

Laura Carreón-Palau, L., J.A. del Angel-Rodríguez, C.C. Parrish, H. Pérez-España y Sergio Aguiñiga-García, 2019. Evaluación de las Fuentes Naturales y Antropogénicas de Nitrógeno y Carbono en el Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano, p. 345-376. En: A. Granados-Barba, L. Ortiz-Lozano, C. González-Gándara y D. Salas-Monreal (eds.). Estudios Científicos en el Corredor Arrecifal del Suroeste del Golfo de México. Universidad Autónoma de Campeche. 376 p. ISBN 978-607-8444-54-0. doi 10.26359/epomex0319

Evaluación de las Fuentes Naturales y Antropogénicas de Nitrógeno y Carbono en el Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano

Laura Carreón-Palau^{1,}, Jorge A. del Angel-Rodríguez², Christopher C. Parrish²,
Horacio Pérez-España³ y Sergio Aguiñiga-García⁴*

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste

²Department of Ocean Sciences, Memorial University of Newfoundland, Canadá

³Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías, Universidad Veracruzana

⁴Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-Instituto Politécnico Nacional

*lcarreon@cibnor.mx

RESUMEN

En la mayor parte de su distribución geográfica, el coral ha disminuido su cobertura y ha sido sustituido por macroalgas foliosas, principalmente pardas. Dichas algas tienen un crecimiento inusual debido al aumento de nutrientes antropogénicos arrastrados en los ríos y aguas residuales. Conocer la contribución, así como las rutas de origen y destino de estos nutrientes permite establecer estrategias de control, reducción e incluso remediación. En la red trófica del ecosistema coralino del Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano (PNSAV), se analiza la contribución y las rutas de incorporación de las fuentes terrestres de nitrógeno (N), así como las fuentes de carbono (C) orgánico naturales y antropogénicas. La fuente de N y su concentración relativa se evaluó empleando el valor isotópico de N y la relación C:N. La contribución natural de los productores primarios (fuente natural) se estimó mediante un modelo de mezcla de isótopos estables de C y N (SIAR), y se determinó el destino de los lípidos y sus unidades estructurales, los ácidos grasos (AG) como indicadores de la calidad del C en las temporadas de secas y de lluvias. Las fuentes antropogénicas de C orgánico se evaluaron usando el coprostanol (5 β -colestano-3 β -ol) como biomarcador de la presencia de residuos de heces humanas. Los valores isotópicos de N y la relación C:N indican que los fertilizantes fueron la principal fuente de N para las macroalgas. Dicho aporte también favoreció el crecimiento de fitoplancton y de pastos marinos, y la mayor parte de los consumidores presentó una mejor condición nutricional y mayor

retención de triglicéridos en la temporada de lluvias; sin embargo, la condición nutricional del coral *Montastrea cavernosa* disminuyó significativamente. De acuerdo al SIAR, el fitoplancton fue la principal fuente de carbono natural transferido como AG esenciales a la mayor parte de la red trófica. El C del manglar fue transferido a los peces juveniles principalmente como AG monoinsaturados y el C de los pastos marinos fue transferido a toda la red trófica estudiada como AG no esenciales. Las macroalgas pardas tuvieron la menor contribución de C al sistema y fueron consumidas principalmente por erizos, mientras que los peces herbívoros prefirieron macroalgas rojas. En cuanto a las fuentes antropogénicas de C, en la temporada de secas el río Jamapa presentó niveles de coprostanol equivalentes a una cantidad de coliformes mayor al límite establecido por la norma oficial mexicana. En la temporada de lluvias, cuando la corriente fluye de sur a norte, la contaminación fue más alta en el sur, frente a Antón Lizardo, afectando la boca del río Jamapa y el arrecife de Sacrificios con valores mayores al límite, a pesar de que hubo un efecto de dilución en este mismo río. Los arrecifes más alejados de la costa tuvieron niveles de contaminación menores al límite. Los arrecifes Enmedio y Cabezo no mostraron contaminación por aguas residuales durante las dos temporadas. Dado que las macroalgas pardas no son consumidas por los peces herbívoros, el manejo sustentable de las cuencas y el tratamiento terciario de las aguas residuales son las mejores opciones para disminuir el aporte de C y N. Se sugiere incorporar al programa de manejo del PNSAV un monitoreo del $\delta^{15}\text{N}$ y la relación C:N en macroalgas como indicadores de la fuente y la condición de enriquecimiento *vs* la limitación de N disuelto y de coprostanol como indicador de contaminación por aguas residuales no tratadas.

Palabras clave: contaminación, arrecife, Veracruz, isótopos, ácidos grasos, nitrógeno, macroalgas pardas, aguas residuales, SIAR, PNSAV.

ABSTRACT

Coral has decreased its coverage over most of its geographical range and has been replaced by foliose macroalgae, mainly brown algae. These algae have unusual growth due to increased anthropogenic nutrients carried in rivers and wastewater. By knowing the contribution, sources and destinations of these nutrients, control strategies for reduction and even remediation can be established. The Veracruz Reef System National Park (PNSAV) coral food web was investigated to establish the contribution and routes of incorporation of terrestrial sources of nitrogen (N), as well as sources of organic carbon (C) both natural and anthropogenic. The N source and its relative concentration were evaluated using the isotopic N value and the C:N ratio. The contribution of the primary producers (natural source) was estimated through a mixing model of stable isotopes of C and N (SIAR) and the fate of the lipids and their structural components, the fatty acids (FA), were determined as indicators of carbon source quality in dry and rainy seasons. Anthropogenic sources of organic carbon were evaluated using coprostanol (5β -cholestan- 3β -ol) as a biomarker of the presence of human fecal contamination. Isotopic N ratios and the C:N ratio indicates that fertilizers were the main source of N for the macroalgae. This contribution also favored growth of phytoplankton and seagrass, and most consumers had a better nutritional status and higher retention of triacylglycerols in the rainy season. However, the nutritional status of the coral, *Montastrea cavernosa* decreased significantly. According to SIAR, phytoplankton was the main source of natural C transferred as essential FA to most of the food web. Mangrove C was transferred to juvenile fish mainly as monounsaturated FA and the C from seagrass was transferred to the whole food web as non-essential FA. Brown algae had the lowest C contribution to the system and were consumed mainly by echinoderms, while herbivorous fish preferred red algae. In terms of anthropogenic C sources, during the dry season, the Jamapa River had levels of coprostanol equivalent to a coliforms amount higher than the limit established by the Mexican regulation. In the rainy season, when the current flows from south to north, pollution was higher in Antón Lizardo. This affected the mouth of the Jamapa River and the Sacrificios reef with values above the limit, despite the fact that there was a dilution effect in this river. The reefs furthest from the coast had contamination levels below the limit. The Enmedio and Cabezo reefs did not show contamination by wastewater during the two seasons. Since brown algae are not consumed by

herbivorous fish, sustainable management of watersheds and tertiary treatment of wastewater are better options to reduce C and N supply. Monitoring programs should incorporate determination of $\delta^{15}\text{N}$ and the C:N ratio in macroalgae as indicators of the source and extent of enrichment in the context of limitation of dissolved N, and of coprostanol concentrations as an indicator of wastewater contamination.

Keywords: Pollution, reef, Veracruz, isotopes, fatty acids, nitrogen, brown algae, sewage water, SIAR, PNSAV.

INTRODUCCIÓN

Los arrecifes coralinos son reconocidos por su gran biodiversidad, tienen efectos en la atmósfera, en la circulación marina, en la química del océano, en la distribución de las especies y proporcionan servicios ambientales a decenas de millones de personas. Los arrecifes de coral son el hábitat crítico para diversas especies marinas, protegen las costas de la erosión y acción del oleaje, y son zonas de importancia económica por las pesquerías y el turismo. Se estima que el valor de los servicios ecosistémicos que los corales brindan asciende a miles de millones de dólares al año (Birkeland, 2015); sin embargo, en todo el planeta se presentan graves problemas que afectan su supervivencia (Burke *et al.*, 2011). En efecto, las pérdidas de coral vivo en los arrecifes durante los últimos 30-40 años son en el Gran Caribe de alrededor del 53 %, en el Indopacífico de 40 % y 50 % en la Gran Barrera (Birkeland, 2015). Las causas principales de esta pérdida son de origen humano, ya sea de manera directa o indirecta (Miller, 2015).

En el golfo de México, frente a las costas de la Zona Metropolitana de Veracruz (ZMV), se encuentra el PNSAV, el mayor sistema coralino del suroeste del golfo (Tunnell, 2007), el cual está sujeto a presiones antropogénicas debido a la presencia de la ciudad costera más grande de la región y de

un puerto de altura; y a la descarga de los ríos La Antigua, Jamapa y Papaloapan (Sallas-Pérez & Granados-Barba, 2008; Pérez-España *et al.*, 2012) que superan los $45 \times 10^9 \text{ m}^3 \text{ año}^{-1}$ (CNA, 2011) y, aunque se desconoce el volumen total de aguas urbanas, se sabe que existen al menos 35 descargas de drenaje directo al mar (Vázquez-Guerra, 2018).

Las descargas urbanas sobre los arrecifes coralinos han sido un problema desde hace varias décadas (*e.g.* Pastorok & Bilyard 1985) y actualmente continúan siendo una fuente de contaminación a los ríos (Bujagic *et al.*, 2016) y junto con las descargas de los ríos incrementan la sedimentación y las concentraciones de nutrientes y compuestos tóxicos. La cobertura coralina del PNSAV disminuyó del 33 % en los 1960s a 19 % a finales de los 1980s y se ha mantenido en estado estacionario (~20 %) (Horta-Puga *et al.*, 2015). En comparación con los arrecifes del Caribe que disminuyeron a 14 % en el mismo periodo según la red de monitoreo global (Jackson *et al.*, 2014).

El aporte de aguas urbanas residuales y descargas de ríos trae consigo sedimentos y grandes cantidades de nutrientes de las zonas agrícolas, así como contaminantes como hidrocarburos, plaguicidas y metales pesados, cuya incorporación amenaza la salud de los arrecifes coralinos (ISRS, 2004). Este capítulo

lo es una integración de los estudios realizados en el PNSAV por los autores para evaluar la contribución y el destino de las fuentes terrestres de N y C, tanto de las fuentes naturales (productores primarios) como antropogénicas (aguas residuales), a través de dos enfoques: 1) evaluar el N mediante la determinación de las concentraciones de isótopos estables de C y N, y de la razón C:N; y 2) evaluar el carbono mediante la determinación de ácidos grasos (AG) y esteroides.

ORIGEN Y DESTINO DEL NITRÓGENO USANDO ISÓTOPOS ESTABLES Y LA RELACIÓN CARBONO/NITRÓGENO

El incremento en la disponibilidad de nitrógeno inorgánico generalmente deriva en un aumento de la abundancia de productores primarios debido a que es necesario para la síntesis de clorofila y, por tanto, de la fotosíntesis; sin embargo, una alta biomasa de productores primarios que no alcanza a ser aprovechada por los consumidores primarios puede causar efectos adversos como la disminución de la cobertura del coral y su sustitución por macroalgas y en casos muy extremos la eutrofización (Fabricius, 2011). El nitrógeno se presenta en diferentes formas en el agua, incluyendo nitrógeno diatómico (N_2), amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-), nitrato (NO_3^-) y otros óxidos de N, así como en compuestos orgánicos como el amonio, el cual, normalmente se encuentra en baja concentración en aguas oxigenadas donde las bacterias lo oxidan a nitrato (Sze, 1998).

El nitrógeno presenta dos isótopos estables: ^{14}N y ^{15}N ; el más común en la naturaleza es el ^{14}N . El contenido de ^{15}N de una sustancia es expresada como su desviación isotópica, $\delta^{15}N$, respecto al estándar que

es el aire atmosférico (AIR). Debido a que el nitrógeno atmosférico es el estándar de referencia, su valor es de 0 ‰ (partes por mil). En los productores primarios podemos detectar la fuente de nitrógeno en el medio por su valor isotópico $\delta^{15}N$. Este valor se puede seguir en los siguientes niveles tróficos dado que metabólicamente el ^{14}N es usado preferentemente en el metabolismo y el ^{15}N se acumula (DeNiro & Epstein, 1981). La acumulación de ^{15}N se denomina “enriquecimiento” y se ha detectado de 3 a 4 ‰ entre cada nivel trófico (Michener & Shell, 1994). Los isótopos de N se usan como indicadores o marcadores de la fuente de N y para determinar el valor trófico relativo a la fuente (productores primarios) en las redes tróficas marinas (Hobson *et al.*, 1995).

La razón isotópica del $\delta^{13}C/^{12}C$ se utiliza como indicador de la fuente de C de los productores primarios y se puede trazar hacia los consumidores primarios en ecosistemas cuyas fuentes de C sean significativamente distintas. Por ejemplo, en las plantas vasculares el valor de $\delta^{13}C$ de los pastos marinos (-14‰), está relacionado con su habilidad de usar bicarbonato como fuente de C (Beer *et al.*, 2002) que tiene un $\delta^{13}C$ más enriquecido (menos negativo) que el CO_2 , mientras que las plantas terrestres como el manglar cuya fuente de C es el CO_2 tienen un valor menos enriquecido (más negativo) de -29 ‰ (Lapointe *et al.*, 2004).

Los modelos de mezcla de isótopos estables han facilitado el cálculo del aporte de la dieta en los consumidores (Parnell *et al.*, 2010). En este capítulo se muestran los resultados de nuestras investigaciones en el PNSAV. Se usó el modelo de mezcla para cal-

cular el aporte de los productores primarios indirectamente y discriminar el origen del C y N en los niveles más altos de las cadenas tróficas (Carreón-Palau *et al.*, 2013).

Por otro lado, la relación C:N se utilizó como un indicador de la condición de limitación o enriquecimiento del N disuelto para los productores primarios en el PNSAV (Carreón-Palau *et al.*, 2018). Las plantas suelen estar limitadas en N en comparación con el contenido de C debido a la contribución de la celulosa y su relación C:N es mayor que la del fitoplancton, debido a lo anterior el fitoplancton tiene mejor calidad para los consumidores primarios por su aporte de N principalmente como proteínas; sin embargo, cuando las plantas están en un medio enriquecido en nitrógeno lo acumulan disminuyendo la relación C:N.

