



Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

Posgrado en Ciencias del agua

Evaluación de la calidad del agua mediante el uso de $\delta^{15}\text{N}$
en materia orgánica particulada de cenotes de zonas
agropecuarias en el estado de Yucatán

Tesis que presenta

Ing. Jocelyne Dayanna Frias Hernández

En opción al título de

MAESTRA EN CIENCIAS DEL AGUA

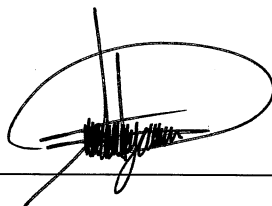
Cancún, Quintana Roo, México

2023

DECLARACIÓN DE PROPIEDAD

Declaro que la información contenida en las secciones de: Materiales y Métodos, Resultados y Discusión de este documento, proviene de las actividades de investigación realizadas durante el período que se me asignó para desarrollar mi trabajo de tesis, en las Unidades y Laboratorios del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y que, a razón de lo anterior, y en contraprestación de los servicios educativos o de apoyo que me fueron brindados, dicha información, en términos de la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, le pertenece patrimonialmente a dicho Centro de Investigación. Por otra parte, en virtud de lo ya manifestado, reconozco que de igual manera los productos intelectuales o desarrollos tecnológicos que deriven o pudieran derivar de lo correspondiente a dicha información, le pertenecen patrimonialmente al Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., y se registrarán, en todo caso, por lo dispuesto por la Ley Federal del Derecho de Autor y la Ley Federal de Protección a la Propiedad Industrial, en el tenor de lo expuesto en la presente Declaración.

Firma: _____



Nombre: Jocelyne Dayanna Frias Hernández

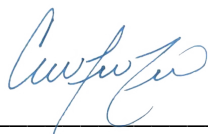
CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN, A. C.
POSGRADO EN CIENCIAS DEL AGUA



RECONOCIMIENTO

Por medio de la presente, hago constar que el trabajo de tesis de **Jocelyne Dayanna Frias Hernández** titulado “**Evaluación de la calidad del agua mediante el uso de $\delta^{15}\text{N}$ en materia orgánica particulada de cenotes de zonas agropecuarias en el estado de Yucatán**” fue realizado en la Unidad de Ciencias del Agua, en la línea de investigación de Sostenibilidad de Ecosistemas Acuáticos, en el Laboratorio de Ecología Costera del Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. bajo la dirección del **Dr. Antonio Almazán Becerril**, perteneciente al Programa de Maestría en Ciencias del Agua.

Atentamente



Dra. Cecilia Hernández Zepeda
Directora de Docencia

Mérida, Yucatán, México, a 12 de enero del 2024

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT/CONAHCTY) por la beca que me fue otorgada para la realización de este proyecto de investigación, ya que sin el apoyo no habría sido posible llevarlo a cabo (CVU 1092910).

Al posgrado en Ciencias del agua, en el Centro de Investigación Científica de Yucatán por los conocimientos brindados en los diversos cursos impartidos.

Al laboratorio de Ecología Costera de la Unidad de Ciencias del Agua y a los laboratorios de Isotopos Estables del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada y al Centro Universitario de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad de Colima por las enseñanzas, préstamo de equipos y material para la realización de este proyecto de investigación.

A los miembros de mi comité:

Dr. Antonio Almazán Becerril por aceptar ser el director de este proyecto de tesis, por los conocimientos brindados, por el gran apoyo no solo académico sino emocional, el tiempo dedicado, los aportes para mejorar el proyecto y la paciencia, que han sido de gran apoyo tanto académico como personal para terminar esta investigación, además por confiar en mi cuando creí que no quedaba nada por hacer.

Dr. Adán Caballero Vázquez por el interés en este proyecto de tesis, por las correcciones y aportes a esta investigación que han sido de mucho apoyo.

Dr. Juan Carlos Herguera por todos los aportes, sugerencias y conocimientos brindados, así como el tiempo dedicado, la preocupación por este proyecto de investigación que fue bastante útil para terminar.

Dr. Ernesto García Mendoza, por su apoyo durante el proceso de realización de este proyecto, además de su amabilidad, comprensión y apoyo en mi viaje a Ensenada.

Dr. Eduardo Cejudo Espinosa por sus valiosos aportes a mi trabajo de tesis y que llegaron en el momento que más lo necesitaba, por darse el tiempo de leer mi trabajo y por los ánimos que me brindó cuando necesitaba sentir apoyo.

Al técnico del laboratorio de Ecología Costera, M.C Benjamín Delgado Pech por el apoyo tanto en campo como en el laboratorio, pero sobre todo por ser un gran consejero y por motivarme a seguir cuando sentía que no podía más, por brindarme los mejores momentos de los cuales nunca me voy a olvidar y por enseñarme muchas cosas no solo académicas sino de la vida. De igual forma quiero agradecer al técnico de laboratorio M. C. Jorge Peniche Pérez, quien siempre estuvo en la mejor disposición para apoyarme con mi trabajo de campo que fue muy agotador y por los momentos, enseñanzas y buena música que siempre ponía. También quiero agradecer a

la M.C. Gabriela Rosiles González por capacitarme para el uso de la centrifuga que además me prestó amablemente las veces que la necesité.

A la técnico M.C. Doreny Guadalupe Bobadilla Gámez por apoyo en la preparación de muestras para análisis isotópico, el análisis de las muestras, la gran disposición de explicar de la mejor forma el uso el espectrómetro de masas además por la paciencia y la mejor actitud que en muchos momentos me contagiaba mucha paz y alegría.

Al M.C. Juan Arana Ravell y a la M.C. Eunices Hernández de la O, quienes además de ser mis compañeros de maestría y pertenecer al mismo laboratorio de Ecología Costera, se convirtieron en los amigos que me ayudaron a enfrentar todas las situaciones que se presentaron durante el posgrado y con quienes aprendí y viví los mejores momentos y las mejores experiencias fuera y dentro de la unidad de Ciencias del agua. A la bióloga Gabriela Pineda García por acompañarme en este complicado camino académico, en el cual ambas vivimos cambios muy importantes que marcaron una etapa importante de nuestra vida adulta y comprendí que ahora tengo una amiga y una hermana, gracias por ser la mejor roomie, ser una persona increíble y apoyarme en todo momento. A la Ing. Adriana Hernández y a la Ing. Jimena Peraza por ser las personitas que le daban alegría al laboratorio, por siempre apoyarme, animarme y estar para mí cuando más lo necesité, gracias a todos por ser mi familia de Cancún y por mostrarme tanto cariño siempre.

A la M.C Soledad Maldonado Bravo, mi maestra de la licenciatura por motivarme a superarme y continuar mis estudios de posgrado, y no solo ser mi maestra sino también una amiga.

A mi mamá María Antonia Hernández Lucho y mi papá Sergio Alberto Frias Quino por ser los pilares de mi vida, por estar siempre para mí, en los buenos y malos momento de mi vida, por mostrarme que hasta el problema más complicado se puede resolver, y por nunca dejarme caer las veces que sentí que no podía. Además de apoyar cada una de las travesías en las que me he aventurado y por siempre estar orgullosos de mí, lo digo y lo seguiré diciendo, no pude tener mejores padres.

A mi hermanito Sergio Aldahir Frias Hernández por ser la persona que siempre está apoyándome y diciéndome las palabras adecuadas para hacerme sentir mejor cuando me he sentido vulnerable ante situaciones complicadas en mi vida y quien me motiva a ser la mejor en lo que sea que haga

DEDICATORIA

Este proyecto de investigación se lo dedico a todas aquellas mujeres científicas que nunca fueron reconocidas ante la comunidad, por el simple hecho de ser mujeres y con dolor haber visto su empeño de años presentado por alguien más. Porque sin importar el tiempo y el esfuerzo que nos lleve, siempre sabremos demostrar nuestro valor y nuestra fortaleza.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Producción agrícola y ganadera anual en la Península de Yucatán Producción agrícola y ganadera anual en la península de Yucatán.....	5
Tabla 2. Datos de $\delta^{15}\text{N}$ en la MOP de aguas continentales a nivel mundial y otros datos de importancia.....	12
Tabla 3. Datos de concentraciones de las especies químicas de N y de la composición isotópica $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de agua de cuerpos acuáticos de Yucatán.....	13
Tabla 4. Coordenadas de localización de los cuerpos de agua	17
Tabla 5. Muestras obtenidas por cada fecha de muestreo.	18
Tabla 6. Categorías de estado trófico propuesto por Kratzer y Brezonik con base en el TSI de Carlson (1977).	20
Tabla 7. Estándares isotópicos utilizados en el espectrómetro de masas	21
Tabla 8. Resultados generales de los cuerpos de agua estudiados.	22

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Representación del ciclo del nitrógeno en un cenote oligotrófico.....	8
Figura 2. Representación de un cenote eutrófico y sus composiciones isotópicas.....	9
Figura 3. Mapa de los sitios de estudio.....	16
Figura 4. Variabilidad de los parámetros ambientales.....	24
Figura 5. Gráficos de variabilidad de clorofila, ^{15}N , N_T y P_T	26
Figura 6. Cluster diagrama de similitud de los grupos de estudio.....	27
Figura 7. Representación de composiciones isotópicas.....	33

CONTENIDO

LISTADO DE TABLAS	i
LISTADO DE FIGURAS	i
CONTENIDO.....	ii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 1	4
ANTECEDENTES	4
1.1. Actividades económicas que propician la eutrofización	4
1.2. Concentraciones de nutrientes en los cuerpos de agua de Yucatán	6
1.3. Modelo conceptual	7
1.4. Composición isotópica en materia orgánica particulada y agua	8
1.5. Eutrofización	11
JUSTIFICACIÓN	14
HIPOTESIS	14
OBJETIVOS	14
OBJETIVO GENERAL.....	14
OBJETIVOS ESPECIFICOS	14
CAPITULO 2	15
MATERIALES Y MÉTODOS	15
2.1 Descripción del área de estudio	15
2.2 MÉTODOS	18
2.2.1 Estrategia de muestreo	18
2.2.2 Caracterización de los cuerpos de agua.....	18
2.2.3 Determinación de la concentración de nutrientes	18
2.2.4 Clorofila-a.....	19
2.2.5 Determinación del índice de estado trófico.....	20
2.2.6 Isótopos de $\delta^{15}\text{N}$	20
CAPITULO 3	22
RESULTADOS y DISCUSIÓN	22
3.1 Resultados.....	22
3.1.1 Temperatura	22

3.1.2	pH	23
3.1.3	Oxígeno disuelto (OD).....	23
3.1.4	Conductividad eléctrica (CE)	23
3.1.5	Clorofila-a e Índice de estado trófico	24
3.1.6	Nitrógeno Total.....	25
3.1.7	Fósforo Total.....	25
3.1.8	Composición isotópica de $\delta^{15}\text{N}$	26
3.1.9	Análisis de clusters.....	27
3.2	DISCUSIÓN	28
3.2.1	Variabes hidrológicas	28
3.2.2	Concentración de nutrientes	29
3.2.3	Estado trófico y actividad del cenote	31
3.2.4	Composición isotópica de $\delta^{15}\text{N}$ de la MOP	32
	CONCLUSIONES	35
	BIBLIOGRAFÍA	36

RESUMEN

El estado de Yucatán posee una economía basada en diversas actividades, entre las que destacan la actividad agropecuaria y el turismo, sin embargo, a pesar de sus contribuciones económicas, estas actividades han generado un gran impacto ambiental por las aportaciones de fertilizantes orgánicos y sintéticos que llegan al acuífero por medio de la infiltración y la escorrentía, aportando una alta cantidad de nutrientes que no solo contaminan el medio acuático, sino que fomentan la eutrofización de los distintos cuerpos de agua que ya cuentan con una gran cantidad de biomasa proveniente del fitoplancton. Si bien estos cuerpos de agua tienen características diferentes, no se ha estudiado si la actividad económica que se realiza alrededor de estos sitios tiene un impacto directo en su calidad de agua y con la eutrofización. El objetivo de este proyecto de investigación fue determinar la composición isotópica del $\delta^{15}\text{N}$ en la materia orgánica particulada (MOP), presente en cuerpos de agua con un uso de suelo agropecuario y turístico pertenecientes al estado de Yucatán, para determinar qué tanta influencia tienen estas actividades como fuentes de nitrógeno en los diferentes cuerpos acuáticos. Se estudiaron 30 cuerpos de agua entre los que se encuentran cenotes, sascaberas y aguadas distribuidos a lo largo del estado en los que las actividades ya mencionadas estuvieran presentes. Las variables hidrológicas que se midieron en cada salida de campo fueron la temperatura (T), conductividad eléctrica (CE), porcentaje de hidrogeno (pH) y oxígeno disuelto (OD), además se midieron los nutrientes nitrógeno total (N_T) y fósforo total (P_T), así como la concentración de clorofila a (Chl-a) y la composición isotópica del nitrógeno de la materia orgánica particulada ($\delta^{15}\text{N}$ -MOP). Los resultados de la concentración de clorofila mostraron que seis cenotes presentaron en estado ultraoligotróficos y la menor concentración de clorofila se encontró en el cenote turístico Xpacay con $0.02 \mu\text{g/L}$. De igual forma, seis cuerpos de agua, entre los que se encuentran cenotes, aguadas y sascaberas, fueron mesotróficos, 13 más fueron eutróficos y 5 hipereutróficos. La composición isotópica del nitrógeno total obtenidas en la MOP ($\delta^{15}\text{N}$ -MOP) tuvieron un valor mínimo de 0.71‰ en Almendros I, que es una aguada mesotrófica con actividad agropecuaria, y un valor máximo de 14.96‰ en San Miguel, un cenote eutrófico con actividad agropecuaria. Sin embargo, hubo otros valores excepcionales como el cenote Xpakay que siendo ultraoligotrófico presentó una composición isotópica de 12.99‰ , más elevado de lo esperado. Se concluyó que ni el tipo de cuerpo de agua, ni la actividad económica, ni el estado trófico se relacionan con la composición isotópica encontrada en la MOP.

ABSTRACT

The state of Yucatan has an economy based on diverse activities, in which agricultural activity and tourism stand out; however, in spite of the economic contributions, these activities have generated a great environmental impact due to the contributions of organic and synthetic fertilizers that reach the aquifer through infiltration and runoff, contributing a high amount of nutrients that not only contaminate the aquatic environment, but also promote the eutrophication of the different bodies of water that already have a large amount of biomass from phytoplankton. Although these water bodies have different characteristics, it has not been studied whether the economic activity that takes place around these sites has a direct impact on their water quality and eutrophication. The objective of this research project was to determine the isotopic composition of $\delta^{15}\text{N}$ in particulate organic matter (POM) present in water bodies with an agricultural and tourist land use belonging to the state of Yucatan, to determine how much influence these activities have as sources of nitrogen in the different aquatic bodies. Thirty water bodies were studied, including cenotes, sascaberas, and aguadas distributed throughout the state in which the aforementioned activities were present. The hydrological variables measured in each field trip were temperature (T), electrical conductivity (EC), percentage of hydrogen (pH) and dissolved oxygen (DO), and the nutrients total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) were measured, as well as the concentration of chlorophyll a (Chl-a) and the nitrogen isotopic composition of particulate organic matter ($\delta^{15}\text{N}$ -POM). The results of chlorophyll concentration showed that six cenotes are in an ultraoligotrophic state and the lowest chlorophyll concentration was found in the tourist cenote Teabo Xpacay with 0.02 $\mu\text{g/L}$. Similarly, six water bodies, including cenotes, aguadas and sascaberas, were mesotrophic, 13 more were eutrophic and 5 were hypereutrophic. The total nitrogen isotopic composition obtained in the POM ($\delta^{15}\text{N}$ -POM) had a minimum value of 0.71 ‰ in Almendros I, which is a mesotrophic aguada with agricultural activity, and a maximum value of 14.96‰ in San Miguel, a eutrophic cenote with agricultural activity. However, there were other exceptional values such as the Xpakay cenote that being ultraoligotrophic presented an isotopic composition of 12.99‰, higher than expected. It was concluded that neither the type of water body, nor the economic activity, nor the trophic state are related to the isotopic composition found in the POM.

INTRODUCCIÓN

El paisaje del estado de Yucatán se caracteriza por la presencia de una variedad de cuerpos de agua que se han formado principalmente por la disolución de la roca caliza en escalas de tiempo geológico (Estrada-Medina et al., 2019). Estos sitios tienen gran importancia ambiental, turística y cultural y son proveedores de servicios ambientales que benefician a la población local (Schmitter-Soto et al., 2002). Sin embargo, dada la alta permeabilidad del suelo kárstico, los cuerpos de agua se han convertido en receptores de contaminantes derivados de diversas actividades económicas como la ganadería, la agricultura y el turismo (Caamal et al., 2021).

En Yucatán, la ganadería es una de las actividades económicas más rentables y extendidas. Con base en datos reportados por el Sistema de Información Agrícola y Pecuaria, en el año 2020 se produjo un volumen de 82,047 de cabezas de ganado bovino (SIAP, 2020). De la misma forma, la producción agrícola del estado fue de 147,903 ton de distintos cultivos (SIAP, 2020).

Uno de los contaminantes más frecuentes en los cuerpos de agua de la PY provenientes de la agricultura y la ganadería es el nitrógeno, que llega a estar presente en altas concentraciones en sus distintas formas químicas (Pacheco et al., 2001; Moscoso, 2018; Long, 2018; Arcega, 2021; Caamal et al., 2021). En algunos sitios esta contaminación es puntual como consecuencia de las actividades agropecuarias aledañas a cuerpos de agua, que hacen uso excesivo de fertilizantes sintéticos y orgánicos, además del inadecuado manejo de los desechos ganaderos que se acumulan en el suelo facilitando su ingreso al agua (Bautista & Aguilar, 2021). Caamal et al. (2021), mencionan que el 30% de los ranchos de Yucatán han sido operados por más de 30 años, por lo que se podría suponer que los residuos de fertilizantes y los desechos del ganado que llegan al agua han crecido de forma concomitante al crecimiento demográfico del estado, lo que significa un aumento continuo de la concentración de nitrógeno.

