

UNIVERSIDAD CENTRAL “MARTA ABREU” DE LAS VILLAS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA



## Trabajo de Diploma

Título: Estudio del origen y variación temporal de la materia orgánica en los sedimentos del Refugio de Fauna “Laguna Guanaroca”, Cienfuegos, Cuba.

Autor: Alejandro Garcia Moya

Tutores: Dr.Sc. Carlos M. Alonso Hernández ([carlos@ceac.cu](mailto:carlos@ceac.cu))

M.Sc. Yusmila Helguera Pedraza ([yusmilahelguera@ceac.cu](mailto:yusmilahelguera@ceac.cu))



**CEAC**

Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos

Apartado Postal 5, Código Postal 59350, Ciudad Nuclear, Cienfuegos, Cuba.

Correo electrónico ([ceac@ceac.cu](mailto:ceac@ceac.cu)). Sitio web (<http://www.ceac.cu>).

Santa Clara, 2014

## *Pensamiento*

*Hay quien tiene enemigos que derrotar,  
puentes que levantar, cuerpos que curar,  
(...)*

*Hay quien tiene horizontes que explorar,  
tesoros que encontrar, tierras que sembrar  
(...)*

*pues yo tengo, yo tengo  
el papel en blanco*

*Israel Rojas, Buena Fe*

## *Dedicatoria*

*A mis padres, a mana, a mi familia y a Arianna, porque sin  
ustedes hoy no me sentiría orgulloso de lo que hago*

## *Agradecimientos*

*Agradezco a mis padres y a toda mi familia por apoyarme incondicionalmente.*

*A Arianna porque sin ti hoy no estaría disfrutando este momento.*

*A mis suegros por aguantarme.*

*A mis tutores por confiar en mí, especialmente a Carlos Alonso por brindarme la oportunidad de hacer ciencia.*

*Al Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos y sus trabajadores por acogerme como una familia, especialmente a: Angelito, Aniel, Yoelvis, Yusmila, Migue, Lisbet, Donaida, Javier, Anamaray, Yasser, y a todos aquellos que me ayudaron a llegar a este momento.*

*A mis profesores, a todos, los que para mí son ejemplo del profesional que me gustaría llegar a ser, pero también a aquellos que me enseñaron las cosas feas del camino.*

*A todos mis compañeros de estudio por las fiestas, las caldosas, los viajes, las malas noches de estudio y por sobre todo su amistad, que espero sea por siempre*

*A mis amigos, los de hoy y los de siempre*

*En fin, a todas aquellas personas que de una forma u otra me apoyaron y ayudaron durante la carrera y la realización de este trabajo.*

*A todos ustedes, mi más sincero agradecimiento*

## RESUMEN

El Refugio de Fauna “Laguna Guanaroca”, ubicado al Sureste de la provincia de Cienfuegos, mantiene intercambio de sus agua con el río Arimao y la Bahía de Cienfuegos. La principal problemática ambiental del área es la pérdida de biodiversidad por la actividad antropogénica a lo largo del pasado siglo. A partir del año 2000 la política de las entidades ambientales en la provincia se ha enfocado en la reconstrucción y preservación de sus recursos naturales, económicos y culturales. Determinar la eficiencia del manejo integrado en el área requiere de gran cantidad de datos, estudios y antecedentes históricos que muchas veces están lejos del alcance de las entidades correspondientes en países en vías de desarrollo como el nuestro. El aporte de nutrientes y materia orgánica constituye uno de los principales factores ambientales que limitan la dinámica y estructura trófica de este tipo de ecosistemas. En este estudio se analizó el origen y variación de la materia orgánica durante los últimos 150 años, utilizando isótopos estables de carbono y nitrógeno y su relación elemental ( $C_{org}/N_{total}$ ) en un perfil de sedimento fechado con técnicas nucleares. Los resultados obtenidos demuestran que las tres principales fuentes de materia orgánica en la laguna son: fitoplancton de agua dulce, fitoplancton marino y plantas terrestres de tipo C3. La materia orgánica sedimentaria, así como el flujo de enterramiento de carbono orgánico calculado, reflejan tres etapas fundamentales en la historia de la laguna. Un primer período (1880-1900), tomado como referente de las condiciones naturales en el área, en el que se determinaron como principales contribuyentes de materia orgánica el fitoplancton de agua dulce y los manglares. Un segundo período (1900-1990), marcado por la disminución de la productividad biológica en la laguna y el cambio del origen de la materia orgánica. Por último, a partir del año 2000 en adelante, los valores de productividad y el origen de la materia orgánica retomaron características similares a las obtenidas inicialmente. Todas estas variaciones parecen responder directamente a la influencia de las actividades antropogénicas, que tienen lugar en el área y sus afluentes.

**PALABRAS CLAVE:** Laguna Guanaroca; materia orgánica; isótopos estables; relación elemental; flujo de enterramiento de carbono; actividad antropogénica

## **ABSTRACT**

The natural refuge “Laguna Guanaroca”, located in the Southeast region of Cienfuegos province, has a regular water exchange with the Arimao River and Cienfuegos Bay. The main environmental problem at the area is the biodiversity loss, as a consequence of anthropogenic activities during the last century. Reconstructing and preserving its natural, economic and environmental sources, has become the environmental policy in the province, since 2000. To determine the environmental management efficiency and impact in the area requires a large amount of data and historical records that are almost unavailable to corresponding institutions in developing countries, like ours. Nutrient and organic matter input is one of the most important environmental factors that influences on structure and dynamics of this kind of ecosystem. This study focus on the organic matter origin and temporal variations during the past century, using carbon and nitrogen stable isotopes and its elemental ratio ( $C_{org}/N_{total}$ ) in a sediment downcore, dated by nuclear techniques. Our results showed three mainly end-members organic matter sources: freshwater phytoplankton, marine phytoplankton and C3 terrestrial plants. The sedimentary organic matter analysis and the carbon burial flux also showed three mainly periods on the environmental history of Laguna Guanaroca. The first period, since 1880 to 1900, was taken as lagoon natural conditions, and the principal end-members sources came from freshwater phytoplankton and C3 terrestrial plants. The second period, between 1900 and 1990, was marked by biological productivity depletion and changes in organic matter source. Finally, since 2000 the biological productivity and the organic matter sources tend to recover its initial characteristics and values. Downcore variation patterns in the analyzed environmental factors seem predominantly related to anthropogenic activities at lagoon affluents.

**KEY WORDS:** Laguna Guanaroca; organic matter; stable isotopes; elemental ratio; carbon burial flux; anthropogenic activities

## ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	V
ABSTRACT.....	VI
ABREVIATURAS.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	4
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
2.1. ISÓTOPOS ESTABLES.....	9
2.2. FRACCIONAMIENTO Y DISCRIMINACIÓN ISOTÓPICA.....	9
2.3. ANTECEDENTES.....	12
2.4. DETERMINACIÓN DE FUENTES DE MATERIA ORGÁNICA EN ECOSISTEMAS MARINOS.....	13
2.4.1. $\delta^{13}\text{C}$ EN ECOSISTEMAS COSTEROS.....	14
2.4.2. $\delta^{15}\text{N}$ EN ECOSISTEMAS COSTEROS.....	16
2.4.3. ANÁLISIS ELEMENTALES DE $\text{C}_{\text{ORG}}/\text{N}_{\text{TOTAL}}$ .....	18
2.5. ESQUEMA DE IDENTIFICACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA.....	19
2.6. MEZCLADO ISOTÓPICO.....	20
2.6.1. MODELOS DE MEZCLADO.....	21
2.7. PERFILES DE SEDIMENTO.....	22
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1. ZONA DE ESTUDIO.....	25
3.2. PERFIL DE SEDIMENTO.....	25
3.3. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS.....	27
3.3.1. MUESTRAS ORGÁNICAS.....	27
3.3.2. MATERIAL ORGÁNICO PARTICULADO EN SUSPENSIÓN (MOPS).....	27
3.3.3. MANGLE Y FITOBENTOS ASOCIADO.....	27
3.3.4. MACROFITOBENTOS.....	27
3.4. PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS.....	28
3.5. ANÁLISIS DE LABORATORIO.....	28
3.5.1. ANÁLISIS ELEMENTALES DE $\text{C}_{\text{ORG}}$ Y $\text{N}_{\text{TOTAL}}$ .....	29
3.5.2. ANÁLISIS ISOTÓPICO DE $\delta^{13}\text{C}$ Y $\delta^{15}\text{N}$ .....	29
3.6. ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	29

3.6.1.	IDENTIFICACIÓN DE FUENTES DE MO .....	30
3.6.2.	APORTE DE MO A LOS SEDIMENTOS .....	30
3.6.3.	FLUJO DE ENTERRAMIENTO DE CARBONO ORGÁNICO .....	30
4.	RESULTADOS .....	32
4.1.	MUESTRAS ORGÁNICAS.....	32
4.1.1.	CARACTERIZACIÓN ISOTÓPICA Y ELEMENTAL DE LAS MUESTRAS ORGÁNICAS .....	33
4.1.2.	IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES POTENCIALES DE MOS.....	34
4.2.	PERFIL DE SEDIMENTO .....	35
4.3.	IDENTIFICACIÓN DEL ORIGEN DE LA MOS .....	38
4.4.	APORTE DE MO A LOS SEDIMENTOS .....	39
4.5.	FLUJO DE ENTERRAMIENTO DE CARBONO ORGÁNICO .....	42
5.	DISCUSIÓN .....	45
5.1.	MUESTRAS ORGÁNICAS.....	45
5.2.	PERFIL DE SEDIMENTO .....	48
5.3.	IDENTIFICACIÓN DEL ORIGEN DE LA MOS .....	48
5.4.	APORTE DE MO .....	48
5.5.	FLUJO DE ENTERRAMIENTO DE CARBONO ORGÁNICO .....	50
6.	CONCLUSIONES .....	52
7.	RECOMENDACIONES.....	53
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	54
9.	ANEXOS.....	60

## ABREVIATURAS

<b>AENTA</b>	Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías Avanzadas
<b>AIR</b>	Aire atmosférico: patrón estándar decretado por la OIEA para el cálculo de la relación isotópica $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$
<b>C3</b>	Tipo de plantas que utilizan el ciclo de Calvin-Benson
<b>C4</b>	Tipo de plantas que utilizan el ciclo de Hatch-Slack
<b>CAM</b>	Metabolismo ácido de las crasuláceas ( <i>Crassulacean Acid Metabolism</i> , en inglés)
<b>CNAP</b>	Centro Nacional de Áreas Protegidas
<b>COD</b>	Carbono Orgánico Disuelto
<b>Corg</b>	Carbono orgánico
<b><math>C_{\text{org}}/N_{\text{total}}</math></b>	Relación o proporción elemental de carbono orgánico y nitrógeno total
<b>EA</b>	Analizador Elemental ( <i>Elemental Analyzer</i> , en inglés)
<b>EMMA</b>	Método de aproximación matemática para el análisis de mezclado de fuentes de materia orgánica ( <i>End-Member Mixing Analysis</i> , en inglés)
<b>FC</b>	Flujo de secuestro y enterramiento de carbono orgánico
<b>HPGe</b>	Detector de germanio de alta pureza ( <i>High Performance Ge detector</i> , en inglés)

<b>IRMS</b>	Espectrómetro de masa ( <i>Isotope Ratio Mass Spectrometer</i> , en inglés)
<b>IsoSource</b>	Software estadístico que calcula la contribución de múltiples fuentes de materia orgánica al total de una mezcla
<b>LEA</b>	Laboratorio de Ensayos Ambientales
<b>LICA</b>	Laboratorio Integrado de Calidad Ambiental
<b>MICATIN</b>	Manejo Integrado de Cuencas y Áreas Costeras aplicando Técnicas Isotópicas y Nucleares
<b>MixSIR</b>	Software estadístico para el análisis de modelos de mezclado que utiliza inferencias bayesianas
<b>MO</b>	Materia Orgánica
<b>MOD</b>	Materia Orgánica Disuelta
<b>MOPS</b>	Materia Orgánica Particulada en Suspensión
<b>MOS</b>	Materia Orgánica Sedimentaria
<b>MOSu</b>	Materia Orgánica contenida en los Suelos
<b>NID</b>	Nitrógeno Inorgánico Disuelto
<b>Ntotal</b>	Nitrógeno total
<b>OIEA</b>	Organismo Internacional de Energía Atómica
<b>PDB</b>	( <i>PeeDee Belemnite</i> , en inglés): patrón estándar utilizado inicialmente en el cálculo de la relación isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$

<b>PEPC</b>	Fosfoenolpiruvato carboxilasa
<b>RuBisCO</b>	Ribulosa 1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa
<b>SIAR</b>	Software estadístico para el análisis de modelos de mezclado que utiliza inferencias bayesianas ( <i>Stable Isotope Analysis in R</i> , en inglés)
<b>TS</b>	Tasa de sedimentación
<b>UICN</b>	Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza
<b>VPDB</b>	( <i>Viena-PeeDee Belemnite</i> , en inglés): patrón estándar decretado por la OIEA para el cálculo de la relación isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
$\delta$	Notación delta: describe la diferencia isotópica de una muestra respecto a un estándar
$\delta^{13}\text{C}$	Notación delta que describe relación isotópica de $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$
$\delta^{15}\text{N}$	Notación delta que describe relación isotópica de $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$

### 1. INTRODUCCIÓN

La materia orgánica (MO) disponible en los ecosistemas acuáticos, es una mezcla de diversos compuestos orgánicos de tamaño y peso molecular variable que se encuentran disueltos en el agua ( $<0,45 \mu\text{m}$ , MOD) o como material orgánico particulado en suspensión ( $>0,45 \mu\text{m}$ , MOPS). Generalmente tiene un origen natural y está compuesta por materia viva (plancton), organismos muertos en descomposición, exudados celulares y compuestos de desecho, así como detrito parcial o totalmente degradado (Aiken, 2002; Bianchi, 2007).

En los ecosistemas costeros y estuarinos la MO es producida por recursos autóctonos (plancton, macroalgas y plantas acuáticas) o alóctonos (aportes fluviales, mareales y escurrimientos); y tiene su origen biológico fundamentalmente en procesos biosintéticos de producción primaria (autotrófica), aunque algunos compuestos pueden llegar al ecosistema como parte de la contaminación orgánica de origen antropogénico.

La composición química de la MO incluye elementos esenciales para la vida como son carbono, oxígeno, hidrógeno, nitrógeno y fósforo. Esto determina su función en el ecosistema como fuente energética y nutricional inmediata para todos los organismos que forman parte del seston y aquellos que se alimentan de él. Por tanto la MO es un componente ecológico esencial en la transmisión energética y asimilación de nutrientes dentro de las tramas tróficas de los ecosistemas marinos (Odum, 1989; Sheppard *et al.*, 2012). Conocer su origen y cambios temporales permite evaluar cuales son los componentes ambientales que determinan sus fuentes y definir los procesos naturales o antrópicos que influyen sobre la estructura trófica del ecosistema.

Los estuarios y lagunas costeras son hábitats que se caracterizan por el constante intercambio de agua entre el ambiente marino y sus afluentes de agua dulce, lo que determina el flujo constante de MO entre ellos. Estos ecosistemas ricos en nutrientes, poseen altas tasas de productividad biológica (primaria y secundaria) y

sustentan complejas tramas tróficas en las que se incluyen gran diversidad de especies y grupos de organismos (plantas, invertebrados, peces y aves) de interés económico, ambiental y científico (Basset *et al.*, 2013). Además, el papel de estos ecosistemas como sumideros de carbono, durante la deposición y enterramiento de MO a largo plazo en el sedimento, es objeto de consideración por su impacto ambiental a escala regional y global ante la problemática del cambio climático (Gonneea *et al.*, 2004).

Los sedimentos marinos son el resultado de la acumulación de diversos constituyentes de la columna de agua, entre los que se encuentran: nutrientes, material orgánico y compuestos contaminantes. En áreas donde su acumulación ocurre sin bioturbación, mezclado físico o episodios de erosión, la columna sedimentaria constituye un registro ambiental de las tendencias temporales y los cambios ocurridos en los cuerpos de agua a lo largo del tiempo, aportando información histórica sobre las características del ambiente desde su formación y las modificaciones temporales que ha sufrido hasta el momento de su evaluación (Sericano *et al.*, 2007; Ruiz-Fernández y Hillaire-Marcel, 2009; Ruiz-Fernández y Díaz-Asencio, 2012).

Los estudios de registros sedimentarios paleoecológicos que incluyen análisis de abundancia natural de isótopos estables de carbono y nitrógeno, y su relación elemental carbono orgánico/nitrógeno total ( $C_{org}/N_{total}$ ), constituyen una valiosa herramienta para inferir cambios temporales a largo plazo en la incorporación de nutrientes, reconstruir eventos de eutrofización antropogénica y cuantificar el aporte de fuentes potenciales de MO en ecosistemas costeros y lagunares (Meyers, 1994; 1997; Lamb *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2008; Jia *et al.*, 2012).

Laguna Guanaroca, ubicada en la provincia de Cienfuegos, es una laguna costera reconocida como Refugio de Fauna (Categoría IV de la, UICN) desde enero del 2002 por el Centro Nacional de Áreas Protegidas (CNAP). Este ecosistema alberga un gran número de especies estacionales y residentes, de gran importancia ecológica, económica y cultural. Cuenta con un alto endemismo florístico reportándose al menos 32 especies pertenecientes a 28 géneros,

representativos de 18 familias, además de uno de los bosques de manglar mejor preservados del país, donde se reportan las especies *Rhizophora mangle* (L.), *Laguncularia racemosa* (L.), *Avicennia germinans* (Jacq.), *Conocarpus erectus* (L.). Sus valores naturales, relieve y formaciones vegetales, la sitúan como punto de atracción para el sector turístico nacional y extranjero. Con el fin de preservar sus recursos, se encuentra desde 2002 bajo acción de un plan de manejo integrado, elaborado por la Empresa Nacional para la Conservación de la Flora y la Fauna (Rivero *et al.*, 2004; Moreira *et al.*, 2013).

Dentro de las cualidades que ameritan su condición de Refugio de Fauna podemos mencionar que allí se establece de forma permanente una colonia de flamencos rosados, *Phoenicopterus ruber* (L.); sirve además como zona de reproducción, alimentación y refugio de gran variedad de especies de la avifauna cubana, residentes y migratorias, entre las que se encuentran los géneros *Egretta*, *Ardeola*, *Floridae*, *Pelícanus*, *Anas*, *Oxyura*, *Aix* y *Dendrocygma*. Es sitio de reproducción y cría de especies acuáticas de importancia comercial como *Penaeus schmittii* (Burkenroad) y *Crassostrea rhizophorae* (Guilding). Adicionalmente en el área se han detectado especies amenazadas como el manatí antillano (*Trichechus manatus*, L.) y la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*, L.) (Rivero *et al.*, 2004; Betancourt *et al.*, 2006).

Según Rivero *et al.*, 2004 los principales factores estresantes que se han detectado en la zona, son derivados de actividades propias del desarrollo humano en las zonas aledañas al área protegida y sus afluentes, como la deforestación de las márgenes del río, la contaminación por fertilizantes, residuales industriales, residuales orgánicos de la actividad pecuaria y domésticos, así como la disminución del aporte de agua dulce producto de la obstrucción de cauces por la actividad arenosa. Como consecuencia de estos disturbios la pérdida de biodiversidad se considera la problemática fundamental del área, teniendo en cuenta su categoría de Refugio de Fauna (Rivero *et al.*, 2004; Betancourt *et al.*, 2006).

El aporte de MO y nutrientes constituye uno de los principales factores limitantes de la dinámica y estructura trófica de este tipo de ecosistemas (McLusky y Elliott, 2004; Prandle, 2009). Los estudios en este sentido requieren gran cantidad de datos y del monitoreo constante de una serie de factores ambientales y ecológicos que muchas veces están lejos del alcance de las entidades correspondientes en países en vías de desarrollo como el nuestro. Sin embargo, la utilización de perfiles de sedimento como registros ambientales, es una valiosa herramienta utilizada en nuestro país para la reconstrucción de reportes históricos de contaminación antropogénica, eutrofización y su impacto en el ecosistema (Alonso-Hernández *et al.*, 2005; Alonso-Hernández *et al.*, 2006; Díaz-Asencio *et al.*, 2009; Díaz-Asencio *et al.*, 2011). Adicionalmente el empleo de técnicas isotópicas y elementales con  $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$  y  $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$ , es una alternativa eficaz para determinar variaciones ecológicas de origen antropogénico, terrígeno o *in situ*, a escala temporal, en ecosistemas costeros de todo el mundo (Meyers, 1997; Gonnee *et al.*, 2004; Lamb *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2008; Sampaio *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2011; Jia *et al.*, 2012).