ORIGEN Y DESTINO DEL CARBONO ORGÁNICO USANDO ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES COMO BIOMARCADORES

Los ácidos grasos son las unidades estructurales de los lípidos (grasas) y tienen tres funciones principales en los organismos, 1) como reserva energética en depósitos grasos constituyendo ceras y triglicéridos (TAG), con un valor energético de hasta 9.4 kcal g⁻¹, 2) como elementos estructurales de las membranas celulares organizados en una doble capa lipídica con propiedades anfipáticas; constituyendo fosfolípidos y esfingolípidos, o bien, como galactolípidos en las membranas tilacoidales de los cloroplastos de las células vegetales, y 3) como precursores de eicosanoides, sustancias parecidas a las hormonas que regulan procesos de inflamación, vasodilatación, vaso constricción y coagulación.

Algunos AG se consideran esenciales dado que las células autótrofas (vegetales) tienen dos enzimas que no están presentes en células heterótrofas (animales) con las que se sintetizan los ácidos linoléico (18:2 ω 6) y α -linolénico (18:3 ω 3). Debido a lo anterior se consideran esenciales para los animales y son el origen de las dos principales series de AG poliinsaturados ω 6 y ω 3.

Los AG de la serie ω 6 tienen las funciones de modular la estructura de la membrana, formar moléculas biológicamente activas de vida corta (eicosanoides) responsables de la inflamación, formación de plaquetas y vaso constricción de venas y arterias, y de controlar la impermeabilidad en la piel y regular la síntesis y el transporte de colesterol (Demetz *et al.*, 2014). A su vez, los AG de la serie ω 3 tienen las funciones de formar la mielina que favorece la comunicación neuronal y, por lo tanto, el funcionamiento del sistema nervioso de los animales. Son precursores de moléculas bioactivas como los tromboxanos A₂, que evitan la agregación de plaquetas, promueven la dilatación de vasos sanguíneos y permiten una reacción de coagulación más lenta. A partir del 18:2 ω 6 se sintetiza el ácido araquidónico (20:4 ω 6 o ARA) y a partir del 18:3 ω 3 el eicosapentaenóico (20:5 ω 3 o EPA). Los eicosanóides derivados del 20:4 ω 6 y el 20:5 ω 3 son antagonistas entre sí y compiten por la enzima ciclooxigenasa (Cohen *et al.*, 1995).

En los humanos, un desbalance en la dieta en favor de los ω 6, abundantes en los aceites provenientes de semillas de plantas terrestres, conduce a problemas como la arteriosclerosis, trombosis, presión sanguínea alta, cáncer de colon y próstata, así como a enfermedades relacionadas con reacciones

de inflamación como asma, artritis, soriasis, lupus eritematoso y nefritis. Dichas enfermedades se pueden prevenir y controlar con una dieta rica en AG $\omega 3$ que se encuentran en los peces marinos como resultado de la transferencia en las redes tróficas marinas. La proporción $\omega 6:\omega 3$ óptima para los seres humanos es de 2:1 pero se considera buena hasta 7:1 (Cohen *et al.*, 1995).

Los ácidos poliinsaturados (PUFA, por sus siglas en inglés) de la serie $\omega 6$ como el 20:4 $\omega 6$ o ARA y de la serie $\omega 3$ como el 20:5 $\omega 3$ o EPA y el 22:6 $\omega 3$ o DHA, son indicadores de la calidad del C orgánico proveniente de los productores primarios. Se sintetizan principalmente por las microalgas marinas que son de vida libre como las diatomeas que componen la mayor parte del fitoplancton o como simbiosis de los corales como las zooxantelas (dinoflagelados).

En este capítulo se presentan los resultados de la transferencia trófica de dichos AG a partir de los principales productores primarios del PNSAV: manglar, pastos marinos, macroalgas, fitoplancton y zooxantelas hacia los diferentes consumidores erizos, esponjas, corales, moluscos y peces.

Por otro lado, los esteroides son moléculas orgánicas que desempeñan papeles importantes en la fisiología de los organismos eu-

cariontes. Por ejemplo, el colesterol forma parte de la membrana celular en animales controlando la fluidez de la membrana, y funge como segundo mensajero en señales hormonales durante el desarrollo de los organismos. El tipo de esteroide más común en los vertebrados es el colesterol, que es vital para la estructura de la membrana de la célula animal, y funciona como un precursor de vitaminas solubles en grasas y hormonas esteroideas. A su vez, el coprostanol 5 β -Coprostanol (5 β -colestano-3 β -ol) es un esteroide producto de la biohidrogenación del colesterol por actividad bacteriana durante su paso por el tracto digestivo de los seres humanos. Se usa como biomarcador de la presencia de residuos de heces humanas en ambientes marinos, provenientes de aguas residuales (Bethell *et al.* 1994, Bujagic *et al.*, 2016). Debido a que el coprostanol no es soluble en agua, se encuentra asociado a la materia suspendida particulada (MSP) en la columna de agua o en los sedimentos (Bull *et al.*, 2002, Bujagic *et al.*, 2016).

En la última parte del capítulo se muestran los resultados de los esteroides como biomarcadores de C antropogénico en la MSP del PNSAV (Carreón-Palau, 2015; Carreón-Palau *et al.*, 2017).

MÉTODOS

UBICACIÓN DEL ÁREA DE TRABAJO

El PNSAV se encuentra en el suroeste del golfo de México, entre 19°02'24.00" y 19°15'27.11"N, y entre 96°12'01.00" y 95°46'46.19"W (DOF, 2012), y está delimitado al norte por el río La Antigua y al

sur por el río Papaloapan, con el río Jamapa descargando al centro del área. El PNSAV está constituido por grupos de arrecifes adyacentes al puerto y ciudad de Veracruz hacia el norte y a la población de Antón Lizardo hacia el sur (figura 1).

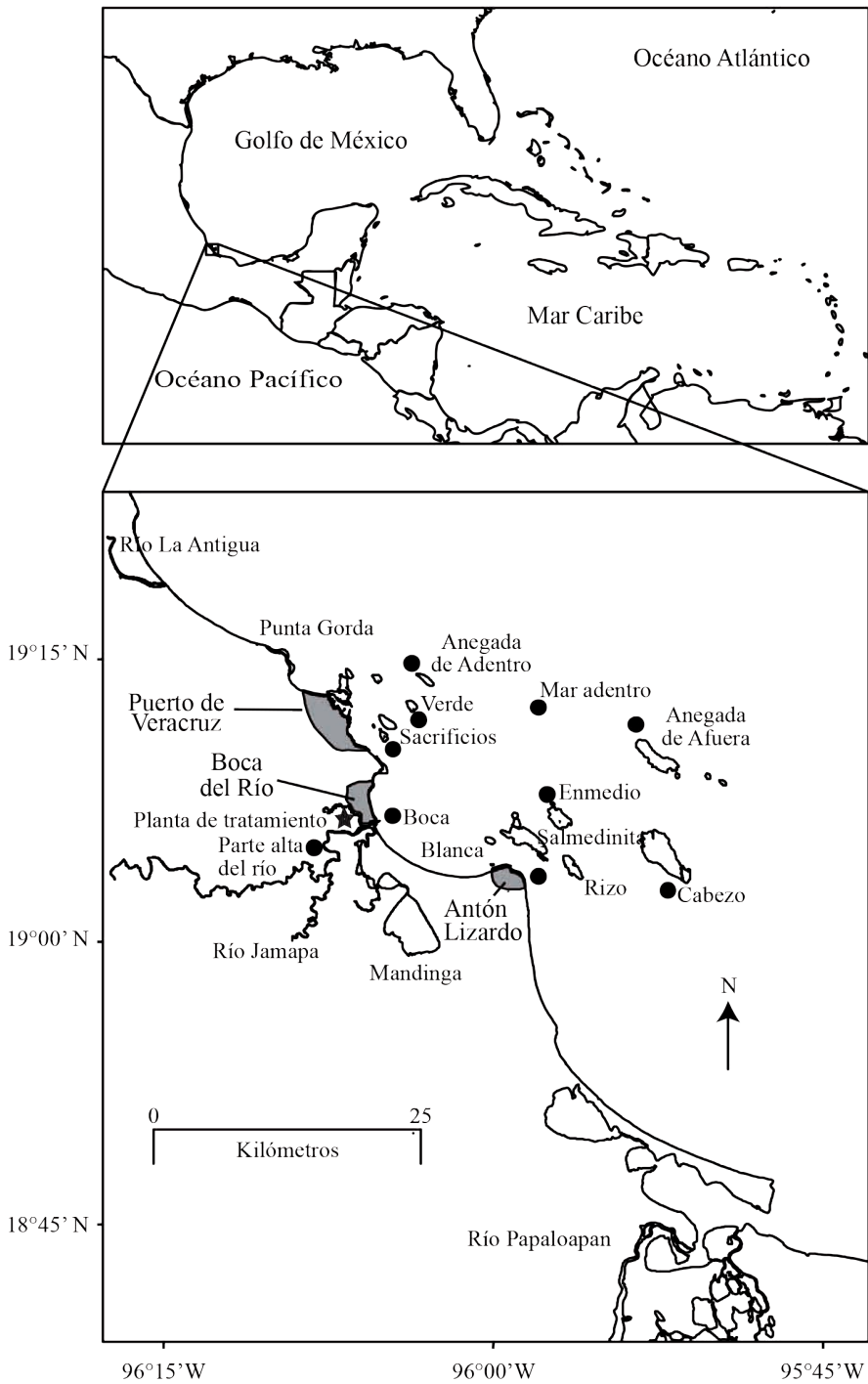


Figura 1. Mapa del Sistema Arrecifal Veracruzano. La estrella muestra la ubicación de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR), los puntos representan los sitios de muestreo para materia suspendida particulada.

La región del PNSAV es afectada por dos procesos atmosféricos estacionales que resultan en diferentes condiciones oceanográficas. Durante el invierno (noviembre–mayo), las incursiones frontales de los sistemas del norte (Nortes), producen vientos de 120 km h^{-1} y una corriente marina en dirección hacia el sur. En esta temporada, la precipitación mensual es de $34 \pm 15 \text{ mm}$ (temporada seca). Durante el verano (junio a octubre), las condiciones atmosféricas son dominadas por las tormentas tropicales del sur, que producen altas tasas mensuales de precipitación de $265 \pm 99 \text{ mm}$ (temporada de lluvias), y el sistema de corrientes fluye con dirección norte (Zavala-Hidalgo *et al.*, 2003).

Las temperaturas más altas ($26\text{-}30 \text{ }^\circ\text{C}$) se registran entre mayo y octubre, mientras que las más bajas ($20\text{-}22 \text{ }^\circ\text{C}$) se registran de noviembre a marzo (Okolodkov *et al.*, 2011). Durante el verano cuando los vientos vienen del sur, un remolino ciclónico se desarrolla frente al puerto de Veracruz, que favorece la productividad primaria y secundaria del área. En el invierno cuando los vientos vienen del Norte o hay vientos variables hacia el sur, dicha productividad disminuye en el área (Salas-Monreal *et al.*, 2009).

SELECCIÓN DE MIEMBROS DE LA TRAMA TRÓFICA

Se seleccionaron los productores primarios, *i.e.*, la mayoría de las macroalgas dominantes y el pasto marino, con la ocurrencia estacional más amplia según Okolodkov *et al.* (2007). Para la selección de miembros de la red alimentaria superior se utilizaron criterios basados en la biomasa, la frecuencia, la abundancia y la presencia en estaciones tanto secas como lluviosas de un estudio

previo en el PNSAV (Pérez-España & Vargas-Hernández, 2008). La estimación del nivel trófico (TL) de 1 fue asignado a productores primarios; para los consumidores, el TL se estimó en $1 +$ (el promedio ponderado del nivel trófico de presa). Así, un consumidor que consuma 40% de plantas (TL= 1) y 60% de herbívoros (TL= 2), tendrá un nivel trófico de $1 + ([1 \times 0.4] + [2 \times 0.6]) = 2.6$.

COLECTA DE MUESTRAS

Los productores primarios se colectaron al final de la estación seca en abril de 2007 y 2008. Los especímenes de algas verdes *Halimeda opuntia*, algas café *Dictyota sp.*, y algas rojas *Galaxaura sp.*, así como la especie más abundante de pasto marino, *Thalassia testudinum*, fueron colectados por buceo libre en la laguna arrecifal del Cabezo. Se recogieron hojas de mangle a mano (con guantes de nitrilo), de árboles ubicados en Arroyo Moreno en el margen del río Jamapa. El material particulado suspendido (MPS) se colectó utilizando protocolos de muestreo de plancton (Okolodkov *et al.*, 2011). Las muestras fueron tomadas desde una embarcación pequeña (panga), realizando arrastres de redes con una luz de malla de 30 y $120 \text{ }\mu\text{m}$ para recolectar fitoplancton y zooplancton, respectivamente. Las redes fueron remolcadas a 2 km h^{-1} por 5 min y se tomó una alícuota para identificación (Okolodkov *et al.*, 2011) como parte del proyecto. Se seleccionaron 9 estaciones del PNSAV: la desembocadura del río Jamapa, arrecifes Enmedio, Cabezo, Anegada de Afuera, Anegada de Adentro, Verde y Sacrificios, una estación fuera de la costa entre Anegada de Adentro y Anegada de Afuera, y una estación fuera de la costa del pueblo de Antón Lizardo (figura 1).

También se colectaron muestras de plancton y pasto marino al final de la temporada lluviosa en octubre de 2008, para investigar la variación estacional en sus AG. Las muestras de plancton se centrifugaron para concentrar la biomasa, y las macroalgas se limpiaron de epífitas.

Los organismos de niveles tróficos superiores fueron colectados al final de la temporada lluviosa en septiembre-octubre de 2007 y al final de la temporada seca en abril-mayo de 2008. Se tomaron muestras en los arrecifes de Cabezo, Rizo y Salmedinita en el sur y en los arrecifes Sacrificios y Anegada de Adentro en el norte. Los buzos siguieron un transecto desde la parte más profunda del arrecife hasta la más somera, colectando peces grandes con un arpón y peces pequeños con una solución anestésica de eugenol (Santander-Monsalvo, 2010). Para el análisis de tejidos blandos completos, se obtuvieron muestras de erizos de mar (*Echinometra lucunter*) y pequeños peces (*Coryphopterus personatus* y *Halichoeres burekai*). Submuestras de tejido muscular fueron tomadas del pez cirujano *Acanthurus chirurgus*, de la vieja española *Bodianus rufus*, el pargo de cola amarilla *Ocyurus chrysurus*, y de la cojinuda *Caranx hippos*.

