



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

DETERMINACIÓN DE ESTRÉS OXIDATIVO Y B-ESTERASAS EN  
SANGRE DE TORTUGA BLANCA (*Chelonia mydas*) COMO  
BIOMARCADORES DE PERTURBACIÓN AMBIENTAL.

T E S I S

Que para obtener el grado de

**Maestra en Ciencias**

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

P r e s e n t a

**Bárbara Lisset Cúmez Caté**

La Paz, Baja California Sur, julio de 2022.

Fe de erratas:

En la sección de Metodología (sección 6.2 Captura de individuos y toma de muestras) debe decir "... utilizando las licencias de colecta correspondientes (SGPA/DGVS/007459/18, SGPA/DGVS/6729/19)".

## ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 16:00 horas del día 27 del Mes de Junio del 2022, 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:

**"Determinación de estrés oxidativo y B-esterasas en sangre de la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) como biomarcadores de perturbación ambiental"**

Presentada por el alumno:

**Bárbara Lisset Cúmez Caté**

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 Zenteno Savín  
Co-Directora de Tesis



Dra. Vanessa Labrada Martagón  
Co-Directora de Tesis

SOLE ROVIRA Firmado digitalmente  
por SOLE ROVIRA  
MONTSERRA MONTSEERRAT - DNI  
T - DNI 39673669A  
39673669A Fecha: 2022.06.26  
18:44:18 +02'00'

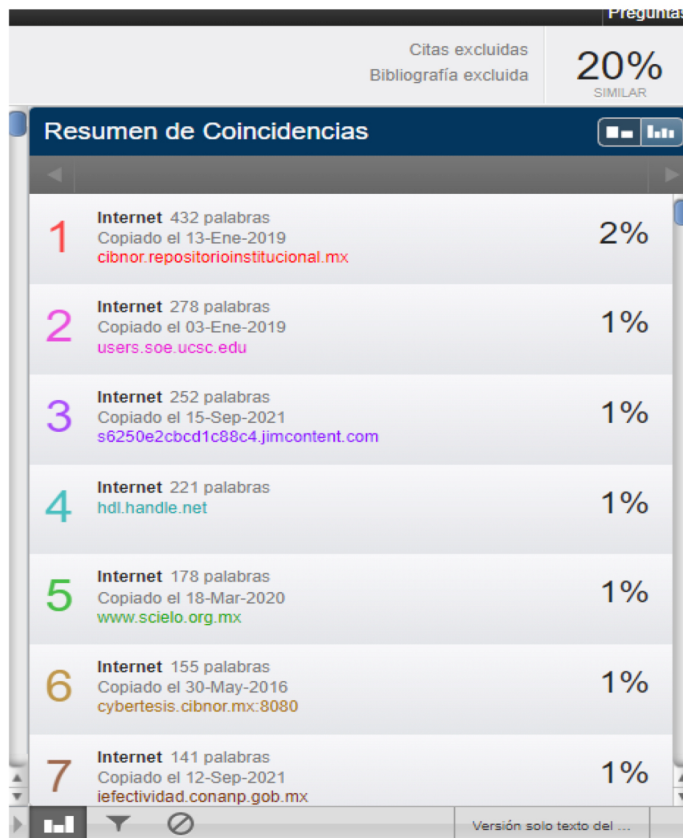
Montserrat Solé  
Co-Tutora de Tesis



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

Los miembros del comité de tesis del (la) estudiante Barbara Lisset Cúmez Caté del Programa de Maestría en el Uso, Manejo y Preservación de Recursos Naturales, revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el VoBo dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio:  
iThenticate
  - Filtros utilizados:  
Citas, bibliografía
  - Porcentajes de similitud:  
20%
- Se muestra captura de pantalla

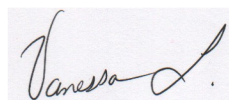


Resumen de Coincidencias		20% SIMILAR
1	Internet 432 palabras Copiado el 13-Ene-2019 <a href="http://cibnor.repositorioinstitucional.mx">cibnor.repositorioinstitucional.mx</a>	2%
2	Internet 278 palabras Copiado el 03-Ene-2019 <a href="http://users.soe.ucsc.edu">users.soe.ucsc.edu</a>	1%
3	Internet 252 palabras Copiado el 15-Sep-2021 <a href="http://s6250e2cbcd1c88c4.jimcontent.com">s6250e2cbcd1c88c4.jimcontent.com</a>	1%
4	Internet 221 palabras <a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a>	1%
5	Internet 178 palabras Copiado el 18-Mar-2020 <a href="http://www.scielo.org.mx">www.scielo.org.mx</a>	1%
6	Internet 155 palabras Copiado el 30-May-2016 <a href="http://cybertesis.cibnor.mx:8080">cybertesis.cibnor.mx:8080</a>	1%
7	Internet 141 palabras Copiado el 12-Sep-2021 <a href="http://iefectividad.conanp.gob.mx">iefectividad.conanp.gob.mx</a>	1%

### Firmas del comité



\_\_\_\_\_  
Dra. Tania Zenteno Savín  
Co-Directora



\_\_\_\_\_  
Dra. Vanessa Labrada  
Co-Directora

SOLE ROVIRA  
MONTSERRA  
T - DNI  
39673669A

Firmado digitalmente  
por SOLE ROVIRA  
MONTSERRAT - DNI  
39673669A  
Fecha: 2022.07.09  
08:33:37 +02'00'

\_\_\_\_\_  
Dra. Montserrat Solé  
Tutora

## **Conformación de Comités**

### **Comité Tutorial**

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

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

Dra. Montserrat Solé Rovira  
Instituto de Ciencias del Mar  
Co-Tutora de Tesis

### **Comité Revisor de Tesis**

Dra. Tania Zenteno Savín  
Dra. Vanessa Labrada Martagón  
Dra. Montserrat Solé Rovira

### **Jurado de Examen**

Dra. Tania Zenteno Savín  
Dra. Vanessa Labrada Martagón  
Dra. Montserrat Solé Rovira

### **Suplente**

Dr. Juan Antonio de Anda Montañez

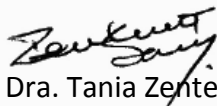
## Resumen

Los organismos marinos están continuamente expuestos a contaminantes, tales como fármacos y plaguicidas, producto del creciente desarrollo costero. En el estado de Quintana Roo, México, la principal actividad económica es el turismo. Sus costas son hábitat de forrajeo, desarrollo y reproducción de la tortuga blanca (*Chelonia mydas*), una especie en peligro crítico (NOM-059-SEMARNAT-2010). La presencia de contaminantes en el medio marino se ha relacionado al daño por estrés oxidativo y menores niveles de carboxilesterasas de fase I. También se ha sugerido una asociación entre la exposición a plaguicidas y la actividad de acetilcolinesterasa (AChE), una enzima encargada de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina durante la sinapsis nerviosa. Sin embargo, son pocos los estudios que han evaluado la actividad de AChE y carboxilesterasas (CEs) en plasma de tortugas marinas. El presente estudio tuvo como objetivo cuantificar la actividad de la AChE y CEs en plasma y evaluar su relación con la actividad de las enzimas antioxidantes (glutatión S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y catalasa (CAT)), la producción de radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) y los niveles de daño oxidativo (TBARS) en eritrocitos de tortugas blancas capturadas durante 2019 en tres localidades de Quintana Roo (Akumal, Punta Herrero y Xcalak) con diferentes niveles de perturbación ambiental. Se analizaron 34 muestras de plasma y contenido eritrocitario de tortuga blanca, capturadas vivas mediante los métodos de nado con esnórquel y persecución en lancha. Los individuos capturados eran inmaduros y su índice de condición corporal (ICC) fue muy bueno (1.11 – 1.20). Las tortugas de Punta Herrero fueron significativamente más pequeñas en talla a las de Akumal ( $p= 0.02$ ) y Xcalak ( $p= 0.02$ ) y en peso que las de Akumal ( $p= 0.04$ ) y Xcalak ( $p= 0.02$ ), aunque no hubo diferencias significativas en el ICC entre zonas. La actividad de GST, GPx y la producción de  $O_2^{\bullet-}$  fueron mayores en Akumal y Xcalak que en Punta Herrero ( $p<0.05$ ). Mediante análisis discriminante, se estableció que los biomarcadores que contribuyeron de manera significativa a la caracterización de los sitios fueron los niveles de TBARS, y la actividad de GR, GST y GPx. Estos resultados apoyan el uso de los indicadores de estrés oxidativo ante una exposición a diferentes niveles de perturbación ambiental en las bahías urbanizadas donde habita *C. mydas*. Las CEs y la AChE estuvieron correlacionadas entre ellas; la actividad de p-nitrofenil butirato carboxilesterasa (pNPB-CE) correlacionó negativamente con el ancho curvo de caparazón (ACC) ( $r=-0.42$ ). Aunque se observó menor actividad de AChE y CEs en las zonas con mayor desarrollo, no se encontraron diferencias significativas entre las localidades, lo que sugiere que estos valores pueden ser útiles como niveles basales de actividad de AChE y CEs en plasma de *C. mydas* en futuros estudios en las zonas de Quintana Roo (Akumal, Punta Herrero y Xcalak).

**Palabras clave:** Acetilcolinesterasa, carboxilesterasas, *Chelonia mydas*, estrés oxidativo, perturbación ambiental, una salud.

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4312-7648>

Vo.Bo. Co-Directoradas de Tesis



Dra. Tania Zenteno Savín




Dra. Vanessa Labrada Martagón

## Summary

Marine organisms are continually exposed to pollutants, such as drugs and pesticides, as a result of increasing coastal development. In Quintana Roo, Mexico, the main economic activity is tourism. Quintana Roo is the foraging habitat, development and reproduction of the green sea turtle (*Chelonia mydas*), a critically endangered species (NOM-059-SEMARNAT-2010). The presence of pollutants in the marine environment has been related to oxidative stress damage and lower levels of phase I carboxylesterases. A relationship between exposure to pesticides and the activity of acetylcholinesterase (AChE), an enzyme responsible for the hydrolysis of the neurotransmitter acetylcholine during nerve synapses, has been suggested. However, few studies have evaluated the activity of AChE and carboxylesterases (CEs) in sea turtle plasma. The objective of this study was to quantify the activity of AChE and CEs in plasma and to evaluate their relationship with the activity of antioxidant enzymes (glutathione S-transferase (GST), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) and catalase (CAT)), the production of superoxide radical ( $O_2^{\bullet-}$ ) and the levels of oxidative damage (TBARS) in erythrocytes of green turtles captured during 2019 in three locations in Quintana Roo (Akumal, Punta Herrero and Xcalak) with different levels of environmental disturbance. A total of 34 plasma and erythrocyte content samples from green turtle, captured alive by snorkeling and boat chasing methods, were analyzed. The captured turtles were immature and their body condition index (BCI) was very good (1.11 – 1.20). Turtles from Punta Herrero were significantly smaller in size than those from Akumal ( $p= 0.02$ ) and Xcalak ( $p= 0.02$ ) and in weight than those from Akumal ( $p= 0.04$ ) and Xcalak ( $p= 0.02$ ), although there were no significant differences in the ICC between areas. GST, GPx activity and  $O_2^{\bullet-}$  production were higher in Akumal and Xcalak than in Punta Herrero ( $p<0.05$ ). Discriminant analysis showed that the biomarkers that contributed significantly to the characterization of the sites were the levels of TBARS, and the activity of GR, GST and GPx. The results of this study support the use of oxidative stress indicators for exposure to different levels of environmental disturbance in urbanized bays where *C. mydas* inhabits. CEs and AChE activity were correlated with each other; p-nitrophenyl butyrate carboxylesterase (pNPB-CE) activity correlated negatively with curved carapace width (ACC) ( $r=-0.42$ ). Although lower activity of AChE and CEs was observed in the areas with greater development, no significant differences were found between localities, which suggests that these values may be useful as basal levels of AChE and CEs activity for *C. mydas* in Quintana Roo (Akumal, Punta Herrero and Xcalak) for future studies.