Debido a la falta de conocimientos actuales y antecedentes de estudios en el área sobre las fuentes de MO y los factores ambientales relacionados con la misma, este trabajo pretende:

### **Objetivo general**

- ❖ Determinar el origen y variación temporal de la materia orgánica sedimentaria durante los últimos 150 años en el Refugio de Fauna “Laguna Guanaroca”, utilizando técnicas isotópicas y nucleares.

### **Objetivos específicos**

1. Identificar las principales fuentes que aportan materia orgánica a los sedimentos del Refugio de Fauna “Laguna Guanaroca” utilizando técnicas isotópicas y elementales.

2. Evaluar la variación temporal de la materia orgánica sedimentaria de la laguna, en un perfil de sedimento fechado con técnicas nucleares.
3. Cuantificar el flujo de secuestro y enterramiento de carbono orgánico en el sedimento de la laguna, durante los últimos 150 años.

Los resultados de este trabajo responden al objetivo fundamental del proyecto “Soluciones a problemas específicos del manejo integrado de cuencas y áreas costeras en Cuba, a través de técnicas isotópicas y nucleares” (MICATIN), aprobado en 2014 y financiado por la Agencia de Energía Nuclear y Tecnologías Avanzadas (AENTA). Dentro del marco de este proyecto se pretende evaluar la eficiencia y el efecto de las acciones de manejo integrado que se llevan a cabo en el área protegida desde el año 2002 hasta la fecha, en busca de preservar los valores naturales, históricos, sociales y económicos del Refugio de Fauna “Laguna Guanaroca”.

## **2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. ISÓTOPOS ESTABLES**

La palabra isótopo proviene del griego *iso* (igual o mismo) y *topo* (lugar), o sea “mismo lugar” (Fry, 2006). Hasta la actualidad se conocen aproximadamente 120 elementos químicos en el sistema periódico, de ellos solo 21 son monoisotópicos y del resto derivan 3100 isótopos, agrupados en distintas familias isotópicas (Sharp, 2007). La denominación de familias isotópicas se refiere a que un elemento químico de la tabla periódica (definido por su número atómico), puede tener varias formas “isotópicas” con diferente número de neutrones en su núcleo, y como consecuencia diferente peso atómico, aunque siguen ocupando el mismo lugar en la tabla. Por tanto los átomos con el mismo número atómico pero con diferente peso atómico se denominan isótopos (Reyes, 2004; Fry, 2006; Sharp, 2007).

En la naturaleza existen 283 isótopos estables que persisten en la misma forma durante millones de años luego de su formación, por ejemplo  $^{12}\text{C}$  y  $^{13}\text{C}$ ;  $^{14}\text{N}$  y  $^{15}\text{N}$ . El resto, más del 90% del total de los isótopos conocidos, son formas radioactivas o radionúclidos que se desintegran para convertirse en otros elementos emitiendo radiaciones (Fry, 2006; Sharp, 2007).

### **2.2. FRACCIONAMIENTO Y DISCRIMINACIÓN ISOTÓPICA**

Partiendo de la diferencia en cuanto a su peso atómico, es evidente que existen formas isotópicas pesadas y ligeras del mismo elemento químico. Por tanto, los isótopos estables poseen prácticamente las mismas propiedades químicas debido a su conformación electrónica, pero varían en sus propiedades físico-químicas, o sea, en su cinética de reacción debido a la estructura y masa del núcleo. Esta diferencia cinética es lo que se conoce como “fraccionamiento isotópico”, y describe la velocidad de reacción con la que se rompen o forman enlaces entre los diferentes átomos que forman las moléculas (Fry, 2006).

Los enlaces formados por isótopos ligeros son menos estables que los formados por isótopos pesados y se rompen con más facilidad. Durante una reacción

química las moléculas que contienen el isótopo ligero requieren de una menor energía de activación para romper sus enlaces, y consecuentemente, reaccionan con una velocidad ligeramente mayor a la de las moléculas isotópicamente más pesadas (Reyes, 2004).

En las rutas metabólicas (e. g. reacciones bacterianas de fijación de  $N_2$  o rutas fotosintéticas de fijación de  $CO_2$ ), donde intervienen las enzimas como catalizadores biológicos, los isótopos ligeros son generalmente más abundantes en el producto de reacción respecto al sustrato de partida (Reyes, 2004). Este fenómeno se conoce como “discriminación isotópica” y se refiere a la discriminación negativa de las enzimas sobre las moléculas que contienen formas isotópicas pesadas, escogiendo preferencialmente las que tienen mayor cantidad de isótopos ligeros (Guerrero y Berlanga, 2000; Fry, 2006).

Para poder medir la discriminación isotópica durante la formación de un material orgánico, se determina primeramente la razón o proporción de los isótopos (pesado/ligero) de la muestra, para luego calcular su diferencia ( $\delta$ ) respecto a un valor estándar, Ecuación 1, proporcionado por el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) (Fry, 2006; Sun *et al.*, 2011).

Inicialmente el estándar reconocido para los análisis con isótopos de carbono fue el PDB (*PeeDee Belemnite*, en inglés) que respondía a la proporción isotópica del carbonato acumulado en la concha del cefalópodo fósil *Belemnitella americana*, perteneciente a la formación cretácica PeeDee, procedente de Carolina del Sur, Estados Unidos (Guerrero y Berlanga, 2000; Reyes, 2004). Actualmente este patrón de referencia ha sido sustituido internacionalmente por el VPDB (*Viena-PDB*, en inglés) que es un equivalente del PDB con una proporción  $^{13}C/^{12}C$  de 0.0111797 (Reyes, 2004; Fry, 2006; Redondo, 2008; Rodrigues *et al.*, 2013). Para el nitrógeno, el estándar reconocido es el valor del aire atmosférico (*AIR*, en inglés) con una proporción  $^{15}N/^{14}N$  de 0.0036765 (Robinson, 2001; Fry, 2006; Redondo, 2008; Rodrigues *et al.*, 2013).

Por definición el estándar utilizado tiene un valor  $\delta$  de 0‰, por tanto cuando una sustancia tiene un valor  $\delta$  positivo está “enriquecida” en el isótopo más pesado y por el contrario, si el valor es negativo, está entonces “empobrecida” en dicho isótopo (Redondo, 2008; Rodrigues *et al.*, 2013).

**Ecuación 1. Cálculo de la relación isotópica de un material de muestra en notación  $\delta$ .**

$$\delta^yX = \left[ \frac{R_{muestra} - R_{estandar}}{R_{estandar}} \right] 1000$$

Donde: ( $X$ ) representa un elemento en específico, [C] o [N]. ( $\nu$ ) se refiere al peso atómico del isótopo,  $^{13}\text{C}$  o  $^{15}\text{N}$ . ( $R$ ) es la razón o proporción isotópica,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  o  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ . Finalmente se multiplica por mil (1000) para ampliar las pequeñas diferencias medidas entre los valores de  $R_{muestra}$  y  $R_{estandar}$  y se expresa el resultado de  $\delta$  en partes por mil (‰) (Fry, 2006; Sun *et al.*, 2011).

En la naturaleza esta discriminación ocurre además diferencialmente, o sea, en mayor o menor grado según las distintas vías metabólicas y dependiendo de las enzimas que intervienen (Guerrero y Berlanga, 2000). Uno de los ejemplos mejor descrito por la literatura y que ilustra muy bien este fenómeno es el de las tres principales rutas de fijación de  $\text{CO}_2$  en plantas durante la fotosíntesis (C3, C4 y CAM).

Las plantas C3, que representan cerca del 90% de las plantas en la Tierra, utilizan el ciclo de Calvin-Benson y la enzima RuBisCO en su metabolismo fotosintético fijando valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -32‰ y -21‰ (Lamb *et al.*, 2006; Brodie *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2011; Rodrigues *et al.*, 2013). En cambio las plantas C4, que tienen un origen evolutivo más reciente y utilizan el ciclo de Hatch-Slack para fijar cuatro átomos de carbono en lugar de tres, gracias a la enzima PEPC, discriminan en menor proporción los isótopos pesados y posee valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -17‰ y -9‰ (Lamb *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2011; Rodrigues *et al.*, 2013). Por último, las CAM alternan fisiológicamente entre ambas formas metabólicas y por tanto poseen valores intermedios de  $\delta^{13}\text{C}$  entre -28‰ y -11‰ (Lamb *et al.*, 2006; Sun *et al.*, 2011).

Teniendo en cuenta estas evidencias experimentales, a partir del cálculo de la proporción de  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  en un producto biológico o material orgánico, podrían deducirse las posibles vías metabólicas que lo han originado e identificar su origen (Sun *et al.*, 2011). Por ejemplo teniendo el valor de  $\delta^{13}\text{C}$  en una muestra de azúcar refino, es posible determinar si proviene de remolacha C3 o de caña de azúcar C4 (Guerrero y Berlanga, 2000).

### **2.3. ANTECEDENTES**

A partir del descubrimiento de los isótopos en la década de 1910-20 (Fry, 2006; Redondo, 2008), su empleo como marcadores ha tenido innumerables aplicaciones en diferentes ramas de la ciencia, como son: Hidrología, Edafología, Paleontología, Paleoclimatología, Medicina, Medioambiente, Industria, Astrobiología, Bioquímica, Biología molecular, entre otras (Guerrero y Berlanga, 2000; Reyes, 2004).

Los isótopos estables y el fraccionamiento al que están sujetos, son actualmente una valiosa herramienta de estudio, objeto de consideración en numerosas investigaciones sobre recreación de paleoclimas, cambio climático, contaminación ambiental, ciclos biogeoquímicos y ecofisiología de ecosistemas terrestres y acuáticos (Barbero y Mata, 2004; Sun *et al.*, 2011).

Las investigaciones de este tipo en ecosistemas acuáticos, se han enfocado en la aplicación de isótopos estables, fundamentalmente  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$ , para el estudio de su movimiento dentro del ecosistema. En la actualidad las tres principales corrientes de investigación en este sentido son: (1) ecología de tramas tróficas (Nagelkerken y van der Velde, 2004; Fry, 2006; Phillips y Eldridge, 2006; Bouillon *et al.*, 2011); (2) eutrofización antropogénica y contaminación (Phillips y Gregg, 2003; Costanzo *et al.*, 2005; Hu *et al.*, 2008; Betti *et al.*, 2011); y (3) determinación de fuentes de MO en ecosistemas marinos (Gonneea *et al.*, 2004; Kennedy *et al.*, 2004; Dubois *et al.*, 2012; Moyer *et al.*, 2012).

En nuestro país la aplicación de técnicas isotópicas y nucleares en estudios ecológicos de ecosistemas marinos, es todavía un área inexplorada para la

ciencia. Solo existen antecedentes del uso de isótopos ( $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$ ) como trazadores químicos, en busca de evidencias sobre el origen y destino del nitrógeno en una laguna costera antropizada (Laguna Larga, Cayo Coco, Cuba), (González de Zayas, 2012). Sin embargo, estudios de este tipo, que aborden las variaciones temporales del aporte de MO y el flujo de secuestro y enterramiento de carbono orgánico en el sedimento, constituyen nuevos aportes a las ciencias marinas en Cuba.

#### **2.4. DETERMINACIÓN DE FUENTES DE MATERIA ORGÁNICA EN ECOSISTEMAS MARINOS**

Los estudios sobre el origen de la MO disponible en ecosistemas costeros, deben tener en cuenta que su alta productividad biológica se sustenta en el aporte de recursos autóctonos (productores primarios *in situ*) y recursos alóctonos (material orgánico arrastrado desde otro sitio por corrientes de agua dulce, ciclos mareales y/o el viento) (Meyers, 1997; Lamb *et al.*, 2006).

Es por ello que en estos ecosistemas existen diversas fuentes potenciales de MO, fundamentalmente: fitoplancton, fitobentos, detritos, plantas terrestres, escorrentía, aguas residuales, entre otros. Generalmente, cada una de ellas, según su fisiología y/o disponibilidad de nutrientes, posee diferente señal isotópica, a partir de la cual pueden ser identificadas diferencialmente aplicando técnicas isotópicas y elementales. Adicionalmente, estas técnicas permiten cuantificar el aporte relativo de cada una de estas fuentes de MO a la composición de la materia orgánica sedimentaria (MOS) (Dubois *et al.*, 2012).

Los estuarios y lagunas son ecosistemas costeros semicerrados con una conexión libre al mar que comunica la zona costera con el agua dulce proveniente de ríos y pantanos (Cervantes, 1994). Esto determina que generalmente sean hábitats caracterizados por fuertes gradientes y una gran variabilidad de sus factores abióticos (*e. g.* salinidad, temperatura y nutrientes disueltos), además de una enorme riqueza de vida y una alta productividad biológica (Basset *et al.*, 2013).

Las lagunas costeras tropicales se caracterizan por la débil circulación de sus aguas, determinada fundamentalmente por los ciclos mareales y el aporte de

afluentes de agua dulce. Esto influye en la continua acumulación de pequeñas partículas de sedimentos, que por sus propiedades físico-químicas tienen la capacidad de absorber gran cantidad de nutrientes y MO del medio. El estudio de las características de la MOS, refleja entonces el efecto de los cambios ambientales y antropogénicos sobre la productividad biológica y las características del ecosistema (Meyers, 1997; Silva *et al.*, 2004; Alonso-Hernández *et al.*, *en prensa*).

Teniendo en cuenta lo anterior, para determinar el origen de la MOS utilizando isótopos estables se deben cumplir las siguientes asunciones: (1) la señal isotópica de las fuentes de MO debe mantenerse prácticamente invariable después de su incorporación al sedimento; (2) cada una de ellas (autóctonas y alóctonas), deben ser identificados claramente por su señal isotópica (Gonneea *et al.*, 2004).

La primera de estas asunciones es algo difícil de comprobar, debido fundamentalmente a la complejidad y variabilidad de fuentes potenciales, junto a las posibles alteraciones pos-deposicionales y cambios diagenéticos que puede sufrir la señal isotópica en el sedimento orgánico durante su descomposición y enterramiento. No obstante, si el origen de la MOS puede ser explicado a partir de la mezcla de sus posibles fuentes, es asumible que: el proceso de diagénesis de la MOS, no ha cambiado significativamente la señal isotópica de dichas fuentes y por tanto es válida la aplicación de estas técnicas (Gonneea *et al.*, 2004).

#### **2.4.1. $\delta^{13}\text{C}$ EN ECOSISTEMAS COSTEROS**

El carbono que forma parte de la MO, proviene fundamentalmente de la fijación del  $\text{CO}_2$  disponible en el ambiente a través de los procesos de fotosíntesis y quimiosíntesis que llevan a cabo los productores primarios y secundarios. Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  del  $\text{CO}_2$  atmosférico están disminuyendo paulatinamente (de  $-7\text{‰}$  a  $-8\text{‰}$  en los últimos 100 años) debido fundamentalmente a las emisiones de  $\text{CO}_2$  empobrecido en  $^{13}\text{C}$  liberadas con la quema de biomasa y combustibles fósiles, además de los procesos de descomposición (Fry, 2006).

En el agua el carbono inorgánico está disponible como CO<sub>2</sub> disuelto (con δ<sup>13</sup>C en equilibrio con el CO<sub>2</sub> atmosférico) o como ion bicarbonato HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (δ<sup>13</sup>C ~0‰). Sin embargo, debido a que la proporción de estas formas químicas en el agua está en función del pH, en el ambiente marino existe una menor disponibilidad de CO<sub>2</sub> respecto al agua dulce, lo que se traduce en mayores valores de δ<sup>13</sup>C para el fitoplancton marino, que utiliza predominante el ion HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> como fuente de carbono (Lamb *et al.*, 2006).

**Tabla 1. Señal isotópica de δ<sup>13</sup>C de las principales fuentes potenciales de MOS en ecosistemas costeros y estuarinos.**

<b>Fuente de MO</b>	<b>Rango de δ<sup>13</sup>C (‰)</b>	<b>Referencia</b>
MOPS marino	-21 a -18	(a)
MOPS dulceacuícola	-33 a -25	(a)
COD marino	-25 a -22	(a)
COD dulceacuícola	-28 a -26	(a)
Bacterias	-27 a -12	(a)
Cianobacterias	-28 a -26	(a)
Algas marinas	-35 a -2	(b)
Algas dulceacuícolas	-30 a -26	(a)
Pastos marinos	-20 a -4	(c)
Mangles	-30 a -24	(d)
Plantas terrestres C3	-32 a -21	(a)
Plantas terrestres C4	-17 a -9	(a)
Plantas CAM	-28 a -11	(a)

Donde MOPS comprende el material orgánico particulado en suspensión (plancton, detritos y material orgánico de origen terrígeno). COD se refiere al carbono orgánico disuelto en el agua. Referencias Bibliográficas (a)-Lamb *et al.* (2006); (b)-Raven *et al.* (2002); (c)-Kennedy *et al.* (2010); (d)-Kennedy *et al.* (2004) y Hogarth (2007).

Como se expuso anteriormente con el ejemplo de la fijación biológica de CO<sub>2</sub> según las distintas rutas fotosintéticas en plantas (C3, C4 y CAM), las proporciones naturales de δ<sup>13</sup>C en la MO, reflejan la dinámica de asimilación del carbono y los valores de δ<sup>13</sup>C de sus fuentes potenciales (Meyers, 1997; Sun *et al.*, 2011). Según investigaciones previas en ecosistemas marinos la pérdida de carbono orgánico por diagénesis y alteraciones bioquímicas pos-deposicionales es

de ~2‰ del valor original de  $\delta^{13}\text{C}$ , solo en los primeros 15 cm de la columna de sedimento (Rosenbauer *et al.*, 2009; Kennedy *et al.*, 2010). Por tanto, su aplicación permite identificar cuál de las fuentes potenciales de MO contribuye en mayor grado a la deposición y enterramiento de carbono en la MOS (Dubois *et al.*, 2012)

La alta productividad biológica que caracteriza los ecosistemas costeros y estuarinos está determinada por una amplia diversidad de productores primarios y secundarios, además de las fuentes alóctonas que contribuyen a la incorporación de nutrientes al sistema (Dubois *et al.*, 2012), por lo que es necesario hacer una caracterización isotópica de cada uno de ellos para poder identificarlos según su señal de  $\delta^{13}\text{C}$  (Tabla 1).

#### **2.4.2. $\delta^{15}\text{N}$ EN ECOSISTEMAS COSTEROS**

La mayor parte del nitrógeno disponible en la biosfera existe como  $\text{N}_2$  atmosférico (entre 75 y 80% del aire total), este reservorio se mantiene isotópicamente bien mezclado con valores de  $\delta^{15}\text{N}$  relativamente constantes y muy cercanos a 0‰ (Fry, 2006). El resto del nitrógeno en nuestro planeta, se encuentra fundamentalmente como amonio, nitratos y formando parte de compuestos orgánicos nitrogenados (aminoácidos, proteínas, urea, entre otros). Estas formas químicas son interconvertibles, fundamentalmente por procesos microbianos, en donde ocurren los mayores cambios isotópicos entre sustrato y producto por fraccionamiento y/o discriminación (Guerrero y Berlanga, 2000; Robinson, 2001).

Para los ecologistas el empleo de la abundancia natural de  $^{15}\text{N}$ , permite un análisis de la fijación biológica de  $\text{N}_2$ , las fuentes de nitrógeno en el ecosistema, las transformaciones que le ocurren siguiendo diferentes procesos en el ecosistema, así como el estatus de este elemento dentro de las tramas tróficas y el efecto de su incorporación desde fuentes alóctonas, fundamentalmente antrópicas (Sun *et al.*, 2011).

Por ejemplo, durante la producción de abonos industriales con la síntesis química de Haber, en la cual se convierte  $\text{N}_2$  en amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) o nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ), la

molécula resultante conserva las características isotópicas del N<sub>2</sub> atmosférico (~0‰). En cambio, los desechos nitrogenados de animales, que generalmente se excretan en forma de urea, se convierten en amoníaco (NH<sub>3</sub>) al hidrolizarse en las aguas residuales y este se pierde fácilmente por volatilización. A diferencia de los residuos de fertilizantes industriales, en este proceso se pierde nitrógeno en su forma isotópica más ligera, dando como resultado un enriquecimiento de <sup>15</sup>N de las aguas residuales ( $\delta^{15}\text{N} \sim 10\text{‰}$ ), lo que permite identificar isotópicamente estas dos formas de incorporación de nitrógeno inorgánico (NID) al ecosistema (Costanzo *et al.*, 2001; Robinson, 2001; Costanzo *et al.*, 2005).