El C orgánico de las aguas residuales urbanas se rastreó con esteroides, en particular con coprostanol. Las localidades incluyen dos estaciones antes y después de la PTAR de Boca del Río, que desemboca en el cárcamo de la Zamorana, una estación aguas arriba en el río Jamapa y nueve estaciones en el PNSAV. Se tomaron muestras de agua de mar superficial con una botella de plástico. Las botellas se preservaron en hielo en condiciones de obscuridad (~ 5 h) hasta llegar al labo-

torio. Se filtraron entre 0.5 y 4 L de agua de mar usando una bomba de vacío, a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/F (47 mm diámetro y un tamaño de poro nominal de 0.7 mm) previamente incinerado a 480 °C por 24 h y llevados a peso constante (Carreón-Palau *et al.*, 2017). Los filtros GF/F se enjuagaron con agua destilada antes de ser liofilizados.

Todas las muestras se deshidrataron en una liofilizadora (Lyophilizer Virtis 5L) y fueron molidas hasta obtener un polvo fino con el fin de homogenizarlas antes de pesarlas en una balanza analítica (Heraeus, peso máximo de 60 g).

ANÁLISIS DE ISÓTOPOS ESTABLES

Los lípidos no se extrajeron para incluirlos como fuente alimenticia en las señales isotópica (Matthews & Mazumder, 2005). Se pesaron submuestras de alrededor de 2 mg con dicha balanza analítica y se analizó el $\delta^{15}\text{N}$ y $\delta^{13}\text{C}$ en un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas (OPTIMA) interconectado en flujo continuo a un analizador elemental Carlo Erba NA 1500 en la Universidad de California en Santa Cruz. La precisión del instrumento fue del 0.14 ‰ para el nitrógeno y del 0.08 ‰ para el carbono. Los resultados se compararon con respecto a los estándares internacionales de nitrógeno atmosférico (AIRE, N_2) para nitrógeno y Viena Pee Dee Belemnite (V-PDB) para el carbono. Las relaciones de isótopos de nitrógeno y carbono estables se expresan cómo:

$$\delta^{15}\text{N} \text{ o } \delta^{13}\text{C} = \left[\left(\frac{R_{\text{muestra}}}{R_{\text{estándar}}} - 1 \right) \right] \times 1000$$

dónde R es ^{15}N : ^{14}N para $\delta^{15}\text{N}$ y ^{13}C : ^{12}C para $\delta^{13}\text{C}$.

ANÁLISIS DE LÍPIDOS, ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES

Los lípidos totales se extrajeron con cloroformo: metanol: agua en proporciones 2:1:0.8 según Parrish (1999), y los extractos lipídicos de cada muestra fueron divididos en dos porciones. La primera porción fue separada en clases de lipídicas por cromatografía en capa fina empleando un Iatroscan-Chromarod (Parrish, 1987) para cuantificar los triacilglicéridos (TAG) y los esteroides totales (ST). La segunda porción del extracto lipídico se derivatizó con ácido clorhídrico y metanol 5:95 calentado a 85 °C durante 2.5 h para obtener ésteres metílicos de los AG (AGME o FAME por sus siglas en inglés) (Sato & Murata 1988). Los AGME se extrajeron mediante tres lavados en hexano puro que posteriormente se evaporó con nitrógeno. Los AGME se recuperaron en 0.5 ml de hexano puro y se analizaron en un cromatógrafo de gases Varian 3800 con un detector de espectrómetro de masas (GC-MS, por sus siglas en inglés), empleando una columna Omegawax 250 (Supelco) de 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm. Los picos cromatográficos se identificaron por el tiempo de retención de los estándares y la interpretación de sus espectros de masas. Las áreas se integraron con el Software Wsearch 32 (Wsearch 2008; versión 1.6 2005). La cuantificación se realizó por interpolación de las áreas de los picos con una curva de calibración de 37 estándares de AG (Supelco 47885-U).

Por otro lado, se pesaron los filtros liofilizados para obtener la concentración seca del MPS. Las muestras de MPS colectadas con los filtros GF/ F se usaron para determinar este-

roles después de inyectar los AG. Para esto el hexano se secó con nitrógeno gaseoso (dichos datos no se muestran en este capítulo pero se pueden revisar en Carreón-Palau *et al.*, 2017) y los esteroides se trimetil sililaron con 100 μL de bis-trimetil silil-trifluoroacetamida (BSTFA) Supelco: 3-2024 a 85 °C durante 15 min, se recuperaron en hexano y se analizaron en un cromatógrafo de gases-detector de masas Hewlett Packard 6890 GC-MS con una columna DB-5 30 m 0.32 mm x 0.25 mm. Los picos de los esteroides se identificaron con los tiempos de retención de los estándares usados (Sigma-Aldrich) y la interpretación de sus espectros de masas (Carreón-Palau *et al.*, 2017). Se creó una curva de calibración con colesterol, campesterol y sitosterol de 10 a 200 μg mL⁻¹. El volumen de hexano se ajustó para obtener una concentración de cada esteroide en el rango lineal medible. Las áreas fueron integradas con el software Wsearch 32 (Wsearch, 2008; versión 1.6, 2005). Las proporciones de los esteroides se determinaron con un Varian GC-FID. Las áreas se integraron con el software Galaxy y cada área de esteroide se calculó como la proporción del área total. Esta proporción se relacionó con la fracción de ST con respecto a la de biomasa seca para obtener la concentración del coprostanol por unidad de biomasa seca (ng mg⁻¹) y con respecto al volumen filtrado (ng L⁻¹).

ANÁLISIS DE DATOS

La contribución relativa de las diversas fuentes de productores primarios a los diferentes consumidores se estimó mediante un modelo de mezcla de isótopos estables bayesiano. El código de este modelo se obtuvo del paquete de acceso libre en lenguaje R, Análisis de Isótopos Estables en R (SIAR- Stable Isoto-

pe Analysis in R) utilizando R studio (2012; versión 0.96.316, 2009-2011). El modelo permite la inclusión de los valores isotópicos y de fraccionamiento trófico junto con la incertidumbre (*i.e.* desviación estándar) de estos valores dentro del modelo. El modelo SIAR se ajusta con cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC), para producir simulaciones de valores plausibles de las proporciones de la contribución de cada ítem de la dieta a los consumidores, consistentes con los datos, se usa una distribución previa de Dirichlet (Parnell *et al.*, 2010). Las distribuciones de probabilidad resultantes de las contribuciones relativas de diferentes fuentes a la dieta de consumidores, producidas por SIAR, permiten la identificación directa de la solución más probable (es decir, el valor mediano) (Parnell *et al.*, 2010). Los factores de fraccionamiento promedio se establecieron en $1.1\text{‰} \pm 0.3\%$ y $2.8\text{‰} \pm 0.4\%$ para C y N, respectivamente (McCutchan *et al.*, 2003). En este estudio el uso del modelo no fue restringido a la dieta (ítems) para cada nivel trófico; sino que se consideraron todos los productores primarios colectados como fuentes potenciales para todos los consumidores (Carreón-Palau *et al.*, 2013).

La concentración individual de AG (mg g^{-1} de peso seco) en los niveles tróficos superiores se corrigió para la contribución relativa de cada productor primario según el modelo de mezcla isotópico (ecuación 1),

$$\text{Ec. 1: } [C_s] = [C_{\text{cons}}] \times (P_s/100).$$

dónde C_s = la concentración de AG en el consumidor corregidos por la proporción de fuente ($\mu\text{g mg}^{-1}$), C_{cons} = concentración de

AG en el consumidor (mg g^{-1}), y P_s = la proporción de la fuente en el consumidor (%).

La retención corregida de AG de cada productor primario se evaluó en los niveles tróficos superiores utilizando el factor de retención trófica (FRT). La retención de los ácidos grasos depende de los requerimientos fisiológicos de los organismos. Esto puede resultar en menor o mayor concentración de AG por unidad de biomasa y está regulado por los consumidores. En este estudio, la concentración de AG con respecto al peso seco de los peces pequeños y los erizos de mar se refieren al organismo homogenizado sin tejidos calcáreos. Mientras que en los niveles tróficos más altos se usó músculo para el cálculo del FRT. La ecuación 2 fue utilizada para calcular el cambio de los AG por nivel trófico relativo de cada productor primario utilizado el logaritmo natural de la concentración de peso seco ($C_{\text{dry wt}}$) de organismos individuales *vs.* su nivel trófico (TL):

$$\text{Ec. 2: } \ln [C_{\text{dry wt}}/C_0] = \alpha + \beta \times \text{TL}$$

dónde C_0 = una unidad estándar de concentración (1 mg g^{-1}), α = el intercepto, β = la pendiente, y TL= el nivel trófico sin unidades. $\text{FRT} = e^\beta$. El Software Minitab (versión 15.1.1.0, 2007) se utilizó para probar la significancia de la regresión mediante un análisis básico de varianza: un valor de probabilidad de $p < 0.05$, significa que la pendiente β es significativamente diferente de cero o que el $\text{FRT} = e^\beta$ es diferente de 1. Los valores de $\text{FRT} = 1$ indican que no hubo cambio trófico con respecto a la fuente, $\text{FRT} > 1$ significa retención trófica, y $\text{FRT} < 1$ significa disminución trófica, probablemente por el cata-

bolismo o alargamiento y/o desaturación de la cadena de carbonos de cada ácido graso.

La proporción de ceras y esteril esterios de TAG con respecto al total de lípidos, la proporción C:N, la proporción TAG:ST de los diferentes miembros de la trama trófica, así como la proporción de gorgosterol con respecto a los esterios totales del coral *M. cavernosa* se compararon entre temporadas con un análisis de varianza de una via ($\alpha=0.05$) con el programa estadístico minitab versión 15.

Por otro lado se estableció el valor de referencia del coprostanol a partir de dos muestras de una planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) que procesa residuos de > 140 000 personas y se ubica cerca del PNSAV. Estos valores se contrastaron con los obtenidos durante las temporadas de secas y lluvias en mayo y octubre de 2008, respectivamente. La concentración de coprostanol se comparó con su equivalente en el número más probable de coliformes fecales (Isobe *et al.*, 2004). Se utilizó el programa SURFER para mostrar la distribución espacial en la temporada de secas y lluvias.

RESULTADOS

ISOTOPOS ESTABLES Y LA RELACIÓN CARBONO/NITRÓGENO

Los productores primarios mostraron valores isotópicos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) y de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) suficientemente diferentes ($\alpha < 0.05$) como para separarlos entre sí, lo que permite trazarlos en la red trófica (Carreón-Palau *et al.*, 2013). Por ejemplo, los productores primarios terrestres (mangle) tuvieron valores de $\delta^{13}\text{C}$ muy por debajo de los productores primarios marinos (pastos marinos, macroalgas y fitoplancton) (figura 2). El alga roja *Galaxaura* sp. Mostró valores de $\delta^{15}\text{N}$ de $-2.0\% \pm 1.5\%$, el alga verde *H. opuntia* mostró valores de $-0.7\% \pm 0.8\%$, y el alga parda *Dictyota* sp. valores de $-0.09\% \pm 0.68\%$. En contraste, el fitoplancton mostró los valores más altos en este estudio ($5.1\% \pm 0.6\%$). En el caso de el pasto marino *T. testudinum* los

valores fueron intermedios ($3.3\% \pm 0.6\%$). El manglar *R. mangle* tuvo valores similares, consistentes con un suelo inundado ($2.0\% \pm 0.2\%$).

El manglar (*R. mangle*) presentó una relación C:N que osciló entre 15 y 25 (figura 3). Del mismo modo, el pasto marino (*T. testudinum*) tuvo una relación C:N de 16 ± 3 (tabla 2). El alga roja (*Galaxaura* sp.) tuvo la relación C:N más grande (26 ± 2), similar al alga verde *H. opuntia*, ambos significativamente más altos que el del alga café *Dictyota* sp. (20 ± 1), ($F_{5, 21}=4.7$, $p=0.008$) (tabla 2). Para el fitoplancton, se observaron ligeras diferencias en la relación C:N entre la temporada de secas (10 ± 2) y la temporada de lluvias (12 ± 1); sin embargo, dichas diferencias no fueron significativas (tabla 2).

Tabla 1. Clasificación taxonómica, localidad, tamaño de la muestra para lípidos y tamaño de la muestra para los análisis de carbono y nitrógeno (entre paréntesis) de los productores primarios y consumidores colectados en el PNSAV. Tomado de Carreón-Palau *et al.* (2018).

