



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

**INDICADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO DE LA POBLACIÓN DE
TORTUGA BLANCA (*Chelonia mydas*) QUE HABITA EN EL
CARIBE MEXICANO.**

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Biología Marina)

P r e s e n t a

Nadia Luisa Islas Madrid

La Paz, Baja California Sur, febrero de 2020.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12:14 horas del día 6 del Mes de FEBRERO del 2020, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Indicadores de estrés oxidativo de la población de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) que habita en el Caribe Mexicano"

Presentada por el alumno:

Nadia Luisa Islas Madrid

Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN **Biología Marina**

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



Dra. Tania Zapatero Savin
Co-Directora de Tesis



Dra. Vanessa Labrada Martagón
Co-Directora de Tesis



Dr. Fernando Alberto Muñoz Tenería
Co-Tutor



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos.

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dra. Tania Zenteno Savín
Co-Directora
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.

Dra. Vanessa Labrada Martagón
Co-Directora
Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Dr. Fernando Alberto Muñoz Tenería
Co-Tutor
Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Comité Revisor de Tesis

Dra. Tania Zenteno Savín
Dra. Vanessa Labrada Martagón
Dr. Fernando Alberto Muñoz Tenería

Jurado de Examen

Dra. Tania Zenteno Savín
Dra. Vanessa Labrada Martagón
Dr. Fernando Alberto Muñoz Tenería

Suplente

Dr. Ramón Gaxiola Robles
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.

Resumen

En las últimas décadas, Quintana Roo ha presentado un desarrollo urbano y una actividad turística intensa, que ha provocado degradación del hábitat de las tortugas marinas. En la costa del Caribe Mexicano habita la tortuga blanca (*Chelonia mydas*), especie clasificada como en peligro de extinción. La degradación del hábitat se ha sugerido como uno de los factores asociados con el desarrollo e incidencia de fibropapilomatosis en esta especie. El objetivo de este estudio fue cuantificar diversos indicadores de estrés oxidativo en tortugas *Ch. mydas* capturadas vivas en cuatro zonas del Estado de Quintana Roo con distinto grado de perturbación ambiental y caracterizarlos con relación a los factores bióticos (sexo, clases de edad, presencia de fibropapilomas) y abióticos (año, zona y método de captura). Se analizaron 119 muestras sanguíneas de un total de 170 tortugas capturadas de 2015 al 2018. La tasa de producción de radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), la actividad de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa (GST), así como los indicadores de daño oxidativo (peroxidación de lípidos (TBARS) y proteínas carboniladas) se cuantificaron en material intraeritrocitario mediante análisis espectrofotométricos. En tortugas de Punta Arenas (91.15±2.76 cm largo curvo caparazón, LCC, n=21), la actividad de GST fue mayor en machos que en hembras (p=0.01), la actividad de SOD fue mayor en adultos que en inmaduros (p=0.01). La actividad de SOD fue mayor en tortugas de Punta Arenas que en tortugas de Bahía de Akumal y Xcalak (p=0.001). Las tortugas de la Bahía de Akumal (63.36±1.20 cm LCC, n=63) y de Punta Herrero (38.81±1.91 cm LCC, n=20), capturadas en 2015 mostraron mayores niveles de TBARS y mayor actividad de GPx y de GST, pero menor actividad de SOD que aquellas capturadas en 2016 (p<0.05). Las tortugas de Xcalak (50.83±2.77 cm LCC, n=15) tuvieron los menores niveles de proteínas de carboniladas y TBARS, en comparación con las tortugas capturadas en Punta Arenas, Bahía de Akumal y Punta Herrero (p<0.05). Xcalak se encuentra en la zona más sureña de Quintana Roo; las tortugas de este sitio no mostraron evidencia de fibropapilomatosis y presentaron menores niveles de daño oxidativo en comparación con las tortugas de Bahía de Akumal y Punta Arenas, áreas con mayor impacto turístico y en donde se encontró fibropapilomatosis. La mayor actividad de las enzimas antioxidantes observada en Bahía de Akumal y Punta Herrero durante el 2015 coincide con el periodo previo a la regulación de la Bahía de Akumal (decretada Refugio de Flora y Fauna Marina en 2016) y podría estar relacionada con el arribo de cantidades masivas de la macroalga pelágica parda *Sargassum spp.* en la costa caribeña mexicana durante ese año. Las diferencias en las condiciones ambientales, actividad turística y desarrollo urbano entre zonas y años de captura se reflejaron en la variabilidad de los indicadores de estrés oxidativo. La actividad de SOD, CAT, GPX, GST, así como los niveles de TBARS y de proteínas carboniladas contribuyeron a explicar de manera significativa la diferenciación por zonas y años de captura en las tortugas blancas; por lo tanto, estos se sugieren como biomarcadores para el monitoreo de la población de tortuga *Ch. mydas* en el Caribe Mexicano.

Palabras clave: *Chelonia mydas*, fibropapilomatosis, estrés oxidativo, enzimas antioxidantes, biomarcadores

Vo.Bo. Co-Director de Tesis



Dra. Tania Zenteno Savín



Dra. Vanessa Labrada Martagón

Summary

In recent decades, Quintana Roo has seen an urban development and intense tourism activity, which has caused degradation of the sea turtle habitat. The green turtle (*Chelonia mydas*), classified as an endangered species, inhabits the coast of the Mexican Caribbean. Habitat degradation has been suggested as one of the factors associated with the development and incidence of fibropapillomatosis in this species. The goal of this study was to quantify various oxidative stress indicators in *Ch. mydas* captured alive at four areas of Quintana Roo with different levels of environmental disturbance and to characterize them in relation to biotic (sex, age class, presence of fibropapilloma) and abiotic (sampling year, zone and capture method) factors. Blood samples from 119 (out of 170) turtles captured from 2015 to 2018 were analyzed. Superoxide radical ($O_2^{\bullet-}$) production rate, activity of the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione S-transferase (GST), as well as indicators of oxidative damage (lipid peroxidation (TBARS) and protein carbonyls) were quantified in intraerythrocytic material by spectrophotometric analyses. In turtles from Punta Arenas (91.15±2.76 cm curved carapace length, CCL, n=21), GST activity was higher in males than females (p=0.01), SOD activity was higher in adults than in immatures turtles (p=0.01). Activity of SOD was higher in turtles from Punta Arenas than in turtles from Akumal Bay and Xcalak (p=0.001). Sea turtles from Akumal Bay (63.36±1.20 cm CCL, n=63) and Punta Herrero (38.81±1.91 cm CCL, n=20), caught in 2015 had higher TBARS levels and GPx and GST activities, but had lower SOD activity than those captured in 2016 (p<0.05). Turtles from Xcalak (50.83±2.77 cm CCL, n=15) had lower levels of protein carbonyls and TBARS compared to those from Punta Arenas, Akumal Bay and Punta Herrero (p<0.05). Xcalak is located in the most southern area of Quintana Roo, the turtles from this area showed no evidence of fibropapillomatosis and had the lowest oxidative damage compared to the turtles from Akumal Bay and Punta Arenas, areas with the greatest tourist impact and where fibropapillomatosis was observed. The antioxidant levels observed in Akumal Bay and Punta Herrero during 2015 coincide with the period previous to regulation of the Akumal Bay (decreed as Refuge for Marine Flora and Fauna in 2016) and could be related to the massive quantities of the brown pelagic macroalgae *Sargassum spp.* arriving at the Mexican Caribbean coast during that year. The differences in environmental conditions, tourism activity and urban development were reflected in the annual and regional variability of the oxidative stress indicators. The activity of SOD, CAT, GPx and GST, as well as the levels of TBARS and protein carbonyls contributed significantly to explain the differences by sampling area and year in green turtles; thus, these are suggested as biomarkers for monitoring the population of *Ch. mydas* in the Mexican Caribbean.

Keywords: *Chelonia mydas*, fibropapillomatosis, oxidative stress, antioxidant enzymes, biomarkers

Vo.Bo. Co-Director de Tesis



Dra. Tania Zenteno Savín



Dra. Vanessa Labrada Martagón

Dedicatoria

A toda mi familia por su apoyo incondicional.

A todos aquellos que compartieron conmigo sus conocimientos.

A mis amigos que siempre han estado ahí para motivarme.

A toda la banda tortuguera, en especial a todos mis maestros.

A las tortugas marinas. Animales con los que he convivido por más de ocho años y que me han enseñado que jamás hay que rendirse ante los obstáculos, pero también me hicieron reflexionar sobre la responsabilidad que tenemos los humanos de tomar las acciones necesarias para coexistir lo más sano y mejor posible con tan maravilloso animal.



Agradecimientos

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (CIBNOR) por permitirme realizar mis estudios de maestría. En especial a la Dirección de Estudios de Posgrado (Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro), al Departamento de Control Escolar (Lic. Osvelia Ibarra Morales y Tania V. Nuñez Valdez), al Departamento de Becas y Apoyo Estudiantil (Lic. Leticia González Rubio) y al Laboratorio de Cómputo (Horacio Sandoval Gómez) por todo su apoyo administrativo, económico y logístico brindado durante la realización de mis estudios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACYT, por la beca de manutención otorgada (633452) y por la asignación de la Beca Mixta Nacional para el desarrollo de una estancia de investigación en la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. De igual manera extiendo mis agradecimientos a los proyectos CIBNOR PC0.10; PROCER 2015, CONANP-SEMARNAT; PROCER 2016, CONANP-SEMARNAT; FAI, C16-FAI-09-08.08, UASLP y PRODEP 2016, DSA/103.5/16/10419, SEP.

A mi comité tutorial, Dra. Tania Zenteno Savín, Dra. Vanessa Labrada Martagón y Dr. Fernando Alberto Muñoz Tenería, por sus invaluable enseñanzas, orientación, consejos y su paciencia hacia mí, pero sobre todo por permitirme ser parte de este proyecto.

A Gisela Maldonado, Ekokanantik; Roberto L. Herrera, ECOSUR; Ana C. Negrete, Parque Xcaret y Centro Ecológico Akumal y a todos los involucrados en el trabajo de campo, por su ayuda y colaboración para la obtención de las muestras biológicas, sin su ayuda no hubiera sido posible la realización de este proyecto.

Al laboratorio de Estrés Oxidativo, con especial agradecimiento al I.B.Q Orlando Lugo Lugo por la capacitación y asesorías técnicas en el laboratorio, por su ayuda y paciencia durante el procesamiento de las muestras y por todo su apoyo. También un agradecimiento a Mariana González de la UASLP, quien también colaboró con el procesamiento de muestras.

A todos y cada uno de los integrantes del Grupo de Estrés Oxidativo con los que conviví: Priscila, Pablo, Valeria, Carlos, Taryn, Brenda, Bárbara y Dr. Gaxiola, por su apoyo y valiosos comentarios, aprendí mucho de ustedes, gracias.

A todos mis maestros por brindarme sus conocimientos. A todos mis compañeros y amigos de la maestría por los momentos compartidos, me llevo un aprendizaje de cada uno de ustedes.

A los chicos del Laboratorio de Ecología de la Salud de la UASLP con los que conviví durante mi estancia. Paco, Andrea, Daniel, Lorena, mis dos Patricias, y mis dos Karlas, gracias por hacer amena mi estancia y por los momentos compartidos.

A Tomas Rivas García por su apoyo en la evaluación de reporte de similitud del programa iThenticate.

A mis súper camaradas Bianca, ChikyDavid, ItzelT, AlfredoB, Gabriel, José Luis, Fernando, Edu, Susej, LuzK, Zulema, Pichón, Karina, Pablo, Priscila, Reiner, Arelita, Dalia, Hugo, Violeta, Fidel, Selene, Erandi, Ernesto, Itandehui, Luis, Lulu, Elizabeth, Eliecer, Sammy y Berenice. Gracias por su apoyo incondicional, cerca o lejos de mí, siempre están al pendiente y dispuestos a escuchar.

A Yolanda, Miriam e Isabel por brindarme su hogar durante mi estancia en San Luis Potosí, pero sobre todo por su amistad.

A los choferes del CIBNOR, que siempre me llevaron con bien al Centro de Investigación y a la ciudad de la Paz, especialmente a Don Pilar que tuvo que ver mi cara por más de año y medio y quien me brindo su amistad.

A mis compañeros de Cubículo, Priscila, Violeta, Cristian, María 1, María 2, Karlita, Esteban, Dana, Judith y Francylli por aguantar a esta parlanchina y por su amistad.

A mi amiga y compañera Susej que además de su valiosa amistad, me apoyo con su hogar estos últimos meses y que junto con Argel me brindaron su paciencia, amabilidad y agradable compañía.

A mis padres José Antonio Islas y Gudelia Madrid por su apoyo incondicional y por estar siempre al pendiente de mí. A mis hermanas Elena, Cuca y Mayra por su apoyo y por sus palabras de ánimo. A mis sobrinos Fernando, Amaury y Jeremy porque con solo estar me hacen feliz.

Muchas gracias a todos.

Contenido	
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria	iii
Agradecimientos	iv
Contenido	vi
Lista de figuras	ix
Lista de tablas	xi
Abreviaturas	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Aspectos generales de la tortuga blanca (<i>Chelonia mydas</i>)	5
2.1.1 Clasificación taxonómica.....	5
2.1.2 Morfología externa	5
2.1.3 Hábitat y distribución	8
2.1.4 Alimentación	9
2.1.5 Reproducción y anidación.....	10
2.2 Fibropapilomatosis.....	11
2.3 Problemática del Caribe Mexicano	13
2.4 Estrés oxidativo	16
2.4.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO).....	16
2.4.2 Defensas antioxidantes	18
2.4.3 Daño oxidativo	19
2.4.4 Estudios de estrés oxidativo en diferentes especies de animales.....	21
2.4.5 Estudios de estrés oxidativo en tortugas marinas	24
3. JUSTIFICACIÓN	27
4. HIPÓTESIS	28
5. OBJETIVOS	29
5.1 Objetivo general.....	29
5.2 Objetivos particulares	29
6. MATERIALES Y MÉTODOS	30
6.1 Zonas de estudio	30

6.1.1 Punta Arenas	31
6.1.2 Refugio Marino Bahía de Akumal	32
6.1.3 Punta Herrero.....	33
6.1.4 Xcalak	34
6.2 Captura de los individuos.....	36
6.2.1 Técnica de captura con red	36
6.2.2 Técnica de nado con esnórquel	36
6.2.3 Técnica de avistamiento-persecución.....	37
6.3 Colecta de datos morfológicos y procesamiento de muestras biológicas.....	37
6.4 Determinaciones analíticas	39
6.4.1 Producción de radical superóxido.....	39
6.4.2 Actividad enzimática	40
<i>a) Superóxido dismutasa (E.C.1.15.1.1)</i>	40
<i>b) Catalasa (E.C.1.11.1.6)</i>	40
<i>c) Glutación S-transferasa (E.C.2.5.1.18)</i>	40
<i>d) Glutación peroxidasa (E.C.1.11.1.9)</i>	41
6.4.3 Peroxidación de lípidos	41
6.4.4 Proteínas carboniladas.....	42
6.5 Clasificación de datos y análisis estadísticos	43
6.5.1 Fibropapilomatosis.....	43
6.5.2 Marcaje, tortugas neófitas y recapturas.....	44
6.5.3 Indicadores de estrés oxidativo	44
6.5.4 Modelación multivariada	45
7. RESULTADOS	48
7.1 Estructura de la población	48
7.1.1 Fibropapilomatosis.....	49
7.1.2 Neófitas y recapturas	53
7.2. Indicadores de estrés oxidativo	54
7.2.1 Indicadores de estrés oxidativo en relación con factores bióticos.....	55
7.2.2 Indicadores de estrés oxidativo en relación con factores abióticos.....	65
7.3. Análisis multivariado	69

7.3.1 Análisis de componentes principales.....	69
7.3.2 Análisis de funciones discriminantes	71
7.3.2.1 Zonas de alimentación	71
7.3.2.2 Año de captura en Bahía de Akumal.....	74
7.3.3.3 Año de captura en Punta Herrero.....	77
8. DISCUSIÓN	79
8.1 Estructura de la población	79
8.1.1 Fibropapilomatosis.....	80
8.1.2 Neófitas y recapturas	83
8.2 Indicadores de estrés oxidativo	84
8.2.1 Indicadores de estrés oxidativo con relación a factores bióticos	86
8.2.2 Indicadores de estrés oxidativo con relación a factores abióticos	89
8.3 Análisis multivariado	98
9. CONCLUSIONES	99
10. LITERATURA CITADA	101
11. ANEXOS	121

Lista de figuras

- Figura 1.** Fotografía de un ejemplar inmaduro de *Chelonia mydas* del Caribe Mexicano (CONANP, 2016). 5
- Figura 2.** Morfología externa de la tortuga *Chelonia mydas*. (Modificado de Pritchard y Mortimer, 2000). 6
- Figura 3.** Medidas del largo de la cola: (a) Largo total de la cola, es la distancia desde la mitad del margen posterior del plastrón al final de la cola siguiendo la curvatura de ésta; (b) Largo post-cloacal, es la distancia entre el punto medio de la apertura cloacal al final de la cola siguiendo la curvatura de esta. Diferencia entre macho y hembra (Bolten, 2000). 6
- Figura 4.** Clase de edad de la tortuga *Chelonia mydas* (Aguirre y Balazs, 2000). (Imagen de Witherington, 2015). 7
- Figura 5.** Tortugas *Chelonia mydas* con fibropapilomas en a) ojos y b) aletas (Muñoz-Tenería et al., 2017). 11
- Figura 6.** Actividad de las enzimas antioxidantes (Modificado de Hermes-Lima, 2004). 19
- Figura 7.** Ubicación de las zonas de muestreo en Quintana Roo, México. (◊) Punta Arenas (21° 30' 8" N, 86° 55'40" O), (*) Akumal (20° 24' 0" N, 87° 19' 16" O), (Δ) Punta Herrero (19°18' 47" N y 87°26' 47" O) y (△) Xcalak (18°16'10" N y 87°50'10" O). 35
- Figura 8.** Estructura poblacional de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturada en cuatro zonas de Quintana Roo, México durante 2015-2018. La línea punteada representa la talla mínima de anidación de hembras en Quintana Roo (86 cm LCC, Zurita et al. 1993). Recuadro, clase de edad. 49
- Figura 9.** Tortugas blancas (*Chelonia mydas*) con y sin fibropapilomas por zona de estudio en Quintana Roo, México de 2015-2018. 50
- Figura 10.** Tortugas blancas (*Chelonia mydas*) con y sin fibropapilomas por año de captura en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México. Recuadro, prevalencia anual de la enfermedad. 50
- Figura 11.** Número de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas con fibropapilomas agrupadas por clase de talla en Punta Arenas (2016) Quintana Roo, México. La línea punteada representa la talla mínima de anidación de hembras en Quintana Roo (86 cm LCC, Zurita et al. 1993). 52
- Figura 12.** Número de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas con fibropapilomas agrupadas por clase de talla y por año de captura en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México. La línea punteada representa la talla mínima de anidación de hembras en Quintana Roo (86 cm LCC, Zurita et al. 1993). 52

- Figura 13.** Porcentaje de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) neófitas y recapturas por año de captura en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México. 54
- Figura 14.** Actividad ($U\ g^{-1}\ Hb$) de las enzimas glutatión S-transferasa (GST) por sexo (a) y superóxido dismutasa (SOD) por clase de edad (b) en contenido intraeritrocitario de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Punta Arenas, Quintana Roo, México. 61
- Figura 15.** Actividad ($U\ g^{-1}\ Hb$) de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa (GST); niveles de peroxidación de lípidos (TBARS) y proteínas carboniladas ($nmol\ mg^{-1}\ Hb$) en contenido intraeritrocitario de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Bahía de Akumal por año de captura. Los números debajo del bigote denotan el tamaño del grupo. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre años $p<0.05$ 66
- Figura 16.** Actividad ($U\ g^{-1}\ Hb$) de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa (GST) en contenido intraeritrocitario de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Punta Herrero por año de captura. Los números debajo del bigote denotan el tamaño del grupo. Diferencias significativas a $p<0.05$ 67
- Figura 17.** Actividad ($U\ g^{-1}\ Hb$) de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa (GST); niveles de peroxidación de lípidos (TBARS, $nmol\ mg^{-1}\ Hb$) y proteínas carboniladas ($nmol\ mg^{-1}\ Hb$) en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) por zonas de estudio en Quintana Roo, México. Los números debajo del bigote denotan el tamaño del grupo. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas $p<0.05$ 68
- Figura 18.** Proyección gráfica de 113 tortugas blancas (*Chelonia mydas*) en el plano de los dos componentes principales (CP1 y CP2; 60.52% varianza explicada) extraídos con un análisis de componentes principales realizado sobre las variables de estrés oxidativo. PA=Punta Arenas; AK=Akumal; PH=Punta Herrero y XL=Xcalak. El número junto a la zona indica el año de captura y el número entre paréntesis es el número de organismos muestreados. Actividad de las enzimas (SOD, actividad de superóxido dismutasa; GST, glutatión S-transferasa y GPx, glutatión peroxidasa), daño oxidativo (TBARS, peroxidación de lípidos; PC, proteínas carboniladas). 71
- Figura 19.** Representación gráfica de las dos primeras funciones canónicas (86%) que discriminan las cuatro zonas de alimentación de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de la costa de Quintana Roo, México. Las variables consideradas fueron la actividad de superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y los niveles de peroxidación de lípidos. 74
- Figura 20.** Representación gráfica de las dos funciones canónicas (100%) que discriminan los tres años de captura de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México. Las variables consideradas fueron la actividad de superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y los niveles de peroxidación de lípidos y proteínas carboniladas. 76

Lista de tablas

Tabla I. Tamaño promedio (milímetros) de fibropapilomas agrupados por región anatómica y año de captura en tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Punta Arenas y Bahía de Akumal, Quintana Roo, México en el periodo 2015-2018.....	53
Tabla II. Indicadores de estrés oxidativo cuantificados en contenido intraeritrocitario de 119 tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en Quintana Roo, México en el periodo de 2015 a 2018.	55
Tabla III. Tasa de producción de radical superóxido (O_2^*), actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Punta Arenas, Quintana Roo, México, agrupadas por sexo.....	57
Tabla IV. Tasa de producción de radical superóxido (O_2^*), actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Punta Arenas, Quintana Roo, México, agrupadas por clase de edad.....	58
Tabla V. Tasa de producción de radical superóxido (O_2^*), actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Punta Arenas, Quintana Roo, México, agrupadas por presencia/ausencia de fibropapilomas.	59
Tabla VI. Tasa de producción de radical superóxido (O_2^*), actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Bahía de Akumal, Quintana Roo, México, agrupadas por presencia/ausencia de fibropapilomas. .	60
Tabla VII. Coeficientes de correlación Pearson (r) entre los indicadores de estrés oxidativo y la talla (LCC, cm) de las tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en las 4 zonas de estudio.....	62
Tabla VIII. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre el número de fibropapilomas y los indicadores de estrés oxidativo de las tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en Punta Arenas y Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.....	64
Tabla IX. Coeficientes de correlación Pearson (r) entre el tamaño del fibropapiloma (milímetros) y los indicadores de estrés oxidativo de las tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en Punta Arenas y Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.....	64
Tabla X. Coeficientes de correlación Pearson (r) obtenidos entre el tiempo de persecución (minutos) y los indicadores de estrés oxidativo de las tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en Xcalak, Quintana Roo, México en 2017.....	69
Tabla XI. Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre los indicadores de estrés oxidativo cuantificados en 113 tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Quintana Roo, México de 2015 a 2018. Valores obtenidos con rotación varimax. Los valores >0.7 fueron considerados como significativos (en negritas).	70

Tabla XII. Variables con contribución significativa en el análisis discriminante para tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Quintana Roo, México, por zonas de estudio.	72
Tabla XIII. Distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) estimadas a partir de los indicadores de estrés oxidativo de tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en Punta Arenas, Bahía de Akumal, Punta Herrero y Xcalak, Quintana Roo, México de 2015 a 2018.....	72
Tabla XIV. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes generadas por medio de un análisis discriminante por pasos para tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en Quintana Roo, México de 2015 a 2018.....	73
Tabla XV. Variables con contribución significativa en el análisis discriminante para tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Bahía de Akumal, Quintana Roo, México, por año de captura.	75
Tabla XVI. Distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) estimadas a partir de los indicadores de estrés oxidativo de tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en 2015, 2016 y 2018 en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.	75
Tabla XVII. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes generadas por medio de un análisis discriminante por pasos para tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en 2015, 2016 y 2018 en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.....	76
Tabla XVIII. Variables con contribución significativa en el análisis discriminante para tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) de Punta Herrero, Quintana Roo, México, por año de captura.	77
Tabla XIX. Distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) estimadas a partir de los indicadores de estrés oxidativo de tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en 2015 y 2016 en Punta Herrero, Quintana Roo, México.	78
Tabla XX. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes generadas por medio de un análisis discriminante por pasos para tortugas blancas (<i>Chelonia mydas</i>) capturadas en 2015 y 2016 en Punta Herrero, Quintana Roo, México.....	78

Abreviaturas

ACC	Ancho curvo de caparazón
ACP	Análisis de componentes principales
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AD	Análisis discriminante
Aw	Cálido subhúmedo
°C	Grados centígrados
CAT	Catalasa
Cd	Cadmio
CDNB	1-cloro 2, 4-dinitrobenceno
CIBNOR	Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste
cm	Centímetros
CP	Componentes principales
Cu	Cobre
D²	Distancia cuadrada de Mahalanobis
DNPH	2,4-dinitrofenil hidrazina
EDTA	Ácido etilen diamino tetraacético
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
ERO	Especies reactivas de oxígeno
Fe	Hierro
Fe⁺²	Hierro en su estado ferroso
GPx	Glutación peroxidasa
GR	Glutación reductasa
GSH	Glutación reducido
GSSG	Glutación oxidado
GST	Glutación S-transferasa
H₂O	Agua
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
H₂S	Ácido sulfhídrico

Hb	Hemoglobina
HCl	Ácido clorhídrico
Hg	Mercurio
LCC	Largo curvo de caparazón
MDA	Malondialdehído
min	Minutos
mm	Milímetros
NADPH	Nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato
NaN₃	Azida de sodio
NBT	Nitroazul de tetrazolio
nmol mg⁻¹ Hb	Nanomoles por miligramo de hemoglobina
nmol min⁻¹ mg⁻¹ Hb	Nanomoles por minuto por miligramo de hemoglobina
O₂	Oxígeno
O₂^{•-}	Radical superóxido
•OH	Radical hidroxilo
Pb	Plomo
SOD	Superóxido dismutasa
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TEP	Tetraetoxipropano
U g⁻¹ Hb	Unidades de actividad enzimática por gramo de hemoglobina
Zn	Zinc

1. INTRODUCCIÓN

El Estado de Quintana Roo se localiza en la parte oriental de la Península de Yucatán, México (INEGI, 2016). Dentro de la zona costera que rodea al Estado, se encuentra una porción del Sistema Arrecifal Mesoamericano (SAM), el segundo sistema arrecifal más grande del mundo considerado como parte de la región del mar Caribe (Ardisson *et al.*, 2011; SEMARNAT, 2016a). Los arrecifes de coral que lo conforman, junto con las lagunas costeras y los manglares de la región, ofrecen zonas importantes de alimentación y reproducción para peces, aves y algunos mamíferos marinos, así como sitios de forrajeo para las tortugas marinas, gracias a los lechos de pastos marinos que ahí se desarrollan (CONANP, 2016). A lo largo del litoral (>800 km), existen más de 60 playas que son utilizadas por cuatro especies de tortugas marinas para anidar; la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*), la tortuga caguama (*Caretta caretta*), la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) y, esporádicamente, la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*) (Zurita *et al.*, 1993). Quintana Roo se destaca por tener la mayor concentración de anidación de tortuga blanca, registrándose más de 10,000 anidaciones en promedio al año en toda la costa (Cuevas *et al.*, 2014).

La tortuga blanca puede llegar a medir hasta 120 cm de largo curvo de caparazón (LCC) y pesar hasta 220 kg (Eckert *et al.*, 2000; Gilbert *et al.*, 2010). Cuando son crías son omnívoras; sin embargo, una vez que los juveniles alcanzan aproximadamente de 20 a 25 cm de LCC se desplazan a la costa en aguas donde cambian a una dieta herbívora (Carr y Meylan, 1980; Carr, 1986; Bjorndal y Bolten, 1988). Éstas al igual que las tortugas adulto, se alimentan principalmente de pastos marinos (Bjorndal, 1997). Con base en registros de hembras anidadoras y estudios de captura-recaptura de inmaduros que habitan en el Caribe Mexicano, se ha estimado que alcanzan la edad reproductiva entre los 11 y 16 años (Negrete, 2006; Herrera *et al.*, 2007; Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Su esperanza de vida es desconocida; no obstante, se estima que sea de 60 años o más (NOAA, 2019).

Este grupo es importante biológicamente por tratarse de seres vivos que han permanecido a lo largo de millones de años de evolución en el planeta (Bjorndal, 1997). Ecológicamente, las tortugas marinas son elementos singulares en la estructura funcional de ecosistemas complejos. Sostienen una estrecha relación con hábitats costeros y oceánicos ya que, al transportar energía de hábitats altamente productivos a hábitats pobres de energía, contribuyen con el mantenimiento y salud de arrecifes coralinos, pastos marinos, estuarios y playas arenosas (Bouchard y Bjorndal, 2000; Eckert y Abreu-Grobois, 2001).

La disminución de la población de la tortuga blanca en el Caribe Mexicano se debe a la interacción de diversas amenazas como son, la captura dirigida de adultos, el saqueo de huevos, el cambio climático, la captura incidental en redes de pesca, la incidencia de enfermedades, el incremento del turismo, la degradación del hábitat por contaminantes y la creación de desarrollos costeros en sus principales zonas de anidación (Troëng y Drews, 2004; Frazier, 2006; CONANP, 2009; Wallace *et al.*, 2011). Por todo lo anterior, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés) le ha asignado a la tortuga blanca el estado de “en peligro” (Seminoff, 2004). En México, esta especie está incluida en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 bajo la categoría de especie “en peligro de extinción” (Diario Oficial de la Federación, 2010).

Las actividades turísticas que se han promovido en Quintana Roo durante los últimos 25 años, han resultado en un crecimiento urbano costero exponencial (Babinger, 2011). La zona norte y centro de Quintana Roo se caracterizan por el mayor desarrollo turístico (Pozo *et al.*, 2011; Palafox, 2014), en comparación con la zona sur (Thomassiny y Chan, 2011). En la Bahía de Akumal (ubicada en la parte central del Estado) se localiza una importante área de pradera de pastos marinos que da sustento a la alimentación y, por tanto, agregación de numerosas tortugas blancas a lo largo del año. Esto ha provocado que los hoteles y empresas de prestadores de servicios turísticos oferten la actividad de observación y nado con tortugas marinas (CONANP, 2016). La observación de los

quelonios se realiza a través del buceo libre y/o con el uso de embarcaciones menores con motor fuera de borda. Debido a que en los últimos 10 años la actividad comenzó a cobrar mayor interés entre los visitantes, se generó un incremento en el tránsito desregulado de embarcaciones en la zona, exponiendo a los animales a un mayor riesgo de sufrir golpes, ocasionándoles heridas, traumatismos graves o incluso la muerte (SEMARNAT, 2016b).

El desarrollo urbano y las actividades turísticas han provocado, además, contaminación en el hábitat de las tortugas marinas. Las fuentes de esta contaminación incluyen aceites-gasolinas usadas por las embarcaciones (CONANP, 2016), las aguas residuales que se vierten al subsuelo, lagos o lagunas y zonas costeras (Pozo *et al.*, 2011), y los residuos sólidos en primera línea de playa (plásticos, vidrios, basura en general) (Rubio *et al.*, 2010). La degradación del hábitat se ha sugerido como uno de los factores que puede desempeñar un papel en el desarrollo e incidencia de fibropapilomatosis en tortuga blanca (Herbst, 1994; Herbst y Klein, 1995; Adnyana *et al.*, 1997; Aguirre y Lutz, 2004; Chaloupka *et al.*, 2009; dos Santos *et al.*, 2010; Van Houtan *et al.*, 2014).

La fibropapilomatosis es una enfermedad neoplásica (Jones *et al.*, 2016) que se caracteriza por presentar tumores en tejidos blandos externos y en órganos internos (Work, 2005). Aunque los tumores aparentemente son benignos, la presencia de grandes tumoraciones tiene efectos perjudiciales en la salud de las tortugas al limitar la visión, capacidad de nado o funcionamiento de órganos (Jones *et al.*, 2016). Las tortugas blancas que habitan la costa del Caribe Mexicano han mostrado un incremento en la prevalencia de esta enfermedad, principalmente en tortugas juveniles que habitan la zona centro y norte del Estado (Muñoz-Tenería *et al.*, 2015).

La formación de tumores se ha asociado con la producción acumulada de especies reactivas de oxígeno (ERO) (Klauning y Kamendulis, 2004). Las ERO se generan a partir de fuentes exógenas (radiación UV, contaminantes, microorganismos) o endógenas (respiración celular, fagocitosis, inflamación) (Halliwell y Gutteridge, 1992; Chesseman y

Slater, 1993; Sies, 1997). Las ERO son moléculas altamente reactivas, por lo que pueden interactuar con sustratos como proteínas, lípidos y carbohidratos, generando daño oxidativo a la estructura y función celular (Schieber y Chandel, 2014). Los organismos cuentan con un sistema natural de defensa, constituido por enzimas antioxidantes capaces de contrarrestar los efectos dañinos de las ERO (Haliwell y Gutteridge, 1999, Ahmed, 2005; Valko *et al.*, 2005). La pérdida de equilibrio entre las ERO y los antioxidantes, que provoca daño oxidativo a las moléculas, se denomina estrés oxidativo (Gicheva *et al.*, 2004; Konigsberg, 2008).

Las tortugas marinas, como otros organismos, presentan modificaciones bioquímicas y alteraciones fisiológicas en presencia de patógenos o en respuesta a contaminantes químicos (Keller *et al.*, 2004; Labrada, 2011), cuyos efectos se ven reflejados a distintos niveles de organización biológica, desde nivel molecular, celular, fisiológico e individual (Stegeman *et al.*, 1992). Se ha demostrado que, a través de la evaluación de las respuestas bioquímicas de las tortugas marinas, como el análisis de las defensas antioxidantes, es posible caracterizar el hábitat local y las perturbaciones ambientales a las que se ven expuestas (Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Camacho *et al.*, 2013; Jones *et al.*, 2016; Sinaei y Zare, 2019).

2. ANTECEDENTES

2.1 Aspectos generales de la tortuga blanca (*Chelonia mydas*)

2.1.1 Clasificación taxonómica

La tortuga blanca (*Ch. mydas*) fue registrada por Linnaeus en 1758 (Fig. 1). La clasificación taxonómica más aceptada actualmente es la siguiente (Karl y Bowen, 1999).

Reino: Animalia
 Filo: Chordata
 Clase: Reptilia
 Orden: Testudines
 Familia: Cheloniidae
 Género: *Chelonia*
 Especie: *Chelonia mydas*



Figura 1. Fotografía de un ejemplar inmaduro de *Chelonia mydas* del Caribe Mexicano (CONANP, 2016).

2.1.2 Morfología externa

La tortuga blanca tiene un caparazón en forma oval, con cuatro pares de escudos laterales (Pritchard y Mortimer, 2000) (Fig. 2). En cada una de sus aletas tiene una uña, la cual llega a ser fuertemente curva en machos adultos (Wyneken, 2004) (Fig. 2). La cabeza es redonda y mide aproximadamente 15 cm de ancho con un par de escamas prefrontales y cuatro pares de escamas postorbitales (Pritchard y Mortimer, 2000) (Fig. 2).

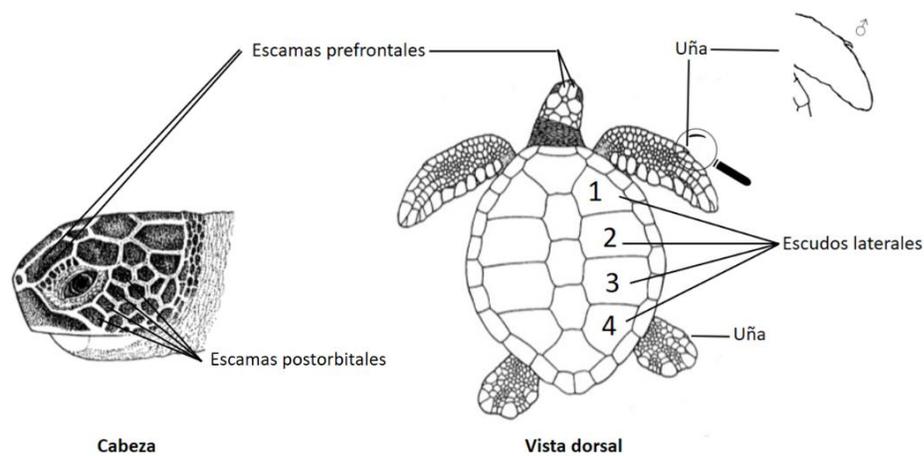


Figura 2. Morfología externa de la tortuga *Chelonia mydas*. (Modificado de Pritchard y Mortimer, 2000).

En las tortugas marinas, la longitud de la cola es un caracter sexual secundario, los machos maduros tienen una cola larga y las hembras tienen colas cortas. En tortugas juveniles, la longitud de la cola no es un indicador preciso del sexo del individuo (Bolten, 2000) (Fig. 3). Hay dos tipos de medidas de cola. El largo total de la cola (LTC) que es la distancia que hay desde la mitad del margen posterior del plastrón al final de la cola siguiendo la curvatura de ésta y el largo post-cloaca de la cola (LPC) que es la distancia entre la mitad de la apertura de la cloaca al final de la cola, siguiendo su curvatura (Bolten, 2000) (Fig. 3).

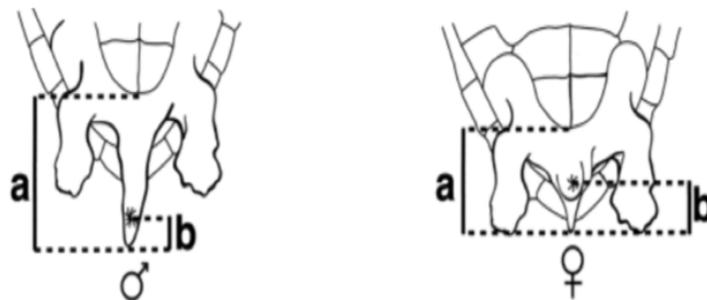


Figura 3. Medidas del largo de la cola: (a) Largo total de la cola, es la distancia desde la mitad del margen posterior del plastrón al final de la cola siguiendo la curvatura de ésta; (b) Largo post-cloacal, es la distancia entre el punto medio de la apertura cloacal al final de la cola siguiendo la curvatura de esta. Diferencia entre macho y hembra (Bolten, 2000).