Algunos estudios reportan que entre el 50 – 65% del fertilizante aplicado no es utilizado por los cultivos (Adesemoye & Kloepper, 2009). De estas pérdidas, una fracción importante llega a los cuerpos de agua por lixiviación y escorrentía (Singh & Sekho, 1979). La forma del N con mayor movilidad en aguas superficiales y subterráneas es el nitrato (Rabalais, 2002; Hou et al., 2021) que se incrementa en aguas subterráneas que se encuentran bajo zonas agrícolas (Moody, 1990; Pacheco & Cabrera, 1996). El nitrato que llega a los cuerpos de agua es aprovechado por el fitoplancton promoviendo su crecimiento, y dado que el proceso de enriquecimiento es continuo, el fitoplancton experimenta incrementos de su biomasa produciendo en el cuerpo de agua una serie de eventos en cascada llegando, en casos extremos, a la eutrofización (Chislock et al., 2013).

Entre mayor producción primaria, mayor será la actividad microbiana para descomponer la alta cantidad de materia orgánica (MO) que, a su vez, agotará gradualmente el oxígeno disuelto (OD), causando condiciones de hipoxia (bajo oxígeno) y, en casos extremos, de anoxia (ausencia de oxígeno), impidiendo que el OD se encuentre en concentración suficiente para sostener a la biota (Olsen et al., 2006; Arend et al., 2011;). Esta situación genera la pérdida de la diversidad acuática (Howarth 1991; McLaughlin & Mineau 1995), la funcionalidad del sistema (Chislock et al., 2013) y también limita su uso para fines productivos o recreativos (Herrera-Silveira et al., 2005).

En aguas eutróficas se produce la mayor concentración de materia particulada (MOP) compuesta por la actividad biológica del fitoplancton. La MOP se considera un reservorio dinámico (Mccusker et al., 1999; Schindler et al., 2008; Hou et al., 2013) compuesto por materia viva y no viva de fuentes alóctonas (materia erosionada por la escorrentía) y autóctonas (producida por los autótrofos como el fitoplancton (Libes, 1992; Volkman, 2002; Derrien et al., 2017).

La determinación de las fuentes de nutrientes que constituyen la MOP es importante para comprender los procesos de eutrofización que se llevan cabo en el cuerpo de agua, así como del impacto de la contaminación antrópica (Cao et al., 2016; Xu et al., 2019). Para determinar el origen del N de la MOP puede utilizarse la composición isotópica del $\delta^{15}\text{N}$ (Kendall et al., 2021). Los isótopos estables son átomos no radioactivos de un determinado elemento que tienen distinta masa atómica (Guerrero & Berlanga, 2000). El nitrógeno tiene dos isótopos estables nitrógeno 14 (^{14}N) y nitrógeno 15 (^{15}N), respectivamente, cuya abundancia relativa está determinada por el fraccionamiento isotópico. Esta abundancia varía como resultado de los distintos procesos físicos o químicos que se dan de forma natural entre los distintos reservorios del elemento que se está estudiando, dado que se alteran sus propiedades termodinámicas y fisicoquímicas, produciendo una relación proporcional en la diferencia de sus masas (Caballero, 1989).

La composición isotópica del $\delta^{15}\text{N}$ en el agua se ha utilizado para evaluar diferentes procesos biogeoquímicos como la nitrificación y desnitrificación microbiana que son parte del ciclo del nitrógeno (Hadas et al., 2009), así como la fijación y absorción del nitrógeno disuelto (Patoine et al., 2006) o para determinar el nivel trófico de los organismos (Lehmann et al., 2004). Sin embargo, en la MOP, este isótopo es de gran importancia ya que la materia orgánica está constituida de diferentes fuentes alóctonas (como restos de plantas, suelo, restos de heces fecales) y de fuentes autóctonas provenientes principalmente del fitoplancton. Por lo tanto, para determinar si el nitrógeno proviene de las actividades económicas mencionadas se puede medir la el $\delta^{15}\text{N}$ en la MOP (Kendall et al., 2001; Chen & Jia, 2009).

En muestras de agua con influencia de actividades agropecuarias se han reportado valores de $\delta^{15}\text{N}$ mayores a 20‰ (Bedard et al., 2003; Hou et al., 2013). También se han observado valores

de 0‰ de $\delta^{15}\text{N}$ proveniente de fertilizante sintéticos, resultado que refleja el origen atmosférico del N del fertilizante (Vitoria et al., 2004; Vitoria et al., 2005). Lo anterior demuestra la utilidad de determinar el $\delta^{15}\text{N}$ como trazador de los flujos y origen del nitrógeno y con ello inferir los riesgos de eutrofización.

Con el objetivo de determinar si las actividades agrícolas, ganaderas y turísticas son la causa de la aceleración del proceso de eutrofización de los cuerpos de agua del estado de Yucatán, en este estudio se pretende determinar y comparar las composiciones isotópicas del $\delta^{15}\text{N}$ en la materia orgánica particulada (MOP) de los cuerpos de agua que tengan influencia de estas actividades en el estado de Yucatán.

Se espera que el $\delta^{15}\text{N}$ en la MOP sea mayor en los cuerpos de agua con mayor influencia agropecuaria por el efecto de los desechos del ganado y por la actividad agrícola, porque reflejarían la influencia de esta actividad en su composición isotópica, mientras que, en los cuerpos de agua turísticos, se esperaría que tuviera una menor composición isotópica debido a que la mayoría de estos cuerpos de agua son oligotróficos o ultraoligotróficos cuyo nitrógeno es resultado de fijación atmosférica. Los cenotes con esta condición son los más atractivos para actividades de nado por la transparencia del agua. Esto implica que hay muy poca biomasa de fitoplancton y que la MOP podría ser preponderantemente de origen alóctono. A pesar de que muchos cenotes en los que hay actividades turísticas también hay actividades agropecuarias en las inmediaciones, estos se mantienen en estado oligotrófico porque en su mayoría son cerrados o semicerrados, en los cuales la incidencia de luz no es suficiente para aumentar la producción primaria del fitoplancton y, por lo tanto, la concentración de Chl-*a*, permanece muy baja. Por ello, es más difícil predecir los valores de la composición isotópica de la MOP en este tipo de cenotes. Un tercer grupo de cenotes sin influencia agropecuaria o turística, lo constituyen aquellos que han quedado dentro de las zonas urbanizadas de ciudades o poblaciones. Estos cuerpos de agua tendrían un efecto de contaminación orgánica promovido por las aguas residuales producidas por los habitantes de estos sitios, que, en su mayoría, no cuentan con drenaje sanitario. El N proveniente de estas aguas, propiciaría también el incremento de fitoplancton y por lo tanto podría esperarse un $\delta^{15}\text{N}$ elevado en la MOP si esta está dominada por el fitoplancton.

Considerando lo anterior, el presente estudio tiene por objeto cuantificar la composición isotópica de la MOP para inferir los flujos de nitrógeno a los cuerpos de agua de Yucatán.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1.1. Actividades económicas que propician a la eutrofización

El uso de fertilizantes (orgánicos e inorgánicos) es una fuente potencial de contaminación de los cuerpos de agua (Hooda et al., 2000). Estos son utilizados con el propósito de solucionar la pérdida de la fertilidad de los suelos, convirtiéndose en la mejor solución para una mayor producción en respuesta al crecimiento poblacional global, que demanda mayor cantidad de alimentos de origen vegetal y animal (Huang et al., 2017).

Los fertilizantes contienen distintos nutrientes como Nitrógeno (N), Fósforo (P) y Potasio (K), siendo N uno de los más importantes, dado que su acumulación continua en el agua genera la eutrofización de los cuerpos de agua (Franco & Cuevas, 2010). A nivel mundial, se estima que hay un gran transporte de N inorgánico proveniente de la aplicación de fertilizantes. Por ejemplo, China consume aproximadamente 20 millones de toneladas al año de fertilizantes, lo que es equivalente al 25% del consumo global, que es de 85 millones de toneladas anuales de N (Glibert et al., 2005). Los aportes de N al agua son mayores en países como China y el sureste de Asia, seguido por Norteamérica y Europa, ya que son las regiones con mayor uso de fertilizantes (Glibert et al., 2005). Además, la pérdida de vegetación por deforestación ayuda a incrementar la erosión de áreas con alta concentración de N, facilitando la contaminación de los ecosistemas acuáticos (López & Madroño, 2015).

En México, más del 95% de los agricultores usan fertilizantes en actividades agrícolas (Ávila, 2001). En la península de Yucatán, el INEGI (2013) reportó que en los últimos años Yucatán perdió un 30% de la vegetación de la región por impacto antropogénico, destacando el cambio de uso de suelo para la agricultura, la ganadería y el desarrollo turístico (Durán-García et al., 2016). Esta deforestación ha fomentado la erosión de los suelos dejando expuesta la roca caliza que posee alta porosidad (Perry et al., 1995; Schmitter-Soto et al., 2002; Aguilar et al., 2016) facilitando la infiltración de contaminantes, como los fertilizantes provenientes de estas actividades (Caamal et al., 2021).

En la península de Yucatán, se estima que existen aproximadamente de 7,000 a 8,000 cenotes o dolinas (Beddows et al., 2007), los cuales se encuentran conectados al acuífero. Al menos 46% de los cenotes pertenecientes al estado de Yucatán se encuentran en superficies dedicadas al sector productivo, entre los cuales, 510 cenotes se encuentran en áreas ganaderas y 173 en plantíos henequeneros (Sosa & Chablé, 2013).

Los principales cultivos de uso local y comercial de Yucatán son el maíz, la calabaza, el pepino, el tomate, la sandía y el chile habanero, los cuales se siembran y cultivan en los dos ciclos del año agrícola, es decir otoño-invierno y primavera-verano (Pacheco y Cabrera, 1996). La aplicación de fertilizantes en ambos ciclos depende del criterio del agricultor, pero, según Pacheco y Cabrera (1996), generalmente se hace en exceso (Eastmond & García, 2006). Por ejemplo, González et al. (2014) mencionan que, en la península, la producción de maíz alcanza 1.5 ton ha⁻¹ aplicando fertilizantes y 0.7 ton ha⁻¹ sin fertilizante, lo cual se considera insuficiente para el consumo local. El maíz requiere un aproximado de 144 kg ha⁻¹ de N, lo cual justifica la aplicación de estos abonos que aseguran un mayor volumen de producción.

Aunque las actividades agropecuarias se distribuyen a lo largo de toda la península, los municipios con mayor actividad ganadera se encuentran en Yucatán y son Tizimín, Ticul, Valladolid y Mérida. El municipio de Tizimín que se encuentra ubicado en el noreste de Yucatán también está dominado por tal actividad (Cupul-Camaal et al., 2021) con una producción de 68,115.43 cabezas de ganado al año (Tabla 1), lo cual supone una gran cantidad de desechos orgánicos anuales acumulados que, además, carecen de un buen manejo e incluso en muchas ocasiones son utilizados como abonos para los cultivos (Smith et al., 2021). De igual forma, los mismos municipios destacan por la actividad agrícola, pero particularmente se distingue el municipio de Ticul, ubicado en la zona sur, con una producción de 67,446.77 t anuales de cultivos (Tabla 1). Si bien, los fertilizantes han servido para mejorar las características del suelo y para obtener cosechas de mejor calidad y mayor rendimiento, se ha detectado que el N aplicado como fertilizante químico y el que está presente en el estiércol del ganado, han ingresado a los cuerpos de agua. Por ejemplo, Pacheco y Cabrera (1996) mencionan que la calidad del agua subterránea de la península de Yucatán tiene gran impacto de las actividades humanas, principalmente influenciada por la actividad agrícola debido al uso continuo de fertilizantes potenciado así la eutrofización de los cuerpos acuáticos.

Tabla 1. Producción agrícola y ganadera anual en la Península de Yucatán Producción agrícola y ganadera anual en la península de Yucatán según datos del SIAP.

Municipio	Producción Ganadera (cabezas)	Producción Agrícola (ton/año)
Ticul	5439	67,446.77
Valladolid	1020	42,562.54
Mérida	7471	14,443.77
Tizimín	68115	23,449.43

1.2. Concentración de nutrientes en los cuerpos de agua de Yucatán

Los nutrientes inorgánicos son los principales factores involucrados en la eutrofización de los cuerpos de agua. El nitrógeno (N) y el fósforo (P) son limitantes en el crecimiento del fitoplancton en cuerpos de agua naturales sin impacto antrópico. El enriquecimiento por nutrientes derivado de actividades antropogénicas promueve la acumulación excesiva de algas (Smith et al., 2006), lo que a su vez provoca una serie de procesos en cascada que afectan el funcionamiento del ecosistema acuático.

El N es uno de los elementos más abundantes en el planeta y es parte fundamental de muchas biomoléculas esenciales para la vida como los aminoácidos y los ácidos nucleicos, por lo que es muy común encontrarlo en los tejidos de organismos vivos, de tal forma que, si aumenta biodisponibilidad, aumenta la biomasa de los productores primarios que generalmente presentan limitación en su crecimiento debido a la escasez de este nutriente en el agua.

Las formas reactivas (iónicas) más frecuentes del nitrógeno disuelto (ND) son el nitrato (NO_3^-), el nitrito (NO_2^-) y el amonio (NH_4^+) (Ávila & Sansores, 2003; Camargo & Alonso, 2006). Aunque estos iones se encuentran de forma natural por la acción de distintos procesos biogeoquímicos (disolución de roca enriquecida en nitrógeno, fijación de organismos procariontes, depósito atmosférico y descomposición de materia biológica) es más frecuente que pueden llegar por contaminación antropogénica al ser arrastrados por escorrentía o infiltración (Howarth, 1988; Camargo & Alonso, 2006).

El N sufre procesos de transformación química, por ejemplo, el amonio puede oxidarse a nitrato por acción de bacterias autótrofas que oxidan el amonio en nitritos y después los nitritos son oxidados para obtener nitrato ($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO}_3^-$) (Ávila et al., 2002). Los desechos de animales contienen grandes cantidades de proteína no asimilable, al encontrarse en forma de nitrógeno orgánico (N_{org}), por lo que las bacterias lo convierten en amonio para ser asimilado fácilmente por otros organismos (Ávila et al., 2002).

En la península de Yucatán, la concentración de nutrientes inorgánicos disueltos en los cuerpos de agua locales (NO_3^- , NO_2^- y NH_4^+) varían principalmente por la estacionalidad (Pacheco & Cabrera, 1996). Por ejemplo, en la temporada de lluvias se han observado menores concentraciones como resultado de la dilución. Por el contrario, en la temporada de secas se observan valores más altos, ya que los nutrientes se concentran por el aumento de la evaporación (Hernández et al., 2011; Moscoso, 2019). Sin embargo, la concentración de nutrientes en los cuerpos de agua también está influenciada por su ubicación geográfica, las propias características del cuerpo de agua, la fuente de nutrientes, siendo las actividades agropecuarias las de mayor impacto en el ecosistema acuático. Por ejemplo, Moscoso (2019), presentó valores

de nitrógeno total (NT) con valores de hasta 271.43 $\mu\text{mol L}^{-1}$ en temporada de lluvias y valores más bajos en temporada de nortes (103.9 $\mu\text{mol L}^{-1}$). De igual forma, obtuvo valores de nitrógeno orgánico (N_{org}) de 10.55 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 174.85 $\mu\text{mol L}^{-1}$ en cenotes semiabiertos loticos, que, a pesar de tener presencia de nitrógeno, al presentar limitación por luz, se evita la generación de fitoplancton, por lo que en su mayoría son oligotróficos y tienen aguas muy claras (Schmitter Soto et al., 2002).

De igual forma, Arcega et al. (2021), comparó valores de nitrato en dos temporadas (lluvias y secas) encontrando valores de 0.9 a 338.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ y de 2.9 a 778.7 $\mu\text{mol L}^{-1}$ respectivamente, en cenotes con gran impacto turístico y agropecuario. Carrillo-Jovel (2019), reportó valores de 42.25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ a 403.94 $\mu\text{mol L}^{-1}$ en temporada de secas y de 1.39 a 391.81 $\mu\text{mol L}^{-1}$ en temporada de lluvias. También hay reportes sobre pozos, que presentan valores de concentración muy altos en la temporada de lluvias, y decrecen en la temporada seca (Pacheco & Cabrera, 1997; Pacheco et al., 2000; Cupul-Camaal et al., 2021).

1.3 Modelo conceptual

En la figura 1 se representa a un cenote que no tiene impacto de actividades antropogénicas. El ciclo comienza con el nitrógeno atmosférico (N_2) que es fijado por las bacterias tanto en el medio terrestre como en el acuático. El N_2 es transformado en amonio (NH_4^+) mediante fijación atmosférica y puede sufrir una serie de oxidaciones para convertirse en nitrito (NO_2^-) y posteriormente en nitrato (NO_3^-). Todos esos iones son asimilables por los productores primarios. El NO_3^- se convierte nuevamente en N_2 por acción bacteriana y vuelve a la atmósfera por medio de la desnitrificación (Galván Ríos, 2013). Algunas de las transformaciones pueden generar fraccionamiento isotópico, reflejado en el $\delta^{15}N\text{-MOP}$ mostrado en cada especie.

En la figura 1 se representa a un cenote con impacto de actividades antropogénicas, específicamente de la ganadería y de la agricultura. Se muestran dos rutas de contaminación. En la primera ruta, el ciclo comienza con el nitrógeno en forma de amonio (NH_4^+) proveniente de los desechos del ganado (estiércol). El NH_4^+ es transformado en nitrato (NO_3^-) que se enriquece en ^{15}N por medio de la nitrificación y se lixivia hacia el acuífero y por desnitrificación el NO_3^- se convierte nuevamente en N_2 .

