Ayliffe, L. K., Chivas, A. R., Leakey, M. G. (1994). The retention of primary oxygen isotope compositions of fossil elephant skeletal phosphate. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 58(23), 5291-5298.

Barboza, P. S., Farley, S. D., Robbins, C. T. (1997). Whole-body urea cycling and protein turnover during hyperphagia and dormancy in growing bears (*Ursus americanus* and *U. arctos*). *Canadian Journal of Zoology*. 75(12), 2129-2136.

Benito-Calvo, A., Karampaglidis, T., Martínez-Fernández, A., Bermejo Albarrán, L., Rodríguez, J., Mateos Cachorro, A. (2017). Aplicación de técnicas topográficas 3D de alta resolución (TLS y UAV) y técnicas geofísicas para el estudio genético de cavidades con restos paleolíticos (Cueva de Guantes, Santibáñez de la Peña, Palencia). XII Congreso Ibérico de Arqueometría. 30.

Bocherens, H. (2019). Isotopic insights on cave bear palaeodiet. *Historical Biology*. 31(4): 410-421.

Bocherens H., Fizer, H.M., Mariotti A. (1990). Mise en evidence alimentaire vegetarien de l'ours des cavernes (*Ursus spelaeus*) par la biogeochemie isotopique ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) des vertebres fossiles. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences Serie II*, 311,1279-1284.

Bocherens, H, Fizet, M., Mariotti, A., Lange-Badre, B., Vandermeersch, B., Borel, J. P., Bellon, G. (1991). Isotopic biogeochemistry ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ) of fossil vertebrate collagen: application to the study of a past food web including Neandertal man. *Journal of Human Evolution*. 20(6), 481-492.

Bocherens H., Fizer, H.M., Mariotti, A. (1994). Diet, physiology and ecology of fossil mammals as inferred from stable carbon and nitrogen isotope

biogeochemistry: implications for Pleistocene bears. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*.107, 213-225.

Bocherens, H., Drucker, D. (2003). Trophic level isotopic enrichment of carbon and nitrogen in bone collagen: case studies from recent and ancient terrestrial ecosystems. *International Journal of Osteoarchaeology*. 13(1-2), 46-53.

Bocherens, H., Bridault, A., Drucker, D. G., Hofreiter, M., Münzel, S. C., Stiller, M., Van der Plicht, J. (2014). The last of its kind? Radiocarbon, ancient DNA and stable isotope evidence from a late cave bear (*Ursus spelaeus*, ROSENMÜLLER, 1794) from Rochedane (France). *Quaternary International*. 339, 179-188.

Bocherens, H., Stiller, M., Hobson, K. A., Pacher, M., Rabeder, G., Burns, J. A., Tüken, T., Hofreiter, M. (2011). Niche partitioning between two sympatric genetically distinct cave bears (*Ursus spelaeus* and *Ursus ingressus*) and brown bear (*Ursus arctos*) from Austria: isotopic evidence from fossil bones. *Quaternary International*. 245(2), 238-248.

Bowen, G. J. (2017) The Online Isotopes in Precipitation Calculator, version 3.1. <http://www.waterisotopes.org>.

Bowen G. J. and Revenaugh J. (2003). Interpolating the isotopic composition of modern meteoric precipitation. *Water Resources Research*. 39(10), 1299.

Bowen, G. J., Wassenaar, L. I., Hobson, K. A. (2005). Global application of stable hydrogen and oxygen isotopes to wildlife forensics. *Oecologia*. 143(3): 337-348.

Cerling, T.E., Harris, J.M. (1999) Carbon isotope fractionation between diet and bioapatite in ungulate mammals and implications for ecological and paleoecological studies. *Oecologia*. 120, 347-363.

Cerling, T. E., Harris, J. M., Leakey, M. G. (2005). Environmentally driven dietary adaptations in African mammals. In *A history of atmospheric CO<sub>2</sub> and its effects on plants, animals, and ecosystems*. 258-272.