El equipo de investigación de Costanzo y colaboradores desarrolló una metodología de monitoreo de aguas residuales, denominada *sewage plume mapping*, en inglés, que aprovecha la fisiología de absorción de nitrógeno de las algas marinas. Durante su crecimiento estas algas asimilan el nitrógeno disponible en el medio, prácticamente sin alterar su señal isotópica, por lo que constituyen buenos bioindicadores de la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  de las aguas donde se desarrollan. Esto permite hacer un mapeo del alcance de las aguas residuales respecto a la línea costera, según explica su metodología (Costanzo *et al.*, 2001; Costanzo *et al.*, 2005; Fry, 2006).

**Tabla 2. Señal isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$  de las principales fuentes potenciales de MOS en ecosistemas costeros y estuarinos**

<b>Fuente de MO</b>	<b>Rango de <math>\delta^{15}\text{N}</math> (‰)</b>
MOPS marino	-2 a +11
MOPS dulceacuícola	-
N <sub>2</sub> disuelto	~+1
Plantas terrestres	-8 a +3
Fijadores biológicos de N <sub>2</sub>	-2 a +2
MOSu	-14 a +14
Fertilizantes (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	~0
Fertilizantes (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	~+3

Donde MOSu se refiere a la materia orgánica contenida en los suelos. Datos tomados de Fry (2006). El significado del resto de las siglas se describe en la Tabla 1.

El uso de las proporciones naturales de  $\delta^{15}\text{N}$  como un indicador de fuentes de MO es a menudo complicado, debido fundamentalmente a que sus señales isotópicas se superponen (Tabla 2). Adicionalmente, en los ecosistemas marinos existen múltiples procesos químicos (volatilización) y biológicos (nitrificación y desnitrificación) que pueden producir un fraccionamiento significativo durante el transporte, deposición y enterramiento del nitrógeno a los sedimentos (Robinson, 2001; Rosenbauer *et al.*, 2009).

No obstante, en los ecosistemas marinos donde los productores primarios y secundarios posean valores de  $\delta^{15}\text{N}$  bien diferenciados respecto a los de la vegetación terrestre, las señales isotópicas de  $^{15}\text{N}$  pueden servir como marcadores para diferenciar entre recursos autóctonos y alóctonos (Fry, 2006)

#### **2.4.3. ANÁLISIS ELEMENTALES DE $C_{\text{ORG}}/N_{\text{TOTAL}}$**

Otra técnica complementaria al empleo de isótopos estables y también ampliamente utilizada para dilucidar el origen de la MOS en ecosistemas acuáticos son los análisis elementales. Estas técnicas se basan en la determinación de la cantidad de carbono orgánico ( $C_{\text{org}}$ ) y nitrógeno total ( $N_{\text{total}}$ ), así como su relación ( $C_{\text{org}}/N_{\text{total}}$ ) en el sedimento (Meyers, 1997; Dubois *et al.*, 2012).

Esta metodología se utiliza fundamentalmente para identificar la MO producida por fitoplancton, algas y bacterias (con una proporción de entre 4 y 10) a diferencia del material producido por plantas terrestres (con valores superiores a 12 para las C3 y por encima de 20 para las C4) (Lamb *et al.*, 2006).

Las principales diferencias en este sentido se deben al aporte de nitrógeno de estos grupos al sedimento debido a: (1) la abundancia de celulosa y lignina en las plantas terrestres, compuestos ricos en carbono y pobres en nitrógeno; y (2) las algas en cambio no poseen estos compuestos, pero son ricas en proteínas que son compuestos nitrogenados (Meyers, 1997; Lamb *et al.*, 2006).

Los estudios que utilizan estos análisis elementales demuestran que las principales alteraciones pos-deposicionales de la proporción  $C_{\text{org}}/N_{\text{total}}$  se deben a

la alteración de los niveles de nitrógeno por procesos de amonificación, nitrificación y desnitrificación (Gonneea *et al.*, 2004).

Un aumento de esta proporción en la MOS respecto al sedimento, puede deberse a la pérdida preferencial de nitrógeno en la descomposición parcial de la MO algal durante su deposición y enterramiento (Meyers, 1997). Por otro lado una disminución de esta proporción, puede ser interpretada como el resultado de la absorción de nitrógeno por los silicatos arcillosos del sedimento, o bien puede deberse a la incorporación de nitrógeno por descomposición bacteriana de la MO (Gonneea *et al.*, 2004; Hu *et al.*, 2008).

Otro factor influyente en la proporción de estos elementos en la MOS es el tamaño del grano o partícula de sedimento, que refleja el tipo de detrito orgánico y la composición mineral del sedimento. De forma general, en las partículas finas la razón  $C_{org}/N_{total}$  es menor que en las gruesas, ya que son abundantes en minerales arcillosos y poseen una mayor área de superficie cargada negativamente, lo que facilita la absorción de  $NH_4^+$  (Meyers, 1997).

Sin embargo cuando los cambios entre las fuentes potenciales de MO y la MOS, son pequeños, esto sugiere que ambos elementos son mineralizados o bien preservados en el sedimento, y que por tanto pueden servir como marcadores del origen de la MOS (Gonneea *et al.*, 2004).

## **2.5. ESQUEMA DE IDENTIFICACIÓN DE LA MATERIA ORGÁNICA**

Partiendo de los estudios realizados con técnicas elementales e isotópicas aplicadas a fenómenos ecológicos en ecosistemas acuáticos y como resultado de una extensa recopilación de los valores obtenidos en estos estudios, Meyers (1994; 1997) y Lamb *et al.* (2006) proponen un esquema integrador (Figura 1) que representa en diferentes grupos, toda la mezcla de posibles fuentes de MO en ecosistemas acuáticos.

El principal aporte de este esquema es que agrupa cada una de las fuentes potenciales de MO según su metabolismo biosintético ( $\delta^{13}C$ ) y características

fisiológicas ( $C_{org}/N_{total}$ ), (Meyers, 1994; 1997; Lamb *et al.*, 2006). No obstante, los autores recomiendan, de ser posible, la utilización de datos propios para cada escenario ambiental, que identifiquen las posibles fuentes de MO propias del entorno siguiendo esta metodología.

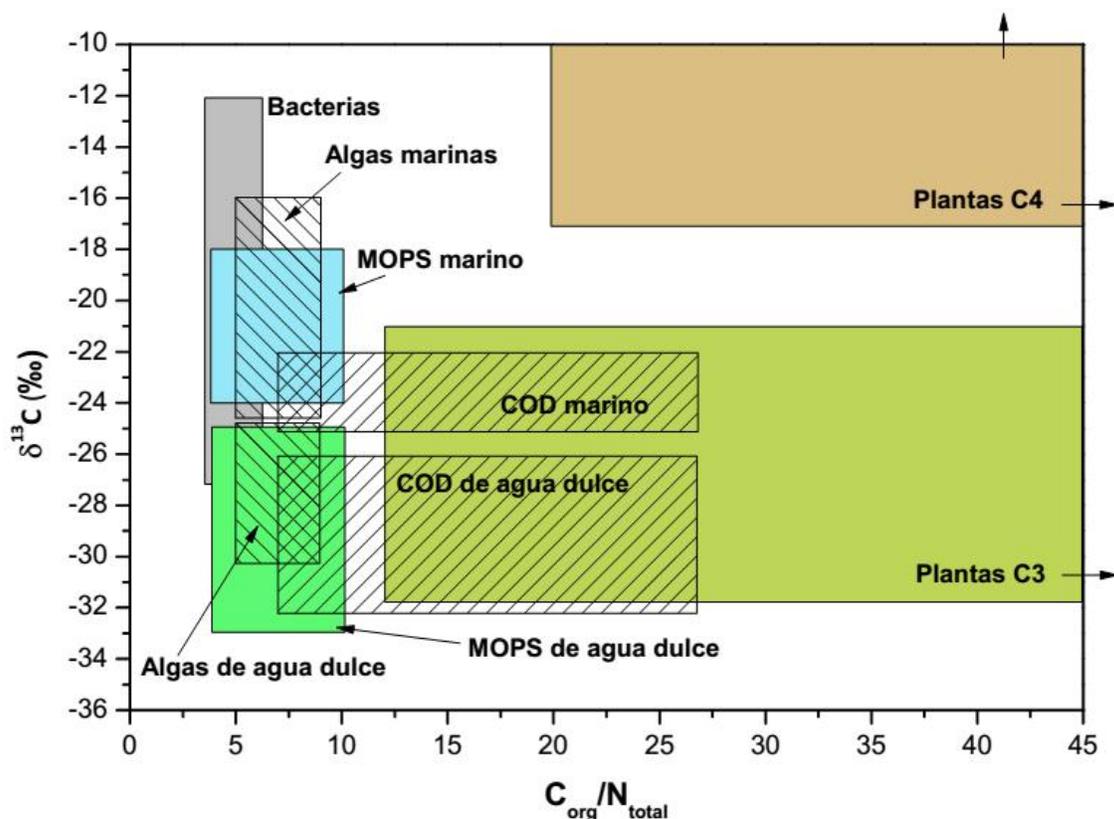


Figura 1. Esquema integrador de fuentes potenciales de MO según sus rangos de  $\delta^{13}C$  y  $C_{org}/N_{total}$ . Tomado de (Lamb *et al.*, 2006). El significado de cada una de las siglas está descrito en la Tabla 1.

## 2.6. MEZCLADO ISOTÓPICO

El mezclado isotópico (*mixing*, en inglés) a diferencia del fraccionamiento, es la combinación de sustancias dentro de un todo homogéneo. Dichos procesos actúan conjuntamente, se oponen y se complementan al mismo tiempo, combinándose para contribuir al reciclado de los isótopos en la naturaleza (Fry, 2006).

Durante el ciclo de los isótopos en la biosfera, el fraccionamiento funciona como un agente de cambio entre sustrato y producto, otorgando una señal o huella

isotópica distintiva a la sustancia o material resultante. En cambio el mezclado se encarga de recombinar dichas sustancias y eliminar o compensar el efecto del fraccionamiento. Este proceso cíclico se reconoce como la circulación global de los isótopos en la naturaleza, en donde se generan señales isotópicas por fraccionamiento y se eliminan estas señales por mezclado (Fry, 2006).

Contrario a la discriminación enzimática, que da origen al fraccionamiento, el mezclado isotópico se hace evidente en procesos naturales donde se unen moléculas para formar sustancias sin modificación de sus enlaces químicos. Ejemplo de ello son: la mezcla de MO en la dieta de organismos consumidores de varios tipos de presa o fuentes de alimento; la existencia de sustratos mezclados como fuente de nutrientes durante el crecimiento microbiano; así como los procesos incorporación y enterramiento de MOS, donde se combinan diferentes fuentes de Corg (e.g. plantas terrestres, fitoplancton, macroalgas) para dar lugar a una mezcla homogénea de MOS, que contiene el aporte de cada una de estas fuentes (Fry, 2006).

### **2.6.1. MODELOS DE MEZCLADO**

Una de las herramientas más utilizadas en los estudios ecológicos con isótopos estables, es la determinación de las proporciones en que contribuyen las posibles fuentes de MO al total de una mezcla. Sus aplicaciones incluyen estudios tróficos para identificar fuentes de alimento en dietas animales, porcentaje de nitrógeno derivado de la fijación microbiana en diferentes sustratos, fuentes de contaminación, así como la contribución de diferentes fuentes de carbono a la señal isotópica de la MOS (Phillips y Gregg, 2003; Phillips *et al.*, 2005; Parnell *et al.*, 2010).

Para este tipo de cálculos se utilizan diferentes modelos matemáticos de mayor o menor complejidad, dependiendo de las características del estudio (e. g. IsoSource, EMMA, MixSIR, SIAR). Sin embargo, el empleo de simples modelos lineales es una valiosa herramienta para estimar proporciones de dos fuentes con señales isotópicas diferentes para un mismo elemento (e. g.  $\delta^{13}\text{C}$ ). Estos modelos

se basan en la ley de conservación de la masa o ley de Lomonósov-Lavoisier, asumiendo que la señal de las fuentes no varía durante el mezclado y que por tanto su valor es el resultado de la suma del aporte individual de cada una de las fuentes, Ecuación 2 (Phillips y Gregg, 2001; Fry, 2006; Parnell *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2011).

**Ecuación 2. Modelo lineal de mezclado isotópico, donde se calcula la fracción que aportan dos fuentes independientes al total de una mezcla utilizando razones isotópicas.**

$$\delta_{mezcla} = (\delta_{fuente\ 1}) * f_1 + (\delta_{fuente\ 2}) * f_2$$

**Asumiendo que:**  $f_1 + f_2 = 1$  **y por tanto**  $f_2 = 1 - f_1$

$$\text{Entonces: } f_1 = \frac{(\delta_{mezcla} - \delta_{fuente\ 2})}{(\delta_{fuente\ 1} - \delta_{fuente\ 2})}$$

**Donde:**  $(\delta_{mezcla})$  es la señal isotópica de una mezcla de dos fuentes potenciales de MO,  $(\delta_{fuente\ 1}$  y  $\delta_{fuente\ 2})$  son las señales isotópicas de las dos posibles fuentes de MO y  $(f)$  es la proporción en la que contribuyen las fuentes 1 y 2, respectivamente, a la señal isotópica de la mezcla.

Generalmente en este tipo de modelos, la señal isotópica de cada una de las fuentes se calcula por la media de un grupo de muestras. El valor de la mezcla que se utiliza en los cálculos puede ser también un promedio, o bien se pueden calcular de forma independiente con cada uno de los valores, como en el caso de los perfiles de sedimento. En este caso los diferentes estratos sedimentarios representan mezclas de MOS en las que se cuantifica el aporte de cada una de las fuentes en una escala temporal, con el fin de determinar cómo varían sus proporciones en el tiempo.

## **2.7. PERFILES DE SEDIMENTO**

Los sedimentos marinos son el resultado de la acumulación de diversos constituyentes de la columna de agua, tanto autóctonos como alóctonos; por lo que dependiendo del tamaño de la partícula de sedimento y su contenido de material arcilloso, pueden ser excelentes acumuladores de nutrientes y/o compuestos contaminantes, creando registros ambientales de valiosa información

histórica sobre la incorporación de estos elementos al ecosistema (Sericano *et al.*, 2007; Ruiz-Fernández y Hillaire-Marcel, 2009).

En áreas donde la acumulación de sedimentos ocurre sin bioturbación, mezclado físico o episodios de erosión, la columna sedimentaria constituye un registro integral de las tendencias temporales y los cambios ocurridos en los cuerpos de agua a lo largo del tiempo, aportando información histórica sobre las características del ambiente en el momento de su formación y de las modificaciones temporales que ha sufrido hasta el momento de su evaluación (Sericano *et al.*, 2007).

Por tanto en ausencia de datos de monitoreo a gran escala temporal, como el caso de este estudio, la columna sedimentaria es un compartimiento natural muy útil para la reconstrucción de eventos ambientales del pasado, así como para la obtención de datos e información en retrospectiva, sobre las condiciones ambientales y características del ecosistema (Ruiz-Fernández y Hillaire-Marcel, 2009).

Los estudios de registros sedimentarios paleoecológicos que incluyen análisis de abundancia natural de isótopos estables de carbono y nitrógeno, y su relación elemental  $C_{org}/N_{total}$ , constituyen una valiosa herramienta para inferir cambios temporales a largo plazo en la incorporación de nutrientes, reconstruir eventos de eutrofización antropogénica y cuantificar el aporte de fuentes potenciales de MO en ecosistemas costeros y lagunares (Meyers, 1994; 1997; Fourqurean *et al.*, 2005; Lamb *et al.*, 2006; Hu *et al.*, 2008; Jia *et al.*, 2012).

El método más utilizado actualmente para fechar estos registros temporales es cuantificación con  $^{210}Pb$ , un radionúclido natural que tiene un período de semidesintegración ( $T_{1/2}$ ) de  $22.23 \pm 0.12$  años, y permite estudiar numerosos procesos marinos, incluyendo la mezcla de los sedimentos por procesos físicos, químicos y/o biológicos (Zaborska *et al.*, 2007; Betti *et al.*, 2011).

De forma general este método se basa en cuantificar el desequilibrio que existe entre los radionúclidos  $^{226}Ra$  y  $^{210}Pb$ , que forman parte de la cadena de

desintegración del  $^{238}\text{U}$ . Asumiendo que el  $^{210}\text{Pb}$  puede ser detectado hasta 5 o 6 veces su período de semidesintegración, se puede esperar que el  $^{210}\text{Pb}$  pueda proporcionar información útil durante los últimos 100 a 150 años aproximadamente, dependiendo de las técnicas analíticas utilizadas y la precisión del ensayo (Sericano *et al.*, 2007; García-Orellana y Sanchez-Cabeza, 2012). Este método es comúnmente usado en asociación con  $^{137}\text{Cs}$ , un radionúclido artificial cuya distribución global en los sedimentos tiene su origen en las pruebas atómicas que se realizaron alrededor del mundo, mayormente a mediados de la década de 1960 y por tanto su detección corrobora el fechado (Sericano *et al.*, 2007).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. ZONA DE ESTUDIO**

La Laguna Guanaroca se encuentra ubicada al Sureste de la bahía de Cienfuegos en la costa centro-sur de Cuba. Geográficamente se sitúa en el marco de las coordenadas 22°04'N al Norte, 22°03'N al Sur, 80°22'W al Este y 80°24'W al Oeste. Su principal afluente de agua dulce es el río Arimao y se encuentra unida a la bahía de Cienfuegos por un pequeño canal de 0,9 km de largo por 100 m de ancho (Figura 2).

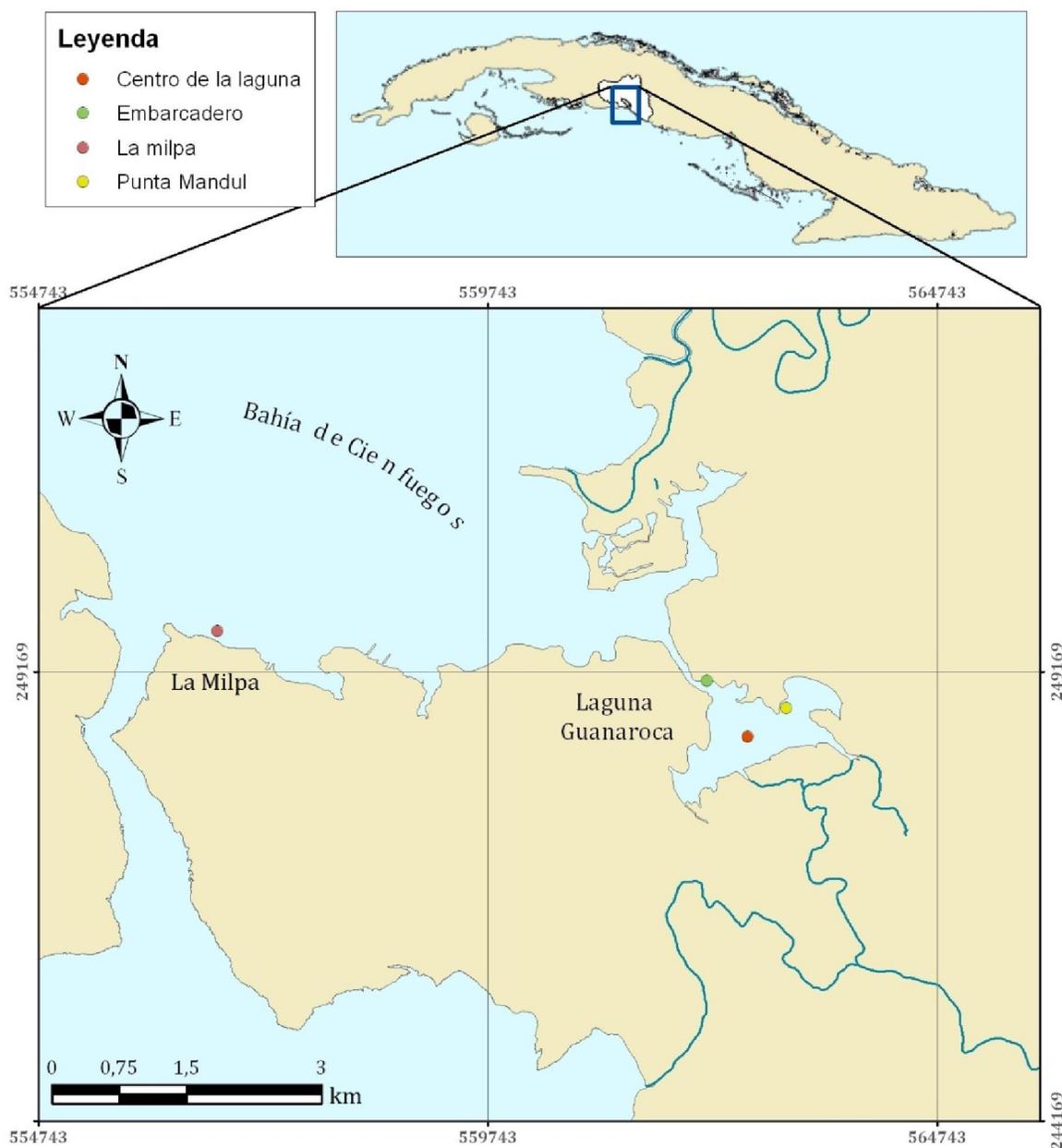
Posee una profundidad promedio de 1,2 m y una extensión geográfica de aproximadamente 2,2 km<sup>2</sup>. Sus márgenes están protegidas por un bosque de mangle donde se reportan las especies *R. mangle* (Mangle rojo), *A. germinans* (Mangle prieto), *L. racemosa* (Patabán), *C. erectus* (Yana). Por sus valores naturales, relieve y formaciones vegetales, se considera un punto de atracción para el sector turístico nacional y extranjero.