Muestra/Nombre científico (nombre común)	Reino/Filum/ Clase/Orden/ Familia	Secas (n)	Lluvias (n)	Localidad Temporada Secas	Localidad Temporada Lluvias
<i>Rhizophora mangle</i> (manglar rojo)	Plantae / Traqueofita / Angiospermas/ Myrtaceas / Rhizophoraceas	4(4)	-	Lagos de Moreno	-
<i>Thalassia testudinum</i> (pasto marino)	Plantae / Traqueofita / Angiospermas / Najadales / Hydrocartaceas	3(4)	-	Rizo	Cabezo
<i>Halimeda opuntia</i> (alga verde)	Plantae/ Chlorofita / Bryopsidoficeas / Bryopsidales / Halimedaceas	5(4)	-	Cabezo	-
<i>Galaxaura</i> sp. (alga roja)	Plantae / Rhodofita / Florideoficeas / Nemaliales / Galaxauraceas	4(3)	-	Cabezo	-
<i>Dictyota</i> sp. (alga café)	Plantae / Chromalveolata / Heterokontofita / Phaeoficeas / Dictyotales / Dictyotaceas	4(4)	-	Cabezo	-
Zooxantelas	Dinoflagelados/ <i>Symbiodinium</i> sp.	-	4(0)	-	Blanca
30 µm arrastre	Fitoplancton	9(5)	9(4)		
120 µm arrastre	Zooplancton	9(4)	9(4)		
<i>Pinna carnea</i> (callo de hacha)	Animalia / Mollusca / Bivalvia Pterioidea/ Pinnidae	7(0) I, H	4(0) I, H	Giote y Cabezo	Giote y Cabezo
<i>Aplysina</i> sp. (esponja)	Animalia / Porifera / Demospongiae / Verongida / Aplysiniidae	6(0)	2(0)	Giote y Blanca	Verde y Cabezo
<i>Montastrea cavernosa</i> (coral)	Animalia / Cnidaria / Scleractinia / Faviidae	7(0)	4(0)	Cabezo y Blanca	Cabezo y Blanca
<i>Echinometra lucunter</i> (erizo de mar)	Animalia / Echinodermata / Echinoidea / Echinoidea / Echinometridae	3(14) I	4(13) H	Blanca	Cabezo
<i>Acanthurus chirurgus</i> (cirujano)	Animalia / Chordata / Actinopterygii / Beryciformes / Acanthuridae	4(10) M, H	5(5) M, H	Salmedina	Rizo
<i>Coryphopterus personatus</i> (gobio enmascarado)	Animalia / Chordata / Actinopterygii / Perciformes / Gobidae	3(6)	5(18)	Blanca	Verde y Anegada Adentro
<i>Bodianus rufus</i> (pez perro)	Animalia / Chordata / Actinopterygii / Perciformes / Labridae	3(7) I, M	5(15) I, M	Anegada Adentro	Anegada Adentro
<i>Ocyurus chrysurus</i> (pargo de cola amarilla)	Animalia / Chordata / Actinopterygii / Perciformes / Lutjanidae	3(10) I, M, H	5(15) M, H	Verde	Santiagoullo
<i>Caranx hippos</i> (cojinuda)	Animalia / Chordata / Actinopterygii / Perciformes / Carangidae	3(10) I	4(9) I	Mandinga	Boca del río Jamapa

M = Machos, H = Hembras, I = Inmaduros

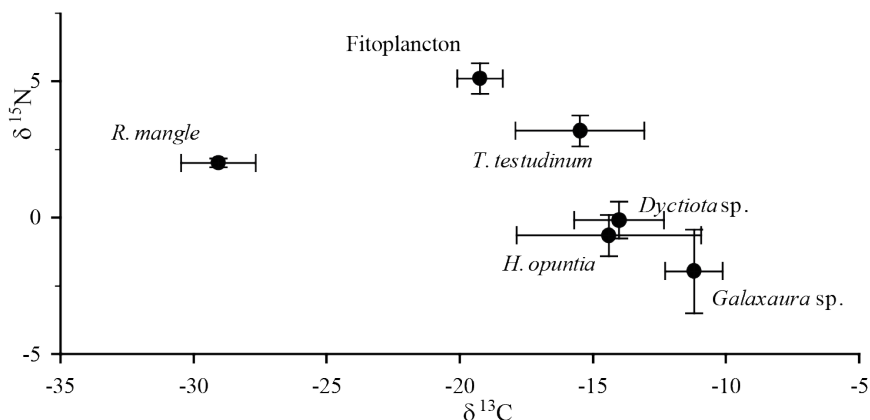


Figura 2. Valores isotópicos del $\delta^{13}\text{C}$ y del $\delta^{15}\text{N}$ en los productores primarios del Sistema Arrecifal Veracruzano. Valores menos enriquecidos (más negativos) en el $\delta^{13}\text{C}$ permiten separar los productores primarios terrestres (*R. mangle*) de los marinos como el fitoplancton, los pastos marinos (*T. testudinum*), y las macroalgas (*Dictyota* sp., *H. opuntia* y *Galaxaura* sp.). Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ cercanos a cero, como los que se observan en las macroalgas, permiten identificar la fuente de nitrógeno basada en fertilizantes agrícolas, ya que éstos son elaborados a partir de nitrógeno atmosférico. Valores más enriquecidos denotan una mayor contribución de fuentes orgánicas resultantes de la descomposición bacteriana.

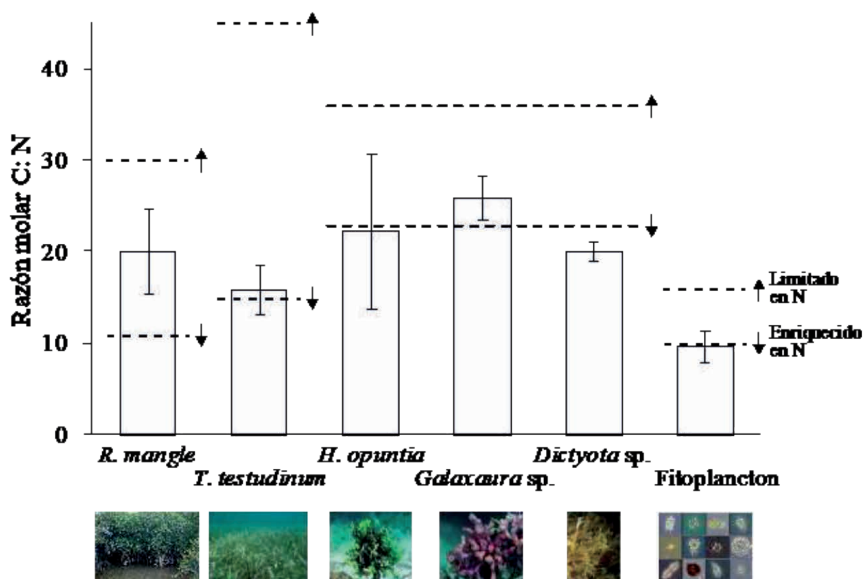


Figura 3. Relación molar carbono: nitrógeno en los productores primarios del Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano (PNSAV). Los arrecifes coralinos en condiciones prístinas se caracterizan por estar limitados en nitrógeno, condición representada por valores por encima de las líneas punteadas superiores (con flechas hacia arriba). En el PNSAV los valores cercanos o por debajo de las líneas punteadas inferiores (con las flechas hacia abajo) indican condiciones de enriquecimiento con nitrógeno, lo que denota un exceso de nutrientes.

Tabla 2. Longitud estándar, peso húmedo y calidad nutricional de los productores primarios y condición nutricional de los consumidores en el PNSAV. Nivel trófico de acuerdo a Carreón-Palau *et al.* (2013), tomado de Carreón-Palau *et al.* 2018.

Miembro de la red trófica	Temporada	Longitud estándar (cm)	Peso húmedo (g)	Nivel trófico	Relación molar de C: N	Lípido totales (mg g ⁻¹ peso seco)	Relación TAG: ST
Productores primarios							
<i>R. mangle</i> (hojas)	secas	8±2 ^a	0.4±0.1 ^a	1	20±5 ^a	24±17 ^b	0.8±0.7 ^a
<i>T. testudinum</i> (hojas)	secas	35±5 ^b	2±1 ^b	1	16±3 ^{ab}	10±4 ^a	1.5±1.4 ^a
<i>H. opuntia</i> (completo)	secas	5±1 ^c	29±20 ^c	1	22±8 ^a	36±19 ^b	13±11 ^a
<i>Galaxaura</i> sp. (completo)	secas	12±3 ^a	22±3 ^c	1	26±2 ^a	5±2 ^a	3.2±2.7 ^a
<i>Dictyota</i> sp. (completo)	secas	9±2 ^a	15±2 ^c	1	20±1 ^a	25±7 ^b	0.4±0.3 ^a
Fitoplancton (× m3)	secas	0.00003 ^d	0.04±0.01 ^d	1	10±2 ^b	27±5 ^b	1.9±0.2 ^a
Fitoplancton (× m3)	lluvias	0.00003 ^d	0.02±0.01 ^d	1	12±1 ^b	51±30 ^{bc}	20±19 ^a
Simbiontes							
Zooxantelas (5±2 cm2)	lluvias	-	0.17±0.03 ^e	1	-	73±13 ^c	2.1±1.2 ^a
Estadístico		IC 95%	IC 95%		F6, 21=4.7	F7, 34=5.7	F7, 34=1.2
P		<0.05	<0.05		0.008	0.001	0.314
Invertebrados							
Herbívoros							
<i>E. lucunter</i>	secas	4.2±0.3 ^a	34.2±7.8 ^{ab}	2.1	8.5±0.4 ^a	63±52 ^{ab}	6±5 ^a
<i>E. lucunter</i>	lluvias	-	-	2.1	12±1 ^b	102±38 ^b	25±14 ^c
Planctívoros/detrítívoros							
<i>P. carnea</i>	secas	13±2 ^b	17±9 ^a	-	-	27±7 ^a	0.7±0.6 ^a
<i>P. carnea</i>	lluvias	20±4 ^c	53±20 ^b	-	-	75±9 ^b	1.6±0.4 ^a
<i>Aplysina</i> sp.	secas	21±6 ^c	24±5 ^a	-	-	64±17 ^b	1.0±0.9 ^a
<i>Aplysina</i> sp.	lluvias	30±10 ^c	28±11 ^a	-	-	77±27 ^{ab}	0.4±0.1 ^a
Planctívoros							
Zooplancton (× m3)	secas	0.00012 ^d	0.2±0.1 ^c	2.0	-	36±18 ^a	9±6 ^{bc}
Zooplancton (× m3)	lluvias	0.00012 ^d	0.7±0.3 ^d	2.0	12±2 ^b	36±11 ^a	7±2 ^b
<i>M. cavernosa</i> (pieza)	secas	12.1±5.9 ^{ab}	17±9 ^a	-	-	49±9 ^a	6±3 ^b
<i>M. cavernosa</i> (pieza)	lluvias	5.3±2.3 ^a	49±19 ^b	-	-	36±18 ^{ab}	1.4±0.5 ^a
Estadístico		IC 95%	IC 95%		F ^{2,28} =21.9	F ^{9,45} =3.8	F ^{9,45} =4.0
P		<0.05	<0.05		0.001	0.002	0.001
P		<0.05	<0.05		<0.001	<0.001	0.001
C= Carbón, N = Nitrógeno, TAG = Triglicéridos, ST = Esteroles. Los valores son la media ± 95% de intervalo de confianza (IC). Los superíndices denotan diferencias significativas. Se realizaron comparaciones múltiples pareadas entre productores primarios, invertebrados y peces de manera independiente. F= Estadístico de Fisher, p= Valor de probabilidad de error de Tukey.							

Tabla 2. Longitud estándar, peso húmedo y calidad nutricional de los productores primarios y condición nutricional de los consumidores en el PNSAV. Nivel trófico de acuerdo a Carreón-Palau *et al.* (2013), tomado de Carreón-Palau *et al.* 2018.

Miembro de la red trófica	Temporada	Longitud estándar (cm)	Peso húmedo (g)	Nivel trófico	Relación molar de C: N	Lípido totales (mg g ⁻¹ peso seco)	Relación TAG: ST
Peces teleósteos							
Herbívoros/detritivóros							
<i>A. chirurgus</i>	secas	21±2 ^a	262±64 ^a	2.4	3.6±0.1 ^{ab}	35±20 ^a	1.1±0.4 ^a
<i>A. chirurgus</i>	lluvias	23±1 ^a	292±42 ^a	2.4	3.8±0.1 ^{ab}	29±10 ^a	5±2 ^a
Planctívoros							
<i>C. personatus</i>	secas	3.0±0.1 ^b	0.21±0.02 ^b	2.7	3.8±0.1 ^b	57±21 ^a	0.5±0.3 ^a
<i>C. personatus</i>	lluvias	2.3±0.2 ^c	0.16±0.03 ^b	2.7	4.7±0.1 ^c	114±15 ^c	1.2±0.6 ^a
Malaquívoros/Equinodermívoros							
<i>B. rufus</i>	secas	21±3 ^a	211±62 ^a	3.7	3.2±0.8 ^a	58±5 ^a	1.1±0.4 ^a
<i>B. rufus</i>	lluvias	24±3 ^a	254±59 ^a	3.7	4.1±0.1 ^b	76±17 ^b	50±33 ^b
Piscívoros							
<i>O. chrysurus</i>	secas	19±2 ^a	91±24 ^c	3.7	3.7±0.1 ^{ab}	34±11 ^a	0.3±0.2 ^a
<i>O. chrysurus</i>	lluvias	35±3 ^d	375±82 ^a	3.7	4.0±0.1 ^b	74±14 ^b	27±20 ^b
Juveniles de <i>C. hippos</i>	secas	24±1 ^a	176±31 ^d	3.7	3.7±0.1 ^b	31±17 ^a	4±3 ^a
Juveniles de <i>C. hippos</i>	lluvias	22±1 ^a	140±6 ^d	3.7	5.2±0.4 ^c	181± 65 ^c	68±38 ^b
Estadístico		IC 95%	IC 95%		F ^{9.95} =21.7	F ^{9.45} =10.3	F ^{9.45} =5.0
P		<0.05	<0.05		<0.001	<0.001	0.001

C= Carbón, N = Nitrógeno, TAG = Triglicéridos, ST = Esteroles. Los valores son la media ± 95% de intervalo de confianza (IC). Los superíndices denotan diferencias significativas. Se realizaron comparaciones múltiples pareadas entre productores primarios, invertebrados y peces de manera independiente. F= Estadístico de Fisher, p= Valor de probabilidad de error de Tukey.

CONTRIBUCIÓN DE LAS FUENTES NATURALES DE C Y N A LA TRAMA TRÓFICA

El modelo de mezcla de isótopos estables de C y N (SIAR) permitió estimar la contribución de los productores primarios (fuente natural de carbono y nitrógeno) a los niveles tróficos superiores (figura 4). Este modelo permite reconocer los productores primarios a partir de los cuales se originan estos isótopos, independientemente de si estas fuentes fueron consumidas directa o indirectamente. De acuerdo con el modelo, en el caso

del zooplancton, cuyo nivel trófico (NT) fue igual a 2, las fuentes originarias de carbono y nitrógeno, tanto en temporada de secas como de lluvias, provienen principalmente del mangle y del fitoplancton (figura 4a).