Copeland, S. R., Cawthra, H. C., Fischer, E. C., Lee-Thorp, J. A., Cowling, R. M., Le Roux, P. J., Hodgkins, J., Marean, C. W. (2016). Strontium isotope investigation of ungulate the Pleistocene Paleo-Agulhas Plain of the greater South Africa. *Quaternary Science Reviews*, 141, 65-84.

Christiansen, P. (1999). What size were *Arctodus simus* and *Ursus spelaeus* (Carnivora: Ursidae)? *En Annales Zoologici Fennici*. 93-102.

Debeljak, I. (1996). Ontogenetic development of dentition in the Cave bear. *Geologija*. 39, 13-77.

DeNiro, M. J. (1985). Postmortem preservation and alteration of in vivo bone collagen isotope ratios in relation to palaeodietary reconstruction. *Nature*. 317(6040), 806.

DeNiro, M. J., Epstein, S. (1981). Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 45(3), 341-351.

Domingo, L., Koch, P. L., Fernández, M. H., Fox, D. L., Domingo, M. S., Alberdi, M. T. (2013). Late Neogene and early Quaternary paleoenvironmental and paleoclimatic conditions in southwestern Europe: isotopic analyses on mammalian taxa. *Plos One*, 8(5).

Epstein, S., Buchsbaum, R., Lowenstam, H., Urey, H. C. (1951). Carbonate-water isotopic temperature scale. *Geological Society of America Bulletin*. 62(4), 417-426.

Epstein, S., Mayeda, T. Variation of  $^{18}\text{O}$  content of waters from natural sources. (1953). *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 4.5, 213-224.

Feranec, R., García, N., Díez, J. C., Arsuaga, J. L. (2010). Understanding the ecology of mammalian carnivorans and herbivores from Valdegoba cave (Burgos, northern Spain) through stable isotope analysis. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 297(2), 263-272.

Fernández-Mosquera, D., Vila-Taboada, M., Grandal-d' Angèle, A. 2001. Stable isotopes data ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) from the cave bear (*Ursus spelaeus*): a new approach to its palaeoenvironment and dormancy. *Proceedings of Royal Society London B*. 268, 1159-1164.

Fortes, G.G., Grandal-d'Anglade, A., Kolbe, B., Fernandes, D., Meleg, I.N., García-Vázquez, A., Pinto-Llona, C., Constantin, S., de Torres, T.J., Ortiz, J.E., Frischauf, C., Raberder, G., Hofreiter, M., Barlow, A. (2016). Ancient DNA reveals differences in behaviour and sociality between brown bears and extinct cave bears. *Molecular Ecology*. 25. 19, 4907-4918.

Fox-Dobbs K, Leonard JA, Koch PL (2008) Pleistocene megafauna from eastern Beringia: paleoecologic and paleoenvironmental interpretations of stable carbon and nitrogen isotope and radiocarbon records. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 21, 30-46.

Fricke, H. C., Rogers, R. R., Backlund, R., Dwyer, C. N., Echt, S. (2008). Preservation of primary stable isotope signals in dinosaur remains, and environmental gradients of the Late Cretaceous of Montana and Alberta. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 266(1-2), 13-27.



Fuentes-Sánchez, D., Mateos, A., Aldea, J., Rodríguez, J. (2019). Evidence of congenital block vertebra in Pleistocene Cave Bear (*Ursus spelaeus*) from Cueva de Guantes (Palencia, Spain). *International Journal of Paleopathology*. 24, 165-170.

Gannes, L.Z., Martínez del Rio, C., Koch, P. (1998). Natural Abundance Variations in stable Isotopes and Potential Uses in Animal Physiological Ecology. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 119(3), 725-737.

Germonpré, M., Sablin, M. V. (2001). The cave bear (*Ursus spelaeus*) from Goyet, Belgium. The bear den in Chamber B (bone horizon 4). *Bulletin de l'Institut Royal des Sciences de Belgique, Science de la Terre*. 71, 209-233.

Grandal-d' Anglade, A. (2010). Bite force of extinct Pleistocene cave bear *Ursus spelaeus* Rosenmüller from Europe. *Comptes Rendus Palevol*. 9, 31-37.