#### **3.2. PERFIL DE SEDIMENTO**

En abril de 2008 se extrajo un perfil de sedimento (8 cm de diámetro interior, 1m de longitud) en las coordenadas 22°03'42.82"N y 80°23'40.61"W (Figura 2). Posteriormente la columna de sedimento fue extrudida verticalmente y seccionada a intervalos de 3cm. Las secciones se liofilizaron, homogenizaron, etiquetaron a la profundidad correspondiente y se almacenaron para su posterior análisis isotópico y elemental. De cada una de las secciones se tomó una porción para realizar el fechado con los radionúclidos <sup>210</sup>Pb, <sup>226</sup>Ra y <sup>137</sup>Cs por espectrometría gamma de alta resolución, en una cámara de de bajo fondo con un detector de germanio de alta pureza (HPGe) con una configuración de pozo (eficiencia nominal 60%, resolución 2,1 keV a 1333 keV).

El muestreo y manipulación del perfil se realizó según las especificaciones descritas por (Sericano *et al.*, 2007). Todas las mediciones se hicieron en el LEA, del Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos, según el procedimiento

L-SA-132 “Procedimiento para Espectrometría Gamma”. Los resultados correspondientes al fechado, granulometría y tasa de sedimentación de la columna de sedimento, necesarios para la realización de este estudio se tomaron de (Alonso-Hernández *et al.*, *en prensa*).



**Figura 2.** Zona de estudio (Laguna Guanaroca y La Milpa), ubicadas en el Lóbulo Sur de la Bahía de Cienfuegos, donde se muestran cada uno de los puntos de muestreo.

### **3.3. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

#### **3.3.1. MUESTRAS ORGÁNICAS**

En julio de 2013, se establecieron tres puntos de muestreo representativos del área de la laguna: Centro de la laguna (22°3'42,78"N, 80°23'32,36"W), Punta Mandul (22°3'50,15"N, 80°23'20,919"W) y Embarcadero (22°4'0,578"N, 80°23'51,645"W) (Figura 2).

#### **3.3.2. MATERIAL ORGÁNICO PARTICULADO EN SUSPENSIÓN (MOPS)**

En cada uno de los puntos de muestreo se tomaron 2 L de agua superficial, que posteriormente se filtraron al vacío por un filtro Whatman GF/F pre-incinerado (450°C, 3 h), lo que se tomo como muestra representativa del seston o material orgánico particulado en suspensión (MOPS) (Gonneea *et al.*, 2004; Kennedy *et al.*, 2004).

#### **3.3.3. MANGLE Y FITOBENTOS ASOCIADO**

En los puntos de muestreo cercanos al margen de la laguna se tomaron al azar hojas jóvenes y maduras de las ramas inferiores de cada una de las especies de mangle reportadas para el área. Para los macrofitobentos se tomaron de tres a cinco raíces de *R. mangle* por punto, para luego extraer cuidadosamente las macroalgas asociadas (complejo *Bostrychetum*) que se clasificaron en el género *Bostrychia sp.* según los criterios de clasificación de Littler y Littler (2000), Littler *et al.* (2008) y Wynne (2011).

#### **3.3.4. MACROFITOBENTOS**

Debido a la escasez de macrófitos en la laguna durante la toma de muestras, se procedió en el propio mes a la recolección de muestras en una zona cercana (La Milpa: 22°4'19,303"N, 80°27'1,386"W) con mayor influencia del mar proveniente de la Bahía (Figura 2). Con la ayuda de equipo de buceo ligero (*Snorkelin*, en inglés) en un área paralela a la línea costera, de aproximadamente 60x30 m<sup>2</sup> y a una

profundidad máxima de 2 m, se recolectaron al azar entre tres y cuatro individuos de cada una de las especies de macrófitos encontrados en la zona (2 fanerógamas *Magnoliophyta*, 6 algas rojas *Rhodophyta*, 3 algas pardas *Heterokontophyta* y 3 algas verdes *Chlorophyta*) clasificadas hasta el taxón más bajo posible según los criterios de Littler y Littler (2000), Littler *et al.* (2008) y Wynne (2011).

#### **3.4. PRETRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Las muestras orgánicas fueron lavadas con abundante agua destilada para remover cualquier material ajeno a la muestra y se secaron en una estufa a 60°C durante 48 h. Posteriormente se maceraron y homogenizaron hasta alcanzar la textura de un polvillo fino, para luego envasarlas, etiquetarlas y almacenarlas hasta su posterior análisis isotópico y elemental.

Las muestras de sedimento fueron tratadas previamente con una solución de HCl (1M). Este proceso se realizó repetidamente (tres/cuatro veces) para remover completamente los carbonatos inorgánicos. Posteriormente se secaron en una estufa a 50°C durante 48h.

#### **3.5. ANÁLISIS DE LABORATORIO**

La totalidad de los análisis de laboratorio se llevaron a cabo por especialistas del Laboratorio Integrado de Calidad Ambiental (LICA) de la Universidad de Navarra, España.

Para ambos análisis, elemental e isotópico, se tomaron 10mg de cada una de las muestras orgánicas y de sedimento.

El control de la calidad de los datos se verificó analizando los estándares y el material de referencia cada 10 muestras.

### **3.5.1. ANÁLISIS ELEMENTALES DE C<sub>ORG</sub> Y N<sub>TOTAL</sub>**

El contenido de C<sub>org</sub> y N<sub>total</sub> fue determinado en un Analizador Elemental CHONS Vario MICRO-Isoprime 100. El estándar utilizado fue el ácido sulfanílico (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>3</sub>S) con una composición elemental de 41,61% carbono y 8,09% nitrógeno. El material de control empleado fue el Alga 1452 B (Universidad de Barcelona), que tiene una composición elemental certificada de 27,33% carbono y 2,71% nitrógeno. Los análisis se realizaron en cápsulas vírgenes de estaño, con sus estándares conocidos, para corregir las señales de carbono y nitrógeno asociado a las mismas y calibrar correctamente el análisis elemental. El límite de detección del análisis estuvo por debajo del 0,02 %.

### **3.5.2. ANÁLISIS ISOTÓPICO DE $\delta^{13}\text{C}$ Y $\delta^{15}\text{N}$**

Los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{15}\text{N}$  fueron determinados con un sistema (EA/IRMS) que consiste en un Analizador Elemental (EA) CHONS Vario MICRO, acoplado a un espectrómetro de masa (IRMS-Isoprime 100). El espectrómetro de masa se configuró para realizar análisis de alta sensibilidad. Al igual que en los análisis elemental, éste se llevó a cabo en cápsulas vírgenes de estaño con sus estándares conocidos. El estándar utilizado fue el mismo (Alga 1452 B) con una composición isotópica certificada de  $\delta^{13}\text{C} = -16.97\text{‰}$  vs. VPDB y  $\delta^{15}\text{N} = 8.93\text{‰}$  vs. AIR.

### **3.6. ANÁLISIS DE LOS DATOS**

Los resultados del análisis elemental se presentaron en (%) de C<sub>org</sub> y N<sub>total</sub>, a partir de los cuales se obtuvo la proporción C<sub>org</sub>/N<sub>total</sub>, como el cociente de la división de dichos resultados. Los análisis isotópicos carbono y nitrógeno se presentaron en partes por mil (‰) según la notación delta ( $\delta$ ) estándar para las relaciones isotópicas de un elemento en una muestra.

La correlación entre el diámetro de las partículas de sedimento y el contenido de C<sub>org</sub> y N<sub>total</sub>, respectivamente, se determinó mediante un análisis de Pearson, utilizando el paquete estadístico STATGRAPHICS Plus 5.1 (Ed. Profesional).

A los resultados de las muestras orgánicas se le calcularon los siguientes parámetros estadísticos valor mínimo, valor máximo, media y desviación estándar (Anexo 1).

La totalidad de los resultados presentados en este estudio se graficaron utilizando el paquete estadístico OriginPro 8 SRO.

### **3.6.1. IDENTIFICACIÓN DE FUENTES DE MO**

A partir de la media y desviación estándar de la señal isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y elemental ( $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$ ) de los distintos grupos de muestras orgánicas se confeccionó un esquema siguiendo los criterios de Meyers (1994; 1997) y Lamb *et al.* (2006) para la identificación de fuentes potenciales de MO en los sedimentos de ecosistemas acuáticos.

### **3.6.2. APORTE DE MO A LOS SEDIMENTOS**

A partir de la identificación del origen de la MOS del perfil de sedimento, se procedió a cuantificar su aporte individual en (%). Para ello, se siguieron los criterios de conservación de la masa durante el mezclado de la MO en el sedimento (Phillips y Gregg, 2001; Fry, 2006; Lamb *et al.*, 2006) y se aplicaron dos variantes del modelo presentado en la Ecuación 2, utilizadas en estudios similares (Gao *et al.*, 2012; Jia *et al.*, 2012), ver más detalles en el capítulo 4 (RESULTADOS), Ecuación 5 y Ecuación 6.

### **3.6.3. FLUJO DE ENTERRAMIENTO DE CARBONO ORGÁNICO**

Para el cálculo del flujo de secuestro y enterramiento de Corg (FC) en los sedimentos de la laguna se utilizó el modelo propuesto por Jia *et al.* (2012), Ecuación 3. Como referente de la cantidad total de material sedimentario por unidad de tiempo que llega a los sedimentos de la laguna, se usó el valor promedio de la tasa de sedimentación ( $\text{TS} = 0,56 \text{ g cm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ) del perfil utilizado, tomado de Alonso-Hernández *et al.*, *en prensa*.

**Ecuación 3. Modelo para el cálculo del enterramiento de Corg en los sedimentos.**

$$FC_{total} = TS * Corg$$

Donde:  $FC_{total}$  representa el flujo de enterramiento de Corg ( $g\ m^{-2}\ a^{-1}$ );  $TS$  tasa de sedimentación ( $0,56\ g\ cm^{-2}\ a^{-1}$ ) y  $Corg$  es el contenido de Corg en el sedimento ( $mg\ g^{-1}$ ).

Para un mejor entendimiento de la dinámica de enterramiento de la MOS y la productividad biológica de la laguna, se calculó de forma individual el FC para cada una de las fuentes de MO identificadas, según su aporte en (%), utilizando la Ecuación 4.

**Ecuación 4. Modelo para el cálculo del enterramiento de Corg de cada una de las fuentes de MO a los sedimentos**

$$FC_X = FC_{total} * P_X$$

Donde:  $FC_X$  es el flujo de enterramiento de Corg propio de cada fuente de MO ( $g\ m^{-2}\ a^{-1}$ );  $FC_{total}$  representa el flujo de enterramiento de Corg total en el sedimento ( $g\ m^{-2}\ a^{-1}$ ) y  $P_X$  es el aporte de MO propio de cada fuente de MO ( $mg\ g^{-1}$ ).

## 4. RESULTADOS

### 4.1. MUESTRAS ORGÁNICAS

Las muestras orgánicas incluyeron en total 4 especies de mangle, 2 especies de fanerógamas o pastos marinos y 13 especies de macroalgas (7 rojas, 3 pardas y 3 verdes), identificadas hasta el taxón más bajo posible, Tabla 3.

Se tomaron además muestras de MOPS como representativo del fitoplancton del área, en donde se reportan como especies dominantes *Pyrophacus horologium* (Stein), *Scrippsiella trochoidea* (Stein) y *Scrippsiella spinifera* (Honsell & Cabrini), (Moreira *et al.*, 2013).

Tabla 3. Resumen de las especies recolectadas como posibles fuentes de MO.

Muestra	Phyllum o División	Nombre común	Lugar de colecta
<i>Rhizophora mangle</i>	Magnoliophyta	Mangle rojo	Punta Mandul
<i>Laguncularia racemosa</i>	Magnoliophyta	Patabán	Punta Mandul
<i>Avicennia germinans</i>	Magnoliophyta	Mangle prieto	Punta Mandul
<i>Conocarpus erectus</i>	Magnoliophyta	Yana	Embarcadero
<i>Thalassia testudinum</i>	Magnoliophyta	Pasto marino	La Milpa
<i>Halodule wrightii</i>	Magnoliophyta	Pasto marino	La Milpa
<i>Gracilaria caudata</i>	Rhodophyta	Alga roja	La Milpa
<i>Acantophora spicifera</i>	Rhodophyta	Alga roja	La Milpa
<i>Palisada perforata</i>	Rhodophyta	Alga roja	La Milpa
<i>Digenea simplex</i>	Rhodophyta	Alga roja	La Milpa
<i>Hypnea cornuta</i>	Rhodophyta	Alga roja	La Milpa
<i>Chondria floridana</i>	Rhodophyta	Alga roja	La Milpa
Complejo " <i>Bostrychetum</i> "	Rhodophyta	Alga roja	Punta Mandul
<i>Padina sanctae-crucis</i>	Heterokontophyta	Alga parda	La Milpa
<i>Canistrocarpus cervicornis</i>	Heterokontophyta	Alga parda	La Milpa
<i>Feldmannia irregularis</i>	Heterokontophyta	Alga parda	La Milpa
<i>Acetabularia crenulata</i>	Chlorophyta	Alga verde	La Milpa
<i>Ulva prolifera</i>	Chlorophyta	Alga verde	La Milpa
<i>Ulva. sp.</i>	Chlorophyta	Alga verde	La Milpa

**4.1.1. CARACTERIZACIÓN ISOTÓPICA Y ELEMENTAL DE LAS MUESTRAS ORGÁNICAS**

La totalidad de los resultados de los análisis isotópicos y elementales de las muestras orgánicas, incluyendo el porcentaje de carbono y nitrógeno, se muestran en el Anexo 1. La Tabla 4, resumen por grupos los valores obtenidos para las posibles fuentes de MOS en la laguna, calculando su media y la desviación estándar.

**Tabla 4. Media y  $\sigma$  (desviación estándar) de los análisis elementales e isotópicos para cada uno de los grupos de posibles fuentes de MO colectadas.**

Grupo	C <sub>org</sub> (%)	N <sub>total</sub> (%)	C <sub>org</sub> /N <sub>total</sub>		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)		$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
			Media	$\sigma$	Media	$\sigma$	Media	$\sigma$
Mangles	31,1	1,0	32,6	$\pm 5,7$	-29,6	$\pm 0,6$	2,6	$\pm 0,9$
MOPS	21,4	3,4	6,4	$\pm 0,5$	-25,3	$\pm 0,2$	7,2	$\pm 0,4$
Pastos marinos	33,7	1,6	22,5	$\pm 5,0$	-10,5	$\pm 1,1$	6,4	$\pm 1,1$
Algas rojas	24,3	1,3	24,1	$\pm 15,8$	-16,5	$\pm 1,7$	7,1	$\pm 1,0$
Algas pardas	28,0	1,1	26,1	$\pm 6,7$	-16,3	$\pm 5,7$	5,7	$\pm 0,4$
Algas verdes	22,0	0,6	43,1	$\pm 20,3$	-16,6	$\pm 6,8$	5,4	$\pm 0,7$

Para las cuatro especies de mangle, la relación C<sub>org</sub>/N<sub>total</sub> estuvo entre 26,8 y 40,5 con una media de 32,6  $\pm$  5,7. La señal de  $\delta^{13}\text{C}$  estuvo en un rango de -30,1‰ a -28,8‰ con una valor medio de -29,6‰  $\pm$  0,6. El  $\delta^{15}\text{N}$  estuvo entre 1,9‰ y 3,9‰, con una media de 2,6‰  $\pm$  0,9.

La relación C<sub>org</sub>/N<sub>total</sub> del MOPS se encontró en un rango de 5,5 y 7,0 con un valor promedio de 6,4  $\pm$  0,5. Los análisis isotópicos de  $\delta^{13}\text{C}$  presentaron muy poca variación, con valores entre -25,9‰ y -25,1‰ y una media de -25,3‰  $\pm$  0,2. El valor más bajo obtenido para el  $\delta^{15}\text{N}$  de este grupo de muestras fue de 6,3‰, el mayor fue de 7,9‰ y la media fue de 7,2‰  $\pm$  0,4.

Los valores de C<sub>org</sub>/N<sub>total</sub> en los pastos marinos ocuparon un rango entre 17,4 y 28,9 con una media de 22,5  $\pm$  5,0. La señal isotópica estuvo entre -11,9‰ y

-9,3‰, para  $\delta^{13}\text{C}$ , con una media de  $-10,5\text{‰} \pm 1,1$  y los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  estuvieron entre 4,8‰ y 7,2‰ con un valor promedio de  $6,4\text{‰} \pm 1,1$ .

Los análisis elementales de las algas rojas presentaron gran variación, con un valor mínimo de 10,3 para el Complejo "*Bostrychetum*", una proporción  $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$  máxima de 58,0 en *G. flabelliformis*, y una media de  $24,1 \pm 15,8$ . La señal de  $\delta^{13}\text{C}$  osciló entre  $-18,9\text{‰}$  y  $-14,2\text{‰}$  con un promedio de  $-16,5\text{‰} \pm 1,7$ . Los valores de  $\delta^{15}\text{N}$  ocuparon un rango entre 6,0‰ y 8,5‰ con una media de  $7,1\text{‰} \pm 1,0$ .

En *Heterokontophyta* (algas pardas) el rango de  $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$  estuvo entre 19,6 y 32,9 con un promedio de  $26,1 \pm 6,7$ . Los resultados de  $\delta^{13}\text{C}$  mostraron una variación de  $-21,0\text{‰}$  (valor mínimo) a  $-9,9\text{‰}$  (valor máximo), con una media de  $-16,3\text{‰} \pm 5,7$ . El rango de valores del  $\delta^{15}\text{N}$  estuvo entre 5,3‰ y 6,0‰ con un valor promedio de  $5,7\text{‰} \pm 0,4$ .

Las algas verdes presentaron una relación elemental  $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$  con valores entre 22,7 en *Ulva sp.* y 62,9 para *A. crenulata*, con una media de  $43,1 \pm 20,3$ . La señal de  $\delta^{13}\text{C}$  estuvo entre  $-22,1\text{‰}$  y  $-9,0\text{‰}$  con un valor promedio de  $-16,6\text{‰} \pm 6,8$ . La señal de  $\delta^{15}\text{N}$  osciló en un rango de 4,8‰ a 6,2‰, con una media de  $5,4\text{‰} \pm 0,7$ .

### 4.1.2. IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES POTENCIALES DE MOS

Siguiendo los criterios de Meyers (1994; 1997) y Lamb *et al.* (2006) (Figura 1), se escogió la señal de  $\delta^{13}\text{C}$  y la relación elemental  $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$  para la identificación de fuentes potenciales de MOS. A partir de estas consideraciones se confeccionó un gráfico, donde se ubican cada uno de los grupos de muestras orgánicas según su media, y de manera tal que el área que ocupan estuviera determinada por su desviación estándar (Figura 3).