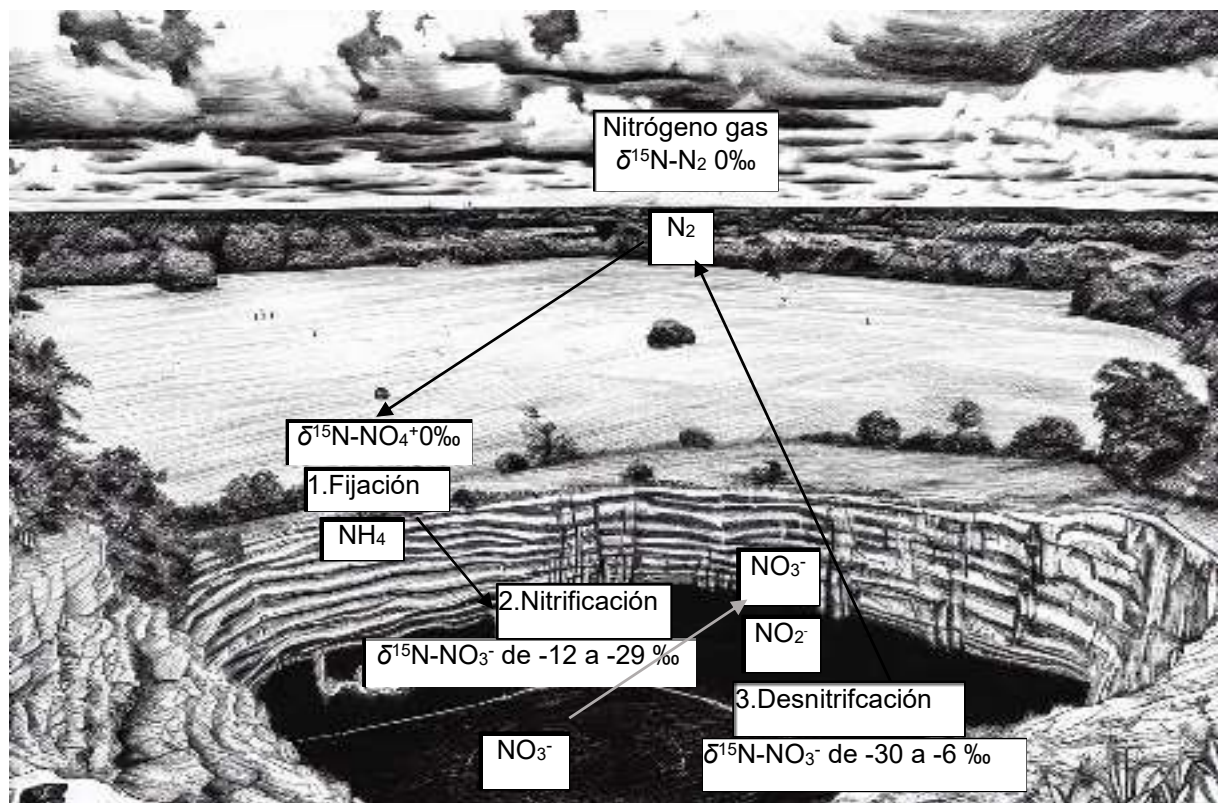


Figura 1. Representación del ciclo del nitrógeno en un cenote oligotrófico sin efectos de actividades humanas con la composición isotópica de las entidades químicas representativas.

La segunda ruta de contaminación se da por la adición de fertilizantes en los cultivos que llegan al suelo en forma de NO_3^- y este es lixiviado hacia el acuífero. La desnitrificación lo convierte en N_2 nuevamente y regresa a la atmósfera o queda disuelto en el acuífero.

1.4. Composición isotópica en materia orgánica particulada y agua

El estudio de la materia orgánica particulada (MOP) en los cuerpos de agua, es importante ya que aporta información sobre el ciclo de nitrógeno en sistemas acuáticos. La MOP está compuesta por material vivo y no vivo, tanto de fuentes alóctonas como autóctonas (Kendall et al., 2001). Además, sirve para reflejar los distintos procesos biogeoquímicos que ocurren en el cuerpo de agua, por ejemplo, el comportamiento de la producción primaria y las transformaciones del nitrógeno (N).

El isótopo estable de nitrógeno ^{15}N se ha convertido en una herramienta útil como trazador de las fuentes de MOP. Del mismo modo, los valores de composición isotópica muestran variaciones que se presentan con relación a las estaciones climáticas (Kendall et al., 2001; Lehman et al., 2004; Altabet, 2006).

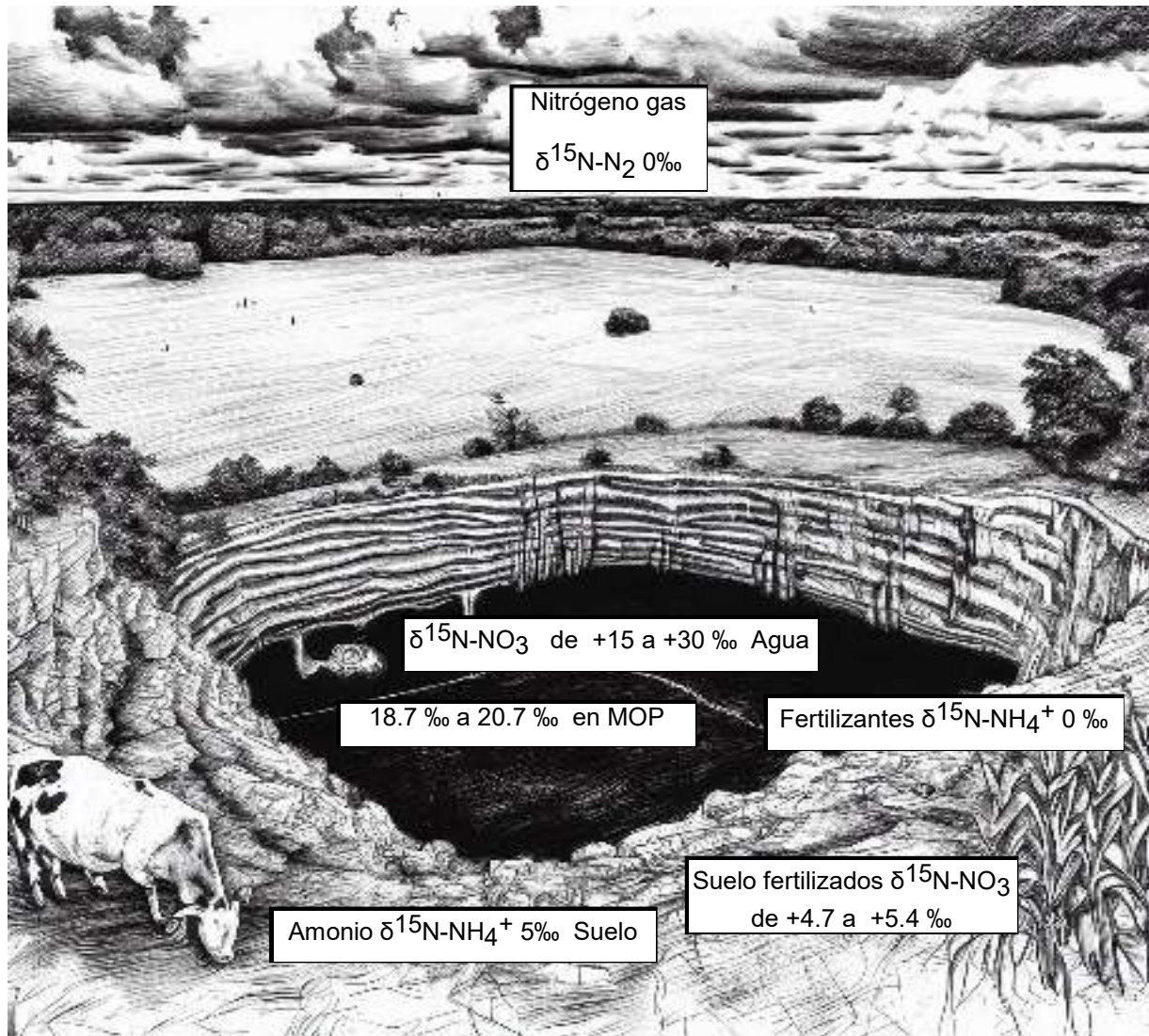


Figura 2. Representación de cenote eutrófico y sus composiciones isotópicas (Kendall et al., 2001; Lu et al., 2021; Xu, et al., 2019; Karr et al., 2001).

El nitrógeno inorgánico disuelto en la mayoría de los cuerpos acuáticos se encuentra dominado por el nitrato y en menor cantidad por el amonio por causa de la nitrificación (Kendall et al., 2001). El nitrógeno en exceso podría provenir de fuentes antropogénicas (Vitousek et al., 1997; Kendall et al., 2001) por lo que en la península de Yucatán hay una gran posibilidad de que la abundancia de nitrato provenga de la aplicación de fertilizantes, así como de las áreas ganaderas, e incluso, de desechos residuales provenientes de las zonas urbanas (Altabet, 1988; Lehmann et al., 2004). La variación de los isotopos de $\delta^{15}\text{N}$ depende de la fuente de contaminación; así, se pueden obtener valores de -2‰ a 4‰ (partes por mil) en nitrógeno provenientes de fertilizantes sintéticos que se crean a partir del nitrógeno atmosférico por el método de Haber-Bosch (Ribeiro, 2013) y

de 10‰ a 20‰ para N proveniente de excretas animales y humanas (Heaton, 1986; Kendall et al., 2001; Ruiz-Fernández et al., 2002; Lehmann et al., 2004; Cole et al., 2004; Arcega et al., 2021). Por esta razón, el $\delta^{15}\text{N}$ es apropiado para determinar el N antropogénico que causa la eutrofización cultural (McClelland et al., 1997; Ke et al., 2017). En cuerpos oligotróficos de zonas sin gran influencia de actividades agropecuarias, los valores de $\delta^{15}\text{N}$ deberían estar cercanos o menores a 10‰, acercándose a valores de 0‰ debido a que la principal fuente de N provendría de la fijación de N_2 atmosférico (Kendall et al., 2001).

Se ha observado en distintos estudios que las actividades antropogénicas son altamente influyentes en las variaciones de la composición isotópica del N en aguas continentales, por ejemplo, Kendall et al. (2001), reportaron valores de -15‰ a 14 ‰ de $\delta^{15}\text{N}$ en ríos de Estados Unidos, en los cuales se observó que la MOP estaba fuertemente dominada por el fitoplancton. Xu et al. (2019), obtuvieron valores de -11.67 a -3.03‰ de $\delta^{15}\text{N}$ en MOP del lago Taihu en China, las algas fueron la principal fuente de MOP durante las floraciones algales, sin embargo, no fueron la única fuente, ya que la escorrentía arrastraba material orgánico que se concentraba en distintas partes del lago. De igual forma, Karr et al. (2001), mostraron datos de $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ de 15.3‰ a 15.4‰ en MOP de una cuenca de captación de una llanura en Carolina del Norte con conexión con aguas subterráneas en la que se descargan residuos porcinos.

En la península de Yucatán no existen datos de $\delta^{15}\text{N}$ en MOP de los cuerpos de agua, por lo que los únicos datos isotópicos que se conocen pertenecen a $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ en muestras de agua de pozos y de cenotes. Arcega et al. (2021), obtuvieron valores isotópicos en dos temporadas contrastantes (secas y lluvias) de cenotes ubicados en la zona noreste de Yucatán utilizados para turismo, abastecimiento humano, ganadero, como basurero o con ningún uso. Sus datos oscilaron de 7.7‰ a 18.7‰ en temporada de secas, y de 5.7‰ a 20.7‰ en temporada de lluvias. Se observó que 19 cenotes de la temporada de secas y 15 de la temporada de lluvias tienen valores mayores a 10‰, por lo que se sugiere que hay contaminación proveniente de desechos animales o humanos (Tabla 3). Smith et al. (2020), también obtuvieron datos isotópicos con los que demostraron que la estacionalidad influye en la composición química del agua, al igual que la actividad agrícola y ganadera. Según estos autores, los datos reflejan claramente la influencia de estiércol en la zona agrícola ya que se obtuvieron valores de 7.5‰ a 17‰, mientras que los datos de la zona no agrícola sugieren la presencia de nitratos de fuentes naturales o desechos ganaderos ya que se obtuvieron valores de 5‰ a 15‰.

1.5. Eutrofización

La eutrofización es un desequilibrio de la actividad primaria originada por la entrada excesiva de nutrientes limitantes, que propician el aumento de la biomasa de los productores primarios que incrementan el carbono orgánico del sistema acuático (Vásquez et al., 2006). La eutrofización ocurre de forma natural a medida que el cuerpo de agua envejece (Chislock et al., 2013). Sin embargo, la contaminación de los cuerpos de agua causada por la entrada continua de nutrientes limitantes (nitrógeno y fósforo) provenientes de fuentes puntuales y no puntuales han acelerado el proceso (Carpenter et al., 1998). Los humanos tienen gran influencia en los cambios del ciclo de nutrientes y la contaminación de los cuerpos acuáticos, como consecuencia del aumento demográfico y la producción de alimentos que ocasionan aumento de las descargas de agua residual y el uso continuo de fertilizantes (Gilbert et al., 2005). La aplicación de fertilizantes sintéticos y orgánicos (estiércol) en tierras de cultivo, generan acumulación en el suelo, para después ser arrastrados por la escorrentía hacia los cuerpos de agua, produciéndose en casos críticos eutrofización de los sistemas acuáticos. Este tipo de eutrofización es conocida como eutrofización cultural, ya que es potenciada por actividad antropogénica (Smith y Schindler, 2009; Howarth et., 2002). Nutrientes como el N y P son de gran importancia cuando se habla de eutrofización, aunque el N ha sido de mayor interés por su procedencia relacionada con los fertilizantes, que es mayor que la del P (Glibert & Speitzinger, 2005). A nivel mundial se conoce que la eutrofización es el problema que más contribuye al florecimiento de algas tóxicas y a la afectación de la biota por el aumento por la disminución de oxígeno disuelto (Anderson et al., 2002; Smith & Schindler, 2009).

Ocurren dos situaciones en un cuerpo de agua eutrofizado: 1) requiere mayor cantidad de oxígeno para descomponer la materia orgánica, 2) ocurre un crecimiento de la población de productores primarios (fitoplancton, macroalgas y pastos marinos; Chapa y Guerrero, 2010). Los cuerpos de agua oligotróficos contienen aproximadamente de 250 a 600 $\mu\text{g L}^{-1}$ de N y la producción primaria es de entre 50 $\text{g C m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ y 300 $\text{g C m}^{-2} \text{ día}^{-1}$. En los cuerpos de agua que son moderadamente eutróficos se ha observado que el contenido de nitrógeno es de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ a 1110 $\mu\text{g L}^{-1}$ pero si se le agregan grandes cantidades de nitrógeno y fósforo, las cantidades de carbono han sido de un poco más de 1.0 $\text{g de carbono m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ (Likens et al., 1977; Fareed & Abid, 2005).

El crecimiento masivo de algas provoca una gran cantidad de materia orgánica disuelta y particulada que genera la disminución del oxígeno disuelto en las capas subsuperficiales como resultado de la descomposición de por bacterias que se produce al terminar su ciclo de vida. Esto puede resultar en la formación de zonas hipóxicas o anóxicas.

Para saber la clasificación el estado trófico de los cuerpos de agua continentales, existen índices como el propuesto por Carlson (1977), que se conoce como Índice del Estado Trófico (TSI), en el que la transparencia medida con el disco de Secchi, la concentración de fósforo total (PT) y la concentración de la clorofila-a se consideran variables de interés para poder clasificarlo.

En la Península de Yucatán hay pocos reportes sobre estado de eutrofización de los cuerpos de agua. Moscoso (2019) determinó clorofila-a y estableció el estado trófico de cenotes de Yucatán, con ayuda del índice de Carlson, en los que obtuvo cenotes ultra oligotróficos, oligotróficos, hipereutróficos, eutróficos y mesotróficos, en los que la estacionalidad y la actividad económica llevada a cabo en ciertas zonas provocaron un de cambio, es decir de cenotes oligotróficos pasaron a ser mesotróficos por acción de la temporada de lluvia y secas, algunos otros pasaron de ser eutróficos a hipereutróficos en temporada de lluvias. Por último, algunos otros estudios con base en la concentración de clorofila-a establecieron cenotes de la región en estado mesotrófico con una concentración de $3 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ a $20 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (Villafañe et al., 2015).

Tabla 2. Datos de $\delta^{15}\text{N}$ en la MOP de aguas continentales a nivel mundial y otros datos de importancia.

País	Tipo de cuerpo de agua	Chl-a ($\mu\text{g/L}$)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	NH_4 ($\mu\text{mol/L}$)	NO_3 ($\mu\text{mol/L}$)	Referencia
USA	Continental (Río)		-15 a 14			(Kendall et al., 2001).
China	Estuario		-4 a -2	540	50	(Liu et al., 2007).
China	Continental (Río)			0.6 - 8.3		(Lu et al., 2021)
China	Continental (lago)	16.10 - 193.16	-11.67 a - 3.03			(Xu, et al., 2019).
USA	Continental (Laguna)		14.4	243 - 248		(Karr et al., 2001).
USA	Pozo		16.7		28.6	Karr et al., 2001).
Escocia	Continental (lago)		0.2 - 4			(Thornton & McManus, 1994).
Escocia	Continental (lago)		1.3 - 2.7			(Thornton & McManus, 1994).
Escocia	Estuario		0.54 - 5.37			(Thornton & McManus, 1994).
Israel	Continental (lago)		0.3 - 16.5			(Hadas et al., 2009).
Virginia, USA	Continental (Río)	0.5 - 25	5.5 - 10.2			(Hoffman & Bronk, 2006)

Tabla 3. Datos de concentraciones de las especies químicas de N y de la composición isotópica $\delta^{15}\text{N}$ en muestras de agua de cuerpos acuáticos de Yucatán.