Grandal-d'Anglade, A., Mosquera, D. F. (2008). Hibernation can also cause high  $\delta^{15}\text{N}$  values in cave bears: A response to Richards et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 105(11), E14 39, 1480-1488.

Grandal-d'Anglade, Pérez-Rama, M., García-Vázquez, A., González-Fortes, G.M. (2019). The cave bear's hibernation: reconstructing the physiology and behaviour of an extinct animal. *Historical Biology*. 1-13

Harrison, G.W. (2018). Dietary Variation between adult and juvenile Cave Bears. Conferencia, Geobonn 2018, Bonn, Alemania. Friedrich Alexander Universität, Bavaria, Alemania.

Hedges, R. E. (2003). On bone collagen—apatite-carbonate isotopic relationships. *International Journal of Osteoarchaeology*. 13(1-2), 66 -79.

Hellgren, E.C. (1998). Physiology of hibernation in bears. *Ursus*. 10, 467-477.

Heteren, A.H., MacLarnon, A., Soligo, C., Rae, T.C. (2016). Functional morphology of the cave bear (*Ursus spelaeus*) mandible: 3D geometric morphometric analysis. *Organism Diversity & Evolution*.16, 299-314.

Hilderbrand, G. V., Farley, S. D., Robbins, C. T., Hanley, T. A., Titus, K., Servheen, C. (1996). Use of stable isotopes to determine diets of living and extinct bears. *Canadian Journal of Zoology*. 74(11), 2080-2088.

Higgins, P. (2018). Isotope ecology from biominerals. En: Croft D., Su, D., Simpson, S. *Methods in Paleoecology. Vertebrate Paleobiology and Paleoanthropology*. Cham, Springer. 99-120.

Huertas, A. D., Iacumin, P., Stenni, B., Chillón, B. S., Longinelli, A. (1995). Oxygen isotope variations of phosphate in mammalian bone and tooth enamel. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 59(20), 4299-4305.

Iacumin, P., Bocherens, H., Mariotti, A., Longinelli, A. (1996). Oxygen isotope analyses of co-existing carbonate and phosphate in biogenic apatite: a way to monitor diagenetic alteration of bone phosphate? *Earth and Planetary Science Letters*. 142(1-2), 1-6.

IAEA/WMO. (2015). Global Network of Isotopes in Precipitation. The GNIP Database. Accessible at: <https://nucleus.iaea.org/wiser>.

Infraestructura de Datos Espaciales de Castilla y León, IDECYL.

IGME, Mapa geológico y memoria: Hoja de Guardo Mapa Geológico de España escala 1:50.000 MAGNA, 1982.

Jenkins, S. G., Partridge, S. T., Stephenson, T. R., Farley, S. D., Robbins, C. T. (2001). Nitrogen and carbon isotope fractionation between mothers, neonates, and nursing offspring. *Oecologia*. 129(3), 336-341

Keeling, C. I., Nelson, D. E. (2001). Changes in the intramolecular stable carbon isotope ratios with age of the European cave bear (*Ursus spelaeus*). *Oecologia*. 127(4), 495-500.

Koch, P. L., Tuross, N. y Fogel, M. L. (1997). The effects of sample treatment and diagenesis on the isotopic integrity of carbon in biogenic hydroxyl apatite. *Journal of Archaeological Science*. 24, 417-42.

Koch, P. L. (2007). Isotopic study of the biology of modern and fossil vertebrates. En: Michener, R., Lajtha, K. *Stable isotopes in ecology and Environmental Science*. Boston, Blackwell Publishing. 99-154.

Krajcarz, M. T., Krajcarz, M. (2014). The 200, 000 year long record of stable isotopes ( $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ) of cave bear (*Ursus spelaeus*) teeth from Bisník Cave, Poland. *Quaternary International*. 339-340, 119-130.

Krajcarz, M., Pacher, M., Krajcarz, M. T., Laughlan, L., Rabeder, G., Sabol, M., Wotjal, P., Bocherens, H. (2016). Isotopic variability of cave bears ( $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ) across Europe during MIS 3. *Quaternary Science Reviews*. 131, 51-72.