Como resultado (Figura 3) se obtuvo la identificación gráfica de 3 grupos diferentes de posibles fuentes de MO, aislados espacialmente: (1) macrofitobentos (pastos marinos y algas rojas, pardas y verdes), (2) mangle y (3) MOPS.

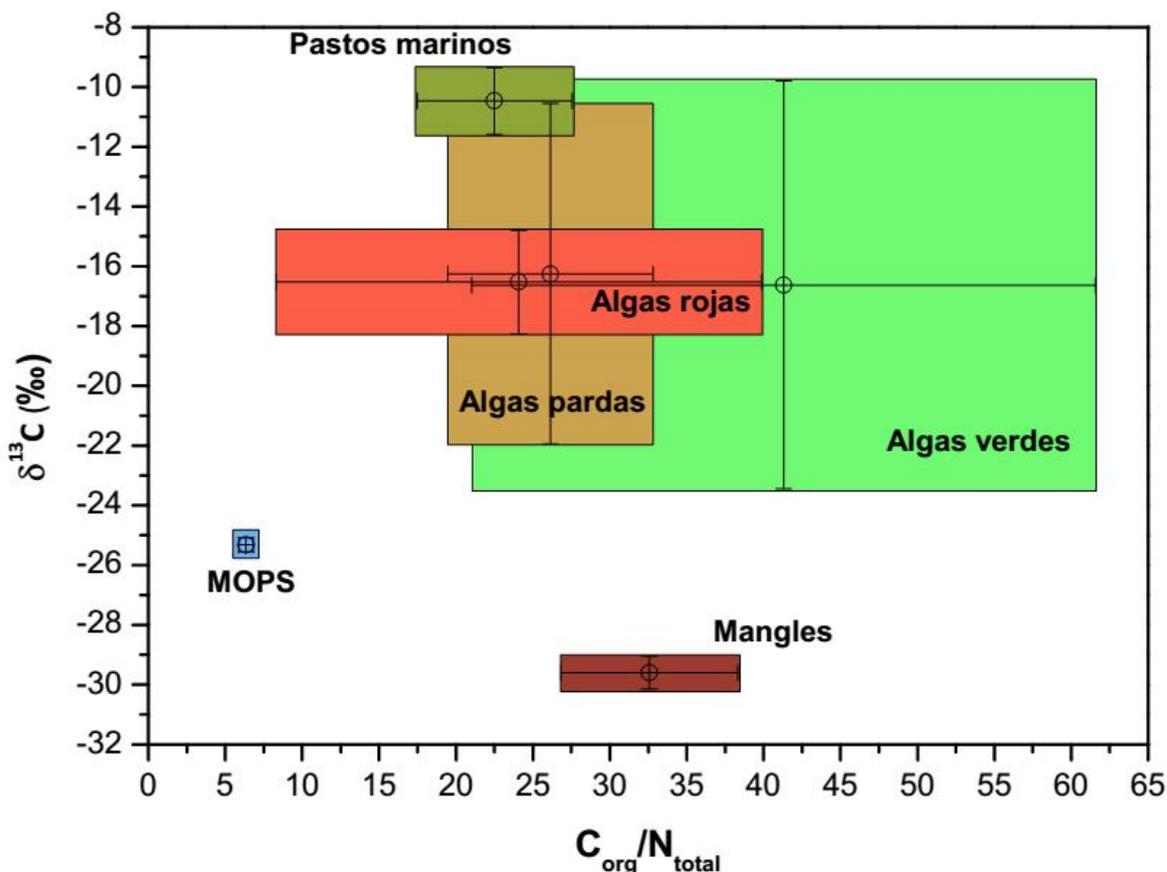


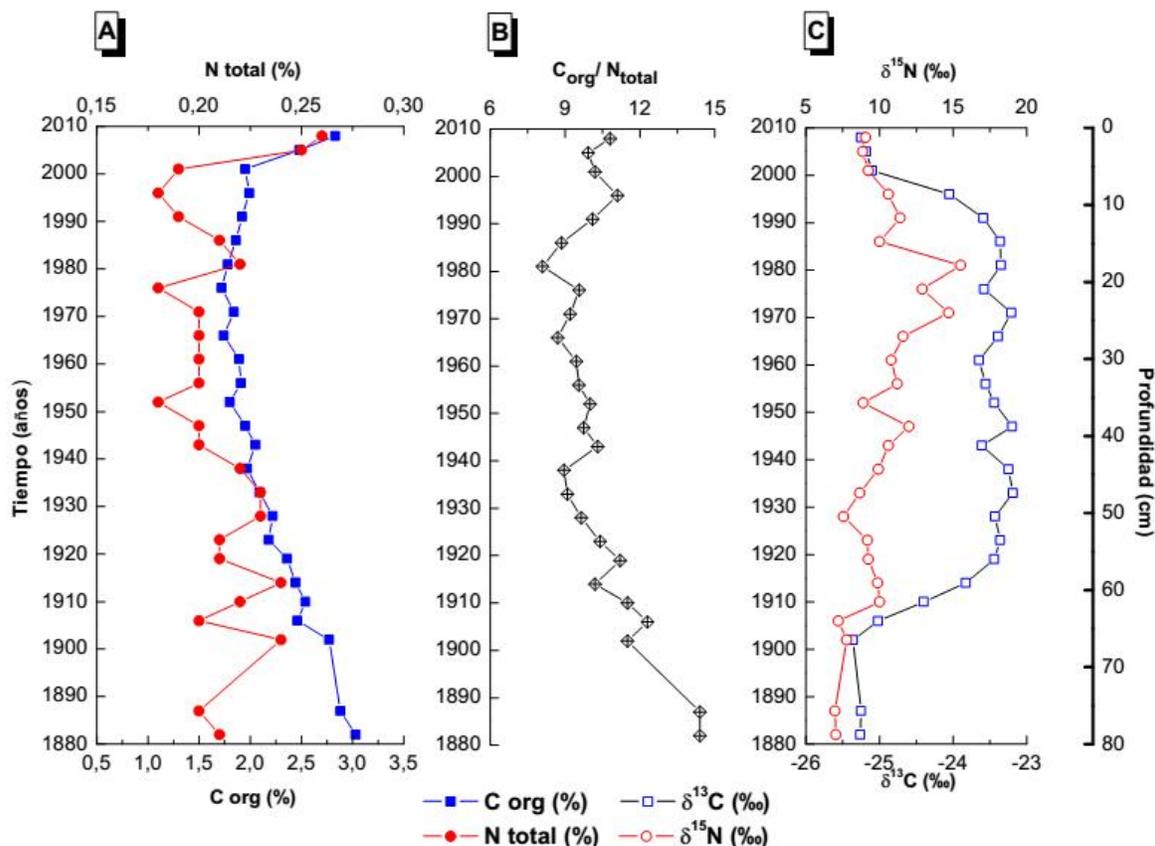
Figura 3. Esquema de identificación de las posibles fuentes de MO a los sedimentos de Laguna Guanaroca según la media y desviación estándar de su señal isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y elemental ( $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$ ).

#### 4.2. PERFIL DE SEDIMENTO

La totalidad de los resultados del análisis elemental e isotópico de la MOS en el perfil de sedimento, se presentan en el Anexo 2, y sus tendencias verticales se muestran en la Figura 4.

La variación vertical y/o temporal de los valores de  $\text{C}_{\text{org}}$  se encontró en un rango entre 1,72% y 3,03%, con una media de  $2,18\% \pm 0,39$ . En la Figura 4 A, se observa una clara tendencia a la disminución de los niveles de  $\text{C}_{\text{org}}$  entre los años 1900 y 1950, seguido de cierta estabilidad hasta finales de 1990. En la última década (2000-2010) es evidente un aumento de dichos niveles, alcanzando los valores previos a 1900, alrededor del 3%.

Los valores de Ntotal mostraron relativamente poca variación presentando valores entre 0,18% y 0,26%, con una media de  $0,21\% \pm 0,02$ . Los mayores valores de este indicador se presentaron hacia la última década (superficie del perfil) con valores de 0,25% y 0,26%.



**Figura 4.** Caracterización isotópica y elemental de la MOS A) Corg (%), Ntotal (%); B) Corg/Ntotal y C) δ<sup>13</sup>C (‰), δ<sup>15</sup>N (‰). Fechado del perfil de sedimento tomado de (Alonso-Hernández *et al.*, *en prensa*).

Los resultados de C<sub>org</sub>/N<sub>total</sub> tuvieron un valor mínimo de 8,09 y un máximo de 14,4 con una media de  $10,35 \pm 1,54$ . Como sucedió con el Corg, la Figura 4 B refleja la tendencia de estos valores a la disminución a partir de 1900, para luego aumentar nuevamente en los primeros 10 cm superficiales correspondientes a la segunda mitad de la década del 1990 en adelante.

La señal isotópica de δ<sup>13</sup>C arrojó resultados que variaron entre -25,36‰ y -23,19‰, con un promedio de  $-23,97\text{‰} \pm 0,81$ . En la Figura 4 C, se muestra una clara modificación de esta señal a partir de 1900, donde se establecen los valores

más elevados de  $\delta^{13}\text{C}$  ( $\sim -23,5\text{‰}$ ). A partir del 2000, la señal retomó los valores en el orden de ( $\sim -25,0\text{‰}$ ) que se obtuvieron también al inicio, entre 1880 y 19010.

El  $\delta^{15}\text{N}$  (Figura 4 C) evidencia un aumento progresivo de sus valores a partir de 1910 y hasta 1980 donde se obtuvo el máximo valor reportado, para luego descender en la última década (2000-2010) a valores por debajo de la media.

Los análisis de correlación del Corg y Ntotal respecto al diámetro de partícula de sedimento, no encontraron una correlación lineal estadísticamente significativa entre estas variables ( $p < 0,05$ ) (Figura 5). Por tanto, el contenido de MO en los sedimentos depende fundamentalmente de sus fuentes en el ecosistema.

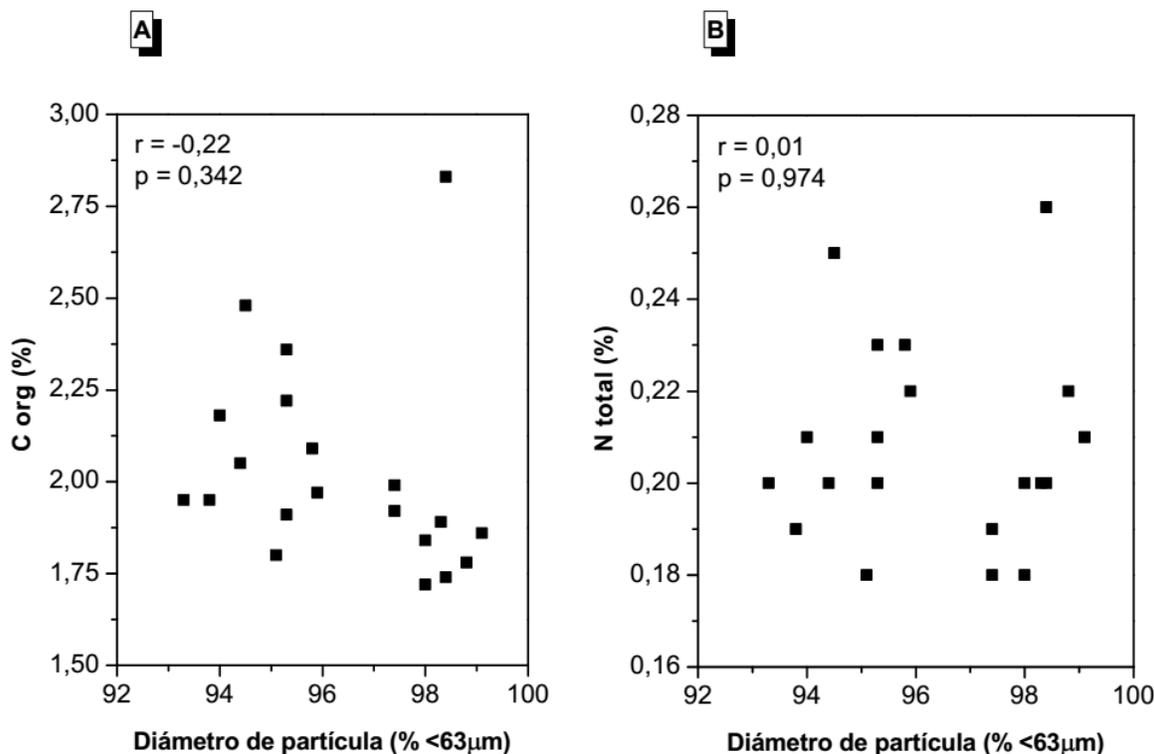


Figura 5. Análisis de correlación entre el diámetro de partícula de sedimento, respecto al contenido de Corg (A) y Ntotal (B) en la MOS.

### 4.3. IDENTIFICACIÓN DEL ORIGEN DE LA MOS

Para identificar el origen de la MOS, se plotearon los resultados isotópicos ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y elementales ( $C_{\text{org}}/N_{\text{total}}$ ) de la MOS de cada una de las secciones del perfil (Figura 6). Los resultados de este análisis partieron de la distribución espacial que tomaron dichas muestras en el esquema propuesto por Meyers (1994; 1997) y Lamb *et al.* (2006) (Figura 6 A). Adicionalmente, se realizó el mismo análisis con la representación obtenida a partir de los resultados de las muestras orgánicas en este estudio (Figura 6 B).

A partir de este análisis esquemático es evidente que los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $C_{\text{org}}/N_{\text{total}}$  de la MOS, representan una mezcla de tres fuentes potenciales de MO: plantas terrestres de tipo C3 (mangles), MOPS marino y de aguadulce (fundamentalmente fitoplancton marino y de agua dulce respectivamente).

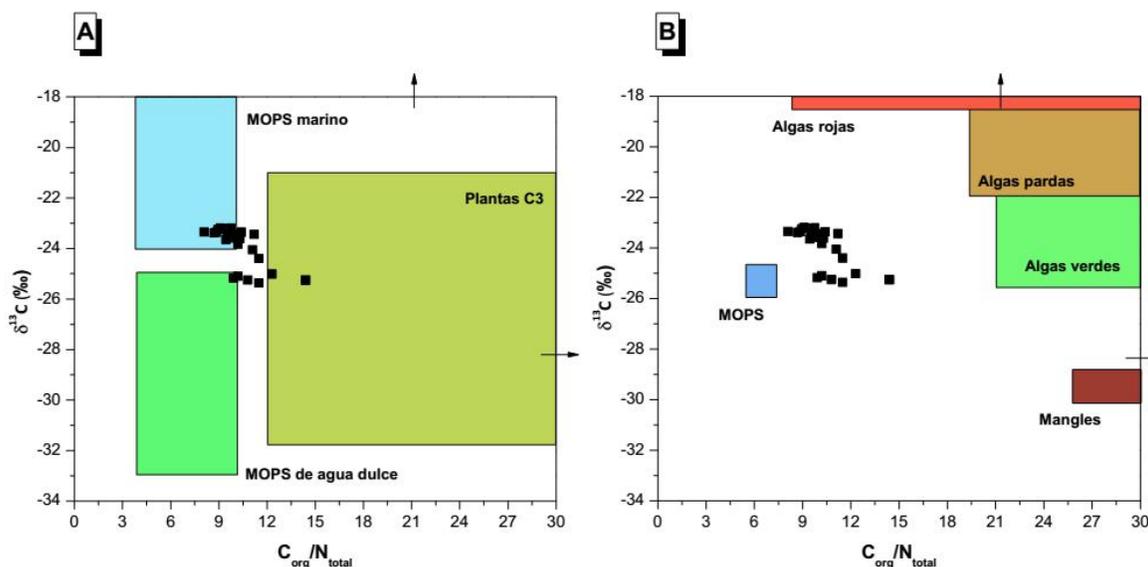


Figura 6. Identificación del origen de la MOS (■), según su señal isotópica ( $\delta^{13}\text{C}$ ) y elemental ( $C_{\text{org}}/N_{\text{total}}$ ). A) Ampliación a escala del esquema propuesto por Meyers (1994; 1997) y Lamb *et al.* (2006), Figura 1. B) Ampliación a escala del esquema presentado en la Figura 3.

Una visión más detallada de la distribución espacial de la MOS (Figura 7), indica cambios en las proporciones y la dominancia de cada una de estas fuentes a escala temporal. Estos cambios evidencian tres períodos fundamentales en la

dinámica del aporte de MO a los sedimentos de la laguna: **I**) 1880-1910, **II**) 1915-1990 y **III**) 2000-2010.

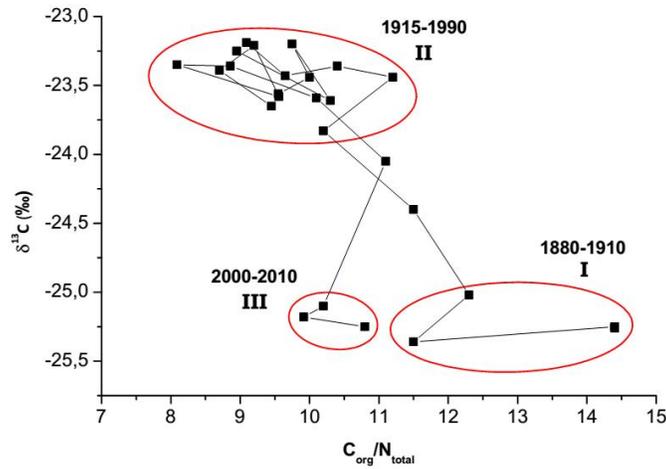


Figura 7. Ampliación a escala del ploteo de la MOS de la Figura 6, se señalan (○) las tres etapas fundamentales de su variación temporal.

#### 4.4. APOORTE DE MO A LOS SEDIMENTOS

Para realizar un correcto análisis de la dinámica de la MO que llega a los sedimentos de Laguna Guanaroca, es necesario determinar el aporte de cada una de las fuentes identificadas. Teniendo en cuenta los valores obtenidos en los análisis elementales ( $C_{org}/N_{total}$ ) del MOPS representativo del fitoplancton de la laguna (~6) y los mangles como representativos de las plantas terrestres tipo C3 (~32), se aplicó el siguiente modelo (Ecuación 5), para calcular su contribución en (%) al total de la mezcla de MOS en el perfil de sedimento.

Ecuación 5. Modelo lineal para calcular el aporte (%) de fuentes de MO a la señal de  $C_{org}/N_{total}$  de la MOS.

$$P_{MOPS} = \left[ \frac{(C_{org}/N_{total})_S - (C_{org}/N_{total})_M}{(C_{org}/N_{total})_{MOPS} - (C_{org}/N_{total})_M} \right] * 100$$

Entonces:  $P_M = 100 - P_{MOPS}$

Donde:  $P_{MOPS}$  y  $P_M$  son los porcentajes de contribución del MOPS y los mangles, respectivamente, al total del sedimento = 100. Mientras que  $(C_{org}/N_{total})_S$ ,  $(C_{org}/N_{total})_{MOPS}$  y  $(C_{org}/N_{total})_M$  son los valores de  $C_{org}/N_{total}$  del sedimento, el MOPS y los mangles, respectivamente.

Teniendo en cuenta las características estuarinas de la zona de estudio, y considerando los resultados de la identificación del origen de la MOS, se determinó adicionalmente el aporte del fitoplancton marino y de agua dulce al porcentaje total del MOPS. Para calcular su contribución individual se aplicó una variante del modelo anterior, utilizado en este caso la señal de  $\delta^{13}\text{C}$  reportada en Lamb *et al.* (2006) para dichas fuentes de MO, Ecuación 6.

**Ecuación 6. Modelo lineal para calcular el aporte (%) de fuentes de MO a la señal de  $\delta^{13}\text{C}$  de la MOPS.**

$$P_{fM} = \left[ \frac{(\delta^{13}\text{C})_{MOPS} - (\delta^{13}\text{C})_{fAD}}{(\delta^{13}\text{C})_{fM} - (\delta^{13}\text{C})_{fAD}} \right] * P_{MOPS}$$

$$\text{Entonces: } P_{fAD} = P_{MOPS} - P_{fM}$$

Donde:  $P_{fM}$  y  $P_{fAD}$  son los porcentajes de contribución del fitoplancton marino y de agua dulce, respectivamente, al valor de  $P_{MOPS}$  en el sedimento. Mientras que  $(\delta^{13}\text{C})_{MOPS}$ ,  $(\delta^{13}\text{C})_{fAD}$  y  $(\delta^{13}\text{C})_{fM}$  son las respectivas señales isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  del MOPS (-25,3‰), fitoplancton marino (-19,5 ‰) y fitoplancton de agua dulce (-29,0‰).