**Key words:** Acetylcholinesterase, carboxylesterases, *Chelonia mydas*, environmental disturbance, one health, oxidative stress.

**ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-4312-7648>



Dra. Tania Zenteno Savín

Vo.Bo. Co-Director de Tesis



Dra. Vanessa Labrada Martagón

**Dedicatoria**

A Dios, a mi Mamá Blanca Caté, mis Hermanitos Celi, Alito y Rosita y nuestras mascotas Peluchín, Miao, Bali y Pupila.



## **Agradecimientos**

Al CIBNOR, por ser la Institución que me brindó los estudios de Posgrado.

Al CONACyT, por la beca otorgada (No. 1001718) para hacer posible los estudios.

Al Laboratorio de Estrés Oxidativo de CIBNOR, en especial Orlando Lugo, técnico de Laboratorio.

A todo el equipo del Posgrado por la amable atención, Horacio Sandoval Gómez, Tania Núñez Valdez, Lic. Leticia González Rubio, Lic. Osvelia Ibarra Morales, personal de Transporte y Biblioteca.

A las personas e instituciones que participaron en la colecta y procesamiento de muestras: FLORA, FAUNA Y CULTURA DE MEXICO A.C.; Fernando A. Muñoz, Fac. Agronomía y Veterinaria, UASLP; Gisela Maldonado, Ekokanantik; Roberto L. Herrera, ECOSUR; Ana C. Negrete, Parque Xcaret; Centro Ecológico Akumal; y estudiantes del Laboratorio Ecología de la Salud, UASLP.

Al financiamiento de 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 mis Co-Directoradas de Tesis por brindarme confianza, paciencia y sus conocimientos, la Dra. Tania Zenteno, Dra. Vanessa Labrada y mi Co-Tutora la Dra. Montserrat Solé.

A los amigos que me regaló la maestría: David, Aye, Aldahír, Dani, Gio, Paty, Miranda, Jaquie y Kevin.

A mis amigas de toda la vida: Cynthia, Sofi Aguilar, Sofi Mendez, Abi, Paulis, Sarita, Caba, Papita y Jenny.

<b>Contenido</b>	
<b>Resumen</b> .....	i
<b>Summary</b> .....	ii
<b>Dedicatoria</b> .....	iii
<b>Agradecimientos</b> .....	iv
<b>Contenido</b> .....	v
<b>Lista de figuras</b> .....	vii
<b>Lista de tablas</b> .....	ix
<b>Abreviaturas</b> .....	x
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	5
2.1 Generalidades de la tortuga blanca ( <i>Chelonia mydas</i> ) (Linnaeus, 1758).....	5
2.1.1 Taxonomía.....	5
2.1.2 Ciclo de vida de la tortuga blanca .....	6
2.2 Estado de Conservación de la tortuga blanca .....	8
2.3 Importancia y riesgos en Quintana Roo .....	8
2.4 Ecotoxicología.....	12
2.4.1 Exposición a contaminantes en tortugas marinas.....	12
2.4.2 Acetilcolinesterasa (AChE) .....	14
2.4.3 Estrés oxidativo.....	16
2.4.3.1 Estrés oxidativo en tortugas marinas.....	18
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	21
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	23
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	24
5.1 Objetivo general .....	24
5.2 Objetivos particulares.....	24
<b>6. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	25
6.1 Área de Estudio.....	25
6.2 Captura de individuos y toma de muestras.....	28
6.2.1 Refugio Marino Bahía de Akumal .....	28
6.2.2 Punta Herrero y Parque Nacional de Arrecifes de Xcalak .....	29
6.2.3 Obtención de muestra sanguínea y datos morfológicos .....	29
6.3 Procesamiento de muestras en el laboratorio .....	30
6.3.1 Tasa de producción del radical superóxido ( $O_2^{\bullet}$ ).....	31
6.3.2 Actividad enzimática .....	31
6.3.2.1 Actividad de glutatión reductasa (GR) EC 1.8.1.7 .....	31
6.3.2.2 Actividad de catalasa (CAT) EC 1.11.1.6.....	32
6.3.2.3 Actividad de glutatión S-transferasa (GST) EC 1.11.1.9 .....	32
6.3.2.4 Actividad de glutatión peroxidasa (GPx) EC 1.11.1.9.....	32
6.3.2.5 Actividad de acetilcolinesterasa (AChE) EC 3.1.1.7.....	33
6.3.3 Peroxidación de lípidos .....	34
6.4 Clasificación de datos .....	34
6.4.1 Estimación del índice de condición corporal (ICC).....	35
6.4.2 Análisis estadísticos .....	35
<b>7. RESULTADOS</b> .....	37

7.1 Estructura poblacional e índice de condición corporal .....	37
7.2 Indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y de carboxilesterasas ..	41
7.2.1 Análisis de correlación .....	47
7.2.2 Análisis estadísticos multivariados .....	48
<b>8. DISCUSIÓN .....</b>	<b>55</b>
8.1 Estructura poblacional e índice de condición corporal .....	55
8.2 Indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y de carboxilesterasas ..	56
<b>9. CONCLUSIONES .....</b>	<b>66</b>
<b>10. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>67</b>

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Tortuga blanca ( <i>Chelonia mydas</i> ). A. Morfología del cráneo de una tortuga <i>Chelonia</i> . (pf: escamas prefrontales y po: escamas postorbitales). B. Morfología del caparazón y disposición de las aletas. Modificado de Pritchard y Mortimer (1999).	6
<b>Figura 2.</b> Distribución de zonas de alimentación y anidación de la tortuga blanca ( <i>Chelonia mydas</i> ) en México. Tomado de (SEMARNAT, 2018).	10
<b>Figura 3.</b> Posibles rutas de detoxificación de compuestos xenobióticos en tortugas marinas. El efecto puede ser directo, pasar por una activación metabólica, formación de un metabolito estable y/o ser detoxificado. Modificado de (Van der Oost, Beyer y Vermeulen, 2003).	18
<b>Figura 4.</b> Patrón de corrientes en el mar Caribe (enero). Tomado de (Botello, Villanueva y Gutiérrez, 2019).	26
<b>Figura 5.</b> Área de estudio en el Estado de Quintana Roo, México. (Punta Herrero: longitud - 87.44936111 y latitud 19.46077778; Akumal: longitud -87.31361111 y latitud 20.39380556; y Xcalak: Longitud -87.82677778 y Latitud 18.306).	28
<b>Figura 6.</b> Frecuencia de tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) agrupadas por intervalos de talla (LCC) capturadas en el año 2019 en las costas de Quintana Roo según localidades de estudio.	39
<b>Figura 7.</b> (A) Peso y (B) talla (largo curvo del caparazón, LCC) de las tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturadas en la costa de Quintana Roo durante el 2019, agrupadas por localidad. Los datos se presentan como media (punto) y error estándar (barras). Se denotan diferencias significativas entre zonas (ANOVA, prueba de Tukey pareada, $\alpha=0.05$ ).	40
<b>Figura 8.</b> Índice de condición corporal (ICC) de las tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) de las costas de Quintana Roo (2019) agrupadas por localidades de estudio. Los datos se presentan como media (punto) y error estándar (barras).	41
<b>Figura 9.</b> (A) Tasa de producción de radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), (B) niveles de peroxidación de lípidos (TBARS) en sangre de tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturadas en el año 2019 en las costas de Quintana Roo por zonas de estudio. Los datos se presentan como media (punto) y error estándar (barras). Se denotan diferencias significativas entre zonas (ANOVA, prueba de Tukey pareada, $\alpha=0.05$ ).	44
<b>Figura 10.</b> (A) Actividad de glutatión reductasa, (GR), (B) actividad de catalasa (CAT), (C) actividad de glutatión S-transferasa (GST), y (D) actividad de glutatión peroxidasa (GPx) en sangre de tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturadas en el año 2019 en las costas de Quintana Roo por zonas de estudio. Los datos se presentan como media (punto) y error estándar (barras). Se denotan diferencias significativas entre zonas (ANOVA, prueba de Tukey pareada, $\alpha=0.05$ ).	45
<b>Figura 11.</b> (A) Actividad de acetilcolinesterasa (AChE), (B) actividad de carboxilesterasa con sustrato p-nitrofenil butirato (pNPB), y (C) actividad de carboxilesterasa con sustrato p-nitrofenil acetato (pNPA) en sangre de tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturadas en el año 2019 en las costas de Quintana Roo por zonas de estudio. Los datos se presentan como media (punto) y error (barras) estándar.	46
<b>Figura 12.</b> Representación gráfica del análisis de componentes principales con dos factores dominantes con los indicadores de estrés oxidativo, la actividad de acetilcolinesterasa (AChE, $U\ mg^{-1}\ Hb$ ), carboxilesterasas (pNPA, pNPB, $nmol\ min^{-1}\ mL^{-1}$ ) e índice de condición corporal (ICC) medidos en sangre de tortuga blanca ( <i>Chelonia mydas</i> ) en Quintana Roo en el año 2019. $O_2^{\bullet-}$ , tasa de producción de radical superóxido ( $nmol\ min^{-1}\ mg^{-1}\ Hb$ ); TBARS, peroxidación de lípidos	