Kurtén, B. (1995). *The cave bear story: life and death of a vanished animal*. Columbia University Press.

Lee, T. N., Buck, C. L., Barnes, B. M., O'Brien, D. M. (2012). A test of alternative models for increased tissue nitrogen isotope ratios during fasting in hibernating arctic ground squirrels. *Journal of Experimental Biology*. 215 (19), 3354-3361.

LeGeros, R.Z. (1991) *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*. Paris, Karger.

Lohuis, T. D., Harlow, H. J., Beck, T. D. I. (2007). Hibernating black bears (*Ursus americanus*) experience skeletal muscle protein balance during winter anorexia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 147(1), 20-28.

Lowenstam, H.A. Weiner, S. (1989). *On biomineralization*. New York, Oxford University Press.

Llona, A. C. P., Andrews, P. J., Gabilondo, F. E. (2005). Tafonomía y paleoecología de úrsidos cuaternarios cantábricos: Taphonomy and palaeoecology of bears from the quaternary of cantabrian Spain. España, Fundación oso de Asturias.

Macfadden, B. J., Cerling, T. E. (1996). Mammalian herbivore communities, ancient feeding ecology, and carbon isotopes: a 10 million year sequence from the Neogene of Florida. *Journal of Vertebrate Paleontology*. 16(1), 103-115.

McGee, M. E., Maki, A. J., Johnson, S. E., Nelson, O. L., Robbins, C. T., Donahue, S. W. (2008). Decreased bone turnover with balanced resorption and formation prevent cortical bone loss during disuse (hibernation) in grizzly bears (*Ursus arctos horribilis*). *Bone*. 42(2), 396-404.

Mackiewicz, P., Baca, M., Popović, D., Socha, P., Stefaniak, K., Marciszak, A., Nadachowski, A. (2017). Estimating the extinction time of two cave bears, *Ursus spelaeus* and *U. ingressus*. *Acta Zoologica Cracoviensia*. 60(2), 1-14.

Marks, A., Erickson, A.W. (1966). Age determination in the black bear. *Journal of Wildlife Management*. 30, 389-410

Martini, I., Coltorti, M., Mazza, P. P., Rustioni, M., Sandrelli, F. (2014). The latest *Ursus spelaeus* in Italy, a new contribution to the extinction chronology of the cave bear. *Quaternary Research*. 81(1), 117-124.

Mateos, A., Rodríguez, J., Laplana, C., Sevilla, P., Ollé, A., Karampaglidis, T., Rodríguez-Gómez, G. (2014). Los yacimientos arqueo-paleontológicos de La Loma y el poblamiento paleolítico del norte de Palencia. *Colección de historia montaña palentina*. 8, 11-14.

Mateos, A., Rodríguez, J., Ollé, A. (2019). Memoria de las intervenciones arqueo-paleontológicas, Cueva de Guantes. Centro Nacional de Investigación sobre la Evolución Humana, EXPTE: 18/2018-PA.

Minagawa, M., Wada, E. (1984). Step wise enrichment of  $^{15}\text{N}$  a long food chains: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and the animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 48(5):1135-1140.

Morales-Puente, P., Cienfuegos, E., Manzanilla, L. R., Otero, F. J. (2012). Estudio de la paleodieta empleando isótopos estables de los elementos carbono, oxígeno y nitrógeno en restos humanos y fauna encontrados en el barrio teotihuacano de Teopancazco, Teotihuacan. En: Manzanilla, L., R. Estudios arqueométricos del centro de barrio de Teopancazco en Teotihuacan. Mexico, Universidad Nacional Autónoma de México. 347-422.

Münzel, S. C., Rivals, F., Pacher, M., Döpes, D., Rabeder, G., Conard, N. J., Bocherens, H. (2014). Behaviour ecology of Late Pleistocene bears (*Ursus spelaeus*, *Ursus ingressus*): Insight from stable isotopes analyses (C, N, O) and tooth microwear. *Quaternary International*. 339-340:148-163.