Tipo de cuerpo de agua	Uso	Chl-a ($\mu\text{mol-L}^{-1}$)			NT ($\mu\text{mol-L}^{-1}$)	N _{org} ($\mu\text{mol-L}^{-1}$)	$\delta^{15}\text{N-NO}_3$ (‰)	Nitrato ($\mu\text{mol-L}^{-1}$)	Referencia
		Nortes	Secas	Lluvias					
Cenote	Turístico	0 - 1.0	0.014 - 7.92	0.03 - 0.77	183.85 - 271.43	10.55 - 42.64	7.0 - 20.7	74.5 a 793	(Moscoso, 2019); (Arcega et al., 2021)
Cenote	Ganadero	8.19 - 13.88	8.31 - 8.97	38.91 - 48.40	28.93 - 45.38	63.3 - 74.97	9.5 - 10.8	0.93 a 45.38	(Moscoso, 2019); (Arcega et al., 2021)
Cenote	Abastecimiento humano	2					5.7 - 12.6	2.6 a 373.5	(Moscoso, 2019); (Arcega et al., 2021)
Cenote	Agrícola	2.445			251.7	12.7	7.7 - 17.0	239	(Moscoso, 2019); (Arcega et al., 2021); (Carrillo Jovel, 2019)
Cenote	Sin uso				1.61 - 23.17	40.44 - 174.85	7.8 - 18.7	1.3 - 778.7	(Smith et al., 2020); (Pacheco et al., 2001)
Cenote	Basurero						14.0 - 16.1	0.061 - 5.1	(Arcega et al., 2021)
Cenote	No especificado							0.061 - 403.94	(Carrillo Jovel, 2019)
Pozo	No especificado							1000 - 155500	(Pacheco et al., 2001)

JUSTIFICACIÓN

La contaminación antropogénica derivada de distintas actividades como la agropecuaria o la turística es una de las principales causas de aporte de nutrientes a los ecosistemas acuáticos, que contribuyen a la eutrofización de los cuerpos de agua dulce a nivel global. En la península de Yucatán, los estudios sobre el impacto de estas actividades mediante el uso de isótopos estables son escasos, por lo que es esencial conocer el efecto de las fuentes de nitrógeno provenientes de estas actividades. De esta forma se podrían proponer soluciones para llevar a cabo una mejor gestión de estas actividades y evitar seguir afectando los ecosistemas acuáticos.

HIPÓTESIS

La composición isotópica del $\delta^{15}\text{N}$ en la materia orgánica particulada (MOP) será mayor en cuerpos de agua en los que predominen las actividades ganaderas y agrícolas que en aquellos que tienen uso turístico.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la composición isotópica del $\delta^{15}\text{N}$ en la materia orgánica particulada (MOP) presente en cuerpos de agua con un uso de suelo agropecuario y turístico en el estado de Yucatán.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las concentraciones de nitrógeno y fósforo total en los cuerpos de agua estudiados.
- Determinar el estado trófico de estos sistemas acuáticos basado la concentración de clorofila- *a*.
- Medir la composición isotópica de la MOP en los cuerpos de agua estudiados.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Descripción del área de estudio

La península de Yucatán, al ser una placa de rocas de origen calcáreo (Schmitter-Soto et al., 2002) tiene una gran red de cenotes, aguadas y cuevas subterráneas que se han formado por las fracturas y disolución de la roca (Barba-Meinecke et al., 2022). Estos cuerpos de agua están distribuidos a lo largo de toda la península de Yucatán y se encuentran dentro de áreas con diferente uso de suelo.

Yucatán tiene un clima tropical del tipo cálido subhúmedo con una temporalidad más lluviosa en el verano y un gradiente climático de mayor sequía en el sur y lluvias todo el año en la parte norte del estado (García, 2004). Su temperatura media es de 26 °C con una mínima diferencia de temperatura en invierno de aproximadamente 20° C (Vidal-Zepeda, 2005; INEGI, 2022)

Los sitios de estudio se distribuyeron entre el centro y oriente del estado de Yucatán (Figura 3) en la parte norte se encuentran en los municipios de Tizimín, Dzilam y Buctzotz, en la parte centro el municipio de Izamal y en el sureste X-Kanchacán; por último, en el noroeste el municipio de Kinchil. Una de las características principales de estos cuerpos de agua es que al estar ubicados en núcleos en donde se desarrollan actividades agropecuarias y turísticas, y en algunos casos para abastecimiento humano.

Los sitios ubicados en Tizimín tienen principalmente un uso de suelo mayormente agrícola, aunque cuenta con zonas que tienen un uso de suelo mixto (ganadero y agrícola). Los cuerpos de agua ubicados en los municipios de Buctzotz, Izamal y Dzilam tienen un uso de suelo en su mayoría mixto (ganadero/ agrícola). Los cenotes ubicados en Telchaquillo, Tunkás, Pixyah, Tekit, Tecoh y Cenotillo tienen principalmente un uso turístico.

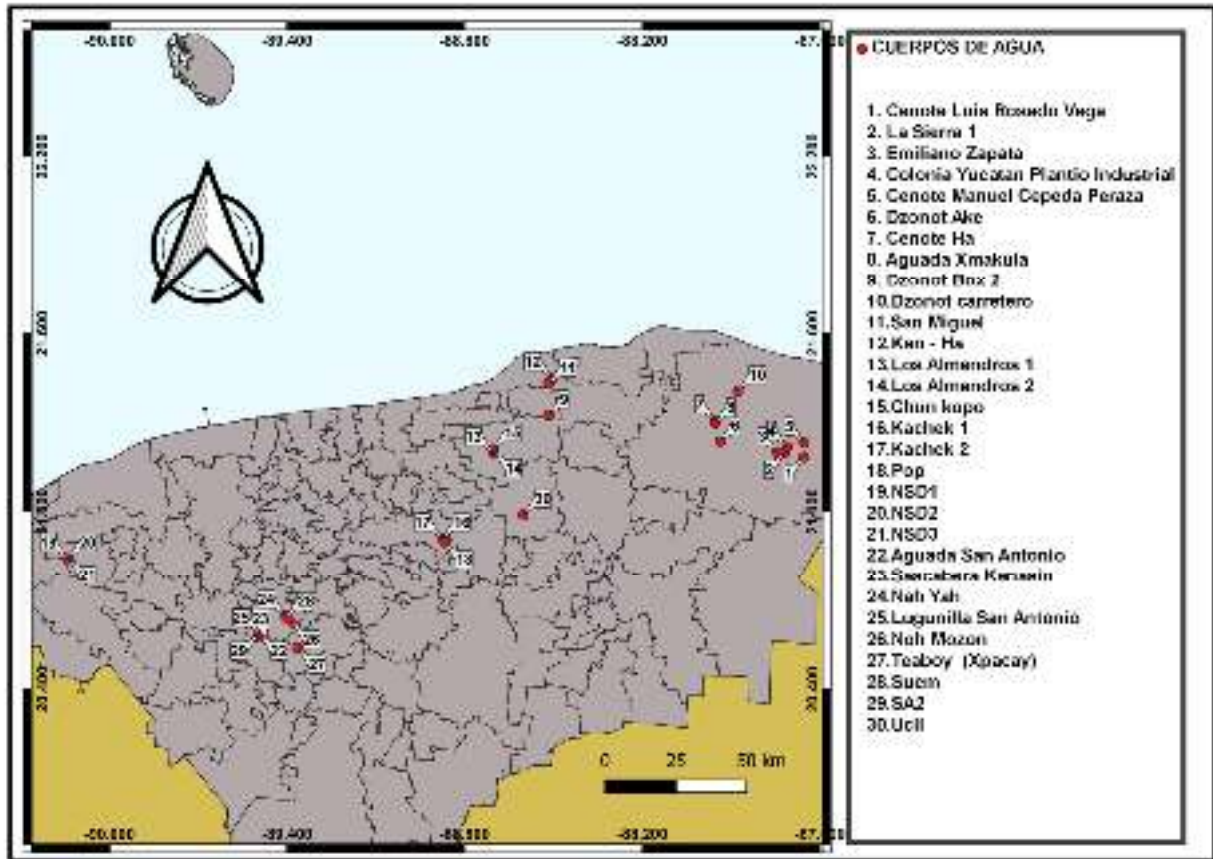


Figura 3. Mapa de los sitios de estudio.

Tabla 4. Coordenadas de localización de los cuerpos de agua

Nombre	Clave	Tipo	Uso	Latitud	Longitud	Entrada de Luz	Profundidad (m)
Xpakay	TBY	Cenote	TUR	20°54'21.802" N	88°53'1.902" O	Baja	12
Nah Yah	NYH	Cenote	TUR	21°12'38.5" N	88°42'15.5" O	Baja	27
Ucil	UCL	Cenote	TUR	20°59'16.307" N	88°36'7.419" O	Baja	95.8
Cenote LRV	LRV	Cenote	URB	21°11'03.6" N	87°39'11.5" O	Baja	ND
Noh Mozon	NHMZ	Cenote	TUR	20°54'33.03" N	88°52'32" O	Baja	16.3
Dzonot Aké	DZAK	Cenote	TUR	21°14'10.8" N	87°56'17.8" O	Media	ND
Emiliano Zapata 2	EMZ	Cenote	AP	21°27'2.82" N	88°30'15.419" O	Alta	ND
Dzonot Carretero	DZCR	Cenote	URB	21°24'24.2" N	87°52'38.3" O	Alta	ND
Los Almendros 1	ALM1	Aguada	AP	21°11'55.4" N	88°42'15.009" O	Alta	ND
Lagunilla San Antonio	LSA	Aguada	AP	21°19'28.6" N	87°54'34.4" O	Alta	ND
Suem	SEM	Cenote	TUR	20°53'42.85" N	88°52'3.179" O	Alta	48
Kachek 1	KCK1	Aguada	AP	20°54'33.03" N	88°52'32" O	Alta	ND
Sascabera Kanasín	SKN	Sascab	URB	20°59'16.307" N	88°36'7.419" O	Alta	ND
SA2	SA2	Aguada	AP	21°25'47.64" N	88°30'57.78" O	Alta	ND
Pop	PP	Aguada	ND	20°53'42.85" N	88°52'3.179" O	Alta	ND
Colonia Yucatán	CYPI	Sascab	AP	21°13'6.80" N	87°42'39.7" O	Alta	8
Dzonot Box 2	DZBX	Cenote	URB	21°19'28.6" N	87°54'34.4" O	Media	ND
CMZ Peraza	CMZP	Cenote	URB	21°13'55.2" N	87°39'11.9" O	Media	ND
Aguada Xmakulay	AXM	Aguada	AP	21°17'53.9" N	88°57'12.6" O	Alta	ND
Chun-Kopó	CKP	Aguada	AP	21°12'38.5" N	88°42'15.5" O	Alta	ND
Cenote Ha	CHA	Cenote	AP	21°18'28.4" N	87°57'13.7" O	Alta	ND
NSD2	NSD2	Sascab	ND	21°19'28.6" N	87°54'34.4" O	Alta	ND
San Miguel	SM	Cenote	AP	21°25'47.64" N	88°30'57.78" O	Alta	28.8
NSD3	NSD3	Sascab	ND	21°25'47.64" N	88°30'57.78" O	Alta	ND
La Sierra	SRR	Cenote	URB	21°11'49.7" N	87°43'8.3" O	Alta	ND
Kachek 2	KCK2	Aguada	AP	20°54'32.8" N	87°52'33.899" O	Alta	ND
Los Almendros 2	ALM2	Aguada	AP	21°12'11.1" N	88°42'4.7" O	Alta	ND
Aguada San Antonio	ASA	Aguada	AP	21°12'6.80" N	87°42'39.7" O	Alta	ND
NSD1	NSD1	Sascab	ND	21°12'11.1" N	88°42'4.7" O	Alta	ND
Kan-Há	KHA	Aguada	AP	21°27'2.82" N	88°30'15.419" O	Alta	ND

ND=No determinado, URB=Urbano, AP=Agropecuario, TUR= Turístico

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Estrategia de muestreo

Se llevó a cabo un solo muestreo en 30 cuerpos de agua del estado de Yucatán, entre los meses de mayo y junio. Se tomaron muestras en los 30 cuerpos acuáticos distribuidos en toda la península de Yucatán para determinación de nutrientes, clorofila-a y la composición isotópica del $\delta^{15}\text{N}$ en la materia orgánica particulada (MOP). De igual forma se midieron *in situ* parámetros de caracterización como oxígeno disuelto ($\text{mg O}_2/\text{l}$), temperatura ($^\circ\text{C}$), potencial de hidrogeno y conductividad eléctrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$).

Tabla 5. Muestras obtenidas por cada fecha de muestreo.

Fechas de muestreo	Número de cuerpos de agua	Muestras de $\delta^{15}\text{N}$	Muestras de clorofila-a	Muestras de nutrientes inorgánicos	Muestras de N_T y P_T
17/05/22	10	10	10	10	10
1/06/22 2/ 06/22	11	11	11	11	11
9/06/22	11	11	11	11	11

N_T = Nitrógeno Total, P_T = Fósforo total, $\delta^{15}\text{N}$ = Isotopo de nitrógeno

2.2.2. Caracterización de los cuerpos de agua

Para la caracterización hidrológica se hicieron mediciones *in situ* utilizando una sonda multiparamétrica para obtener datos de temperatura, conductividad eléctrica y pH.

2.2.3. Determinación de la concentración de nutrientes

Para la determinación de nitrógeno total (NT) y fósforo total (PT) se oxidó todo el contenido de nitrógeno de las muestras a NO_3^- y PO_4^{3-} . Para ello, se preparó un reactivo de oxidación (RO), en el que disolvieron 50 gr de persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) y 30 g de ácido bórico (H_3BO_3) en 350 ml de hidróxido de sodio 1 M, luego se aforó a 1 L con agua desionizada. Se tomaron 30 ml de agua de cada sitio. Estas muestras no se filtraron y fueron colocadas en viales color ámbar a los que se les añadieron *in situ* 4 ml del reactivo de oxidación preparado previamente. Después en el laboratorio se realizó una digestión en una autoclave All American 25x -1 a 80°C durante 30 minutos, para completar la oxidación de los nutrientes y posteriormente se conservaron en congelación hasta su análisis.

La determinación de nutrientes oxidados como NO_3^- y fósforo reactivo soluble (FRS) está basada en las técnicas colorimétricas de Grasshoff et al., (1981). El equipo analítico utilizado fue un autoanalizador de nutrientes de flujo segmentado de marca SKALAR.

Previo a las determinaciones, el equipo fue calibrado mediante una curva de calibración de estándares de concentración conocida. Después de la calibración del equipo se usó una dilución de 1:9 para los sistemas eutróficos y una dilución de 4:6 para los considerados oligotróficos. Estas diluciones se realizaron porque las muestras, incluso las provenientes de los sistemas oligotróficos, presentan concentraciones elevadas de nitratos. Las muestras fueron corridas por duplicado. Después de la obtención de los resultados se realizó una corrección de la concentración real mediante el factor de dilución. Las concentraciones se expresaron en $\mu\text{mol/L}$.

2.2.4. Clorofila-a

Para la determinación de clorofila se colectaron muestras de agua en botellas color ámbar de 1 L. Cada muestra fue filtrada mediante una bomba de vacío conectada a un tubo múltiple de tres torres de filtración a las cuales se les colocaron filtros GF/F (0.7 μm tamaño de poro). Después de filtrar cada muestra los filtros se doblaron a la mitad y se colocaron en papel aluminio, para ser conservados en nitrógeno líquido hasta su análisis.

La extracción de la clorofila se realizó colocando los filtros en tubos de microcentrífuga de 2 ml de capacidad a los que se les añadieron perlas de silicato de zirconio de 0.5 mm y 1 ml de acetona al 90%. Después, se agitó con un agitador BioSpec 3110BX mini-BeadBeater por 20 segundos a 300 RPM (repeticiones por minuto) y se dejó enfriar para evitar la degradación del pigmento. Este paso se repitió dos veces. Una vez concluido, los viales con el extracto permanecieron -20°C durante 12 h.

Después de ese periodo, las muestras se centrifugaron a 4°C a 3,000 rpm por cinco minutos en una centrífuga refrigerada. Al terminar, se retiró el sobrenadante evitando remover fibras del filtro. Al extracto de 1 ml se le agregaron 2 ml de acetona al 90% para tener un volumen final de 3 ml. Los análisis de clorofila se realizaron mediante fluorescencia en un fluorómetro Trilogy marca Turner Designs. La concentración final se obtuvo con la información del volumen filtrado en la toma de muestras en campo y volumen de extracción correspondientes a cada muestra que se realizó en el laboratorio.

2.2.5. Determinación del Índice de Estado Trófico

El índice de estado trófico de los cuerpos de agua estudiados se determinó mediante el TSI de Carlson (1977). Por lo que se hizo uso de los valores de las concentraciones de Clorofila (Chl-a) y fósforo total (P_T).

Tabla 6. Categorías de estado trófico propuesto por Kratzer y Brezonik con base en el TSI de Carlson (1977).

Estado Trófico	Valor TSI
Ultraoligotrófico	0-29
Oligotrófico	30-44
Mesotrófico	45-52
Eutrófico	53-69
Hipereutrófico	70-100

$$TSI_{chl\ a} = 10\left(6 - \frac{2.04(\ln[chl\ a])}{\ln 2}\right)$$

El índice arroja valores de 0 a 10, en donde la concentración de Chl-a se expresa en $mg \cdot m^{-3}$. De igual forma se utilizó la escala usada por Kratzer y Brezonik (1981; Tabla 6).

2.2.6 Isótopos de $\delta^{15}N$

Para el análisis isotópico se tomaron muestras en contenedores de 2 a 5 L dependiendo del estado trófico aparente (color del cuerpo de agua). Para cenotes oligotróficos se colectó un mayor volumen. Las muestras se mantuvieron en refrigeración hasta su llegada al laboratorio donde fueron filtradas a través de filtros GF/F de $0.47\ \mu m$ de tamaño de poro. Previamente, estos filtros fueron pre-combustionados en una mufla a $450\ ^\circ C$ por 2 horas tras lo cual fueron colocados en papel aluminio, transferidos en un desecador para mantener el peso constante. Los filtros conteniendo la MOP se almacenaron en papel aluminio para congelarlos en nitrógeno líquido hasta su uso. Para el análisis isotópico de ^{15}N , las muestras fueron colocadas de forma individual en cajas Petri de 60 mm x 15 mm.

Se tomaron los filtros y se rasparon con la espátula de acero inoxidable para remover la capa superior del filtro que contenía la muestra. Esta fue encapsulada en capsulas de estaño (10 mm x 10 mm). Luego, las capsulas ya cerradas se colocaron verticalmente en el papel aluminio, se pellizcó el borde superior e inferior con las pinzas de acero inoxidable para sacar el aire de la

capsula y luego se dobló hasta obtener un pequeño cilindro, sin puntas y que tenga un buen tamaño para entrar en los pocillos de la placa de microtitulación.