(nmol mg<sup>-1</sup> Hb); GR, actividad de glutatión reductasa (U g<sup>-1</sup> Hb); CAT, actividad de catalasa (U g<sup>-1</sup> Hb); GST, actividad de glutatión S-transferasa (U g<sup>-1</sup> Hb); GPx, actividad de glutatión peroxidasa (U g<sup>-1</sup> Hb). .....49

**Figura 13.** Representación gráfica del análisis discriminante incluyendo todos los biomarcadores cuantificados en muestras de sangre de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) y zonas de estudio en Quintana Roo. Los niveles de peroxidación de lípidos y la actividad de las enzimas antioxidantes glutatión reductasa, glutatión S-transferasa y glutatión peroxidasa, agrupados en la función discriminante 1, contribuyeron a explicar el 90% de la varianza. ....52

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Datos biométricos de las tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturadas durante el año 2019 en las localidades de estudio en las costas de Quintana Roo.....	38
<b>Tabla 2.</b> Indicadores de estrés oxidativo, acetilcolinesterasa y carboxilesterasas medidos en sangre de tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) capturadas en Quintana Roo en el año 2019. ....	42
<b>Tabla 3.</b> Indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y carboxilesterasas de las tortugas blancas ( <i>Chelonia mydas</i> ) agrupadas por localidades de estudio en Quintana Roo para el año 2019.....	43
<b>Tabla 4.</b> Matriz de coeficientes de correlación de Pearson (abajo) y significancia (arriba) para la talla y los biomarcadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y actividad de carboxilesterasas medidos en sangre de tortuga blanca ( <i>Chelonia mydas</i> ) en Quintana Roo en el 2019. n = 31.....	47
<b>Tabla 5.</b> Eigenvalores del análisis de componentes principales a partir de las variables de índice de condición corporal, indicadores de estrés oxidativo, la actividad de acetilcolinesterasa y la actividad de carboxilesterasas medidos en sangre de tortuga blanca ( <i>Chelonia mydas</i> ) en Quintana Roo en el 2019.....	50
<b>Tabla 6.</b> Resumen de cargas factoriales para los indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa, carboxilesterasas e índice de condición corporal basado en el análisis de componentes principales para la tortuga blanca ( <i>Chelonia mydas</i> ) en Quintana Roo en el 2019. ....	50
<b>Tabla 7.</b> Resumen de las variables significativas ( $p < 0.05$ ) para el análisis de funciones discriminantes para la variable dependiente “zonas de estudio”. Wilks de Lambda=0.127 aprox. $F_{(18,40)}=4.02$ , $p < 0.001$ .....	53
<b>Tabla 8.</b> Distancias cuadradas de Mahalanobis (debajo de la diagonal) y su significancia estadística (arriba de la diagonal) del análisis discriminante para las zonas de estudio en Quintana Roo en el 2019.....	53
<b>Tabla 9.</b> Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes formadas tras el análisis discriminante para las zonas de estudio en Quintana Roo en el 2019. ....	54

## Abreviaturas

<b>ACC</b>	Ancho curvo de caparazón
<b>AChE</b>	Acetilcolinesterasa
<b>AD</b>	Análisis discriminante
<b>ADN</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>Al</b>	Aluminio
<b>ANOVA</b>	Análisis de varianza
<b>As</b>	Arsénico
<b>BChE</b>	Butirilcolinesterasa
<b>CAT</b>	Catalasa
<b>CEs</b>	Carboxilesterasas
<b>Cd</b>	Cadmio
<b>CDB</b>	Convenio sobre la Diversidad Biológica
<b>CDNB</b>	1-cloro-2,4-dinitrobenceno
<b>Co</b>	Cobalto
<b>COPs</b>	Contaminantes orgánicos persistentes
<b>Cr</b>	Cromo
<b>Cu</b>	Cobre
<b>DIF</b>	Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia
<b>DNPH</b>	2,4-dinitrofenil hidrazina
<b>EA</b>	Acetato esterasa
<b>EDTA</b>	Ácido etilen diamino tetraacético
<b>ERO</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>GGT</b>	Gama glutamil transferasa
<b>GPx</b>	Glutación peroxidasa
<b>GR</b>	Glutación reductasa
<b>GST</b>	Glutación S-transferasa
<b>GSH</b>	Glutación reducido
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrógeno
<b>HAPs</b>	Hidrocarburos aromáticos policíclicos
<b>HCHs</b>	Hexaclorociclohexanos
<b>Hb</b>	Hemoglobina
<b>Hg</b>	Mercurio
<b>ICC</b>	Índice de condición corporal
<b>Iso-OMPA</b>	Tetraisopropil pirofosforamida
<b>IUCN</b>	Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, por sus siglas en inglés
<b>LCC</b>	Largo curvo del caparazón
<b>LRC</b>	Largo recto del caparazón
<b>NaCl</b>	Cloruro de sodio
<b>NaN<sub>3</sub></b>	Azida de sodio
<b>NBT</b>	Nitroazul de tetrazolio
<b>Ni</b>	Níquel
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	Radical superóxido
<b>OCs</b>	Compuestos organoclorados

<b>OPs</b>	Compuestos organofosforados
<b>p,p'-DDT</b>	Dicloro difenil tricloroetano
<b>PAHs</b>	Hidrocarburos aromáticos policíclicos, por sus siglas en inglés
<b>Pb</b>	Plomo
<b>PCA</b>	Análisis de componentes principales
<b>PCB</b>	Policlorobifenol
<b>PFCs</b>	Compuestos perfluorados
<b>pNPA</b>	p-nitrofenil acetato
<b>pNPB</b>	p-nitrofenil butirato
<b>pNPB-CE</b>	p-nitrofenil butirato carboxilesterasa
<b>pNPA-CE</b>	p-nitrofenil acetato carboxilesterasa
<b>PROCER</b>	Programa de Conservación de Especies en Riesgo
<b>SAM</b>	Sistema arrecifal mesoamericano
<b>Se</b>	Selenio
<b>SNC</b>	Sistema nervioso central
<b>SNP</b>	Sistema nervioso periférico
<b>SOD</b>	Superóxido dismutasa
<b>Sr</b>	Estroncio
<b>β-HCN</b>	Hexaclorohexano
<b>TBA</b>	Ácido tiobarbitúrico
<b>TBARS</b>	Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico
<b>TEP</b>	1,1,3,3 tetraetoxipropano
<b>Ti</b>	Titanio
<b>TSD</b>	Determinación del sexo dependiente de la temperatura
<b>TSP</b>	Periodo termosensitivo
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>Zn</b>	Zinc
<b>ΣHCH</b>	Heptaclorohexanos (sumatoria)



## 1. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas acuáticos son afectados por la descarga de contaminantes producidos por procesos industriales y actividades antropogénicas, tales como aquellas asociadas al turismo, quehacer doméstico y a la agricultura (Gómez-Oliván, 2019). Estas sustancias tóxicas (xenobióticos) pueden conducir, eventualmente, a daño celular y estrés oxidativo (Halliwell, 1992). En condiciones normales, en los organismos hay un balance entre la producción de las especies reactivas de oxígeno (ERO) y los procesos de defensa antioxidante; cuando se rompe este equilibrio se produce el estrés oxidativo (Halliwell y Gutteridge, 2015). Si bien las ERO cumplen funciones importantes de señalización, también pueden oxidar biomoléculas como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, afectando su estructura y función (daño oxidativo) (Halliwell y Gutteridge, 2015). El mecanismo de daño oxidativo a lípidos se conoce como peroxidación de lípidos. En las proteínas, el daño oxidativo puede darse de manera directa o indirecta, fragmentándolas o inactivándolas, liberando subproductos como las proteínas carboniladas (Díaz-Acosta y Membrillo-Hernández, 2006). Las defensas antioxidantes son todas las enzimas y mecanismos que protegen y contrarrestan los efectos de las ERO (Halliwell y Gutteridge, 2015). Cuando los contaminantes químicos se absorben o ingieren comienza un proceso de biotransformación en dos fases por medio del cual pueden ser metabolizados y excretados por el organismo. La fase I comprende la adición de un grupo polar reactivo a la molécula que, eventualmente, se convertirá en el sustrato para las reacciones de la fase II. Durante de la fase II se adhieren sustituyentes endógenos como azúcares, sulfatos o aminoácidos que favorecen la solubilidad del xenobiótico para su excreción (Hodgson, 2012). Muchos estudios han sugerido que el uso de varios biomarcadores que intervienen en la fase I y fase II, tales como los indicadores de estrés oxidativo y neurotoxicidad, son herramientas útiles para evaluar la respuesta a la presencia de contaminantes en fauna marina (Camacho, Luzardo y Orós, 2017). Los biomarcadores son herramientas que ayudan a determinar si un organismo ha estado expuesto a contaminantes ambientales y los posibles efectos sobre su salud (Labrada-Martagón, 2018).

Algunas enzimas han sido estudiadas como potenciales indicadores de exposición a contaminantes; por ejemplo, variaciones en la actividad de acetilcolinesterasa (AChE) se asocian

a la presencia de agentes neurotóxicos (Payne, Mathieu y Fancey, 1996; Solé *et al.*, 2010). Una de las funciones de la AChE es la terminación del impulso nervioso al descomponer el neurotransmisor acetilcolina, un proceso vital para el funcionamiento adecuado del sistema nervioso, que tiene lugar en la unión neuromuscular y los ganglios autónomos (Tõugu, 2001; Picciotto, Higley y Mineur, 2012). La actividad de la AChE es inhibida por la exposición a plaguicidas, razón por la que se utiliza como biomarcador (Holland, Coppage y Butler, 1967). De igual manera, se ha reportado una relación entre algunos contaminantes tóxicos y los indicadores de estrés oxidativo, lo que ha sugerido que estos biomarcadores pueden ser una herramienta efectiva (Lushchak, 2012). Se ha reportado que existe relación entre una variedad de contaminantes, incluyendo plaguicidas organoclorados y metales pesados, y los indicadores de estrés oxidativo (como la actividad de las enzimas antioxidantes catalasa (CAT), glutatión S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GPx), superóxido dismutasa (SOD), así como los niveles de peroxidación de lípidos (TBARS)) en las tortugas marinas, como la tortuga carey (*Eretmochelys imbricata*) y la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) (Linnaeus, 1758) (Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Tremblay *et al.*, 2017).