Los adultos de esta especie pueden alcanzar una media de 120 cm de LCC y pesar hasta 225 kg (Pritchard y Mortimer, 2000). Las crías presentan una coloración negra en el dorso y blanca en el vientre; en individuos inmaduros el dorso es color café con vetas radiales, mientras que en adultos tiende a ser variable (verde oscuro o pardo, café u otros colores similares, con manchas amarillas radiadas, veteadas o moteadas) y de color amarillo pálido en el vientre (Pritchard y Mortimer, 2000) (Fig. 4). De acuerdo con el criterio propuesto por Aguirre y Balazs (2000), la tortuga *Ch. mydas* se categoriza por clase de edad y tamaño en juvenil oceánico, <35 cm de largo recto de caparazón (LRC); juveniles, 35-65 cm LRC; subadultos, 65-85 cm LRC; y adulto, tortugas > 85 cm LRC (Fig. 4).

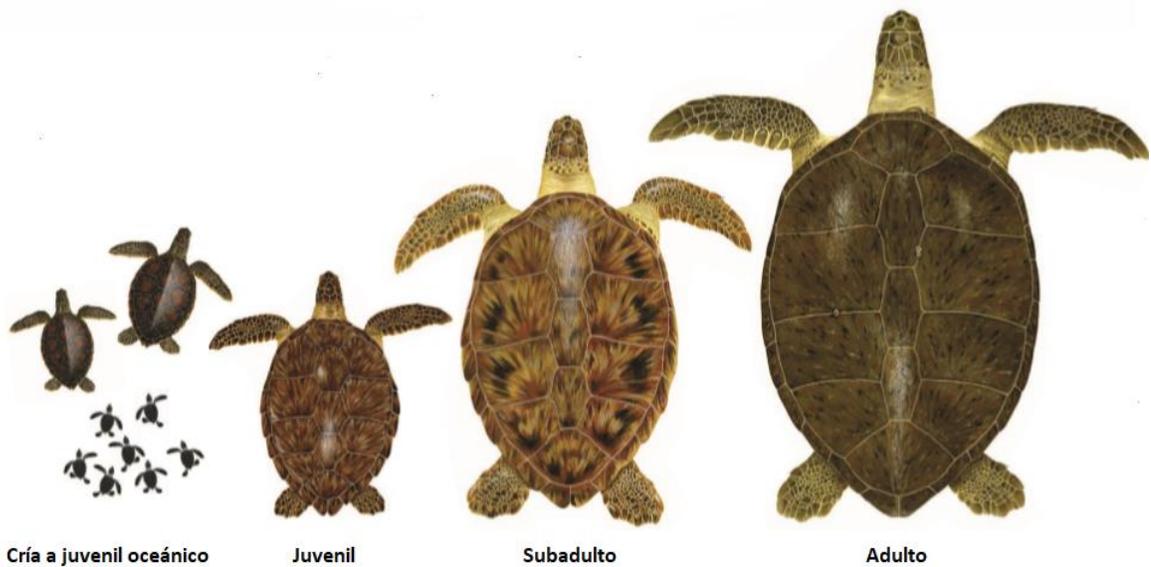


Figura 4. Clase de edad de la tortuga *Chelonia mydas* (Aguirre y Balazs, 2000). (Imagen de Witherington, 2015).

2.1.3 Hábitat y distribución

La tortuga blanca tiene una distribución circumglobal, en aguas tropicales y subtropicales (Seminoff, 2004). Esta especie se encuentra en costas continentales e insulares, así como bahías, principalmente en áreas con lechos de pasto marino (CONANP, 2009). En el Golfo de México se han localizado anidaciones en playas de Rancho Nuevo, Tepehuajes, Barra del Tordo, La Pesca y Altamira del Estado de Tamaulipas; en playa Lechuguillas, El Raudal y en la zona sur del Municipio de Los Tuxtlas del Estado de Veracruz; en Campeche la zona de desove se ha reportado en el Área de Protección de Flora y Fauna Laguna de Términos y Chenkán, Isla Aguada, Isla del Carmen, Sabancuy y Cayo Arcas; en Yucatán se han registrado desoves en el Arrecife Alacranes, El Cuyo y Las Coloradas, y dentro de la Reserva de la Biosfera de Ría Lagartos (SEMARNAT, 2018).

En Quintana Roo se han registrado anidaciones en Isla Holbox, Isla Mujeres, Isla de Cozumel y al Sur del Estado (SEMARNAT, 2018). En la parte continental, se registran en playas de Cancún, Puerto Morelos, Playa del Carmen, y las playas conocidas como Punta Venado, Paamul, Kantenah, Punta Cadena, Aventuras DIF, Chemuyil, Xcacel-Xcacelito, Xel-Há y Tankah y hacía el sur en la playa de Kanzul, Caapechen, Lirios Balandril, Yum Yum, y San Juan, las cuales se encuentran dentro de la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an (SAGARPA, 2001; SEMARNAT, 2018). En esta región se le conoce como tortuga blanca, debido a la coloración del plastrón cuando son crías; sin embargo, en el Golfo de México y otras partes del mundo se le conoce como tortuga verde (SEMARNAT, 2018). Esta especie también llega al Pacífico mexicano; sin embargo, ha causado mucha controversia entre varios autores y expertos, para algunos ésta es otra especie y la denominan tortuga negra o prieta (*Chelonia agassizzi*) por la coloración oscura de su caparazón, y para otros es una subespecie (*Chelonia mydas agassizii*), por ello, su situación sistemática aún está en discusión (Eckert *et al.*, 2000; CIT, 2008; Monzón-Arguello *et al.*, 2011). Se le ha visto anidar en las playas el Verde Camacho y Ceuta en el Estado de Sinaloa; Teopa, playón de Mismaloya, el Tecuán y Cuzmala en el Estado de Jalisco; playa Tepalcate en el Estado de

Colima; boca de Apiza, Chimapa, Motín de Oro, Mexiquillo, Maruata y Colola en el Estado de Michoacán; Tierra Colorada y Piedra de Tlacoyunque en Guerrero; La Escobilla, Morro Ayutla y barra de la Cruz en Oaxaca; puerto Arista en Chiapas e isla Revillagigedo.

2.1.4 Alimentación

Las tortugas marinas después de que eclosionan, pasan varios años en el océano, dispersándose con las corrientes oceánicas. Durante este periodo, *Ch. mydas* es omnívora, alimentándose de manera oportunista en la superficie del océano de pequeños invertebrados como cangrejos, medusas, poliquetos, caracoles y gusanos (Carr y Meylan, 1980; Carr, 1986; PNA, 2011). Sin embargo, una vez que los juveniles alcanzan aproximadamente de 20 a 25 cm de LCC se desplazan hacia la costa, donde cambian a una dieta herbívora (Bjorndal y Bolten, 1988; Márquez, 2002). *Ch. mydas* es la única especie de tortuga marina que se alimenta principalmente de pastos marinos cuando son adultos (André *et al.*, 2005). En términos generales, los componentes de la dieta de adultos del Atlántico son pastos marinos (*Zoostera spp*, *Thalassia spp*, *Cymodocea spp*, *Syringodium spp*, *Halodule spp*, *Diplanthera spp* y *Halophila spp*), y como segundo componente son las algas de los géneros *Gelidium spp*, *Gracilaria spp*, *Gracilaropsis spp*, *Hypnea spp*, *Caulerpa spp*, *Vidalia spp*, *Bryothamnion spp*, *Cryptonemia spp* y *Agardhiella spp* (Márquez, 2002).

La Bahía de Akumal tiene un fondo de piedra caliza cubierto por una capa de arena delgada (0.4m de profundidad) colonizada por pastos marinos (*Thalassia testudinum*, *Syringodium filiforme* y *Halodule wrightii*) y algas rizofíticas escasas (Molina y Van Tussenbroek, 2015). En esta zona, se ha observado que las tortugas blancas menores de 50 cm de LCC se alimentan de *T. testudinum*, mientras que aquellas que miden entre 50 y 70 cm de LCC se alimentan de *H. wrightii* y *S. filiforme* (Ruiz, 2008). En esta misma localidad se reportó, a través del uso de isótopos estables de carbono y nitrógeno ($\delta^{13}\text{C}$ y $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente), que los juveniles se alimentan principalmente de pasto marino (*S. filiforme*); esta población presenta un alto grado de herbivoría, aunque algunos individuos

exhiben una alimentación omnívora que no necesariamente está relacionada con la edad del individuo (Talavera-Sáenz, 2016).

2.1.5 Reproducción y anidación

La tortuga blanca se aparea muy cerca de las playas. El macho cuenta con un hemipene que utiliza como tubo para dirigir el esperma hasta el fondo de la cloaca de la hembra durante la cópula. La frecuencia de cópulas aumenta antes de iniciarse la temporada de anidación (Márquez, 2002). La temporada de anidación en el Caribe Mexicano es de abril a octubre, extendiéndose algunas veces hasta noviembre por la emergencia de crías (Zurita *et al.*, 1993). Los picos de anidación de esta especie son en los meses de julio y agosto. Las hembras regresan a los mismos sitios de anidación después de cada temporada. Esta especie se reproduce cada 2 a 3 años y, en una sola temporada, cada hembra puede poner de 1 a 8 nidos cada 12 o 15 días; depositando en promedio 123 ± 22 (con un rango de 32 a 204) huevos por nido con un periodo de incubación de 60 días (Zurita *et al.*, 1993; SEMARNAT, 2018).

Para anidar, las hembras emergen del mar y se dirigen hacia la parte más alta de la playa, siempre que no existan obstáculos que las detengan. Una vez elegido el sitio, comienzan a construir la cama con las aletas anteriores y después usan las aletas posteriores para excavar un nido con forma de cántaro. Durante el desove, los huevos caen en cantidades de tres o cuatro, acompañados de un líquido mucoso, que al parecer tiene propiedades bacteriostáticas y funguicidas (Zurita *et al.*, 1993). Terminado el desove, usan las aletas posteriores para tapar el nido con arena y concluyen el tapado del nido con más arena acarreada con las aletas anteriores. Una vez oculto el nido, la hembra se vuelve a orientar hacia el mar en línea recta. El proceso de anidación de *Ch. mydas* dura aproximadamente entre 90 y 120 minutos, desde que emerge hasta el regreso al mar (Márquez, 2002).

2.2 Fibropapilomatosis

La fibropapilomatosis es una enfermedad tumoral, crónica, debilitante que ha sido reportada en todas las especies de tortugas marinas, aunque la más afectada es la tortuga blanca (*Ch. mydas*) (Jones *et al.*, 2016). Se caracteriza por presentar tumores fibroepiteliales en tejidos blandos externos (piel, conjuntiva, córnea), fibromas en órganos internos como el hígado, pulmones, riñones y tracto gastrointestinal, y en ocasiones en tejidos duros como carapacho y plastrón (Work, 2005; Dos Santos *et al.*, 2010) (Fig. 5). Los tumores son benignos o con escaso grado de malignidad, no obstante, su distribución anatómica y tamaño determinan el efecto en la salud de la tortuga. Por ejemplo, los tumores en ojos pueden interferir en la visión, incapacitándolas en la localización de su alimento y evitar a sus depredadores; los tumores en aletas dificultan el movimiento y la capacidad de nadar; los fibromas en el tracto gastrointestinal podrían obstaculizar el paso del alimento y afectar la digestión, absorción y excreción (Herbst, 1995; Herbst y Klein, 1995; Baptistotte *et al.*, 2004; Flint *et al.*, 2010).



Figura 5. Tortugas *Chelonia mydas* con fibropapilomas en a) ojos y b) aletas (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017).

Actualmente se considera que la etiología es multifactorial, aunque un herpesvirus ha sido consistentemente asociado a la fibropapilomatosis; sin embargo, también se ha detectado la presencia de este herpesvirus en muestras de piel sana (Herbst *et al.*, 1995; Quackenbush *et al.*, 1998; Lackovich *et al.*, 1999). Debido a que este herpesvirus no se ha logrado cultivar *in vitro* (Herbst *et al.*, 2004; Greenblatt *et al.*, 2005; Work *et al.*, 2014), su participación en la patogénesis y los mecanismos de transmisión permanecen elusivos

(Quackenbush *et al.*, 1998; Lackovich *et al.*, 1999; Jones *et al.*, 2016). Cada vez existe mayor evidencia que los factores ambientales como la degradación del hábitat, la contaminación marina, el desarrollo urbano y recientemente, la luz ultravioleta, son factores que pueden desempeñar un papel en el desarrollo e incidencia de la fibropapilomatosis en tortuga blanca (Herbst, 1994; Herbst y Klein, 1995; Adnyana *et al.*, 1997; Aguirre y Lutz, 2004; Chaloupka *et al.*, 2009; dos Santos *et al.*, 2010; Van Houtan *et al.*, 2014; Duffy *et al.*, 2018). El primer registro de esta enfermedad fue en los años 30's en tortugas blancas capturadas en Key West, Florida (Smith y Coates, 1938). Esta enfermedad ha aumentado en prevalencia y distribución desde los años 1980's, abarcando Estados Unidos (Florida y Hawaii), Australia, Bahamas, Barbados, Belice, Islas Caimán, República Dominicana, Cuaraçao, Colombia, Panamá, Puerto Rico, Venezuela, Brasil entre otros (Balazs y Pooley, 1991; Jacobson *et al.*, 1991; Jones *et al.*, 2016).

En 1986 se observó por primera vez la fibropapilomatosis en las tortugas que anidan en las playas de Isla Contoy en Quintana Roo, México (SEMARNAT, 2018). Herrera y Zurita (1994) encontraron que de 804 tortugas hembra anidadoras de la costa central de Quintana Roo, el 2.04% presentó algún tumor en el periodo de 1990 a 1995. En el Estado de Quintana Roo se han realizado talleres para estandarizar el método de muestreo y detectar la enfermedad desde el 2003; en ejemplares capturados en el mar a lo largo de la costa en 2004, se encontró que sólo los de la zona norte presentaron tumores; 16% juveniles y 12.5% adultos (machos y hembras). (SEMARNAT, 2018). En la zona central costera de Quintana Roo, se ha monitoreado de manera intensa la Bahía de Akumal con una prevalencia de fibropapilomatosis del 27%, valor muy cercano al reportado en Punta Arenas (30.8%). También se reportó la presencia de fibropapilomas en Isla Contoy (16.6%) y en Isla Mujeres (17.6%) pero no se han reportado ejemplares con fibropapilomas en la Isla Cozumel y Punta Herrero (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). Se ha determinado la prevalencia de esta enfermedad en tortugas blancas de diferentes etapas de vida (juveniles, subadultos y adultos) mostrando que ésta va en aumento y que al parecer se

restringe a la zona centro y norte del Estado de Quintana Roo (Muñoz-Tenería *et al.*, 2015).

2.3 Problemática del Caribe Mexicano

En la zona costera del Caribe Mexicano se encuentran presentes diversos ecosistemas, destacándose los arrecifes coralinos, las playas arenosas y las lagunas costeras (CONANP, 2016). El Estado de Quintana Roo se considera como uno de los principales destinos turísticos del país, por lo que constantemente surgen nuevos proyectos de inversión (SECTUR, 2013). La actividad turística se ha desarrollado a diferentes escalas dependiendo de la región geográfica del Estado, mientras, en el norte, Cancún tiene la infraestructura necesaria para recibir una afluencia turística de alrededor de 7,879,684 visitantes (SECTUR, 2018), en la Riviera Maya, que inicia al sur de Cancún, el desarrollo de infraestructura relacionada al turismo ha sido más lenta. Sin embargo, a partir del 2001 comenzó a intensificarse por la llegada de cruceros turísticos y el desarrollo exponencial de localidades como Playa del Carmen y Tulum (Carballo-Sandoval, 2005).

El turismo orientado a la observación de tortugas marinas ha ido en crecimiento, ocasionando un potencial problema para este reptil (SEMARNAT, 2016b). Las embarcaciones motorizadas que transportan a los turistas provocan un intenso tránsito marítimo, haciendo a las tortugas propensas a recibir golpes, que pueden ocasionarles heridas graves y traumatismos por causa de las propelas y en algunos casos incluso la muerte (CONANP, 2009b). En el trabajo de Ruiz (2008) se identificó que las condiciones turísticas influyen en la distribución de las tortugas al interior de la Bahía de Akumal, observando que, a más turistas, menos tortugas y viceversa, sugiriendo una posible adaptación por las tortugas a la hora de entrar a la bahía, relacionada directamente con los movimientos de entrada y salida de los turistas (Ruiz, 2008).

Se ha observado que la interacción tortuga-turista afecta de manera general su comportamiento (Slater, 2014). Si las tortugas se encuentran comiendo o nadando, la

respuesta general a la aglomeración de buceadores es el cese de la actividad y un cambio de dirección (Ruiz, 2008). Por otra parte, sin presencia de turistas, las tortugas normalmente salen a la superficie a realizar tres inspiraciones; sin embargo, cuando hay una interacción suben y bajan al fondo en más ocasiones y toman aire en una sola respiración de menor duración (Ruiz, 2008). Estudios del Centro Ecológico de Akumal sugieren que existe una correlación directa entre el aumento de la actividad de observación de tortugas con la disminución en la calidad del agua (Figuroa y Penié, 2006-2012), no sólo por la re-suspensión de materia orgánica causada por el levantamiento del sedimento, sino también por la contaminación a través de bronceadores o bloqueadores solares (Slater, 2014).

La creciente oferta-demanda de actividades turísticas, la acelerada construcción de nuevos asentamientos urbanos, el cambio de uso de suelo, la modificación a sistemas de dunas costeras y manglares, así como el deterioro de la calidad del agua por escorrentías y filtraciones de aguas negras ponen en peligro a los ecosistemas y a la flora y fauna que los habitan (Garza-Pérez, 2004; Barrera-Escorcia y Nahimira-Santillán, 2004; Hernández-Terrones *et al.*, 2015). En la Bahía de Akumal se ha reportado contaminación por bacterias coliformes fecales, derivadas de los aportes de aguas residuales sin tratamiento generados por los asentamientos humanos (Barrera-Escorcia y Namihira-Santillán, 2004). El abanico de mar (*Gorgonia ventalina*) que crece en la Bahía de Akumal ha mostrado un enriquecimiento en isótopos de nitrógeno ($\delta^{15}\text{N}$) que se han correlacionado con enterococos fecales del agua del mar, confirmando un enriquecimiento de nutrientes a la bahía asociados a las aguas residuales (Baker *et al.*, 2010).

El medio marino, además de contar con aportes de escorrentías epicontinentales, también recibe aportes por las filtraciones de los sistemas freáticos que fluyen bajo la Península de Yucatán. Estas filtraciones (aún no cuantificadas) podrían llevar consigo materia orgánica disuelta, nutrientes minerales, así como pesticidas, hidrocarburos y desechos industriales tóxicos que puedan estar afectando al ecosistema (Garza-Pérez, 1999). Si la descarga de

contaminantes continúa, se podrían rebasar los tiempos de degradación, provocando que éstos se acumulen hasta alcanzar niveles tóxicos que pueden afectar a los organismos, incluyendo las tortugas marinas (SEMARNAT, 2007).

Adicionalmente, una de las problemáticas ecológicas recientes en el Caribe Mexicano es la afluencia de macroalgas pardas pelágicas *Sargassum fluitans* y *Sargassum natans*. Del verano de 2014 hasta el invierno del 2015 ocurrió un arribo masivo de estas algas a la costa de Quintana Roo (Rodríguez *et al.*, 2016). Durante los meses pico (julio y agosto de 2015) de arribo de sargazo, se recibió en promedio $9726 \text{ m}^3 \text{ km}^{-1}$ de algas por mes en la costa del Caribe Mexicano (Rodríguez *et al.*, 2016).

La gestión de los grandes volúmenes de sargazo que arriban a las playas del Caribe Mexicano supone un gran problema. En algunos lugares (e. g. Playa del Carmen) inicialmente se enterraban las algas para crear dunas artificiales; no obstante, debido a los grandes volúmenes, al espacio y a su descomposición, éstas se transportaron a lugares autorizados alejados de la población humana, donde se esparce en capas delgadas para su deshidratación y posterior compactación. Lo anterior con la finalidad de evitar la fermentación y generación de lixiviados que pudieran contaminar los acuíferos. Sin embargo, los masivos y recurrentes recales de sargazo a la costa hacen imposible la disposición adecuada del sargazo, por lo que en muchas ocasiones y por la falta de vigilancia, estas algas terminan apiladas en manglares, sascaberas (canteras) y otros lugares no autorizados, generando un daño en el medio ambiente (Rodríguez *et al.*, 2016).

Algunos de los efectos que se han reportado por la acumulación de sargazo en aguas cercanas a la costa son reducción de luz, oxígeno, disminución del pH, así como eutrofización debida a la alta acumulación de materia orgánica (van Tussenbroek *et al.*, 2017). Los corales han presentado mortalidad total o parcial y los pastos marinos, además, han presentado un reemplazo por algas rizofíticas oportunistas (van Tussenbroek *et al.*,

2017), lo que afecta la estabilidad de las tortugas que dependen de la conservación y salud de los pastos marinos (Gibson y Smith, 2000).

Las actividades antropogénicas han contribuido a la alteración y degradación del hábitat de la tortuga blanca. Además de la pérdida de los pastos marinos, otro de los principales riesgos para la conservación de esta especie es la bioacumulación de diversos contaminantes; pero, sobre todo, los posibles efectos adversos a largo plazo. Los contaminantes que más se han estudiado en las poblaciones de tortugas marinas son los compuestos organoclorados y metales pesados (Aguirre *et al.*, 2006). La exposición a diversos agentes contaminantes (e. g. microplásticos, organofosforados, lixiviados) puede producir ERO que pueden desencadenar el proceso de estrés oxidativo (Konigsberg, 2008).

2.4 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se define como un disturbio en el balance entre las ERO y las defensas antioxidantes, a favor de los primeros, llevando a un daño oxidativo a moléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN (Sies, 1997). Para evaluar el estrés oxidativo se utilizan marcadores biológicos, los cuales incluyen la producción de ERO, la actividad de las enzimas antioxidantes e indicadores del daño oxidativo; dentro de los últimos se encuentra la cuantificación de los productos de la peroxidación de lípidos, proteínas y ADN (Meagher y FitzGerald, 2000; Mayne, 2003).

2.4.1 Especies reactivas de oxígeno (ERO)

Las ERO son moléculas reactivas derivadas del oxígeno molecular (O_2) incluyen a los radicales libres y especies no radicales; la diferencia entre éstos es que los radicales libres tienen uno o más electrones no apareados en su orbital más externo, por lo que son capaces de donar o ceder un electrón a las moléculas adyacentes, siendo componentes altamente oxidantes. Los no radicales son moléculas reactivas que pueden ser precursoras

de radicales libres (Halliwell y Gutteridge, 1992; Chesseman, 1993; Lozada y García, 2009). Las ERO se producen a partir de fuentes endógenas y exógenas. De forma endógena, se producen constantemente en el organismo como un producto normal del metabolismo celular, a través de reacciones redox en respiración celular, la fagocitosis y otros; las fuentes exógenas de producción de ERO incluyen diferentes tipos de radiación, como los rayos X y UV, contaminantes ambientales y humo de cigarro (Halliwell y Gutteridge, 1992; Chesseman, 1993; Sies, 1997).

Entre los radicales libres se encuentra el anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$) que, a nivel celular, es el más abundante y común. Éste se forma principalmente en la cadena de transporte de electrones; en la fagocitosis es usado como defensa bactericida, y se genera en reacciones de autoxidación y por acción de enzimas como xantina oxidasa y nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato (NADPH) oxidasa (Boveris, 1998; Diaz *et al.*, 1998; Oga, 2003). El peróxido de hidrogeno (H_2O_2) no es un radical libre, pero entra en la categoría de ERO por ser un compuesto intermediario en la bioquímica de los radicales libres; el H_2O_2 se descompone fácilmente en presencia de metales de transición, principalmente por el hierro en su estado ferroso (Fe^{2+}) para producir el radical hidroxilo ($\cdot OH$) (Lesser, 2006).

El radical $\cdot OH$ posee una alta reactividad y tiene una capacidad superior a los demás radicales libres de causar daño a nivel celular, debido a que no existe un sistema enzimático que metabolice directamente este radical (Halliwell y Gutteridge, 1999). El radical $\cdot OH$ no sólo se produce por la reducción del H_2O_2 , sino también por la interacción entre el $O_2^{\cdot-}$ y el H_2O_2 (Reacción de Haber-Weiss), y por la interacción de H_2O_2 con iones metálicos, como el cobre y el hierro, en sus formas reducidas, mediante la reacción Fenton (Lesser, 2006) (Fig. 6).

Las ERO pueden producir daño a macromoléculas (proteínas, lípidos, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y alterar procesos celulares (permeabilidad de las membranas, síntesis y actividad de enzimas, respiración celular, etc.). Diversas enfermedades como la

ateroesclerosis, diabetes mellitus, procesos inflamatorios, Alzheimer, cáncer, entre otros se han asociado con la producción acumulada de ERO (Matés *et al.*, 1999; Elejalde, 2001; Rodrigo y Rivera, 2003; Klauning y Kamendulis, 2004; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2004; Konigsberg, 2008).

2.4.2 Defensas antioxidantes

Los organismos cuentan con un sistema natural de defensa, constituido por moléculas antioxidantes capaces de contrarrestar los efectos dañinos de las ERO (Halliwell y Gutteridge, 1999, Ahmed, 2005; Valko *et al.*, 2005). Halliwell y Gutteridge (1989) definieron a un antioxidante como cualquier sustancia que, cuando está presente aún a bajas concentraciones, retrasa significativamente o inhibe la oxidación de un sustrato. Dentro de éstos se encuentran los antioxidantes enzimáticos, como la superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y glutatión S-transferasa (GST) (Fig. 6). Estas enzimas antioxidantes contribuyen como catalizadores a la transformación de las ERO a sustancias menos reactivas. Los antioxidantes no enzimáticos provienen principalmente de los alimentos; entre éstos se incluye a las vitaminas A, C y E, carotenoides, glutatión y ácido úrico (Rodríguez *et al.*, 2004).

La SOD cataliza la dismutación de $O_2^{\bullet-}$ a H_2O_2 ; esta reacción fue reportada en 1969 por McCord y Fridovich (McCord y Fridovich, 1969). Las SOD son un grupo de metaloenzimas presentes en citosol, espacio intermembranoso y mitocondria de todos los organismos aerobios estudiados y son la primera línea de defensa contra los efectos del $O_2^{\bullet-}$ (Borella y Varela, 2004). El H_2O_2 posteriormente es transformado en H_2O y O_2 por la acción de la enzima CAT, la cual a nivel celular se localiza generalmente en mitocondrias, peroxisomas y citosol (Halliwell y Gutteridge, 2007; Mahmoud *et al.*, 2009). La GPx es una selenoproteína que también actúa sobre el H_2O_2 o peróxidos lipídicos (Mahmoud *et al.*, 2009). Para esto, utiliza al glutatión reducido (GSH) como donador de protones que, en el

proceso, es transformado en glutatión oxidado (GSSG) (Halliwell y Gutteridge, 2007). La glutatión reductasa (GR) es una flavoenzima dependiente de NADPH. Su papel principal es catalizar la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a GSH, manteniendo la concentración de GSH (Halliwell y Gutteridge, 2007). La actividad de la enzima GST está involucrada en la detoxificación celular y en el metabolismo de varios compuestos xenobióticos. Esta enzima protege a la célula catalizando la conjugación del GSH a sustratos electrofílicos, convirtiéndolos en compuestos menos reactivos y solubles que pueden ser fácilmente eliminados de la célula (Habig *et al.*, 1974; Konigsberg, 2008) (Fig. 6).

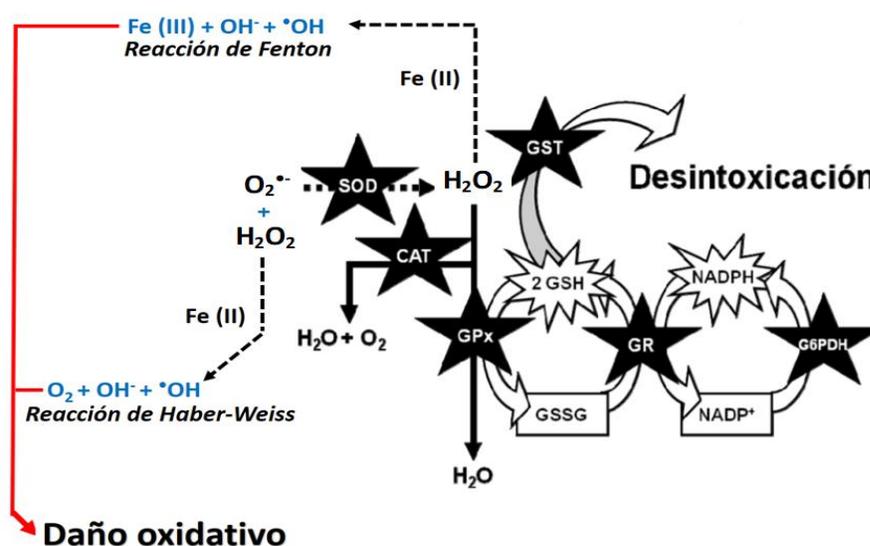


Figura 6. Actividad de las enzimas antioxidantes (Modificado de Hermes-Lima, 2004).

Abreviaturas: SOD, superóxido dismutasa; CAT, catalasa; GPx, glutatión peroxidasa; GST, glutatión S-transferasa; GSSG, glutatión oxidado; GSH; glutatión reducido; GR, glutatión reductasa; Fe(II); hierro en estado ferroso; Fe(III), hierro en estado férrico; O_2 , oxígeno molecular; $O_2^{\cdot -}$, radical superóxido; $\cdot OH$; radical hidroxilo, H_2O_2 ; peróxido de hidrógeno; NADPH; nicotinamín adenín dinucleotido fosfato en su forma reducida; NADP⁺, nicotinamín adenín dinucleotido fosfato en su forma oxidada.

2.4.3 Daño oxidativo

El daño oxidativo a nivel molecular puede llevar a disfunciones metabólicas y sistémicas que preceden distintos tipos de padecimientos o efectos adversos a la salud. Cuando esta condición persiste durante periodos prolongados, se favorece el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas (López-Torres y Barja, 2008). Las membranas de las

células son ricas en ácidos grasos poliinsaturados, de ahí que estos lípidos sean el principal blanco de ataque por radicales libres (Cheeseman y Slater, 1993). Los radicales libres que pueden iniciar esta reacción son el radical $\cdot\text{OH}$, el peroxilo ($\text{ROO}\cdot$), el alcoxilo ($\text{RO}\cdot$) y el alquilo ($\text{R}\cdot$). El proceso de ataque oxidativo a los lípidos se denomina peroxidación lipídica, y puede conducir a daños directamente en la estructura de la membrana celular e indirectamente a otros componentes celulares por la producción de aldehídos reactivos (Gutteridge, 1995; Knight, 1999).

La peroxidación lipídica es una secuencia de reacciones caracterizada por tres pasos; iniciación, propagación y término. El proceso de iniciación comienza cuando un radical libre ataca a un carbono de la cadena alifática de un ácido graso, se desprende un átomo de hidrógeno, y se forma un radical $\text{R}\cdot$ (Frei, 1994; Halliwell, 1994). Esta reacción se produce de manera significativa en los carbonos contiguos a dobles enlaces de ácidos grasos poliinsaturados, ya que los radicales formados se estabilizan por resonancia con el doble enlace. Este radical centrado en un átomo de carbono reacciona con el O_2 y forma un radical $\text{ROO}\cdot$. Este radical puede reaccionar con cadenas laterales de otros ácidos grasos poliinsaturados adyacentes, formándose un radical $\text{R}\cdot$ y un peróxido lipídico, propagándose la reacción en cadena (Halliwell, 1994). El ataque por un solo radical libre da lugar a la formación de un gran número de especies reactivas, lo cual conlleva a la oxidación de una gran cantidad de productos en reacción en cadena, sobre todo hidrocarburos de cadena corta como etano y pentano y aldehídos como malondialdehído, 4-hidroxi-2-nonenal y 4-hidroxi-2-hexenal (Freeman y Crapo, 1982; Halliwell, 1990; Cheeseman y Slater, 1993; Halliwell, 1994; Catalá, 2009, 2010, 2011). El procedimiento más comúnmente utilizado para medir la peroxidación lipídica es a través de la cuantificación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), que se basa en la reacción del malondialdehído (MDA) (producto formado durante la oxidación lipídica) con el ácido tiobarbitúrico (TBA), formándose así un compuesto que puede ser evaluado espectrofotométricamente (de Zwart *et al.*, 1999).

Las proteínas son otras de las moléculas susceptibles al ataque por ERO y las especies reactivas de nitrógeno (ERN) (Lesser, 2006). En consecuencia, las proteínas sufren oxidación que conlleva a cambios conformacionales, por enrollamiento erróneo de las estructuras secundarias o la pérdida de las estructuras terciaria y cuaternaria; estos cambios conformacionales pueden hacer a las proteínas más susceptibles de proteólisis, desnaturalización y, por lo tanto, pérdida de la actividad biológica (Stadtman, 1992; Vilar-Rojas *et al.*, 1996). Durante el proceso, se generan grupos carbonilo por oxidación de varias cadenas de aminoácidos, por la formación de aductos de la reacción de Michael entre residuos de lisina, histidina y cisteína y aldehídos α , β - insaturados, así como por glicación/ glicosilación de grupos amino de lisina que forman productos finales avanzados de glicosilación (Maxwell y Cooke, 1999). La formación de estos compuestos son el marcador más general y ampliamente usado para cuantificar el de daño oxidativo a proteínas tanto *in vitro* como *in vivo* (Sanders, 1999).

2.4.4 Estudios de estrés oxidativo en diferentes especies de animales

Algunas de las preguntas que se han planteado varios autores, giran en torno a la variabilidad en la actividad de las defensas antioxidantes y el daño oxidativo en individuos de una misma especie ante factores tales como el sexo, la edad, condición corporal y/o estado físico o de salud, así como por las características del hábitat, las cuales pueden sufrir modificaciones a través del tiempo derivadas principalmente de la actividad antropogénica.

Por ejemplo, con relación al sexo, en un estudio realizado en músculo de tiburón azul (*Prionace glauca*) de la costa este de Baja California Sur, México, se encontraron mayores niveles de proteínas carboniladas en machos que en hembras, sin observar ninguna diferencia significativa en la actividad de CAT, SOD, GPx, GR, GST, ni en los niveles de TBARS (Barrera-García *et al.*, 2012). Las diferencias en los niveles de proteínas carboniladas entre sexos pueden estar relacionadas con la mayor concentración de

mercurio (Hg) detectada en machos en comparación con las hembras, sugiriendo que estas variaciones pueden estar relacionadas con las variaciones en la dieta (preferencia de presas) dentro de diferentes cohortes (Barrera-García *et al.*, 2012).

Con respecto a la edad, Furtado-Filho y colaboradores (2007) realizaron un estudio en pulmón de caimán (*Crocodylus yacare*) que habita en los humedales Nhecolândia al sur de Brasil, y encontraron que los niveles de TBARS y proteínas carboniladas fueron mayores (26 y 41 %, respectivamente) en caimanes jóvenes que en adultos. Los autores mencionan que estos resultados probablemente estén relacionados con la tasa rápida de crecimiento en *C. yacare* en los primeros años de vida (Furtado-Filho *et al.*, 2007). En otro estudio en sangre de pingüinos de Magallanes (*Spheniscus magellanicus*) que habitan en la Costa Patagónica de Argentina, también se observó en pichones mayores niveles de TBARS y menor actividad de CAT en comparación con los adultos (Carabajal, 2017). La autora sugiere que esto podría estar asociado a que los nidos están expuestos a mayores temperaturas y que entonces los factores ambientales influyen en estos cambios (Carabajal, 2017).

En cerebro, hígado, pulmón y riñón de lagartijas (*Calotes versicolor*) provenientes de Berhampur, India, los niveles de TBARS incrementaron, y la concentración del ácido ascórbico en pulmón disminuyó con la edad (Jena *et al.*, 1995; Majhi *et al.*, 2000). Los autores concluyeron que la peroxidación de lípidos en esta especie aumenta con la edad, sugiriendo una similitud con los hallazgos en la mayoría de las especies de mamíferos; por lo que sugieren un mecanismo básico, común en el proceso de envejecimiento en reptiles y mamíferos (Jena *et al.*, 1995; Majhi *et al.*, 2000). Estos resultados apoyan parcialmente la teoría del envejecimiento por radicales libres, en la cual se postula que individuos de edad avanzada tienen mayores concentraciones de los indicadores de daño oxidativo y que la disminución de antioxidantes, como el ácido ascórbico, es una consecuencia de su utilización durante la defensa antioxidante a lo largo de la vida de un individuo (Jena *et al.*, 1995; Majhi *et al.*, 2000).

En músculo esquelético de focas encapuchadas (*Cystophora cristata*) provenientes de las Islas Magdalena en Canadá, se encontró mayor tasa de producción de $O_2^{\bullet-}$ y mayor actividad de SOD en adultos que en cachorros (Vázquez-Medina *et al.*, 2011). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas en el daño oxidativo a proteínas, ADN y lípidos entre neonatos, cachorros destetados y adultos (Vázquez-Medina *et al.*, 2011). En el músculo de tiburón azul (*Prionace glauca*) de la costa este de Baja California Sur, tampoco se reportaron diferencias significativas en los niveles de daño oxidativo a lípidos entre tiburones inmaduros y maduros (Barrera-García *et al.*, 2012). Los hallazgos en focas encapuchadas sugieren que la producción de ERO, pero no la acumulación de daño oxidativo, aumenta con la edad y que, debido a los buceos que realizan como parte de su historia de vida, las focas encapuchadas, como los mamíferos marinos en general, han desarrollado mayores defensas antioxidantes para contrarrestar las ERO que potencialmente se derivan de los ciclos de isquemia/ reperusión resultantes (Vázquez-Medina *et al.*, 2011).

El estudio y monitoreo de poblaciones sujetas a disturbios humanos es esencial para poder identificar y cuantificar los impactos sobre los animales. En un estudio realizado en lagartija espinosa (*Sceloporus spp.*) en Monterrey, México encontraron que, en el músculo de la cola, la actividad de SOD y de GST es mayor en las lagartijas provenientes de un parque industrial en comparación con lagartijas provenientes de un área natural protegida (Aguilera *et al.*, 2012). Los autores concluyeron que la actividad de SOD y GST en los organismos del parque industrial podría ser consecuencia de la contaminación (metales e hidrocarburos) y, dado que estas enzimas participan en la detoxificación de xenobióticos, los resultados sugieren que los contaminantes generados en el parque industrial afectan a la población de *Sceloporus spp.* (Aguilera *et al.*, 2012). En rana común (*Pelophylax perezii*) proveniente de Cunha Baixa en Portugal, se observó mayor actividad de GPx (en pulmón, corazón e hígado) y GST (en corazón) en individuos que habitan sitios con mayor concentración de metales que en individuos que habitan sitios prístinos (Marques *et al.*,

2011). Al no encontrar diferencias en los niveles de TBARS entre individuos de las diferentes zonas, los autores proponen que la actividad de GPx y GST podría contribuir a evitar el proceso de estrés oxidativo en las ranas de los sitios contaminados (Marques *et al.*, 2011).