Las charolas con las muestras se etiquetaron y fueron selladas para su análisis en el laboratorio de isótopos estables del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California). Se utilizaron cuatro estándares para determinar la composición isotópica de $\delta^{15}\text{N}$, dos internacionales que fueron el ácido L-glutámico (USGS-40) y sacarosa (IAEA N-2) y 1 interno LANUGO y sulfanilamida (tabla 7), para realizar la curva de calibración, los cuales se pesaron en las cantidades requeridas que maneja el laboratorio de isótopos estables del CICESE. Las capsulas de estaño (3.3 mm x 5 mm) se empaquetaron y se reservaron en una placa de microtitulación estéril con pocillos para su posterior uso en el análisis de las muestras. Las muestras fueron introducidas en el autoanalizador Elemental Combustion System de Costech Instruments acoplado a un espectrómetro de masas (IRMS) Delta V Advantage de Thermo Scientific para combustionar las muestras a una temperatura de 900 °C.

Tabla 7. Estándares isotópicos utilizados en el Espectrómetro de masas

Estándar	NL/INO	Valor isotópico	Precisión
USGS-40	INL	-4.52	0.06
IAEA N-2	INL	20.3	0.06
LANUGO	INO	19.01	0.06

INL= Internacional, INO= Interno.

CAPITULO 3

Resultados y Discusión

3.1. Resultados.

Los resultados de la caracterización hidrológica que corresponden a 30 cuerpos de agua del estado de Yucatán se presentan en la Tabla 7.

Tabla 8. Resultados generales de los parámetros cuantificados en los cuerpos de agua estudiados.

Nombre	Clave	Tipo	TSI	TSI _{chl a}	Uso	Chl a (µg/L)	NT (µmol/L)	PT (µmol/L)	δ ¹⁵ N MOP (‰)	pH	CE (µS/cm)	Temp. (° C)	OD (mg/L)
Xpakay	TBY	C	UO	0	Tur	0.02	212.50	2.62	12.99	7.04	1079.00	27.75	3.95
Nah-Yah	NYH	C	UO	0	Tur	0.03	123.24	2.47	7.73	7.21	1397.00	27.90	4.15
Ucil	UCL	C	UO	0	Tur	0.04	289.17	2.38	5.39	6.73	1557.00	26.30	5.00
Cenote LRV	LRV	C	UO	10.11	Urb	0.12	70.25	3.47	4.20	7.03	710.00	24.20	3.45
Noh-Mozon	NHMZ	C	UO	27.47	Tur	0.73	187.55	2.43	7.80	7.29	1074.00	27.80	4.60
Dzonot Aké	DZAK	C	UO	29.80	Tur	0.92	232.41	2.90	8.69	7.02	1276.00	27.00	3.90
Emiliano Zapata 2	EMZ	C	ME	46.44	AP	5.04	32.21	2.62	4.03	7.52	480.00	27.00	1.65
Dzonot Carretero	DZCR	C	ME	46.99	Urb	5.33	85.43	1.81	2.45	8.02	5720.00	29.20	5.05
Los Almendros 1	ALM1	A	ME	48.11	AP	5.98	32.37	2.47	0.71	8.24	1075.00	29.60	6.70
San Antonio (Lag)	LSA	A	ME	49.83	AP	7.12	63.73	3.19	1.75	8.75	1808.00	36.00	4.45
Suem	SEM	C	ME	50.41	Tur	7.56	207.81	2.71	3.49	7.61	884.00	27.80	5.00
Kachek 1	KCK1	A	ME	51.25	AP	8.24	22.54	1.48	1.28	8.07	899.50	25.70	4.25
Sasc. Kanasín	SKN	S	EU	57.43	Urb	15.45	82.60	4.38	6.21	9.20	1275.00	31.30	8.35
SA2	SA2	A	EU	57.88	AP	16.18	137.41	3.95	4.63	8.96	1025.00	33.80	8.00
Pop	PP	A	EU	58.42	ND	17.10	12.66	4.47	7.70	8.48	886.00	26.30	7.50
Colonia Yucatán	CYPI	S	EU	59.06	AP	18.25	61.70	2.57	5.66	8.68	339.00	28.20	7.55
Dzonot Box 2	DZBX	C	EU	60.85	Urb	21.90	61.53	3.24	9.00	7.52	1411.00	27.00	2.25
CMZ Peraza	CMZP	C	EU	62.57	Urb	26.11	485.45	2.86	9.04	6.92	785.00	26.60	3.33
Ag. Xmakulay	AXM	A	EU	64.58	AP	32.02	69.78	3.03	6.62	7.70	774.00	27.00	4.35
Chun-Kopó	CKP	A	EU	64.75	AP	32.60	50.23	2.71	4.48	8.24	117.00	26.60	5.45
Cenote Ha	CHA	C	EU	64.84	AP	32.90	200.58	2.63	10.14	8.06	1752.00	27.30	4.10
NSD2	NSD2	S	EU	65.97	ND	36.90	94.47	2.28	8.68	7.84	1457.50	28.15	6.40
San Miguel	SM	C	EU	66.48	AP	38.90	66.27	1.09	14.96	8.48	1369.00	26.50	5.25
NSD3	NSD3	S	EU	69.03	ND	50.40	24.80	2.47	6.72	7.70	2230.00	29.55	5.30
La Sierra	SRR	C	EU	72.32	Urb	52.18	119.44	3.57	10.81	8.08	655.00	24.80	8.10
Kachek 2	KCK2	A	HE	77.49	AP	70.54	129.05	3.38	3.82	8.91	752.50	25.70	9.00
Los Almendros 2	ALM2	A	HE	77.28	AP	116.96	167.41	4.43	9.02	8.96	719.50	30.10	7.70
Ag. San Antonio	ASA	A	HE	79.86	AP	152.03	137.24	6.42	6.62	8.89	1753.00	33.70	2.40
NSD1	NSD1	S	HE	81.22	ND	174.70	21.87	4.24	5.49	8.11	2270.00	28.85	6.80
Kan-Há	KHA	A	HE	89.28	AP	397.40	376.06	2.46	12.80	9.44	886.00	26.85	4.65

3.1.1. Temperatura

Los valores de temperatura no fueron tan variables en los sitios de estudio, la media fue de 28.15 °C. El valor mínimo de 24.0 °C se obtuvo en el cenote Luis Rosado Vega que es un sitio ultraoligotrófico de uso urbano, mientras que el valor máximo se presentó en la aguada mesotrófica Lagunilla San Antonio con 36.0 °C. Entre los tres grupos estudiados no se

encontraron diferencias significativas ($p=0.607$) (figura 4A). Los valores de temperatura no fueron tan variables en los sitios de estudio, la media fue de 28.15 °C. El valor mínimo de 24.0 °C se obtuvo en el cenote Luis Rosado Vega que es un sitio ultraoligotrófico de uso urbano, mientras que el valor máximo se presentó en la aguada mesotrófica Lagunilla San Antonio con 36.0 °C. Entre los tres grupos estudiados no se encontraron diferencias significativas ($p=0.607$) (figura 4A).

3.1.2. pH

En los datos obtenidos de pH de los sitios de estudio la mayoría se mantuvo entre 7 y 8. El valor mínimo correspondió a Ucil que es un cenote con actividad turística con 6.73. El valor máximo fue de 9.44 y se encontró en Kan- Ha, una aguada hipereutrónica ubicada en un sitio con contaminación puntual por actividades agropecuarias. Se encontraron diferencias significativas ($p<0.01$) entre los grupos de cenotes turísticos y urbanos (figura 4B).

3.1.3. Oxígeno disuelto (OD)

El valor promedio de oxígeno disuelto fue de 5.28 mg/L. En el cenote Emiliano Zapata se encontró el valor más bajo (1.65 mg/L), el cual es un cenote mesotrófico que tiene un uso agropecuario, en donde además se apreciaba a simple vista que tenía mucha materia orgánica en descomposición y excretas de ganado muy cercanas al cuerpo de agua. El valor máximo fue de 9.0 mg/L fue en la aguada Kachek 2 que es hipereutrónica donde el uso de suelo es principalmente ganadero. No se encontraron diferencias significativas ($p=0.569$) entre los tres grupos estudiados (figura 4D).

3.1.4. Conductividad Eléctrica (CE)

Los sitios de estudio presentaron variaciones de hasta un orden de magnitud entre los valores máximos y mínimos en su conductividad eléctrica. El valor promedio fue de 1280.53 $\mu\text{S}/\text{cm}$. El sitio con un valor más bajo de 339 $\mu\text{S}/\text{cm}$ fue la sascabera de la Colonia Yucatán que es eutrónica y en cuyos alrededores hay cultivos. Por otra parte, el cenote Dzonot Carretero tuvo un valor de 5720 $\mu\text{S}/\text{cm}$ es un cuerpo de agua mesotrófico con uso urbano, además se encuentra ubicado en El norte de la península, es decir, se ubica más cerca de la zona costera. De acuerdo con el análisis realizado no se encontraron diferencias significativas entre los tres grupos ($p=0.467$) (figura 4C).

3.1.5. Clorofila-a e Índice de Estado Trófico

Los sitios de estudio presentaron valores de Chl-a (figura 5A) muy heterogéneos entre sí, ya que hubo sitios con estatus de ultraoligotróficos hasta hipereutróficos con valores correspondientes de clorofila de 0.02 $\mu\text{g/L}$ y 397.40 $\mu\text{g/L}$. El valor medio de clorofila a fue de 44.78 $\mu\text{g/L}$. De los 30 cuerpos de agua, seis fueron ultraoligotróficos, donde el valor mínimo fue de 0.02 $\mu\text{g/L}$ en el cenote Xpacay, y el máximo de este mismo estado trófico fue de 0.92 $\mu\text{g/L}$, que pertenece al cenote Dzonot Aké teniendo ambos, uso turístico.

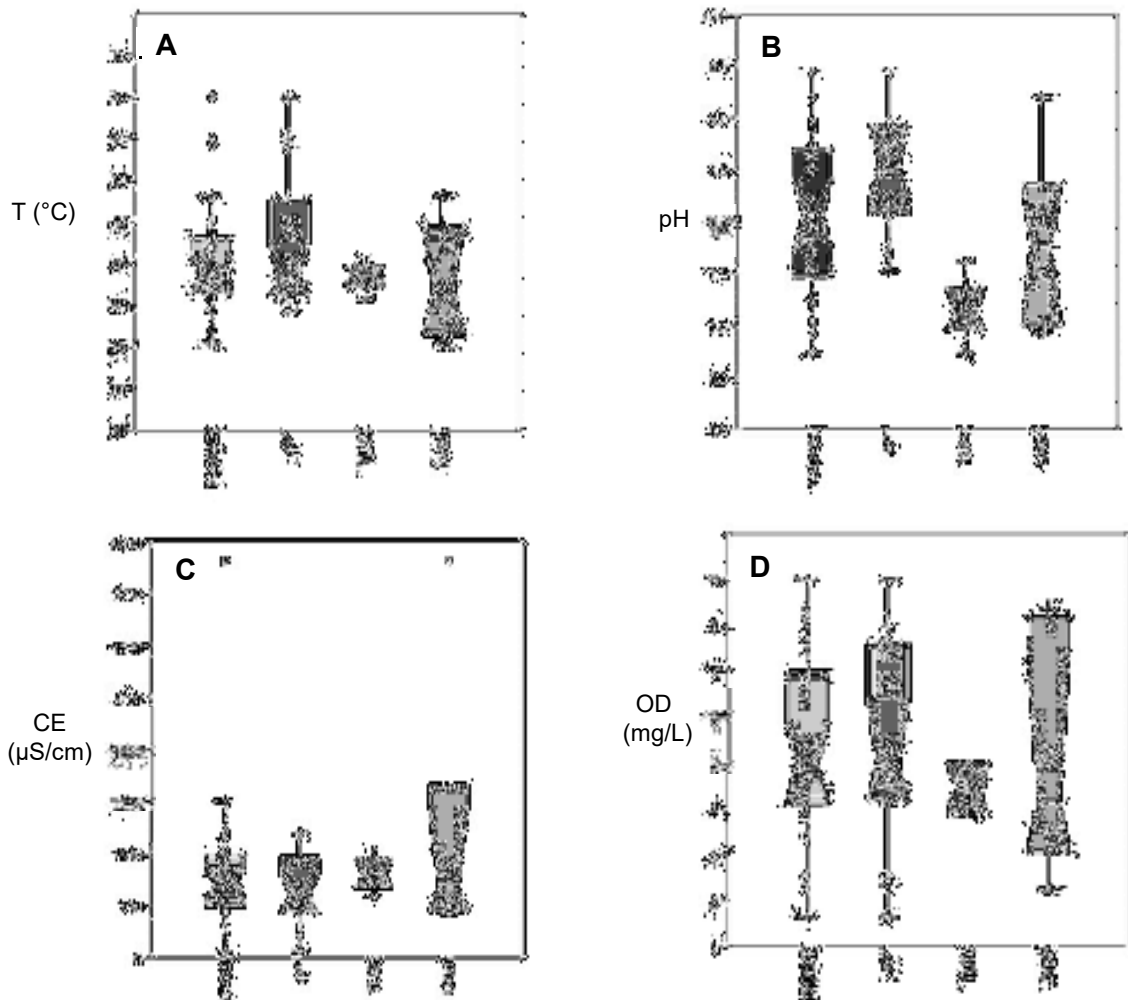


Figura 4. Variabilidad de los parámetros ambientales. **A)** Temperatura, **B)** pH, **C)** Conductividad eléctrica y **D)** Oxígeno disuelto.

Se detectaron seis sitios mesotróficos entre cenotes y aguadas, que obtuvieron un valor mínimo de 5.04 $\mu\text{g/L}$ en el cenote Emiliano Zapata, que tiene un uso agropecuario, y el máximo fue en la aguada Kachek 1, que tiene uso agropecuario, en el que se obtuvo un valor de 8.4 $\mu\text{g/L}$. Los sitios eutróficos fueron los de mayor cantidad ya que en esta condición se encontraron 13 de los 30

cuerpos de agua. Los sitios con este estado trófico abarcan cenotes, sacaberas y aguadas. El valor mínimo de los sitios eutróficos fue de 15.45 µg/L en la sacabera Kanasín, mientras que el cenote la Sierra presentó un valor máximo de 52.18 µg/L, ambos están localizados en zonas urbanas. Cinco sitios fueron hipereutróficos, la mayoría de estos sitios son aguadas, solo uno de ellos es una sacabera. El valor mínimo de este grupo fue de 70.54 µg/L y correspondió a Kachek 2 que es una aguada presente en una zona con uso de suelo ganadero, mientras que el valor máximo fue de 397.40 µg/L que corresponde Kan Ha, una aguada que tiene contaminación puntual por actividad ganadera. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos ($p < 0.01$), recayendo esta diferencia entre los grupos turísticos y agropecuarios.

3.1.6. Nitrógeno Total

El valor medio del nitrógeno total fue de 128.52 µmol/L. El estado trófico no se relacionó con la variabilidad de este parámetro. En general los valores mínimos de los cuerpos de agua UO, ME, EU e HE, fueron 70.25 µmol/L, 22.54 µmol/L, 12.66 µmol/L, 21.87 µmol/L respectivamente; mientras que los valores máximos fueron de 289.17 µmol/L, 207.81 µmol/L, 485.45 µmol/L y 174.70 µmol/L en ese mismo orden. Globalmente, la concentración mínima fue de 12.66 µmol/L correspondiente a la aguada eutrófica Pop, por el contrario, el máximo valor fue de 485.45 µmol/L, que correspondió al cenote eutrófico ubicado en la localidad de Manuel Zepeda Peraza. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) principalmente entre los grupos principalmente entre los turísticos y los urbanos (figura 6 G).

3.1.8. Fósforo Total

Los sitios de estudio mostraron valores bajos, no muy variables, de fósforo total. El valor medio fue de 3.04 µmol/L. En los sitios oligotróficos el valor mínimo fue de 2.38 µmol/L y el máximo 2.90 µmol/L. En el caso de los cuerpos de agua mesotróficos el valor mínimo fue de 1.31 µmol/L detectado en Dzonot Carretero y el máximo fue de 3.19 µmol/L perteneciente a la aguada Lagunilla San Antonio. En los sitios hipereutróficos, el valor mínimo fue 3.38 µmol/L correspondiente a la aguada Kachek 2 en el que la actividad principal circundante es ganadera, y el máximo se obtuvo en la aguada San Antonio de 6.42 µmol/L en donde también existe una actividad ganadera. No se encontraron diferencias significativas ($p = 0.199$) entre los distintos grupos (figura 6 H).

3.1.9. Composición isotópica de $\delta^{15}\text{N}$

Los valores isotópicos de los sitios estudiados fueron muy variables entre sí, de 0.71‰ a 14.96‰, sin importar su ubicación geográfica, su estado trófico o el tipo de cuerpo de agua. El valor promedio fue de 6.76‰. Los valores mínimos encontrados fueron de 0.71‰ y 1.28‰ correspondiente a las aguadas Almendros 1 y Kachek 1, ambos sitios son aguadas mesotróficas. Los valores máximos se obtuvieron en San Miguel, el cual tiene una composición $\delta^{15}\text{N}$ -MOP de 14.96‰ seguido de Xpakay con 12.99‰, aunque sus estados tróficos son muy diferentes, San Miguel es un cenote eutrófico y Xpakay, ultraoligotrófico. Asimismo, la aguada hipereutrófica Kanhá, en donde se encontró la mayor concentración de clorofila y la segunda mayor concentración de NT, obtuvo un valor alto de 12.80‰, además de estar situado dentro de un establo. No se encontraron diferencias significativas entre los 3 grupos ($p=0.644$) (figura 5B).