El Caribe Mexicano resguarda ecosistemas vulnerables como los pastos marinos (Tussenbroek, 1995) y el Sistema Arrecifal Mesoamericano (SAM) (Rioja-Nieto y Álvarez-Filip, 2018), pero también es un hábitat crítico para la tortuga blanca (Zurita, 2015). En el estado de Quintana Roo coinciden tanto la zona prioritaria de alimentación como la zona prioritaria de anidación de la tortuga blanca en México (SEMARNAT, 2018). La región noreste del Caribe, como las playas del estado de Quintana Roo, son un área turística importante y también una zona de forrajeo, desarrollo y migración para la tortuga blanca (Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Son siete especies de tortugas marinas que habitan en todas las cuencas oceánicas, clasificadas en dos familias, Cheloniidae y Dermochelyidae, y todas están bajo diferente grado de amenaza, derivado principalmente de las actividades antropogénicas y el desarrollo humano (Meylan y Meylan, 2000). A nivel global, la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) está clasificada como una especie en peligro según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) y en peligro para México, de acuerdo a la norma oficial NOM-059-SEMARNAT-2010 (UICN, 2020; SEMARNAT, 2010). Aunque históricamente las poblaciones de esta especie han sufrido

reducciones en el Caribe Mexicano, ésta sigue siendo una región de importancia para el desarrollo de *C. mydas* (Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Actualmente, existen amenazas en el Caribe, tanto en las playas como en el mar, para esta especie, principalmente por el desarrollo costero (Dow y Eckert, 2011). A pesar de los esfuerzos legales que México realiza, así como los convenios internacionales vigentes, para la protección de la especie, aún quedan vacíos de planificación y conservación (Nalovic, Cuevas y Godfrey, 2019).

Estudios en cenotes de Cozumel señalan que parámetros como el pH cercano a la neutralidad y bajo oxígeno disuelto, pueden deberse a las condiciones naturales de la región o bien estar influenciados por el aporte de materia orgánica en descomposición de la zona terrestre hacia la zona costera (Sánchez y Pinto *et al.*, 2015). Se ha reportado que los niveles de contaminantes perfluorados (PFCs) encontrados en tortugas marinas están correlacionados positivamente con la cercanía de éstas a las poblaciones humanas (O'Connell *et al.*, 2010). También se ha sugerido que las actividades turísticas pueden modular el comportamiento de la tortuga blanca, afectando la preferencia en la selección de su sitio de forrajeo (Ruiz, 2008). Estudios en otras especies sugieren que, en localidades contaminadas, el mejillón (*Crenomytilus grayanus*) presenta mayores niveles de estrés oxidativo, en comparación con localidades menos contaminadas (Belcheva *et al.*, 2011). Se ha sugerido que el nivel de perturbación del hábitat podría afectar la salud de la tortuga blanca, causando mayor daño oxidativo en regiones con mayor desarrollo urbano (Islas, 2020). En este sentido, las subpoblaciones de tortugas marinas podrían responder de manera diferente a la escala de contaminación de cada localidad, como se ha sugerido previamente (Keller, 2013). En los organismos, y dependiendo de la disponibilidad del contaminante, así como de factores biológicos, químicos y ambientales, los contaminantes pueden excretarse o bioacumularse, es decir, almacenarse de forma inerte (Bryan *et al.*, 1979). Cuando los contaminantes se transfieren a través de la cadena alimenticia hacia otro organismo, aumenta su concentración con cada nivel de la cadena alimenticia y se da un proceso de biomagnificación (Gray, 2002). Las tortugas marinas son especies longevas que bioacumulan contaminantes provenientes del alimento, sedimentos y el agua de su entorno a lo largo de toda su vida (Camacho, Luzardo y Orós, 2017). En los últimos años, se ha visto un creciente

interés en la utilización de biomarcadores que permitan monitorear la exposición a diversos contaminantes y sus efectos en tortugas marinas (Camacho, Luzardo y Orós, 2017).

El presente estudio tuvo como objetivo cuantificar la actividad de la AChE, la actividad de carboxilesterasas (pNPA-CE y pNPB-CE) y evaluar su relación con la actividad de enzimas antioxidantes y los niveles de peroxidación de lípidos y proteínas carboniladas como indicadores de daño oxidativo en muestras de sangre de tortuga blanca (*Chelonia mydas*). Se evaluaron diferencias en las respuestas de los organismos que habitan en tres localidades de Quintana Roo con diferentes niveles de perturbación ambiental. El uso de diversos biomarcadores podría permitir un análisis más sensible y completo para determinar la respuesta de esta especie ante diferentes grados de perturbación antrópica. Al tratarse de una especie en peligro, es indispensable utilizar biomarcadores poco invasivos. Este tipo de estudios brinda información para enfocar la toma de decisiones en las áreas naturales protegidas del Caribe Mexicano, que contribuyan a disminuir los riesgos por perturbación en la salud de las tortugas marinas.

## 2. ANTECEDENTES

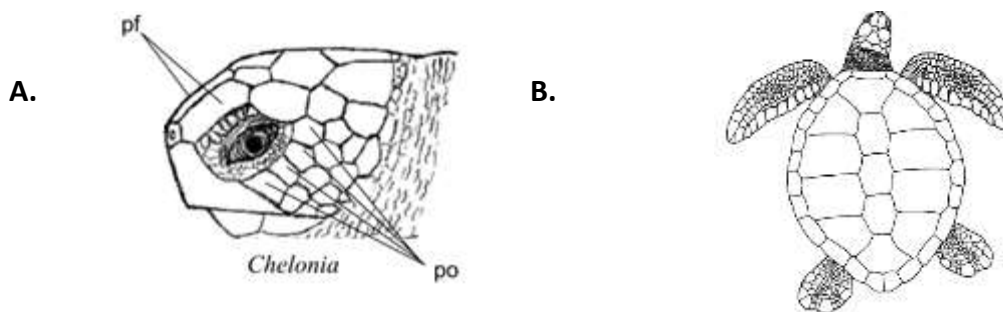
### 2.1 Generalidades de la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) (Linnaeus, 1758)

#### 2.1.1 Taxonomía

Las tortugas marinas se encuentran dentro del grupo monofilético Testudines, que posee características morfológicas muy particulares; entre ellas, destaca la presencia de un caparazón. Testudines se divide en los grupos taxonómicos Pleurodira y Cryptodira. Dentro de este último se encuentra el taxón Cheloniodea, al cual pertenecen las dos familias de tortugas marinas, Cheloniidae y Dermochelyidae (Guillon *et al.*, 2012).

Existen siete especies vivas de tortugas marinas clasificadas de la siguiente forma. Dentro de la familia Cheloniidae se encuentran la tortuga blanca (*Chelonia mydas*), la tortuga aplanada (*Natator depressus*), la tortuga carey (*E. imbricata*), la tortuga caguama (*Caretta caretta*), la tortuga lora (*Lepidochelys kempii*) y la tortuga golfina (*Lepidochelys olivacea*), y dentro de la familia Dermochelyidae podemos encontrar a su única especie actualmente viva, la tortuga laúd (*Dermochelys coriacea*). Para *C. mydas* existe un debate sobre una posible subespecie o especie conocida como la tortuga prieta, *C. mydas agassizzi* o *C. agassizzi* (Pritchard y Mortimer, 1999).

La tortuga blanca (*Chelonia mydas*) (Fig. 1) es una especie cosmopolita, que se distribuye en los trópicos y subtrópicos. Se identifica con un par de escamas prefrontales (Pf) y cuatro pares de escamas postorbitales (Po) en la cabeza. La tortuga blanca se diferencia morfológicamente de las otras especies principalmente por poseer un caparazón liso y ancho con una ligera indentación (escotadura o depresión en el borde) a la altura de las extremidades, cuatro pares de escudos costales, una coloración variable de verde oscuro a muy claro, pero normalmente con manchas oscuras en algunos adultos grandes, y una longitud recta del caparazón (LRC) máxima de 120 cm, aproximadamente (Pritchard y Mortimer, 1999).



**Figura 1.** Tortuga blanca (*Chelonia mydas*). A. Morfología del cráneo de una tortuga *Chelonia*. (pf: escamas prefrontales y po: escamas postorbitales). B. Morfología del caparazón y disposición de las aletas. Modificado de Pritchard y Mortimer (1999).

### 2.1.2 Ciclo de vida de la tortuga blanca

En general, la tortuga blanca es cosmopolita; como todas las especies de tortugas marinas, habita en localidades distintas en cada etapa de su ciclo de vida, incluyendo playas de anidación, corredores migratorios, hábitats de forrajeo para tortugas juveniles, y zonas de reproducción (Seminoff *et al.*, 2007). Durante la incubación de los huevos, las condiciones físicas y químicas del ambiente dentro del nido afectan el éxito del desarrollo embrionario, así como la determinación del sexo de la tortuga (Ackerman, 1997). El mecanismo de determinación del sexo dependiente de la temperatura (TSD, por sus siglas en inglés) se relaciona a la temperatura de incubación de los huevos, y ocurre durante un periodo crítico del desarrollo embrionario, conocido como el periodo termosensitivo (TSP, por sus siglas en inglés) (Janzen & Paukstis, 1991). El umbral de temperatura o temperatura pivotal corresponde a la transición de la producción de un sexo u otro, siendo 29°C la temperatura aproximada de producción de un 50% de cada sexo (Ackerman, 1997). Esta regulación actúa sólo durante el segundo tercio del desarrollo, de tal forma que las temperaturas por debajo de la temperatura pivotal producen machos y las temperaturas altas producen hembras (Mrosovsky & Pieau, 1991).

Tras su eclosión, las crías emergen de los nidos y van inmediatamente hacia el mar, en un evento denominado “frenesi”, para evitar a los depredadores que están en la playa. Al tener contacto con el agua comienzan a nadar rápidamente y se adentran al mar (Ackerman, 1997). Se conocía poco de los primeros años de vida de las tortugas marinas, por lo que se les llama los “años perdidos” (Ackerman, 1997); sin embargo, estudios de seguimiento de las crías al nacer

sugieren que inician migraciones de hasta 1000 km lejos de sus playas natales vinculadas a las corrientes oceánicas y pueden alcanzar velocidades de  $60 \text{ m min}^{-1}$  (Scott *et al.*, 2014). La tortuga blanca puede pasar de 3 a 5 años en corrientes oceánicas y aguas poco profundas con una alimentación carnívora, justo antes de cambiar su dieta, característica de los adultos de *C. mydas* (Reich, Bjorndal y Bolten, 2007). Este cambio de hábitat y dieta en los juveniles de tortuga blanca está coordinado y ocurre al menos una vez en su vida (Heppell, Crowder y Snover, 2003). Posteriormente, se establecen en la zona nerítica, rica en pastos marinos y algas, donde forrajean y crecen hasta alcanzar la madurez sexual (Heppell, Crowder y Snover, 2003). En el área de Bahía de Akumal, hábitat de forrajeo, las tortugas juveniles recapturadas miden entre 27.8 y 81 cm de largo curvo del caparazón (LCC), siendo la talla mínima de recaptura y, por ende, considerada talla de reclutamiento de 27.8 cm LCC. Se estima que, en esta localidad, un individuo de 28 cm LCC le tomaría entre 13 y 14 años alcanzar la talla de madurez reproductiva, con tasas de crecimiento anuales que varían de 0.38 a 14.03 cm LCC (Labrada-Martagón *et al.*, 2017). En la región del Caribe, los juveniles de *C. mydas* de talla más grande (50-70 cm LRC) tienden a permanecer en su hábitat natal, mientras que los juveniles con tallas menores (<50 cm LRC) muestran mayores tasas de reclutamiento en las ecoregiones del Caribe, lo cual indica que los de menor talla tienden a dejar su hábitat natal y se mueven más entre otros hábitats de forrajeo (Van der Zee *et al.*, 2019).