2.4.5 Estudios de estrés oxidativo en tortugas marinas

En tortugas marinas, pocos son los estudios que han evaluado la variabilidad de los indicadores de estrés oxidativo con relación a factores bióticos y abióticos. Valdivia (2003) realizó un estudio en tejidos y sangre de tortugas verdes (*Ch. mydas*) de Hawaii, E.U.A, y tortugas prietas (*Ch. mydas*) de Baja California, México, en el que se analizaron diferencias por sexo, grupos de edad, estado de salud de la tortuga y localidad. Se observó que los machos tuvieron una tendencia no significativa ($p=0.06$) de mayor actividad de GST que las hembras (Valdivia, 2003). Los niveles de peroxidación de lípidos (TBARS) en el riñón de las tortugas prietas adulto fueron mayores que en los subadultos ($p=0.04$), mientras que en el hígado se observó una tendencia no significativa ($p=0.06$) de mayor actividad de SOD en adultos que en subadultos y en sangre una tendencia no significativa ($p=0.08$) de menor actividad de CAT en adultos que en subadultos (Valdivia, 2003). En otro estudio realizado en hembras de tortuga carey (*E. imbricata*) provenientes de Campeche, México, observaron que la talla de las tortugas no influyó en actividad de las enzimas CAT, GR, GST y SOD (Salvarani *et al.*, 2018). En sangre de tortugas verdes de Hawaii no hubo diferencias significativas en la actividad de las enzimas antioxidantes entre individuos sanos y enfermos; sin embargo, al comparar entre tortugas verdes con y sin fibropapilomas de Hawaii con tortugas negras sin fibropapilomas de Baja California, se observó, que las tortugas negras sin fibropapilomas de Baja California tuvieron mayor actividad de SOD, CAT y GST ($p=0.01$) que las tortugas verdes con y sin fibropapilomas de Hawaii, sugiriendo que esta diferencia se debe en parte a la ubicación geográfica y a la probable inmunosupresión como respuesta a la presencia de fibropapiloma (Valdivia, 2003).

Da Silva y colaboradores (2016) reportaron en sangre de tortugas *Ch. mydas* provenientes de la costa de Ubatuba al sur de Brasil que los niveles de TBARS aumentaron en tortugas afectadas por fibropapilomatosis en comparación con tortugas sanas. Los niveles de TBARS se correlacionaron con la concentración de hierro (Fe) y plomo (Pb). Sin embargo, no encontraron diferencias significativas en los niveles de proteínas carboniladas. Los autores mencionan que la contaminación por metales, especialmente Cu, Fe y Pb, puede estar implicada en la etiología de los fibropapilomas en tortugas *Ch. mydas* a través de procesos de estrés oxidativo (Da Silva *et al.*, 2016).

En el trabajo de Cortés-Gómez *et al.* (2018) en hígado y riñón de tortugas golfinas (*Lepidochelys olivacea*) provenientes del Estado de Oaxaca, México, se encontró menor actividad de SOD en 2014 con respecto al 2013 para ambos tejidos. Los autores sugieren que esta actividad de SOD en riñón pudo ser afectada por las concentraciones de metales observadas en ese tejido en 2014, principalmente por la alta concentración de Cd ($225 \pm 103 \mu\text{g g}^{-1}$) con la cual también se encontró una correlación negativa; mientras que la actividad de SOD en hígado, tejido en el cual no se registró un incremento significativo en la concentración de metales en 2014, podría estar relacionada con la presencia de Pb y Cd (Cortés-Gómez *et al.*, 2018).

Tenorio (2007) realizó un estudio sobre la actividad enzimática y el daño oxidativo en sangre de tortuga prieta (*Ch. mydas*) proveniente de las localidades de Punta Abreojos y Bahía Magdalena, Baja California Sur, México. En la localidad de Punta Abreojos encontró diferencias significativas ($p= 0.001$) en los niveles de TBARS y actividad de GST entre el verano del 2005 y el verano del 2006, siendo mayores los niveles de TBARS y menor la actividad de GST durante el verano del 2005 (Tenorio, 2007). Al comparar entre zonas, encontró mayor actividad de CAT ($p=0.094$) en Punta Abreojos respecto a Bahía Magdalena (Tenorio, 2007). La autora sugiere que esta diferencia pudo estar relacionada a la presencia de una proliferación algal durante el verano en Punta Abreojos (Tenorio, 2007). En dicho estudio se concluyó que la tortuga prieta experimenta sólo cambios

moderados en el metabolismo oxidativo dentro del rango de temperatura y condiciones ambientales que estacionalmente se presentaron en los sitios muestreados (Tenorio, 2007).

Existen estudios en tortugas marinas que han evaluado la influencia de la contaminación con la actividad de enzimas antioxidantes. Sinaei y Zare (2019) encontraron una correlación entre los hidrocarburos aromáticos policíclicos presentes en tortugas hembra *Ch. mydas* del mar de Omán, Irán con la actividad de la enzima GST, sugiriendo que la actividad de esta enzima participa en la detoxificación de estos contaminantes y así protege a las células del estrés oxidativo (Sinaei y Zare, 2019). Otros estudios realizados en tortugas hembra carey (*E. imbricata*) de Campeche, México han sugerido que la actividad de las enzimas GR y CAT está relacionada con la concentración de algunos pesticidas organoclorados (Temblay *et al.*, 2017; Salvarani *et al.*, 2018). En la tortuga verde del Pacífico Occidental Mexicano también se encontraron correlaciones entre compuestos organoclorados y elementos traza con la actividad de las enzimas antioxidantes CAT, SOD y GST (Labrada-Martagón *et al.*, 2011).

La evaluación de los indicadores de estrés oxidativo en tortugas marinas sugiere que éstos son excelentes biomarcadores de diferencias regionales y locales en las características del hábitat y en la exposición a contaminantes químicos, a través de las respuestas diferenciales en los grupos de estudio en la actividad de las defensas antioxidantes enzimáticas y niveles de estrés oxidativo (Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Tremblay *et al.*, 2017; Salvarani *et al.*, 2018; Sinaei y Zare, 2019). El uso de biomarcadores de estrés oxidativo puede proporcionar una herramienta importante en la conservación de tortugas marinas.

3. JUSTIFICACIÓN

El Caribe Mexicano presenta un crecimiento urbano exponencial y una actividad turística intensa, principalmente en sitios reconocidos como áreas de alimentación y anidación para la tortuga blanca (*Ch. mydas*). Las diferentes actividades antropogénicas han contribuido con la destrucción y contaminación del hábitat marino en donde se desarrolla esta especie. Por lo tanto, los estudios sobre el estado de salud de los individuos que ahí habitan se vuelven prioritarios para su conservación y más aún en una especie que se encuentra bajo la categoría de especie en peligro de extinción y que ha mostrado evidencia de fibropapilomatosis en tortugas juveniles de la zona centro y norte del Estado de Quintana Roo, y cuya prevalencia al parecer va en aumento.

El uso de biomarcadores de estrés oxidativo podría ofrecer una alternativa para conocer la susceptibilidad que tiene la tortuga *Ch. mydas* ante distintos factores intrínsecos y ambientales. La evaluación de estos biomarcadores permite conocer el daño oxidativo y la respuesta de las enzimas antioxidantes en estos organismos. Con este estudio se determinarán si existen diferencias en los indicadores de estrés oxidativo en respuesta a cambios en factores abióticos (años, zonas y método de captura) y bióticos (sexo, clases de edad, fibropapilomas). Los valores de los indicadores de estrés oxidativo servirán como valores de referencia para el monitoreo del estado de salud de la población de esta especie y éstas, a su vez, servirán como indicadoras regionales de contaminantes y de cambios o alteraciones al ambiente en esta región.

4. HIPÓTESIS

Debido a que factores intrínsecos, como el estado hormonal, nutricional y físico, y factores ambientales, como la exposición a toxinas y contaminación, influyen en las respuestas bioquímicas de defensa de los organismos, en la población de tortuga blanca (*Ch. mydas*) que habita en el Caribe Mexicano se observarán variaciones por sexo, clase de edad, presencia de fibropapilomatosis, zonas, años y método de captura en los indicadores de estrés oxidativo (tasa de producción de $O_2^{\bullet-}$, actividad de enzimas antioxidantes y daño oxidativo).

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Cuantificar los indicadores de estrés oxidativo en sangre de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) que habitan en el Caribe Mexicano y caracterizar las variaciones con relación a los factores bióticos (sexo, clase de edad, fibropapilomas) y abióticos (años, zonas y método de captura).

5.2 Objetivos particulares

1. Cuantificar la tasa de producción de radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) como indicador de la producción de ERO, y los niveles de proteínas carboniladas y de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) como indicadores del daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Ch. mydas*) que habitan en la costa de Quintana Roo.
2. Cuantificar la actividad de las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión S-transferasa (GST) y glutatión peroxidasa (GPx) como indicadores de las defensas antioxidantes en el contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Ch. mydas*) que habitan en la costa de Quintana Roo.
3. Evaluar diferencias en los indicadores de estrés oxidativo con relación a factores bióticos (sexo, clase de edad, fibropapilomas) y abióticos (años, zonas y método de captura) en el contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Ch. mydas*) que habitan en la costa de Quintana Roo.
4. Evaluar si existe correlación entre los indicadores de estrés oxidativo con la talla de las tortugas blancas, el tamaño de los tumores y con el tiempo de persecución empleado durante la captura.
5. Evaluar si los indicadores de estrés oxidativo son útiles para discriminar a las tortugas blancas (*Ch. mydas*) por zonas de alimentación en la costa de Quintana Roo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Zonas de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en cuatro zonas del Estado de Quintana Roo (Fig. 7). Éste cuenta con más de 800 km de litoral y es bordeado por una barrera arrecifal semicontinua (Sistema Arrecifal Mesoamericano). El clima en la región costera de Quintana Roo es cálido subhúmedo (Aw) con una humedad relativa superior al 80% y lluvias en verano. La temperatura media anual es de 26°C y precipitación media de 1300 mm anuales (Gallegos y Czitrom, 1997). La temperatura promedio del agua tiene variaciones estacionales durante el año. La época del año cuando el agua está más caliente dura aproximadamente del 10 de julio al 24 de octubre con una temperatura promedio superior a 27°C. La época del año cuando el agua está más fría dura aproximadamente del 23 de diciembre al 29 de marzo, con una temperatura promedio inferior a 25°C (Weatherspark.com, 2010).

Esta región se encuentra dentro de la zona ciclónica tropical del Caribe con vientos dominantes en dirección este-sureste (Gallegos y Czitrom, 1997). La parte marina es dominada por la corriente del Caribe, la cual corre de sur a norte de manera paralela a la costa, frente al Estado de Quintana Roo y se caracteriza por una temperatura cálida y alta salinidad (Ochoa *et al.*, 2001). Dentro de las variables oceanográficas que influyen en la distribución de las especies se incluyen la salinidad y la concentración de oxígeno disuelto; el Caribe Mexicano se ha caracterizado por una relativa estratificación hidrológica con bajos niveles de nutrientes y alta salinidad superficial (Lara-Lara *et al.*, 2008). Una gran parte de esta región no se fertiliza por surgencias ni por ríos y, al no existir una mezcla de las aguas superficiales con las aguas profundas que son ricas en nutrientes, éstos últimos se sedimentan permitiendo el desarrollo de formaciones arrecifales con valor biológico (CONANP, 2016).

6.1.1 Punta Arenas

Punta Arenas se localiza frente a la costa norte del Estado de Quintana Roo en las coordenadas 21° 30' 8" latitud norte, 86° 55' 40" latitud oeste (Fig. 7), dentro del Área Natural Protegida "Reserva de la Biósfera Tiburón Ballena" (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). Esta área natural protegida se ubica en una zona de transición del Golfo de México y del Mar Caribe, la cual sustenta la presencia de especies representativas de los dos ecosistemas y de la propia transición; destacándose así el área por su diversidad biológica (SEMARNAT, 2015) y por ser una zona de tránsito en la migración de las tortugas blanca (*Ch. mydas*), carey (*E. imbricata*), laúd (*D. coriacea*) y caguama (*C. caretta*) (Diario Oficial de la Federación, 2015). Punta Arenas se encuentra en una zona de mar abierto y tiene una profundidad mayor a los 3 metros (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). El lecho marino de esta zona se encuentra cubierto por grandes extensiones de pastos marinos *T. testudinum* y *S. filiforme* (SEMARNAT, 2015), que son el principal alimento de la tortuga blanca. En esta zona conviven tortugas blancas adulto (machos y hembras) e inmaduras (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017).

Dentro de la Reserva se realizan actividades turísticas, incluyendo recorridos en embarcaciones para la observación de flora y fauna silvestre, principalmente la observación del tiburón ballena. En 2010, un total de 160 embarcaciones contaban con autorización para realizar los recorridos turísticos, con un nivel promedio de 1, 429 visitantes diarios; paulatinamente ha incrementado la demanda por parte de los turistas que visita estas áreas con el propósito de interactuar con especies marinas, incluidas las tortugas marinas (SEMARNAT, 2015).

6.1.2 Refugio Marino Bahía de Akumal

El 7 de marzo de 2016, se estableció en el Diario Oficial de la Federación a la Bahía de Akumal como un Área de Refugio para proteger a la tortuga blanca (*Ch. mydas*), tortuga caguama (*C. caretta*), tortuga carey (*E. imbricata*); cuatro especies de corales: cuerno de alce (*Acropora palmata*), cuerno de ciervo (*Acropora cervicornis*), corales blandos o abanicos de mar (*Plexaura homomalla* y *Plexaura dichotoma*); tres especies de mangle: blanco (*Laguncularia racemosa*), botoncillo (*Conocarpus erectus*) y rojo (*Rhizophora mangle*) y tres especies de pastos marinos: *T. testudinum*, *S. filiforme* y *H. wrightii* (SEMARNAT, 2016b).

El Refugio Marino Bahía de Akumal está ubicado en la costa central del Caribe Mexicano en el Estado de Quintana Roo, en las coordenadas geográficas 20° 24' 0" latitud norte, 87° 19' 16" latitud oeste (Fig. 7). Comprende la porción marina, ubicada frente a los poblados de San Miguel (municipio de Solidaridad), Akumal, Aventuras, Bahía Príncipe, Chemuyil, X'cacel-X'cacelito y La Esperanza, todos en el municipio de Tulum a 37 km al sur de Playa del Carmen. Su clima es cálido subhúmedo (Aw1 y Aw2), los vientos dominantes tienen una dirección este-sureste, la circulación del agua tiene flujo neto de sur a norte. La Bahía de Akumal presenta una pequeña barrera arrecifal que genera una laguna de 1 a 3 metros de profundidad, donde se desarrolla una zona de pastos marinos. En esta zona se han identificado dos parcelas de fanerógamas que forman parte de la dieta de las tortugas blancas, una con predominio de *T. testudinum* (extensión aproximada de 0.25 km²) y otra con predominio de *S. filiforme* y *H. wrightii* (extensión aproximada de 0.25 km²), haciendo a la bahía un sitio importante de alimentación y desarrollo para las tortugas marinas (Barrera-Escorcia y Namihira-Santillán, 2004; Ruiz, 2008; Garza-Pérez *et al.*, 2010).

Akumal proviene de la lengua maya y significa "lugar de tortugas"; cada año entre abril y octubre, cientos de tortugas de las especies *Ch. mydas* y *C. caretta* llegan a este sitio para desovar. El área de Akumal es parte del corredor turístico de la Riviera Maya, la cual ha

experimentado durante los últimos 10 años un acelerado desarrollo turístico y en consecuencia un incremento de nuevos asentamientos humanos. La Bahía de Akumal es un destino turístico, donde se realizan diversas actividades turísticas, destacándose el nado con tortugas marinas. La falta de regulación de las actividades antropogénicas ha afectado a las tortugas marinas, así como los pastos marinos, los corales y los manglares de la región (SECTUR, 2013; SEMARNAT, 2016b).

6.1.3 Punta Herrero

Dentro de la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an, se encuentra Punta Herrero, en las coordenadas geográficas 19° 18' 47" latitud norte y 87° 26' 47" latitud oeste (Fig. 7), a 196 km de Felipe Carrillo Puerto y a 82 km de Mahahual. El clima en esta localidad es cálido subhúmedo, con precipitaciones en verano y un periodo de ciclones de junio a noviembre. Este lugar se caracteriza por la presencia de playas arenosas del tipo de barrera, con algunas salientes rocosas. En este sitio se han realizado estudios de monitoreo de la megafauna y se ha reportado la presencia de tortugas marinas, principalmente la tortuga blanca (*Ch. mydas*), tortuga carey (*E. imbricata*) y, en menor cantidad, la tortuga caguama (*C. caretta*) (CONANP, 2014). Punta Herrero es una bahía con menos de 3 metros de profundidad, protegida por una barrera de arrecife, donde se puede encontrar a la tortuga *Ch. mydas* durante todo el año, al ser una zona de forrajeo y desarrollo de individuos inmaduros (Labrada-Martagón *et al.*, 2017).

Las localidades de Punta Herrero, Javier Rojo Gómez y Punta Allen se dedican principalmente a la pesca de langosta y en menor escala de cangrejo moro, peces de escama y tiburón (CONANP, 2014). Punta Herrero es habitado durante la temporada de pesca (julio a febrero) por sólo 50 pescadores. A lo largo de la franja costera, hay asentamientos humanos, conocidos como ranchos, los cuales carecen de la infraestructura básica como agua potable y electricidad (Brenner, 2010).

6.1.4 Xcalak

Como parte de la iniciativa promovida por la comunidad de Xcalak para proteger y conservar los recursos naturales marinos y costeros, en el año 2000 se creó un área natural protegida denominada “Parque Nacional Arrecifes de Xcalak” (Diario Oficial de la Federación, 2000), ubicado en la Región Caribe Sur del Estado de Quintana Roo, México, dentro del municipio de Othón P. Blanco en las coordenadas 18° 16' 10" latitud norte y 87° 50' 10" latitud oeste (Fig. 7). Tiene un clima subhúmedo (Aw2), con una temperatura media anual mayor de 26°C y una precipitación media anual de 1200 a 1500 mm. Los vientos dominantes provienen del Sureste en los meses de febrero a mayo, y de junio a octubre del Este con velocidades de 2 a 4 m seg⁻¹. Este lugar se encuentra bordeado por una parte del Sistema Arrecifal Mesoamericano, cuyos alrededores incluyen lagunas costeras, manglares y arrecifes de coral prístinos que proporcionan zonas de crianza y alimentación para aves, peces y reptiles. Por la cercanía que tiene el sistema arrecifal con la costa, se ha formado una laguna somera bien desarrollada de no más de cuatro metros de profundidad, cuyos fondos arenosos se encuentran cubiertos por praderas de pasto marino *S. filiforme* y *T. testudinum*, ambos componentes importantes de la dieta de la tortuga blanca (Diario Oficial de la Federación, 2000).

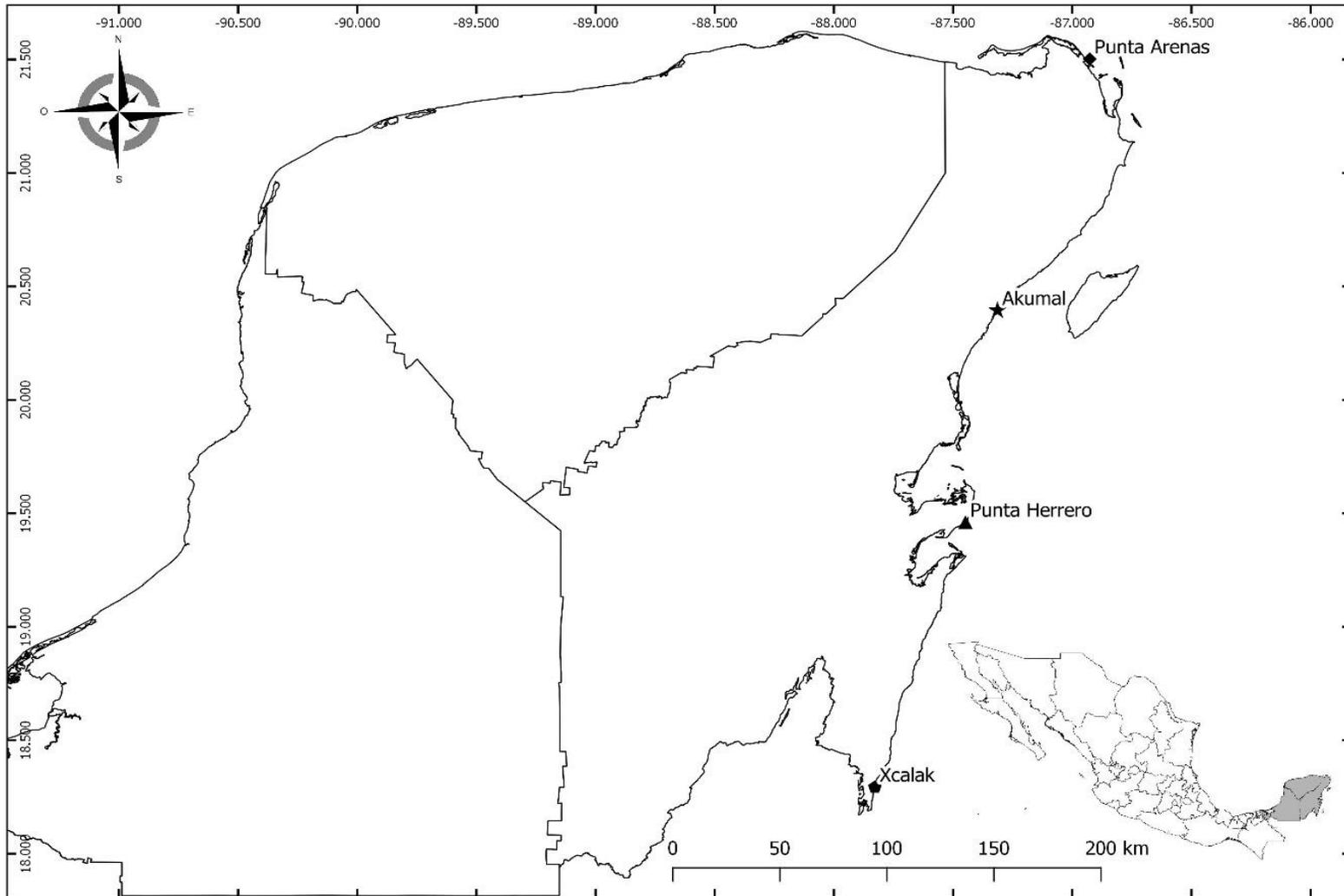


Figura 7. Ubicación de las zonas de muestreo en Quintana Roo, México. (◇) Punta Arenas ($21^{\circ} 30' 8''$ N, $86^{\circ} 55' 40''$ O), (*) Akumal ($20^{\circ} 24' 0''$ N, $87^{\circ} 19' 16''$ O), (Δ) Punta Herrero ($19^{\circ} 18' 47''$ N y $87^{\circ} 26' 47''$ O) y (□) Xcalak ($18^{\circ} 16' 10''$ N y $87^{\circ} 50' 10''$ O).

6.2 Captura de los individuos

La captura y colecta de muestras de las tortugas *Ch. mydas* se llevaron a cabo bajo permisos de colecta científica (SGPA/DGVS/09454/14, SGPA/DGVS102149116). En julio del 2015 se hicieron capturas en la Bahía de Akumal y en Punta Herrero. En 2016 se hicieron capturas en Punta Arenas (agosto), Bahía de Akumal (octubre) y Punta Herrero (septiembre). En junio y septiembre del 2017 sólo se hicieron capturas en Xcalak y en julio del 2018 se realizó una captura en Bahía de Akumal. Las tortugas blancas fueron capturadas por tres diferentes técnicas de captura que a continuación se describen.

6.2.1 Técnica de captura con red

Esta técnica fue empleada en Punta Arenas y consistió en utilizar redes artesanales de seda con luz de maya de 90cm. Se utilizaron 5 paños de red de 45 m cada uno, unidos por boyas y colocados de manera perpendicular a la corriente. Las redes fueron fondeadas con roca porosa en vez de plomos, para permitir que la tortuga flotara sin riesgo de ahogamiento. También se evaluó que en el fondo marino no hubiese zonas rocosas o de arrecife que pudieran atorar la red y poner en riesgo de ahogamiento a los ejemplares. Las redes fueron monitoreadas continuamente y revisadas bajo el agua para subir a un bote a los ejemplares capturados (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). El tiempo de muestreo efectivo, periodo comprendido entre el momento en que se tendía la red en el agua hasta el momento de levantarla, varió de 13.5 a 18.5 horas de acuerdo con la logística de los viajes y las condiciones climáticas y de marea de la zona.

6.2.2 Técnica de nado con esnórquel

Esta técnica fue empleada en la Bahía de Akumal y consistió en ubicar a los ejemplares a través del nado con esnórquel y uso de aletas. Durante la captura participaron varios nadadores, quienes fueron los encargados de localizar a las tortugas que se encontraban alimentando, respirando en superficie o descansando en el fondo (profundidad entre 1.5 y

3 metros). Una vez ubicada la tortuga, los nadadores la sujetaban por la parte craneal y caudal del caparazón hasta subirlas a la embarcación (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). En Bahía de Akumal-2018 se registró el tiempo desde que se subió a la tortuga a la embarcación hasta su liberación.

6.2.3 Técnica de avistamiento-persecución

Esta técnica fue empleada en Punta Herrero y Xcalak y consistió en perseguir a los ejemplares con el apoyo de un bote de aluminio de 16 pies de eslora y un motor de 10 hp. Una vez cerca de la tortuga, se procedió a realizar la captura manual con equipo de esnórquel y aletas. En Xcalak se registró el tiempo de persecución. Este tiempo fue definido como el tiempo transcurrido desde que se detectó a la tortuga hasta su captura.

6.3 Colecta de datos morfológicos y procesamiento de muestras biológicas

En todos los casos, inmediatamente después de haber hecho la captura, se procedió a tomar la muestra sanguínea para minimizar la posibilidad de alteraciones en los parámetros. La muestra sanguínea se tomó del seno venoso cervical siguiendo la forma descrita por Owen y Ruiz (1980). Para ello, se utilizaron agujas de 21 G (39 mm) y tubos Vacutainer® con heparina de litio como anticoagulante. Los tubos fueron correctamente etiquetados y se colocaron y transportaron sobre hielo hasta su procesamiento. En Punta Arenas e Xcalak se registró el tiempo transcurrido desde el inicio hasta el final de toma de la muestra sanguínea.

Posteriormente, se procedió a tomar las medidas morfométricas LCC y ancho curvo de carapacho (ACC) con el uso de cinta métrica flexible. Después se realizó una inspección visual para detectar rasgos sexuales secundarios (Eckert *et al.*, 2000), marca metálica en las aletas, así como presencia o ausencia de fibropapilomas. En tortugas donde fue detectada la presencia de tumores se realizó un registro de la región anatómica de acuerdo al protocolo estandarizado para fibropapilomatosis (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017) y

se tomaron las medidas de cada tumor, expresado en milímetros. En este estudio se utilizó el largo del tumor para llevar a cabo los análisis estadísticos correspondientes. A lo largo del texto se hablará del tamaño de los fibropapilomas refiriéndonos a esta medida. Las tortugas que presentaron marca fueron consideradas como *recapturas* y se registró la clave alfanumérica de ésta, las tortugas que no presentaron marca de identificación, ni cicatriz de marca fueron consideradas como tortugas *neófitas*, las cuales fueron registradas aplicando marcadas con marcas de acero monel (National Band and Tag Company, NBTC, Newport, Kentucky) (Balazs, 1999). Los organismos fueron liberados inmediatamente al terminar de registrar todos sus datos (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017).

Del tubo Vacutainer® con heparina de litio se separaron 60 µL de sangre en un criovial para medir en el laboratorio la concentración total de hemoglobina (Hb). Posteriormente, los tubos fueron centrifugados a 890 x *g* para separar el plasma y los glóbulos blancos de los eritrocitos. Para obtener el contenido intraeritrocitario se llevó a cabo una lisis de las células rojas por medio de choque osmótico y mecánico de acuerdo con el método de Pippenger *et al.* (1998). El método consiste en lavar los eritrocitos tres veces, mezclándolos con solución salina fisiológica (NaCl 0.9%), y centrifugando a 1500 x *g* por 10 minutos. En cada paso intermedio el sobrenadante obtenido es eliminado. La lisis celular se produce mediante un choque osmótico al añadir agua destilada en el último lavado. El material intracelular recuperado se colocó en microtubos (crioviales 1.5 mL, Eppendorf®) debidamente etiquetados. Todos los tubos se etiquetaron con una clave (zona y número consecutivo de muestra) y se congelaron inmediatamente por inmersión en nitrógeno líquido. Las muestras se mantuvieron en el tanque con nitrógeno líquido (cryoshipper) hasta llegar al Laboratorio de Estrés Oxidativo del CIBNOR, donde fueron almacenados en un ultracongelador a -80°C hasta su análisis.

6.4 Determinaciones analíticas

La actividad de las enzimas antioxidantes, la tasa de producción de $O_2^{\bullet-}$, los niveles de peroxidación de lípidos y proteínas carboniladas se hicieron con 1 mL de material intraeritrocitario y se cuantificaron por medio de técnicas espectrofotométricas, como se describe en las secciones siguientes. Todas las muestras fueron analizadas por duplicado. Con la finalidad de estandarizar los resultados de los indicadores de estrés oxidativo, se cuantificó la concentración de hemoglobina (Hb) de cada muestra, utilizando un kit comercial (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan) y un lector de microplaca (Multiskan FC, Thermo Scientific) a 570 nm.

6.4.1 Producción de radical superóxido

Se analizó la tasa de producción de $O_2^{\bullet-}$ como un indicador de la producción de ERO de acuerdo con el método de Drossos et al. (1995), basado en la producción de este radical durante la reducción de ferricitocromo c. Para ello, se colocaron 50 μ L del material intracelular en 500 μ L de solución amortiguadora de Krebs. Se adicionó el citocromo C (15 μ M) a cada muestra y se incubó en un baño de agua a 37°C con agitación por 15 minutos. Se retiraron las muestras del baño y se les agregó N-etilmaleimida (3 mM) para detener la reducción del citocromo C. Se centrifugó a 2124 $\times g$ a 4°C por 10 minutos y el sobrenadante fue transferido a una celda para medir la absorbancia en el espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800 UV/Visible, Fullerton, CA) a 550 nm. Los blancos de cada muestra se determinaron retirando el sobrenadante restante de los tubos y adicionando solución amortiguadora de Krebs, N-etilmaleimida y citocromo C. Se incubaron a 37°C, se centrifugaron a 2124 $\times g$ a 4°C durante 10 minutos y se midió la absorbancia del sobrenadante a 550 nm. La producción de $O_2^{\bullet-}$ se calculó con base en el coeficiente de extinción $E_{550}=21 \text{ nM L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. La tasa de producción de $O_2^{\bullet-}$ se reporta en nanomoles por minuto por miligramo de hemoglobina ($\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ Hb}$).

6.4.2 Actividad enzimática

a) Superóxido dismutasa (E.C.1.15.1.1)

Para cuantificar la actividad de SOD se utilizó el sistema xantina/xantina oxidasa como generador constante de $O_2^{\bullet-}$ el cual, en contacto con el nitroazul de tetrazolio (NBT) es reducido formando formazán cuyo cambio es detectado por espectrofotometría a 560 nm; la reducción del NBT es inhibida por la SOD (Suzuki, 2000). Todas las soluciones fueron mantenidas a 25°C y las muestras en hielo. Se mezcló en una celda de plástico la solución de trabajo (solución amortiguadora sodio-carbonato 50 mM, xantina 0.1 mM, NBT 0.025 mM, ácido etilen diamino tetraacético (EDTA) 0.1 mM, xantina oxidasa 1 U mL⁻¹, en sulfato de amonio 2 M y la muestra o blanco (solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, EDTA 60 mM). Se registró el cambio en la absorbancia a 560 nm cada 30 segundos durante 5 minutos en el espectrofotómetro (Jenway 6505 UV/Vis). La actividad de SOD fue expresada en unidades de actividad enzimática por gramo de hemoglobina (U g⁻¹ Hb).

b) Catalasa (E.C.1.11.1.6)

La actividad de la CAT se midió siguiendo el decremento en la concentración de H₂O₂ a 240 nm (Aebi, 1984). Todas las soluciones fueron mantenidas a 25°C y las muestras en hielo. Se mezcló en una celda de cuarzo la solución de trabajo (solución amortiguadora de fosfatos, 0.1 M), H₂O₂ (20 mM) y la muestra. Se registró el cambio en la absorbancia a 240 nm cada 15 segundos durante 3 minutos en el espectrofotómetro (Jenway 6505 UV/Vis). La actividad de CAT se reporta en unidades de actividad enzimática por gramo de hemoglobina (U g⁻¹ Hb).

c) Glutación S-transferasa (E.C.2.5.1.18)

La actividad de la GST se cuantificó a partir de la aparición de tioéter glutatión dinitrobenzeno como producto de la reacción entre GSH y 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno (CDNB) (Habig y Jakoby, 1981). Todas las muestras y soluciones fueron mantenidas en

hielo. En una celda de plástico se mezcló la solución de corrida (solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, GSH 10 mM, EDTA 60 mM), solución de CDNB (10 mM) y la muestra. Se registró la absorbancia a 340 nm cada 30 segundos durante 6 minutos en el espectrofotómetro (Jenway 6505 UV/Vis). La actividad de GST se reporta en unidades de actividad enzimática por gramo de hemoglobina ($\text{U g}^{-1} \text{Hb}$).

d) Glutación peroxidasa (E.C.1.11.1.9)

La GPx cataliza la reacción de H_2O_2 con GSH; el análisis de la actividad de GPx se basa en el decremento continuo de NADPH al mantener constantes los niveles de GSH (Flohé y Günzler, 1984). Todas las soluciones y las muestras fueron colocadas en hielo, a excepción de la solución amortiguadora de fosfatos (500 mM) la cual se mantuvo a temperatura ambiente. Se mezcló en una celda de plástico solución amortiguadora de fosfatos, EDTA (50 mM), azida de sodio (NaN_3) (20 mM), GR (15 U mL^{-1}), NADPH (1.5 mM), y agua desionizada. La absorbancia fue registrada a 340 nm. A la celda anteriormente preparada, se le agregó GSH (250 mM), la muestra y la solución H_2O_2 (10 mM). Se registró el cambio en la absorbancia a 340 nm cada 3 segundos durante 40 segundos en el espectrofotómetro (Jenway 6505 UV/Vis). La actividad de GPx se reporta en unidades de actividad enzimática por gramo de hemoglobina ($\text{U g}^{-1} \text{Hb}$).

6.4.3 Peroxidación de lípidos

La concentración de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) se midió como indicador de la peroxidación de lípidos para evaluar el daño por estrés oxidativo, al reaccionar los hidroperóxidos y aldehídos lipídicos con el ácido tiobarbitúrico (TBA) formando un pigmento rosa cuya absorción máxima se observa a 532-535 nm (Persky *et al.*, 2000). Para ello, se preparó una curva estándar con solución de 1,1,3,3-tetraetoxipropano (TEP) en un rango de 0 a 5 nmoles $250 \mu\text{L}^{-1}$. Las muestras y la curva estándar fueron incubadas en un baño de agua a 37°C con agitación constante durante 15 min. Al terminar se adicionó ácido tricloroacético (TCA, 0.76 M en HCl 1M) para detener la

reacción. Se añadió ácido tiobarbitúrico (TBA) al 1% y se incubaron los tubos a 90°C durante 10 min en un baño de agua con agitación constante. Posteriormente, se colocaron en un baño de hielo y se centrifugaron durante 10 min (2124 x g) a 4°C. Se recuperó el sobrenadante y se leyó a 532 nm en el espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800 UV/Visible, Fullerton, CA). Los resultados se calcularon a partir de la curva estándar. Los niveles de peroxidación de lípidos se expresan en nanomoles por miligramo de hemoglobina (nmol mg⁻¹ Hb).

6.4.4 Proteínas carboniladas

El daño oxidativo a proteínas se midió mediante la cuantificación de la cantidad de derivados carbonilos de las proteínas que se forman a partir de reacciones en las que interactúan aldehídos procedentes de la peroxidación de lípidos o de la oxidación de carbohidratos con proteínas (Levine *et al.*, 1994; Stadtman y Levine, 2000). En esta metodología, se midió la formación de un complejo entre derivados carbonilados de las proteínas y la 2,4-dinitrofenil hidrazina (DNPH), que se precipita con TCA y se midió la absorbancia máxima entre 340 y 410 nm.

Se homogenizaron las muestras con ácido sulfosalicílico (5%) y posteriormente, se centrifugaron a 23895 x g a 4°C durante 5 min. Se eliminó el sobrenadante y se agregó DNPH (10mM en HCl 2 M) a los tubos de las muestras y HCl (2M) a los tubos de los blancos; a continuación, se incubaron por 1 h a temperatura ambiente mientras se agitaban por lapsos de 40 s en intervalos de 15 minutos. Inmediatamente, se adicionó TCA al 20% a todos los tubos, los cuales fueron nuevamente centrifugados a 23895 x g a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se desecharon los sobrenadantes, se lavó 3 veces con una mezcla de etanol y acetato de etilo (1:1) y después de cada lavado se centrifugaron las muestras a 23895 x g por 5 minutos a temperatura ambiente. Transcurrido el centrifugado, se adicionó clorato de guanidina (6 M), el cual, a molaridades altas, se encarga de desnaturalizar las proteínas. Se incubaron los tubos en

un baño de 37°C durante 15 minutos y posteriormente se centrifugaron a $23895 \times g$ por 5 minutos. Finalmente, se hizo la lectura en el espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800 UV/Visible, Fullerton, CA) a 370 nm. Los niveles de proteínas carboniladas se expresan en nanomoles por miligramo de hemoglobina ($\text{nmol mg}^{-1} \text{Hb}$).

6.5 Clasificación de datos y análisis estadísticos

La estructura de la población se describió mediante histogramas de frecuencia por clases de talla y clases de edad de las tortugas blancas capturadas en las cuatro zonas de estudio. La clase de edad de los organismos se determinó considerando el límite inferior del rango de talla (86-124 cm de LCC) de hembras anidantes reportado en Quintana Roo (Zurita *et al.*, 1993). Los organismos con tallas ≥ 86 cm de LCC fueron agrupados en la clase de edad adulto y por debajo de este rango se clasificaron como inmaduros de sexo indeterminado. Los adultos se clasificaron como machos cuando presentaron caracteres sexuales secundarios tales como uñas fuertemente curvas y cola larga que se prolonga más allá del caparazón (Eckert *et al.*, 2000) y como hembras cuando presentaban la talla adulta (≥ 86 cm LCC) sin aparente desarrollo de caracteres sexuales secundarios (Labrada-Martagón *et al.*, 2014).