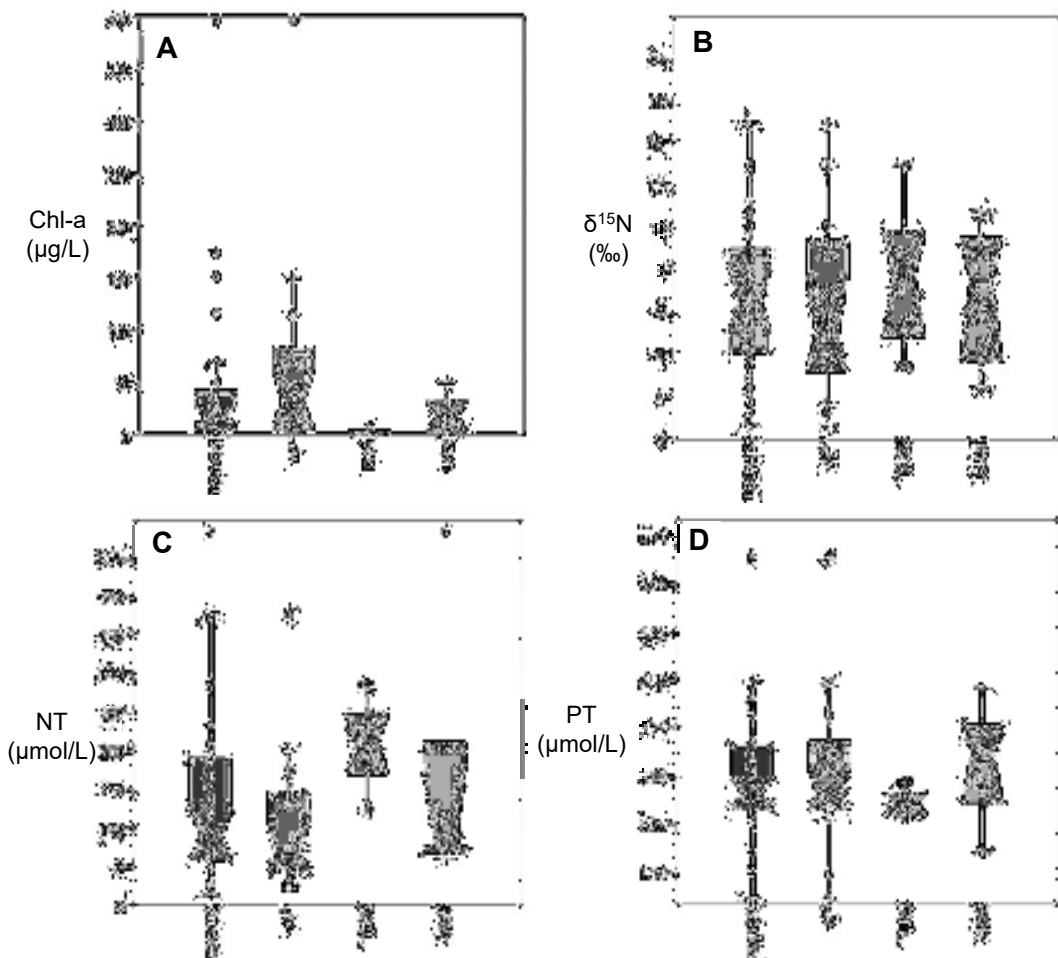


Figura 4. Gráficos de la variabilidad de A) Clorofila a, b) $\delta^{15}\text{N}$, C) Nitrógeno total, y D) Fósforo total en los sitios de estudio

7.4 Análisis de clusters

Se detectaron cuatro grupos, los cuales no se agrupan de acuerdo al uso de cuerpo de agua, sin embargo, por estado trófico, hubo una ligera asociación. En el grupo cuatro se encontraron algunos de los cuerpos de agua ultraoligotróficos, como lo son Noh Mozon (NHMZ), Dzonot Aké (DZAK) y Xpacay (TBY) que además son de uso turístico. El único del sitio que, a pesar de ser de uso turístico no es ultraoligotrófico, es Suem (SEM). No todos los cenotes ultraoligotróficos se agruparon en un solo grupo, dado que otros como Nah Yah (NYH), Luis Rosado Vega (LRVG) se integraron en los grupos 1 y 2 respectivamente. En el grupo 2 está convergieron sitios hipereutróficos y eutróficos con uso agropecuario o urbano, y un sitio ultraoligotrófico que también es urbano. Tres cuerpos de agua no se agruparon, uno de ellos, Ucil, es ultraoligotrófico, el siguiente es el cenote Manuel Cepeda Peraza (CMPZ) que es un cenote eutrófico y el último es Kan- Ha (KHA) que es considerado hipereutrófico. El grupo tres agrupa a dos cuerpos de agua eutróficos de uso agropecuario (AP).

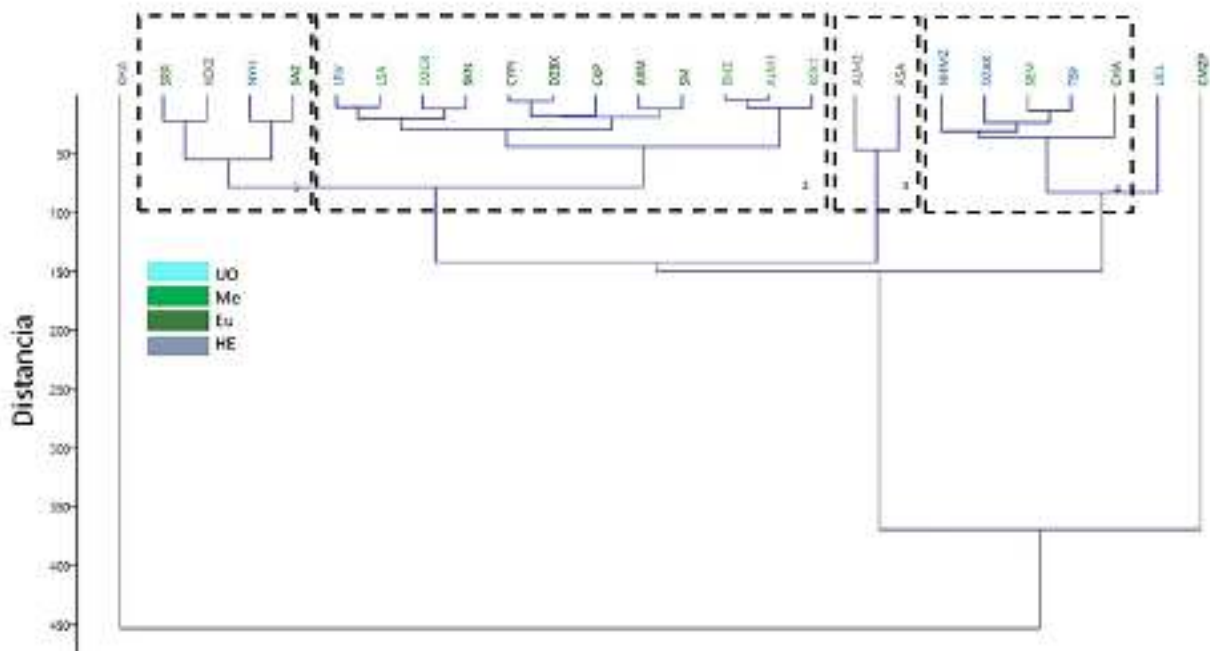


Figura 5. Cluster diagrama de similitud de los grupos de estudio.

3.2 DISCUSIÓN

3.2.1 Variables hidrológicas

A pesar de lo diverso de los cuerpos de agua, las variables hidrológicas se mantuvieron, en general, dentro de los intervalos reportados para la zona. La temperatura de los cuerpos de agua estudiados se encontró entre los 24 °C del cenote La Sierra a los 36 °C detectados en Lagunilla San Antonio. El valor máximo es superior al reportado por Schmitter-Soto et al. (2002), que fue de 33.5 °C, o los 35 °C reportados por Batllori & Canto. (2022) y Cervantes Martínez et al. (2009). En el caso de la conductividad eléctrica (CE), los sitios tampoco tuvieron una variación importante, aunque el valor máximo fue de 5720 $\mu\text{S}/\text{cm}$ correspondiente a Dzonot Carretero, un cuerpo de agua ubicado cerca de la zona costera, podría reflejar la influencia marina. El valor mínimo fue de 117 $\mu\text{S}/\text{cm}$ de la aguada Chun Kopó, lo cual es consistente con el intervalo reportado por Schmitter-Soto et al. (2002). El valor mínimo podría ser el resultado de tomar la muestra durante la temporada de lluvias, ya que Tavera et al., (2013) mencionan que la conductividad de los cuerpos de agua disminuye con la precipitación.

El pH varió de 9.44 en la aguada hipereutrónica Kan-Ha, a un valor de 6.73 detectado en el cenote ultraoligotrófico Ucil, lo cual está dentro del intervalo reportado por Schmitter-Soto et al. (2002) que va de 6.31 a 10.36. Ávila-Torres et al. (2023), reportaron un intervalo de pH de 7.04 a 9.07 siendo el valor más alto asignado a un cuerpo de agua con influencia agrícola.

El oxígeno disuelto (OD), tuvo valores variables dado que los sitios estudiados tienen diferentes características, principalmente su grado de su conectividad con el acuífero, además de su turbidez y temperatura. Sin embargo, Schmitter-Soto et al., (2002) también mencionan que los cuerpos de agua de Yucatán de forma normal suelen tener una sobresaturación superficial de oxígeno, mientras que la parte del fondo carecen de este elemento. En esta investigación, el valor máximo de oxígeno fue 9 $\text{mg O}_2 \text{ L}^{-1}$ en la aguada Kachek 2 que tiene uso agropecuario y además es hipereutrónico, por lo que su saturación de oxígeno disuelto se asocia a su alta productividad primaria, como resultado de la actividad fotosintética, siendo consistente con el valor reportado por Moscoso Alejo (2019) de 9 mg/L % que se asocia a la alta biomasa, es decir alta actividad fotosintética. El valor mínimo obtenido fue de 1.65 en el cenote mesotrófico Emiliano Zapata que tenía gran acumulación de materia orgánica en descomposición, generando una baja concentración del oxígeno disuelto como resultado de la oxidación de la materia orgánica, dado que se generan zonas bajas de oxígeno.

3.2.2. Concentración de nutrientes

En el estado de Yucatán las concentraciones de N_T fueron heterogéneas entre los distintos cuerpos de agua estudiados, los valores más elevados se detectaron en dos cenotes hipereutróficos. Uno de estos, el cenote Manuel Cepeda Peraza, presentó una concentración de $485 \mu\text{mol/L}$ el cual tenía entre sus características una capa verde de lenteja de agua y mucha vegetación circundante, lo que podría indicar que está fertilizado continuamente por descargas urbanas. El otro cuerpo de agua con alta concentración de N_T fue la aguada Kan-Ha, con $376 \mu\text{mol/L}$. Entre las características a destacar de este sitio es que presenta contaminación directa por excretas del ganado, ya que se encuentra dentro de un establo. El cenote Ucil también presentó una alta concentración de N_T ($289.17 \mu\text{mol/L}$) a pesar de que este sitio es turístico y ultraoligotrófico, está rodeado de terrenos dedicados a la agricultura, aunque también se encuentra relativamente cerca del poblado de Cenotillo, lo cual implica que podría tener flujos importantes de nitrógeno proveniente de las zonas circundantes, que podría estarse acumulando en forma de nitratos ya que prácticamente no hay productores primarios que aprovechen estos nutrientes por la limitación de la luz. Un cenote semejante a Ucil es Dzonot Aké ($232.41 \mu\text{mol/L}$) que tiene el mismo comportamiento, esto es, aledaño a la población del mismo nombre y con actividades agropecuarias en las inmediaciones de tipo ganadero y agrícola y al ser semicerrado, también presenta limitación de luz. Este lugar mantiene su estado ultraoligotrófico aunque con un alto valor de N_T . La diferencia entre los cenotes Ucil y Dzonot Aké respecto a Manuel Cepeda y Kan-Ha, puede ser la forma en que está el nitrógeno presente. Mientras que en los dos primeros la forma prevaeciente debe ser la inorgánica, como nitrato, en los hipereutróficos, es la forma orgánica, principalmente particulada. Moscoso Alejo (2019) reportó que para Ucil, solo el 5% del N se encontraba en forma orgánica, mientras que, en cenotes eutrofizados, la contribución de la fracción orgánica podría ser de hasta el 95%.

Los valores más bajos de N_T se encontraron en las sacaberas y aguadas NSD1, NDS2, NSD3 y POP con concentraciones de 21.87, 94.47, 24.80 y $12.66 \mu\text{mol/L}$, respectivamente. que son cuerpos de agua eutróficos o hipereutróficos. Aunque estos valores son bajos respecto a lo que podría esperarse para cuerpos de agua con este estado trófico, es posible que la lluvia haya tenido un efecto al favorecer la sedimentación, o migración del fitoplancton a capas subsuperficiales, lo cual supondría que una fracción importante del N orgánico no habría sido colectada. Sin embargo, habría que comprobar si la lluvia provoca una disminución del fitoplancton en superficie.

De forma general, todos los sitios estudiados tuvieron elevadas concentraciones de N_T . Las fuentes de nitrógeno en los sitios tienen distintos orígenes debido a que las actividades que se realizan de forma aledaño a los sitios estudiados, principalmente por el manejo de fertilizantes y

la contaminación puntual o difusa provenientes de los establos. Los cuerpos de agua con actividad agropecuaria tienen como fuente principal de nutrientes el estiércol que ingresa de manera directa o por arrastre.

Las elevadas cantidades de nitrógeno en cuerpos de agua ultraoligotróficos pueden interpretarse como un enriquecimiento continuo de este elemento proveniente de las actividades en la superficie. Esto implica que el nitrógeno ingresa al acuífero de forma alóctona por medio de la esorrentía. Ya en los cuerpos de agua, queda biodisponible para ser asimilado por los productores primarios, sin embargo, no cuenta con las condiciones para que este nutriente pueda ser tomado por el fitoplancton la baja cantidad de luz solar. El valor máximo de nitrógeno se obtuvo en el cenote eutrófico Manuel Zepeda Peraza que tuvo una concentración de 485.45 $\mu\text{mol/L}$ el segundo más alto fue la aguada hipereutrófica Kan Ha con 376 $\mu\text{mol/L}$ y luego Ucil con 289.17 $\mu\text{mol/L}$, lo que demuestra que, a pesar del que los cuerpos de agua presenten estados tróficos tan contrastantes, la mayoría de los sitios de presentarán elevadas cantidades de N_T . Arcega-Cabrera (2021) reportó valores de nitrato muy elevados en un cenote con actividad turística el cual tuvo un máximo de 1277.4 $\mu\text{mol/L}$ principalmente proveniente de flujos de agua contaminada con fertilizantes de origen agropecuario a pesar del su uso turístico.

Los datos de PT obtenidos en esta investigación fueron variables, el valor mínimo fue de 1.09 $\mu\text{mol/L}$ perteneciente al cenote eutrófico San Miguel y el valor máximo fue de la aguada hipereutrófica San Antonio que fue de 6.42 $\mu\text{mol/L}$, estos valores coinciden con los reportados por Arana-Ravell, (2023) quien reporta datos de 1.1 $\mu\text{mol/L}$ como valor mínimo, sin embargo, el límite superior que el reporta es mucho mayor al valor máximo de esta investigación dado que se tiene un valor máximo de 38.7 $\mu\text{mol/L}$ en la aguada Kan Ha, esta abundancia podría atribuirse la contaminación agropecuaria por lo residuos provenientes de las excretas de animales de granja, como lo reporta Moscoso-Alejo (2002), quien a pesar de tener valores cercanos a los de esta investigación son mucho menores a los reportados por otros autores como Arana-Ravell (2023) en donde se le atribuye de igual forma la variabilidad al estado trófico de los cuerpos de agua. Cupul et al. (2021) reportan que, si bien por la roca calcárea las concentraciones de cualquier especie de fósforo se ven reflejadas en los resultados, estas concentraciones son elevadas por la influencia agropecuaria de las zonas estudiadas, por lo que hay cuerpos de agua que asocian este aumento de fósforo a la aplicación de fertilizantes, estiércol o materia orgánica que proviene de residuos agrícolas.

3.2.3 Estado trófico y actividad del cenote

El estado trófico se determinó cuantificando clorofila a (Chl-a) basado en el índice de estado trófico de Carlson (1977), a pesar de que se han desarrollado algunas otras métricas, la clorofila a es de las más útiles para estimar el efecto de las algas en el estado trófico (Franco et al., 2010). Con los resultados del índice trófico, que varía entre 0 y 100, se establecen las categorías de estado trófico. Sin embargo, una limitación del uso de la concentración de clorofila para inferir el estado trófico es que los sistemas estudiados tienen distintas características geomorfológicas en las que su exposición a luz es diferente en cada sitio. Esto resulta en la discrepancia entre las concentraciones de N_T y de clorofila, que en general, se correlacionan positivamente (Schmitter-Soto et al., 2002). Con base en este índice, se detectaron 6 cuerpos de agua ultraoligotróficos, que, en mayor o menor grado, presentan limitación de luz, lo cual permite, que, a pesar del alto contenido de nutrientes, se realicen actividades recreativas. Los sitios considerados ultraoligotróficos fueron Xpacay, Nah Yah, Ucil, Noh Mozón, Dzonot Aké y el cenote Luis Rosado Vega, ubicado en una zona urbana y usado para abastecimiento.

Seis sitios (Emiliano Zapata, Dzonot Carretero, Almendros 1, Lagunilla San Antonio, Suem y Kacheck 1) resultaron ser mesotróficos con valores de TSI de 45 a 52 y con concentraciones de clorofila de 5.04 $\mu\text{g/L}$ hasta 8.24 $\mu\text{g/L}$, abarcando uso agropecuario urbano y turístico. En este grupo, el sitio Suem es el único de uso turístico cuyo estado trófico fue mesotrófico, probablemente porque ha sido modificado para esta actividad, lo cual ha permitido una mayor exposición a la luz solar, por lo que ahora tiene las condiciones adecuadas para el crecimiento algal.

La categoría predominante de los sitios analizados fue la eutrófica, 43% de los sitios de estudio se agruparon en esta clase. El TSI se encontró entre 53 y 69. Más de la mitad de los cuerpos de agua fueron de uso agropecuario (SA2, Colonia Yucatan, Aguada Xmacula, Chun Kopó, Cenote Ha, San Miguel) y urbano (Saskabera Kanasín, Dzonot Box, Cenote Manuel Zepeda Peraza, la Sierra) con concentraciones máximas de clorofila de 52.18 $\mu\text{g/L}$.

La categoría de cenotes hipereutrófico con un TSI de 70 a 100, agrupó a cinco cuerpos de agua. Todos ellos fueron exclusivamente de uso agropecuario. En este grupo se alcanzaron concentraciones de Chl-a de hasta 397.40 $\mu\text{g/L}$, siendo Kan Ha el sitio con mayor concentración de clorofila. En la bibliografía, el máximo valor reportado por Arana Ravell (2023) fue de 397 $\mu\text{g/L}$ para el mismo sitio y en otros casos a nivel nacional el valor extremo reportado fue en un lago de Tezozómoc que tuvo hasta 681.38 $\mu\text{g/L}$ (Oliva Martínez et al., 2008). Este valor, sin embargo, es consistente con las características físicas del sitio, ya que es un lugar con contaminación puntual de desechos orgánicos de heces de ganado, así como múltiples entradas de materia orgánica y

está completamente expuesto a la luz solar, lo cual es consistente con los resultados de Arana Ravell (2023) quien reportó un valor máximo de 397 µg/L del mismo sitio de en zonas con actividad agropecuaria, igual que Moscoso Alejo (2019) mencionando sitios contaminados por desechos nitrogenados provenientes de esta actividad .