Münzel, S. C., Stiller, M., Hofreiter, M., Mittnik, A., Conard, N. J., Bocherens, H. (2011). Pleistocene bears in the Swabian Jura (Germany): genetic replacement, ecological displacement, extinctions and survival. *Quaternary International*. 245(2): 225-237.

Naito, Y. I., Germonpré, M., Chikaraishi, Y., Ohkouchi, N., Drucker, D. G., Hobson, K. A., Edwards M. A., Wibling C., Bocherens, H. (2016). Evidence for herbivorous cave bears (*Ursus spelaeus*) in Goyet Cave, Belgium: implications for palaeodietary reconstruction of fossil bears using amino acid  $\delta^{15}\text{N}$  approaches. *Journal of Quaternary Science*. 31(6): 598-606.

Nelson, D. E., Angerbjörn, A., Lidén, K., Turk, I. (1998). Stable isotopes and the metabolism of the European cave bear. *Oecologia*. 116(12), 177-181.

Nelson, R. A., Jones, J. D., Wahner, H. W., McGill, D. B., Code, C. F. (1975). Nitrogen metabolism in bears: urea metabolism in summer starvation and in winter sleep and role of urinary bladder in water and nitrogen conservation. In *Mayo Clinic Proceedings*. 50(3), 141-146.

Nelson, R. A., Wahner, H. W., Jones, J. D., Ellefson, R. D., Zollman, P. E. (1973). Metabolism of bears before, during, and after winter sleep. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 224(2): 491-496.

Pacher, M., Stuart, A. J. (2009). Extinction chronology and palaeobiology of the cave bear (*Ursus spelaeus*). *Boreas* 38(2): 189-206.

Palmqvist, P., Pérez-Claros, J. A., Janis, C. M., Gröcke, D. R. (2008). Tracing the ecophysiology of ungulates and predator–prey relationships in an early Pleistocene large mammal community. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 266(1-2), 95-111.

Pérez-Rama, M., Fernández-Mosquera, D., Grandal-d'Anglade, A. (2011). Effects of hibernation on the stable isotope signatures of adult and neonate cave bears. *Quaternaire*. 4, 79-88.

Pérez-Rama, M., Fernández-Mosquera, D., Grandal-d'Anglade, A. (2011). Recognizing growth patterns and maternal strategies in extinct species using stable isotopes: The case of the cave bear *Ursus spelaeus* ROSENMÜLLER. *Quaternary International*. 245(2), 302-306.

Polischuk, S. C., Hobson, K. A., Ramsay, M. A. (2001). Use of stable-carbon and-nitrogen isotopes to assess weaning and fasting in female polar bears and their cubs. *Canadian Journal of Zoology*. 79(3), 499-511.

Portilla, M. (2006). Manual práctico del paquete estadístico SPSS para Windows. Universidad Pública de Navarra.

Price, T. D., Burton, J. H., Bentley, R. A. (2002). The characterization of biologically available strontium isotope ratios for the study of prehistoric migration. *Archaeometry*, 44(1), 117-135.

Price, T. D., Knipper, C., Grupe, G., Smrcka, V. (2004). Strontium isotopes and prehistoric human migration: The Bell Beaker period in central Europe. *European Journal of Archaeology*. 7(1), 9-40.

Ramírez-Pedraza, I., Tornero, C., Pappa, S., Talamo, S., Salazar-García, D. C., Blasco, R., Rosell, J., Rivals, F. (2019). Microwear and isotopic analyses on cave bear remains from Toll Cave reveal both short-term and long-term dietary habits. *Scientific Reports*. 9(1): 5716.

Ramírez-Pedraza, I., Pappa, S., Blasco, R., Arilla, M., Rosell, J., Millán, F., Maroto, J., Soler, J., Soler, N., Rivals, F. (2019). Dietary habits of the cave bear from

the Late Pleistocene in the north east of the Iberian Peninsula. *Quaternary International*. En prensa.

Ramsay, M.A. (1993). Cycles of feasting and fasting. En: Stirling, I., Kirshner, D., Knight, F. *Bears: Majestic creatures of the wild*. London, Harper Collins Publisher. 62-65.