6.5.1 Fibropapilomatosis

Se realizaron histogramas de frecuencia de las tortugas blancas observadas con y sin fibropapilomas agrupadas por zona de captura, clases de talla y año. Se estimó la prevalencia de fibropapilomatosis por año y zona de captura. Se calculó el porcentaje de tumores registrados por región anatómica de las tortugas con fibropapilomas para determinar las regiones más afectadas por la enfermedad. Se estimó el número de fibropapilomas y el tamaño promedio de éstos por región anatómica, zona y año de captura. Se realizó una prueba de ji-cuadrada (χ^2) de bondad de ajuste con la finalidad de evaluar si el número de tortugas blancas observadas con y sin fibropapilomas sigue una razón 1:2 por zona de estudio. Así mismo, se realizó una prueba χ^2 de independencia con

la finalidad de evaluar si el número de tortugas capturadas con evidencia de fibropapilomatosis es dependiente de la talla (LCC) de los individuos (Zar, 1999).

6.5.2 Marcaje, tortugas neófitas y recapturas

El marcaje es una herramienta importante para la investigación, en particular para los estudios poblacionales. El valor principal del marcado es que, a lo largo de muchos años proporciona una oportunidad para medir el reclutamiento (Eckert *et al.*, 2000). Este parámetro permite entender la dinámica de la población. Una tortuga *neófito* puede ser un verdadero recluta en la población, ya sea como una hembra que nidifica por primera vez o una tortuga con una historia desconocida previo a su primera captura (Richardson *et al.*, 1999). El reclutamiento de organismos en lugares como la Bahía de Akumal se hace evidente, gracias al monitoreo que se ha hecho en el sitio desde el 2004 (Labrada-Martagón *et al.*, 2017). En este estudio se estimó la frecuencia de tortugas blancas *neófitas* y *recapturas* de Bahía de Akumal agrupadas por año de captura y se estimó el promedio de la talla de estas tortugas, así como también el tamaño promedio de las tortugas *neófitas* y *recapturadas* con fibropapilomatosis.

6.5.3 Indicadores de estrés oxidativo

Previo a realizar todas las evaluaciones estadísticas se probaron los supuestos de normalidad y de homocedasticidad de varianza de cada variable de estudio por medio de las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y de Levene, respectivamente (Zar, 1999). La actividad de GST, GPx y los niveles de TBARS fueron las únicas variables que no presentaron normalidad ($p < 0.05$), por lo que éstas fueron analizadas bajo estadística no paramétrica. Se utilizó la prueba de Grubbs para identificar valores atípicos y extremos (*outliers*) en cada variable (Komsta, 2011). Los valores detectados como extremos no fueron considerados dentro de los análisis estadísticos. Se utilizó el límite de detección con una constante (i.e., LD/2) en sustitución de aquellos datos que estuvieron por debajo del límite de detección (Helsel, 1990; Farnham *et al.*, 2002; Ogden, 2010).

En todas las variables se evaluaron diferencias entre sexos (hembra y macho), clases de edad (inmaduro y adulto), fibropapiloma (ausencia y presencia), años (2015, 2016 y 2018) y zona de estudio (Punta Arenas, Bahía de Akumal, Punta Herrero y Xcalak) en ese orden, por medio de pruebas paramétricas (t-Student y ANOVA) o pruebas no paramétricas (U de Mann Whitney y Kruskal-Wallis) según correspondiera. Se emplearon las pruebas de Tukey y de Dunn como pruebas post-hoc de comparaciones múltiples (Zar, 1999). Debido al número de capturas y a la distribución poblacional de *Ch. mydas* en la costa de Quinta Roo, las diferencias entre sexos y clases de edad se evaluaron con los datos de Punta Arenas y las diferencias entre tortugas con y sin fibropapilomas se evaluaron con los datos de Punta Arenas y Bahía de Akumal. Las diferencias entre años se evaluaron con los datos de las tortugas de Bahía de Akumal (2015, 2016 y 2018) y Punta Herrero (2015 y 2016), zonas para las que hubo dato anual comparativo. Se realizaron comparaciones entre las cuatro zonas de estudio, independientemente del año de captura, y también considerando el mismo año de captura, es decir, diferencias entre Bahía de Akumal y Punta Herrero (2015) y entre Punta Arenas, Bahía de Akumal y Punta Herrero (2016).

Se estimaron los coeficientes de correlación de Pearson o Spearman, según correspondiera, para evaluar la correlación de cada uno de los indicadores de estrés oxidativo con la talla (LCC) de los individuos por zona y año de captura, con el número de fibropapilomas, con el tamaño de los fibropapilomas (mm) y con el tiempo de persecución previo a la captura de las tortugas marinas de Xcalak.

6.5.4 Modelación multivariada

Previo a realizar los análisis multivariados se hizo una selección de datos para completar una base de datos cuadrada como lo requieren estos análisis (Tabachnik y Fidell, 1996). El volumen de las muestras sanguíneas de algunas tortugas no fue suficiente para la evaluación de todos sus indicadores de estrés oxidativo. En estos casos, y sólo para llevar a cabo los análisis multivariados, se utilizó el promedio de la o las variables faltantes

obtenidos por zona de estudio y año de captura. Las tortugas que carecieron de la evaluación de más de tres indicadores de estrés oxidativo fueron excluidas para estos análisis (Tabachnick y Fidell, 1996). La base final para llevar a cabo estos análisis quedó conformada por los siete indicadores de estrés oxidativo evaluados en 113 tortugas blancas.

Se realizó un análisis de componentes principales para detectar aquellas variables que contribuyen a explicar la variabilidad de los datos (Tabachnick y Fidell, 1996). Adicionalmente, el análisis de componentes principales permite determinar si existen patrones de distribución de los datos de acuerdo con la respuesta antioxidante y el daño oxidativo de las tortugas capturadas en el Caribe Mexicano. En este análisis se incluyeron los individuos capturados en Punta Arenas, Bahía de Akumal, Punta Herrero y Xcalak, así como los indicadores de estrés oxidativo, la tasa de producción de radical $O_2^{\bullet-}$, la actividad de las enzimas antioxidantes (SOD, CAT, GPx y GST), y los niveles de TBARS y de proteínas carboniladas.

Para este análisis se consideraron solamente los componentes principales con eigenvalores >1.0 , donde se muestra la varianza máxima del conjunto de datos (Tabachnick y Fidell, 1996). El primer componente principal es la combinación lineal de variables observadas que maximiza la varianza de sus cargas factoriales. El segundo componente se forma a partir de la correlación residual y es la combinación lineal de variables observadas que extrae la máxima variabilidad no correlacionada con el primer componente (Horak y Cohen, 2010). Se obtuvieron con rotación varimax las cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre los indicadores de estrés oxidativo. Se consideraron como significativas las cargas factoriales > 0.7 .

Se utilizó un análisis discriminante con la finalidad de evaluar si los indicadores de estrés oxidativo son útiles para discriminar a las tortugas marinas por zonas de alimentación y por años de captura en la costa de Quintana Roo. Primero, se utilizó un análisis

discriminante bajo el método estándar considerando a la “zona” y “año” como variables de agrupación bajo evaluación. En este análisis, todas las variables ingresan a las ecuaciones de la función de manera simultánea. Posteriormente se realizó un análisis discriminante por pasos, para obtener las funciones discriminantes conformadas por las variables con relevancia estadísticamente significativa (Tabachnick y Fidell, 1996). Este análisis permite identificar al grupo de variables que contribuyen significativamente a explicar las diferencias observadas entre grupos de individuos; en este caso, agrupados por las zonas y los años de captura (Tabachnick y Fidell, 1996). Se utilizaron el estadístico Lambda de Wilks y las distancias cuadradas de Mahalanobis (distancias ente los centroides o medias de cada grupo) para evaluar la significancia del análisis y de las diferencias entre grupos (zonas y años). Se estimaron los coeficientes de cada variable que conforman las funciones discriminantes, los eigenvalores y la proporción de varianza explicada por las mismas (Tabachnick y Fidell, 1996).

El nivel de significancia estadística que se consideró en todos los análisis de este estudio fue de $\alpha= 0.05$. Los análisis, se realizaron utilizando los programas computacionales Excel, Statistica v.7 (StatSoft Inc, 2004) y R v.3.1.3 (R Core Team, 2015), así como el paquete R “outliers” (Komsta, 2011).

7. RESULTADOS

7.1 Estructura de la población

Se capturaron 170 tortugas blancas (*Ch. mydas*) en total durante el periodo 2015 a 2018 en Quintana Roo, México (Anexo A). El LCC promedio de las tortugas *Chelonia mydas* capturadas en Punta Arenas ($n=47$) fue de 85.2 cm (rango 65.1-111 cm), en Bahía de Akumal ($n=78$) fue de 63.5 cm (rango 40.7-80 cm), en Punta Herrero ($n=24$) 38.4 cm (rango 26.2-56.5 cm), y en Xcalak ($n=21$) fue de 51.8 cm (rango 27.3-71.5 cm) (Fig. 8). Con base a los rasgos sexuales secundarios observados y la talla, se clasificaron 17 tortugas adultas en Punta Arenas, siendo 14 hembras y 3 machos. El resto de los organismos capturados fueron considerados como inmaduros ($n=153$) (Fig. 8).

Con respecto al periodo de manejo de los organismos durante la captura, el tiempo promedio transcurrido desde el inicio y el final de la toma de muestra sanguínea, fue para las tortugas de Punta Arenas de 5.2 minutos (1-15 min, $n=12$) y de las tortugas de Xcalak de 3.9 minutos (1-6 min, $n=11$). En Bahía de Akumal el tiempo promedio transcurrido desde que se subió la tortuga a la embarcación hasta su liberación fue de 11.6 minutos (5-22 min, $n=12$ en 2018). El tiempo promedio de persecución en bote previo a la captura de las tortugas blancas registrado en Xcalak fue de 9.4 minutos (3-20 min, $n=19$) y sumado al tiempo de toma de muestra sanguínea el periodo de manejo en promedio de las tortugas de este sitio fue de 13.2 minutos (8-19 min, $n=16$).

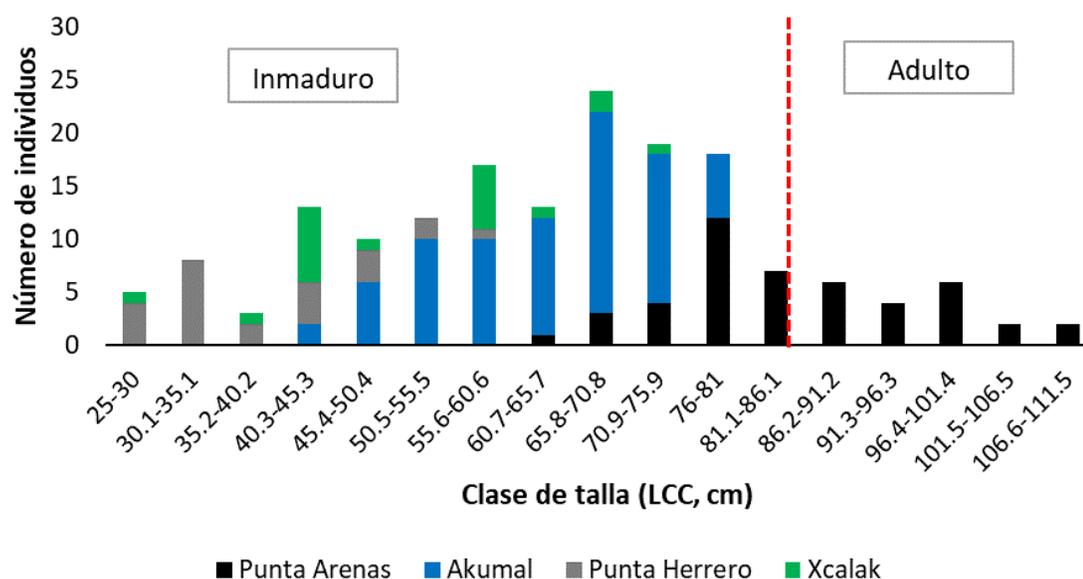


Figura 8. Estructura poblacional de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturada en cuatro zonas de Quintana Roo, México durante 2015-2018. La línea punteada representa la talla mínima de anidación de hembras en Quintana Roo (86 cm LCC, Zurita et al. 1993).

7.1.1 Fibropapilomatosis

De las 170 tortugas blancas capturadas, el 79 % ($n=134$) no mostraron evidencia de fibropapilomas y el 21 % ($n=36$) si presentaron la enfermedad. Punta Arenas y Bahía de Akumal fueron las únicas zonas donde se observaron tortugas afectadas con fibropapilomatosis (Fig. 9). En Punta Arenas 14 de las 47 tortugas blancas capturadas presentaron tumores, por lo que la prevalencia de fibropapilomatosis en esta zona durante el 2016 fue de 29.7%. De estas 14 tortugas, 8 fueron inmaduras y 6 adulto. En la Bahía de Akumal 22 de las 78 tortugas blancas capturadas presentaron la enfermedad (Fig. 9). De las 22 tortugas de Bahía de Akumal con fibropapilomatosis, 5 se capturaron en 2015, 10 en 2016 y 7 en 2018 observándose una prevalencia de fibropapilomatosis en aumento, 2015 (17.8%), 2016 (27%) y 2018 (53.8%) (Fig. 10).

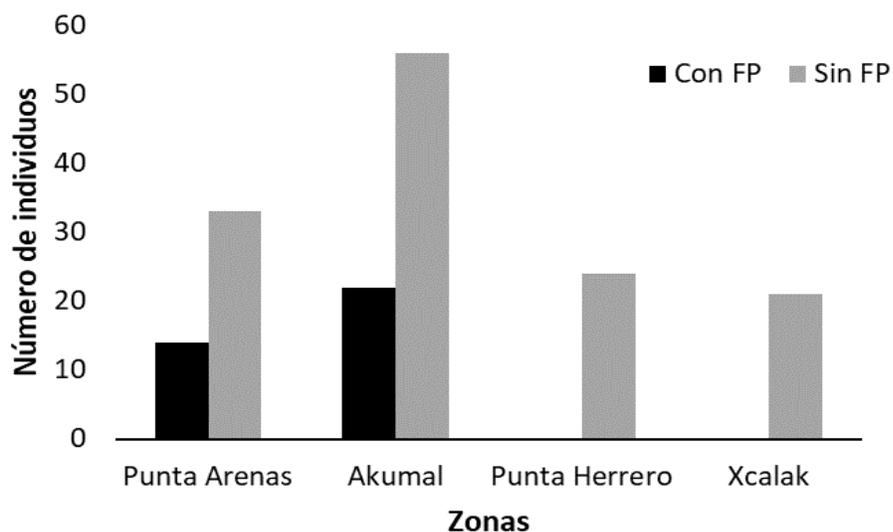


Figura 9. Tortugas blancas (*Chelonia mydas*) con y sin fibropapilomas por zona de estudio en Quintana Roo, México de 2015-2018.

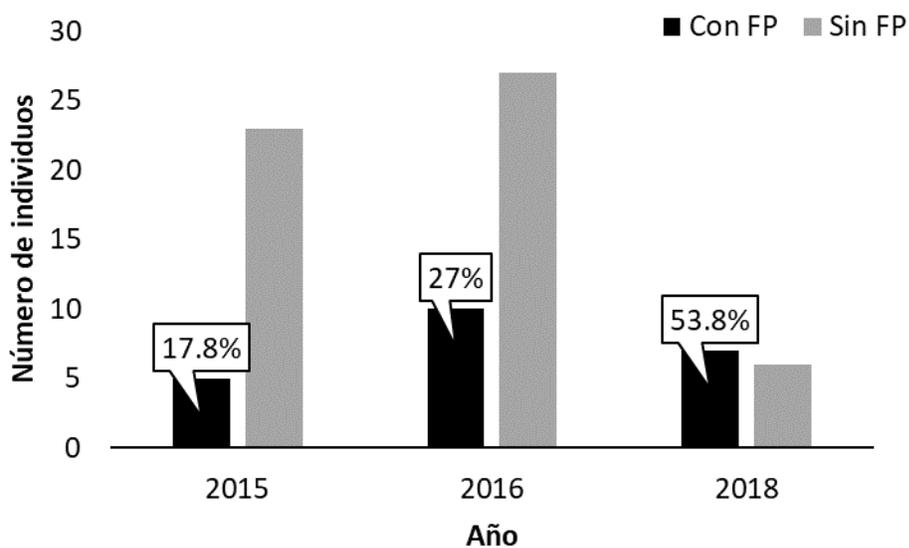


Figura 10. Tortugas blancas (*Chelonia mydas*) con y sin fibropapilomas por año de captura en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México. Recuadro, prevalencia anual de la enfermedad.

Con relación a la talla de las tortugas blancas con fibropapilomatosis, se observó que el rango de talla de las tortugas marinas con fibropapilomatosis de Punta Arenas fue de 65.1-104 cm de LCC, tanto tortugas inmaduras (subadultas) como adultas mostraron evidencia de fibropapilomatosis (Fig. 11). En Bahía de Akumal se observó un rango de tallas de tortugas con fibropapilomatosis de 51.7-77 considerando los tres años de estudio, observándose la mayor frecuencia de tortugas con fibropapilomas en inmaduros que midieron entre 65.8-75.9 cm de LCC (Fig. 12).

Se registraron en total 122 tumores en 36 tortugas marinas con fibropapilomatosis. El tamaño promedio de los fibropapilomas se presenta por región anatómica, zona y año de captura en Tabla I. En Punta Arenas y Bahía de Akumal, se observó que las aletas anteriores (51%) y los ojos (29%) fueron las principales regiones anatómicas afectadas por fibropapilomas. El cuello (11%), las aletas posteriores (6%), la inglete (2%) y la cola (1 %) fueron otras regiones afectadas en menor grado (Tabla I). Los tumores de mayor tamaño se observaron en las aletas anteriores y el cuello, seguido de ojos, cola, aletas posteriores e inglete (Tabla I). El promedio del tamaño de los fibropapilomas en las tortugas capturadas en Punta Arenas fue de 19.5 mm y en la Bahía de Akumal fue de 24.6 mm (2015), 12.8 mm (2016) y 17mm (2018) (Tabla I).

Tanto en Punta Arenas ($\chi^2_{0.05,1}=0.82$, $p>0.05$) como en Bahía de Akumal ($\chi^2_{0.05,1}=0.92$, $p>0.05$) se determinó que por cada tortuga capturada con fibropapilomatosis se capturan dos tortugas sin la enfermedad (Fig. 9). En Punta Arenas, el número de tortugas con evidencia de fibropapilomas resultó ser independiente de la clase de talla de las tortugas marinas capturadas ($\chi^2_{0.05,9}=7.04$, $p>0.05$), contrario a esto, en Bahía de Akumal, el número de tortugas capturadas con evidencia de fibropapilomas y la clase de talla de las tortugas marinas capturadas no son independientes ($\chi^2_{0.05,7}=14.86$, $p<0.05$).

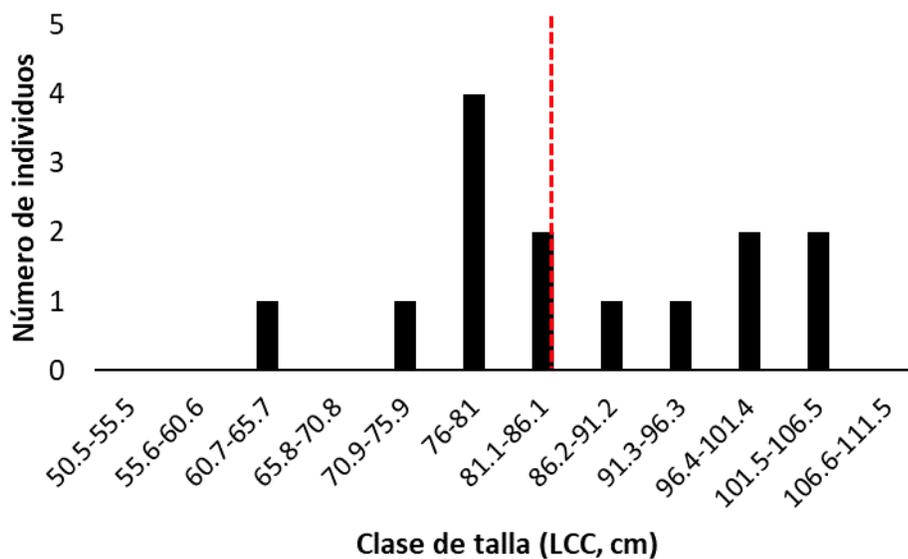


Figura 11. Número de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas con fibropapilomas agrupadas por clase de talla en Punta Arenas (2016) Quintana Roo, México. La línea punteada representa la talla mínima de anidación de hembras en Quintana Roo (86 cm LCC, Zurita et al. 1993).

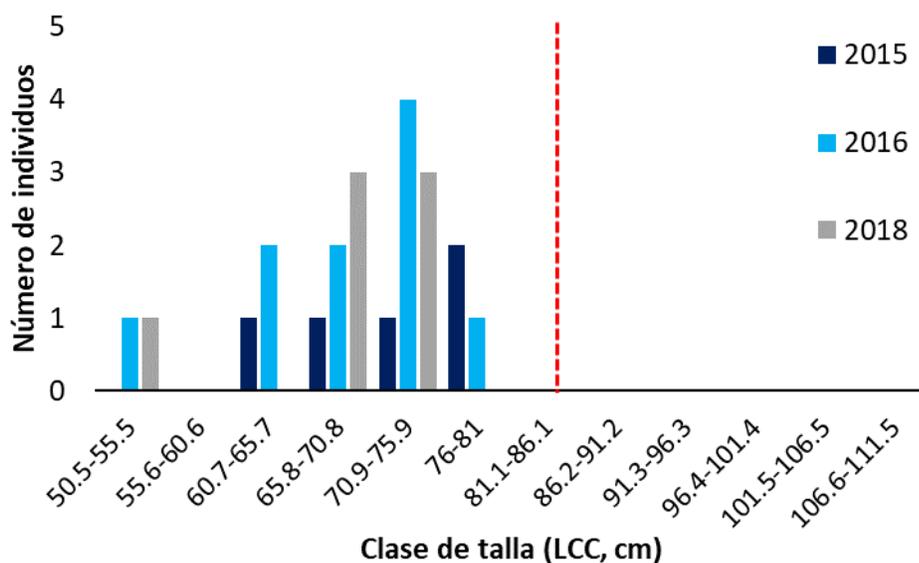


Figura 12. Número de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas con fibropapilomas agrupadas por clase de talla y por año de captura en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México. La línea punteada representa la talla mínima de anidación de hembras en Quintana Roo (86 cm LCC, Zurita et al. 1993).

Tabla I. Tamaño promedio (milímetros) de fibropapilomas agrupados por región anatómica y año de captura en tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Punta Arenas y Bahía de Akumal, Quintana Roo, México en el periodo 2015-2018.

Región anatómica/año	Punta Arenas	Bahía de Akumal			Tamaño mm (promedio)	Porcentaje (%)
	2016	2015	2016	2018		
Ojo	8.7(n=13)	20(n=5)	13.8(n=8)	12.2(n=10)	13.7(n=36)	29
Cuello	14.7(n=7)	24(n=2)	8.5(n=2)	38.3(n=3)	21.4(n=14)	11
Aletas anteriores	23.4(n=11)	30(n=1)	16(n=31)	14.9(n=19)	21.1(n=62)	51
Aletas posteriores	18(n=4)	-	-	12.7(n=3)	15.3(n=7)	6
Ingle	14(n=1)	-	-	7(n=1)	10.5(n=2)	2
Cola	38(n=1)	-	-	-	38(n=1)	1
Tamaño mm (promedio)	19.5(n=37)	24.6(n=8)	12.8(n=41)	17.0(n=36)	n=122	100

n, representa el número de tumores registrados.

7.1.2 Neófitas y recapturas

El 100% de las tortugas capturadas en Punta Arenas, Punta Herrero y Xcalak fueron identificadas como *neófitas*. En Bahía de Akumal se identificaron en total 34 tortugas *neófitas* (43.5%) y 44 tortugas *recapturas* (56.4%). El porcentaje de las tortugas *neófitas* y *recapturadas* por año de captura se muestra en la Figura 13. Las tortugas *neófitas* presentaron una talla promedio de 59.11 ± 8.94 cm LCC (rango 40.7-78.3 cm), mientras que las tortugas *recapturadas* 67.05 ± 8.13 cm LCC (rango 45-80 cm). Particularmente, las tortugas blancas *neófitas* con fibropapilomatosis de Bahía de Akumal ($n=8$), presentaron una talla promedio de 64.5 ± 7.1 cm LCC (rango 51.7-70.9 cm), mientras que las tortugas *recapturadas* con fibropapilomatosis ($n=14$) una talla promedio de 71.99 ± 4.71 cm LCC (rango 61.5-77 cm).

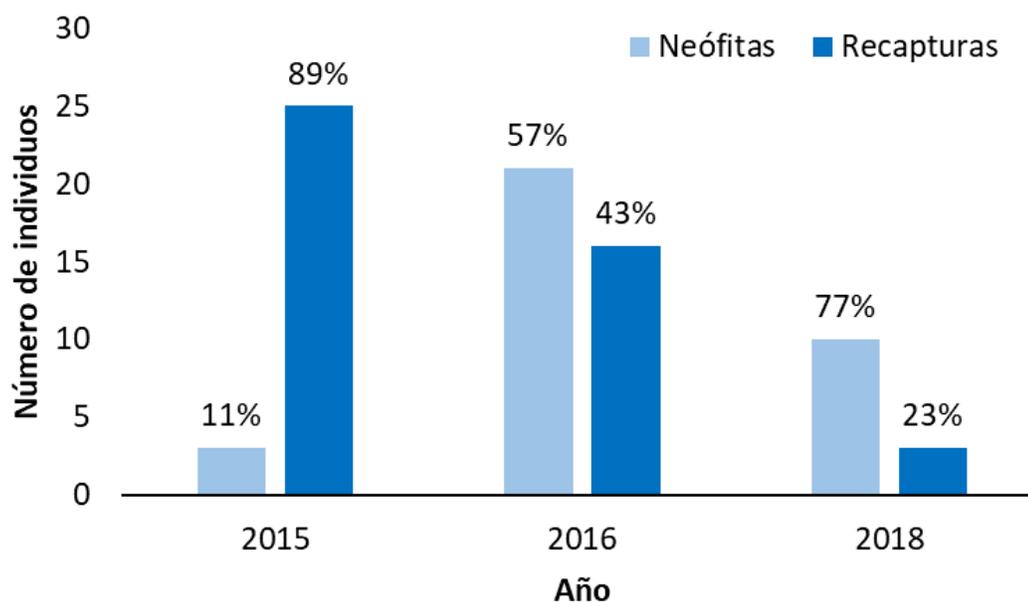


Figura 13. Porcentaje de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) neófitas y recapturas por año de captura en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.

7.2. Indicadores de estrés oxidativo

Los resultados de la tasa de producción de $O_2^{\bullet-}$, actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo cuantificados en el contenido intraeritrocitario de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas vivas en el Estado de Quintana Roo en el periodo de 2015 a 2018, son presentados en la Tabla II. En total se analizaron 119 muestras sanguíneas de las 170 tortugas *Ch. mydas* capturadas (Anexo A).

Tabla II. Indicadores de estrés oxidativo cuantificados en contenido intraeritrocitario de 119 tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Quintana Roo, México en el periodo de 2015 a 2018.

	Media	E.S.	Rango	Mediana	Percentil 25	Percentil 75	n
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	6E ⁻⁴	3E ⁻⁵	4E ⁻⁵ -2.2E ⁻³	6E ⁻⁴	4E ⁻⁴	8E ⁻⁴	109
SOD (U/g Hb)	4.44	0.19	0.52-10.85	4.43	2.69	5.51	104
CAT (U/g Hb)	7.91	0.62	0.33-26.92	6.68	2.45	11.75	97
GPx (U/g Hb)	0.48	0.05	2E ⁻⁵ -3.40	0.31	0.06	0.67	108
GST (U/g Hb)	0.09	0.02	1E ⁻⁶ -1.29	9E ⁻³	3E ⁻³	0.08	106
TBARS (nmol/mg Hb)	0.02	0.003	7E ⁻⁴ -0.23	0.02	0.01	0.03	109
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.26	0.02	0.004-0.89	0.22	0.10	0.37	96

Abreviaturas: O₂^{•-}, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. carb, proteínas carboniladas; E.S., error estándar; n, tamaño de la muestra.

7.2.1 Indicadores de estrés oxidativo en relación con factores bióticos.

Los resultados de la producción de O₂^{•-}, actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en muestras de sangre de tortugas blancas capturadas en Punta Arenas se presentan por género (Tabla III), clase de edad (Tabla IV) y presencia/ausencia de fibropapilomas (Tabla V). La actividad de la enzima GST fue mayor en las tortugas macho que en hembras ($p=0.01$) (Fig. 14a). La actividad de la enzima SOD fue mayor en las tortugas adulto en comparación con las tortugas inmaduras ($p=0.01$) (Fig. 14b). No se encontraron diferencias significativas en los indicadores de estrés oxidativo entre tortugas con y sin fibropapilomatosis de Punta Arenas.

Los resultados de indicadores de estrés oxidativo de las tortugas capturadas en Bahía de Akumal, agrupadas por presencia/ausencia de fibropapilomas se presenta en la Tabla VI. En esta zona no se encontraron diferencias significativas entre tortugas con y sin fibropapilomatosis.

Únicamente en las tortugas capturadas en Bahía de Akumal durante el 2018, la actividad de la GPx y los niveles de TBARS se correlacionaron negativamente con la talla de los individuos ($p < 0.05$) (Tabla VII). No se encontró correlación entre los indicadores de estrés oxidativo y el número de fibropapilomas presentes en las tortugas blancas (Tabla VIII). Sin embargo, el tamaño del fibropapiloma se correlacionó positivamente con la tasa de producción de radical $O_2^{\cdot-}$ ($p < 0.001$), con la actividad de la CAT ($p = 0.03$) y con la actividad de GST ($p < 0.01$) (Tabla IX).

Tabla III. Tasa de producción de radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Punta Arenas, Quintana Roo, México, agrupadas por sexo.

Hembras	Media	E.S.	Rango	Mediana	Percentil 25%	Percentil 75%	n
$O_2^{\cdot-}$ (nmol/min*mg Hb)	8E ⁻⁴	8E ⁻⁵	5E ⁻⁴ -1.1E ⁻³	7E ⁻⁴	6E ⁻⁴	1.1E ⁻³	7
SOD (U/g Hb)	6.18	0.89	4.25-9.58	5.40	4.43	8.05	6
CAT (U/g Hb)	6.23	4.86	0.33-15.88	2.48	0.33	15.88	3
GPx (U/g Hb)	0.23	0.15	2E ⁻⁵ -0.84	0.07	0.04	0.22	5
GST (U/g Hb)	0.003	6E ⁻⁴	4E ⁻⁴ -0.005	0.003	0.002	0.004	7
TBARS (nmol/mg Hb)	0.01	0.002	0.009-0.02	0.01	0.01	0.02	7
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.34	0.07	0.08-0.64	0.31	0.21	0.49	7
Machos							
$O_2^{\cdot-}$ (nmol/min*mg Hb)	7E ⁻⁴	1E ⁻⁴	5E ⁻⁴ -1E ⁻³	6E ⁻⁴	5E ⁻⁴	1E ⁻³	3
SOD (U/g Hb)	6.25	0.29	5.89-6.84	6.03	5.89	6.84	3
CAT (U/g Hb)	11.46	5.81	4.60-23.03	6.76	4.60	23.03	3
GPx (U/g Hb)	0.42	0.34	0.06-1.11	0.10	0.06	1.11	3
GST (U/g Hb)	0.008	0.001	0.006-0.009	0.009*	0.006	0.009	3
TBARS (nmol/mg Hb)	0.01	0.003	0.01-0.02	0.02	0.01	0.02	3
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.28	0.08	0.19-0.36	0.28	0.19	0.36	2

Abreviaturas: $O_2^{\cdot-}$, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. carb, proteínas carboniladas; ES, error estándar; n, tamaño de la muestra. *= denota diferencias significativas entre géneros, $p < 0.05$.

Tabla IV. Tasa de producción de radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Punta Arenas, Quintana Roo, México, agrupadas por clase de edad.

Inmaduro	Media	E.S.	Rango	Mediana	Percentil 25%	Percentil 75%	n
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	5E ⁻⁴	1E ⁻⁴	2E ⁻⁴ -1E ⁻³	4E ⁻⁴	3E ⁻⁴	1E ⁻³	7
SOD (U/g Hb)	4.15	0.59	2.59-5.45	4.28	3.35	4.94	4
CAT (U/g Hb)	8.38	2.67	1.81-16.68	7.44	2.45	14.45	6
GPx (U/g Hb)	0.12	0.03	9E ⁻⁵ -0.28	0.11	0.04	0.19	7
GST (U/g Hb)	0.005	0.002	0.001-0.01	0.003	0.001	0.008	4
TBARS (nmol/mg Hb)	0.02	0.004	0.007-0.03	0.02	0.01	0.03	7
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.32	0.10	0.10-0.61	0.29	0.17	0.47	4
Adulto							
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	8E ⁻⁴	7E ⁻⁵	4E ⁻⁴ -1E ⁻³	8E ⁻⁴	6E ⁻⁴	1E ⁻³	14
SOD (U/g Hb)	6.31*	0.41	4.25-9.58	6.03	5.32	7.16	13
CAT (U/g Hb)	9.31	2.82	0.33-23.03	6.76	2.48	15.88	9
GPx (U/g Hb)	0.33	0.11	2E ⁻⁵ -1.11	0.10	0.04	0.72	11
GST (U/g Hb)	0.005	9E ⁻⁴	4E ⁻⁴ -0.01	0.004	0.002	0.009	14
TBARS (nmol/mg Hb)	0.01	0.001	0.009-0.02	0.02	0.01	0.02	13
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.37	0.05	0.08-0.72	0.33	0.23	0.47	12

Abreviaturas: $O_2^{\bullet-}$, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. carb, proteínas carboniladas; ES, error estándar; n, tamaño de la muestra. *= denota diferencias significativas entre clase de edad, $p < 0.05$.

Tabla V. Tasa de producción de radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Punta Arenas, Quintana Roo, México, agrupadas por presencia/ausencia de fibropapilomas.

Con fibropapilomas	Media	E.S.	Rango	Mediana	Percentil 25%	Percentil 75%	n
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	7E ⁻⁴	1E ⁻⁴	2E ⁻⁴ -1E ⁻³	6E ⁻⁴	4E ⁻⁴	1E ⁻³	12
SOD (U/g Hb)	5.65	0.58	2.59-8.05	5.45	4.44	7.16	9
CAT (U/g Hb)	8.99	2.38	1.46-20.57	8.64	2.45	14.45	9
GPx (U/g Hb)	0.21	0.06	9E ⁻⁵ -0.72	0.13	0.04	0.28	11
GST (U/g Hb)	0.005	0.001	4E ⁻⁴ -0.01	0.004	0.001	0.01	9
TBARS (nmol/mg Hb)	0.02	0.002	0.007-0.03	0.02	0.01	0.03	11
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.37	0.07	0.10-0.72	0.31	0.24	0.53	8
Sin fibropapilomas							
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	7E ⁻⁴	7E ⁻⁵	5E ⁻⁴ -1E ⁻³	7E ⁻⁴	6E ⁻⁴	1E ⁻³	9
SOD (U/g Hb)	5.98	0.60	4.25-9.58	5.96	4.61	6.43	8
CAT (U/g Hb)	8.85	3.58	0.33-23.03	5.68	2.48	15.88	6
GPx (U/g Hb)	0.31	0.17	2E ⁻⁵ -1.11	0.07	0.04	0.84	7
GST (U/g Hb)	0.005	8E ⁻⁴	0.002-0.009	0.004	0.003	0.006	9
TBARS (nmol/mg Hb)	0.01	0.002	0.009-0.02	0.02	0.01	0.02	9
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.34	0.06	0.08-0.64	0.33	0.20	0.46	8

Abreviaturas: $O_2^{\bullet-}$, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. carb, proteínas carboniladas; ES, error estándar; n, tamaño de la muestra.

Tabla VI. Tasa de producción de radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Bahía de Akumal, Quintana Roo, México, agrupadas por presencia/ausencia de fibropapilomas.

Con fibropapilomas	Media	E.S.	Rango	Mediana	Percentil 25%	Percentil 75%	n
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	6E ⁻⁴	7E ⁻⁵	9E ⁻⁵ -1.3E ⁻³	5E ⁻⁴	4E ⁻⁴	7E ⁻⁴	18
SOD (U/g Hb)	4.14	0.37	2.20-7.39	3.66	2.55	4.89	19
CAT (U/g Hb)	9.97	1.21	1.44-18.84	9.66	7.62	11.99	17
GPx (U/g Hb)	0.32	0.06	6E ⁻⁵ -1.01	0.24	0.10	0.55	20
GST (U/g Hb)	0.06	0.02	3E ⁻⁶ -0.36	0.03	0.005	0.12	17
TBARS (nmol/mg Hb)	0.02	0.003	0.004-0.05	0.01	0.01	0.02	19
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.22	0.05	0.01-0.89	0.16	0.06	0.28	15
Sin fibropapilomas							
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	7E ⁻⁴	6E ⁻⁵	1E ⁻⁴ -2.2E ⁻³	7E ⁻⁴	4E ⁻⁴	8E ⁻⁴	39
SOD (U/g Hb)	4.38	0.25	1.76-7.32	4.44	2.96	5.57	38
CAT (U/g Hb)	8.39	1.07	0.59-26.92	6.54	3.03	12.24	38
GPx (U/g Hb)	0.34	0.06	2E ⁻⁵ -1.40	0.30	0.004	0.57	37
GST (U/g Hb)	0.16	0.04	7E ⁻⁴ -1.29	0.01	0.003	0.20	40
TBARS (nmol/mg Hb)	0.03	0.006	0.007-0.23	0.02	0.01	0.04	40
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.29	0.03	0.004-0.82	0.25	0.11	0.39	36

Abreviaturas: $O_2^{\bullet-}$, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. carb, proteínas carboniladas; ES, error estándar; n, tamaño de la muestra.