En las playas de anidación de Quintana Roo se han registrado tallas de hembras reproductivas entre 89 cm y 125 cm LCC, con un promedio estándar de 106.95 cm LCC (DS = 5.25 cm) (Zurita, 2015). Tanto los machos como las hembras pueden migrar cientos de kilómetros hacia la región donde nacieron, a zonas entre las playas de anidación y hábitats de forrajeo donde se reproducen (Seminoff *et al.*, 2007). El intervalo entre migraciones para la tortuga blanca en algunas playas de anidación en Quintana Roo (Aventuras DIF, Chemuyil, X'cacel y Xel-Ha) es entre 2 y 3 años (Zurita, 2015). En el Caribe Mexicano, las playas de anidación de *C. mydas* abarcan desde el estado de Tamaulipas hasta Quintana Roo, siendo Isla Aguada, Río Largetos, X'cacel e Isla Cozumel de los sitios más importantes, y se reporta la temporada de anidación de mayo a septiembre (Márquez-Millán. *et al.*, 2004). En Quintana Roo, la temporada de anidación

para la tortuga blanca comprende los meses de abril a octubre, con un solapamiento con la tortuga carey (Zurita, 2015).

Las tortugas marinas, particularmente *C. mydas* y *E. imbricata*, tienen un papel ecológico pues al alimentarse, junto con los peces, contribuyen a controlar las poblaciones de pastos marinos y el equilibrio en los arrecifes (Goatley, Hoey y Bellwood, 2012). En general, todas las especies de tortugas marinas se consideran especies carismáticas que pueden brindar servicios y beneficios económicos a los humanos, como el turismo (Hamann *et al.*, 2010).

## **2.2 Estado de Conservación de la tortuga blanca**

Debido a la complejidad de su ciclo de vida, todas las especies de tortugas marinas se encuentran bajo alguna categoría de amenaza, algunas en una situación más crítica que otras (IUCN, 2020). Actualmente, la tortuga blanca en México se encuentra catalogada en peligro de extinción de acuerdo con la norma NOM-059-SEMARNAT-2010, y en peligro según la IUCN (IUCN, 2020). En México, a través del cumplimiento de la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 y la Norma Mexicana NMX-AA-162-SCFI-2012, se busca proteger a las especies que están en riesgo de extinción, como la tortuga blanca (SEMARNAT, 2010; Secretaría de Economía, 2012). En el marco internacional, México ha firmado el Convenio de Cartagena en 1983, Convención para la Conservación y Desarrollo del Medio Marino de la Región del Gran Caribe, en el cual se compromete a prevenir y controlar la contaminación marina en la región del Caribe Mexicano (Cartagena, 1983). El Convenio sobre la Diversidad Biológica (CDB), también firmado por México en 1993, mantiene el compromiso de proteger la biodiversidad (CDB, 1992).

## **2.3 Importancia y riesgos en Quintana Roo**

El estado de Quintana Roo corresponde a una de las áreas de anidación y alimentación prioritarias para la tortuga blanca dentro del Caribe Mexicano (Fig. 2) (SEMARNAT, 2018). El ecosistema costero de Quintana Roo depende de los beneficios del suelo cárstico de la península de Yucatán que contribuye a la filtración del agua, junto a otras características como la temperatura cálida que han favorecido la formación de los arrecifes coralinos (SEMARNAP-



INE, 2000). De acuerdo a estudios de paisaje marino, los arrecifes en la región del Caribe son parte de la región norte del Sistema Arrecifal Mesoamericano (SAM), extendiéndose 400 km a lo largo de la costa, tienen una cobertura de coral de entre 15% y 20%, con una ligera recuperación en 2014 en comparación con la década anterior (2004) (Rioja-Nieto y Álvarez-Filip, 2018). Los pastos marinos, como la hierba de tortuga *Thalassia testudinum*, que también contribuyen a la productividad de este ecosistema, mantienen una dinámica de crecimiento y desarrollo estacional que varía entre las diversas condiciones del Caribe Mexicano (Tussenbroek, 1995). Cruz-Palacios y Tussenbroek (2005) observaron la importancia de la estructura de la comunidad de pastos marinos y las características morfológicas de las especies que la conforman para eventos climáticos, como los huracanes, en la península de Yucatán (Cruz-Palacios y Tussenbroek, 2005). Las playas del Caribe son vitales para la tortuga blanca, ya que se ha registrado un aumento en el número de nidadas anuales, con un 3.39% de incremento anual en el periodo de 1987 a 2012 (Zurita, 2015). Bahía de Akumal es también reconocida como una región importante de crecimiento y desarrollo de la tortuga blanca (Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Akumal comprende una zona relevante para juveniles de la tortuga blanca, por sus condiciones particulares y de abundancia en especies vegetales fanerógamas (Ruiz, 2008). La región del Caribe es parte del hábitat de la tortuga carey, una especie en peligro crítico de extinción, con registros bajos en el nivel de éxito de eclosión de neonatos en Isla Contoy (mayo: 41.75%; julio: 58.66%) (Flores, 2016).

En estudios sobre las condiciones de los arrecifes de coral en localidades como Akumal, que muestran un estado más crítico, se reportan lesiones y enfermedades en el coral como la banda amarilla; los registros de calidad de agua sugieren que las comunidades arrecifales reciben nitratos, posiblemente de origen antropogénico, durante la temporada de lluvia (Mata, 2012). La banda amarilla es una enfermedad que afecta principalmente a los corales escleractínidos, que se extiende rápidamente y puede afectar la reproducción, causar la muerte de los tejidos y de su hospedero (zooxantelas) (Weil, Cróquer y Urreiztieta, 2009). El intenso desarrollo urbano y turístico de las últimas décadas está llevando a cambiar las condiciones del sistema arrecifal en esta zona (Rioja-Nieto y Álvarez-Filip, 2018). La comparación de los isótopos estables de nitrógeno ( $^{15}\text{N}$ ) en el coral *Gorgonia ventalina* colectado en dos localidades del Caribe, Akumal y

Mahahual (una desarrollada y la otra subdesarrollada), sugiere que los niveles de nitrógeno de las aguas residuales son mayores en la zona con mayor desarrollo, y están correlacionados positivamente con conteos de *Enterococcus* sp. de origen fecal (Baker *et al.*, 2010).



**Figura 2.** Distribución de zonas de alimentación y anidación de la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) en México. Tomado de (SEMARNAT, 2018).

En el Caribe Mexicano, la contaminación por hidrocarburos, específicamente de fenantreno, naftaleno y benceno, en cenotes del estado de Quintana Roo se relaciona con las actividades turísticas de varias localidades, principalmente las localidades con mayor desarrollo turístico (Cancún y Playa del Carmen), en comparación con las localidades con actividad turística media a baja (Medina-Moreno *et al.*, 2014). En algunas regiones de Quintana Roo, como Cozumel, los estudios fisicoquímicos de calidad de agua muestran un aporte de materia orgánica y nutrientes desde la zona terrestre hacia la costa. Este aporte parece estar dentro de los niveles aceptados por las normas, aunque algunas variables (como el oxígeno disuelto) no cumplen con los niveles para efectos del desarrollo de la vida marina (Sánchez y Pinto *et al.*, 2015). León-Borges y Lizardi-Jiménez (2017) analizaron la contaminación de hidrocarburos en sumideros de Quintana Roo causada por el turismo y sus variaciones en temporadas vacacionales durante 4 años y

reportaron que, durante la temporada alta (julio), la diversidad y concentración de hidrocarburos aumentaron en sumideros de Cancún, Playa del Carmen, Cozumel, Tulum, Morelos y Chetumal. Las localidades de Cancún y Playa del Carmen mostraron los niveles más altos, en comparación con Holbox (León-Borges y Lizardi-Jiménez, 2017). Los hidrocarburos de los sumideros, originados por el turismo, eventualmente podrían llegar a los arrecifes de coral (León-Borges y Lizardi-Jiménez, 2017).

Dentro de los riesgos que enfrenta la región del Caribe Mexicano para la población de tortuga blanca, que también aplica para la tortuga carey, actualmente se resalta el efecto antropogénico que provoca alteraciones en el hábitat (Oliver *et al.*, 2017). En la zona de anidación de la playa Kanzul en Quintana Roo, se describieron las amenazas que pueden afectar la selección de sitios de anidación de las hembras, así como la incubación y sobrevivencia de los neonatos de tortuga blanca y tortuga carey, tales como la perturbación por la presencia de turistas y personal de los hoteles (Oliver *et al.*, 2017). Otras amenazas son la depredación de huevos causada por animales y por el hombre, la iluminación que puede desorientar a las hembras anidadoras, la presencia de muebles que bloquean el movimiento de las crías y las hembras, la presencia de basura inorgánica en la playa como plástico, vidrio, redes y latas que atrapan a los neonatos, la compresión de arena causada por diversos vehículos, y la extracción de arena (Oliver *et al.*, 2017). En Bahía de Akumal se examinó el comportamiento de la tortuga blanca ante la presencia de turistas buceando y se observó que cuando los turistas se acercan, tratan de alimentar y tocar a la tortuga, provocan que éstas interrumpan las actividades naturales que estaban realizando, como forrajeo y sesiones de respiración en la superficie (Ruiz, 2008). Adicionalmente, se ha observado que la presencia de los turistas en una zona de uso preferencial para las tortugas, puede influir en su desplazamiento hacia zonas de menor preferencia (Ruiz, 2008).