Los resultados obtenidos para el aporte de MO (Figura 8), muestran cuatro etapas o períodos fundamentales. Antes de 1900 los dos principales contribuyentes a la MOS del perfil (>70%) eran el fitoplancton de agua dulce (~42%) y los mangles (~31), mientras que el fitoplancton marino aportaba el ~27%. En un segundo momento, en la primera década de 1900-1910, la contribución de las plantas terrestres disminuye (~20%) y el fitoplancton marino aumenta (~35%).

A partir de 1910 y hasta 1940 aproximadamente, los resultados reflejaron un cambio significativo en la dinámica de la MO en la laguna. En esta etapa el aporte de MO de las plantas terrestres (~35%) y el fitoplancton (~15%) de agua dulce decrece considerablemente (<50%). Durante este período y hasta finales de 1990, estas condiciones parecen mantener una cierta estabilidad en la que el fitoplancton marino alcanza valores >50%, y el fitoplancton de agua dulce y los mangles mantienen un aporte de ~35% y ~10% respectivamente.

Por último, en los 10 cm superficiales del perfil de sedimento, la MOS experimenta un nuevo cambio en el aporte de sus contribuyentes. En este período, que abarca la segunda mitad de la década de 1990 en adelante, el aporte de MO proveniente del fitoplancton de agua dulce se eleva nuevamente a valores en el orden del 50%. El fitoplancton marino, en cambio, decae a partir de este momento a valores por debajo del 35%, mientras que el aporte de los manglares no refleja cambios significativos, manteniendo valores inferiores al 20% en su contribución.

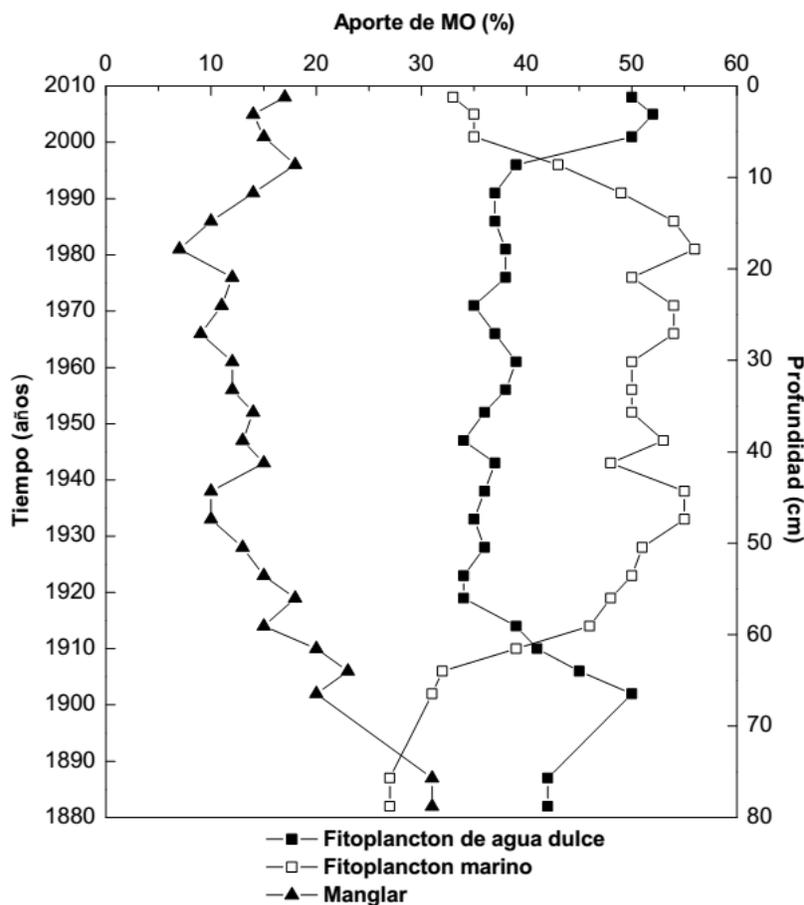


Figura 8. Variación temporal del aporte de MO (%) en los sedimentos de Laguna Guanaroca.

La totalidad de los resultados del aporte en % de MO que se hace referencia en este análisis, se presentan en el Anexo 3.

#### 4.5. FLUJO DE ENTERRAMIENTO DE CARBONO ORGÁNICO

El flujo de secuestro y enterramiento de Corg se define como la cantidad de carbono orgánico que llega a un área determinada de sedimento, durante un período de tiempo, y se expresa por tanto en  $\text{g m}^{-2} \text{a}^{-1}$ . Este parámetro se considera de gran importancia para determinar la capacidad ambiental, como sumidero de carbono, y para estimar la productividad biológica de un ecosistema costero de este tipo (Andrews *et al.*, 2011; Jia *et al.*, 2012).

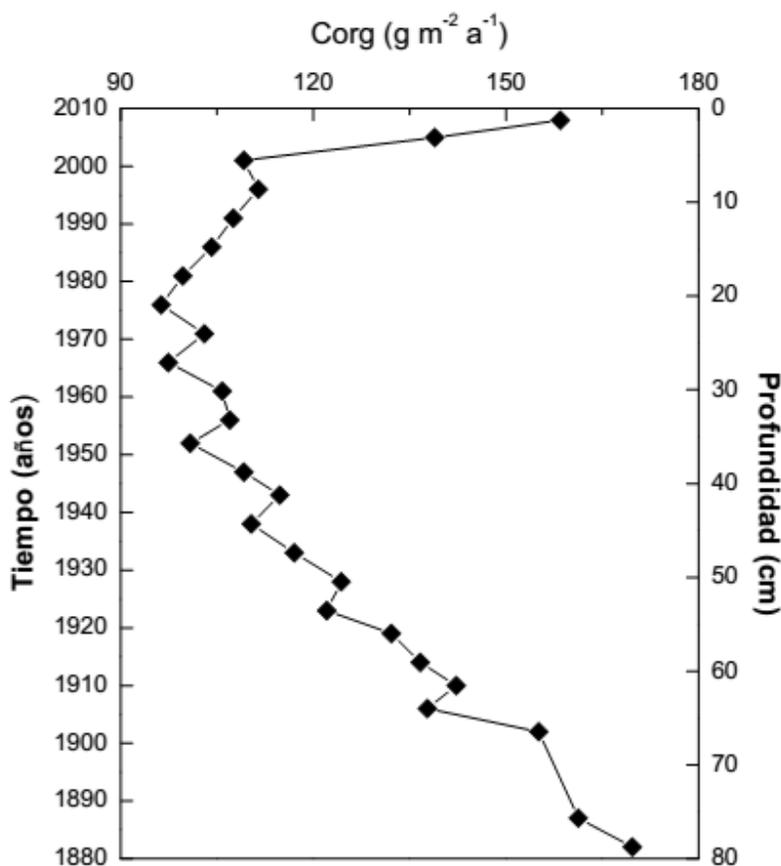


Figura 9. Flujo de secuestro y enterramiento de carbono orgánico total ( $\text{g m}^{-2} \text{a}^{-1}$ ) en los sedimentos de Laguna Guanaroca.

Los resultados obtenidos para el  $\text{FC}_{\text{total}}$  (Figura 9) en el perfil de sedimento evidencian variaciones de la productividad biológica y la dinámica de la MO en el ecosistema. Antes de 1900, la cantidad de Corg que en el perfil estaba en el orden de los  $160 \text{ g m}^{-2} \text{a}^{-1}$ . A partir de 1910, con un valor de  $142,24 \text{ g m}^{-2} \text{a}^{-1}$ , el flujo de Corg evidencia una clara disminución a razón de un 4% aproximadamente, o sea

5 g m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup> por cada sección. Esta tendencia se mantiene hasta finales de 1940 en donde comienza un período de relativa estabilidad con un valor promedio de 102,42 g m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup> que se mantiene hasta finales de 1990. A partir de este momento el FC<sub>total</sub> experimenta una nueva tendencia a subir, hasta alcanzar un valor máximo de 158,48 g m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>.

Los resultados de la contribución de cada una de las fuentes de MO identificadas al Corg total en los sedimentos de la laguna, refleja las variaciones y tendencias temporales descritas hasta el momento (Figura 10).

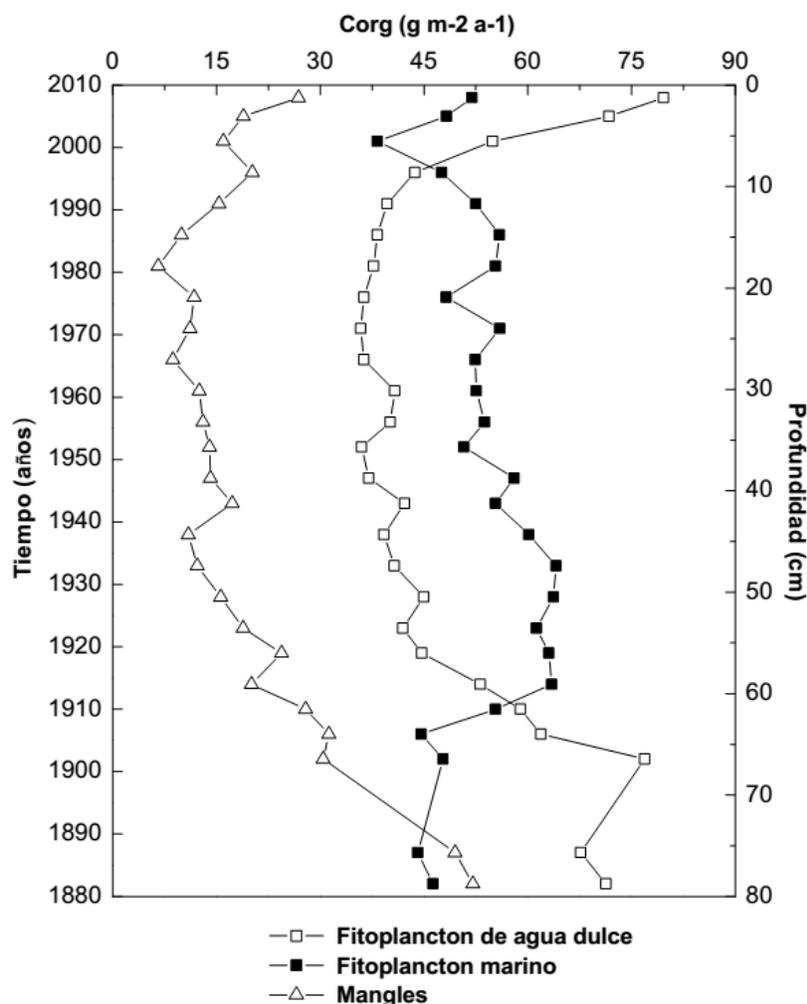


Figura 10. Contribución individual de cada una de las fuentes de MO al flujo de secuestro y enterramiento de carbono orgánico (g m<sup>-2</sup> a<sup>-1</sup>) en los sedimentos de Laguna Guanaroca.

Antes de 1900 el Corg contenido en la MOS provenía fundamentalmente del fitoplancton de agua dulce con un aporte de alrededor de  $72 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ , más del 40% del Corg total. A partir de 1910 la contribución del fitoplancton de agua dulce disminuyó considerablemente hasta valores en el orden de los  $40 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ , a diferencia de lo que sucedió con el fitoplancton marino que durante este período alcanzó valores de  $57 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$  aproximadamente.

A finales de 1990 esta tendencia cambió nuevamente para el fitoplancton de agua dulce que mostró valores cercanos a los iniciales ( $\sim 70 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ). El fitoplancton marino, en cambio, se mantiene relativamente estable con valores muy cercanos a los calculados a partir de 1950. Por su parte las plantas terrestres (mangles) reflejan valores máximos entre 1880 y 1890 ( $\sim 51 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ), para luego descender a valores en el orden de los  $15 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$  entre 1910 y 1990.

En la última etapa, a partir del 2000, los mangles experimentaron un ligero aumento de su contribución al Corg sedimentario alcanzando un máximo de  $26,88 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$  en el año 2008, pero muy por debajo de los valores iniciales. Los detalles en relación a cada uno de estos valores mencionados parten de los resultados obtenidos en los cálculos realizados para el FC (Anexo 4).

## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. MUESTRAS ORGÁNICAS

Los valores de  $C_{org}/N_{total}$  y  $\delta^{13}C$  obtenidos para el mangle están dentro de los rangos reportados por Lamb *et al.* (2006) para plantas terrestres con fotosíntesis tipo C3, característica metabólica de este grupo de plantas según Kathiresan y Bingham, (2001). Adicionalmente, estos valores, así como los obtenidos para el  $\delta^{15}N$ , concuerdan con los reportados por Mancera-Pineda *et al.*, (2009) para cada una de estas especies en la zona costera del Parque Nacional “Everglades” al Sur de Florida, Tabla 5.

Tabla 5. Comparación de los valores isotópicos y elementales obtenidos para cada una de las especies de mangle en Laguna Guanaroca (GUA), respecto a los reportados por la literatura: (a)-Lamb *et al.* (2006) y (b)-Mancera-Pineda *et al.* (2009).

Especie	$C_{org}/N_{total}$		$\delta^{13}C$ (‰)			$\delta^{15}N$ (‰)	
	GUA	(a)	GUA	(a)	(b)	GUA	(b)
<i>R. mangle</i>	31,4	>12	-29,7	-32 a -21	-31,2 a -25,8	+2,1	-1,0 a +3,8
<i>L. racemosa</i>	31,6		-30,1		-30,7 a -29,2	+2,3	-0,4 a +5,1
<i>A. germinans</i>	40,5		-29,8		-30,3 a -27,4	+3,9	+3,7 a +5,0
<i>C. erectus</i>	26,8		-28,8		-29,2 a -27,3	+1,9	-0,4 a +2,7

El MOPS (representativo del fitoplancton de la laguna), presentó valores de  $\delta^{13}C$  y  $C_{org}/N_{total}$  dentro de los rangos reportados por Lamb *et al.*, (2006) para el fitoplancton de agua dulce. Estos resultados concuerdan además, con los valores de  $C_{org}/N_{total}$  y  $\delta^{13}C$  reportados por Kennedy *et al.*, (2004) para el seston (MOPS) de estuarios y manglares del Sureste de China. Sin embargo la señal de  $\delta^{13}C$  en la laguna, confirman la influencia del MOPS marino, ya que los valores obtenidos por encima de la media (-25,3‰) caen dentro del rango reportado por González-Ocampo *et al.*, (2007) para el fitoplancton marino del Suroeste de México. De forma general este rango de valores se corresponde con los resultados obtenidos por Moreira *et al.*, (2013) en sus estudios ficológicos de la laguna, donde identifica como especies fitoplanctónicas dominantes los dinoflagelados marinos *P. horologium* y *S. trochoidea*.

Todos estos resultados, incluyendo la relación isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$ , son muy cercanos a los reportados por Gonneea *et al.* (2004) para la MO suspendida de lagunas costeras y ecosistemas estuarinos similares en la península de Yucatán, México.

Los valores que determinan estas comparaciones se resumen en la Tabla 6.

**Tabla 6. Comparación de los valores isotópicos y elementales obtenidos para el MOPS representativo del fitoplancton de Laguna Guanaroca, respecto a los reportados por la literatura.**

MOPS			
Fuente	$C_{\text{org}}/N_{\text{total}}$	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
Laguna Guanaroca	5,5 a 7,0	-25,9 a -25,1	+6,3 a +7,9
Lamb <i>et al.</i> (2006)	5 a 8	-33 a -25	-
Kennedy <i>et al.</i> (2004)	5 a 15	-27,6 a -12,1	-
González-Ocampo <i>et al.</i> (2007)	-	-25,39 a -20,95	-
Gonneea <i>et al.</i> (2004)	7,3 a 9,3	-25,32 a -22,06	+4,45 a +7,78

En los pastos marinos (Tabla 7), la señal isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  y los valores de  $C_{\text{org}}/N_{\text{total}}$  caen dentro de los rangos reportados por Lamb *et al.* (2006) para plantas vasculares con fotosíntesis tipo C4. Estos resultados concuerdan además con los obtenidos en estudios de estas especies al Sur de Florida por Campbell y Fourqurean, (2009) y al Norte de Cuba en Laguna Larga, Cayo Coco por Gonzáles de Zayas, (2012).

**Tabla 7. Comparación de los valores isotópicos y elementales obtenidos para cada una de las muestras de pastos marinos colectadas en La Milpa, respecto a los reportados por la literatura: (a)-Campbell y Fourqurean, (2009) y (b)-Gonzáles de Zayas, (2012).**

Especie	$C_{\text{org}}/N_{\text{total}}$		$\delta^{13}\text{C}$ (‰)			$\delta^{15}\text{N}$ (‰)		
	GUA	(a)	GUA	(a)	(b)	GUA	(a)	(b)
<i>T. testudinum</i> (rizoma)	28,9	17,1	-9,3	-13,0	-13,3	7,1	-2,2	-1,8
<i>T. testudinum</i> (hoja)	19,8	a 33,9	-10,0	a -5,3	a -5,6	6,6	a +5,4	a +3,2
<i>H. wrightii</i> (rizoma)	23,9	16,7	-11,9	-13,2	-	7,2	-3,5	-
<i>H. wrightii</i> (hoja)	17,4	a 33,9	-10,7	a -7,8	-	4,8	a +4,0	-

Sin embargo la señal de  $\delta^{15}\text{N}$  está por encima de los rangos obtenidos por estos autores, y se acercan más a la señal característica de los macrófitos que crecen

en zonas con aporte de aguas residuales urbanas (~10‰) según Costanzo *et al.*, (2001).

Los resultados de la relación isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  (-16,3‰ ± 3,9) obtenidos en las macroalgas recolectadas en la Milpa, no se corresponden totalmente con el rango reportado por Lamb *et al.*, (2006) para algas marinas. Sin embargo estudios fisiológicos específicos de las rutas fotosíntesis en las algas marinas, realizados por Raven *et al.*, (2002) y Raven y Hurd, (2012), reportan un rango de  $\delta^{13}\text{C}$  más amplio para macroalgas marinas (-35‰ a -3‰) que si incluye los valores obtenidos en este estudio.

La señal de  $\delta^{15}\text{N}$ , al igual que en los pastos marinos, podría ser un buen indicador de la procedencia del NID en la zona (Pruell *et al.*, 2006), probablemente proveniente del aporte de aguas residuales. Los valores obtenidos están en el orden de 6,4‰ ± 1,2, muy similares a los resultados de Titlyanov *et al.*, (2011) para macroalgas colectadas en zonas con aporte de residuales urbanos, al Sur de Vietnam ( $\delta^{15}\text{N} = 6,7\text{‰} \pm 1,1$ ).

La relación elemental  $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$  (30,1 ± 15,6) presentó una gran variación entre especies (Anexo 1) con valores muy superiores al rango reportado por Meyers, (1994; 1997) y Lamb *et al.*, (2006) en su esquema de identificación, Figura 1. Sin embargo, los valores obtenidos se asemejan a los resultados de Titlyanov *et al.*, (2011) en su estudio de identificación de fuentes de nitrógeno en macroalgas marinas, en donde explica este tipo de resultados por la existencia de factores que limitan la absorción del NID en el agua.

**Tabla 8. Comparación de los valores isotópicos y elementales obtenidos en las macroalgas colectadas en La Milpa, respecto a los rangos y valores reportados por la literatura.**

Fuente	Macroalgas			
	Grupo	$\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)
La Milpa	Marinas	14,1 a 62,9	-22,1 a -9,0	+4,8 a +8,5
Lamb <i>et al.</i> (2006)	Marinas	<10	-23 a -16	-
Lamb <i>et al.</i> (2006)	de agua dulce		-30 a -26	-
Raven <i>et al.</i> (2002)	Marinas	-	-2,7 a 35,3	-
Titlyanov <i>et al.</i> (2011)	en aguas prístinas	8,9 a 44,5	-	+0,8 a +4,5
Titlyanov <i>et al.</i> (2011)	en aguas eutrofizadas	8,0 a 30,6	-	>+6

## **5.2. PERFIL DE SEDIMENTO**

La variación temporal de la MOS en el perfil, refleja la existencia de tres etapas fundamentales en la historia de la MO que se incorpora a los sedimentos de Laguna Guanaroca.