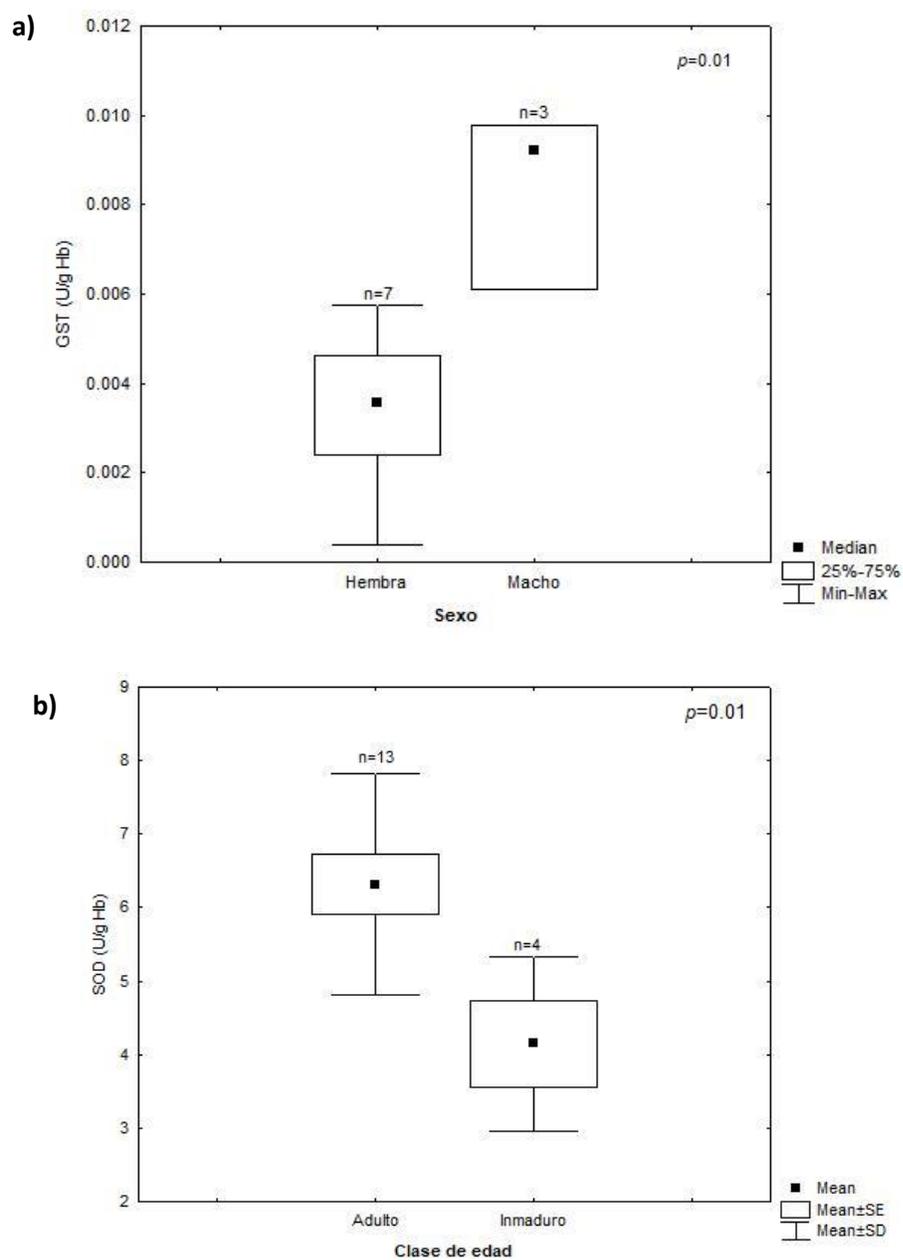


Figura 14. Actividad ($U\ g^{-1}\ Hb$) de las enzimas glutatión S-transferasa (GST) por sexo (a) y superóxido dismutasa (SOD) por clase de edad (b) en contenido intraeritrocitario de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Punta Arenas, Quintana Roo, México.

Tabla VII. Coeficientes de correlación Pearson (*r*) entre los indicadores de estrés oxidativo y la talla (LCC, cm) de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en las 4 zonas de estudio.

ZONA/AÑO	LCC (cm)		
Indicador de estrés oxidativo	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>n</i>
Akumal-2015			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	0.01	0.96	21
SOD (U/g Hb)	0.07	0.75	19
CAT (U/g Hb)	0.33	0.14	21
GPx (U/g Hb)	0.15	0.51	20
GST (U/g Hb)	-0.19	0.39	21
TBARS (nmol/mg Hb)	0.15	0.50	21
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	-0.35	0.12	20
Akumal-2016			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	0.21	0.30	25
SOD (U/g Hb)	0.009	0.96	27
CAT (U/g Hb)	0.07	0.72	23
GPx (U/g Hb)	0.002	0.99	26
GST (U/g Hb)	0.04	0.84	26
TBARS (nmol/mg Hb)	-0.06	0.74	26
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	0.26	0.23	21
Akumal-2018			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	-0.49	0.12	11
SOD (U/g Hb)	0.04	0.90	11
CAT (U/g Hb)	-0.32	0.33	11
GPx (U/g Hb)	-0.73	0.01	11
GST (U/g Hb)	0.35	0.31	10
TBARS (nmol/mg Hb)	-0.58	0.04	12
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	-0.15	0.65	10
Punta Arenas-2016			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	0.22	0.31	21
SOD (U/g Hb)	0.41	0.09	17
CAT (U/g Hb)	-0.26	0.34	15
GPx (U/g Hb)	0.16	0.52	18
GST (U/g Hb)	-0.18	0.46	18
TBARS (nmol/mg Hb)	-0.25	0.28	20
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	-0.002	0.99	16

(Continúa)

Punta Herrero-2015			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	-0.39	0.25	10
SOD (U/g Hb)	-0.55	0.12	9
CAT (U/g Hb)	-0.23	0.53	9
GPx (U/g Hb)	-0.36	0.29	10
GST (U/g Hb)	-0.48	0.15	10
TBARS (nmol/mg Hb)	-0.05	0.88	9
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	-0.34	0.35	9
Punta Herrero-2016			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	0.44	0.37	6
SOD (U/g Hb)	0.50	0.25	7
CAT (U/g Hb)	0.59	0.40	4
GPx (U/g Hb)	0.03	0.92	8
GST (U/g Hb)	0.07	0.88	6
TBARS (nmol/mg Hb)	-0.50	0.24	7
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	0.58	0.21	6
Xcalak-2017			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	0.25	0.37	14
SOD (U/g Hb)	0.18	0.55	13
CAT (U/g Hb)	-0.12	0.68	13
GPx (U/g Hb)	0.29	0.30	14
GST (U/g Hb)	0.14	0.61	14
TBARS (nmol/mg Hb)	-0.11	0.71	13
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	0.10	0.74	13

Abreviaturas: O₂^{•-}, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; LCC, largo curvo de caparazón. En negritas se denotan las correlaciones significativas a $p < 0.05$.

Tabla VIII. Coeficientes de correlación de Pearson (r) entre el número de fibropapilomas y los indicadores de estrés oxidativo de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Punta Arenas y Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.

PUNTA ARENAS Y BAHÍA DE AKUMAL	No. de fibropapilomas		
	r	p	n
Indicador de estrés oxidativo			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	-0.08	0.65	29
SOD (U/g Hb)	-0.24	0.21	27
CAT (U/g Hb)	-0.02	0.91	26
GPx (U/g Hb)	0.04 ^a	0.82	30
GST (U/g Hb)	0.03 ^a	0.87	25
TBARS (nmol/mg Hb)	-0.27	0.15	29
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	-0.09	0.67	22

Abreviaturas: O₂^{•-}, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; a, coeficiente de correlación de Spearman.

Tabla IX. Coeficientes de correlación Pearson (r) entre el tamaño del fibropapiloma (milímetros) y los indicadores de estrés oxidativo de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Punta Arenas y Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.

PUNTA ARENAS Y BAHÍA DE AKUMAL	Tamaño de fibropapilomas (mm)		
	r	p	n
Indicador de estrés oxidativo			
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	0.63	<0.001	25
SOD (U/g Hb)	0.13	0.55	23
CAT (U/g Hb)	0.45	0.03	22
GPx (U/g Hb)	-0.04	0.84	26
GST (U/g Hb)	0.57^a	<0.01	21
TBARS (nmol/mg Hb)	0.11	0.59	25
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	-0.39	0.10	18

Abreviaturas: O₂^{•-}, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; a, coeficiente de correlación de Spearman. En negritas se denotan las correlaciones significativas a $p < 0.05$.

7.2.2 Indicadores de estrés oxidativo en relación con factores abióticos

Los resultados de la producción de radical $O_2^{\bullet-}$, actividad de las enzimas antioxidantes e indicadores de daño oxidativo en el contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Ch. mydas*) se presentan por año de captura de la zona Bahía de Akumal (Anexo B) y de Punta Herrero (Anexo C). En Bahía de Akumal se observó mayor actividad de SOD ($p=0.01$), mayores niveles de proteínas carboniladas ($p=0.02$) y menor actividad de GPx ($p<0.001$) durante el 2016 en comparación a los años 2015 y/o 2018 (Fig. 15). La actividad de la GST ($p<0.001$) y los niveles de TBARS ($p<0.001$) fueron mayores en las tortugas capturadas en 2015 que en las tortugas capturadas en 2016 y 2018 (Fig. 15). Entre las tortugas capturadas en Punta Herrero se observó mayor actividad de GPx ($p<0.01$) y de GST ($p<0.01$) en 2015 en comparación con las que fueron capturadas en 2016 (Fig. 16).

Se presentan los valores promedio de los indicadores de estrés oxidativo de las tortugas blancas agrupadas por zonas de estudio en el Anexo D. Se encontró que la actividad de SOD fue mayor en las tortugas de Punta Arenas que en las tortugas de Bahía de Akumal y Xcalak ($p<0.01$) (Fig. 17). Los individuos de Bahía de Akumal y Punta Herrero mostraron mayor actividad de GST que en Punta Arenas ($p<0.01$) (Fig. 17). Las tortugas marinas de Xcalak presentaron menores niveles de TBARS ($p<0.001$) y de proteínas carboniladas ($p=0.01$) que las tortugas de las otras tres zonas de estudio y la actividad de GPx fue mayor en las tortugas de esta zona que en las tortugas de Punta Arenas y Bahía de Akumal ($p<0.001$) (Fig. 17).

Se encontró una relación positiva con la actividad de la enzima SOD y el tiempo de persecución empleado para capturar a las tortugas de Xcalak ($p=0.03$), el cual fue en promedio de 10 min (rango 3-20 min) (Tabla X).

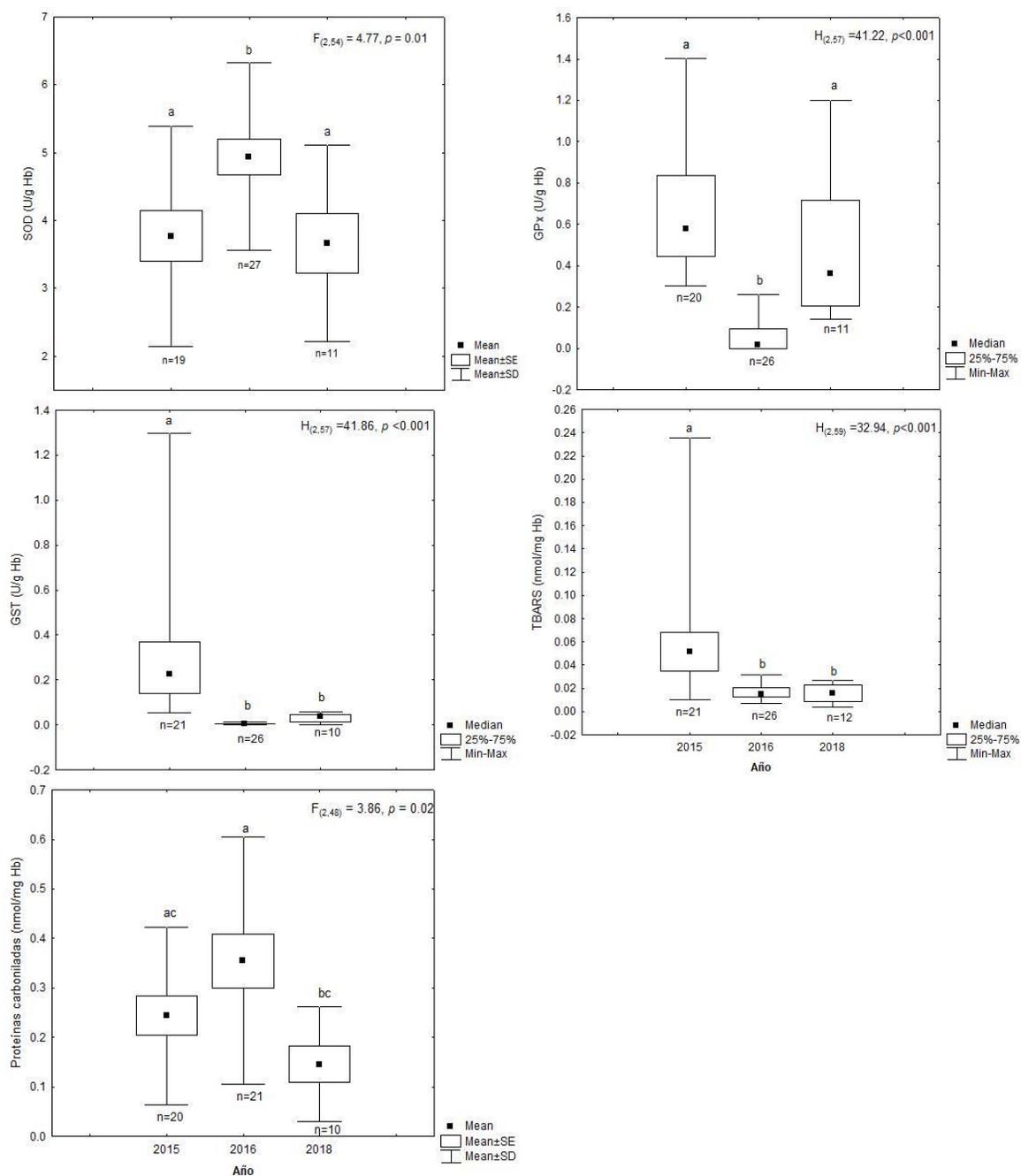


Figura 15. Actividad ($U\ g^{-1}\ Hb$) de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa (GST); niveles de peroxidación de lípidos (TBARS) y proteínas carboniladas ($nmol\ mg^{-1}\ Hb$) en contenido intraeritrocitario de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Bahía de Akumal por año de captura. Los números debajo del bigote denotan el tamaño del grupo. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre años $p < 0.05$.

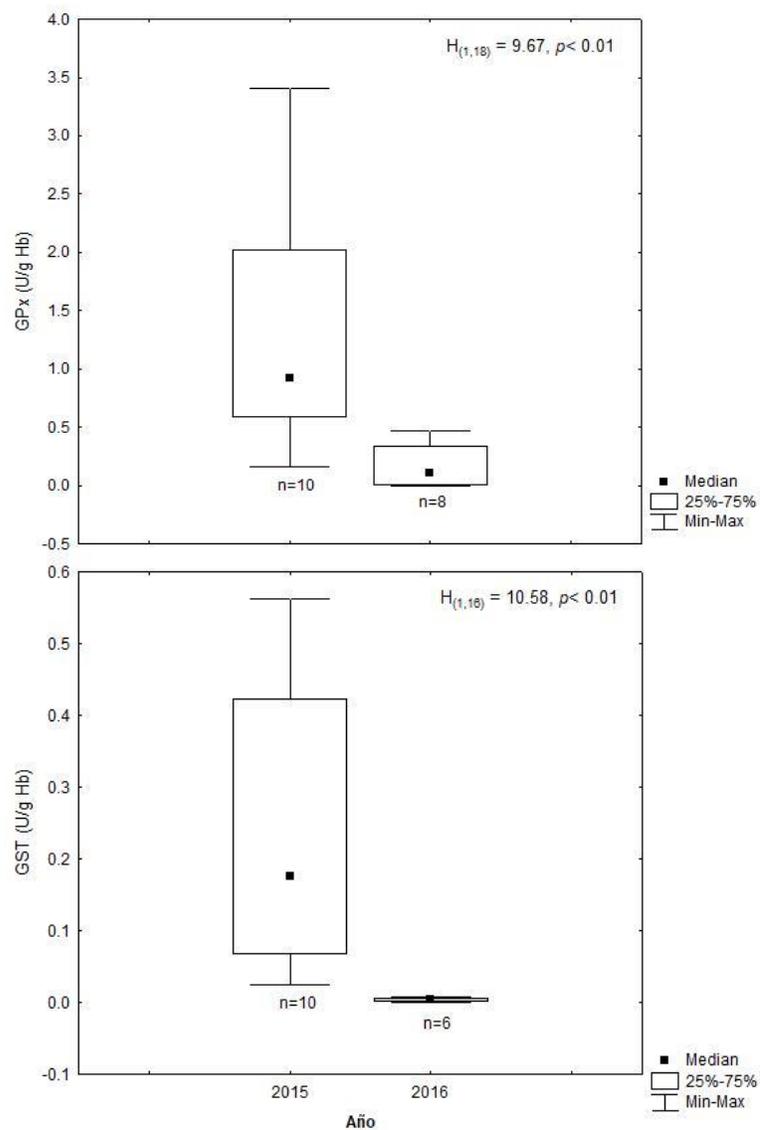


Figura 16. Actividad ($\text{U g}^{-1} \text{Hb}$) de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa (GST) en contenido intraeritrocitario de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Punta Herrero por año de captura. Los números debajo del bigote denotan el tamaño del grupo. Diferencias significativas a $p < 0.05$.

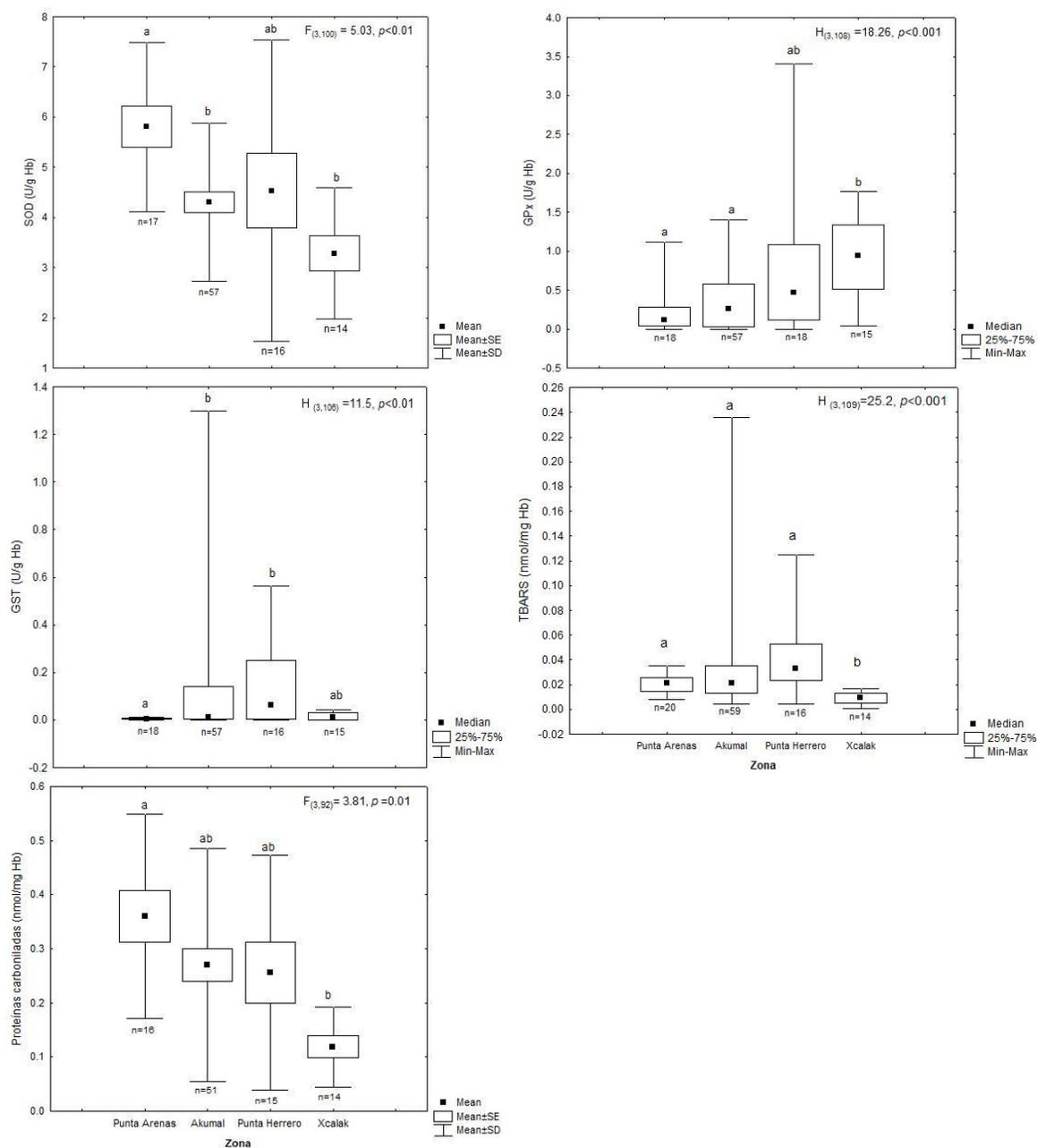


Figura 17. Actividad ($U\ g^{-1}\ Hb$) de las enzimas superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) y glutatión S-transferasa (GST); niveles de peroxidación de lípidos (TBARS, $nmol\ mg^{-1}\ Hb$) y proteínas carboniladas ($nmol\ mg^{-1}\ Hb$) en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) por zonas de estudio en Quintana Roo, México. Los números debajo del bigote denotan el tamaño del grupo. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas $p < 0.05$.

Tabla X. Coeficientes de correlación Pearson (*r*) obtenidos entre el tiempo de persecución (minutos) y los indicadores de estrés oxidativo de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Xcalak, Quintana Roo, México en 2017.

Indicador de estrés oxidativo	Tiempo de persecución (min)		
	<i>r</i>	<i>p</i>	n
O ₂ ^{•-} (nmol/min*mg Hb)	0.14	0.63	14
SOD (U/g Hb)	0.56	0.03	14
CAT (U/g Hb)	0.16	0.58	13
GPx (U/g Hb)	0.15	0.60	14
GST (U/g Hb)	0.20	0.48	14
TBARS (nmol/mg Hb)	0.11	0.70	13
Proteínas carboniladas (nmol/mg Hb)	0.10	0.73	13

Abreviaturas: O₂^{•-}, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos. En negritas se denotan las correlaciones significativas a $p < 0.05$.

7.3. Análisis multivariado

7.3.1 Análisis de componentes principales

El análisis de componentes principales permitió caracterizar tres grupos de individuos de acuerdo con la actividad de las enzimas antioxidantes y los niveles de daño oxidativo. Dicho análisis generó dos componentes principales (CP) que explicaron el 60.52% de la varianza total de los datos (CP1=35.68%, CP2=24.84%). Las cargas factoriales que describen la correlación entre los CP y las variables originales se presentan en la Tabla XI. En la proyección de los primeros dos componentes (CP1 y CP2) se observa un grupo de individuos hacia la parte positiva del CP1, y un conjunto de datos que se dispersa sobre los valores negativos del eje CP1. El CP1 se correlacionó con la actividad de la GPx, GST y los niveles de TBARS; las tortugas blancas que presentaron la mayor actividad de GPx, GST y de los niveles de TBARS se agruparon sobre los niveles negativos del eje del CP1, las cuales corresponden a organismos capturados en Bahía de Akumal y Punta Herrero durante el 2015 (Fig. 18). El CP2 se correlacionó con la actividad de SOD y los niveles de proteínas carboniladas. Las tortugas blancas que se dispersan hacia los valores negativos del eje del

CP2 presentaron mayor actividad de SOD y mayores niveles de proteínas carboniladas, y corresponden a una parte de las tortugas capturadas en Punta Arenas, Bahía de Akumal y Punta Herrero durante el 2016 y Bahía de Akumal 2018 (Fig. 18). Las tortugas marinas de Xcalak se encuentran en el grupo con mayor número de organismos ubicados en el centroide del gráfico, lo que representa valores promedio de actividad enzimática y daño oxidativo, el cual integra animales capturados en todas las zonas de estudio y en diversos años (Fig. 18).

Tabla XI. Cargas factoriales del análisis de componentes principales realizado sobre los indicadores de estrés oxidativo cuantificados en 113 tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Quintana Roo, México de 2015 a 2018. Valores obtenidos con rotación varimax. Los valores >0.7 fueron considerados como significativos (en negritas).

Indicador de estrés oxidativo	CP 1 (35.68%)	CP 2 (24.84%)
O ₂ ^{•-}	0.422995	0.623100
SOD	-0.089719	0.812596
CAT	0.424721	0.522666
GPx	0.710790	-0.111486
GST	0.861634	0.036796
TBARS	0.818764	0.105090
Proteínas carboniladas	-0.165197	0.759740

Abreviaturas: CP, componente principal; O₂^{•-}, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S- transferasa; TBARS; peroxidación de lípidos.

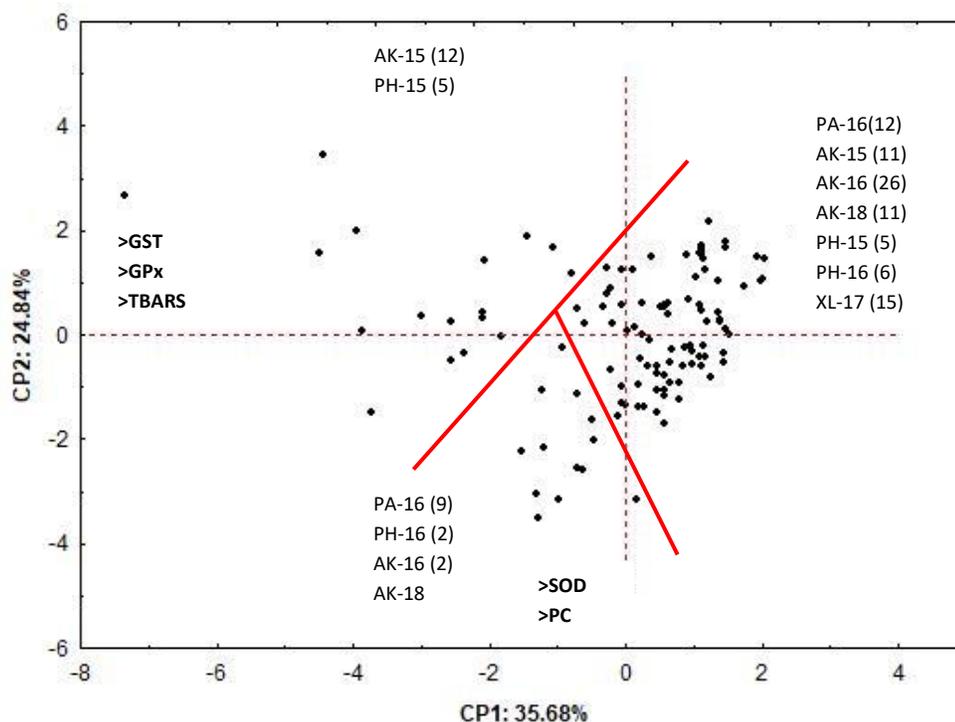


Figura 18. Proyección gráfica de 113 tortugas blancas (*Chelonia mydas*) en el plano de los dos componentes principales (CP1 y CP2; 60.52% varianza explicada) extraídos con un análisis de componentes principales realizado sobre las variables de estrés oxidativo. PA=Punta Arenas; AK=Akumal; PH=Punta Herrero y XL=Xcalak. El número junto a la zona indica el año de captura y el número entre paréntesis es el número de organismos muestreados. Actividad de las enzimas (SOD, actividad de superóxido dismutasa; GST, glutatión S-transferasa y GPx, glutatión peroxidasa), daño oxidativo (TBARS, peroxidación de lípidos; PC, proteínas carboniladas).

7.3.2 Análisis de funciones discriminantes

7.3.2.1 Zonas de alimentación

Por medio de un análisis discriminante por pasos se determinó que existe una discriminación significativa de las tortugas blancas por zonas de alimentación (Λ de Wilks=0.43, $F_{(18,294)}=5.60$, $p<0.001$). Las variables que contribuyeron de manera significativa en la separación de las zonas de alimentación fueron la actividad de CAT

($p < 0.01$), GPx ($p < 0.001$) y SOD ($p < 0.01$) así como los niveles de TBARS ($p < 0.001$) (Tabla XII). Se obtuvieron tres funciones discriminantes con las cuales se explicó el 100% de la variabilidad de los datos, aunque, con las dos primeras funciones se explicó el 86% de la variabilidad (Tabla XIV). La primera función separó a las tortugas de Punta Arenas y Bahía de Akumal de las tortugas de Punta Herrero y Xcalak. En esta función la actividad de la GPx y CAT tuvieron mayor peso; los valores de GPx más elevados lo presentaron las tortugas de Punta Herrero y Xcalak, y los valores más altos de CAT las tortugas de Punta Arenas y Bahía de Akumal (Tabla XIV, Fig. 19). En la función 2, la actividad de SOD separó a las tortugas de Punta Arenas de las tortugas de Xcalak presentando los valores más altos y bajos, respectivamente (Tabla XIV, Fig. 19). De acuerdo con el estadístico de las distancias cuadradas de Mahalanobis obtenidas, los cuatro sitios de alimentación de este estudio se separan de manera significativa uno de otro ($p < 0.01$) a partir de los indicadores de estrés oxidativo considerados (Tabla XIII).

Tabla XII. Variables con contribución significativa en el análisis discriminante para tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Quintana Roo, México, por zonas de estudio.

Indicador de estrés oxidativo	Lambda de Wilks	Lambda Parcial	F	<i>p</i>
SOD	0.485160	0.896121	4.01857	<0.01
CAT	0.504486	0.861792	5.55961	<0.01
GPX	0.631264	0.688716	15.66851	<0.001
TBARS	0.510783	0.851168	6.06169	<0.001

Abreviaturas: SOD, actividad de la superóxido dismutasa; CAT, actividad de la catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; TBARS, peroxidación de lípidos. Se marca en negritas las variables que tuvieron un valor de significancia a $p < 0.05$.

Tabla XIII. Distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) estimadas a partir de los indicadores de estrés oxidativo de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Punta Arenas, Bahía de Akumal, Punta Herrero y Xcalak, Quintana Roo, México de 2015 a 2018.

ZONA	Punta Arenas	Bahía de Akumal	Punta Herrero
Bahía de Akumal	$D^2=0.99$ $p=0.02$		
Punta Herrero	$D^2=4.26$ $p<0.001$	$D^2=3.73$ $p<0.001$	
Xcalak	$D^2=5.31$ $p<0.001$	$D^2=4.15$ $p<0.001$	$D^2=3.00$ $p<0.01$

D^2 =distancia cuadrada de Mahalanobis. Valor de significancia a $p<0.05$.

Tabla XIV. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes generadas por medio de un análisis discriminante por pasos para tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Quintana Roo, México de 2015 a 2018.

Indicador de estrés oxidativo	Raíz 1	Raíz 2	Raíz 3
SOD	0.09241	0.834817	-0.607040
CAT	0.66867	-0.686476	-0.140243
GPX	-1.05587	0.051174	-0.196764
TBARS	0.36320	0.597613	0.883117
Eigenvalor	0.60484	0.177229	0.126808
Prop. acum	0.66548	0.860478	1.000000

Abreviaturas: SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prop. acum, proporción acumulada.

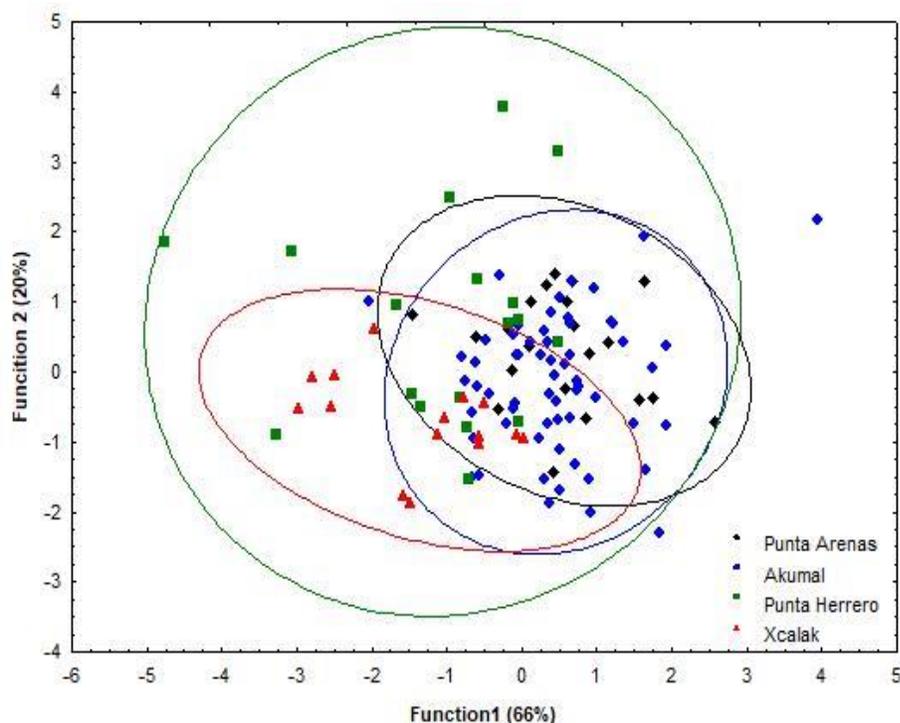


Figura 19. Representación gráfica de las dos primeras funciones canónicas (86%) que discriminan las cuatro zonas de alimentación de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de la costa de Quintana Roo, México. Las variables consideradas fueron la actividad de superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y los niveles de peroxidación de lípidos.

7.3.2.2 Año de captura en Bahía de Akumal

Por medio de un análisis discriminante por pasos se determinó que existe una discriminación significativa de las tortugas blancas por años de captura en Bahía de Akumal ($\text{Lambda de Wilks}=0.16$, $F_{(10,108)}=15.98$, $p<0.001$). Las variables que contribuyeron de manera significativa en la separación de los grupos fueron la actividad de SOD ($p<0.01$), de CAT ($p=0.02$) y de GPx ($p<0.001$), así como los niveles de TBARS ($p<0.001$) y de proteínas carboniladas ($p=0.01$) (Tabla XV). Se obtuvieron dos funciones discriminantes con las cuales se explicó el 100% de la variabilidad de los datos. De acuerdo con el estadístico de las distancias cuadradas de Mahalanobis obtenidas, los tres años de captura

en Bahía de Akumal se separan de manera significativa uno de otro ($p < 0.001$) a partir de los indicadores de estrés oxidativo considerados (Tabla XVI), de tal forma que en la primera función canónica los años de captura en Bahía de Akumal son diferenciados significativamente por la actividad de la SOD y GPx, y la segunda función canónica por la actividad de la CAT, los niveles de TBARS y proteínas carboniladas (Tabla XVII, Fig. 20).

Tabla XV. Variables con contribución significativa en el análisis discriminante para tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Bahía de Akumal, Quintana Roo, México, por año de captura.

Indicador de estrés oxidativo	Lambda de Wilks	Lambda Parcial	F	p
SOD	0.205307	0.791835	7.09799	<0.01
CAT	0.185454	0.876606	3.80063	0.02
GPx	0.337942	0.481057	29.12640	<0.001
TBARS	0.242343	0.670825	13.24897	<0.001
Proteínas carboniladas	0.192304	0.845380	4.93832	0.01

Abreviaturas: SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; TBARS, peroxidación de lípidos. Valor de significancia a $p < 0.05$.

Tabla XVI. Distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) estimadas a partir de los indicadores de estrés oxidativo de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en 2015, 2016 y 2018 en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.

Año	2015	2018
2016	$D^2=14.60$ $p < 0.001$	$D^2=8.62$ $p < 0.001$
2018	$D^2=5.19$ $p < 0.001$	

D^2 =distancia cuadrada de Mahalanobis. Valor de significancia a $p < 0.05$.

Tabla XVII. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes generadas por medio de un análisis discriminante por pasos para tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en 2015, 2016 y 2018 en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México.

Indicador de estrés oxidativo	Raíz 1	Raíz 2
SOD	0.558202	0.340369
CAT	0.006263	-0.753225
GPx	-0.898063	-0.075236
TBARS	-0.445150	0.827807
Proteínas carboniladas	0.304021	0.539585
Eigenvalor	3.124331	0.491444
Prop. acum.	0.864083	1.000000

Abreviaturas: SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prop. acum, proporción acumulada.

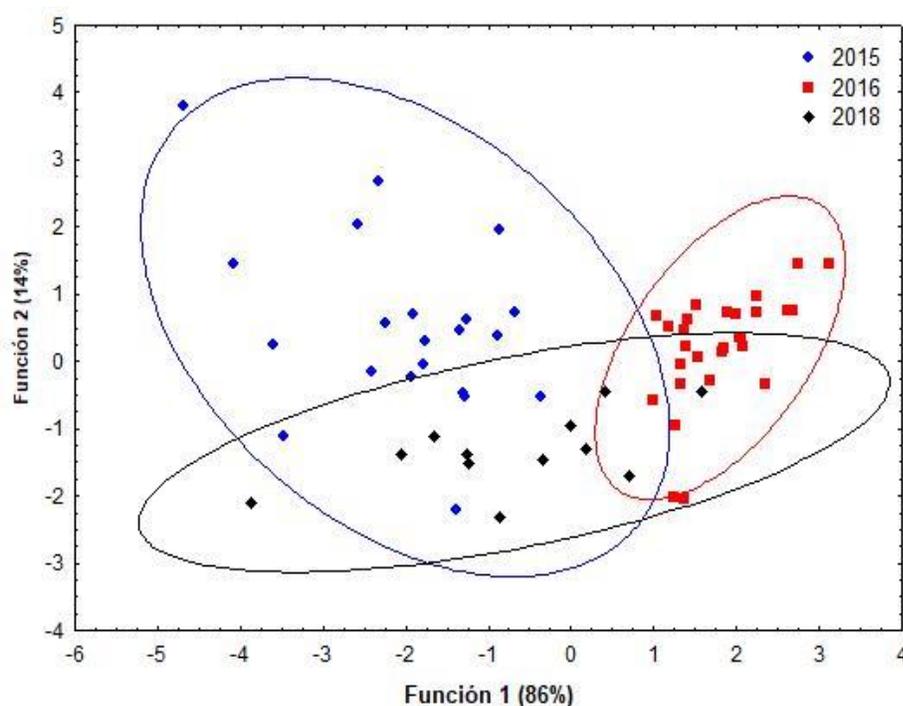


Figura 20. Representación gráfica de las dos funciones canónicas (100%) que discriminan los tres años de captura de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) en Bahía de Akumal, Quintana Roo, México. Las variables consideradas fueron la actividad de superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y los niveles de peroxidación de lípidos y proteínas carboniladas.