Entre los efectos a la salud de las tortugas marinas que puede causar la degradación del hábitat en Quintana Roo, y que varían entre localidades, se ha reportado daño oxidativo. Punta Arenas y Bahía de Akumal destacan como zonas en las que las tortugas marinas presentan mayores niveles de daño oxidativo en comparación con animales en localidades menos degradadas,

como Xcalak (Islas, 2020). En 1984 se reportaron casos de fibropapilomas, descritos como abultamientos en el cuello de la tortuga blanca, en Quintana Roo (Durán, 1986). La fibropapilomatosis es una enfermedad infecciosa emergente, de etiología multifactorial que afecta a casi todas las especies de tortugas marinas (Jones *et al.*, 2016). Autores han sugerido que la fibropapilomatosis puede estar relacionada con ambientes eutrofizados (Van Houtan *et al.*, 2014). Sin embargo, Aguirre *et al.* (1994) no encontraron correlación entre los contaminantes y la fibropapilomatosis en *C. mydas* en sitios con bajos niveles de contaminantes ambientales; aunque no está claro si existe relación directa, no se descartan efectos nocivos en la salud de las tortugas (Aguirre *et al.*, 1994). En el Caribe Mexicano, Islas (2020) reportó que el tamaño de los fibropapilomas en la tortuga blanca se correlacionó con algunos indicadores bioquímicos de salud (tasa de producción de radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) y actividad de las enzimas antioxidantes CAT y GST), lo que el autor interpreta como que puede haber producción de  $O_2^{\bullet-}$  en individuos con tumores más grandes. El mismo autor registró un aumento en la prevalencia del fibropapiloma en la zona de Bahía de Akumal del año 2015 al 2018 (Islas, 2020).

## **2.4 Ecotoxicología**

### **2.4.1 Exposición a contaminantes en tortugas marinas**

En el medio marino, las fuentes de exposición a contaminantes pueden ser el alimento, sedimentos y agua. En las tortugas marinas los contaminantes químicos orgánicos e inorgánicos tienden a concentrarse en el tejido adiposo, hígado, riñón, pulmón y músculo, ya que son más solubles en grasa, y a bioacumularse con el tiempo (Camacho, Luzardo y Orós, 2017). Algunos contaminantes, como los de la familia de los perfluoroalquilos, pueden acumularse a medida que aumenta el nivel trófico (biomagnificación), aumentando el riesgo para la salud de los depredadores tope (Keller *et al.*, 2012). La acumulación de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo podría limitar su disponibilidad y disminuir el daño a órganos más sensibles, dando un efecto protector contra la toxicidad de estos contaminantes (Lazar *et al.*, 2011). El efecto de los contaminantes en tortugas marinas ha sido medido principalmente mediante biomarcadores de salud, como la actividad de enzimas antioxidantes (Labrada-Martagón *et al.*, 2011). Un biomarcador es una medida funcional que puede utilizarse como señal de exposición o efecto y que es caracterizada con relación a un nivel organizacional por debajo de la totalidad del

organismo, como una respuesta fisiológica. Los biomarcadores específicos exhiben una relación con el agente tóxico (Sparling, 2016).

En *L. olivácea* del Pacífico Mexicano, la actividad de la enzima p-nitrofenil acetato esterasa ha resultado estar correlacionada negativamente con la concentración de metales como cadmio (Cd), plomo (Pb), titanio (Ti) y aluminio (Al); mientras que la concentración de cortisol está correlacionada con los niveles de estroncio (Sr), selenio (Se) y arsénico (As) (Cortés-Gómez et al. 2018). Los autores sugieren que tanto dicha enzima como el cortisol pueden utilizarse como biomarcadores de contaminación por elementos inorgánicos en tortugas marinas (Cortés-Gómez et al., 2018). García-Besné et al. (2014) reportaron que, en la península de Yucatán, no existen diferencias en las concentraciones de contaminantes organoclorados y bifenoles policlorados en sangre y en huevos entre *C. mydas* y *E. imbricata*, a pesar de que están en niveles tróficos diferentes (García-Besné et al., 2014). En el mismo estudio, para la tortuga blanca no se reportó una relación significativa entre el LCC y la concentración de los contaminantes (García-Besné et al., 2014). En muestras de plasma de la tortuga *C. caretta* colectadas en la playa Aventuras-DIF (DIF, Sistema Nacional para el Desarrollo Integral de la Familia) se reportó que, de 16 plaguicidas organoclorados (POC) cuantificados, los que estuvieron presentes en concentraciones más altas fueron el isómero de hexaclorohexano ( $\beta$ -HCH), el dicloro difenil tricloroetano (p,p'-DDT), heptaclorohexanos y heptacloros (González, 2015). En el mismo estudio, los parámetros de bioquímica sanguínea (glucosa, albumina, lactato deshidrogenasa, glóbulos rojos, heterófilos, linfocitos, eosinófilos, monocitos y basófilos) estuvieron correlacionados positivamente con los POC; aunque las concentraciones de los POC no muestran una relación de causa y efecto, podrían modular la respuesta fisiológica de las tortugas, incluso a bajas concentraciones (González, 2015).

En las playas Xel Ha, X'cacel, Chemuyil y Aventuras DIF de Quintana Roo, se determinó que las concentraciones de metales pesados en muestras de sangre y caparazón de tortugas blancas hembras anidadoras fueron bajas a no detectables y que varían entre tejidos (Talavera, 2010). El zinc (Zn), Cd y Pb se encontraron en concentraciones significativamente mayores en el caparazón que en sangre, y los niveles encontrados no representaron un riesgo para la salud de

la tortuga blanca en estas zonas (Talavera, 2010). En muestras de sangre de tortuga blanca procedentes de Akumal, Punta Herrero, Xcalak y Mahuahual, se reportó mayor concentración de contaminantes orgánicos persistentes (COPs) y menor concentración de Pb que lo reportado anteriormente en esa misma localidad en adultos (Sanjuan, 2020). En las tortugas blancas capturadas en sitios con mayor actividad turística (bahía de Akumal) se detectó una mayor fragmentación al ADN eritrocitario, aunque en Punta Herrero, uno de los sitios de forrajeo con menor afluencia turística, los análisis de agua mostraron mayor concentración de COPs, As y Pb. Los autores de dicho estudio sugieren que lo anterior puede deberse a que los contaminantes son transportados de sur a norte por corrientes marinas, o depositados por lluvias, la geología y actividades agropecuarias de la región (Sanjuan, 2020). Así mismo, entre las poblaciones de la tortuga blanca de Quintana Roo, se observa mayor número de anormalidades nucleares en eritrocitos de tortugas de Akumal en comparación con aquellas de zonas como Punta Arenas y Punta Herrero; ello puede ser reflejo del grado de perturbación ambiental entre zonas y sugiere un efecto de la presencia de contaminantes ambientales en esa región (Rodríguez, 2018).

#### **2.4.2 Acetilcolinesterasa (AChE)**

Los contaminantes químicos pueden causar toxicidad a nivel del sistema nervioso central (SNC), ejerciendo cambios en la actividad de enzimas que pueden producir cambios de comportamiento, neurofisiológicos, neuroquímicos y neuroanatómicos (Sachana y Hargreaves, 2007). La neurotoxicidad de xenobióticos ha sido estudiada en roedores y gallinas, especies en las que se ha analizado la neuropatía provocada por organofosforados (OPs), mediante protocolos que incluyen la cuantificación de la actividad de la enzima AChE (Sachana y Hargreaves, 2007). La determinación de la actividad de AChE como biomarcador de exposición a agentes tóxicos surge de su aplicación como herramienta de diagnóstico en casos de intoxicación por gases y plaguicidas (Huggett *et al.*, 1989). Este biomarcador fue empleado inicialmente en vertebrados menores, específicamente en el análisis de la exposición a contaminantes OPs y carbamatos (Weiss, 1958; Beam y Hankinson, 1964). Es posible mejorar la efectividad de la cuantificación de la actividad de AChE cuando se utiliza simultáneamente con otros biomarcadores, como los indicadores de estrés oxidativo, enzimas transaminasas u otro tipo de análisis que evidencie alteraciones o fallos fisiológicos (Sparling, 2016). Para tener un

efecto tóxico, los OPs (con un enlace azufre) deben ser activados antes en el hígado por acción del complejo enzimático citocromo P450 (Sachana y Hargreaves, 2007). La AChE es inhibida competitivamente por los OPs cuando éstos se unen de manera irreversible mediante fosforilación en su sitio activo y, eventualmente, puede presentarse un proceso de deterioro de la enzima ya que los grupos carbono unidos al fósforo son hidrolizados y reemplazados por hidrógeno, evitando que pueda recuperar su función (Sachana y Hargreaves, 2007). La AChE también puede ser inhibida por carbamatos, en una reacción reversible mediante la carbamitación de la enzima; los carbamatos pueden ser activados directamente después de la absorción, pero es poco probable que puedan atravesar la barrera hematoencefálica (Sachana y Hargreaves, 2007). El efecto de la inhibición de la enzima AChE conduce a la acumulación de acetilcolina, un neurotransmisor que estimula los receptores muscarínicos, nicotínicos y colinérgicos del SNC (Sachana y Hargreaves, 2007). El incremento de acetilcolina sobreestimula al músculo liso (contracciones y secreciones), al músculo esquelético (fasciculaciones, debilidad muscular y parálisis), y al sistema nervioso central (ataxia, convulsiones, coma y muerte neuronal masiva en algunas regiones del cerebro) (Sachana y Hargreaves, 2007). Existe una isoforma de colinesterasa, la butirilcolinesterasa (BChE), también conocida como pseudocolinesterasa, a la cual no se le conoce un sustrato específico, pero puede hidrolizar acetilcolina (Sachana y Hargreaves, 2007).

Existen otros tipos de inhibidores de la AChE en el sistema nervioso periférico (SNP), que no cruzan la barrera hematoencefálica, como la anatoxina-a que es producida por las cianobacterias *Anabaena* sp., *Aphanizomenon* sp., y *Oscillatoria* sp. (Sachana y Hargreaves, 2007). En condiciones de laboratorio, algunos metales (cobre (Cu), Pb, Cd, mercurio (Hg), cromo (Cr<sup>VI</sup>)), petróleo, fármacos (propranolol, acetaminofén), detergentes (dodecil bencil sulfonato, dodecil sulfato de sodio), contaminantes orgánicos (hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs), policlorobifenol (PCB)) y mezclas entre ellos, pueden en ciertas dosis, favorecer cambios en la actividad de AChE en algunas especies de invertebrados y peces (Amiard-triquet, Amiard y Rainbow, 2013).

En Campeche, al sureste del Golfo de México, Rivas-Hernández et al. (2018) caracterizaron la actividad de las colinesterasas AChE y BChE en plasma de hembras anidadoras de *C. mydas* y encontraron alta inhibición de tetraisopropil pirofosforamida (iso-OMPA), un inhibidor específico para BChE de uso experimental, por lo que sugieren que la BChE es predominante en plasma (Rivas-Hernández et al., 2018). En el análisis toxicológico, reportaron relaciones negativas entre los niveles de OC en huevos y la actividad de BChE en el plasma de la misma tortuga anidadora (Rivas-Hernández et al., 2018). En virtud de que los OC no son inhibidores de las colinesterasas y observando una relación inversa, dichos autores sugieren una relación antagonista entre OCs y OPs y resaltan que otros contaminantes, como los hidrocarburos de petróleo, podrían ejercer un efecto modulador de colinesterasas en hembras (Rivas-Hernández et al., 2018). Tremblay et al. (2016), en un estudio realizado en eritrocitos de tortuga carey que anida en Punta Xen (Campeche), México, encontraron correlaciones positivas entre la actividad AChE y peroxidación de lípidos con la actividad de GR y reportaron que las tortugas con altas concentraciones de HCH tuvieron alta actividad de CAT y baja actividad de AChE y baja actividad de GR.