Para el caso del erizo (*Echinometra lucunter*), con un NT=2.1, el alga roja (*Galaxaura* sp.) fue la principal fuente de ambos elementos y su contribución es aún más importante para la temporada de secas que para la temporada de lluvias, en donde tanto algas verdes como rojas y pardas parecen tener una contribución similar en la trama trófica

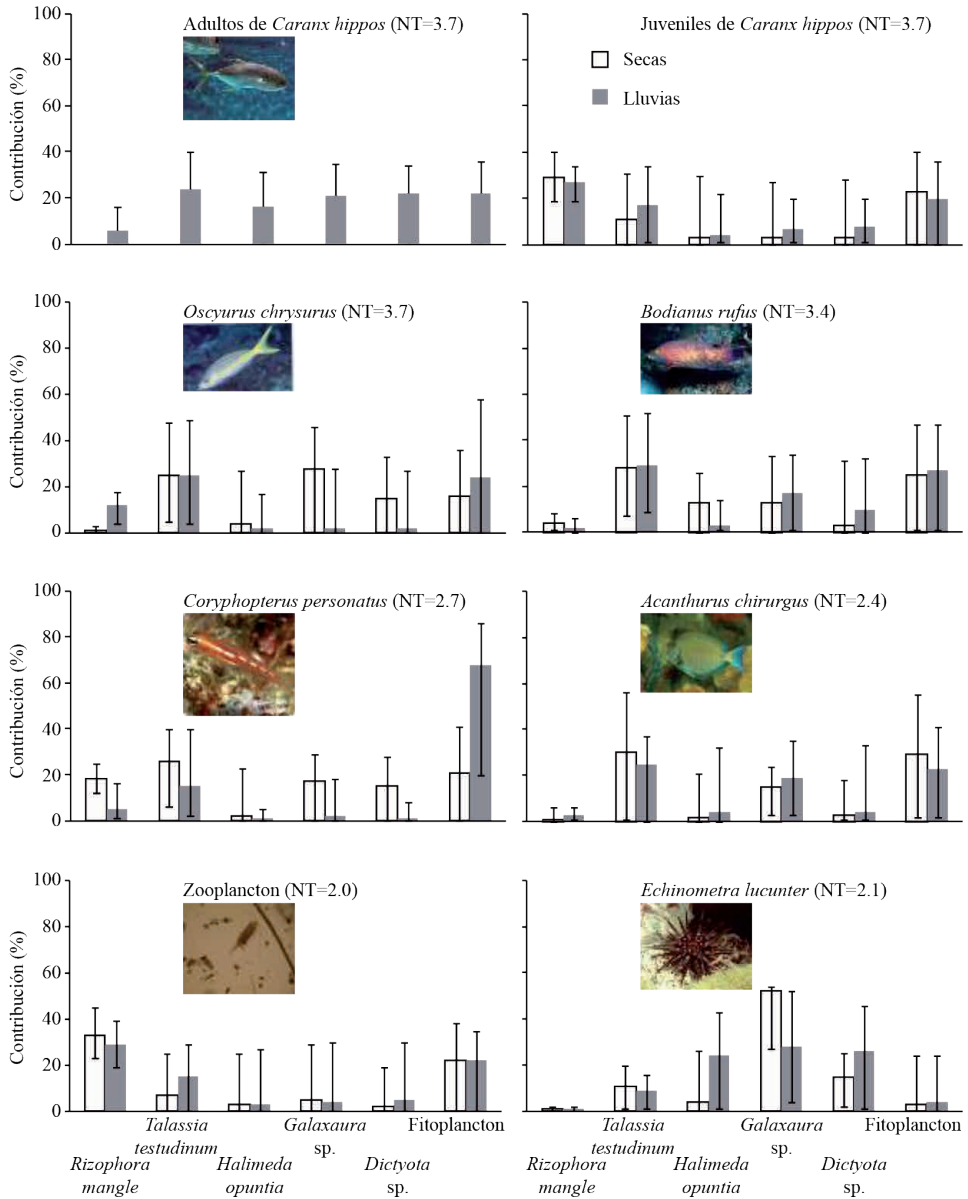


Figura 4. Variación temporal de la contribución directa de cada productor primario a los consumidores primarios e indirecta a los consumidores secundarios y terciarios en el PNSAV.

del erizo. En el caso del cirujano (*Acanthurus chirurgus*), un pez ramoneador considerado como herbívoro, nuestro trabajo muestra que tiene un nivel trófico ligeramente supe-

rior al de los herbívoros (NT= 2.4) y el modelo de mezcla de isótopos estables muestra que el fitoplancton y el pasto marino (*T. testudinum*) contribuyen notablemente en su

cadena trófica. Contrario a lo esperado, las macroalgas no son tan relevantes. De hecho el alga roja (*Galaxaura* sp.) es más importante que el alga parda (*Dictyota* sp.) lo que sugiere que ninguno de los dos herbívoros estudiados podrían funcionar como control biológico de las algas pardas.

El góbido enmascarado o gobio mapache (*Coryphopterus personatus*) tuvo un NT=2.7, es decir muy cercano al esperado para un consumidor secundario. En este pez, la contribución de los productores primarios a su dieta cambió de acuerdo a la temporada. En temporada de lluvias su principal fuente provino del fitoplancton, mientras que en temporada de secas, la contribución de éste a la cadena trófica del góbido disminuyó y aumentó la contribución relativa del mangle y del pasto marino. En el caso del pez perro o vieja española (*Bodianus rufus*), éste mostró un NT= 3.4, y los productores primarios que más contribuyeron a su red trófica fueron el pasto marino y el fitoplancton seguidos del alga roja (*Galaxaura* sp.). Para la rubia (*Ocyurus chrysurus*), con un NT= 3.7, los productores primarios que más contribuyeron a su cadena trófica fueron el pasto y el fitoplancton. En temporada de lluvias el mangle tuvo una contribución moderada. En temporada de secas, esta especie fue la única en la que el alga parda (*Dictyota* sp.) tuvo contribución relevante a su cadena trófica.

Los juveniles de la cojinuda (*Caranx hippos*), mostraron un nivel trófico semejante al de los adultos de esta misma especie (NT= 3.7). En los juveniles, el productor primario que más contribuyó a su cadena trófica durante ambas temporadas fue el mangle y en menor medida el fitoplancton y los pastos

marinos. En comparación, la contribución de los productores primarios a la cadena trófica de los adultos de ésta especie fue más homogénea y se distribuyó entre pasto, macroalgas y fitoplancton, aunque cabe aclarar que no fue posible analizar las fuentes durante la temporada de secas.

De acuerdo con lo anterior, las algas pardas, a pesar de su predominancia en el ambiente arrecifal, contribuyen muy poco a las cadenas tróficas analizadas, por lo que su control no puede limitarse a que sea consumida por otras especies y se requieren acciones más concretas.

LÍPIDOS, ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES

Razón triglicéridos: esteroides (TAG:ST) como indicador de reservas energéticas

Los lípidos y sus unidades estructurales, los ácidos grasos (AG) sirvieron como indicadores de la calidad del carbono en dos temporadas contrastantes: secas y lluvias. De todos los productores primarios, solamente el fitoplancton pudo ser comparado en ambas temporadas en cuanto a la razón TAG:ST. En la temporada de secas el valor de dicho índice fue muy bajo (1.9 ± 0.2). Sin embargo, aunque en la temporada de lluvias se observaron valores muy altos, la extrema variación entre localidades impidió observar diferencias significativas entre temporadas (tabla 2).

En varios filtradores (planctívoros o detritívoros) se observó una tendencia hacia la reducción en la razón TAG:ST entre secas y lluvias; sin embargo, solo en el coral (*M. cavernosa*) esta disminución fue significativa, con una reducción de más de 4 veces el valor de secas (6 ± 3) comparado con el de

lluvias (1.4 ± 0.5). En contraste, el invertebrado herbívoro que se estudió en ambas temporadas fue el erizo (*E. lucunter*), donde hubo un incremento de ~ 4 veces en la razón TAG:ST entre la temporada de secas (6 ± 5) y la temporada de lluvias (25 ± 14).

En el caso de los vertebrados, representados por los peces teleósteos (con espinas), varios de ellos mostraron incrementos en la razón TAG:ST. Por ejemplo, el herbívoro/detrívoro *A. chirurgus* mostró un incremento de más de 4 veces entre secas (1.1 ± 0.4) y lluvias (5 ± 2). Por su parte *B. rufus*, un consumidor de erizos y moluscos, a pesar de la gran variación observada en la temporada de lluvias, mostró un notable incremento entre la temporada de secas (1.1 ± 0.4) y la de lluvias (50 ± 33). Del mismo modo *O. chrysurus*, un piscívoro tuvo también un notable incremento entre secas (0.3 ± 0.2) y lluvias (27 ± 20). Finalmente, en los juveniles de *C. hippos*, de hábitos también piscívoros, el incremento entre secas (4 ± 3) y lluvias (68 ± 38) aunque un poco más modesto, aún fue notable.

De las otras especies en las que se pudo comparar la razón TAG:ST entre temporadas no se observaron cambios significativos. Lo anterior nos permite determinar que mientras una porción de los consumidores primarios y secundarios no tuvo modificaciones notables en la condición (dada por la razón TAG:ST), la mayoría de las especies estudiadas mostraron un incremento en su condición nutricional en la temporada de lluvias. A pesar de ello, los corales mostraron una disminución en su condición nutricional (tabla 2).

Ácidos grasos como indicadores de la calidad del carbono provenientes de fuentes naturales

En las angiospermas tanto marinas como terrestres (pasto marino y mangle) es notable la ausencia de los ácidos grasos 20:4 ω 6, 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3. Estos AG poliinsaturados de cadena larga (LC-PUFA, por sus siglas en inglés) son necesarios para asegurar la salud óptima de los miembros de la red trófica del PNSAV; sin embargo, se observa la presencia de sus precursores, 18:2 ω 6 y 18:3 ω 3. Comparada con la angiosperma marina (pasto), la angiosperma terrestre (mangle) mostró una mayor concentración de estos dos AG así como del 18:1 ω 9 (tabla 3).

En las macroalgas también se observa la presencia de los AG 18:2 ω 6 y 18:3 ω 3 los cuales fueron particularmente abundantes en el alga verde (*H. opuntia*). Además, las macroalgas mostraron distintas concentraciones de los LC-PUFA lo que permite emplearlos para discernirlos como fuente en niveles tróficos superiores. Así, el alga verde mostró altos niveles de 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3 (EPA Y DHA). El alga roja (*Galaxaura* sp.) mostró niveles más bajos de los precursores 18:2 ω 6 y 18:3 ω 3, mientras que de los LC-PUFA sólo el 20:5 ω 3 (EPA) se registró en concentraciones relevantes. En el alga café (*Dictyota* sp.) los precursores registraron sus niveles más bajos, mientras que la concentración de 18:1 ω 9 fue notablemente mayor que en otras macroalgas y solo ligeramente inferior a la observada en el mangle. En esta misma macroalga, la concentración de EPA fue moderada, mientras que la del 20:4 ω 6 (ARA) registró sus valores más altos comparada con cualquier otro productor primario (tabla 3).

Tabla 3. Concentración (mg g⁻¹ de peso seco) de los ácidos grasos necesarios para asegurar la salud óptima de los miembros de la red trófica del PNSAV 20:4ω6, 20:5ω3 y 22:6ω3 y sus precursores 18:2ω6 y 18:3ω6. Los valores son la media ± 95 % de intervalo de confianza.

Miembro de la red trófica	Temporada	18:1ω9	18:1ω7	18:2ω6	18:3ω3	20:4 ω6	20:5 ω3	22:6ω3
Productores primarios								
<i>R. mangle</i> (hojas)	secas	3±2	0.2±0.1	5±3	9±3	–	–	–
<i>T. testudinum</i> (hojas)	secas	0.3±0.1	0.1±0.05	1.0±0.5	2±1	–	–	–
<i>H. opuntia</i> (completo)	secas	1±0.5	1±0.4	3±2	3±2	0.5±0.2	2±1	1.5±0.5
<i>Galaxaura</i> sp. (completo)	secas	0.1±0.05	0.1±0.05	1.0±0.4	0.5±0.2	0.1±0.05	0.5±0.3	0.02±0.01
<i>Dictyota</i> sp. (completo)	secas	2±1	0.1±0.02	0.3±0.2	0.3±0.2	2±0.7	0.9±0.4	–
Fitoplancton (× m ³)	secas	2±1	0.3±0.2	0.4±0.2	0.2±0.1	0.2±0.1	1.0±0.4	2±1
Fitoplancton (× m ³)	lluvias	0.7±0.5	0.3±0.2	0.4±0.1	0.1±0.05	0.3±0.1	1.5±0.5	1.3±0.8
Invertebrados								
Herbívoros								
<i>E. lucunter</i>	secas	2±1	2±1	0.6±0.5	0.4±0.3	7±5	7±6	0.5±0.4
<i>E. lucunter</i>	lluvias	3±2	3±1	2±1	2±1	11±5	6±3	0.5±0.3
Planctívoros								
Zooplancton (× m ³)	secas	2±1	0.8±0.4	0.9±0.4	0.5±0.3	0.6±0.4	1.7±1.0	3±2
Zooplancton (× m ³)	lluvias	1.1±0.5	0.42±0.2	0.9±0.6	0.2±0.1	0.5±0.2	2.4±0.8	2.1±0.8
Peces teleósteos								
Herbívoros/detrítivoros								
<i>A. chirurgus</i>	secas	2±1	0.8±0.4	0.5±0.3	0.2±0.1	4±2	3±2	5±3
<i>A. chirurgus</i>	lluvias	1.4±0.1	0.6±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	2±1	1.6±0.3	2.5±0.2
Planctívoros								
<i>C. personatus</i>	secas	4±1	2±1	0.7±0.5	0.6±0.5	2.1±0.8	2.3±0.6	9±1
<i>C. personatus</i>	lluvias	7±5	7±6	1.1±0.9	1.1±0.9	3±2	3±2	8±6
Malaquívoros/Equinodermívoros								
<i>B. rufus</i>	secas	3±1	0.8±0.3	0.4±0.1	0.1±0.04	3.4±0.6	1.6±0.4	4±2
<i>B. rufus</i>	lluvias	6±2	3±1	1.0±0.2	0.2±0.1	5±2	3.7±0.4	4±1
Piscívoros								
<i>O. chrysurus</i>	secas	2±1	0.5±0.2	0.3±0.2	0.07±0.04	2±1	1.3±0.6	10±4
<i>O. chrysurus</i>	lluvias	8±4	2±1	0.7±0.3	0.2±0.1	2±1	2±1	7±3
Juveniles de <i>C. hippos</i>	secas	2±1	1.2±0.8	0.3±0.2	0.04±0.03	2±1	0.8±0.6	5±3
Juveniles de <i>C. hippos</i>	lluvias	36±15	5±2	1.1±0.3	0.5±0.2	2±1	3±1	11±3
FRT (mín-máx)	secas	0.51–1.81	0.65–1.67	0.06–0.54	0.01–0.49	0.89–1.75	0.55–0.83	1.32–3.67
FRT	lluvias	1.42–3.97	0.92–4.15	0.35–0.92	0.25–0.91	0.89–1.87	0.42–0.85	1.01–2.97

FRT= Factor de retención trófica. Los valores de FRT < 1 indican que no hay retención, FRT = 1 indican que no hay cambios con respecto al productor primario y FRT > 1 indican retención conforme aumenta el nivel trófico.