3.2.4. Composición isotópica $\delta^{15}\text{N}$ de la MOP

Las composiciones isotópicas de $\delta^{15}\text{N}$ de la MOP obtenidas en los 30 cuerpos de agua presentaron una gran variabilidad y no corresponden con los planteamientos iniciales. Se esperaba obtener composición isotópica más elevada en cuerpos de agua que fueran eutróficos e hipereutróficos y que tuvieran un gran impacto ganadero, sin embargo, esto no se reflejó en los datos.

San Miguel fue el cenote con la composición isotópica más alta con un valor $\delta^{15}\text{N}$ -MOP 14.96‰ y Kan-Ha fue el tercero más alto con un valor de 12.8‰, es decir datos muy parecidos a los reportados por Kendall et al. (2001), en la MOP de ríos que se encuentran en Estados Unidos y tienen distintas fuentes de contaminación antropogénica, proveniente principalmente de fertilizantes y desechos animales. De igual forma, los valores reportados por Xu et al. (2019) en un lago de China donde la MOP constituida por fitoplancton en los que obtuvo valores de 14‰. Estos dos valores son muy consistentes con el planteamiento inicial (Kendall et al., 2001; Huang et al., 2012), pues los sitios están localizados en zonas aledañas a establos por lo que estarían influenciados por heces del ganado. Entre estos dos valores se ubicó el sitio Xpakay con un $\delta^{15}\text{N}$ de 12.99‰ que es un cenote turístico con actividades de nado en donde se detectó la menor concentración de clorofila. Una posibilidad es que este sitio reciba altas cargas de aguas residuales de las viviendas aledañas. En este contexto, y con base en los datos del Sistema de Información Social Georreferenciada (SISGUE) del municipio de Teabo (Xpacay) del año 2022, se menciona que existen aproximadamente 2,183 viviendas sin drenaje, por lo que según este reporte se puede atribuir que la composición que se obtuvo para este sitio podría estar relacionada a desechos humanos, ya que la falta de conexión al servicio de drenaje tiene como consecuencia el uso de fosas sépticas de acumulación, las cuales en muchos de los casos tienen deficiencias en su construcción, además debido a las características del suelo kárstico de la península de Yucatán podría deberse a la infiltración de aguas de desechos que se originan por la lixiviación de las fosas sépticas. Se ha demostrado que los desechos provenientes de fosas sépticas y excretas de animales presentan una composición isotópica $>10\text{‰}$ (Kendall, 1998; Ávila & Sansores, 2003; Cejudo et al., 2014) que es igual a la del estiércol de animales y suelos contaminados con desechos de fosas sépticas que son parte de la MOP (Giuliano et al., 2015;

Kendall, 1998) Sin embargo, a pesar de presentar este tipo de valores, es imposible diferenciar con los datos que se obtuvieron exactamente cuales pertenecen a residuos de animal o de contaminación humana. El enriquecimiento de la composición isotópica de ^{15}N en la MOP de este lugar en particular demuestra que la actividad que se realiza en este lugar no genera grandes cambios en su composición, sin embargo, según resultados de Barba-Meinecke et al. (2022) Miller et al. (2010) y Hoffman y Bronk,(2006), el incremento de $\delta^{15}\text{N}$ en la materia orgánica particulada (MOP) se relaciona de forma directa con las descargas orgánicas provenientes de zonas urbanas o con influencia de actividad humana, principalmente sin un tratamiento de aguas, por falta de conexión al drenaje, lo que explicaría que, a pesar de ser un cenote ultraoligotrófico, este sitio presente una composición isotópica elevada. El hecho de que no se desarrolle biomasa autótrofa incluso con una entrada de nitrógeno estaría vinculado al hecho de que este sitio es semicerrado por lo que la exposición a la luz es limitada.

En cuerpos de agua eutróficos como la Aguada San Antonio, Kachek 2, Chun Kopó, SA2, Laguilla San Antonio, Los Almendros 1 y Kachek 1, que tienen un impacto evidente de actividad ganadera, se esperaba que sus composiciones fueran igual o mayor a 10‰; sin embargo, esto no fue así ya que los valores reportados para estos sitios fueron mucho menores, los cuales variaron en el rango de 0.71‰ a 6.62‰, pero son parecidos a los datos reportados por Hadas et al., (2009) reporta valores para un lago en Israel con contaminación mixta, es decir las fuentes son de todo tipo desde descargas de desechos urbanos, suelo plantas y fertilizantes de 0.3‰ a 16.5 ‰.

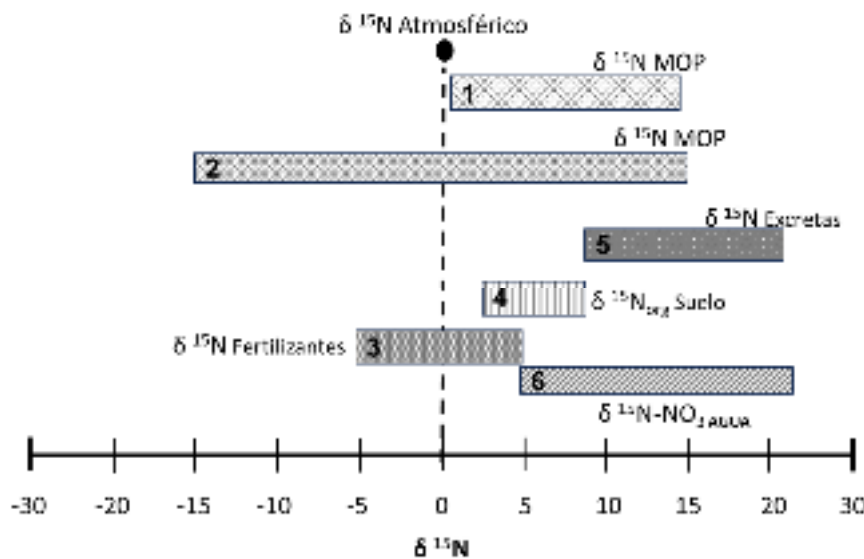


Figura 6. Representación de Composiciones Isotópicas en diferentes matrices incluyendo la MOP. **1)** Esta investigación, **2)** Kendall et al., (2001); **3)** Espino Valdés et al., (2010); **4)** Giuliano Albo et al. (2015); **5 y 6).** Michener & Lajtha (2008).

Las composiciones isotópicas encontradas representadas en la figura 7 muestran la variación del $\delta^{15}\text{N}$ en las distintas matrices. En la matriz agua, se reportan valores de $\delta^{15}\text{N-NO}_3$ que van de 5‰ a 20 ‰ según los reportes de Cejudo et al. (2014) y Arcega et al. (2021), Los fertilizantes tienen valores de -5‰ a 5‰ (Kendall et al., 2021), los valores de excretas de 9‰ a 20‰, mientras que los datos de $\delta^{15}\text{N}_{\text{MOP}}$ con base en la literatura van de -15‰ a 15‰ (Kendall et al., 2021; y en este proyecto se obtuvieron datos que van de 0.71‰ a 14.96‰ lo cual es consistente con los datos reportados por Kendall et al. (2001). Quizá se pensaría que los datos de MOP deberían ser mayores a los del agua, pero en este caso, el fitoplancton que toma el nitrógeno asimilará el isotopo más ligero disuelto en agua por lo que todas las partículas que no son consumidas y son más pesadas (como el suelo, excretas y demás) se sedimentan, acumulándose en el fondo provocando que este sedimento se encuentre más enriquecido que las demás matrices en las que se han presentado datos en agua dulce de 12‰ a 36‰ (Gribsholt et al., 2009).

CONCLUSIONES

Los cuerpos de agua resultaron muy diferentes entre sí, dado que se estudiaron cenotes, sascaberas y aguadas los cuales tienen distintas características como la profundidad, su limitación de luz, el uso y su conectividad, además de encontrarse en distintas zonas del estado de Yucatán. Estos sitios tuvieron además un estado trófico diferente que no puede relacionarse con la zona sino de forma general, con la actividad que se realiza en el sitio y la concentración de nitrógeno. Sin embargo, aunque hay sitios turísticos con una gran concentración de nitrógeno total, estos no se encontraron dentro de los cuerpos de agua eutróficos porque su limitación de luz los mantiene ultraoligotróficos, evitando que haya actividad fotosintética quedando biodisponible; por lo que se observaron cantidades bajas de Chl a.

El $\delta^{15}\text{N}$ -MOP fue diferente a lo esperado, ya que los sitios a pesar de ser hipereutróficos con actividad agropecuaria no tuvieron la composición isotópica más alta. Kan-Ha fue el cuerpo de agua con mayor concentración de clorofila a y se esperaba que tuviera una composición isotópica más enriquecida por el fitoplancton, lo que no resultó así ya que fue un cuerpo de agua eutrófico el que tuvo el valor más alto. No obstante, uno de los sitios con una de las composiciones isotópicas más altas fue un cenote ultraoligotrófico con un uso turístico en el que se esperaba tener una composición menos enriquecida por lo que en este estudio se menciona que ni la actividad económica, ni el tipo de cuerpo de agua, ni su estado trófico están relacionados con su composición isotópica, por lo que es importante tomar en cuenta más variables o matrices para tener una amplia visión de las fuentes y características de cada sitio de estudio que podrían indicar la razón por la cual estos sitios arrojaron resultados tan interesantes.

BIBLIOGRAFÍA

- Adesemoye, A. O., Kloepper, J. W. (2009). Plant–microbes interactions in enhanced fertilizer-use efficiency. *Applied microbiology and biotechnology*, 85, pp.1-12. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2196-0>.
- Aguilar, Y., Bautista, F., Mendoza, M. E., Frausto, O., Ihl, T. (2016). Density of karst depressions in Yucatán state, Mexico. *Journal of Cave & Karst Studies*, 78(2).
- Altabet, M. A. (1988). Variations in nitrogen isotopic composition between sinking and suspended particles: Implications for nitrogen cycling and particle transformation in the open ocean. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 35(4), pp. 535-554.
- Anderson, D. M., Glibert, P. M., Burkholder, J. M. (2002). Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. *Estuaries*, 25, pp.704-726.
- Arana-Ravell J. M. (2023). Comunidades de microalgas en cuerpos de agua eutrofizados de Yucatán, Tesis de Maestría, CICY AC, México.
- Arcega-Cabrera, F., Sickman, J. O., Fargher, L., Herrera-Silveira, J., Lucero, D., Ocegüera-Vargas, I., Robledo-Ardila, P. A. (2021). Groundwater quality in the Yucatan Peninsula: Insights from stable isotope and metals analysis. *Groundwater*, 59(6), 878-891. DOI: <https://doi.org/10.1111/gwat.13109>.
- Arend, K. K., Beletsky, D., De Pinto, J. V., Ludsin, S. A., Roberts, J. J., Rucinski, D. K., Höök, T. O. (2011). Seasonal and interannual effects of hypoxia on fish habitat quality in central Lake Erie. *Freshwater Biology*, 56(2), pp. 366-383.
- Ávila, J. A. (2001). El mercado de los fertilizantes en México/situación actual y perspectivas. *Problemas del desarrollo*, pp.189-207.
- Avila, J. P., Canul, R. P., Sansores, A. C. (2002). Análisis del ciclo del nitrógeno en el medio ambiente con relación al agua subterránea y su efecto en los seres vivos. *Ingeniería*, 6(3), pp. 73-81.
- Ávila, J. P., & Sansores, A. C. (2003). Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas. *Ingeniería*, 7(2), pp.47-54.
- Barba-Meinecke, H., Chávez, A. P., León, G. Q. (2022). El patrimonio cultural subacuático en la región de la península de Yucatán, México. *Revista Contacto*, 1(3), pp. 258-292.
- Bautista, F., Aguilar, Y. (2021). Assessment of the suitability of land for the development of swine farming at a regional scale in Yucatán, Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(1).

- Bedard-Haughn, A., Van Groenigen, J. W., Van Kessel, C. (2003). Tracing ^{15}N through landscapes: potential uses and precautions. *Journal of Hydrology*, 272(1-4), pp. 175-190.
- Beddows, P. A., Blanchon, P., Escobar, E., Torres-Talamante, O. (2007). Los cenotes de la península de Yucatán. *Arqueología mexicana*, 16, pp. 32-35.
- Cupul-Caamal, F. A. C., Smith, D. N. I., Camacho, D. O., Cocom, G. A. C., Cejudo, E. (2021). Trends in the biogeochemistry of groundwater in the agro-industrial region in Northeast Yucatan. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24(1).
- Caballero, E. (1989). Fraccionamiento isotópico: efecto de la composición química. *Estudios geológicos*, 45(5-6), pp. 299-314.
- Camargo, J. A., Alonso, Á. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environment international*, 32(6), 831-849. DOI:10.1016/j.envint.2006.05.002.
- Carlson, R. E. (1977). A trophic state index for lakes 1. *Limnology and oceanography*, 22(2), pp. 361-369.
- Cao, D., Cao, W., Liang, Y., Huang, Z. (2016). Nutrient variations and isotopic evidences of particulate organic matter provenance in fringing reefs, South China. *Science of the Total Environment*, 566, pp. 378-386.
- Carpenter, S. R., Caraco, N. F., Correll, D. L., Howarth, R. W., Sharpley, A. N., Smith, V. H. (1998). Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological applications*, 8(3), pp. 559-568.
- Cejudo, E., Schiff, S.L., Aravena, RO (2014). Composición isotópica del epilíton como archivo ambiental en ríos receptores de aguas residuales: el caso del Gran Río, Ontario, Canadá. *Revue des sciences de l'eau*, 27 (3), pp. 219-213.
- Cervantes-Martínez, A., Mezeta-Barrera, M., Gutiérrez-Aguirre, M. A. (2009). Basic limnology of the karstic tourist lake Cenote Azul in Quintana Roo, Mexico. *Hidrobiológica*, 19(2), pp. 177-180.
- Chislock, M. F., Doster, E., Zitomer, R. A., Wilson, A. E. (2013). Eutrophication: causes, consequences, and controls in aquatic ecosystems. *Nature Education Knowledge*, 4(4), 10.
- Cole, M. L., Valiela, I., Kroeger, K. D., Tomasky, G. L., Cebrian, J., Wigand, C., Carvalho da Silva, M. H. (2004). Assessment of a $\delta^{15}\text{N}$ isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *Journal of Environmental Quality*, 33(1), pp. 124-132.
- Davidson, E. A. (2009). The contribution of manure and fertilizer nitrogen to atmospheric nitrous oxide since 1860. *Nature Geoscience*, 2(9), 659-662. DOI: 10.1038/ngeo608.

- Delgado, C. L. (2005). Rising demand for meat and milk in developing countries: implications for grasslands-based livestock production. In *Grassland: a global resource*. Wageningen Academic, pp. 29-39.
- Derrien, M., Yang, L., Hur, J. (2017). Lipid biomarkers and spectroscopic indices for identifying organic matter sources in aquatic environments: A review. *Water research*, 112, pp. 58-71.
- Durán-García, R., Méndez González, M., Larqué Saavedra, A. (2016). The biodiversity of the Yucatan Peninsula: a natural laboratory. In *Progress in Botany Vol. 78*, pp. 237-258. Springer, Cham.
- Eastmond, A., García, F. A. (2006). Impacto de los sistemas agropecuarios sobre la biodiversidad. *Ganadería*, 75(1), pp. 98-104.
- Estrada Medina, H., Jiménez Osornio, J. J., Álvarez Rivera, O., Barrientos Medina, R. C. (2019). El karst de Yucatán: su origen, morfología y biología. *Acta universitaria*.
- Espino Valdes, M. S., Navarro Gómez, C. J., Royo Ochoa, M. (2010). Evaluación del origen de nitratos en el agua subterránea de Delicias, Chihuahua, usando técnicas isotópicas.
- Fareed A. Khan, Abid Ali Ansari. (2005). Eutrophication: An Ecological Vision. *Botanical Review*, 71(4), pp. 449–482. <http://www.jstor.org/stable/4354503>.
- Franco, D. P. M., Manzano, J. Q., Cuevas, A. L. (2010). Métodos para identificar, diagnosticar y evaluar el grado de eutrofia. *Contacto S*, 78(1), pp. 25-33.
- Galloway, J. N., Cowling, E. B. (2002). Reactive nitrogen and the world: 200 years of change. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 31(2), pp. 64-71.
- Galván, L. A., Ríos, L. A. (2013). Procesos, bacterias y arqueobacterias involucrados en el ciclo biológico del nitrógeno para la eliminación de compuestos nitrogenados en ecosistemas de agua dulce, una revisión sistemática. *Hechos Microbiológicos*, 4(1), pp. 34-51.
- Gamboa-Mena, J. V., Magaña-Magaña, M. A., Rejón-Ávila, M., Martínez, V. P. (2005). Eficiencia económica de los sistemas de producción de carne bovina en el municipio de Tizimín, Yucatán, México. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 5(2), pp. 79-84.
- García de Miguel, J. (2004). *Etnobotánica maya: origen y evolución de los huertos familiares de la Península de Yucatán, México*. Universidad de Córdoba. Servicio de Publicaciones.
- Giuliano Albo, M. J., Blarasin, M. T., Panarello, H. O. (2015). Evaluación de la geoquímica e isótopos del nitrato en el acuífero libre de una llanura con actividad agropecuaria, Córdoba, Argentina.
- Glibert, P. M., Seitzinger, S., Heil, C. A., Burkholder, J. M., Parrow, M. W., Codispoti, L. A., Kelly, V. (2005). Eutrophication. *Oceanography*, 18(2), 198.