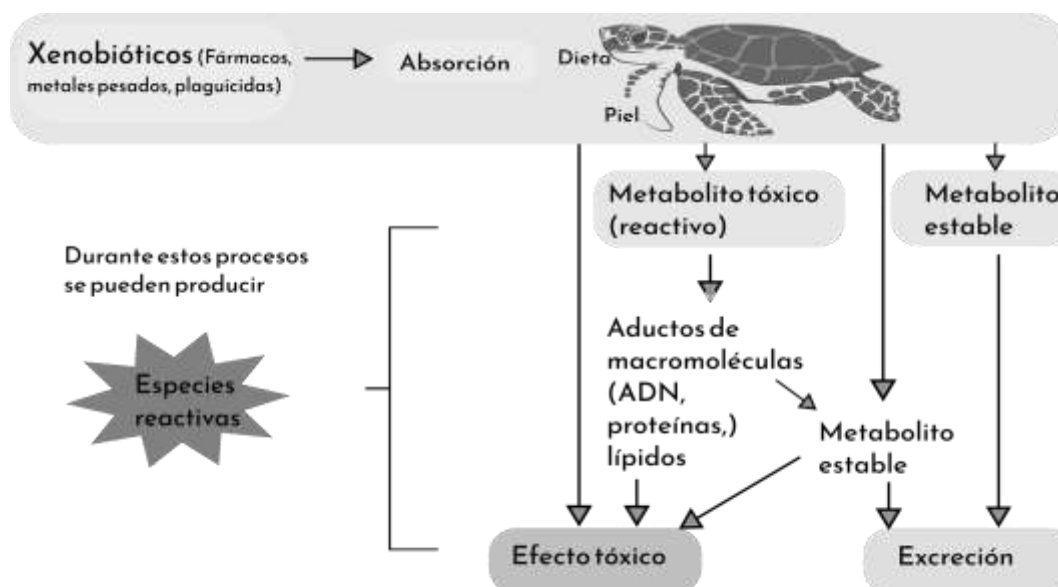
### 2.4.3 Estrés oxidativo

Los organismos marinos, como todas las formas de vida que están expuestas al oxígeno, pueden ser susceptibles a múltiples estresores que afectan su metabolismo oxidativo, como la dieta, la luz ultravioleta (UV), condiciones naturales y la contaminación ambiental (Huggett et al., 1989; Gómez-Oliván, 2019). Los contaminantes pueden inducir estrés oxidativo al actuar como donadores/aceptores de electrones o al incorporarse a reacciones que incluyen ciclos redox; alternativamente, pueden intervenir en las defensas antioxidantes, inactivándolas o agotando sus concentraciones (Furuhagen, 2015). El estrés oxidativo es producto de un desbalance entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y el sistema de defensas antioxidantes, en los organismos aeróbicos de tal manera que se observa daño oxidativo (Sies, 1997). Las ERO son compuestos altamente reactivos con vida media corta, derivados del oxígeno molecular; entre las ERO se incluyen radicales libres, tales como el radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), y también moléculas no radicales, como el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Halliwell y Gutteridge, 2015). Las defensas antioxidantes permiten a los organismos aeróbicos prevenir la formación excesiva de las



especies reactivas o contrarrestar sus efectos. Los antioxidantes pueden dividirse en enzimáticos y no enzimáticos, y pueden ser sintetizados por el propio organismo o bien ser obtenidos a partir de la dieta. Algunos ejemplos de antioxidantes enzimáticos son superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión S-transferasa (GST) y glutatión reductasa (GR) (Halliwell y Gutteridge, 2015). Como consecuencia del desbalance entre especies reactivas y antioxidantes puede haber daño oxidativo a células y tejidos que, eventualmente, podrían desencadenar patologías e incluso la muerte (Halliwell y Gutteridge, 2015). El daño oxidativo a lípidos se puede estudiar mediante la cuantificación de los niveles de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Halliwell y Gutteridge, 2015).

Los xenobióticos se definen como compuestos químicos que, al entrar en el cuerpo, tienen actividad biológica, no son reconocidos como propios y pueden llegar a tener un efecto tóxico; como por ejemplo, las drogas, los plaguicidas, metales pesados, los químicos carcinogénicos y algunos contaminantes ambientales (Murray *et al.*, 2003; Godheja *et al.*, 2016). Los xenobióticos se metabolizan para ser excretados o eliminados por el organismo; de manera general, este proceso se puede dividir en dos fases (Murray *et al.*, 2003). La fase I comprende la reacción de hidroxilación catalizada por las enzimas monooxigenasas o citocromo P450, en ocasiones involucra otro tipo de reacciones (*e.g.* deaminación) (Murray *et al.*, 2003). En la fase II, el objetivo es aumentar la solubilidad de las moléculas en agua para hacer más sencilla su excreción. Para ello, enzimas específicas actúan sobre los productos de la fase I, formando metabolitos polares a través de reacciones de metilación o por conjugación con ácido glucurónico, sulfato, acetato, glutatión o aminoácidos (Murray *et al.*, 2003). Con base en las rutas de toxificación y detoxificación propuestas por Van der Ost (2003), se muestran los posibles escenarios en la figura 3 para las tortugas marinas (Van der Oost, Beyer y Vermeulen, 2003).



**Figura 3.** Posibles rutas de detoxificación de compuestos xenobióticos en tortugas marinas. El efecto puede ser directo, pasar por una activación metabólica, formación de un metabolito estable y/o ser detoxificado. Modificado de (Van der Oost, Beyer y Vermeulen, 2003).

#### 2.4.3.1 Estrés oxidativo en tortugas marinas

Las mediciones de los indicadores de estrés oxidativo podrían ser herramientas efectivas para evaluar las condiciones de salud de las tortugas marinas (Valdivia *et al.*, 2007; Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Tremblay *et al.*, 2017). Los niveles de las ERO en los organismos varían en respuesta a varios factores naturales o antropogénicos, entre éstos, se pueden mencionar la hipoxia, temperatura, radiación UV y los contaminantes (Furuhagen, 2015).

En poblaciones anidadoras de la tortuga Carey *E. imbricata*, de Punta Xen en el sureste del Golfo de México, Tremblay *et al.* (2017) encontraron que la actividad de la enzima CAT estuvo correlacionada positivamente con la concentración de plaguicidas de la familia de los hexaclorohexanos y que la peroxidación de lípidos estuvo correlacionada con la actividad de GR, pero no se observó correlación entre el daño oxidativo a lípidos y la concentración de los contaminantes (Tremblay *et al.*, 2017). Los autores sugieren que la actividad de las enzimas antioxidantes contribuye a evitar el daño oxidativo en la tortuga Carey (Tremblay *et al.*, 2017). En la playa La Escobilla del Pacífico Oriental de México, la expresión génica de SOD, CAT y GR fue mayor en sangre que en hígado y riñón de *L. olivacea* y se encontraron relaciones entre las

concentraciones de As, Cd, Cu, níquel (Ni), Pb, selenio (Se) y Zn, y la actividad y expresión génica de metalotioneínas, SOD, CAT y GR (Cortés-Gómez *et al.*, 2017). Las correlaciones positivas entre elementos inorgánicos y la transcripción de SOD, CAT y GR en los tejidos sugieren que las tortugas podrían estarse adaptando a la producción de ERO y daño oxidativo causados por metales, dado el alto nivel de transcripción de dichos antioxidantes (Cortés-Gómez *et al.*, 2017). La actividad de las enzimas antioxidantes en los distintos tejidos de tortugas marinas puede estar influenciada por factores como la especie, la dieta, la descomposición de los órganos (en caso de tejidos de individuos varados) y distintos estresores externos, como los contaminantes (Cortés-Gómez *et al.*, 2017).

En el primer estudio ecotoxicológico en la tortuga *C. caretta* en el Mar Mediterráneo, Casini *et al.* (2018) observaron que con el incremento de la edad aumentan los niveles de peroxidación de lípidos (cuantificados como TBARS) en plasma, pero no encontraron diferencias significativas entre clases de edad. Dichos autores notaron que las tortugas más jóvenes presentaron mayores niveles de fragmentación del ADN, inhibición de BChE y gama glutamil transferasa (GGT), una enzima relacionada al daño renal y que, por el contrario, las de mayor edad presentaron anomalías nucleares en los eritrocitos, lo cual puede indicar estrés toxicológico a largo plazo (Casini *et al.* 2018). Los mismos autores también encontraron una correlación entre las concentraciones de contaminantes carcinogénicos (OCs y HAPs), metales pesados (Pb, Cd y Hg) y fragmentación de ADN en muestras de sangre, piel y caparazón (Casini *et al.*, 2018). En *L. kempfi* y *C. mydas* del estado de Florida, USA, se ha reportado un efecto inmunoestimulante por brevetoxinas (biotoxinas naturales), con correlaciones positivas entre las concentraciones de As, Pb y Cd y la actividad de la enzima SOD en muestras de plasma únicamente en *L. kempfi* (Perrault *et al.*, 2017).

En tortuga verde (*C. mydas*) del pacífico oriental, la producción de  $O_2^{\bullet-}$  fue menor en corazón y riñón que en hígado, músculo y pulmón, la actividad de SOD, fue mayor en hígado que en riñón, corazón, músculo y pulmón, y los niveles de TBARS fueron mayores en el hígado, en comparación con los demás tejidos; estas diferencias entre tejidos están asociadas a la función tisular específica (Valdivia *et al.*, 2007). En muestras de sangre de *C. mydas* provenientes de dos

localidades de Baja California Sur con características oceanográficas y de actividad antropogénica diferentes, se encontraron correlaciones positivas entre la actividad de las enzimas antioxidantes y las concentraciones de xenobióticos, se observaron diferencias en la actividad de las enzimas antioxidantes y los niveles de TBARS entre las localidades, y se reportaron diferencias significativas en la actividad de la enzima SOD entre individuos saludables y lesionados (Labrada-Martagón *et al.*, 2011). Los autores sugieren que la medición de la actividad de enzimas antioxidantes y los niveles de TBARS pueden emplearse como biomarcadores de exposición a contaminantes en tortuga verde (Labrada-Martagón *et al.*, 2011).