En el fitoplancton, también se observa la presencia de LC-PUFA, aunque los niveles fueron en general de escasos (como en el ARA) a moderados (como en el EPA y el DHA); sin embargo, la presencia de DHA solo fue observada en el fitoplancton, en el alga verde (*H. opuntia*) y de manera marginal en el alga roja (*Galaxaura* sp.), por lo que la contribución de este ácido graso a las cadenas tróficas vía el fitoplancton es la más plausible. El fitoplancton fue el único productor primario que se colectó en las dos temporadas y se pudo comparar la concentración entre las temporadas de secas y lluvias sin que se observaran cambios significativos en estos AG (tabla 3).

Para el caso de los invertebrados herbívoros como el erizo (*E. lucunter*), se observa un incremento notable en la concentración del 18:3 ω 3 entre la temporada de secas y la temporada de lluvias. En el caso del zooplancton (presumiblemente planctívoro), así como de los peces herbívoros o detritívoros y los planctívoros, no se observaron diferencias en cuanto a las temporadas en los LC-PUFA ni en sus precursores (tabla 3).

En contraste, *B. rufus*, un pez consumidor de moluscos y equinodermos, mostró incrementos significativos en las concentraciones de 18:1 ω 7, 18:2 ω 6 y 20:5 ω 3 entre la temporada de secas y la de lluvias. En cuanto a los peces que se alimentan de otros peces, algunos como *O. chrysurus* incrementaron la concentración de 18:1 ω 7 y 18:1 ω 9, mientras que otros como los juveniles de *C. hippos* incrementaron la concentración del 18:1 ω 7, EPA y DHA (tabla 3).

En la parte inferior de la tabla 3 se muestra el rango del factor de retención trófica (FRT) de cada AG proveniente de los produc-

tores primarios estudiados. El ácido oleico, 18:1 ω 9, tuvo una retención trófica desde los pastos marinos y las algas rojas en ambas temporadas, y desde fitoplancton en la temporada de lluvias. El ácido *cis*-vaccénico 18:1 ω 7 mostró retención trófica a partir del pasto marino en ambas temporadas y a partir del mangle y el fitoplancton en la temporada de lluvias.

Los ácidos grasos 18:2 ω 6, 18:3 ω 3, y 20:5 ω 3 mostraron un decremento en su concentración con respecto la mayoría de los productores primarios conforme se incrementó el nivel trófico (FRT \leq 1). En contraste, el ARA 20:4 ω 6 y el DHA 22:6 ω 3 mostraron una retención trófica (FRT $>$ 1). El ARA principalmente en la temporada de lluvias y el DHA en la temporada seca (tabla 3).

Esteroles como indicadores de condición nutricional y de contaminación antropogénica

Para la comparación estacional del índice de condición fisiológica se empleó el contenido de ceras y esteril ésteres, la razón triglicéridos: esteroles (TAG:ST) y el porcentaje de gorgosterol en el coral *Montastrea cavernosa*. Este último compuesto es un esteroide presente en las microalgas conocidas como zooxantelas simbiotes del coral, y la disminución de su contribución durante la temporada de lluvias indica que hubo una menor densidad de zooxantelas. Como consecuencia, la reserva energética del coral disminuye, lo que se evidencia por un menor contenido de ceras y esteril ésteres y una disminución en la razón triglicéridos: esteroles (figura 5).

Por su parte, la concentración de coprostanol (ng L⁻¹) en el PNSAV es un indicador de contaminación por aguas residuales. Los

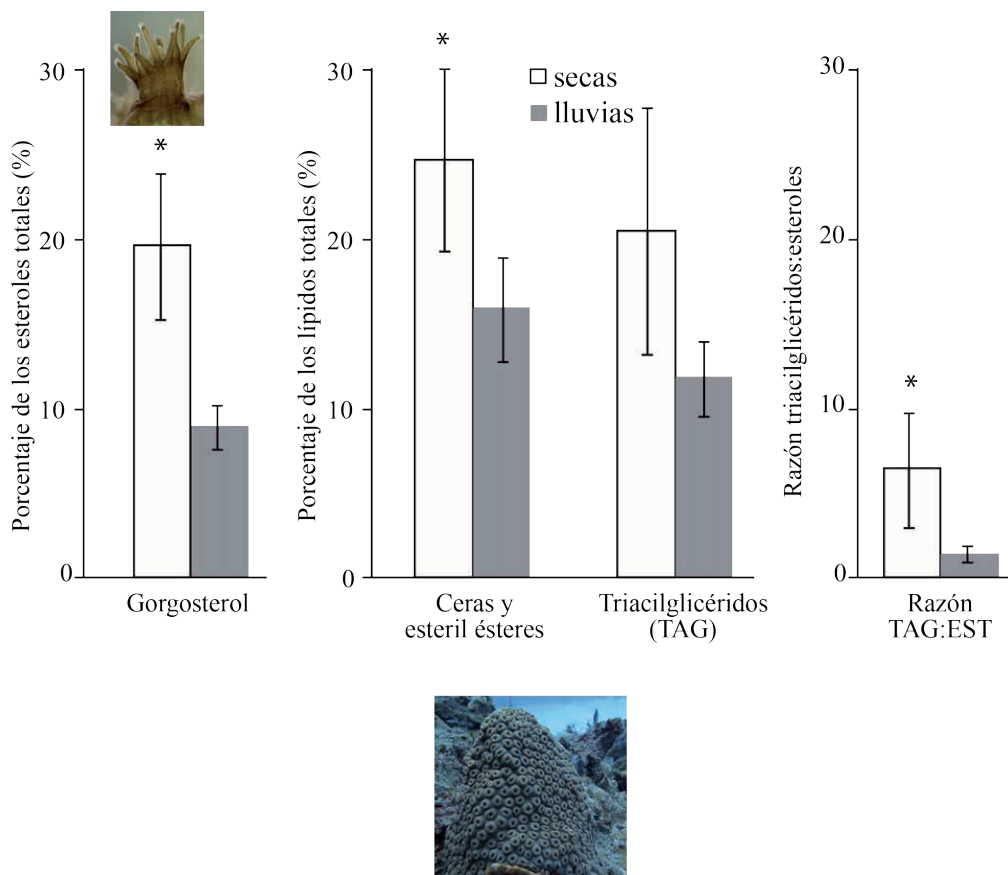


Figura 5. Comparación estacional del índice de condición fisiológica en el coral *Montastrea cavernosa*. El menor porcentaje de gorgosterol indica que las zooxantelas (microalgas simbiotes del coral) disminuyeron su contribución durante la temporada de lluvias. Como consecuencia, su reserva energética disminuye, lo que se evidencia por un menor contenido de ceras y esteril ésteres y una disminución en la razón triglicéridos: esteroides.

resultados muestran que en temporada de secas, al no haber aporte sustancial de las descargas fluviales, la mayoría de los sitios muestreados dentro del PNSAV tuvieron niveles de coprostanol por debajo del umbral de los 100 ng L⁻¹, correspondientes al máximo nivel de coliformes considerado como aceptable en aguas marinas (1000 UFC en 100 mL⁻¹) de acuerdo a Isobe *et al.* (2004). Sólo se observaron valores superiores a este umbral en la zona de entrada y salida de la

planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Es notable como durante la temporada de secas la mayoría de los arrecifes al este de Sacrificios mostraron valores de cero o cercanos a los 0 ng L⁻¹ de coprostanol (figura 6).

En temporada de lluvias, dado que hay una dilución por el aporte pluvial, el umbral de coliformes se alcanza a concentraciones de coprostanol de 30 ng L⁻¹ (Isobe *et al.*, 2004). En el PNSAV es evidente el efecto

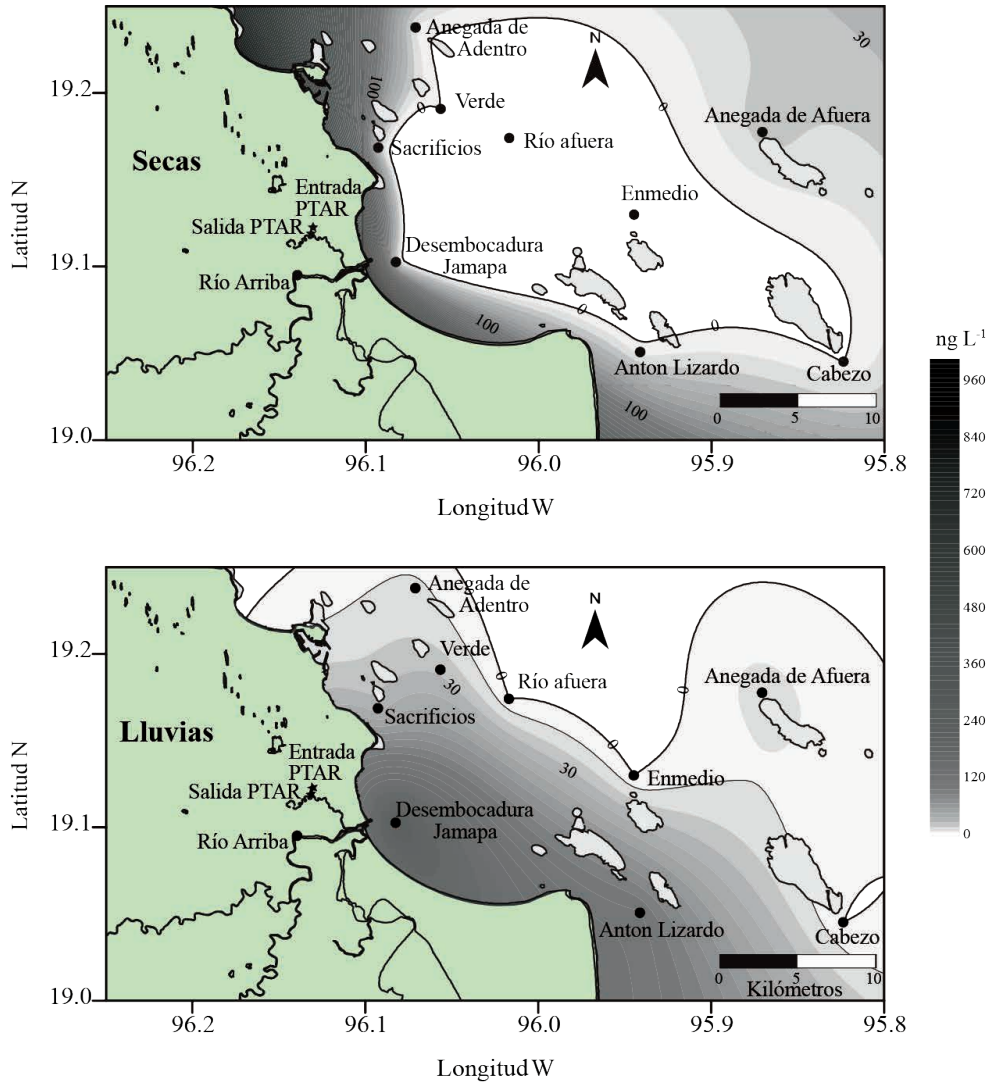


Figura 6. Concentración de coprostanol (ng L^{-1}) como indicador de contaminación por aguas residuales en el PNSAV. En temporada de secas, el límite de 100 ng L^{-1} corresponde al máximo nivel de coliformes considerado como aceptable en aguas marinas ($1000 \text{ UFC en } 100 \text{ mL}^{-1}$). En temporada de lluvias, por efecto de la dilución, ese mismo nivel de coliformes se alcanza a concentraciones de coprostanol de 30 ng L^{-1} . Los círculos representan los sitios de muestreo y las estrellas representan la entrada y salida de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR) de Boca del Río. La línea negra representa el valor de 0 ng L^{-1} de coprostanol.

de los aportes fluviales, ya que se observaron valores por encima de los 30 ng L⁻¹ en los sitios de colecta más próximos a la costa y cercanos a los arrecifes Verde, Sacrificios y Enmedio. Por otro lado, en la desembocadura del río Jamapa y en la estación en-

frente a Antón Lizardo se observaron valores superiores a los 100 ng L⁻¹. De hecho, en la temporada de lluvias, sólo los arrecifes de Enmedio y Cabezo mostraron valores de 0 ng L⁻¹ de coprostanol (figura 6).

DISCUSIÓN

ORIGEN Y DESTINO DEL NITRÓGENO USANDO ISÓTOPOS ESTABLES

Y LA RELACIÓN CARBONO:NITRÓGENO

Los valores de $\delta^{15}\text{N}$ de las macroalgas del PNSAV coinciden con los valores observados cuando las macroalgas crecen con el aporte de fertilizantes inorgánicos, según lo reportado por Umezawa *et al.*, (2002). Debido a que los fertilizantes agrícolas se fabrican a partir del nitrógeno atmosférico, en este proceso presentan un fraccionamiento muy bajo, el valor isotópico del N de éstos se encuentra comprendido alrededor del valor del N del aire (entre +5‰ a -5‰). En contraste, el nitrógeno procedente de efluentes ganaderos, de fosas sépticas o redes de alcantarillado, tiene valores de $\delta^{15}\text{N}$ isotópicamente más pesados, con valores comprendidos entre 10 y 20 ‰ debido a que proceden del amonio el cual sufre procesos de volatilización importantes (Vitoria *et al.*, 2004), o bien valores bajos si la fuente es la descarga reciente de aguas residuales no tratadas. Esto, debido a que las aguas residuales no tratadas tienen una mayor proporción de productos de la excreción de proteínas como el amonio que es isotópicamente más ligero, en ese caso el $\delta^{15}\text{N}$ se reporta por debajo de -4.5‰ (Sato *et al.*, 2006).

Por otro lado, la relación C:N de las macroalgas del PNSAV coinciden con las reportadas en condiciones de enriquecimiento de nitrógeno en los cayos Exuma en las Bahamas (Lapointe *et al.*, 2004); de acuerdo con estos autores el enriquecimiento de N promueve una relación de C:N de 18 ± 3 , mientras que la limitación de N disuelto promueve una relación de 42 ± 6 en las macroalgas. En el PNSAV las algas verdes *H. opuntia* tuvieron el valor más alto de C:N con 22 ± 2 , similar a las alga rojas *Galaxaura* sp. y significativamente mayor que el de las algas pardas *Dictyota* sp. con la relación más baja de C:N de 17 ± 1 . Se confirmó que la biomasa de las macroalgas que crecen en el PNSAV responde al aporte de N de fuentes antropogénicas y particularmente de fertilizantes. El enriquecimiento con N de los productores primarios se explica porque en el estado de Veracruz solo se mantiene el 20% de la vegetación original; la mayor parte de su superficie se convirtió en plantaciones de cultivo y ranchos ganaderos. En Veracruz se utilizan los fertilizantes para el cultivo de pastura y se ha estimado 5 millones de cabezas de ganado, 1.2 millones de cerdos y 600 000 cabras (Tobon *et al.*, 2011).