- González -Herrera, R. A., Albornoz Euán, B. S. I., Sánchez y Pinto, I. A., Osorio Rodríguez, J. H. (2018). El acuífero yucateco. Análisis del riesgo de contaminación con apoyo de un sistema de información geográfica. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 34(4), pp. 667-683.
- Gonzalez-Herrera, R., Martinez-Santibañez, E., Pacheco-Avila, J., Cabrera-Sansores, A. (2014). Leaching and dilution of fertilizers in the Yucatan karstic aquifer. *Environmental earth sciences*, 72, pp. 2879-2886.
- Grady, S.P., Carvalho da Silva, M.H., 2004. Assessment of a $\delta^{15}\text{N}$ isotopic method to indicate anthropogenic eutrophication in aquatic ecosystems. *J. Environ. Qual.* 33, pp.124–132.
- Guerrero, R., Berlanga, M. (2000). Isótopos estables: Fundamento y aplicaciones. *Actualidad Sociedad Española de Microbiología*. (29).
- Hadas, O., Altabet, M. A., Agnihotri, R. (2009). Seasonally varying nitrogen isotope biogeochemistry of particulate organic matter in Lake Kinneret, Israel. *Limnology and Oceanography*, 54(1), pp. 75-85.
- Heaton, T. H. (1986). Isotopic studies of nitrogen pollution in the hydrosphere and atmosphere: a review. *Chemical Geology: Isotope Geoscience Section*, 59, pp. 87-102.
- Hedges, J. I., Clark, W. A., Quay, P. D., Richey, J. E., Devol, A. H., Santos, M. (1986). Compositions and fluxes of particulate organic material in the Amazon River 1. *Limnology and Oceanography*, 31(4), pp. 717-738.
- Herrera-Silveira, J. A., Comín, F. A., Capurro, L. (2005). Los usos y abusos de la zona costera en la Península de Yucatán.
- Hoffman, J. C., Bronk, D. A. (2006). Interannual variation in stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry of the Mattaponi River, Virginia. *Limnology and Oceanography*, 51(5), pp. 2319-2332.
- Hooda, P. S., Edwards, A. C., Anderson, H. A., Miller, A. (2000). A review of water quality concerns in livestock farming areas. *Science of the total environment*, 250(1-3), pp. 143-167.
- Hou, C., Chu, M. L., Botero-Acosta, A., Guzmán, J. A. (2021). Modeling field scale nitrogen non-point source pollution (NPS) fate and transport: Influences from land management practices and climate. *Science of the Total Environment*, 759, pp.143-502. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143502>.
- Hou, W., Gu, B., Lin, Q., Gu, J., Han, B. P. (2013). Stable isotope composition of suspended particulate organic matter in twenty reservoirs from Guangdong, southern China: Implications for pelagic carbon and nitrogen cycling. *Water research*, 47(11), pp. 3610-3623.

- Howarth, R. W., Sharpley, A., Walker, D. (2002). Sources of nutrient pollution to coastal waters in the United States: Implications for achieving coastal water quality goals. *Estuaries*, 25, pp. 656-676.
- Howarth, F. G. (1991). Environmental impacts of classical biological control. *Annual review of entomology*, 36(1), pp. 485-509.
- Howarth, R. W. (1988). Nutrient limitation of net primary production in marine ecosystems. *Annual review of ecology and systematics*, 19(1), pp.89-110. DOI:10.1146/annurev.es.19.110188.000513.
- Huang, J., Xu, C. C., Ridoutt, B. G., Wang, X. C., Ren, P. A. (2017). Nitrogen and phosphorus losses and eutrophication potential associated with fertilizer application to cropland in China. *Journal of Cleaner Production*, 159, pp. 171-179.
- INEGI. (2013) Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Superficie sembrada de pastos. Información nacional por entidad federativa y municipios. https://www.yucatan.gob.mx/estado/datos_municipio.php?id=66 Consultado: 1 de marzo del 2022.
- Huang, W., J. Conkle, J. O. Sickman, J. Gan. 2012. Water Quality Assessment of the Beaumont Management Zone: Identifying Sources of Groundwater Contamination Using Chemical and Isotopic Tracers. Final Report to the State Water Resources Control Board. University of California, Riverside SWRCB Agreement No. R8-2010-0022 Department of Environmental Sciences University of California Riverside, CA 92521, February 3, 2012. 93.
- INEGI. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Climatología. Información nacional por entidad federativa y municipios. <https://www.inegi.org.mx/temas/climatologia/>. Consultado: 3 de marzo del 2022.
- INEGI. (2013) Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Superficie sembrada de pastos. Información nacional por entidad federativa y municipios. https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/groo/territorio/div_municipal.aspx?te_ma=me&e=23 Consultado: 1 de marzo del 2022.
- Jovel, V. H. C. (2019). Caracterización de la estructura de la comunidad de microorganismos en cuerpos de agua dulce del norte de la Península de Yucatán, Tesis de Maestría, CICY AC, México.
- Kandelaars, P. (2000). In the Yucatan Peninsula in Mexico. *Tourism and the Environment: Regional, Economic, Cultural and Policy Issues*, 6, 59.

- Karr, J. D., Showers, W. J., Gilliam, J. W., Andres, A. S. (2001). Tracing nitrate transport and environmental impact from intensive swine farming using delta nitrogen-15. *Journal of Environmental Quality*, 30(4), 1163-1175.
- Kendall, C., Silva, S. R., Kelly, V. J. (2001). Carbon and nitrogen isotopic compositions of particulate organic matter in four large river systems across the United States. *Hydrological processes*, 15(7), 1301-1346.
- Ke, Z., Tan, Y., Huang, L., Zhao, C., Jiang, X. (2017). Spatial distributions of $\delta^{13}\text{C}$, $\delta^{15}\text{N}$ and C/N ratios in suspended particulate organic matter of a bay under serious anthropogenic influences: Daya Bay, China. *Marine Pollution Bulletin*, 114(1), 183-191.
- Khan, F. A., Ansari, A. A. (2005). Eutrophication: an ecological vision. *The botanical review*, 71(4), 449-482.
- Kratzer, C. R., Brezonik, P. L. (1981). A carlson-type trophic state index for nitrogen in Florida lakes 1. *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 17(4), 713-715.
- Landeros, M. M. F. (2019). Influencia de los cambios de uso/cobertura del suelo y el clima en el ciclo del nitrógeno en dos lagos costeros de Chile central a partir de la colonización española. Tesis doctoral, Pontificia Universidad católica de Chile, Chile.
- Lee, D., S. Edmeades, E. Denys, A. McDonald y W. Janssen. 2014. Developing local adaptation strategies for climate change in agriculture: A priority-setting approach with application to Latin America. *Global Environmental Change* 29, pp. 78- 91.
- Lehmann, M. F., Bernasconi, S. M., McKenzie, J. A., Barbieri, A., Simona, M., Veronesi, M. (2004). Seasonal variation of the δC and δN of particulate and dissolved carbon and nitrogen in Lake Lugano: Constraints on biogeochemical cycling in a eutrophic lake. *Limnology and Oceanography*, 49(2), pp. 415-429.
- Libes, S.M., 1992. *An Introduction to Marine Biogeochemistry*. 734. John Wiley & Sons, New York.
- Likens, G. E., F. H. Bormann, R. S. Pierce, J. S. Eaton, N. M. Johnson. 1977. *Biogeochemistry of a forested ecosystem*. Springer-Verlag, New York
- Liu, K. K., Kao, S. J., Wen, L. S., Chen, K. L. (2007). Carbon and nitrogen isotopic compositions of particulate organic matter and biogeochemical processes in the eutrophic Danshuei Estuary in northern Taiwan. *Science of the Total Environment*, 382(1), 103-120. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2007.04.0.
- Liu, Y., Villalba, G., Ayres, R. U., Schroder, H. (2008). Global phosphorus flows and environmental impacts from a consumption perspective. *Journal of Industrial Ecology*, 12(2), 229-247. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2018.09.02>.

- Lu, X., Huang, C., Chen, F., Zhang, S., Lao, Q., Chen, C., Zhu, Q. (2021). Carbon and nitrogen isotopic compositions of particulate organic matter in the upwelling zone off the east coast of Hainan Island, China. *Marine Pollution Bulletin*, 167, pp.112-349. DOI:10.1016/j.marpolbul.2021.1123.
- McLaughlin, A., Mineau, P. (1995). The impact of agricultural practices on biodiversity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 55(3), pp. 201-212.
- McClelland, J. W., Valiela, I., Michener, R. H. (1997). Nitrogen-stable isotope signatures in estuarine food webs: A record of increasing urbanization in coastal watersheds. *Limnology and oceanography*, 42(5), pp. 930-937.
- McCusker, E. M., Ostrom, P. H., Ostrom, N. E., Jeremiason, J. D., Baker, J. E. (1999). Seasonal variation in the biogeochemical cycling of seston in Grand Traverse Bay, Lake Michigan. *Organic Geochemistry*, 30(12), pp.1543-1557.
- Michener, R., Lajtha, K. (2008). *Stable isotopes in ecology and environmental science*. John Wiley & Sons.
- Miller, T. W., Omori, K., Hamaoka, H., Shibata, J. Y., Hidejiro, O. (2010). Tracing anthropogenic inputs to production in the Seto Inland Sea, Japan A stable isotope approach. *Marine pollution bulletin*, 60(10), pp.1803-1809.
- Moody, D. W. (1990). Groundwater contamination in the United States. *Journal of Soil and Water Conservation*, 45(2), pp.170-179.
- Montoya, J. P., McCarthy, J. J. (1995). Isotopic fractionation during nitrate uptake by phytoplankton grown in continuous culture. *Journal of Plankton Research*, 17(3), pp.439-464.
- Moscoso-Alejo, S. (2019). Estado trófico de los cenotes en la península de Yucatán y su asociación con los principales grupos de fitoplancton, Tesis de Maestría, CICY AC, México.
- Nakatsuka, T., Handa, N., Wada, E., Wong, C.S., 1992. The dynamic changes of stable isotopic ratios of carbon and nitrogen in suspended and sedimented particulate organic matter during a phytoplankton bloom. *J. Mar. Res.* 50, pp.267–296.
- Oliva Martínez, M. G., Rodríguez Rocha, A., Lugo Vázquez, A., Sánchez Rodríguez, M. D. R. (2008). Composición y dinámica del fitoplancton en un lago urbano hipertrófico. *Hidrobiológica*, 18, pp.1-13.
- Pacheco, J., Marín, L., Cabrera, A., Steinich, B., y Escolero, O. (2001). Nitrate temporal and spatial patterns in 12 water-supply wells, Yucatan, Mexico. *Environmental Geology*, 40 (6), pp.708–715. DOI:<https://doi.org/10.1007/s002540000180>.
- Pacheco, J., y Cabrera, A. (1996). Efecto del uso de fertilizantes en la calidad del agua subterránea en el estado de Yucatán. *Tecnología y ciencias del agua*, 11(1), pp.53-60.

- Perry, E., Marin, L., McClain, J., Velazquez, G. (1995). Ring of cenotes (sinkholes), northwest Yucatan, Mexico: its hydrogeological characteristics and possible association with the Chicxulub impact crater. *Geology*, 23(1), pp.17-20.
- Patoine, A., Graham, M.D., Leavitt, P.R., 2006. Spatial variation of nitrogen fixation in lakes of the northern Great Plains. *Limnology and Oceanography* 51, pp.1665-1677.
- Rabalais, N. N. (2002). Nitrogen in aquatic ecosystems. *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 31(2), pp.102-112.
- Ruiz-Fernández, A. C., Hillaire-Marcel, C., Ghaleb, B., Soto-Jiménez, M., Páez-Osuna, F. (2002). Recent sedimentary history of anthropogenic impacts on the Culiacan River Estuary, northwestern Mexico: geochemical evidence from organic matter and nutrients. *Environmental pollution*, 118(3), pp.365-377.
- Ribeiro, D. (2013). Processo de Haber-Bosch. *Revista de Ciência Elementar*, 1(1).
- Savoie, N., Aminot, A., Tréguer, P., Fontugne, M., Naulet, N., Kérouel, R. (2003). Dynamics of particulate organic matter $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ during spring phytoplankton blooms in a macrotidal ecosystem (Bay of Seine, France). *Marine ecology progress series*, 255, pp.27-41.
- Schindler, D. W., Hecky, R. E., Findlay, D. L., Stainton, M. P., Parker, B. R., Paterson, M. J., Kasian, S. (2008). Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: results of a 37-year whole-ecosystem experiment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(32), pp.11254-11258.
- Schmitter-Soto, J. J., Escobar-Briones, E., Alcocer, J., Suárez-Morales, E., Elías-Gutiérrez, M., Marín, L. E. (2002). Los cenotes de la Península de Yucatán. De la Lanza-Espino, G. y JL García-Calderón (Comps.). *Lagos y Presas de México*. AGT. México, pp.337-381.
- Sergey, K., Oleg, I., Oksana, R. (2019). Anthropogenic impact on water bodies within the area of activities of livestock complexes. Research Development Center-FBEE, Belgrade, Serbia Proceedings Filodiritto, Bologna, Italy, 299.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP]. (s. f.). Datos abiertos. INFOSIAP. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> Consultado: 10 de febrero del 2022.
- Singh, B., Sekhon, G. S. (1979). Nitrate pollution of groundwater from farm use of nitrogen fertilizers—a review. *Agriculture and Environment*, 4(3), pp.207-225.
- Smil, V. (2001). *Enriching the Earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the Transformation of World Food*. The MIT Press, Cambridge, United Kingdom.
- Smith, D. N., Ortega Camacho, D., Acosta-González, G., Leal Bautista, R. M., Fox III, W. E., y Cejudo, E. (2020). A multi-approach assessment of land use effects on groundwater quality in a karstic aquifer. *Heliyon*, 6(5).

- Smith, V. H., Joye, S. B., y Howarth, R. W. (2006). Eutrophication of freshwater and marine ecosystems. *Limnology and oceanography*, 51(1part2), pp.351-355.
- Soberanis, F. E., Valdés, C. D., y Rodríguez, L. V. A. (2021). Percepciones de los residentes de Pisté (Yucatán) sobre los impactos del turismo. *Antrópica. Revista de Ciencias Sociales y Humanidades*, 7(13), pp.165-188.
- Socki, R. A., Perry, E. J. C., Romanek, C. S. (2002). Stable isotope systematics of two cenotes from the northern Yucatan Peninsula, Mexico. *Limnology and Oceanography*, 47(6), pp.1808–1818.
- Tan, F. C., Cai, D. L., Edmond, J. M. (1991). Carbon isotope geochemistry of the Changjiang Estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 32(4), pp.395-403.
- Tank, J. L., Meyer, J. L., Sanzone, D. M., Mulholland, P. J., Webster, J. R., Peterson, B. J., Leonard, N. E. (2000). Analysis of nitrogen cycling in a forest stream during autumn using a ¹⁵N-tracer addition. *Limnology and Oceanography*, 45(5), pp.1013-1029.
- Thornton, S. F., McManus, J. (1994). Application of organic carbon and nitrogen stable isotope and C/N ratios as source indicators of organic matter provenance in estuarine systems: evidence from the Tay Estuary, Scotland. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 38(3), pp.219-233.
- Tilman, D. (1998). The greening of the green revolution. *Nature*, 396(6708), pp.211-212.
- Sosa-Escalante, J., Chablé-Santos, J. (2013). Conservación y manejo de los cenotes. *Ordenamiento territorial del estado de Yucatán: visión, 2030*, pp.63-74.
- Van Heukelem, L., Thomas, C. S. (2001) Computer-assisted high-performance liquid chromatography method development with applications to the isolation and analysis of phytoplankton pigments. *Journal of Chromatography A*, (910), pp.31–49.
- Vázquez, G., Castro, G., González, I., Pérez, R., Castro, T. (2006). Bioindicadores como herramientas para determinar la calidad del agua. *Contacto*, 60(4), pp.41-48.
- Vidal-Zepeda, R. (2005). Región XI. Península de Yucatán. En: *Las regiones climáticas de México*. Vidal-Zepeda, R. México, DF: Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Geografía. pp.189-204.
- Villafañe, V. E., Guendulain-García, S. D., Valadez, F., Rosiles-González, G., Helbling, E. W., Banaszak, A. T. (2015). Antagonistic and synergistic responses to solar ultraviolet radiation and increased temperature of phytoplankton from cenotes (sink holes) of the Yucatán Peninsula, México. *Freshwater Science*, 34(4), pp.1282-1292.
- Vitória, L., Otero, N., Soler, A., Canals, A. (2004). Fertilizer characterization: isotopic data (N, S, O, C, and Sr). *Environmental science & technology*, 38(12), pp.3254-3262.

- Vitória, L., Soler, A., Aravena, R., y Canals, A. (2005). Multi-isotopic approach (^{15}N , ^{13}C , ^{34}S , ^{18}O and D) for tracing agriculture contamination in groundwater. In *Environmental Chemistry*. Springer, Berlin, Heidelberg, pp.43-56.
- Vitousek, P. M., Mooney, H. A., Lubchenco, J., Melillo, J. M. (1997). Human domination of Earth's ecosystems. *Science*, 277(5325), pp.494-499.
- Wada, I., Wang, K. (2009). Common depth of slab-mantle decoupling: Reconciling diversity and uniformity of subduction zones. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 10(10).
- Wang, H., Wang, H. (2009). Mitigation of lake eutrophication: Loosen nitrogen control and focus on phosphorus abatement. *Progress in Natural Science*, 19(10), pp.1445-1451.
- Wu, Y., Zhang, J., Li, D. J., Wei, H., Lu, R. X. (2003). Isotope variability of particulate organic matter at the PN section in the East China Sea. *Biogeochemistry*, 65, pp.31-49.
- Wu, W., Yu, Q., Peter, V. H., You, L., Yang, P., Tang, H. (2014). How Could Agricultural Land Systems Contribute to Raise Food Production Under Global Change? *Journal of Integrative Agriculture*, 13(7), 1432–1442. DOI:10.1016/s2095-3119(14)608 pp.19-4.
- Xu, Jie; Lyu, Heng; Xu, Xiaoguang; Li, Yunmei; Li, Zhichun; Lei, Shaohua; Bi, Shun; Mu, Meng; Du, Chenggong; Zeng, Shuai (2019). Dual stable isotope tracing the source and composition of POM during algae blooms in a large and shallow eutrophic lake: All contributions from algae? *Ecological Indicators*, 102, 599–607. DOI: 10.1016/j.ecolind.2019.03.