7.3.3.3 Año de captura en Punta Herrero

Por medio de un análisis discriminante por pasos se determinó que existe una discriminación significativa de las tortugas blancas por años de captura en Punta Herrero ($\text{Lambda de Wilks}=0.36$, $F_{(2,13)}=11.12$, $p<0.01$). Las variables que contribuyeron de manera significativa en la separación de los años fueron la actividad de SOD ($p<0.01$) y de GST ($p<0.01$) (Tabla XVIII). Se obtuvo una sola función discriminante con la cual se explicó el 100% de la variabilidad de los datos. De acuerdo con el estadístico de las distancias cuadradas de Mahalanobis obtenidas, los dos años de captura en Punta Herrero se separan de manera significativa ($p<0.001$) a partir de los indicadores de estrés oxidativo considerados (Tabla XIX), de tal forma que, con la función canónica obtenida los años de captura en Punta Herrero son diferenciados significativamente por la actividad de la SOD y GST (Tabla XX). Debido a que sólo se extrajo una función canónica; no se pudo realizar un gráfico x-y.

Tabla XVIII. Variables con contribución significativa en el análisis discriminante para tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Punta Herrero, Quintana Roo, México, por año de captura.

Indicador de estrés oxidativo	Lambda de Wilks	Lambda Parcial	F	p
SOD	0.636039	0.579848	9.41	<0.01
GST	0.782157	0.471525	14.57	<0.01

Abreviaturas: SOD, actividad de superóxido dismutasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa. Valor de significancia a $p<0.05$.

Tabla XIX. Distancias cuadradas de Mahalanobis (D^2) estimadas a partir de los indicadores de estrés oxidativo de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en 2015 y 2016 en Punta Herrero, Quintana Roo, México.

Año	2015
2016	$D^2=6.38$ $p<0.01$

D^2 =distancia cuadrada de Mahalanobis. Valor de significancia a $p<0.05$.

Tabla XX. Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes generadas por medio de un análisis discriminante por pasos para tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en 2015 y 2016 en Punta Herrero, Quintana Roo, México.

Indicador de estrés oxidativo	Raíz 1
SOD	0.95
GST	-1.06
Eigenvalor	1.71
Prop. acum.	1.00

Abreviaturas: SOD, actividad de superóxido dismutasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa. Valor de significancia a $p<0.05$.

8. DISCUSIÓN

8.1 Estructura de la población

Durante los años 2015-2018 se capturaron tortugas blancas adultas únicamente en la zona de Punta Arenas, en donde la captura de hembras ocurrió con mayor frecuencia (82%) en comparación con los machos (18%). En Quintana Roo se ha registrado un rango de talla de 86 a 124 cm LCC para hembras adulto de tortuga blanca (Zurita *et al.*, 1993). Las tortugas adulto de este estudio presentaron un rango de talla de 86.6 a 111 cm LCC por lo que la talla de los adultos capturados en Punta Arenas cae dentro del rango reportado previamente por Zurita *et al.* (1993). De acuerdo con el criterio de clases de edad propuesto por Aguirre y Balazs (2000), las tortugas de Punta Arenas que fueron clasificadas como inmaduras (64%) corresponderían a individuos subadultos, ya que los rangos de tallas que presentaron (65.1-82.3 cm LCC) caen en esta categoría. Debido a que las tortugas de Punta Arenas fueron capturadas dentro de la temporada de anidación en el Caribe Mexicano (Zurita *et al.*, 1993) es posible, que las tortugas clasificadas como adulto correspondan a organismos que se encuentran en fase de migración reproductiva entre zonas de reproducción y alimentación y, las tortugas inmaduras sean posibles subadultos que se encuentren en proceso de maduración sexual (Aguirre y Balazs, 2000; Diario Oficial de la Federación, 2015; Abreu, 2016).

En la Bahía de Akumal, el rango de talla de las tortugas blancas de este estudio fue de 40.7 a 80 cm LCC, lo cual cae dentro de lo reportado (20-81 cm LCC) previamente por Labrada *et al.* (2017) en tortugas blancas de la misma zona. Para las zonas de Xcalak y Punta Herrero no existen datos demográficos de la población de tortuga blanca (*Ch. mydas*) por lo que sería el primer estudio donde se reportan los rangos de tallas de los individuos que habitan en estas localidades. Siguiendo el criterio de clases de edad de Aguirre y Balazs (2000), las tortugas inmaduras de Bahía de Akumal pueden considerarse como juveniles y subadultos, mientras que en Xcalak y Punta Herrero las tortugas inmaduras presentaron

tallas que sugieren presencia de juveniles pelágicos, juveniles y, en Xcalak presencia de algunas tortugas subadulto. Las tortugas de Bahía de Akumal, Xcalak y Punta Herrero son organismos que se encuentran en crecimiento; la zona nerítica de la costa de Quintana Roo en la que habitan les proporciona protección y alimento requeridos durante esta fase (Bolten, 2003). Estas tres zonas son bahías costeras someras, protegidas del oleaje y corrientes por barreras de arrecifes de coral, y con un lecho cubierto por pastos marinos de *T. testudinum* y *S. filiforme* (van Tussenbroek *et al.*, 2014) los cuales son el principal alimento de esta especie (Bjorndal, 1997). Debido a las características estructurales que presentan estas zonas, pueden considerarse, además de sitios de alimentación, como áreas de residencia para su protección y resguardo (Abreu, 2016). Las tortugas blancas juveniles habitan áreas relativamente protegidas y poco profundas como Bahía de Akumal, Xcalak y Punta Herrero, y las tortugas más grandes (subadultos y adultos) tienden a encontrarse en áreas profundas como Punta Arenas (Seminoff *et al.*, 2004).

8.1.1 Fibropapilomatosis

En los años de estudio se observó la presencia de fibropapilomatosis en tortugas que fueron capturadas en Punta Arenas y Bahía de Akumal, mientras que la enfermedad no fue detectada en los organismos capturados en Punta Herrero y Xcalak. Los resultados de este estudio demuestran que en Punta Arenas y Bahía de Akumal por cada tortuga blanca capturada con fibropapilomatosis se llegan a capturar dos sin la enfermedad, lo cual sugiere que el 33% de las tortugas blancas que habitan en estas zonas presentan la enfermedad. Punta Arenas y Bahía de Akumal se encuentran dentro de un área con mayor actividad turística y crecimiento urbano costero en comparación con Punta Herrero y Xcalak (Carballo-Sandoval, 2005; Pozo *et al.*, 2011; Thomassiny y Chan, 2011; Palafox, 2014; SECTUR, 2018). Existe evidencia de introducción continua de aguas residuales sin tratamiento, flujo de contaminación y coliformes fecales a la Bahía de Akumal (Barrera-Escorcia y Namihira-Santillán, 2004; Baker *et al.*, 2010) lo cual está contribuyendo con la degradación del hábitat de las tortugas blancas y esto puede estar favoreciendo con el

desarrollo e incidencia de fibropapilomatosis como lo han sugerido algunos autores (Herbst, 1994; Herbst y Klein, 1995; Adnyana *et al.*, 1997; Aguirre y Lutz, 2004; Chaloupka *et al.*, 2009; dos Santos *et al.*, 2010; Van Houtan *et al.*, 2014).

La prevalencia de fibropapilomatosis en tortugas blancas de Punta Arenas fue reportada en 39% en 2015 (Muñoz-Tenería *et al.*, 2016) y en este estudio fue del 29.7% durante el 2016, observando una disminución a pesar del mayor esfuerzo de muestreo durante 2016 (CPUE=1.06 tortugas/225 metros de red/hora) en comparación con 2015 (CPUE=0.01 tortugas/225 metros de red/hora) (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). Resulta necesario seguir realizando un muestreo continuo para monitorear lo que ocurre con la prevalencia de esta enfermedad en esta zona. En el presente estudio, en Bahía de Akumal se observó un aumento en la prevalencia de fibropapilomatosis de 18% en 2015, a 27% en 2016 y 54% en 2018. Este incremento puede deberse al acelerado desarrollo turístico que ha presentado la zona durante los últimos 10 años (SEMARNAT, 2016b), lo cual incluye construcción de nuevos edificios, una creciente oferta-demanda para la observación de tortugas marinas, intenso tránsito de embarcaciones motorizadas y una disminución en la calidad de agua por causa de los combustibles, aguas residuales, bloqueadores y bronceadores, así como por el aumento de basura en primera línea de playa (Barrera-Escorcia y Namihira-Santillán, 2004; CONANP, 2009b; Rubio *et al.*, 2010; Slater, 2014; SEMARNAT, 2016b; SECTUR, 2018).

Las tortugas inmaduras de Punta Arenas y Bahía de Akumal resultaron ser las más afectadas por fibropapilomatosis seguido por tortugas adulto ($n=6$). En Punta Arenas, la afectación por fibropapilomatosis fue independiente de la clase de talla, mientras que, en Bahía de Akumal, la frecuencia de tumores es dependiente de la clase de talla capturada, por lo que en este caso la mayor frecuencia de fibropapilomas se observó en tortugas blancas inmaduras con rangos de tallas de 70-76 cm LCC. Lo anterior sugiere que, para ambas zonas, tanto en tortugas inmaduras como en adultos se presenta la enfermedad, observándose con mayor frecuencia en tortugas inmaduras (subadultas). En otros

estudios se ha observado que la enfermedad es menos común en tortugas adulto y muy frecuente en tortugas inmaduras, las cuales son principalmente tortugas juveniles, como se ha reportado en tortugas de Hawaii y Florida, E. U. A (Herbst, 1994; Herbst y Klein, 1995; Adnyana *et al.*, 1997; Work *et al.*, 2004; Ene *et al.*, 2005; Patricio *et al.*, 2012; Page-Karjian *et al.*, 2014; Rodenbusch; 2014). La baja frecuencia de fibropapilomatosis observada en tortugas adulto puede deberse a que tuvieron fibropapilomatosis, pero posiblemente se hayan recuperado con la inmunidad adquirida que los protege cuando son adultos como han sugerido Van Houtan *et al.* (2010) o quizás también se mueran y no lleguen a la etapa de adulto maduro. Adicionalmente, las tortugas adulto habitan en aguas oceánicas por lo que se ven poco afectadas por las actividades antropogénicas que se llevan a cabo en las zonas costeras, sitios donde se reclutan tortugas juveniles, las cuales son las más afectadas por fibropapilomatosis y, por tanto, los ambientes costeros perturbados pueden favorecer el desarrollo e incidencia de esta enfermedad (Herbst, 1994; Herbst y Klein, 1995; Adnyana *et al.*, 1997; Work *et al.*, 2004; Ene *et al.*, 2005; Patricio *et al.*, 2012; Page-Karjian *et al.*, 2014; Jones *et al.*, 2016).

En las tortugas blancas de este estudio, las aletas anteriores (51%) y los ojos (29%) resultaron ser las regiones más afectadas por fibropapilomas en comparación con otras regiones anatómicas. Esto coincide con otros estudios en que se ha reportado que las aletas anteriores de tortugas *Ch. mydas* son las regiones más afectadas por fibropapilomas (Mascarenhas e Iverson, 2008; dos Santos *et al.*, 2010; Page-Karjian *et al.*, 2014). El tamaño de los tumores se registró en el rango de 12.8 a 24.6 mm, coincidente con lo que se ha reportado en otros estudios en *Ch. mydas* (dos Santos *et al.*, 2010; Cazabon-Mannette, 2017; Sellera *et al.*, 2019). En algunos lugares como Hawaii, se ha reportado que los fibropapilomas pueden llegar a medir más de 30 cm de diámetro (George, 1997; Aguirre, 1998); los resultados de este estudio sugieren una severidad de leve a moderada de acuerdo al tamaño y número de los tumores (Work y Balazs, 1999).

8.1.2 Neófitas y recapturas

Con la finalidad de monitorear el estado de salud, crecimiento, ciclos de reproducción y migraciones de las tortugas marinas, se ha empleado ampliamente el método de marcaje-recaptura (Chaloupka y Musick, 1997). Este método ha sido utilizado desde la década de los noventa en hembras anidantes del Pacífico y costa del Golfo y Caribe Mexicano y desde hace poco más de 10 años en tortugas marinas juveniles que se resguardan y alimentan en zonas costeras y bahías (Márquez-Millán y Garduño-Dionate, 2014; Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Se considera que una tortuga marina neófito puede ser un verdadero recluta en la población, ya sea como una hembra que nidifica por primera vez o una tortuga con una historia desconocida previo a su primera captura (Richardson *et al.*, 1999).

En Punta Arenas, Punta Herrero y Xcalak se capturaron solamente tortugas neófitas. En Punta Arenas es difícil obtener recapturas ya que se encuentra en una zona de mar abierto donde conviven y alimentan tortugas blancas adulto (machos y hembras) (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017), las cuales posiblemente se encuentren en fase de migración reproductiva, y subadultos en proceso de maduración sexual (Aguirre y Balazs, 2000; Diario Oficial de la Federación, 2015; Abreu, 2016). En Punta Herrero es posible que no se hayan obtenido recapturas debido al bajo número de tortugas capturadas, alta tasa de migración y tiempo corto de captura. Aunque Xcalak ha sido monitoreada en años previos (2003-2004, Muñoz comm. pers.), dejó de monitorearse por muchos años y, por tanto, no ha tenido un seguimiento constante.

En la Bahía de Akumal se capturaron tortugas blancas neófitas (43.5 %) y recapturas (56.4 %). La frecuencia de recapturas en esta zona se debe al programa de monitoreo que se realiza en la zona desde el 2004, bajo el proyecto de Biología, Ecología y Salud Poblacional de las tortugas marina de Quintana Roo (Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Con base en los registros de marcas de las tortugas de este estudio, se identificaron muy pocas recapturas

($n=8$) por lo que esto no permitió hacer un análisis secuencial de estrés oxidativo por individuo. Al comparar los tres años de captura en la Bahía de Akumal, el 2015 se destacó por ser el año en que la mayoría de las tortugas blancas fueron recapturas (89%), en comparación con 2016 (43%) y 2018 (23%). El número de tortugas blancas neófitas se incrementó de un 11% en 2015, al 57% en 2016 y 77% en 2018. Esto podría sugerir un incremento en la tasa de reclutamiento a la zona, generando un incremento en la población con individuos nuevos o en constante renovación (Richardson *et al.*, 1999). Las tortugas blancas recapturadas fueron más grandes en promedio que las tortugas neófitas; lo mismo se observó en esta misma zona con las tortugas blancas que estuvieron afectadas por fibropapilomatosis. De acuerdo con la talla que presentaron las tortugas blancas en Bahía de Akumal, es posible que las tortugas reconocidas como neófitas provengan de alguna otra zona nerítica y posiblemente, las tortugas blancas recapturadas lleven más tiempo de residentes en la Bahía de Akumal (Labrada-Martagón *et al.*, 2017).

8.2 Indicadores de estrés oxidativo

En este estudio se presentan valores de la actividad de enzimas antioxidantes y del daño oxidativo en material intraeritrocitario de organismos vivos de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) que habita en la costa de Quintana Roo, México. El estudio provee información, caracterizada por distintos factores bióticos (sexo, clase de edad, fibropapilomas) y abióticos (años, zonas y método de captura), que podrá ser utilizada como datos de referencia para futuros estudios con tortuga blanca que habita en el Caribe Mexicano y en cualquier otra zona de su distribución.

En comparación con estudios previos (Anexo E), el promedio de la tasa de producción endógena de $O_2^{\bullet-}$ obtenido en este estudio es mayor que los valores reportados en el hígado, riñón, músculo, pulmón y corazón de tortugas prietas del Pacífico Oriental de Baja California Sur, México (Valdivia *et al.*, 2007). La actividad promedio de SOD fue mayor que los valores reportados en el hígado, riñón, músculo, pulmón, corazón y sangre de tortugas

prietas de la Península de Baja California (Valdivia *et al.*, 2007; Labrada-Martagón *et al.*, 2011), sangre de tortugas verde de Brasil (Yoshida, 2012), plasma de tortugas lora (*L. kempii*) del sur de Florida (Perrault *et al.*, 2014), en sangre de tortugas carey (*E. imbricata*) hembras provenientes del sur del Golfo de México (Tremblay *et al.*, 2017; Salvarani *et al.*, 2018) y plasma, hígado y riñón de tortugas golfinas (*L. olivacea*) hembras de Oaxaca (Cortés-Gómez *et al.*, 2018). La actividad promedio de CAT también fue mayor que en los estudios mencionados anteriormente a excepción de lo que reportaron Labrada-Martagón *et al.* (2011), quienes reportaron mayor actividad de esta enzima en comparación con las tortugas de este estudio. La actividad promedio de GPx fue menor a lo reportado en sangre de tortugas prietas de la Península de Baja California (Labrada-Martagón *et al.*, 2011) y mayor a lo reportado en sangre de tortugas verde de Brasil (Yoshida, 2012). La actividad promedio de GST en las tortugas de este estudio coincide con los valores reportados en corazón y pulmón de tortugas prietas de la Península de Baja California (Valdivia *et al.*, 2007) y sangre de tortugas verde de Brasil (Yoshida, 2012); sin embargo, fue menor que lo reportado en hígado, músculo, riñón y sangre de tortugas prietas de la Península de Baja California (Valdivia *et al.*, 2007; Labrada-Martagón *et al.*, 2011) y mayor que lo reportado en sangre de tortugas carey (*E. imbricata*) hembras provenientes del sur del Golfo de México (Tremblay *et al.*, 2017; Salvarani *et al.*, 2018) y sangre de tortugas verde (*Ch. mydas*) del mar de Oman, Irán (Sinaei y Zare, 2019). El promedio de los niveles de TBARS fue menor a lo reportado en corazón, hígado, músculo, pulmón, riñón y sangre de tortugas prietas de la Península de Baja California (Valdivia *et al.*, 2007; Labrada-Martagón *et al.*, 2011) y mayor a lo reportado en plasma de tortugas carey (*E. imbricata*) hembras (Tremblay *et al.*, 2017), no obstante, los valores obtenidos en este estudio coinciden con lo reportado en sangre de tortugas verde (*Ch. mydas*) juvenil de Brasil (Yoshida, 2012). Estas variaciones pueden deberse a las diferencias entre especies, estado fisiológico de los organismos, localidades (Pacífico vs. Atlántico), edad, tamaño, o a su alimentación (McGraw *et al.*, 2010).

8.2.1 Indicadores de estrés oxidativo con relación a factores bióticos

En este estudio únicamente se encontraron diferencias por sexo en la actividad de la enzima GST, siendo mayor en machos. Este resultado es similar al patrón observado en material intraeritrocitario de tortugas prietas de Baja California (Valdivia, 2003). En algunas especies de animales como lagartija *Sceloporus spp*, rana *P. perezii* y tortugas *Ch. mydas* se ha reportado mayor actividad de GST en los organismos expuestos ante mayores concentraciones de contaminantes (Aguilera *et al.*, 2012; Marques *et al.*, 2011; Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Sinaei y Zare, 2019). Puesto que la enzima GST está involucrada en la detoxificación celular y en el metabolismo de varios compuestos xenobióticos (Habig *et al.*, 1974; Konigsberg, 2008), es posible que el incremento de GST en machos se deba a una mayor exposición de contaminantes ambientales en comparación con las hembras.

Las tortugas adulto de Punta Arenas pueden encontrarse en fase de migración reproductiva entre zonas de reproducción y alimentación (Aguirre y Balazs, 2000; Diario Oficial de la Federación, 2015; Abreu, 2016). Un estudio realizado por Garduño *et al.* (2000) en tortugas blancas capturadas en Isla Mujeres sugieren diferencias en las rutas de migración y áreas de alimentación de tortugas machos y hembras después de la época de reproducción, lo cual pudiera estar influyendo en las diferencias de biodisponibilidad de contaminantes ambientales. La exposición a los contaminantes ambientales variará de acuerdo a los niveles de contaminación entre las distintas áreas visitadas por las tortugas (Keller *et al.*, 2004). Después del cortejo y la cópula, los machos retornan a sus sitios de alimentación mientras que las hembras retornan a sus zonas de alimentación hasta finalizada la temporada de anidación (Abreu, 2016). Las hembras de esta especie ponen entre uno y ocho nidos cada 12 o 15 días, durante ese lapso regresan a zonas conocidas como sitios “inter-anidatorios” de resguardo y reposo donde ayunan (Zurita *et al.*, 1993; Abreu, 2016; SEMARNAT, 2018). Por lo tanto, puede ser que al momento en que fueron capturadas, las hembras presentaban procesos metabólicos que favorecen la

detoxificación, como es la ovoposición o la utilización de sus reservas lipídicas (Hamann *et al.*, 2002; Guirlet *et al.*, 2008; Guirlet *et al.*, 2010).

Con respecto a diferencias entre clases de edad, en las tortugas adulto de Punta Arenas se encontró una mayor actividad de SOD que en inmaduros, lo cual es similar a lo que reporta Valdivia (2003), quien también encontró mayor actividad de SOD en hígado de tortugas prietas adulto que en subadultos (inmaduro). En este estudio no se observaron diferencias significativas en la tasa de producción de radical $O_2^{\bullet-}$ entre clases de edad, y los niveles de TBARS y proteínas carboniladas no mostraron un daño elevado en adultos en comparación con las tortugas inmaduras. Los resultados anteriores sugieren que la actividad de SOD en las tortugas blancas adulto de Quintana Roo es la adecuada para catalizar la conversión del radical $O_2^{\bullet-}$ en H_2O_2 y evitar se incremente el daño oxidativo (Borella y Varela, 2004). Se encontró una correlación negativa entre la actividad de GPx y los niveles de TBARS con el LCC de las tortugas blancas capturadas en Bahía de Akumal durante el 2018. Lo anterior indica que las tortugas más pequeñas (45-60 cm LCC) presentaron mayor actividad de GPx y mayores niveles de TBARS que las tortugas más grandes (65-75 cm LCC). Algunos estudios han reportado que los contaminantes se reducen con la edad como resultado de una menor ingesta de contaminantes asociada con el cambio ontogénico en los hábitos alimenticios (Mckenzie *et al.*, 1999; Labrada-Martagón *et al.*, 2011). La disminución en los niveles de TBARS en las tortugas más grandes (subadultas) podría ser reflejo de una disminución de contaminantes.

No se observaron diferencias significativas entre las tortugas blancas con y sin fibropapilomatosis en ninguno de los indicadores de estrés oxidativo. Este resultado es similar a lo que reportó Valdivia (2003), quien tampoco encontró diferencias en la actividad de SOD, CAT y GST en tortugas *Ch. mydas* sanas y enfermas provenientes de Hawaii y diferente a lo que reportaron Da Silva *et al.* (2016), quienes observaron mayores niveles de TBARS en tortugas afectadas por fibropapilomatosis ($n=6$) en comparación con tortugas sanas ($n=13$). El no haber encontrado diferencias en este estudio pudiera estar

relacionado al pequeño número de animales enfermos (principalmente en Bahía de Akumal), o a la posibilidad de que otros factores ambientales como la contaminación presente en Bahía de Akumal (Barrera-Escorcía y Namihira-Santillán, 2004; Baker *et al.*, 2010) estén actuando sobre las tortugas blancas que ahí habitan. La exposición a diversos agentes contaminantes podría aumentar la producción de ERO, alterar procesos celulares como la actividad de enzimas y desencadenar el proceso de estrés oxidativo; de persistir esta condición durante periodos prolongados, se favorecería el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas como el cáncer (Halliwell y Gutteridge, 1992; Chessemán, 1993; Sies, 1997; Matés *et al.*, 1999; Elejalde, 2001; Rodrigo y Rivera, 2003; Klauning y Kamendulis, 2004; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2004; Konigsberg, 2008; López-Torres y Barja, 2008).

Los indicadores de estrés oxidativo no estuvieron correlacionados con el número de fibropapilomas que presentaron las tortugas blancas. Sin embargo, la tasa de producción de radical $O_2^{\bullet-}$, la actividad de las enzimas GST y CAT sí estuvieron correlacionadas positivamente con el tamaño de los fibropapilomas. El incremento en la tasa de producción de radical $O_2^{\bullet-}$ podría atribuirse por la respuesta inflamatoria causada por la gravedad del tumor (Klauning y Kamendulis, 2004); sin embargo, también puede ser que los contaminantes ambientales estén contribuyendo con la producción acumulada de radical $O_2^{\bullet-}$ dada la actividad de GST, enzima involucrada en el metabolismo de varios compuestos xenobióticos (Klauning y Kamendulis, 2004; Konigsberg, 2008). Algunos estudios han reportado correlaciones entre compuestos organoclorados y elementos traza con la actividad de las enzimas GST y CAT (Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Temblay *et al.*, 2017; Salvarani *et al.*, 2018; Sinaei y Zare, 2019). Por lo tanto, se podría sugerir que el incremento en la actividad de CAT y GST en las tortugas con tumores más grandes puede ser una respuesta a la presencia de contaminantes.

8.2.2 Indicadores de estrés oxidativo con relación a factores abióticos

Con respecto a las diferencias entre los años de muestreo, las tortugas blancas de Bahía de Akumal presentaron menor actividad de SOD y mayor actividad de GPx durante el 2015 y 2018 en comparación con las tortugas blancas que fueron capturadas en 2016. La actividad de GST fue mayor en las tortugas blancas capturadas en 2015 que en las tortugas blancas capturadas en 2016 y 2018.

Algunos estudios han reportado que, ante mayor exposición de contaminantes ambientales, la actividad de SOD disminuye y la actividad de GPx y GST se incrementa. Por ejemplo, en hígado y riñón de tortuga golfina (*L. olivacea*) la actividad de SOD fue menor en el año en que se encontró mayor concentración de Cd (Cortés-Gómez *et al.*, 2018). En tortugas de agua dulce (*Chinemys reevesii*) expuestas a Cd, la actividad de SOD fue menor en comparación con tortugas que no fueron expuestas a este metal (Huo *et al.*, 2018). El Cd es químicamente similar al Zn y los sitios de unión a Zn son a menudo excelente sitios de unión a Cd, por lo que este metal puede reemplazar al Zn en la SOD y disminuir su actividad enzimática (Matovic *et al.*, 2015). En rana común (*P. perezii*) y lagartija espinosa (*Sceloporus spp*) se ha observado mayor actividad de GPx y GST en organismos provenientes de sitios con mayor grado de exposición a contaminantes que en organismos provenientes de áreas prístinas (Marques *et al.*, 2011; Aguilera *et al.*, 2012). Además, se han reportado correlaciones entre contaminantes químicos y la actividad de las enzimas GPx y GST. En músculo de tiburón mako (*Isurus oxyrinchus*) encontraron una correlación positiva entre la concentración de Pb y la actividad de GPx (Vélez-Alavez *et al.*, 2013) y en tortugas *Ch. mydas* se han reportado correlaciones positivas de los hidrocarburos aromáticos policíclicos y pesticidas organoclorados con la actividad de GST (Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Sinaei y Zare, 2019).

De acuerdo con lo anterior y con la actividad de las enzimas antioxidantes, puede ser que las tortugas blancas que fueron capturadas en 2015 hayan estado ante un mayor grado de exposición a contaminantes en comparación con las tortugas blancas que fueron capturadas en 2016 y el reflejo de esto es el incremento en los niveles de TBARS. De la Bahía de Akumal no se tienen datos puntuales sobre la disponibilidad de contaminantes. Sin embargo, existen reportes de la presencia de coliformes fecales y una mayor concentración de isótopos de nitrógeno presentes en coral *Gorgonia ventalina*, lo que ha confirmado que esta bahía recibe aportes de aguas residuales sin tratamiento generados por los asentamientos humanos, principalmente hoteleros (Barrera-Escorcía y Namihira-Santillán, 2004; Baker *et al.*, 2010). Los valores más elevados de bacterias coliformes totales y fecales se han asociado a la época en que se incrementan las actividades turísticas (verano y diciembre) (Barrera-Escorcía y Namihira-Santillán, 2004).

Actualmente, se estima que en temporada alta puede haber hasta 2000 personas por día realizando la actividad de observación de tortugas y en temporada baja hasta 800 visitantes diarios (SEMARNAT, 2015) por lo que existe una variación en la afluencia de turistas entre temporadas. Estudios del Centro Ecológico de Akumal sugieren que existe una correlación directa entre el aumento de la actividad de observación de tortugas con la disminución en la calidad del agua (Figueroa y Penié, 2006-2012), no sólo por la re-suspensión de materia orgánica causada por el levantamiento del sedimento, sino también por contaminantes (dióxido de titanio y óxido de zinc) a través de bronceadores o bloqueadores solares (Slater, 2014). Las tortugas blancas del 2015 y 2018 fueron capturadas en julio (temporada de visitas alta) y las tortugas del 2016 en octubre (temporada baja). Por lo tanto, es posible que haya existido una presión de uso muy intensa por el hacinamiento de visitantes en la bahía durante el mes de julio de los años 2015 y 2018, provocando un deterioro en la calidad del agua donde habitan las tortugas blancas (SEMARNAT, 2015; Figueroa y Penié, 2006-2012; Barrera-Escorcía y Namihira-Santillán, 2004; Slater, 2014). Se ha reportado que existen descargas de aguas residuales

no tratadas en la Bahía de Akumal, las cuales se han incrementado debido al desarrollo urbano (Barrera-Escorcia y Namihira-Santillán, 2004). El medio marino además recibe aportes por filtraciones (aún no cuantificadas) de los sistemas freáticos que fluyen bajo la Península de Yucatán. Estas descargas y filtraciones podrían llevar consigo materia orgánica disuelta, nutrientes minerales, así como pesticidas, hidrocarburos y desechos industriales tóxicos que pueden estar afectando al ecosistema (Garza-Pérez, 1999; Barrera-Escorcia y Namihira-Santillán, 2004).

El 7 de marzo de 2016 se decretó a la Bahía de Akumal como un Área de Refugio para proteger a las especies de flora y fauna que ahí se desarrollan, incluyendo a la tortuga blanca (*Ch. mydas*) (DOF, 2016; SEMARNAT, 2016b). A partir de esta declaración se comenzó a regular el número de visitantes que ingresan a la bahía y se implementó un código de ética para nado con tortugas, en donde se especifica no usar aceites, bloqueadores solares o cualquier otro tipo de productos que pudiesen alterar el hábitat de las tortugas marinas. Es posible que el ordenamiento de la bahía haya beneficiado en el mejoramiento de la calidad del agua en el ambiente y el reflejo de esto sea mayor actividad de SOD, menor actividad de GPx, GST y menores niveles de TBARS durante 2016 en comparación con las tortugas que fueron capturadas en 2015.

Las tortugas blancas de Bahía de Akumal del 2018 también fueron capturadas durante la temporada con mayor actividad turística (SEMARNAT, 2015); sin embargo, éstas presentaron menor actividad de GST, menores niveles de TBARS e incluso el rango en sus niveles de proteínas carboniladas fue menor que el de las tortugas blancas capturadas en 2015. El 75% de las tortugas blancas que fueron analizadas en 2018 fueron neófitas, indicando que su reclutamiento en dicha bahía posiblemente sea reciente, por lo tanto, puede ser que el tiempo de exposición a los contaminantes no sea suficiente aún para reflejarse en los análisis bioquímicos de este grupo de tortugas en comparación con las tortugas del 2015, las cuales fueron 95.5% recapturas y tan solo 4.5% tortugas neófitas

(Habig *et al.*, 1974; Richardson *et al.*, 1999; Konigsberg, 2008; Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Marques *et al.*, 2011; Aguilera *et al.*, 2012; Sinaei y Zare, 2019).

Las tortugas de Punta Herrero que fueron capturadas en 2015 también mostraron mayor actividad de GPx y GST que las que fueron capturadas en 2016. Punta Herrero se encuentra dentro de un Área Natural Protegida con acceso restringido a turistas por lo que la calidad del agua de esta zona debe ser mejor que la de Bahía de Akumal (CONANP, 2014) y un indicador de esto puede ser la ausencia de fibropapilomatosis en las tortugas marinas que ahí habitan (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). Es posible que el incremento de la actividad de estas enzimas haya sido por otros factores bióticos o abióticos. Durante el año 2015 ocurrió un arribo masivo de algas pardas (*Sargassum spp.*) en la costa de Quintana Roo con una disminución posterior durante 2016 y 2017, pero durante la mayor parte de 2018 y 2019 la afluencia aumentó nuevamente (Rodríguez *et al.*, 2016; van Tussembroek *et al.*, 2017; Cabanillas-Terán *et al.*, 2019). Los principales efectos que se han reportado por la acumulación de sargazo en aguas cercanas a la costa son reducción de luz y oxígeno, aumento en las concentraciones de nitrógeno y fósforo (eutrofización), aumento en la concentración de materia orgánica, acidificación por la producción de ácido sulfhídrico (H₂S), muerte y/o daño de corales, pérdida de pastos marinos debido a su remplazo por algas rizofíticas oportunistas, además de contaminación de mantos freáticos por lixiviados debido a malas prácticas relacionadas con los sitios de disposición final del alga (Rodríguez *et al.*, 2016; van Tussembroek *et al.*, 2017).

En 2015, los meses pico (julio y agosto) de arribo de sargazo coinciden con las fechas en que fueron capturadas las tortugas de Punta Herrero y Bahía de Akumal. El incremento de la actividad de GPx y GST en las tortugas blancas de Punta Herrero del 2015 podría estar relacionado con los efectos del arribo masivo de sargazo a la costa de Quintana Roo y esto también haya contribuido con el incremento de GPx y GST en las tortugas de Bahía de Akumal del mismo año en comparación con las tortugas que fueron capturadas en 2016. La exposición a diversos agentes contaminantes (e.g. microplásticos, toxinas,

organofosforados, lixiviados) puede aumentar la producción de ERO que pueden desencadenar el proceso de estrés oxidativo (Konigsberg, 2008). En los sistemas marinos (primeros metros de profundidad), la materia orgánica disuelta cumple la función de proteger a la biota contra los efectos dañinos de la radiación ultravioleta; sin embargo, al absorber la radiación UV conduce a la producción fotoquímica de ERO (Mopper y Kieber, 2000; Lesser, 2006). Es posible que haya aumentado la producción de ERO en la Bahía de Akumal y Punta Herrero durante el año 2015 por la saturación de materia orgánica en el ambiente, causado por la acumulación y degradación biológica de las algas pardas *Sargassum spp.* que arribaron a la costa del Caribe Mexicano. La actividad de las enzimas antioxidantes, como GPx y GST puede incrementar para contrarrestar los efectos dañinos de las ERO (Haliwell y Gutteridge, 1999, Ahmed, 2005; Valko *et al.*, 2005).

En la evaluación de diferencias en los indicadores de estrés oxidativo con relación a las zonas de estudio, se encontró que las tortugas de Punta Arenas presentaron mayor actividad de SOD con respecto a las tortugas de Bahía de Akumal y Xcalak. La mayor diferencia se observó entre las tortugas de Punta Arenas y Xcalak. En Punta Arenas la mayoría de los organismos analizados fueron tortugas adulto, mientras que en Xcalak todas las tortugas analizadas fueron inmaduras (en su mayoría juveniles); estas últimas fueron incluso de menor tamaño que las tortugas inmaduras (subadultas) de Punta Arenas (Anexo F). Por ello, es posible que la clase de edad sea el factor que explique las diferencias observadas en la actividad de SOD. Una mayor actividad de SOD en adultos en comparación con inmaduros también fue reportada en hígado de tortugas prietas de Baja California (Valdivia, 2003).

En Punta Herrero se capturaron las tortugas blancas inmaduras con las tallas más pequeñas de la población (Anexo F). En éstas, la actividad de SOD no fue significativamente distinta a la cuantificada en tortugas blancas adultas e inmaduras (subadultas) de Punta Arenas, a pesar de las diferencias en la clase de edad y rango de talla. Es posible que la actividad de SOD en las tortugas blancas de Punta Herrero haya

incrementado por el ejercicio físico que realizaron durante la persecución antes de ser capturadas. El aumento en la tasa metabólica asociado al ejercicio aumenta la producción de radical $O_2^{\cdot-}$ y, por tanto, la actividad de SOD incrementa (Borella y Varela, 2004; Wilhelm-Filho, 2007; Konigsberg, 2008; Vélez-Alavez *et al.*, 2015). Por otro lado, debido a que el 45% de las tortugas analizadas de Punta Herrero midieron menos de 35 cm LCC, es posible que estas tortugas se encontraran recientemente en el proceso de cambio ontogénico de los hábitos alimenticios, de una dieta omnívora en los primeros años de vida a una dieta principalmente herbívora y en el cambio de etapa juvenil oceánico a juvenil (Carr y Meylan, 1980; Carr, 1986; Bjorndal y Bolten, 1988; Aguirre y Balazs, 2000; Márquez, 2002; Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Las tortugas marinas con una dieta omnívora son las que tienden a acumular mayores concentraciones de pesticidas organoclorados (Mckenzie *et al.*, 1999). Por lo anterior, puede ser que la actividad de SOD se incremente para contrarrestar los efectos dañinos de las ERO, las cuales pudieron haber aumentado por la ingesta de contaminantes de acuerdo con los hábitos alimenticios de esta especie (Halliwell y Gutteridge, 1999, Ahmed, 2005; Valko *et al.*, 2005; Konigsberg, 2008).

En las tortugas de Xcalak se observó mayor actividad de GPx que en las tortugas de Punta Arenas y Bahía de Akumal. La GPx actúa en la eliminación de H_2O_2 cuando la concentración de éste es baja, mientras que la CAT actúa a mayores niveles de H_2O_2 (Halliwell y Gutteridge, 2007). La menor actividad de SOD que presentaron las tortugas de Xcalak con respecto a las tortugas de Punta Arenas podría estar indicando menor producción de H_2O_2 y por eso se observe mayor actividad de GPx en las tortugas de Xcalak. Aunque no se encontraron diferencias significativas en la actividad de SOD entre las tortugas de Bahía de Akumal y Xcalak, el valor máximo en la actividad de esta enzima en las tortugas de Bahía de Akumal estuvo por arriba del máximo que presentaron las tortugas de Xcalak, sugiriendo que las tortugas de Bahía de Akumal también pudieran haber presentado mayor producción de H_2O_2 como las tortugas de Punta Arenas.

Las tortugas de Bahía de Akumal y Punta Herrero presentaron mayor actividad de GST en comparación con las tortugas de Punta Arenas. Punta Herrero es una zona más prístina en comparación con Punta Arenas y Bahía de Akumal y donde no hay presencia de fibropapilomatosis (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). De acuerdo con el mayor crecimiento urbano costero e intensa actividad turística, así como la disminución en la calidad de agua por aporte de aguas residuales y la evidencia de fibropapilomatosis (Herbst, 1994; Herbst y Klein, 1995; Adnyana *et al.*, 1997; Aguirre y Lutz, 2004; Barrera-Escorcía y Namihira-Santillán, 2004; Chaloupka *et al.*, 2009; Baker *et al.*, 2010; dos Santos *et al.*, 2010; Rubio *et al.*, 2010; Pozo *et al.*, 2011; Palafox, 2014; Van Houtan *et al.*, 2014; SEMARNAT, 2015; CONANP, 2016; Muñoz-Tenería *et al.*, 2017), se hubiera esperado encontrar mayor actividad de GST en las tortugas blancas de Punta Arenas y Bahía de Akumal que en las tortugas de Punta Herrero debido a la degradación ambiental (Habig *et al.*, 1974; Konigsberg, 2008; Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Marques *et al.*, 2011; Aguilera *et al.*, 2012; Sinaei y Zare, 2019). Debido a que se integraron los datos de los diferentes años de captura de cada zona, es posible que la actividad de GST en las tortugas de Bahía de Akumal y Punta Herrero sea resultado de lo obtenido en 2015, año en el que ocurrió el arribo masivo de sargazo a la costa de Quintana Roo (Rodríguez *et al.*, 2016; van Tussenbroek *et al.*, 2017).