En la evaluación del aporte de cada productor primario se observó que la principal fuente de C y N fue el fitoplancton que aumentó su contribución en la temporada de lluvias. Como resultado la mayor parte de los organismos tuvieron altas proporciones de triglicéridos y un aumento en la relación TAG:ST que indica un buen estado nutricional. La única excepción fue el coral *M. cavernosa* que tuvo un índice TAG:ST más alto en la temporada de secas que en la de lluvias. Lo anterior probablemente se deba a que en la temporada de lluvias la turbidez aumenta periódicamente debido a las plumas de los ríos Jamapa y Papaloapan, aunado al aumento de temperatura superficial del mar de 20 a 31 °C. La disminución de la densidad celular de las zooxantelas ha sido documentada en los arrecifes Japoneses cuando aumenta la temperatura y como resultado se detectó una disminución de 30 % a 15 % en los esteres de esteroides y ceras que son la principal reserva de energía de los corales, en este caso de *Goniastrea aspera* (Yamashiro *et al.*, 2005), coral que pertenece a la misma familia que *M. cavernosa* (Favidae). En *M. cavernosa* se observó una disminución de sus reservas (ésteres de esteroides y ceras), del 25 % en temporada de secas a 16 % en temporada de lluvias. Aunque las colonias colectadas no mostraban signos de blanqueamiento; el gorgosterol que es un esteroide característico de las zooxantelas si mostró una disminución significativa indicando que se perdieron las zooxantelas, a pesar de que no se detectó un evento de blanqueamiento; sin embargo, *M. cavernosa* tuvo una mayor proporción de TAG (21 %) que *G. aspera* (11 % en condiciones normales y 7 % en condición de blanqueamiento), y no

presentó cambios de la temporada de secas a lluvias, probablemente por el consumo de zooplancton que se ha reportado entre 10 y 20 % de su aporte de energía de acuerdo a Muscatine y Porter (1977). A pesar de que no disminuyó la proporción de TAG en la temporada de lluvias, cuando se analizó la proporción de reservas (TAG) con respecto a los lípidos estructurales (ST) se detectó que el zooplancton no fue suficiente para mantener la condición nutricional de *M. cavernosa* durante la temporada de lluvias ya que la relación TAG:ST disminuyó significativamente de 6 ± 3 a 1.4 ± 0.5 . La baja condición nutricional coincide con el número de colonias enfermas reportadas por Pérez-España *et al.* (2012) en un estudio realizado previamente con las mismas especies en el PNSAV. Las colonias enfermas aumentaron de 7 por 100 m² en temporada de secas a 30 por 100 m² en la temporada de lluvias.

En condiciones normales los arrecifes coralinos tienen baja disponibilidad de nitrógeno pero conforme aumenta la cantidad de nutrientes por la descarga de los ríos, las macroalgas compiten por el espacio con los corales adultos. Algunas especies como la cianobacteria *Lyngbya confervoides* y la macroalga parda *Dictyota menstrualis* inhiben el crecimiento de los reclutas (Kuffner *et al.*, 2006). De acuerdo con los resultados del SIAR la macroalga parda *Dictyota* sp. es consumida preferentemente por el erizo *Echinometra lucunter*, mientras que los peces herbívoros como el pez cirujano *Acanthurus chirurgus* prefieren a la macroalga roja *Galaxaura* sp. La abundancia de los erizos *E. viridis* y *E. lucunter* representan en conjunto el 80 % de la abundancia total de los organismos bentónicos sobre todo en la zona some-

ra de los arrecifes del PNSAV (Pérez-España *et al.*, 2015). Aparentemente, los erizos pueden controlar la abundancia de macroalgas pardas; sin embargo, también pueden erosionar el coral mientras se alimentan. Dado que el $\delta^{15}N$ de las macroalgas indica que el N viene de fertilizantes y que la macroalga parda *Dictyota* sp. no es consumida por los peces herbívoros; el manejo sustentable de las prácticas agrícolas y el tratamiento terciario de las aguas residuales son las mejores opciones para disminuir el aporte de N. Se ha probado que los cultivos de maíz pueden ser sumideros de C y hacer un uso eficiente del agua y el N cuando se manejan de manera sustentable, por ejemplo en Abeokuta en el sudoeste de Nigeria probaron que sin labranza y agregando 20 Mg ha⁻¹ de abono de aves de corral el suelo disminuye su emisión de C y N (Busari *et al.*, 2016).

ORIGEN Y DESTINO DEL CARBONO ORGÁNICO USANDO ÁCIDOS GRASOS Y ESTEROLES

Los primeros estudios de nutrición acuícola sugirieron que el ácido linoleico (ALA ó 18:2 ω 6) y el ácido linolénico (LIN ó 18:3 ω 3) pueden satisfacer los requerimientos de AG esenciales en los peces de agua dulce, mientras que los LC-PUFA ω 3 como el ácido eicosapentaenóico (EPA ó 20:5 ω 3) y el ácido docosahexaenóico (DHA ó 22:6 ω 3) deben ser suministrados para satisfacer los requerimientos de los peces marinos (Sargent *et al.*, 2002).

El suministro de 20:5 ω 3 y 22:6 ω 3 para los juveniles de peces carángidos *C. hippos*, como lo muestran los isotopos estables vienen de fitoplancton, mientras que la señal de carbono del manglar viene del 18:1 ω 7, el

único AG que mostró un factor de retención trófica FRT>1 del manglar (tabla 3). Al comparar los listados de peces de Bedia-Sánchez & Franco-López (2008) y Martínez-Gómez (1996) en las lagunas que desembocan al PNSAV, con el listado de Del Moral-Flores *et al.* (2013), se puede constatar que al menos 45 especies de peces presentes en el PNSAV crecen en las lagunas donde el manglar es la principal planta vascular, incluyendo *Megalops atlanticus* que se aprovecha para la pesca deportiva y varias especies de pargos de importancia comercial (por ejemplo, *Lutjanus synagris* y *L. analis*). Es importante que el plan de manejo del PNSAV haga un énfasis en la protección del manglar evitando el crecimiento urbano y gestionando el tratamiento de las aguas residuales para evitar la pérdida de cobertura. La pérdida de cobertura del manglar ha tenido consecuencias, por ejemplo, el herbívoro más grande del atlántico *Scarus guacamaia*, que depende del reclutamiento en las lagunas con manglar, ha sufrido una extinción local después de la remoción del manglar en algunos arrecifes del Caribe (Mumby *et al.*, 2004).

El aumento de los AG provenientes del fitoplancton, particularmente del 22:6 ω 3 en los niveles tróficos superiores, probablemente se deben al aumento de biomasa del fitoplancton en la temporada de secas (39 ± 14 mg m⁻³ peso seco) comparado con la temporada de lluvias (14 ± 5 mg m⁻³ peso seco). El hecho de que los lípidos totales aumentaran en los niveles tróficos superiores en lluvias (tabla 2) probablemente se deba al aumento de biomasa del zooplancton que se registró al final de la temporada (Okolodkov *et al.*, 2011). Probablemente la biomasa del fitoplancton fue consumida por los invertebrados adultos

durante secas, quienes presentaron un pico de reproducción en lluvias. Eso podría explicar porque el zooplancton estuvo compuesto principalmente por estadios larvarios de bivalvos, quetognatos, apendicularios, poliquetos, gastrópodos, decápodos, equinodermos, hidrozorios, cladóceros y copépodos calanoideos según (Okolodkov *et al.*, 2011) quienes identificaron las mismas muestras que se analizaron en este estudio como parte del mismo proyecto. El aumento de la biomasa del zooplancton durante la temporada de lluvias podría explicar el aumento de C proveniente de fitoplancton detectado por el SIAR en el góbido *C. personatus* (68 %). Se sabe que los peces que consumen plancton canalizan nutrientes y energía de la zona pelágica a la zona del arrecife, importando materia orgánica particulada al arrecife cuando excretan sus residuos mientras se refugian (Rothans & Miller 1991). Dicho transporte puede explicar las altas proporciones de 20:5ω3 y 22:6ω3 transferido tróficamente desde el fitoplancton al pez cirujano *A. chirurgus* así como la alta proporción de C y N detectada por el SIAR de 23 % y 29 % de fitoplancton en las temporadas de secas y lluvias, respectivamente.

COPROSTANOL COMO INDICADOR DE C PROVENIENTE DE AGUAS RESIDUALES NO TRATADAS

La concentración de coprostanol fue utilizada como indicador de la contaminación por heces fecales debido a que es una molécula resistente a la temperatura, la salinidad y la radiación solar. En comparación con la medición de bacterias coliformes fecales que puede subestimar el aporte de aguas residuales no tratadas (Devane *et al.*, 2006).

Las concentraciones de coprostanol entre 30 y 100 ng L⁻¹, que corresponden a 1000 unidades formadoras de colonias (UFC) de *Escherichia coli* por 100 ml en temporada de lluvias y secas, respectivamente (Isobe *et al.*, 2004), son consistentes con los límites máximos permisibles para aguas residuales tratadas que se reusen en servicios al público en contacto indirecto u ocasional según la NOM-003-SEMARNAT-1997 (NOM-003-ECOL-1997 según el DOF, 1998). La descarga de aguas residuales hacia el río Jamapa fue de 34 x 10⁶m³ año⁻¹ (Sistema de Agua y Saneamiento Metropolitano de Veracruz, 2006). Mientras que la planta de tratamiento reportó un tratamiento de 4.8 x 10⁶m³ año⁻¹ que es equivalente al 14 % del agua residual (INEGI, Anuario Estadístico de Veracruz de Ignacio de la Llave, 2010). Este tratamiento deficiente fue detectado en las muestras colectadas antes y después de la planta de tratamiento. Los esteroides totales mostraron una eficiencia de remoción del 60 %; sin embargo, la concentración de coprostanol se mantuvo prácticamente igual de 3 571 ng L⁻¹ antes y 3 671 ng L⁻¹ después de la planta de tratamiento. Esta concentración no se detectó en la boca del río Jamapa, lo anterior se puede explicar por la sedimentación del coprostanol dada su naturaleza hidrofóbica y la posible remineralización de la materia orgánica en la zona de manglar Arroyo Moreno con la consecuente emisión de CO₂ a la atmósfera, esta remineralización ya se ha reportado en los manglares asociados arrecifes coralinos en una revisión que realizó Borges *et al.* (2005).

La parte alta del río Jamapa también mostró una concentración de 1823 ng L⁻¹, 18 veces mayor al límite propuesto para la tem-

porada de secas de 100 ng L⁻¹; en contraste, la temporada de lluvias presentó niveles de 9 ng L⁻¹ menores al límite para lluvias que es de 30 ng L⁻¹, indicando un efecto de dilución por las lluvias como el que se reportó en Tokio después del paso de un huracán (Isobe *et al.*, 2004); sin embargo, la boca del río, Sacrificios y frente a Antón Lizardo si tuvieron niveles mayores al límite. La presencia de coprostanol frente a Antón Lizardo indica una descarga de aguas residua-

les sin tratar, mientras que la presencia de coprostanol en Sacrificios y la boca del río Jamapa en la temporada de lluvias se pueden explicar porque la corriente circula de sur a norte en el verano. Es posible que la contaminación venga de Antón Lizardo y el río Papaloapan en la temporada de lluvias y del río Jamapa y Boca del Río en la temporada de secas. Aunado a esto se sabe que existen al menos 35 descargas de drenaje directo al mar (Vázquez-Guerra, 2018).

CONCLUSIONES

Se sugiere incluir indicadores del grado de contaminación por fertilizantes y aguas residuales al programa de monitoreo del área protegida pnsav. El manejo sustentable del suelo que se usa para el cultivo de alimento humano y pastura en las cuencas de los ríos Jamapa y Papaloapan debe incluirse en la agenda ambiental del estado de Veracruz. Así como la construcción de una planta de tratamiento en la población de Antón Lizardo y sancionar las descargas directas al mar. El $\delta^{15}\text{N}$ y la relación C:N pueden utilizarse

como indicadores de la fuente de nitrógeno y de su concentración (limitada vs enriquecida) para las macroalgas. Mientras que la concentración de coprostanol en la materia orgánica particulada es un buen indicador de contaminación por heces fecales. Estos indicadores permitirán evaluar la eficiencia del tratamiento de la planta de tratamiento instalada en Boca del Río, de las que operan en el puerto de Veracruz y la que se instale en Antón Lizardo.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al proyecto denominado Fuentes orgánicas de carbono y nitrógeno y su función sobre la estructura trófica en el Sistema Arrecifal Veracruzano Fomix-Veracruz clave 37567 para la colecta de muestras. El trabajo analítico fue apoyado por la beca de C.C.P. del Natural Sciences and