Reinhard, E., de Torres, T., O'Neil, J. (1996).  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  ratios of cave bear tooth enamel: A record of climate variability during the Pleistocene. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 126(1-2), 45-59.

Robu, M., Fortin, J. K., Richards, M. P., Schwartz, C. C., Wynn, J. G., Robbins, C. T., Trinkaus, E. (2013). Isotopic evidence for dietary flexibility among European Late Pleistocene cave bears (*Ursus spelaeus*). *Canadian Journal of Zoology*. 91(4), 227-234.

Robu, M., Wynn, J.G., Mirea, I.C., Petculescu, A., Kenesz, M., Puscas, C.M., Vlaicu, M., Trinkaus, E., Constantini, S. (2018). The Diverse Dietary profiles of mis 3 cave bears from the Romanian Carpathians: Insights from stable isotope ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$ ) analisis. *The Paleontological Aassociation. Paleontology*. 61(2). 209-2019.

Rodríguez, J., Mateos, A. (2014). La acumulación de osos de las cavernas (*Ursus Spelaeus*, Rossenmüller-Heinroth) de la Cueva de Guantes (Palencia). *Sautuola: Revista del Instituto de Prehistoria y Arqueología Sautuola*. (19), 547-554.

Rozanski, K., Araguás-Araguás, L. (1995). Spatial and temporal variability of stable isotope composition of precipitation over the South American continent. *Bulletin de l'Institut Français d'études Andines*. 24(3): 379-390.



Schoeninger, M., DeNiro, M.J. (1984). Nitrogen and carbon isotopic composition of bone collagen from marine and terrestrial animals. *Geochim et Cosmochim Acta*. 48, 625-639.

Schoeninger, M. J., Moore, K. M., Murray, M. L., Kingston, J. D. (1989). Detection of bone preservation in archaeological and fossil samples. *Applied Geochemistry*. 4(3), 281-292.

Schwarcz, H. P., White, C. D., Longstaffe, F. J. (2010). Stable and radiogenic isotopes in biological archaeology: some applications. In *Isoscapes* (pp. 335-356). Springer, Dordrecht.

Simkiss, K., Wilbur, K.M. (1989) *Biom mineralization: Cell Biology and Mineral Deposition*. , San Diego, CA, Academic Press.

Sponheimer, M., Robinson, T., Ayliffe, L., Roeder, B., Hammer, J., Passey, B., West A., Cerling, T., Dearing, D., Ehleringer, J. (2003). Nitrogen isotopes in mammalian herbivores: hair  $\delta^{15}\text{N}$  values from a controlled feeding study. *International Journal of Osteoarchaeology*. 13(1-2): 80-87.

Sponheimer, M., Lee-Thorp, J. A. (1999). Oxygen isotopes in enamel carbonate and their ecological significance. *Journal of Archaeological Science*. 26(6), 723-728.

Stiner, M. C. (1998). Mortality analysis of Pleistocene bears and its paleoanthropological relevance. *Journal of Human Evolution*. 34(3), 303-326.

Tipple, B. J., Meyers, S. R., Pagani, M. (2010). Carbon isotope ratio of Cenozoic CO<sub>2</sub>: A comparative evaluation of available geochemical proxies. *Paleoceanography*. 25(3).

Torres, T. J., Castaños, P., Cobo, R., García-Redondo, A., Grün, R., Hoz, P., Julia, R., Martín, C., Ortiz, J.E., Sanchiz, B., Satorrak, G.F., Sesé, C. (2013). La Historia del oso de las Cavernas: Vida y Muerte de un Animal Desaparecido. Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Minas.

Tütken, T. (2011). The diet of sauropod dinosaurs: Implications from carbon isotope analysis of teeth, bones, and plants. *Biology of the sauropod dinosaurs: Understanding the life of giants*. 57-79.

Wada, E., Terazaki, M., Kabaya, Y., Nemoto, T. (1986).  $^{15}\text{N}$  and  $^{13}\text{C}$  abundances in the Antarctic ocean with emphasis on the biogeochemical structure of the food web. *Deep Sea Research*. 34, 829- 841.