Las tortugas blancas de Xcalak presentaron los niveles más bajos de TBARS y proteínas carboniladas. La calidad del agua en Xcalak es mejor que en la zona norte y centro de Quintana Roo (Brenner, 2010; López, 2017); y un indicador de esto puede ser la ausencia de fibropapilomatosis en los organismos que ahí habitan. Las tortugas de Punta Arenas y Bahía de Akumal se encuentran dentro de un área con mayor actividad turística y crecimiento urbano costero en comparación con Xcalak (Carballo-Sandoval, 2005; SECTUR, 2018; Pozo *et al.*, 2011; Thomassiny y Chan, 2011; Palafox, 2014), ello podría contribuir con la degradación del hábitat y estar asociado a los altos niveles de TBARS y proteínas

carboniladas que presentaron las tortugas de esas zonas con respecto a las tortugas blancas de Xcalak.

Enfermedades como la aterosclerosis, diabetes mellitus, procesos inflamatorios, Alzheimer, cáncer, entre otros se han asociado con la producción acumulada de ERO (Matés *et al.*, 1999; Elejalde, 2001; Rodrigo y Rivera, 2003; Klauning y Kamendulis, 2004; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2004; Konigsberg, 2008). Es posible que la fibropapilomatosis en tortugas blancas de Punta Arenas y Bahía de Akumal esté asociada con la producción acumulada de otras ERO que no fueron cuantificadas en este estudio como el H_2O_2 y el $\cdot OH$, las cuales posiblemente se estén generando por la exposición a contaminantes ambientales (Halliwell y Gutteridge, 1992; Chesseman, 1993; Sies, 1997). Por ejemplo, el radical $\cdot OH$ es altamente reactivo y tiene capacidad superior a los demás radicales libres de causar daño a nivel celular, debido a que no existe un sistema enzimático que lo metabolice directamente (Halliwell y Gutteridge, 1999; Lesser, 2006). El radical $\cdot OH$ no sólo se produce por la reducción del H_2O_2 en presencia de metales de transición, principalmente por el hierro en su estado ferroso (Fe^{2+}), sino también por la interacción entre el $O_2^{\cdot -}$ y el H_2O_2 (Reacción de Haber-Weiss) y por la interacción de H_2O_2 con iones metálicos, como el cobre y el hierro, en sus formas reducidas, mediante la reacción Fenton (Lesser, 2006).

Las tortugas de Punta Herrero mostraron altos niveles de TBARS, como las tortugas de Punta Arenas y Bahía de Akumal, en comparación con las tortugas de Xcalak aun cuando esta zona presenta buena calidad en el agua y ausencia de fibropapilomatosis (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017). Los niveles de TBARS que se observan en las tortugas blancas de Punta Herrero reflejan los dos años de captura (2015 y 2016) ya que se integró esta información para hacer la comparación entre zonas. Se observó una tendencia no significativa de mayores niveles de TBARS en las tortugas que fueron capturadas en 2015 que en las del 2016, por lo que posiblemente los niveles de TBARS que presentaron las tortugas de Punta Herrero se hayan incrementado por los efectos que trajo el arribo

masivo de sargazo en la costa Quintanarroense en 2015 como ha sido discutido previamente (Rodríguez *et al.*, 2016).

La evaluación de diferencias entre métodos de captura correspondería a las diferencias encontradas entre zonas de estudio, ya que el método de captura fue diferente para cada zona, a excepción de Punta Herrero y Xcalak, sitios donde se empleó el mismo método de captura (avistamiento-persecución). Entonces las diferencias encontradas entre estas dos zonas no fueron por efecto del método de captura sino posiblemente por efecto de otros factores bióticos o abióticos. Por otra parte, debido a que el método de captura fue diferente para cada zona resultó complicado poder dilucidar si la respuesta que presentaron las tortugas capturadas con redes (Punta Arenas), nado con esnórquel (Bahía de Akumal) y las capturadas por avistamiento-persecución (Xcalak y Punta Herrero) se deba por efecto del método de captura o por las condiciones ambientales propias de cada zona.

Los tiempos promedio para la toma de muestra sanguínea fueron similares en las tortugas de Punta Arenas (5.2 minutos) y Xcalak (3.9 minutos). En las tortugas de Bahía de Akumal muestreadas en el 2018, sólo se tomó el tiempo desde que se subió a la tortuga a la embarcación hasta su liberación, sin contemplar el tiempo desde que los nadadores las capturaron. En Xcalak se tomó el tiempo de persecución en bote previo a la captura de las tortugas, el cual fue en promedio de 9.4 minutos. Por lo anterior solo se pudo correlacionar el tiempo de persecución de las tortugas de Xcalak con los indicadores de estrés oxidativo, no se pudo correlacionar los tiempos de manipulación de las tortugas de las otras zonas por falta de datos.

No se observaron diferencias significativas entre zonas en la actividad de GPx, CAT, los niveles de TBARS y proteínas carboniladas por el método de captura. La actividad de SOD fue mayor en las tortugas capturadas con red (Punta Arenas) que en las tortugas capturadas con nado con esnórquel (Bahía de Akumal) y avistamiento-persecución

(Xcalak). La actividad de GST fue significativamente mayor en las tortugas capturadas con nado con esnórquel (Bahía de Akumal) y avistamiento-persecución (Punta Herrero) que en las tortugas capturadas con redes (Punta Arenas). No obstante, debido a que no se encontraron diferencias significativas en la tasa de producción endógena de $O_2^{\bullet-}$ entre las zonas, lo más probable es que estas respuestas sean un reflejo de las condiciones particulares de cada zona y de la diferencia de tallas que presentaron las tortugas blancas en cada zona como se ha discutido previamente.

8.3 Análisis multivariado

Los análisis multivariados realizados en este estudio denotan diferencias entre zonas y años en la respuesta de los indicadores de estrés oxidativo. Esto puede deberse a las condiciones particulares de cada hábitat (zona), a la evidencia de fibropapilomatosis, al arribo masivo de alga parda (*Sargassum spp.*) ocurrido en 2015 y 2018, e incluso a la regulación y ordenamiento de las actividades de nado con tortugas que comenzó en 2016. La actividad de las enzimas antioxidantes (GPx, GST, SOD), los niveles de TBARS y proteínas carboniladas en tortuga blanca contribuyeron a explicar la varianza total de los datos, con significación estadística, identificaron patrones entre organismos y discriminaron grupos de tortugas por zonas y años de muestreo. Lo anterior sugiere que la cuantificación de diversos indicadores de estrés oxidativo medidos en la tortuga blanca que habita en el Caribe Mexicano, puede utilizarse como biomarcadores eficientes para el monitoreo de diversas condiciones de hábitat y de las respuestas bioquímicas relacionadas en dicha especie.

9. CONCLUSIONES

- La población de tortugas blancas en las zonas de estudio del Estado de Quintana Roo entre 2015 y 2018 estuvo conformada 90% por organismos inmaduros (juveniles y subadultos).
- Existen diferencias en la estructura por talla de la población de tortugas blancas de Quintana Roo, encontrándose organismos adultos en mar abierto en la zona norte y organismos inmaduros en las bahías costeras, debido a la diversidad de hábitats que utilizan las tortugas marinas durante su ciclo natural de vida.
- La presencia de fibropapilomatosis se observó sólo en la parte centro y norte del Estado de Quintana Roo, siendo las tortugas inmaduras, subadultas (65-85 cm LCC) la clase de edad más afectada, y las aletas anteriores y los ojos las principales regiones anatómicas afectadas por fibropapilomas.
- La prevalencia de fibropapilomatosis en tortugas blancas de Bahía de Akumal incrementó de 18% en 2015, a 27% en 2016 y 54% en 2018.
- En las tortugas blancas del Caribe Mexicano, las diferencias en los indicadores de estrés oxidativo entre zonas y años de captura fueron mayores que las diferencias entre clases de edad y sexo. Así, los factores abióticos considerados en este estudio tuvieron mayor efecto sobre la variabilidad de los indicadores de estrés oxidativo que los factores bióticos.
- En tortugas blancas de Quintana Roo, la actividad de SOD fue mayor en adultas y la actividad de GST fue mayor en machos.

- El tamaño de los fibropapilomas de las tortugas blancas de Quintana Roo se correlacionó con la tasa de producción endógena de radical $O_2^{\bullet-}$ y con la actividad de las enzimas antioxidantes CAT y GST, por lo que es posible que haya una producción acumulada de radical $O_2^{\bullet-}$ en las tortugas que desarrollan tumores de mayor tamaño.
- El daño oxidativo observado en tortugas blancas de Punta Arenas y Bahía de Akumal sugiere mayor degradación del hábitat en comparación con Xcalak, sitio donde se observaron menores niveles de TBARS y proteínas carboniladas y mayor actividad de GPx.
- El tiempo de persecución previo a la captura de las tortugas blancas de Xcalak se correlacionó con la actividad de la enzima SOD.
- La actividad de GPx, de SOD, de CAT y los niveles de TBARS fueron los predictores que contribuyeron a discriminar a las tortugas por zonas de alimentación.
- La actividad de SOD, GPx, CAT, los niveles de TBARS y proteínas carboniladas fueron los predictores que contribuyeron a discriminar a las tortugas por años de captura en Bahía de Akumal, mientras que para Punta Herrero fueron la actividad de SOD y de GST.
- Las diferencias en las condiciones del hábitat tales como, actividad turística y desarrollo urbano se reflejaron en la variabilidad de los indicadores de estrés oxidativo por zona y año de captura; se propone que éstos pueden ser biomarcadores eficientes para el monitoreo de la población de tortuga *Ch. mydas* del Caribe Mexicano.

10. LITERATURA CITADA

- Abreu, A. 2016. Generalidades de Tortugas Marinas. En: Gaona, O., A. Barragán (eds.). Las tortugas marinas en México: Logros y perspectivas para su conservación. Soluciones Ambientales ITZENI. Primera edición. Ciudad de México. pp 19-34.
- Adnyana, W., P.W. Ladds, D. Blair. 1997. Observations of fibropapillomatosis in Green turtles (*Chelonia mydas*) in Indonesia. Aust. Vet. J. 75: 737-742.
- Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. En: Packer, L. Methods in Enzymology, Oxygen radicals in biological systems. Academic Press, Inc. E.U.A. pp 121-126.
- Aguilera, C., P. González del Pliego, R. Mendoza Alfaro, D. Lazcano, J. Cruz. 2012. Pollution biomarkers in the spiny lizard (*Sceloporus spp.*) from two suburban populations of Monterrey, México. Ecotoxicology. 21 (8): 2103-2112.
- Aguirre, A. A. 1998. Fibropapillomas in marine turtles: A workshop at the 18th Annual Symposium on Biology and Conservation of Sea Turtles. Mar Turt Newsl. 82 (1):10-12.
- Aguirre, A. A., E. Gardner, J. C. Marsh, S. G. Delgado, C. J. Limpus, W. J. Nichols. 2006. Hazards associated with the consumption of sea turtle meat and eggs: a review for health care workers and the general public. EcoHealth. 3 (3): 141-153.
- Aguirre, A. A., G. H. Balazs, B. Zimmerman, F. D. Galey. 1994. Organic contaminants and trace metals in the tissues of Green turtles (*Chelonia mydas*) afflicted with Fibropapillomas in the Hawaiian Islands. Mar. Pollut. Bull. 28 (2): 109-114.
- Aguirre, A. A., G. H. Balazs. 2000. Blood Biochemistry Values of Green Turtles, *Chelonia mydas*, with and without fibropapillomatosis. Comp. Haematol. Int. 10 (3): 132-137.
- Aguirre, A. A., P. Lutz. 2004. Marine Turtles as Sentinels of Ecosystem Health: Is Fibropapillomatosis an Indicator? EcoHealth. 1 (3): 275-283.
- Ahmed, R. G. 2005. Is There A Balance between Oxidative Stress and Antioxidant Defense System during Development? Med. J. Islamic. World Acad. Sci. 15 (2): 55-63.
- Amiard-Triquet, R., J. C. Amiard, P. S. Rainbow. 2013. Ecological Biomarkers Indicators of Ecotoxicological Effects. CRC Press. Primera Edición. USA. 464p.
- Ardisson, P. L., M. A. May-Kú, M. T. Herrera-Dorantes, A. Arellano-Guillermo. 2011. El Sistema Arrecifal Mesoamericano-México: consideraciones para su designación como Zona Marítima Especialmente Sensible. Hidrobiológica. 21 (3): 261-280.

- Babinger, Frank. El turismo ante el reto de peligros naturales recurrentes: una visión desde Cancún. *Invest. Geog.* 78: 75-88.
- Baker, D. M., E. Jordán-Dahlgren, M. A. Maldonado, C. D. Harvell. 2010. Sea fan corals provide a stable isotope baseline for assessing sewage pollution in the Mexican Caribbean. *Limnol. Oceanogr.* 55(5): 2139-2149.
- Balazs, G. H., S. G. Pooley. 1991. Research plan for marine turtle fibropapiloma. NOAA Tech. Memo. NMFS-SWFSC-1156. Honolulu, Hawaii. 113p.
- Baptistotte, C., J. T. Scalfone, B. M. G. Gallo, A. S. Santos, J. C. Castilhos, E. H. S. M. Lima, C. Bellini, P. C. R. Barata. 2004. Prevalence of sea turtle fibropapillomatosis in Brazil. En: Coyne, M., R. D. Clark (eds.). *Proceedings of the 21st Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation*. NOAA Tech Memo NMFSSEFSC- 528. pp 111-113.
- Barrera-Escorcia, G., P. E. Namihira-Santillán. 2004. Contaminación microbiológica en la zona costera de Akumal, Quintana Roo, México. *Hidrobiológica*. 14 (1): 27-35.
- Barrera-García, A., T. O' Hara, F. Galván-Magaña, L. C. Méndez-Rodríguez, J. M. Castellini, T. Zenteno-Savín. 2012. Oxidative stress indicators and trace elements in the blue shark (*Prionace glauca*) off the east coast of the Mexican Pacific Ocean. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 156 (2):59-66.
- Bjorndal, K. A. 1997. Foraging ecology and nutrition of sea turtles. En: Lutz, P. L., J. A. Musick (eds.). *The Biology of Sea Turtles*. CRC Press, Boca Raton, Florida. pp 199-231.
- Bolten, A. B. 2000. Técnicas para la medición de tortugas. En: Eckert, K. L, K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois, M. Donnelly (eds.). *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. (Traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas, IUCN/ CSE. Publicación No.4, D. C. pp 243-257.
- Bolten, A. B. 2003. Variation in sea turtle life history patterns: neritic vs. Oceanic developmental stages. En: Lutz, P. L., J. A. Musick, J. Wyneken (eds.). *The biology of sea turtles Vol. 2*. CRC Press, Boca Ratón, Florida. pp 243-257.
- Borella, M., Q. Varela. 2004. Antioxidantes enzimáticos. En: *Radicais livres e a resposata celular ao estresse oxidativo*. Editora da ULBRA. Canoas- RS, Brasil. pp 35-49.
- Bouchard, S. S., K. A. Bjorndal. 2000. Sea Turtles as Biological Transporters of Nutrients and Energy from Marine to Terrestrial Ecosystems. *Ecology*. 81 (8): 2305-2313.
- Boveris, A. 1998. Biochemistry of free radicals: from electrons to tissues. *Medicina-Buenos Aires*. 58 (4): 350-356.

Brenner, L. 2010. Gobernanza ambiental, actores sociales y conflictos en las Áreas Naturales Protegidas mexicanas. *Revista mexicana de sociología*. 72 (2): 283-310.

Cabanillas-Terán, N., H. A. Hernández-Arana, M. Á. Ruiz-Zárate, A. Vega-Zepeda, A. Sánchez-González. 2019. Sargassum blooms in the Caribbean alter the trophic structure of the sea urchin *Diadema antillarum*. *PeerJ*. 7: e7589.

Camacho, M., O. P. Luzardo, L. D. Boada, L. F. López, M. Medina, M. Zumbado, J. Orós. 2013. Potential adverse health effects of persistent organic pollutants on sea turtles: Evidences from across-sectional study on Cape Verde Logger-headed sea turtles. *Sci Total Environ*. 458: 283-289.

Carabajal, E. 2017. Efecto ambiental sobre diferentes parámetros de estrés oxidativo y hematológicos en Pingüinos de Magallanes de la Costa Patagónica. Tesis (Doctorado). Buenos Aires, Argentina. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica. 124 p.

Carballo-Sandoval, A. 2005. Análisis de un modelo de desarrollo ecoturístico en Quintana Roo, México. *Teoría y Praxis*. (1): 31-47.

Carr, A. 1986. New perspectives on the pelagic stage of sea turtle development. NOAA Tech. Memo. NMFS.SEFC-190. U.S. Dept. Commerce. pp. 1-39.

Carr, A., A. B. Meylan. 1980. Evidence of passive migration of green turtle hatchlings in sargassum. *Copeia*. 1980 (2): 366-368.

Carvalho-Neta, R. N., A. L. Abreu-Silva. 2013. Glutathione S-Transferase as biomarker in *Sciades herzbergii* (Siluriformes: Ariidae) for environmental monitoring: the case study of São Marcos Bay, Maranhão, Brazil. *Lat. Am. J. of Aquat. Res*. 41 (2): 217-225.

Catalá, A. 2009. Lipid peroxidation of membrane phospholipids generates hydroxy-alkenals and oxidized phospholipids active in physiological and/or pathological conditions. *Review. Chem. Phys. Lipids*. 157: 1-11.

Catalá, A. 2010. A synopsis of the process of lipid peroxidation since the discovery of the essential fatty acids. *Biochem. Biophys Res Commun*. 399: 318-323.

Catalá, A. 2011. Lipid peroxidation of membrane phospholipids in the vertebrate retina. *Front. Biosci*. 3: 52-60.

Cazabon-Mannette, M., A. C. N. Phillips. 2017. Occurrence of Fibropapilloma Tumours on Green Sea Turtles, *Chelonia mydas* in Trinidad, West Indies. *Living World, J. Trinidad and Tobago Field Naturalists' Club*. 14-20.

Chaloupka, M., G. H. Balaz, T. M. Work. 2009. Rise and fall over 26 Years of Marine Epizootic in Hawaiian Green Sea Turtles. *J. Wildlife Dis.* 45 (4): 1138-1142.

Chaloupka, M. Y., J. A. Musick. 1997. Age, growth, and population dynamics. En: Lutz, P. L., J. A. Musick (eds.). *The Biology of Sea Turtles*. CRC Press, Boca Raton, Florida. pp 233-276.

Chesseman, K. H., T. F. Slater. 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 49 (3): 481-493.

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (CONANP). 2009. Ficha de identificación: Tortuga Verde (*Chelonia mydas*). 7p. En línea, página consultada 15 de marzo 2018: https://www.conanp.gob.mx/pdf_especies/tortuga_verde.pdf

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (CONANP). 2009b. Programa de Acción para la Conservación de las Especies (PACE): Tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*). Serie PACE. CONANP-SEMARNAT. México. 85p.

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). 2014. Monitoreo de Megafauna en Refugios Pesqueros en la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an. Sociedad Cooperativa de Producción pesquera Cozumel. Sociedad Cooperativa de Producción Pesquera José María Azcorra. Comunidad y Biodiversidad, A.C. 15p.

Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (CONANP). 2016. Estudio Previo Justificativo para la declaratoria de la Biosfera Caribe Mexicano, Quintana Roo. 305 p.

Convención Interamericana para la Protección y Conservación de las Tortugas Marinas. CIT 2008. Manual sobre técnicas de manejo y conservación de las tortugas marinas en playas de anidación de Centroamérica. San José, Costa Rica. 53p.

Cortés-Gómez, A. A., P. Morcillo, F. A. Guardiola, C. Espinosa, M. A. Esteban, A. Cuesta, M. Girondot, D. Romero. 2018. Molecular oxidative stress markers in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) and their relation to metal concentrations in wild populations. *Environ. Pollut.* 233: 156-167.

Costantini, D. 2008. Oxidative stress in ecology and evolution: lessons from avian studies. *Ecol. Lett.* 11: 1238-1251.

Cuevas, E., J. C. Faller Menéndez, A. Angulo, M. Andrade Hernández, R. A. Puc Gil, B. I. González Garza. 2014. Tortugas marinas y jaguares en la costa de Quintana Roo. *CONABIO. Biodiversitas.* 114:13-16.

Da Silva, C. C., R. D. Klein, I. F. Barcarolli, A. Bianchini. 2016. Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean. *Aquat. Toxicol.* 170: 42-51.

De Teresa Galván, C., R. G. Barrilao, M. C. García, J. Ochoa, J. O. Wilhelmi. 2008. Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina. *Rev Andal de Med Deport.* 1 (2): 61-72.

de Zwart, L. L., J. H. Meerman, J. N. Commandeur, N. P. Vermeulen. 1999. Biomarkers of free radical damage. *Free Radical Bio. Med.* 26 (1-2): 202–226.

Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. Norma Oficial Mexicana, NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental- Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. D.F, México, 30 de diciembre de 2010.

Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. Programa de Manejo del Área Natural Protegida con el carácter de Parque Nacional Arrecifes de Xcalak. Ciudad de México, México, 27 de noviembre de 2000.

Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos. Programa de Manejo de la Reserva de la Biosfera Tiburón Ballena. Ciudad de México, México, 9 de julio de 2015.

Diaz, J., E. Serrano, F. Acosta, L. F. Carbonell. 1998. Reference intervals for four biochemistry analytes in plasma for evaluating oxidative stress and lipid peroxidation in human plasma. *Clin. Chem.* 44 (10): 2215 – 2217.

Dos Santos, R. G., A. Silva, E. Torezani, C. Baptistotte, J. DaNóbrega, P. Antunes, T. Work, G. Balazs. 2010. Relationship between fibropapillomatosis and environmental quality: a case study with *Chelonia mydas* off Brazil. *Dis. Aquat. Org.* 89 (1): 87-95.

Drossos, G., A. Lazou, P. Panagopoulos, S. Westaby. 1995. Deferoxamine Cardioplegia Reduces Superoxide Radical Production in Human Myocardium. *Ann. Thorac. Surg.* 59: 169-172.

Duffy, D. J., C. Schnitzler, L. Karpinski, R. Thomas, J. Whilde, C. Eastman, K. Yetsko. 2018. Sea turtle fibropapilloma tumors share genomic drivers and therapeutic vulnerabilities with human cancers. *Commun Biol.* 1(1): 63.

Eckert, K. L., F. A. Abreu-Grobois. 2001. Conservación de Tortugas Marinas en la Región del Gran Caribe. En: *Un Diálogo para el Manejo Regional Efectivo (1º, 1999, Santo Domingo, República Dominicana)*. Traducción al español por Raquel Briseño Dueñas y F. Alberto Abreu-Grobois. WIDECAS, UICN/CSE Grupo Especialista en Tortugas Marinas (MTSG), WWF y el Programa Ambiental del Caribe del PNUMA. pp 1-170.

Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois, M. Donnelly. 2000. Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas (Traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/ CSE Publicación No. 4. 260p.

- Elejalde Guerra, J. I. 2001. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An. Med. Interna.* 18 (6): 50-59.
- Elsner, R., S. Øyasaeter, R. Almaas, O.D. Saugstad. 1998. Diving seals, ischemia–reperfusion and oxygen radicals. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 119 (4): 975–980.
- Ene, A., M. Sui, S. Lemaire, C. Rose, S. Schaff, R. Moretti, J. Lenz, L. H. Herbst. 2005. Distribution of chelonid fibropapillomatosis-associated herpesvirus variants in Florida: Molecular genetic evidence for infection of turtles following recruitment to neritic developmental habitats. *J. Wildlife Dis.* 41 (3): 489-497.
- Farnham, I. M., K. A. Singh, K. J. Stetzenbach, K. H. Johannesson. 2002. Treatment of nondetects in multivariate analysis of groundwater geochemistry data. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 60: 265-281.
- Figueroa, B., I. Penié. 2006-2012. Programa de ecosistemas marinos y costeros. Estado actual de los ecosistemas y especies clave de Akumal. 6p.
- Flint, M., J. C. Patterson-Kane, C. J. Limpus, P. C. Mills. 2010. Health Surveillance of Stranded Green Turtles in Southern Queensland, Australia (2006-2009): An Epidemiological Analysis of Causes of Disease and Mortality. *EcoHealth.* 7 (1): 135-145.
- Flohé, L., W. A. Günzler. 1984. Assays of glutathione peroxidase. En: Packer, L. (ed.). *Methods in Enzymology. Oxygen radicals in biological systems.* Academic Press, Inc. E.U.A. pp 114-120.
- Frazier, J. 2006. Instrumentos Internacionales y la Conservación de las Tortugas Marinas. Producciones Digitales Abya-Yala. Primera Edición. Quito, Ecuador. 281p.
- Freeman, B. A., J. Crapo. 1982. Biology of disease: Free radicals and tissue injure. *Lab. Invest.* 47: 412-426.
- Frej, B. 1994. Reactive oxygen species antioxidant vitamins: Mechanisms of action. *Am. J. Med.* 97 (3A): 5S-13S.
- Furtado-Filho, O. V., C. Polcheira, D. P. Machado, G. Mourao, M. Hermes-Lima. 2007. Selected oxidative stress markers in a South American crocodilian species. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 146 (1-2): 241-254.
- Gallegos, A., S. Czitrom. 1997. Aspectos de la oceanografía física regional del Mar del Caribe. En: Lavín, M. F. (ed.). *Contribuciones a la Oceanografía Física en México.* Unión Geofísica Mexicana. Monografía No. 3. México, D.F. pp 225-242.

Garduño, M., A. Maldonado, R. Márquez, B. Schroeder, G. Balazs. 2000. Satellite Tracking of an Adult Male and Female Green Turtle from Yucatan. En: Kalb, H. J., T. Wibbels (eds.). Proceedings of the Nineteenth Annual Symposium on Sea Turtle Conservation and Biology. NOAA Tech. Memo NMFS-SEFSC-4432. pp 158-159.

Garza-Pérez J. R. 1999. Análisis comparativo de cuatro comunidades coralinas arrecifales del Caribe Mexicano. Tesis (Maestría en Ciencias en la Especialidad de Biología Marina). Mérida, Yucatán. Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV). Unidad Mérida. 60 p.

Garza-Pérez J. R. 2004. Información y Manejo para la Protección de la Biodiversidad de la Barrera Arrecifal de México: Evaluación de Variables, Modelación Espacial del Hábitat y SIG. Tesis (Doctor en Ciencias en la especialidad de Ciencias Marinas). Mérida, Yucatán. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV). Unidad Mérida. 184 p.

Garza-Pérez, J. R., M. Mata-Lara, S. García-Guzmán, E. A. Schirp-García. 2010. Reporte de Caracterización y Evaluación de Estado de Condición Arrecifal. Akumal, Q. Roo. Programa de Investigación Espacial en Ambientes Costeros y Marinos (PIESACOM). UMDI-Sisal. F. Ciencias, UNAM. 46p.

George, R. H. 1997. Health problems and disease of sea turtles. En: Lutz, P. L., J. A. Musick (eds.). The Biology of Sea Turtles. CRC Press, Boca Raton, Florida. pp 363-385.

Gibson, J., G. Smith. 2000. Reducción de las amenazas a los hábitats de alimentación. En: Eckert, K. L, K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois, M. Donnelly (eds.). Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas. (Traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas, IUCN/ CSE. Publicación No.4, D. C. pp 211-216.

Gicheva, M., K. Chukanov, V. Mazneikova, S. Ivanov. 2004. Effect of antioxidants in women with increased risk of preeclamsia. The role of oxidative stress in preeclamsia. Akush. Ginekol. (Sofii). 43 (1): 62-64.

Gilbert, I. S., M. O. Infante, E. I. Narro. 2010. Riqueza Natural de México y sus especies en Riesgo. Dimensión Natural- CONANP. México. 287p.

Greenblatt, R. J., S. L. Quackenbush, R. N. Casey, J. Rovnak, G. H. Balazs, T. M. Work, C. A. Sutton. 2005. Genomic variation of the fibropapilloma-associated marine turtle herpesvirus across seven geographic areas and three host species. J. Virol. 79 (2): 1125-1132.

- Guirlet, E., K. Das, J. P. Thomé, M. Girondot. 2010. Maternal transfer of chlorinated contaminants in the leatherback turtles, *Dermochelys coriacea*, nesting in French Guiana. *Chemosphere*. 79 (7): 720-726.
- Guirlet, E., K. Das, M. Girondot. 2008. Maternal transfer of trace elements in leatherback turtles (*Dermochelys coriacea*) of French Guiana. *Aquat. Toxicol.* 88 (4): 267–276.
- Gutteridge, J. M. 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin. Chem.* 41: 1819-1828.
- Habig, W. H., M. J. Pabst, W. B. Jakoby. 1974. Glutathione S-Transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249 (2): 7130-7139.
- Habig, W. H., W. B. Jakoby. 1981. Glutathione S- Transferase (rat and human). En: Jakoby, W. B. (ed.). *Methods in Enzymology*. Academic Press, Inc. E.U.A. pp 218-231.
- Halliwell, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad. Res. Commun.* 9 (1): 1-32.
- Halliwell, B., J. M. Gutteridge, C. E. Cross. 1992. Free radicals, antioxidants, and human disease: Where are we now? *J. Lab. Clin. Med.* 119 (6): 598-620.
- Halliwell, B. 1994. Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause or consequence? *Lancet*. 344 (8924): 721-724.
- Halliwell, B., J. M. Gutteridge. 1999. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press. Tercera Edición. New York. 936p.
- Halliwell, B., J. M. Gutteridge. 2007. *Free radicals in Biology and medicine*. Oxford University Press. Oxford, Reino Unido. Cuarta edición. 888p.
- Hamann, M., C. J. Limpus, J. M. Whittier. 2002. Patterns of lipid storage and mobilisation in the female green sea turtle (*Chelonia mydas*). *Comp Biochem Physiol.* 172(6): 485–493.
- Helsel, D. R. Less than obvious. Statistical treatment of data below the detection limit. *Environ. Sci. Technol.* 24(12): 1766-1774.
- Herbst, L., A. Ene, M. Su, R. Desalle, J. Lenz. 2004. Tumor outbreaks in marine turtles are not due to recent herpesvirus mutations. *Curr. Biol.* 14 (17): R697-R699.
- Herbst, L. H. 1994. Fibropapillomatosis of marine turtles. *AnnU. Rev. Fish Dis.* 4: 389-425.
- Herbst, L. H., P. A. Klein. 1995. Green Turtle Fibropapillomatosis: Challenges to Assessing the Role of Environmental Cofactors. *Environ. Health Perspect.* 103 (4): 27-30.

- Hermes-Lima, M. 2004. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. En: Storey, K. B. (ed.). Functional metabolism: Regulation and adaptation. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken. pp 319-66.
- Hernández-Terrones, L. M., K. A. Null, D. Ortega-Camacho, A. Paytan. 2015. Water quality assessment in the Mexican Caribbean: impacts on the coastal ecosystem. Cont Shelf Res. 102: 62-72.
- Herrera, P. R., A. Arenas, I. Iturbe, L. Gómez, J. Zurita. 2007. More reports of living tag green turtles in Xcacel, Quintana Roo, Mexico. En: Proceedings Annual Symposium on Sea Turtle Biology and Conservation (27th, 2007. Myrtle Beach, South Carolina). South Carolina, USA. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-569. pp. 236.
- Horak, P., A. Cohen. 2010. How to measure oxidative stress in an ecological context: methodological and statistical issues. Funct. Ecol. 24 (5): 960-970.
- Huo, J., A. Dong, X. Niu, A. Dong, S. Lee, C. Ma, L. Wang. 2018. Effects of cadmium on oxidative stress activities in plasma of freshwater turtle *Chinemys reevesii*. Environ. Sci. Pollut. R. 25 (8): 8027-8034.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2016. Anuario estadístico y geográfico de Quintana Roo. México. 407p.
- Jacobson, E. R., C. Buergelt, B. Williams, R. K. Harris. 1991. Herpesvirus in cutaneous fibropapillomas of the Green turtle, *Chelonia mydas*. Dis. Aquat. Organ. 12: 1-6.
- Jena, B.S., S. Das, B.K. Patnaik. 1995. Effect of age on lipid peroxidation in a short-lived species of reptile, *Calotes versicolor*. Arch. Gerontol. Geriat. 20 (3): 263–272.
- Jones, K., E. Ariel, G. Burgess, M. Read. 2016. A review of fibropapillomatosis in Green turtles (*Chelonia mydas*). Vet J. 212: 48-57.
- Karl, S. A., B. W. Bowen. 1999. Evolutionary Significant Units versus Geopolitical Taxonomy: Molecular Systematics of an Endangered Sea turtle (genus *Chelonia*). Conserv. Biol. 13 (5): 990-999.
- Keller, J. M., J. R. Kucklick, C. A. Harms, P. D. McClellan-Green. 2004. Organochlorine contaminants in sea turtles: correlations between whole blood and fat. Environ Toxicol Chem. 23 (3): 726-738.
- Keller, J. M., G.H. Balaz, F. Nilsen, M. Rice, T. M. Work, B. A. Jensen. 2014. Investigating the Potential Role of Persistent Organic Pollutants in Hawaiian Green Sea Turtle Fibropapillomatosis. Environ. Sci. Technol. 48: 7807-7816.

Klauning, J. E., L. M. Kamendulis. 2004. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 44 (1): 239–267.

Knight, J. A. 1999. Free radicals, their presence in biological systems. En: Knight, J. A. (ed.). *Free radicals antioxidants, aging and disease*. AACCC Press. Washington. pp 21-43.

Komsta, L. 2011. Outliers: Tests for outliers. R package version 0.14. <http://CRAN.R-project.org/package=outliers>

Konigsberg, M. 2008. Radicales libres y estrés oxidativo. Aplicaciones médicas. Editorial el Manual Moderno. México, D. F. 634p.

Labrada-Martagón, V., F. A. Muñoz Tenería, R. Herrera Pavón, A. C. Negrete-Philippe. 2017. Somatic growth rates of immature green turtles *Chelonia mydas* inhabiting the foraging ground Akumal Bay in the Mexican Caribbean Sea. *J. Exp Mar Biol Ecol.* 487:68-78.

Labrada-Martagón, V., P. A. Tenorio, L. Méndez-Rodríguez, T. Zenteno-Savín. 2011. Oxidative stress indicators and chemical contaminants in East Pacific Green turtles (*Chelonia mydas*) inhabiting two foraging coastal lagoons in the Baja California peninsula. *Comp. Biochem. Physiol C.* 154: 65-75.

Lackovich, J. K., D. R. Brown, B. L. Homer, R. L. Garber, D. R. Mader, R. H. Moretti, S. S. Curry. 1999. Association of herpesvirus with fibropapillomatosis of the green turtle *Chelonia mydas* and the loggerhead turtle *Caretta caretta* in Florida. *Dis Aquat Organ.* 37 (2): 89-97.

Lara-Lara, J. R., J. A. Arreola Lizárraga, L. E. Calderón Aguilera, V. F. Camacho Ibar, G. de la Lanza Espino, A. Escofet Giansone, M. I. Espejel Carbajal, M. Guzmán Arroyo, L. B. Ladah, M. López Hernández, E. A. Meling López, P. M. Casasola Barceló, H. Reyes Bonilla, E. Ríos Jara, J. A. Zertuche González. 2008. Los ecosistemas costeros, insulares y epicontinentales. En *Capital natural de México. vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad*. CONABIO. México. pp 109-134.

Lesser, M. P. 2006. Oxidative stress in marine environments: Biochemistry and Physiological Ecology. *Annu. Rev. Physiol.* 68: 253-278.

Levine, R. L., J. A. Williams, E.R. Stadman, E. Shacter. 1994. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 233: 346-357.

López, L. N. 2017. Conservación en el Parque Nacional Arrecifes de Xcalak. *Teoría y Praxis.* 21: 9-30.

- López-Torres, M., G. Barja. 2008. Restricción calórica, estrés oxidativo y longevidad. *Rev Esp Geriatr Gerontol.* 43 (4): 252-260.
- Lozada, S., L. García. 2009. Estrés oxidativo y antioxidantes: cómo mantener el equilibrio. *Rev. Asoc. Col. Dermatol.* 17: 172-179.
- Mahmoud, R. H., M. J. Ewadh, K. J. Al-Hamadani. 2009. Clinical Assessment of glutathione peroxidase and catalase to the status of malondialdehyde in urolithiasis. *Pak. J. Med. Sci.* 25: 738-743.
- Majhi, S., B. S. Jena, B. K. Patnaik. 2000. Effect of age on lipid peroxides, lipofuscin and ascorbic acid contents of the lungs of male garden lizard. *Comp. Biochem. Physiol. C.* 126: 293-298.
- Marques, S. M., S. C. Antunes, B. Nunes, F. Gonçalvez, R. Pereira. 2011. Antioxidant response and metal accumulation in tissues of Iberian green frogs (*Pelophylax perezi*) inhabiting a deactivated uranium mine. *Ecotoxicology.* 20: 1315-1327.
- Márquez-Millán, R., M. Garduño-Dionate. 2014. Tortugas Marinas. Instituto Nacional de Pesca. Primera Edición. México, D. F. 94p.
- Márquez, M. R. 2002. Las tortugas marinas y nuestro tiempo. Fondo de Cultura Económica. Tercera edición. México, D.F. 198p.
- Mascarenhas, R., P. J. Iverson. 2008. Fibropapillomatosis in stranded green turtles (*Chelonia mydas*) in Paraíba State, Northeastern Brazil: evidence of a Brazilian epizootic. *Mar Turt Newsl.* 120: 3-6.
- Matés, J. M., C. Pérez-Gómez, I. N. De Castro. 1999. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin. Biochem.* 32 (8): 595-603.
- Matović, V., A. Buha, D. Đukić-Ćosić, Z. Bulat. 2015. Insight into the oxidative stress induced by lead and/or cadmium in blood, liver and kidneys. *Food Chem. Toxicol.* 78: 130-140.
- Maxwell, A. J., J. P. Cooke. 1999. The role of nitric oxide in atherosclerosis. *Coron. Artery Dis.* 10: 277-286.
- Mayne, S. T. 2003. Antioxidant Nutrients and Chronic Disease: Use of Biomarkers of Exposure and Oxidative Stress Status in Epidemiologic Research. *J. Nutr.* 133 (3): 933S-940S.
- McCord, J. M., I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocyte (Hemocuprein). *J. Biol. Chem.* 244: 6049-6055.