Engineering Research Council of Canada (NSERC). L.C.P. recibió beca de doctorado del CONACYT (117304) y de la Escuela de Posgraduados de la Memorial University of Newfoundland. Gracias a todos los estudiantes de servicio social del Instituto Tecnológico de Boca del Río, Veracruz que nos

apoyaron de 2007 a 2009. Se reconoce el apoyo del Proyecto 20196704 - 20180551 del Multidisciplinario 1906 del IPN por los

colaboradores Aguñiga-García y Carreón-Palau en la realización de este capítulo

LITERATURA CITADA

- Bedia-Sanchez, S. C. & J. Franco-López. 2008. Peces de los sistemas costeros del Estado de Veracruz. Facultad de Estudios Superiores Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México. 508 pp.
- Beer, S., M. Bjork, F. Hellblom & L. Axelsson. 2002. Inorganic carbon utilization in marine angiosperm (seagrasses). *Func. Plant. Biol.* 29: 349-354.
- Bethell, P. H., L. J. Goad, R. P. Evershed & J. Ottaway. 1994. The study of molecular markers of human activity: the use of coprostanol in the soil as an indicator of human faecal material. *J. Archaeol. Sci.* 21: 619-632
- Birkeland C. 2015. Coral reefs in the anthropocene. In: Birkeland C. (ed), *Coral reefs in the anthropocene*. Springer, Nueva York, 1-16.
- Borges A.V., B. Delille, & M. Frankignoulle. 2005. Budgeting sinks and sources of CO₂ in the coastal ocean: diversity of ecosystems counts. *Geophys. Res. Lett.* 32 <http://dx.doi.org/10.1029/2005GL023053>. L14601.
- Bujagic, I.M., S. Gruji, Z. Jaukovi, & M. Lausevic, 2016. Sterol ratios as a tool for sewage pollution assessment of river sediments in Serbia. *Environmental Pollution*, 213:76-83. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2015.12.036>.
- Bull, I.D., M.J. Lockheart, M. M. Elhmmali, D.J. Roberts & R. P.Evershed. 2002. The origin of faeces by means of biomarker detection. *Environ. Int.* 27, 647-654.
- Burke L., K. Reyntar, M. Spalding & A. Perry, 2011. Reef at risk revisited. World Resources Institute, Washington D.C. 114 pp.
- Busari M.A., F.K. Salako & C. Tuniz, 2016. Stable isotope technique in the evaluation of tillage and fertilizer effects on soil carbon and nitrogen sequestration and water use efficiency. *European Journal of Agronomy*, 73: 98-106.
- CNA, 2011. Atlas del Agua en México 2011. Comisión Nacional del Agua, Gobierno Federal, México, D.F, p. 133.
- Carreón-Palau, L., 2015. Organic carbon sources and their transfer in a Gulf of Mexico coral reef ecosystem. Doctoral (PhD) thesis Memorial University of Newfoundland, Canada. <http://research.library.mun.ca/12062/>.
- Carreón-Palau, L., C.C. Parrish & H. Pérez-España, 2017. Urban sewage lipids in the suspended particulate matter of a coral reef under river influence in the South West Gulf of Mexico. *Water Research*, 123:192-205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2017.06.061>.
- Carreón-Palau, L., C.C. Parrish, H. Pérez-España & S. Aguñiga-García, 2018. Elemental ratios and lipid classes in a coral reef food web under river influence. *Prog. in Oceano.*, 164:1-11.
- Carreón-Palau, L., C.C. Parrish, J.A. del Ángel-Rodríguez, H. Pérez-España & S. Aguñiga-García, 2013. Revealing organic carbon sources fueling a coral reef food web in the Gulf of Mexico using stable isotopes and fatty acids. *Limnology & Oceanography*, 58(2):593-612.
- Cohen, Z., H. A. Norman & Y. M. Heimer, 1995. Microalgae as a source of ω 3 fatty acids. En: *Plants in human nutrition*. A. P. Simopoulos (ed). *World Review Nutrition Diet Basel, Karger*. 77:1-31
- DeNiro, M.J. & S. Epstein, 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 45:341-351. doi:10.1016/0016-7037(81)90244-1.

- Del Moral Flores, L.F., J.L. Tello-Mussi, H. Reyes-Bonilla, H. Pérez-España, J.A. Martínez-Pérez, G. Horta-Puga, L.A. Velasco-Mendoza & P.A. Alvarez Del Castillo-Cárdenas, 2013. Sistemática y afinidades zoogeográficas de la ictiofauna del Sistema Arrecifal Veracruzano, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84:825-846.
- Demetz, E., A. Schroll, K. Auer, C. Heim, J. R.Patsch, P. Eller & I. Tancevski, 2014. The arachidonic acid metabolome serves as a conserved regulator of cholesterol metabolism. *Cell Metabolism*, 20(5): 787-798. doi: 10.1016/j.cmet.2014.09.004
- Devane, M., D. Saunders & B. Gilpin, 2006. Faecal sterols and fluorescent whiteners as indicators of the source of faecal contamination. *Chemistry N.Z.* 74:77.
- Diario Oficial de la Federación, 2012. Diario Oficial Mexico. Tercera Sección, pp. 1-14. Jueves 29 de Noviembre de 2012.
- Diario Oficial de la Federación, 21/septiembre/1998. <https://www.sinec.gob.mx/SI-NEC/Vista/Normalizacion/DetalleNorma.xhtml?pidn=dTJZeUMzQVNFOWloVkp2eVYzbFl3dz09>.
- Fabricius, K.E., 2011. Factors determining the resilience of coral reefs to eutrophication: a review and conceptual model. Pp. 493-505. En: Z. Dubinsky & N. Stambler (eds.), *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*. Springer Science. doi: 10.1007/978-94-007-0114-4.
- Hobson, K.A., W.G. Ambrose & P.E. Renaud, 1995. Sources of primary production, benthic-pelagic coupling, and trophic relationships within the northeast water Polynya: Insights from $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ analysis. *Marine Ecology Progress Series*, 128:1-10, doi:10.3354/meps128001
- Horta-Puga, G., J. L. Tello-Musi, A. Beltrán-Torres, J. P. Carricart-Ganivet, J. D. Carriquiry & J. Villaescusa-Celaya, 2015. Veracruz Reef System: a hermatypic coral community thriving in a sedimentary terrigenous environment, p. 181-208. En: A. Granados-Barba, L. Ortiz-Lozano, D. Salas-Monreal y C. González-Gándara (eds.). *Aportes al conocimiento del Sistema Arrecifal Veracruzano: hacia el Corredor Arrecifal del Suroeste del Golfo de México*. Universidad Autónoma de Campeche. 366 p.
- INEGI, 2010. Anuario Estadístico de Veracruz de Ignacio de la Llave. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática.
- ISRS, 2004. The Effects of Terrestrial Runoff of Sediments, Nutrients and Other Pollutants on Coral Reefs. Briefing Paper 3. International Society for Reef Studies, p. 18
- Isobe, K.O., M. Tarao, N.H. Chiem, L.Y. Minh & H. Takada, 2004. Effect of environmental factors on the relationship between concentrations of coprostanol and fecal indicator bacteria in tropical (Mekong Delta) and temperate (Tokyo) freshwaters. *Application Environmental Microbiology*, 70:814e821.
- Jackson J., M. Donovan, K. Cramer & V. Lam, 2014. Status and trends of Caribbean coral reefs: 1970:2012. Global Reef Monitoring Network – IUCN, Suiza. 304 pp.
- Kuffner, I.B., L.J. Walters, M.A. Becerro, V.J. Paul, R. Ritson-Williams & K. Beach, 2006. Inhibition of coral recruitment by macroalgae and cyanobacteria. *Marine Ecology Progress Series*, 323:107-117.
- Lapointe, B. E., P. J. Barile & W. R. Matzie. 2004. Anthropogenic nutrient enrichment of seagrass and coral reef communities in the Lower Florida Keys: Discrimination of local versus regional nitrogen sources. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 308: 23–58.
- Martínez, Gómez. J. E. 1996. Arroyo Moreno: Su flora y su fauna. Gobierno del Estado de Veracruz-Llave. Xalapa Veracruz. México 138 p.
- Matthews, B. & A. Mazumder, 2005. Temporal variation in body composition (C:N) helps explain seasonal patterns of zooplankton $\delta^{13}\text{C}$. *Freshwater Biology*, 50:502-515. doi:10.1111/j.1365-2427.2005.01336.x

- McCutchan, J.H., W.M. Lewis, C. Kendall & C.C. McGrath, 2003. Variation in trophic shift for stable isotope ratios of carbon, nitrogen, and sulphur. *Oikos*, 102:378e390, doi:10.1034/j.1600-0706.2003.12098.x
- Michener, R.H. & D.M. Shell, 1994. Stable isotopes ratios as tracers in marine aquatic food webs, Pp. 138-157. En: K. Lajtha & R. H. Michener (eds.), *Stable isotopes in ecology and environments studies*. Blackwell.
- Miller M.W., 2015. Coral disturbance and recovery in a changing World. En: Birkeland C. (ed), *Coral reefs in the anthropocene*. Springer, Nueva York, 217-230.
- Mumby, R.J., A.J. Edwards, J.E. Arias-González, K.C. Lindeman, P. G. Blackwell, A. Gall, M. I. Górczynska, A.R. Harborne, C.L. Pescod, H. Renken, C.C. Wabnitz y G. Llewellyn. 2004. Mangroves enhance the biomass of coral reef fish communities in the Caribbean. *Nature*, 427: 533–536, doi:10.1038/nature02286
- Muscatine, L., Porter, J.W., 1977. Reef corals: mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments. *BioScience*, 27: 454–460.
- Okolodkov, Y., G. Campos-Bautista, I. Gárate-Lizárraga, J.A. González-González, M. Hoppenrath, & V. Arenas. 2007. Seasonal changes of benthic and epiphytic dinoflagellates in the Veracruz reef zone, Gulf of México. *Aquatic Microbiology & Ecology*, 47:223-237, doi:10.3354/ame047223
- Okolodkov, Y., J.A. Aké-Castillo, M.G. Gutiérrez-Quevedo, H. Pérez-España & D. Salas-Monreal, 2011. Annual cycle of the plankton biomass in the National Park Sistema Arrecifal Veracruzano, southwestern Gulf of Mexico, PP. 1-26. En: G. Kattel [ed.], *Zooplankton and phytoplankton*. Nova Science.
- Parnell, A.C., R. Inger, S. Bearhop & A.L. Jackson, 2010. Source partitioning using stable isotopes: Coping with too much variation. *Plos One*, 5: 9672, doi:10.1371/journal.pone.0009672
- Parrish, C.C., 1987. Separation of aquatic lipid classes by chromarod thin layer chromatography with measurements by iatroskan flame ionization detection. *Canadian Journal of Fishery & Aquatic Science*, 44: 722-731. doi:10.1139/f87-087
- Parrish, C.C., 1999. Determination of total lipid, lipid classes and fatty acids in aquatic samples, Pp. 4–20. En: M.T. Arts & B.C. Wainman [eds.], *Lipids in freshwater ecosystems*. Springer.
- Pastorok, R.A. & G.R. Bilyard, 1985. Effects of sewage pollution on coral-reef communities. *Marine Ecology Progress Series*, 21:175-189.
- Pérez-España H., J. Santander-Monsalvo., J. Bello-Pineda, R.S. Gómez-Villada, J.A. Ake-Castillo, M.A. Lozano-Aburto, M.A. Román-Vives & M. Marín-Hernández. 2012. Caracterización ecológica del Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano. En: Sánchez A.J., X. Chiappa-Carrara & R. Brito-Pérez (eds). *Recursos acuáticos costeros del sureste*. Vol. II. Re-corecos, Sisal, Yucatán. 581-601 pp.
- Pérez-España, H., S. Ávila-Gutiérrez, S.M. Melo-Merino, P. Berumen-Solórzano & R.R. Flores-Arévalo. 2015. Patrones interanuales e interarrecifales de las comunidades de peces, corales y equinodermos en el Sistema Arrecifal Veracruzano, P. 159-178. En: A. Granados-Barba, L. Ortiz-Lozano, D. Salas-Monreal y C. González-Gándara (eds.). *Aportes al conocimiento del Sistema Arrecifal Veracruzano: Hacia el corredor arrecifal del suroeste del Golfo de México*. Universidad Autónoma de Campeche. 366 p.
- Rothans, T. C. & A.C. Miller. 1991. A link between biologically imported particulate organic nutrients and the detritus food web in reef communities. *Mar. Biol.*, 110: 145-150.
- Rothans, T.C. & A.C. Miller, 1991. A link between biologically imported particulate organic nutrients and the detritus food web in reef communities. *Marine Biology*, 110:145-150, doi:10.1007/BF01313101

- Salas-Monreal, D., D.A. Salas-de-León, A. Monreal-Gómez & M. Riverón-Enzástiga, 2009. Current rectification in a tropical coral reef system. *Coral Reefs*, 28:871-879. <http://dx.doi.org/10.1007/s00338-009-0521-9>.
- Salas-Pérez J. & J. A. Granados Barba. 2008. Oceanographic characterization of the Veracruz reefs system. *Atmósfera*, 21(3): 281-301.
- Santander-Monsalvo J. 2010. Ecología trófica de los peces más abundantes del Parque Nacional Sistema Arrecifal Veracruzano. Tesis de Maestría. Instituto de Ciencias Marinas y Pesquerías. Universidad Veracruzana, 58 p.
- Sargent, J.R., D.R. Tocher & G. Bell, 2002. The lipids, Pp. 181-257. En: J.E. Halver & R.W. Hardy (eds.), *Fish nutrition*. Academic Press.
- Sato, N. & N. Murata. 1988. Membrane lipids. *Methods in Enzymology*, 167:251-259, doi:10.1016/0076-6879(88)67027-3
- Sato, T., T. Miyajima, H. Ogawa, Y. Umezawa & I. Koike. 2006. Temporal variability of stable carbon and nitrogen isotopic composition of size-fractionated particulate organic matter in the hypertrophic Sumida River estuary of Tokyo Bay, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 68, 245-258.
- Sistema de Agua y Saneamiento Metropolitano de Veracruz, 2005. Análisis fisicoquímico, bacteriológico y de gasto de las plantas de tratamiento del área de Veracruz. Dirección de Operación Hidráulica.
- Sze, P. 1998. *A Biology of the Algae*. Third edition. WCB/McGraw-Hill
- Tobón, W., C. Martínez-Garza & J. Campo. 2011. Soil responses to restoration of a tropical pasture in Veracruz, South-Eastern Mexico. *J. Trop. For. Sci.*, 23 (3): 338-344.
- Tunnell, J.W.Jr., 2007. Reef distribution. En: Tunnell, J.W.Jr, E.A. Chávez & K. Withers (eds). *Coral reefs of the southern Gulf of México*. Texas A&M University Press. 14-22 pp.
- Umezawa, Y., T. Miyajima, M. Yamamuro, H. Kanyane & I. Koike. 2002. Fine-scale mapping of land-derived nitrogen in coral reefs by $\delta^{15}\text{N}$ in macroalgae. *Limnol. Oceanogr.* 47:1405-1416, doi:10.4319/lo.2002.47.5.1405
- Vitória, L., O. Otero, A. Soler & A. Canals. 2004. Fertilizer characterization: Isotopic Data (N, S, O, C and Sr). *Environmental Science & Technology*, 38:3254-3262. <http://www.naweb.iaea.org/napc/ih/documents/userupdate/Waterloo/>
- Vázquez-Guerra, V. 2018. Modelo de transporte de coliformes totales y fecales en el Sistema Arrecifal Veracruzano. Tesis Maestría, Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM. Ciudad de México, 69 pp.
- Yamashiro, H., H. Oku & K. Onaga. 2005. Effect of bleaching on lipid content and composition of Okinawan corals. *Fish. Sci.*, 71: 448-453.
- Zavala-Hidalgo, J., S.L. Morey & J.J. O'Brien. 2003. Seasonal circulation of the western shelf of Gulf of Mexico using a high-resolution numerical model. *Journal of Geophysical Research*, 108:1-19.