Según Gao *et al.* (2012) la MOS, depende de dos factores fundamentales: (1) el diámetro de grano o partícula del sedimento y (2) las fuentes que aportan MO al ecosistema. Según los resultados de Alonso-Hernández *et al.*, *en prensa*, la granulometría del perfil se mantuvo entre 93,3% y 99,1% por debajo de las 63 $\mu$ m de diámetro (limo + arcilla). Partiendo de estos resultados, los análisis de correlación demuestran que el factor determinante en el contenido de MOS del perfil, es la dinámica ambiental de sus fuentes en el ecosistema.

## **5.3. IDENTIFICACIÓN DEL ORIGEN DE LA MOS**

La distribución espacial de las muestras de sedimento en la Figura 6, refleja la influencia de componentes terrestres y marinos en la señal de  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\text{C}_{\text{org}}/\text{N}_{\text{total}}$  de la MOS. Según los criterios utilizados, las principales fuentes de MO en el ecosistema son las plantas terrestres, y el MOPS tanto marino como de agua dulce. Esta señal, adicionalmente, refleja variaciones temporales en cuanto al origen de la MO y la dominancia de cada una de estas fuentes, que podrían deberse al efecto de cambios en la hidrodinámica de la laguna. Las tres principales etapas que evidencian resultados son (I) 1880-1910, (II) 1915-1990 y (III) 2000-2010 (Figura 7).

## **5.4. APORTE DE MO**

Esta primera etapa (1880-1900), en la que el intercambio de agua en la laguna se considera fuese regular, se tomó como referente de las condiciones naturales en el ecosistema y por tanto los valores del aporte de MOS se consideran los menos afectados por procesos alóctonos. A partir de 1900 la paulatina disminución del aporte del Corg y el cambio de la señal isotópica de  $\delta^{13}\text{C}$  en el sedimento (Figura

4), reflejan cambios ambientales en cuanto al origen de la MO en la laguna. Esta etapa se caracteriza además por un marcado cambio en cuanto al aporte de MO (Figura 8), donde el fitoplancton marino asume la mayor contribución en cuanto a MO y productividad biológica se refiere (Figura 9). Todos estos cambios pudieran responder a una disminución del flujo de agua dulce a la laguna como resultado del represamiento de la cuenca del Arimao y su cauce, así como el desarrollo e intensificación de la industria arenera en las márgenes del río.

La interpretación de las variaciones temporales del  $\delta^{15}\text{N}$  demuestra también estas condiciones. Al inicio del perfil, 1880, los valores estaban en el orden de las 7‰, durante la etapa de 1900-1990 (Figura 4) se registro un aumento de esta señal, alcanzando valores por encima de las 10‰. Estos valores (entre 10‰ y 20‰) son característicos de residuales orgánicos de zonas urbanas y desechos animales Jia et al., 2012, lo que demuestra una intensificación de las actividades antrópicas en el área, fundamentalmente agricultura y ganadería, además del crecimiento de las zonas urbanas asociadas a las márgenes del río Arimao.

A partir del año 1990, el aporte de MO (Figura 8) experimenta un nuevo cambio que se caracteriza por una tendencia a la recuperación de los valores obtenidos inicialmente. Durante esta etapa el fitoplancton marino desciende nuevamente a valores muy cercanos a los iniciales y el fitoplancton de agua dulce recupera su dominancia en cuanto al porcentaje de contribución a la MOS en la laguna.

Este último cambio podría atribuirse fundamentalmente las acciones de manejo integrado y recuperación del área, como parte de la política de desarrollo de la Bahía de Cienfuegos, que se iniciaron a partir del año 1990 con las investigaciones de Lalana y Ortiz (1990; 1992). Estas acciones se concretaron a partir de la oficialización del área, en el año 2002, como Refugio de Fauna y el consecuente desarrollo e implementación de un Plan de Manejo Integrado (2005-2009) elaborado por la Empresa Nacional para la Conservación de la Flora y la Fauna Rivero *et al.* (2004).

Dentro de las acciones acometidas en el marco de este plan se encuentra el dragado y limpieza de los canales de intercambio de agua dulce de la laguna con sus afluentes, lo que propicio la recuperación de las características hidrodinámicas del sitio. Este podría ser un factor determinante en los cambios en cuanto al origen y aporte de MO, que reflejan los resultados obtenidos desde finales de la década de 1990 e inicios de 2000 hasta la actualidad (Figura 8).

### **5.5. FLUJO DE ENTERRAMIENTO DE CARBONO ORGÁNICO**

Los resultados del cálculo de la cantidad de carbono orgánico que se incorpora anualmente a los sedimentos de la laguna refleja las mismas tendencias temporales en la dinámica de la MO en el área. Por tanto, se deduce que el flujo de carbono orgánico y su origen, son altamente dependientes de las condiciones ambientales del área y específicamente en este estudio se demuestra el papel determinante de la actividad antropogénica y su efecto.

Los valores calculados inicialmente (1880-1900) se encontraban en el orden de los  $160 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ , en condiciones naturales. Posteriormente (1900-2000) los valores de la productividad biológica en la laguna descendieron de forma dramática, en función de las condiciones ambientales que responden a un período de salinización de las aguas de la laguna producto del cierre de los canales naturales de intercambio de agua dulce.

A partir de las acciones de manejo en el área, año 2000, las características hídricas de la laguna recuperaron su flujo, lo que parece ser el factor determinante en este período donde se elevan nuevamente los valores hasta  $158,48 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ , en el orden de los obtenidos inicialmente.

Los análisis de la contribución individual de las fuentes de MO al  $FC_{\text{total}}$  (Figura 10) en los sedimentos de la laguna reflejan variaciones en cuanto al aporte de Corg de cada una de ellas. Inicialmente (antes de 1900) la productividad biológica de la laguna se sustentaba fundamentalmente en el aporte del fitoplancton de agua dulce y los mangles (plantas terrestres de tipo C3). De 1900 en adelante, la contribución de los mangles disminuyó considerablemente hasta mantener cierta

estabilidad en valores inferiores a los  $30 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ . Durante este período (1900 en adelante) el desarrollo e intensificación de la actividad agrícola en las zonas aledañas a la laguna, así como el desmonte de sus márgenes podrían explicar dicha disminución. Por otro lado, el aumento del aporte del fitoplancton marino y la disminución del fitoplancton de agua dulce durante la etapa de 1900 a inicios de 2000, coinciden con el período de salinización de la laguna mencionado anteriormente y que estuvo marcado por la disminución de la productividad en el ecosistema. A partir del año 2000, posiblemente como resultado de las acciones de manejo en la laguna, que contribuyeron a restablecer su hidrodinámica, el FC comienza a mostrar indicios de recuperación respecto a las condiciones iniciales (1880-1900), aunque la principal contribución proviene del fitoplancton (fundamentalmente de agua dulce) y los manglares se mantienen por debajo de los  $30 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ .

**6. CONCLUSIONES**

1. A partir de los análisis isotópicos y elementales realizados, las fuentes principales que aportan materia orgánica a los sedimentos del Refugio de Fauna “Laguna Guanaroca” son: el fitoplancton de agua dulce, el fitoplancton marino y las plantas terrestres de tipo C3.
2. Los análisis isotópicos y elementales del perfil de sedimento describen variaciones temporales durante los últimos 150 años, que reflejan tres etapas fundamentales en la historia de la dinámica ambiental de la materia orgánica en la laguna: (I) 1880-1910, (II) 1915-1990 y (III) 2000-2010. Estas variaciones parecen responder directamente a la influencia de las actividades de origen antropogénico, que han tenido lugar en el área y sus afluentes.
3. El flujo de secuestro y enterramiento de carbono orgánico en el sedimento demuestra la existencia de 3 etapas fundamentales en la productividad biológica de la laguna: (I) 1880-1900; (II) 1910-2000 y (III) 2000-2010, con valores promedio de  $162 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ ,  $113 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$  y  $150 \text{ g m}^{-2} \text{ a}^{-1}$ , respectivamente.

## **7. RECOMENDACIONES**

Profundizar la búsqueda de antecedentes históricos (ecológicos, antropogénicos y ambientales) en el área, que permitan explicar las variaciones temporales descritas.

Realizar un estudio que enfoque la relación elemental y la señal isotópica de  $\delta^{15}\text{N}$ , en las macroalgas de la bahía de Cienfuegos, para evaluar su potencial como indicadores del origen del NID y del aporte de nutrientes a la bahía.

Incluir análisis isotópicos con otros elementos como fósforo y azufre, para explorar sus posibilidades como trazadores físico-químicos de procesos ecológicos y ambientales.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aiken, G. R. (2002): **Organic Matter in Ground Water**. In: Aiken, G. R. & Kuniandy, E. L. (eds.) *Artificial Recharge Workshop Proceedings*. Sacramento, California, EUA. United States Geological Survey (USGS).
- Alonso-Hernández, C. M.; Díaz-Asencio, M.; Muñoz-Caravaca, A.; Delfanti, R.; Papucci, C.; Ferretti, O. & Crovato, C. (2006): **Recent changes in sedimentation regime in Cienfuegos Bay, Cuba, as inferred from  $^{210}\text{Pb}$  and  $^{137}\text{Cs}$  vertical profiles**. *Continental Shelf Research*, Vol.26, pp 153-167.
- Alonso-Hernández, C. M.; Garcia-Moya, A.; Tolosa, I.; Diaz-Asencio, M.; Corcho-Alvarado, J. A.; Guillen-Arruebaruena, A.; Morera-Gomez, Y. & Moreira-Gonzalez, A. (*en prensa*): **Stable carbon and nitrogen isotope ratios as tools to evaluate the organic matter sources and carbon burial in a tropical lagoon of the Caribbean Sea**. *Continental Shelf Research*.
- Alonso-Hernández, C. M.; Pérez-Santana, S.; Muñoz-Caravaca, A.; M., D.-A.; Gómez-Batista, M.; Brunori, C.; Morabito, R.; Delfanti, R. & Papucci, C. (2005): **Historical trends in heavy metal pollution in the sediments of Cienfuegos Bay (Cuba), defined by  $^{210}\text{Pb}$  and  $^{137}\text{Cs}$  geochronology**. *Nucleus*, Vol.37, pp 20-26.
- Andrews, J. E.; Jickells, T. D.; Adams, C. A.; Parkes, D. J. & Kelly, S. D. (2011): **Sediment Record and Storage of Organic Carbon and the Nutrient Elements (N, P, and Si) in Estuaries and Near-Coastal Seas**. In: Wolanski, E. & McLusky, D. (Eds.) *Treatise on Estuarine and Coastal Science*. Waltham. Academic Press, pp 9-37.
- Barbero, L. & Mata, M. P. (2004): **Geoquímica Isotópica aplicada al Medioambiente**. In: Barbero, L. & Mata, M. P. (eds.) *Seminarios de la Sociedad española de Mineralogía*. Cádiz, España. Universidad de Cádiz.
- Basset, A.; Elliott, M.; West, R. J. & Wilson, J. G. (2013): **Estuarine and lagoon biodiversity and their natural goods and services**. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, pp 1–4.
- Betancourt, C.; Toledo, L.; Moreira, Á. & del Pozo, P. (2006): **Impacto antrópico sobre la calidad ambiental de la Laguna de Guanaroca, Cienfuegos, Cuba**. *Memorias del evento científico COMAR 2006*.
- Betti, M.; Boisson, F.; Eriksson, M.; Tolosa, I. & Vasileva, E. (2011): **Isotope analysis for marine environmental studies**. *International Journal of Mass Spectrometry*, Vol.307, pp 192-199.
- Bianchi, T. S. (2007): **Biogeochemistry of Estuaries**, New York, EUA. Oxford University Press.
- Bouillon, S.; Connolly, R. M. & Gillikin, D. P. (2011): **Use of Stable Isotopes to Understand Food Webs and Ecosystem Functioning in Estuaries**. In: Wolanski, E. & McLusky, D. (Eds.) *Treatise on Estuarine and Coastal Science*. Waltham. Academic Press, pp 143-173.
- Brodie, C.; Leng, M. J.; Casford, J. S. L.; Kendrick, C. P.; Lloyd, J. M.; Yongqiang, Z. & Bird, M. I. (2011): **Evidence for bias in C and N concentrations and  $\delta^{13}\text{C}$  composition of terrestrial and aquatic organic materials due to pre-analysis acid preparation methods**. *Chemical Geology*, Vol.282, pp 67–83.

- Campbell, J. E. & Fourqurean, J. W. (2009): **Interspecific variation in the elemental and stable isotope content of seagrasses in South Florida.** *Marine Ecology Progress Series*, Vol.387, pp 109–123.
- Cervantes, M. (1994): **Guía regional para el conocimiento, manejo y utilización de los humedales del noroeste de México.** In: CECARENA (ed.) *ITESM-Campus Guaymas*. Mexico. Wetlands International the Americas Programa México.
- Costanzo, S. D.; O Donohue, M. J.; Dennison, W. C.; Loneragan, N. R. & Thomas, M. (2001): **A New Approach for Detecting and Mapping Sewage Impacts.** *Marine Pollution Bulletin*, Vol.42, pp 149-156.
- Costanzo, S. D.; Udy, J.; Longsta, B. & Jones, A. (2005): **Using nitrogen stable isotope ratios ( $\delta^{15}\text{N}$ ) of macroalgae to determine the effectiveness of sewage upgrades: changes in the extent of sewage plumes over four years in Moreton Bay, Australia.** *Marine Pollution Bulletin* Vol.51, pp 212–217.
- Díaz-Asencio, M.; Alonso-Hernández, C. M.; Bolaños-Alvarez, Y.; Gómez-Batista, M.; Pinto, V.; Morabito, R.; Hernández-Alberba, M.; Eriksson, M. & Sanchez-Cabeza, J. A. (2009): **One century sedimentary record of Hg and Pb pollution in the Sagua estuary (Cuba) derived from  $^{210}\text{Pb}$  and  $^{137}\text{Cs}$  chronology.** *Marine Pollution Bulletin*, Vol.59, pp 108-115.
- Díaz-Asencio, M.; Alvarado, J. A. C.; Alonso-Hernández, C.; Quejido-Cabezas, A.; Ruiz-Fernández, A. C.; Sanchez-Sanchez, M.; Gomez-Mancebo, M. B.; Froidevaux, P. & Sanchez-Cabeza, J. A. (2011): **Reconstruction of metal pollution and recent sedimentation processes in Havana Bay (Cuba): A tool for coastal ecosystem management.** *Journal of Hazardous Materials*, Vol.196, pp 402-411.
- Dubois, S.; Savoye, N.; Grémare, A.; Plus, M.; Charlier, K.; Beltoise, A. & Blanchet, H. (2012): **Origin and composition of sediment organic matter in a coastal semi-enclosed ecosystem: An elemental and isotopic study at the ecosystem space scale.** *Journal of Marine Systems*, Vol.94, pp 64–73.
- Fourqurean, J. W.; Escorcía, S. P.; Anderson, W. T. & Zieman, J. C. (2005): **Spatial and Seasonal Variability in Elemental Content,  $\delta^{13}\text{C}$ , and  $\delta^{15}\text{N}$  of *Thalassia testudinum* from South Florida and its Implications for Ecosystem Studies.** *Estuaries*, Vol.28, pp 447–461.
- Fry, B. (2006): **Stable Isotope Ecology**, Los Angeles, EUA. Springer Science-Business Media.
- Gao, X.; Yang, Y. & Wang, C. (2012): **Geochemistry of organic carbon and nitrogen in surface sediments of coastal Bohai Bay inferred from their ratios and stable isotopic signatures.** *Marine Pollution Bulletin*, Vol.64, pp 1148–1155.
- García-Orellana, J. & Sanchez-Cabeza, J.-A. (2012): **El  $^{210}\text{Pb}$  como trazador de procesos ambientales.** In: Sanchez-Cabeza, J.-A., Díaz-Asencio, M. & Ruiz-Fernández, A. C. (Eds.) *Radiocronología de Sedimentos Costeros Utilizando  $^{210}\text{Pb}$ : Modelos, Validación y Aplicaciones*. Viena. Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), pp 4-9.
- Gonneea, M. E.; Paytan, A. & Herrera-Silveira, J. A. (2004): **Tracing organic matter sources and carbon burial in mangrove sediments over the past 160 years.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Vol.61, pp 211-227.

- González de Zayas, R. (2012): **Balance de Nitrogeno y Fósforo en una laguna costera tropical (Laguna Larga, Cayo Coco, Cuba)** Tesis de Doctorado, Universidad Nacional Autónoma de México.
- González-Ocampo, M.; Escobar-Briones, E. & Morales-Puente, P. (2007): **Composición y caracterización isotópica  $\delta^{13}\text{C}$  de carbono orgánico particulado en aguas oceánicas del suroeste del Golfo de México.** In: Hernández de la Torre, B. & Gaxiola Castro, G. (eds.) *Carbono en ecosistemas acuáticos de México*. 1ra ed. Mexico. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales; Instituto Nacional de Ecología; Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.
- Guerrero, R. & Berlanga, M. (2000): **Isótopos estables: Fundamento y aplicaciones.** *Actualidad. SEM*, Vol.30:17.
- Hogarth, P. (2007): **The Biology of Mangroves and Seagrasses**, United States. Oxford University Press Inc., New York.
- Hu, J.; Zhang, G.; Li, K.; Peng, P. a. & Chivas, A. R. (2008): **Increased eutrophication offshore Hong Kong, China during the past 75 years: Evidence from high-resolution sedimentary records.** *Marine Chemistry*, Vol.110, pp 7–17.
- Jia, J.; Hua Gao, J.; Fei Liu, Y.; Gao, S. & Yang, Y. (2012): **Environmental changes in Shamei Lagoon, Hainan Island, China: Interactions between natural processes and human activities.** *Journal of Asian Earth Sciences*, Vol.52, pp 158–168.
- Kathiresan, K. & Bingham, B. L. (2001): **Biology of mangroves and mangrove Ecosystems.** *Advances in Marine Biology*. Academic Press, pp 81-251.
- Kennedy, H.; Beggins, J.; Duarte, C. M.; Fourqurean, J. W.; Holmer, M.; Marbà, N. & Middelburg, J. J. (2010): **Seagrass sediments as a global carbon sink: Isotopic constraints.** *Global Geochemical Cycles*, Vol.24.
- Kennedy, H.; Gacia, E.; Kennedy, D. P.; Papadimitriou, S. & Duarte, C. M. (2004): **Organic carbon sources to SE Asian coastal sediments.** *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, Vol.60, pp 59-68.
- Lamb, A. L.; Wilson, G. P. & Leng, M. J. (2006): **A review of coastal palaeoclimate and relative sea-level reconstructions using  $\delta^{13}\text{C}$  and C/N ratios in organic material.** *Earth-Science Reviews*, Vol.75, pp 29–57.
- Littler, D. S. & Littler, M. M. (2000): **Caribbean Reef Plants: An identification Guide to the Reef Plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico**, Washington D.C., EUA. OffShore GRAPHICS, INC.
- Littler, D. S.; Littler, M. M. & Hanisak, M. D. (2008): **Submersed Plants of the Indian River Lagoon. A floristic inventory and field guide**, Washington D.C., EUA. OffShore Graphics, Inc.
- Mancera-Pineda, J. E.; Twilley, R. R. & Rivera-Monroy, V. H. (2009): **Carbon ( $\delta^{13}\text{C}$ ) and nitrogen ( $\delta^{15}\text{N}$ ) isotopic discrimination in mangroves in Florida coastal Everglades as a function of environmental stress.** *Contributions in Marine Science*, Vol.38, pp 109-129.