McGraw, K. J., A. A. Cohen, D. Costantini, P. Hörak. 2010. The ecological significance of antioxidants and oxidative stress: a marriage between mechanistic and functional perspectives. *Funct Ecol.* 24(5): 947-949.

Mckenzie, C., B. J. Godley, R. W. Furness, D. E. Wells. 1999. Concentrations and patterns of organochlorine contaminants in marine turtles from Mediterranean and Atlantic waters. *Mar. Environ. Res.* 47(2): 117-135.

Meagher, E. A., G. A. FitzGerald. 2000. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Radic. Biol. Med.* 28 (12): 1745-1750.

Molina-Hernández, A. L., B. I. van Tussenbroek. 2014. Patch dynamics and species shifts in seagrass communities under moderate and high grazing pressure by green sea turtles. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 517: 143-157.

Mopper, K., D. J. Kieber. 2000. Marine photochemistry and its impact on carbon cycling. En: De Mora S., S. Demers, M. Vernet (eds.). *The Effects of UV Radiation in the Marine Environment.* Cambridge Univ. Press. Cambridge. pp 101–130.

Muñoz-Tenería, F., R. L. Herrera-Pavón, A. C. Negrete-Philippe, T. M. Work, V. Labrada-Martagón, M. González- Hernández. 2016. Evaluación de la presencia de fibropapilomas en las tortugas marinas de Quintana Roo. Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. PROCER/ DRPYCM/261/2015. 64 p.

Muñoz-Tenería, F., R. L. Herrera-Pavón, A. C. Negrete-Philippe, T. M. Work, V. Labrada-Martagón, M. González- Hernández, P. E. Días-Flores. 2017. Seguimiento de las acciones para la evaluación de la presencia de fibropapilomas en tortugas marinas de Quintana Roo. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. PROCER/ DRPYCM/346/2016. 55 p.

Negrete-Philippe, A. C. 2006. El programa de iniciación y autoinjerto estatus actual y perspectivas Parque Xcaret. En: *Memorias del Taller Estatal de Tortugas Marinas, Temporada 2006.* Playa del Carmen, Quintana Roo, México.

National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) FISHERIES. 2019. Green Turtle. En línea, página consultada 27 de mayo 2019:

<https://www.fisheries.noaa.gov/species/green-turtle>

Ochoa, J., J. Sheinbaum, A. Badan, J. Candela, D. Wilson. 2001. Geostrophy via potential vorticity inversion in the Yucatan Channel. *J. Mar. Res.* 59: 725-747.

Oga, Z. 2003. *Fundamentos de toxicología.* Editorial Atheneu. Segunda edición. São Paulo. 474p.

Ogden, T. L. 2010. Handling results below the level of detection. *Ann Occup Hyg.* 54 (3): 255-256.

Owens, D. W., G. J. Ruíz. 1980. New Methods of obtaining blood and cerebrospinal fluid from marine turtles. *Herpetologica* 36: 17-20.

Page-Karjian, A., T. M. Norton, P. Krimer, M. Groner, S. E. Nelson Jr, N. L. Gottdenker. 2014. Factors influencing survivorship of rehabilitating green sea turtles (*Chelonia mydas*) with fibropapillomatosis. *J. Zoo Wildl. Med.* 45(3): 507-519.

Palafox, A. 2014. El desarrollo turístico de Quintana Roo desde la perspectiva de la economía política. En: Cuevas Contreras, T., A. Palafox Muñoz (eds.). Complejidad del turismo en la frontera del conocimiento. Editorial Gasca. Primera Edición. México, D.F. pp 204-221.

Parque Nacional Arrecife Alacranes (PNAA). 2011. Conservación y protección de la Tortuga verde (*Chelonia mydas*) en el Parque Nacional Arrecife Alacranes, Yucatán. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. 9p. En línea, página consultada 24 de septiembre 2017:

https://simec.conanp.gob.mx/pdf_monitoreo/61-PN%20Arrecife%20Alacranes_%20Tortuga%20verde.pdf

Patra, R. C., A. K. Rautray, D. Swarup. 2011. Oxidative stress in lead and cadmium toxicity and its amelioration. *Vet. Med. Int.* 2011: 1-9.

Patrício, A. R., L. H. Herbst, A. Duarte, X. Vélez-Zuazo, N. S. Loureiro, N. Pereira, L. Tavares, G. A. Toranzos. 2012. Global phylogeography and evolution of chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus. *J. Gen. Virol.* 93 (5): 1035-1045.

Perrault, J. R., J. R. Schmid, C. J. Walsh, J. E. Yordy, A. D. Tucker. 2014. Brevetoxin exposure, superoxide dismutase activity and plasma protein electrophoretic profiles in wild- caught Kemp's Ridley sea turtles (*Lepidochelys kempii*) in southwest Florida. *Harmful Algae.* 37: 194-202.

Persky, A. M., P. S. Green, L. Stublely, C. O. Howell, L. Zaulyanov, G. A. Brzaeu, J. W. Simpkins. 2000. Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* 223 (1): 59-66.

Pippenger, C. E., R. W. Brown, D. Armstrong. 1998. Regulatory antioxidant enzymes. En: Armstrong (ed.). *Methods in Molecular Biology, Free Radicals and Antioxidants Protocols.* The Humana Press, New Jersey. pp 299-313.

Pitchard, P. C. H., J. A. Mortimer. 2000. Taxonomía, morfología externa e identificación de las especies. En: Eckert, K. L., K. A. Bjorndal, F. A. Abreu-Grobois, M. Donnelly (eds.). Técnicas de investigación y manejo para la conservación de las tortugas marinas (traducción al español). Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE Publicación No.4. pp 22-41.

Poblete-Aro, Carlos., J. Russell-Guzmán, P. Parra, M. Soto-Muñoz, B. Villegas-González, C. Cofré-Bola-Dos, Cristián, T. Herrera-Valenzuela. 2018. Efecto del ejercicio físico sobre marcadores de estrés oxidativo en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Rev. Med. Chile. 146 (3): 362-372.

Pozo, C., N. Armijo Canto, S. Calmé. 2011. Riqueza Biológica de Quintana Roo. Un análisis para su conservación. Tomo I. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Conabio). Gobierno del Estado de Quintana Roo y Programa de Pequeñas Donaciones (PPD). Primera Edición. México, D.F. 83p.

Quackenbush, S. L., T. M. Work, G. H. Balazs, R. N. Casey, J. Rovnak, A. Chaves, L. duToit, J. D. Baines, C. R. Parrish, P. R. Bowser, J. W. Casey. 1998. Three closely related herpesviruses are associated with fibropapillomatosis in marine turtles. Virology. 246 (2): 392-9.

Quintanar-Escorza, M. A., M. T. González-Martínez, I. O. M. del Pilar, J. V. Calderón-Salinas. 2010. Oxidative damage increases intracellular free calcium [Ca²⁺] i concentration in human erythrocytes incubated with lead. Toxicol. In Vitro. 24 (5): 1338-1346.

R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

Richardson, J. I., R. Bell, T. H. Richardson. 1999. Population Ecology and Demographic Implications Drawn from an 11-Year Study of Nesting Hawksbill Turtles, *Eretmochelys imbricata*, at Jumby Bay, Long Island, Antigua, West Indies. Chelonian Conserv. Bi. 3 (2): 244-250.

Richardson, K. L., G. Gold-Bouchot, D. Schlenk. 2009. The characterization of cytosolic glutathione transferase from four species of sea turtles: loggerhead (*Caretta caretta*), green (*Chelonia mydas*), olive ridley (*Lepidochelys olivacea*), and hawksbill (*Eretmochelys imbricata*). Comp. Biochem. Physiol. C. 150 (2): 279-284.

Rodenbusch, C. R., C. Baptistotte, M. R. Werneck, T. T. Pires, M. T. D. Melo, M. W. De Ataíde, K. D. H. L. dos Reis, P. Testa, M. M. Alieve, C. W. Canal. 2014. Fibropapillomatosis in green turtles *Chelonia mydas* in Brazil: characteristics of tumors and virus. Dis Aquat Organ. 111(3): 207-217.

Rodrigo, R., G. Rivera. 2003. Papel del estrés oxidativo y de los antioxidantes en la prevención de las enfermedades crónicas no transmisibles (Monografía). Laboratorio de fisiopatología renal; programa de farmacología molecular y clínica; instituto de ciencias biomédicas. Facultad de Medicina. Universidad de Chile. pp 1-27.

Rodríguez, C., J. C. Mayo, R. M. Sainz, F. Herrera, V. Martín, I. Antolín, R. J. Reiter. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J. Pineal Res.* 36: 1-9.

Rodríguez-Martínez, R. E., B. van Tussenbroek, E. Jordán-Dahlgren. 2016. Afluencia masiva de sargazo pelágico a la costa del Caribe mexicano (2014–2015). Florecimientos algales nocivos en México. Ensenada, Mexico: CICESE. 352-365.

Rubio, E., M. Murad Robles, J. V. Rovira Sanroque. 2010. Crisis ambiental en la costa de quintana roo como consecuencia de una visión limitada de lo que representa el desarrollo sustentable. *Argumentos.* 23 (63): 161-185.

Ruiz, M. 2008. Biología de *Chelonia mydas* en Akumal, México. Tesis (Maestría). Valencia, España. Biodiversidad y Conservación Animal. 55 p.

Salvarani, P. I., L. R. Vieira, W. Ku. Peralta, F. Morgado, J. Rendon-von Osten. 2018. Oxidative stress biomarkers and organochlorine pesticides in nesting female hawksbill turtles *Eretmochelys imbricata* from Mexican coast (Punta Xen, México). *Environ Sci Pollut R.* 25 (24): 23809-23816.

Sánchez-Rodríguez, M. A., E. Santiago-Osorio, L. A. Vargas, V. M. Mendoza-Núñez. 2004. Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica.* 29 (3): 81-90.

Sanders, S. P. 1999. Nitric oxide in asthma: pathogenic, therapeutic, or diagnostic? *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 21: 147-149.

Schieber, M., N. S. Chandel. 2014. ROS Function in Redox Signaling and Oxidative Stress. *Curr. Biol.* 24 (10): R453–R462.

Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2001. Sustentabilidad y Pesca Responsable en México evaluación y Manejo 1999-2000. SAGARPA-INP. México, D.F. 1111p.

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2007. ¿Y el medio ambiente? Problemas en México y el mundo. Semarnat. México. 192p. En línea, página consultada 2 de octubre 2019:

<http://biblioteca.semarnat.gob.mx/janium/Documentos/Ciga/libros2009/CG007297.pdf.2>

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2015. Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Tiburón Ballena, México. 162p. En línea, página consultada 20 de noviembre de 2018:

https://www.conanp.gob.mx/que_hacemos/pdf/programas_manejo/2015/Tiburon_Ballena_Libro.pdf.

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2016a. Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna la porción norte y la franja costera oriental, terrestres y marinas de la Isla de Cozumel. 243p. En línea, página consultada 10 de mayo 2019:[https://www.conanp.gob.mx/que_hacemos/pdf/programas_manejo/2017/Isla%20Cozumel%20\(completo\).pdf](https://www.conanp.gob.mx/que_hacemos/pdf/programas_manejo/2017/Isla%20Cozumel%20(completo).pdf).

Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2016b. Descripción de la Problemática del Refugio Bahía de Akumal. Programa de Protección del Refugio Bahía de Akumal. 16p.

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2018. Programa de Acción para la Conservación de la Especie: Tortuga Verde/Negra (*Chelonia mydas*). SEMARNAT/CONANP. México. Primera edición. 62p. En línea, página consultada 10 de noviembre 2018:

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/471546/PACE_Tortuga_Verde_VF.pdf

Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2015. Estudio técnico justificativo. "Área de refugio para proteger especies marinas denominada Bahía de Akumal, Quintana Roo. 45p. En línea, página consultada 12 de febrero de 2017: <http://187.191.71.192/expediente/18027/mir/39396/anexo/1938509>

Secretaría de Turismo (SECTUR). 2013. Estudio de Competitividad Turística del destino Riviera Maya. Agendas de Competitividad de los Destinos Turísticos de México. Universidad de Quintana Roo. 548p. En línea, página consultada 10 de mayo 2019: <http://www.sectur.gob.mx/wp-content/uploads/2015/02/PDF-Riviera-Maya.pdf>.

Secretaría del Turismo (SECTUR). 2018. Resultados de la Actividad Turística. Subsecretaría de Planeación y Política Turística. 28p. En línea, página consultada 12 de noviembre 2019: [https://www.datatur.sectur.gob.mx/RAT/RAT-2018-12\(ES\).pdf](https://www.datatur.sectur.gob.mx/RAT/RAT-2018-12(ES).pdf)

Sellera, F. P., G. H. P. Dutra, C. L. Nascimento, F. P. Rodrigues, L. R. M. de Sá, L. Almeida-Lopes, F. C. Pogliani. 2019. Investigation of green turtle (*Chelonia mydas*) cutaneous fibropapillomatosis recurrence rates following diode laser surgery. J. Exot. Pet Med. 28: 180-184.

- Seminoff, J. A. (Southwest Fisheries Science Center. U.S). 2004. *Chelonia mydas*. The IUCN Red List of Threatened Species: e. T4615A11037468.
- Sies, H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.* 82 (2): 291-295.
- Sinaei, M., R. Zare. 2019. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and some biomarkers in the green sea turtles (*Chelonia mydas*). *Mar Pollut Bull.* 146: 336-342.
- Slater, K. 2014. CEA/Operation Wallacea. Fibropapillomatosis en *Chelonia mydas* en relación de calidad de agua y turismo en la Bahía de Akumal, México. CEA/Operation Wallacea, Lincolnshire. 38p.
- Smith, G. M., C. W. Coates. 1938. Fibro-epithelial growths of the skin in large marine turtles, *Chelonia mydas* (Linnaeus). *Zoologica.* 23: 93-98.
- Stadtman, E. R. 1992. Protein oxidation and aging. *Science.* 257 (5074): 1220-1224.
- Stadman, E. R., R. L. Levine. 2000. Protein oxidation. *Ann. NY Acad. Sci.* 899 (1): 191-208.
- StatSoft, Inc. 2004. STATISTICA (data analysis software system), version, 7. www.statsoft.com
- Stegeman J. J., M. Brouwner, R. T. Di Giulio, L. Förlin, B.A. Fowler, B. M. Sanders, P. A. Van Veld. 1992. Enzyme and protein síntesis as indicators of contaminant exposure and effect. En: Hugget, R. J., R. A. Kimarle, P. M. Mehrle Jr, Y. H. L. Bergman (eds.). *Biomarkers: Biochemical, physiological and histological markers of antropogenic stress.* Lewis Publishers. Boca Ratón, Florida. pp 272-315.
- Suzuki, K. 2000. Measurement of Mn-SOD and Cu, Zn-SOD. En: Taniguichi, N., J. Gutteridge. (eds.). *Experimental Protocols for Reactive Oxygen and Nitrogen Species.* Oxford University Press, R. U. pp 91-95.
- Tabachnick, B. G., L. S. Fidell. 1996. *Using Multivariate Statistic.* Harper Collins. Tercera edición. USA. 880p.
- Talavera-Sáenz, A. L. 2016. Hábitos Alimenticios de la Tortuga Verde (*Chelonia mydas*) del Litoral Central de Quintana Roo, México: Uso del δ 13 c y δ 15 n. Tesis (Doctorado en Ciencias Marinas). La Paz, B.C.S. Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. 105 p.
- Talavera-Sáenz, A., S. C. Gardner, R. R. Rodríguez, B. A. Vargas. 2007. Metal profiles used as environmental markers of green turtle (*Chelonia mydas*) foraging resources. *Sci Total Environ.* 373 (1): 94-102.

Tenorio Rodríguez, P. A. 2007. Variación espacio temporal en la actividad de las principales enzimas antioxidantes en sangre de tortuga prieta (*Chelonia mydas agassizii*) en las localidades de Punta Abreojos y Bahía Magdalena B.C.S., México. Tesis (Licenciatura en Biología Marina). La Paz, B.C.S. Universidad Autónoma de Baja California Sur. 74 p.

Thomassiny Acosta, J. S., E. Chan Rivas. 2011. Cambios en el uso de suelo. En: Pozo, C., N. Armijo Canto, S. Calmé. (eds.). Riqueza biológica de Quintana Roo: un análisis para su conservación. Tomo 1. ECOSUR, CONABIO, Gobierno del Estado de Quintana Roo y Programa de Pequeñas Donaciones (PPD). México, D.F. pp 132-134.

Tremblay, N., A.O. Arana, M.G. Jáuregui, J. Rendón-von Osten. 2017. Relationship between organochlorine pesticides and stress indicators in hawksbill sea turtle (*Eretmochelys imbricata*) nesting at Punta Xen (Campeche), Southern Gulf of Mexico. *Ecotoxicology*. 26 (2): 173-183.

Troëng, S., C. Drews. 2004. Hablemos de dinero: Aspectos económicos del uso y conservación de las tortugas marinas. WWF. 74p.

Valdivia Jiménez, P. A. 2003. Metabolismo oxidativo asociado a la presencia de tumores en tortugas marinas. Tesis (Maestría en Ciencias, Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales). La Paz, B.C.S. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. 143 p.

Valdivia, P. A., T. Zenteno-Savín, S. C. Gardner, A. A. Aguirre. 2007. Basic oxidative stress metabolites in eastern Pacific green turtles (*Chelonia mydas agassizii*). *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 146 (1-2): 111-117.

Valko, M., H. Morris, M. T. D. Cronin. 2005. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Curr. Med. Chem.* 12: 1161-1208.

Van Houtan, K. S., C. M. Smith, M. L. Dailer, M. Kawachi. 2014. Eutrophication and the dietary promotion of sea turtle tumors. *PeerJ*. 2: e602

Van Houtan, K. S., S. K. Hargrove, G. H. Balazs. 2010. Land Use, Macroalgae, and a Tumor-Forming Disease in Marine Turtles. *PLoS ONE* 5 (9): e12900.

Van Tussenbroek, B. I., H. A. H. Arana, R. E. Rodríguez-Martínez, J. Espinoza-Avalos, H. M. Canizales-Flores, C. E. González-Godoy, L. Collado-Vides. 2017. Severe impacts of brown tides caused by *Sargassum* spp. on near-shore Caribbean seagrass communities. *Mar Pollut Bull.* 122(1-2): 272-281.

Van Tussenbroek, B. I., J. Cortés, R. Collin, A. C. Fonseca, P. M. H. Gayle, H. M. Guzmán, G. E. Jácome, R. Juman, K. H. Koltes, H. A. Oxenford, A. Rodríguez-Ramírez, J. Samper-Villarreal, S. R. Smith, J. J. Tschirky, E. Weil. 2014. Caribbean-Wide, Long-Term Study of

Seagrass Beds Reveals Local Variations, Shifts in Community Structure and Occasional Collapse. PLoS ONE. 9(3): e90600.

Vázquez-Medina, J. P., T. Zenteno-Savín, R. Elsener. 2006. Antioxidant enzymes in ringed seal tissues: Potential protection against dive-associated ischemia/reperfusion. Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol. 142: 198-204.

Vázquez-Medina, J. P., N. O. Olgún-Monroy, P. D. Maldonado, A. Santamaría, M. Königsberg, R. Elsener, M. O. Hammill, J. M. Burns, T. Zenteno-Savín. 2011. Maturation increases superoxide radical production without increasing oxidative damage in the skeletal muscle of hooded seals (*Cystophora cristata*). Can. J. Zool. 89: 206-212.

Vélez-Alavez, M., J. A. De Anda-Montañez, F. Galván-Magaña, T. Zenteno-Savín. 2015. Comparative study of enzymatic antioxidants in muscle of elasmobranch and teleost fishes. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 187: 61-65.

Vélez-Alavez, M., V. Labrada-Martagón, L. C. Méndez-Rodríguez, F. Galván-Magaña, T. Zenteno-Savín. 2013. Oxidative stress indicators and trace element concentrations in tissues of mako shark (*Isurus oxyrinchus*). Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol. 165(4): 508-514.

Vilar-Rojas, C., A. M. Guzmán-Grenfell, J. J. Hicks. 1996. Participation of oxygen-free radicals in the oxide-reduction of proteins. Arch. Med. Res. 27 (1): 1-6.

Wallace, B. P., A. D. DiMatteo, A. B. Bolten, M. Y. Chaloupka, B. J. Hutchinson, F. A. Abreu-Grobois. 2011. Global Conservation Priorities for Marine Turtles. PLoS ONE. 6 (9): e24510.

Wilhelm-Filho, D. 2007. Reactive oxygen species, antioxidants and fish mitochondria. Front Biosci. 12: 1229-1237.

Work, T. M. 2005. Cancer in sea turtles. Hawaii Med. J. 64: 23-24.

Work, T. M., G. H. Balazs. 1999. Relating tumor score to hematology in green turtles with fibropapillomatosis in Hawaii. J Wildl Dis. 35(4): 804-807.

Work, T. M., G. H. Balazs, R. A. Rameyer, R. A. Morris. 2004. Retrospective pathology survey of Green turtles *Chelonia mydas* with fibropapillomatosis in the Hawaiian Islands, 1993-2003. Dis Aquatic Organ. 62: 163-176.

Work, T. M., M. Ackermann, J. W. Casey, M. Chaloupka, L. Herbst, J. M. Lynch, B. A. Stacy. 2014. The story of invasive algae, arginine, and turtle tumors does not make sense. PeerJ. e539v1.

Wyneken, J. 2004. La Anatomía de las Tortugas Marinas. NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470. Traducción al español. U. S. Department of Commerce. Miami, FL. 172p.

Yoshiida, E. T. 2012. Avaliação da influência da ingestão de lixo plástico nos indicadores de estresse oxidativo no sangue de tartarugas verdes (*Chelonia mydas*). Tesis (Maestría en Ecología). Florianópolis, Brazil. Universidad Federal de Santa Catarina. Centro de Ciencias Biológicas. Departamento de Ecología y Zoología. 59 p.

Zar, J. H. 1999. Biostatistical análisis. Prentice Hall. Cuarta edición. New Jersey. 123p.

Zurita, J. C., R. Herrera, B. Prezas. 1993. Tortugas Marinas del Caribe. En: S. I. Salazar Vallejo y N.E. González (eds.). Biodiversidad Marina y Costera de México. CONABIO/CIQRO, Chetumal, México. pp 735-751.

Zenteno-Savín, T. 2002. Oxidative stress in marine organisms: a review. En: Johnson, P., A. A. Boldryev (eds.). Oxidative Stress at Molecular, Cellular and Organ Levels. Research Singspot. Kerala, India. pp 67-76.

11. ANEXOS

Anexo A. Número de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas y analizadas por zona, año, método de captura y mes en Quintana Roo, México.

Zona	Año	Método de captura	Mes	Capturadas	Analizadas para indicadores de estrés oxidativo
<i>Punta Arenas</i>	2016	Redes	agosto	47	21
<i>Bahía de Akumal</i>	2015	Naco con esnórquel	julio	28	22
	2016		octubre	37	29
	2018		julio	13	12
<i>Punta Herrero</i>	2015	Avistamiento-persecución	julio	11	11
	2016		septiembre	13	9
<i>Xcalak</i>	2017		jun/sep	21	15
Total				170	119

Anexo B. Tasa de producción de radical superóxido (O_2^{\bullet}), actividad de enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Bahía de Akumal, Quintana Roo, México, agrupadas por año de captura.

2015	Media	E.S.	Rango	Mediana	Percentil 25%	Percentil 75%	n
O_2^{\bullet} (nmol/min*mg Hb)	7E ⁻⁴	1E ⁻⁴	9E ⁻⁵ -2.2E ⁻³	6E ⁻⁴	5E ⁻⁴	1E ⁻³	21
SOD (U/g Hb)	3.76 ^a	0.37	1.76-6.99	3.51	2.32	5.21	19
CAT (U/g Hb)	9.62	1.54	1.57-26.92	7.98	4.45	12.47	21
GPx (U/g Hb)	0.64	0.06	0.30-1.40	0.57 ^a	0.44	0.83	20
GST (U/g Hb)	0.34	0.07	0.05-1.29	0.22 ^a	0.13	0.36	21
TBARS (nmol/mg Hb)	0.06	0.01	0.01-0.23	0.05 ^a	0.03	0.06	21
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.24 ^{ac}	0.04	0.06-0.75	0.19	0.11	0.35	20
2016							
O_2^{\bullet} (nmol/min*mg Hb)	5E ⁻⁴	3E ⁻⁵	3E ⁻⁴ -9E ⁻⁴	5E ⁻⁴	4E ⁻⁴	7E ⁻⁴	25
SOD (U/g Hb)	4.94 ^b	0.26	2.53-7.39	4.78	4.17	6.02	27
CAT (U/g Hb)	7.20	1.29	0.59-18.84	4.88	2.44	10.35	23
GPx (U/g Hb)	0.05	0.01	2E ⁻⁵ -0.25	0.01 ^b	5E ⁻⁵	0.09	26
GST (U/g Hb)	0.004	0.005	0.001-0.01	0.004 ^b	0.003	0.005	26
TBARS (nmol/mg Hb)	0.01	0.001	0.007-0.03	0.01 ^b	0.01	0.02	26
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.35 ^a	0.05	0.004-0.89	0.28	0.22	0.53	21
2018							
O_2^{\bullet} (nmol/min*mg Hb)	8E ⁻⁴	1E ⁻⁴	3E ⁻⁴ -1.3E ⁻⁴	8E ⁻⁴	4E ⁻⁴	1E ⁻³	11
SOD (U/g Hb)	3.66 ^a	0.43	2.35-7.14	3.62	2.51	4.56	11
CAT (U/g Hb)	10.95	0.83	5.46-16.34	11.75	9.15	12.24	11
GPx (U/g Hb)	0.45	0.09	0.14-1.19	0.36 ^a	0.20	0.71	11
GST (U/g Hb)	0.03	0.006	3.8E ⁻⁶ -0.05	0.03 ^b	0.01	0.04	10
TBARS (nmol/mg Hb)	0.01	0.002	0.004-0.02	0.01 ^b	0.008	0.02	12
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.14 ^{bc}	0.03	0.01-0.38	0.12	0.06	0.22	10

Abreviaturas: O_2^{\bullet} , tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. carb, proteínas carboniladas; ES, error estándar; n, tamaño de la muestra. Letras superíndice denotan diferencias significativas entre años $p < 0.05$.

Anexo C. Tasa de producción de radical superóxido (O_2^{\bullet}), actividad de enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Punta Herrero, agrupadas por año de captura.

2015	Media	E.S.	Rango	Mediana	Percentil 25%	Percentil 75%	n
O_2^{\bullet} (nmol/min*mg Hb)	6E ⁻⁴	1E ⁻⁴	4E ⁻⁵ -1.7E ⁻³	5E ⁻⁴	2E ⁻⁴	9E ⁻⁴	10
SOD (U/g Hb)	3.42	0.80	0.52-7.89	2.34	1.60	5.18	9
CAT (U/g Hb)	5.89	2.01	0.73-17.49	4.24	1.16	9.17	9
GPx (U/g Hb)	1.38	0.34	0.15-3.40	0.91 ^a	0.59	2.02	10
GST (U/g Hb)	0.23	0.06	0.02-0.56	0.17 ^a	0.06	0.42	10
TBARS (nmol/mg Hb)	0.05	0.01	0.004-0.12	0.03	0.02	0.07	9
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.17	0.04	0.03-0.45	0.17	0.11	0.20	9
2016							
O_2^{\bullet} (nmol/min*mg Hb)	7E ⁻⁴	2E ⁻⁴	2E ⁻⁴ -1.3E ⁻³	5E ⁻⁴	3E ⁻⁴	1.2E ⁻³	6
SOD (U/g Hb)	5.95	1.22	2.41-10.85	4.53	4.20	10.22	7
CAT (U/g Hb)	2.32	1.16	0.68-5.76	1.42	0.95	3.69	4
GPx (U/g Hb)	0.17	0.06	1E ⁻⁴ -0.47	0.11 ^b	0.005	0.33	8
GST (U/g Hb)	0.004	0.001	5E ⁻⁴ -0.008	0.003 ^b	0.002	0.006	6
TBARS (nmol/mg Hb)	0.02	0.003	0.01-0.03	0.02	0.01	0.03	7
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.37	0.11	0.03-0.68	0.41	0.07	0.65	6

Abreviaturas: O_2^{\bullet} , tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. carb, proteínas carboniladas; ES, error estándar; n, tamaño de la muestra. Letras superíndice denotan diferencias significativas entre años de captura $p < 0.05$.

Anexo D. Tasa de producción de radical superóxido ($O_2^{\bullet-}$), actividad de enzimas antioxidantes y niveles de daño oxidativo en contenido intraeritrocitario de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de Quintana Roo, México, agrupadas por zonas de estudio.

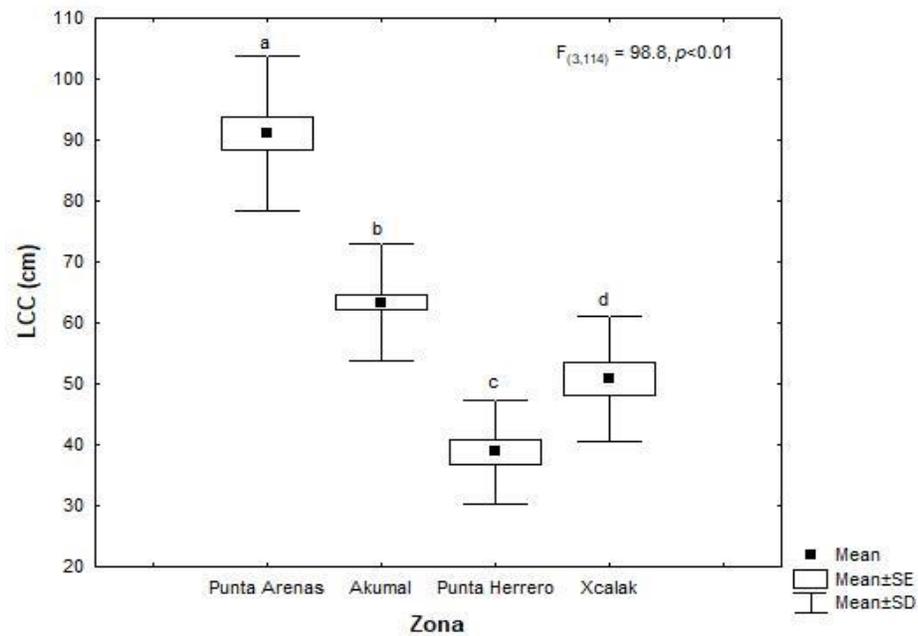
	Media	ES	Rango	Mediana	Percentil 25%	Percentil 75%	n
Punta Arenas							
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	7E ⁻⁴	6E ⁻⁵	2E ⁻⁴ -1.5E ⁻³	7E ⁻⁴	5E ⁻⁴	9E ⁻⁴	21
SOD (U/g Hb)	5.80 ^a	0.40	2.59-9.58	5.89	4.44	6.84	17
CAT (U/g Hb)	8.94	1.94	0.33-23.03	6.76	2.45	15.88	15
GPx (U/g Hb)	0.25	0.07	2E ⁻⁵ -1.11	0.1 ^a	0.04	0.28	18
GST (U/g Hb)	0.005	8E ⁻⁴	4E ⁻⁴ -0.01	0.004 ^a	0.002	0.009	18
TBARS (nmol/mg Hb)	0.02	0.001	0.007-0.03	0.02 ^a	0.01	0.02	20
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.35 ^a	0.04	0.08-0.72	0.32	0.22	0.47	16
Bahía de Akumal							
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	7E ⁻⁴	5E ⁻⁵	9E ⁻⁵ -2.2E ⁻³	6E ⁻⁴	4E ⁻⁴	8E ⁻⁴	57
SOD (U/g Hb)	4.30 ^b	0.20	1.76-7.39	4.40	2.85	5.21	57
CAT (U/g Hb)	8.88	0.83	0.59-26.92	8.87	3.44	12.24	55
GPx (U/g Hb)	0.34	0.04	2E ⁻⁴ -1.40	0.2 ^a	0.03	0.57	57
GST (U/g Hb)	0.13	0.03	3E ⁻⁶ -1.29	0.01 ^b	0.004	0.13	57
TBARS (nmol/mg Hb)	0.03	0.004	0.004-0.23	0.02 ^a	0.01	0.03	59
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.27 ^{ab}	0.03	0.004-0.89	0.23	0.10	0.38	51
Punta Herrero							
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	6E ⁻⁴	1E ⁻⁴	4E ⁻⁵ -1.7E ⁻³	5E ⁻⁴	2E ⁻⁴	9E ⁻⁴	16
SOD (U/g Hb)	4.53 ^{ab}	0.75	0.52-10.85	4.39	2.15	5.30	16
CAT (U/g Hb)	4.79	1.48	0.68-17.49	1.72	1.16	5.76	13
GPx (U/g Hb)	0.84	0.24	1E ⁻⁴ -3.40	0.4 ^{ab}	0.11	1.08	18
GST (U/g Hb)	0.14	0.04	5E ⁻⁴ -0.56	0.06 ^b	0.004	0.25	16
TBARS (nmol/mg Hb)	0.04	0.008	0.004-0.12	0.03 ^a	0.02	0.05	16
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.25 ^{ab}	0.05	0.03-0.68	0.19	0.07	0.44	15
Xcalak							
$O_2^{\bullet-}$ (nmol/min*mg Hb)	6E ⁻⁴	7E ⁻⁵	2E ⁻⁴ -1E ⁻³	7E ⁻⁴	4E ⁻⁴	8E ⁻⁴	15
SOD (U/g Hb)	3.28 ^b	0.34	1.15-5.88	3.15	2.39	4.23	14
CAT (U/g Hb)	5.91	1.14	0.90-11.85	4.97	1.94	10.69	14
GPx (U/g Hb)	0.88	0.12	0.03-1.76	0.9 ^b	0.51	1.33	15
GST (U/g Hb)	0.01	0.003	1E ⁻⁶ -0.04	0.01 ^{ab}	0.001	0.03	15
TBARS (nmol/mg Hb)	0.009	0.001	7E ⁻⁴ -0.01	0.009 ^b	0.005	0.01	14
Prot. carb. (nmol/mg Hb)	0.11 ^b	0.01	0.03-0.23	0.11	0.04	0.17	14

Abreviaturas: $O_2^{\bullet-}$, tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. carb, proteínas carboniladas; ES, error estándar; n, tamaño de la muestra. Letras superíndice denotan diferencias significativas entre zonas $p < 0.05$.

Anexo E. Tabla comparativa de indicadores de estrés oxidativo evaluados en diferentes tejidos de tortugas marinas. Los resultados se muestran como media± error estándar.

Indicador de estrés oxidativo								
Especie	O ₂ * (nmol/min*mg tejido)	SOD (U g ⁻¹ tejido)	CAT (U g ⁻¹ tejido)	GPx (U g ⁻¹ tejido)	GST (U g ⁻¹ tejido)	TBARS (nmol mg ⁻¹ tejido)	Prot. Carb. (nmol mg ⁻¹ tejido)	Autores
<i>Cm</i> Pacífico Este mexicano (juveniles)	C=0.00004±4E ⁻⁶ H=0.0001±3E ⁻⁵ M=0.0001±1E ⁻⁵ P=0.00009±1E ⁻⁵ R=0.00005±1E ⁻⁵	C=0.02±3.7E ⁻³ H=0.03±4.7E ⁻³ M=0.02±2.5E ⁻³ P=0.01±1.5E ⁻³ R=0.01±3.4E ⁻³	C=0.008±1.2E ⁻³ H=0.07±1.2E ⁻² M=0.005±8E ⁻⁴ P=0.003±0.4E ⁻⁴ R=0.06±8E ⁻³	-	C=0.10±0.01 H=1.03±0.14 M=0.21±0.01 P=0.06±9E ⁻³ R=0.45±0.04	C=0.06±0.01 H=0.12±0.02 M=0.06±7E ⁻³ P=0.04±9E ⁻³ R=0.05±0.01	-	Valdivia et al. (2007)
<i>Cm</i> Baja California, México (juveniles)	-	PA=0.426 BM=2.951	PA=223.29 BM=92.22	PA=12.39 BM=12.50	PA=0.99 BM=0.62	PA=0.04 BM=0.05	-	Labrada-Martagón et al. (2011)
<i>Cm</i> Santa Catarina, Brasil (juveniles)	-	S=0.07±7.5E ⁻³	S=0.003±3E ⁻⁴	S=0.003±1.63E ⁻⁴	S=0.07±5.7E ⁻³	S=0.03±6E ⁻³	-	Yoshida (2012)
<i>Lk</i> Florida, E.U.A. (inmaduros)	-	p=0.04±1.03E ⁻²	-	-	-	-	-	Perrault et al. (2014)
<i>Ei</i> Campeche, México (hembras)	-	S=0.02±2E ⁻²	S=0.01±0.01	-	S=0.004±2E ⁻³	p=1.3E ⁻³ ±1.8E ⁻³	-	Tremblay et al. (2017)
<i>Lo</i> Oaxaca, México (hembras)	-	H: 0.007±3.7E ⁻³ R: 0.009±3.6E ⁻³ p: 8.6E ⁻⁴ ±8.8E ⁻⁴	H=0.01±0.01 R=0.01±0.01 S=0.003±2E ⁻³	-	-	-	-	Cortés-Gómez et al. (2018)
<i>Ei</i> Campeche, México (hembras)	-	S=0.07±1.30E ⁻²	S=1.2E ⁻⁴ ±8E ⁻⁵	-	S: 0.00±0.00	-	-	Salvarani et al. (2018)
<i>Cm</i> Mar de Omán, Irán (hembras)	-	-	-	-	S= 9.8E ⁻⁴ ±3E ⁻³	-	-	Sinaei y Zare (2019)
<i>Cm</i> Quintana Roo, México (Adultos e inmaduros)	S=0.0006±0.00	S=4.44±0.19	S=7.91±0.62	S=0.48±0.05	S=0.09±0.02	S=0.02±0.00	S=0.26±0.02	Este estudio

Abreviaturas: *Lo*, *Lepidochelys olivacea*; *Lk*, *Lepidochelys kempii*; *Ei*, *Eretmochelys imbricata*; *Cm*, *Chelonia mydas*; C, corazón; H, hígado; M, músculo; P, pulmón; R, riñón; p, plasma; S, sangre; PA, Punta Abreojos; BM, Bahía Magdalena; O₂* , tasa de producción de radical superóxido; SOD, actividad de superóxido dismutasa; CAT, actividad de catalasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; TBARS, peroxidación de lípidos; Prot. Carb, proteínas carboniladas.



Anexo F. Largo curvo de caparazón de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) analizadas por zona de estudio. Letras diferentes denotan diferencias significativas entre zonas ($p < 0.05$).