- McLusky, D. S. & Elliott, M. (2004): **The Estuarine Ecosystem. Ecology, Threats, and Management**, New York, EUA. Oxford University Press.
- Meyers, P. A. (1994): **Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter**. *Chemical Geology*, Vol.114, pp 289-302.
- Meyers, P. A. (1997): **Organic geochemical proxies of paleoceanographic, paleolimnologic, and paleoclimatic processes**. *Organic Geochemistry*, Vol.27, pp 213-250.
- Moreira, Á.; Betancourt, C.; Toledo, L.; Barcia, S. & Comas, A. (2013): **Notas acerca del fitoplancton de la Laguna Guanaroca, Cienfuegos, Cuba**. *Revista de Investigaciones Marinas* Vol.33.
- Moyer, R. P.; Bauer, J. E. & Grottoli, A. G. (2012): **Carbon isotope biogeochemistry of tropical small mountainous river, estuarine, and coastal systems of Puerto Rico**. *Biogeochemistry*.
- Nagelkerken, I. & van der Velde, G. (2004): **Relative importance of interlinked mangroves and seagrass beds as feeding habitats for juvenile reef fish on a Caribbean island**. *Marine Ecology Progress Series*, Vol.274, pp 153–159.
- Odum, E. O. (1989): **Ecología**, Cuba. Editorial Revolución.
- Parnell, A. C.; Inger, R.; Bearhop, S. & Jackson, A. L. (2010): **Source Partitioning Using Stable Isotopes: Coping with Too Much Variation**. *PLoS ONE*, Vol.5, pp e9672.
- Phillips, D. L. & Eldridge, P. M. (2006): **Estimating the timing of diet shifts using stable isotopes**. *Oecologia*, Vol.147, pp 195–203.
- Phillips, D. L. & Gregg, J. W. (2001): **Uncertainty in source partitioning using stable isotopes**. *Oecologia*, Vol.127, pp 171–179.
- Phillips, D. L. & Gregg, J. W. (2003): **Source partitioning using stable isotopes: coping with too many sources**. *Oecologia*, Vol.136, pp 261–269.
- Phillips, D. L.; Newsome, S. D. & Gregg, J. W. (2005): **Combining sources in stable isotope mixing models: alternative methods**. *Oecologia*, Vol.144, pp 520–527.
- Prandle, D. (2009): **Estuaries. Dynamics, Mixing, Sedimentation and Morphology**, New York, EUA. Cambridge University Press.
- Pruell, R. J.; Taplin, B. K.; Lake, J. L. & Jayaraman, S. (2006): **Nitrogen isotope ratios in estuarine biota collected along a nutrient gradient in Narragansett Bay, Rhode Island, USA**. *Marine Pollution Bulletin*, Vol.52, pp 612-620.
- Raven, J. A. & Hurd, C. L. (2012): **cophysiology of photosynthesis in macroalgae**. *Photosynth Res*, Vol.113, pp 105–125.
- Raven, J. A.; Johnston, A. M.; Kübler, J. E.; Korb, R.; McInroy, S. G.; Handley, L. L.; Scrimgeour, C. M.; Walker, D. I.; Beardall, J.; Vanderklift, M.; Fredriksen, S. & Dunton, K. H. (2002): **Mechanistic interpretation of carbon isotope discrimination by marine macroalgae and seagrasses**. *Functional Plant Biology*, Vol.29, pp 355–378.

- Redondo, R. (2008): **Fundamentos teóricos y técnicos de los isótopos estables**. In: Alcorlo, P., Redondo, R. & Toledo, J. (Eds.) *Técnicas y aplicaciones multidisciplinares de los isótopos estables*. Madrid, España. Ediciones Universidad Autónoma de Madrid, pp 9-24.
- Reyes, E. (2004): **Geoquímica de Isótopos Estables: Fundamentos, Técnicas y Aplicaciones**. In: Barbero, L. & Mata, M. P. (Eds.) *Geoquímica Isotópica Aplicada al Medioambiente, Seminarios de la Sociedad Española de Mineralogía*. pp 1-19.
- Rivero, P.; del Pozo, P.; Almaguer, M.; Cancio, R.; Leon, M.; Llul, M.; Domínguez, M.; Lamela, W. & Lorenzo, J. (2004): **Plan de manejo del Área Protegida "Guanaroca" 2005-2009**. Cuba. Empresa Nacional para la Conservación de la Flora y la Fauna.
- Robinson, D. (2001):  **$\delta^{15}\text{N}$  as an integrator of the nitrogen cycle**. *TRENDS in Ecology & Evolution*, Vol.16.
- Rodrigues, C.; Maia, R.; Lauteri, M.; Brugnoli, E. & Máguas, C. (2013): **Stable Isotope Analysis**. In: Miguel de la, G. & Ana, G. (Eds.) *Comprehensive Analytical Chemistry*. Elsevier, pp 77-99.
- Rosenbauer, R. J.; Swarzenski, P. W.; Kendall, C.; Orem, W. H.; Hostettler, F. D. & Rollog, M. E. (2009): **A carbon, nitrogen, and sulfur elemental and isotopic study in dated sediment cores from the Louisiana Shelf**. *Geo-Mar Lett*, Vol.29, pp 415–429.
- Ruiz-Fernández, A. C. & Díaz-Asencio, M. (2012): **Muestreo de cores sedimentarios**. In: Sanchez-Cabeza, J.-A., Díaz-Asencio, M. & Ruiz-Fernández, A. C. (Eds.) *Radiocronología de Sedimentos Costeros Utilizando  $^{210}\text{Pb}$ : Modelos, Validación y Aplicaciones*. Viena. Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA), pp 10-20.
- Ruiz-Fernández, A. C. & Hillaire-Marcel, C. (2009):  **$^{210}\text{Pb}$ -derived ages for the reconstruction of terrestrial contaminant history in to the Mexican Pacific coast: Potential and limitations**. *Marine Pollution Bulletin*, Vol.59, pp 134–145.
- Sampaio, L.; Freitas, R.; Máguas, C. & Rodrigues, A. (2010): **Coastal sediments under the influence of multiple organic enrichment sources: An evaluation using carbon and nitrogen stable isotopes**. *Marine Pollution Bulletin*, Vol.60, pp 272–282.
- Sericano, J.; Alonso-Hernández, C. M.; Díaz-Asencio, M.; Beltrán González, J. M.; Quejido, A.; Fernández, J. M.; Sánchez Cabeza, J. A.; Ruiz Fernández, A. C.; Delgado Quezada, V.; Martínez Herrera, V. M.; Galindo, W. S.; González, M.; López, F.; Márquez, A.; Mieres, I. F.; Mostue de Crescente, M. B. & Ramírez Rojas, A. J. (2007): **Aplicación de técnicas nucleares en la solución de problemas específicos del manejo integrado de zonas costera en el Caribe**. *Guía para el muestreo, preparación y análisis de núcleos sedimentarios para la reconstrucción histórica de la contaminación en zonas costeras del mar Caribe, aplicando técnicas nucleares*. Centro de Estudios Ambientales (CEAC). Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA).
- Sharp, Z. (2007): **Principles of Stable Isotope Geochemistry**. In: Sharp, Z. (ed.). New Jersey, EUA. Pearson Prentice Hall. Pearson Education, Inc.
- Sheppard, C. R.; Davy, S. K. & Pilling, G. M. (2012): **The Biology of Coral Reefs**, United Kingdom. Oxford University Press.

- Silva, S.; Ré, A.; Pestana, P.; Rodrigues, A. & Quintino, V. (2004): **Sediment disturbance off the Tagus Estuary, Western Portugal: chronic contamination, sewage outfall operation and runoff events.** *Marine Pollution Bulletin*, Vol.49, pp 154-162.
- Sun, Z.; Mou, X.; Li, X.; Wang, L.; Song, H. & Jiang, H. (2011): **Application of stable isotope techniques in studies of carbon and nitrogen biogeochemical cycles of ecosystem.** *Chinese Geographical Science*, Vol.21(2), pp 129–148.
- Titlyanov, E. A.; Kiyashko, S. I.; Titlyanova, T. V.; Huyen, P. V. & Yakovleva, I. M. (2011): **Identifying nitrogen sources for macroalgal growth in variously polluted coastal areas of southern Vietnam.** *Botanica Marina*, Vol.54, pp 367–376.
- Wynne, M. J. (2011): **The benthic marine algae of the tropical and subtropical Western Atlantic: changes in our understanding in the last half century.** *Algae*, Vol.26, pp 109-140.
- Zaborska, A.; Carroll, J.; Papucci, C. & Pempkowiak, J. (2007): **Intercomparison of alpha and gamma spectrometry techniques used in <sup>210</sup>Pb geochronology.** *Journal of Environmental Radioactivity*, Vol.93, pp 38-50.

## 9. ANEXOS

**Anexo 1.** Resultados elementales e isotópicos de las muestras orgánicas. Se refieren: el rango (mínimo y máximo), media y desviación estándar ( $\sigma$ ) de cada uno de los grupos de fuentes potenciales de MOS.

Especie	Phyllum, o División	Grupo	C <sub>org</sub> (%)	N <sub>total</sub> (%)	C <sub>org</sub> /N <sub>total</sub>	$\delta^{13}\text{C}$	$\delta^{15}\text{N}$	Parámetro estadístico
<i>T. testudinum</i> (rizoma)	Magnoliophyta	Pastos marinos	27,5	1,0	28,9	-9,3	7,1	
<i>T. testudinum</i> (hoja)	Magnoliophyta	Pastos marinos	34,5	1,7	19,8	-10,0	6,6	
<i>H.e wrightii</i> (rizoma)	Magnoliophyta	Pastos marinos	35,1	1,5	23,9	-11,9	7,2	
<i>H. wrightii</i> (hoja)	Magnoliophyta	Pastos marinos	37,8	2,2	17,4	-10,7	4,8	
			27,5	1,0	17,4	-11,9	4,8	<b>Mínimo</b>
			37,8	2,2	28,9	-9,3	7,2	<b>Máximo</b>
			33,7	1,6	22,5	-10,5	6,4	<b>Media</b>
			4,4	0,5	5,0	1,1	1,1	<b><math>\sigma</math></b>
<i>G. flabelliformis</i>	Rhodophyta	Algas rojas	27,9	0,5	58,0	-18,0	6,4	
<i>A. spicifera</i>	Rhodophyta	Algas rojas	20,5	1,0	21,0	-16,0	7,1	
<i>P. perforata</i>	Rhodophyta	Algas rojas	22,0	1,3	17,4	-14,2	6,4	
<i>Di. simplex</i>	Rhodophyta	Algas rojas	23,3	1,0	24,3	-14,9	6,0	
<i>H. cornuta</i>	Rhodophyta	Algas rojas	23,3	1,0	23,5	-17,8	8,4	
<i>C. floridana</i>	Rhodophyta	Algas rojas	29,7	2,1	14,1	-15,9	8,5	
" <i>Bostrychetum</i> "	Rhodophyta	Algas rojas	23,6	2,3	10,3	-18,9	7,2	
			20,5	0,5	10,3	-18,9	6,0	<b>Mínimo</b>
			29,7	2,3	58,0	-14,2	8,5	<b>Máximo</b>
			24,3	1,3	24,1	-16,5	7,1	<b>Media</b>
			3,3	0,7	15,8	1,7	1,0	<b><math>\sigma</math></b>

## Anexo 1. Continuación.

Especie	Phyllum, o División	Grupo	C <sub>org</sub> (%)	N <sub>total</sub> (%)	C <sub>org</sub> /N <sub>total</sub>	δ <sup>13</sup> C	δ <sup>15</sup> N	Parámetro estadístico
<i>P. sanctae-crucis</i>	Heterokontophyta	Algas pardas	22,9	0,7	32,9	-9,9	5,3	
<i>C. cervicornis</i>	Heterokontophyta	Algas pardas	33,0	1,3	25,8	-17,8	5,6	
<i>Feldmannia irregularis</i>	Heterokontophyta	Algas pardas	28,2	1,4	19,6	-21,0	6,0	
			22,9	0,7	19,6	-21,0	5,3	<b>Mínimo</b>
			33,0	1,4	32,9	-9,9	6,0	<b>Máximo</b>
			28,0	1,1	26,1	-16,3	5,7	<b>Media</b>
			5,0	0,4	6,7	5,7	0,4	<b>σ</b>
<i>A. crenulata</i>	Chlorophyta	Algas verdes	24,7	0,4	62,9	-9,0	4,8	
<i>Ulva sp.</i>	Chlorophyta	Algas verdes	18,6	0,8	22,7	-22,1	6,2	
<i>U. prolifera</i>	Chlorophyta	Algas verdes	22,7	0,6	38,4	-18,8	5,1	
			18,6	0,4	22,7	-22,1	4,8	<b>Mínimo</b>
			24,7	0,8	62,9	-9,0	6,2	<b>Máximo</b>
			22,0	0,6	41,3	-16,6	5,4	<b>Media</b>
			3,1	0,2	20,3	6,8	0,7	<b>σ</b>
<i>R. mangle</i>	Magnoliophyta	Mangles	28,3	0,9	31,4	-29,7	2,1	
<i>L. racemosa</i>	Magnoliophyta	Mangles	31,6	1,0	31,6	-30,1	2,3	
<i>A. germinans</i>	Magnoliophyta	Mangles	32,4	0,8	40,5	-29,8	3,9	
<i>C. erectus</i>	Magnoliophyta	Mangles	32,1	1,2	26,8	-28,8	1,9	
			28,3	0,8	26,8	-30,1	1,9	<b>Mínimo</b>
			32,4	1,2	40,5	-28,8	3,9	<b>Máximo</b>
			31,1	1,0	32,6	-29,6	2,6	<b>Media</b>
			1,9	0,2	5,7	0,6	0,9	<b>σ</b>

## Anexo 1. Continuación.

Especie	Phyllum, o División	Grupo	C <sub>org</sub> (%)	N <sub>total</sub> (%)	C <sub>org</sub> /N <sub>total</sub>	δ <sup>13</sup> C	δ <sup>15</sup> N	Parámetro estadístico
Fitoplancton	-	MOPS	21,3	3,4	6,3	-25,3	6,3	
Fitoplancton	-	MOPS	22,4	3,2	7,0	-25,1	7,3	
Fitoplancton	-	MOPS	21,9	3,2	6,8	-25,4	7,5	
Fitoplancton	-	MOPS	23,2	3,4	6,8	-25,2	7,4	
Fitoplancton	-	MOPS	21,5	3,9	5,5	-25,2	6,9	
Fitoplancton	-	MOPS	21,6	3,4	6,4	-25,4	7,1	
Fitoplancton	-	MOPS	22,4	3,5	6,4	-25,1	7,2	
Fitoplancton	-	MOPS	20,3	3,2	6,3	-25,3	7,9	
Fitoplancton	-	MOPS	19,3	3,1	6,2	-25,4	6,9	
Fitoplancton	-	MOPS	19,6	3,4	5,8	-25,9	7,2	
			19,3	3,1	5,5	-25,9	6,3	<b>Mínimo</b>
			22,4	3,5	7,0	-25,1	7,9	<b>Máximo</b>
			22,1	3,4	6,5	-25,2	7,1	<b>Media</b>
			0,4	0,2	0,4	0,1	0,3	<b>σ</b>

**Anexo 2.** Resultados del análisis elemental e isotópico de carbono y nitrógeno del perfil de sedimento. Se incluyen además los resultados del fechado (Tiempo), tomados de (Alonso-Hernández *et al.*, *en prensa*).

Profundidad (cm)	Tiempo (años)	Corg (%)	Ntotal(%)	C <sub>org</sub> /N <sub>total</sub>	δ <sup>13</sup> C (‰)	δ <sup>15</sup> N (‰)
0-3	2008	2,83	0,26	10,8	-25,25	9,06
3-6	2005	2,48	0,25	9,92	-25,18	8,87
6-9	2001	1,95	0,19	10,2	-25,10	9,25
9-12	1996	1,99	0,18	11,1	-24,05	10,6
12-15	1991	1,92	0,19	10,1	-23,59	11,4
15-18	1986	1,86	0,21	8,86	-23,36	10,0
18-21	1981	1,78	0,22	8,09	-23,35	15,5
21-24	1976	1,72	0,18	9,56	-23,58	12,9
24-27	1971	1,84	0,20	9,20	-23,21	14,7
27-30	1966	1,74	0,20	8,70	-23,39	11,6
30-33	1961	1,89	0,20	9,45	-23,65	10,8
33-36	1956	1,91	0,20	9,55	-23,56	11,2
36-39	1952	1,80	0,18	10,0	-23,44	8,89
39-42	1947	1,95	0,20	9,75	-23,20	12,0
42-45	1943	2,05	0,20	10,3	-23,61	10,6
45-48	1938	1,97	0,22	8,95	-23,25	9,92
48-51	1933	2,09	0,23	9,09	-23,19	8,67
51-54	1928	2,22	0,23	9,65	-23,43	7,56
54-57	1923	2,18	0,21	10,4	-23,36	9,18
57-60	1919	2,36	0,21	11,2	-23,44	9,24
60-63	1914	2,44	0,24	10,2	-23,83	9,88
63-66	1910	2,54	0,22	11,5	-24,40	10
66-69	1906	2,46	0,20	12,3	-25,02	7,21
69-72	1902	2,77	0,24	11,5	-25,36	7,77
72-75	1887	2,88	0,20	14,4	-25,25	6,98
75-78	1882	3,03	0,21	14,4	-25,26	7,04
<b>Media</b>		2,18	0,21	10,35	-23,97	10,03
<b>σ</b>		± 0,39	± 0,02	± 1,54	± 0,81	± 2,15

**Anexo 3.** Resultados del aporte de MO (%) en cada una de las secciones de sedimento del perfil. Se refieren: el % de contribución del fitoplancton de agua dulce ( $P_{\text{fitoAD}}$ ), el fitoplancton marino ( $P_{\text{fitoM}}$ ) y los mangles ( $P_{\text{M}}$ ).

Profundidad (cm)	Tiempo (años)	$P_{\text{fitoAD}}$ (%)	$P_{\text{fitoM}}$ (%)	$P_{\text{M}}$ (%)
0-3	2008	50	33	17
3-6	2005	52	35	14
6-9	2001	50	35	15
9-12	1996	39	43	18
12-15	1991	37	49	14
15-18	1986	37	54	10
18-21	1981	38	56	7
21-24	1976	38	50	12
24-27	1971	35	54	11
27-30	1966	37	54	9
30-33	1961	39	50	12
33-36	1956	38	50	12
36-39	1952	36	50	14
39-42	1947	34	53	13
42-45	1943	37	48	15
45-48	1938	36	55	10
48-51	1933	35	55	10
51-54	1928	36	51	13
54-57	1923	34	50	15
57-60	1919	34	48	18
60-63	1914	39	46	15
63-66	1910	41	39	20
66-69	1906	45	32	23
69-72	1902	50	31	20
72-75	1887	42	27	31
75-78	1882	42	27	31

**Anexo 4.** Flujo de secuestro y enterramiento de carbono orgánico en los sedimentos de Laguna Guanaroca. Se refieren: la contribución del fitoplancton de agua dulce ( $FC_{fitAD}$ ), el fitoplancton marino ( $FC_{fitM}$ ) y los mangles ( $FC_M$ ), al flujo total de Corg ( $FC_{total}$ ).

Profundidad (cm)	Tiempo (años)	$FC_{total}$ ( $g\ m^{-2}\ a^{-1}$ )	$FC_{fitM}$ ( $g\ m^{-2}\ a^{-1}$ )	$FC_{fitAD}$ ( $g\ m^{-2}\ a^{-1}$ )	$FC_M$ ( $g\ m^{-2}\ a^{-1}$ )
0-3	2008	158,48	51,95	79,65	26,88
3-6	2005	138,88	48,25	71,74	18,89
6-9	2001	109,20	38,25	54,93	16,02
9-12	1996	111,44	47,55	43,71	20,17
12-15	1991	107,52	52,48	39,68	15,36
15-18	1986	104,16	55,93	38,28	9,96
18-21	1981	99,68	55,36	37,72	6,60
21-24	1976	96,32	48,23	36,31	11,78
24-27	1971	103,04	55,98	35,87	11,19
27-30	1966	97,44	52,39	36,33	8,72
30-33	1961	105,84	52,56	40,77	12,50
33-36	1956	106,96	53,78	40,14	13,04
36-39	1952	100,80	50,79	35,99	14,02
39-42	1947	109,20	58,03	37,02	14,15
42-45	1943	114,80	55,33	42,19	17,28
45-48	1938	110,32	60,16	39,23	10,93
48-51	1933	117,04	64,11	40,72	12,22
51-54	1928	124,32	63,73	44,96	15,63
54-57	1923	122,08	61,29	41,95	18,84
57-60	1919	132,16	63,05	44,68	24,43
60-63	1914	136,64	63,45	53,14	20,05
63-66	1910	142,24	55,35	58,96	27,92
66-69	1906	137,76	44,62	61,89	31,24
69-72	1902	155,12	47,77	76,90	30,45
72-75	1887	161,28	44,13	67,66	49,50
75-78	1882	169,68	46,30	71,31	52,07