Los estudios de estrés oxidativo en tortugas marinas generalmente han involucrado muestras de tejido o sangre obtenidos *in situ*. Algunos estudios han evaluado el efecto de contaminantes en tortugas marinas mediante estudios *in vitro* (Finlayson, Leusch y van de Merwe, 2019). Los metales Cu, cobalto (Co), Cr y Hg, a bajas concentraciones, aumentan la producción de ERO y los niveles de daño oxidativo al ácido desoxirribonucleico (ADN) en células de piel de *C. mydas* (Finlayson, Leusch y van de Merwe, 2019). Los autores mencionan que muchas de las poblaciones de tortugas a lo largo del mundo están expuestas a Hg, Cr y Co, y sugieren que podrían estar amenazadas por los efectos de estos contaminantes (Finlayson, Leusch y van de Merwe, 2019).

### 3. JUSTIFICACIÓN

El impacto de los contaminantes de origen antropogénico, como los plaguicidas organofosforados y carbamatos, en los ecosistemas marinos es de relevancia para la salud de los organismos. La pesca incidental, la pérdida de hábitat, el incremento del desarrollo turístico y el crecimiento poblacional costero demandan herramientas para combatir el impacto que éstos generan, así como el monitoreo de los efectos perturbadores sobre las poblaciones de fauna marina. Las tortugas marinas son susceptibles durante cada etapa de su ciclo de vida a la exposición a contaminantes químicos en su hábitat (Gómez-Oliván, 2019). El estado de Quintana Roo es un área turística, pero también es una zona de forrajeo y desarrollo para la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) (Labrada-Martagón et al., 2017), una especie en peligro de extinción (UICN, 2020; NOM SEMARNAT, 2010). La tortuga blanca es una especie de alta relevancia ecológica, por su nivel trófico como reguladora de poblaciones de algas y pastos marinos, y económica, por los servicios ecosistémicos como el avistamiento turístico del que se benefician muchas familias en el caribe Mexicano (SEMARNAT, 2018). Es necesario conocer el efecto de la degradación del hábitat de forrajeo, regiones de crecimiento y desarrollo para las tortugas por periodos de incluso décadas, para poder enfocar los esfuerzos de conservación y proponer métodos que puedan contribuir a su preservación.

El propósito de la evaluación de los biomarcadores bioquímicos es identificar si un organismo, en condiciones naturales, ha estado expuesto a algún tipo de contaminante y conocer las respuestas de salud ante dicha exposición (Sparling, 2016). El efecto toxicológico de un compuesto específico en un organismo incluirá una respuesta bioquímica inmediata que podría ser observada antes de manifestarse a un nivel de organización biológica mayor y, por ende, antes de observar los efectos a nivel poblacional (Huggett *et al.*, 1989). Dado el creciente interés por evaluar los efectos tóxicos de los contaminantes en las tortugas marinas (Camacho, Luzardo y Orós, 2017), algunos investigadores han evaluado diversos biomarcadores; entre ellos, los biomarcadores neurotóxicos e indicadores de estrés oxidativo. El reto es encontrar biomarcadores que puedan reflejar la respuesta temprana de las especies a condiciones particulares en su ambiente natural. Por ello, con el presente estudio se busca poder confirmar el uso de la actividad de las enzimas AChE y CEs y los indicadores de estrés oxidativo como

biomarcadores de exposición a perturbación ambiental en la tortuga blanca como una especie centinela. Se espera ampliar la información acerca de los efectos que la perturbación ambiental genera en esta especie, para que los legisladores tengan más herramientas de análisis, ya que estas áreas en el Caribe Mexicano demandan ser protegidas (Ortiz *et al.*, 2020).

#### 4. HIPÓTESIS

Si la actividad de la AChE, CEs y los indicadores de daño oxidativo son biomarcadores sensibles de los efectos de las condiciones ambientales en la tortuga blanca (*Chelonia mydas*), entonces será posible determinar, a partir de muestras de sangre, que los individuos provenientes de sitios con menor perturbación ambiental presentarán una mayor actividad de AChE, CEs y menores niveles de los indicadores de daño oxidativo en comparación con tortugas de sitios con mayor grado de perturbación ambiental en Quintana Roo.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Cuantificar la actividad de la AChE, CEs y los niveles de los indicadores de estrés oxidativo en tortuga blanca (*Chelonia mydas*) que habita en tres sitios de forrajeo en la costa de Quintana Roo con distinto grado de perturbación ambiental.

### 5.2 Objetivos particulares

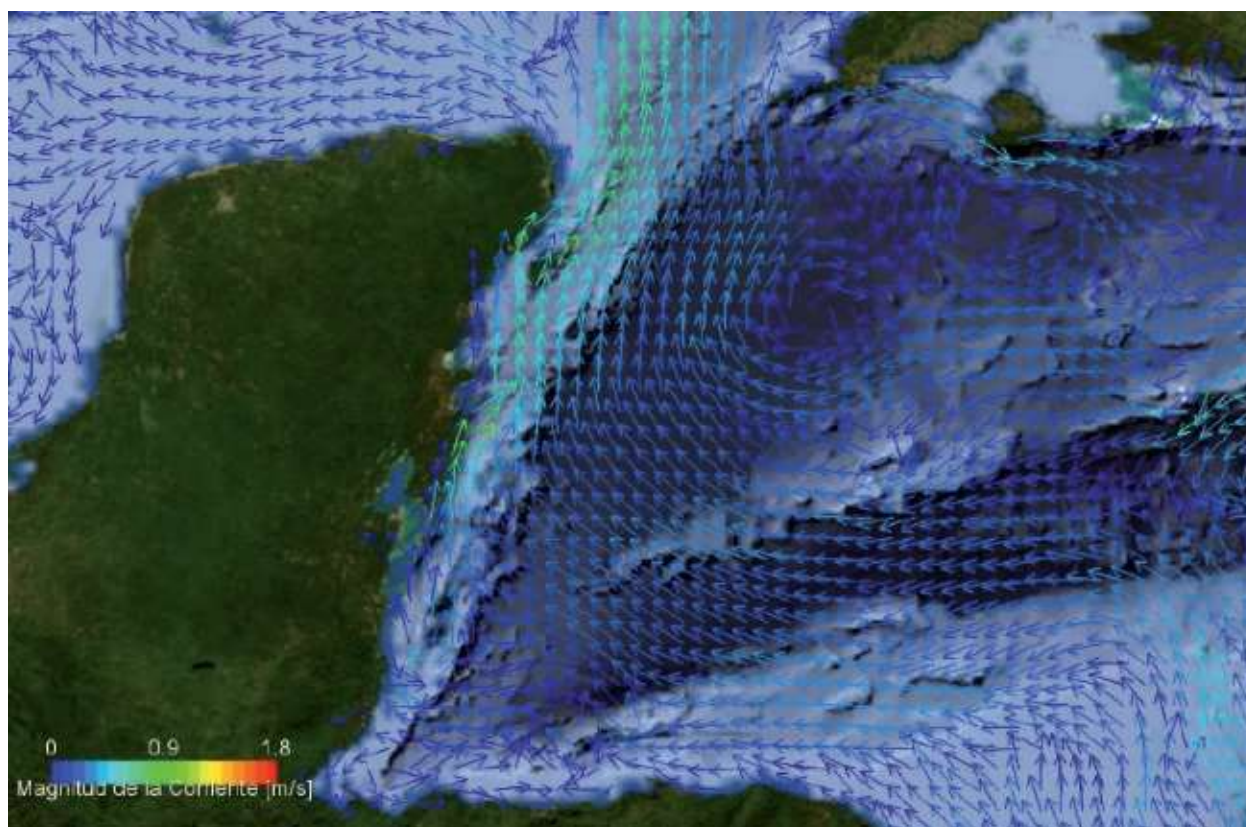
1. Cuantificar la actividad de la AChE y CEs en plasma de tortuga blanca (*C. mydas*) en tres áreas de forrajeo en la costa de Quintana Roo con distinto grado de perturbación ambiental.
2. Cuantificar la producción de radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), la actividad de las enzimas antioxidantes glutatión S-transferasa (GST), glutatión peroxidasa (GPx), glutatión reductasa (GR) y catalasa (CAT), y así como los niveles de peroxidación de lípidos (TBARS), como indicadores de daño oxidativo, en el contenido intraeritrocitario de tortuga blanca (*C. mydas*) en tres áreas de forrajeo en la costa de Quintana Roo con distinto grado de perturbación ambiental.
3. Analizar la relación entre la actividad de AChE, CEs y los indicadores de estrés oxidativo cuantificados en tortuga blanca (*C. mydas*) que habita en la costa de Quintana Roo.
4. Comparar la actividad de la AChE, CEs y los indicadores de estrés oxidativo cuantificados en tortuga blanca (*C. mydas*) entre las bahías costeras, Akumal, Punta Herrero y Xcalak, de Quintana Roo, con distinto grado de perturbación ambiental debido a la actividad antropogénica.



## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1 Área de Estudio

Este estudio se llevó a cabo en la región del mar Caribe, el cual se caracteriza por presentar una plataforma estrecha y escarpada, donde la circulación de las corrientes va, la mayor parte del tiempo, de sur a norte (Botello, Villanueva y Gutiérrez, 2019). Las características físicas de la región del Caribe son el resultado de una compleja geología. En particular, la plataforma del Caribe Mexicano y el talud del Caribe Mesoamericano, que forman parte de un complejo de zonas marinas, se formaron durante el periodo Terciario (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2016). La plataforma del Caribe Mexicano comprende aproximadamente entre 3 km (hasta Sian Ka'an) y 20 km (desde Cancún) de ancho, con una profundidad máxima de 500 m. El talud del Caribe Mesoamericano muestra una profundidad entre 0 y 400 m, hasta 1500 m en la zona más profunda (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, 2016). Los procesos oceánicos, como la circulación costera en el mar Caribe, están afectados por las corrientes que van de la región central del Caribe hacia el norte sobre la plataforma de Quintana Roo. Se dice que el mar Caribe es un sistema casi cerrado, ya que las masas de agua del Océano Atlántico que entran al Caribe son parcialmente detenidas por las Antillas. Con ello, surge la corriente del Caribe que se dirige hacia el noroeste y hacia el Golfo de México (Fig. 4) (Botello, Villanueva y Gutiérrez, 2019). La región del litoral mexicano en el Mar Caribe se caracteriza por la ausencia de descarga de agua de ríos, debido principalmente a la naturaleza cárstica del suelo (SEMARNAP-INE, 2000).



**Figura 4.** Patrón de corrientes en el mar Caribe (enero). Tomado de (Botello, Villanueva y Gutiérrez, 2019).

La costa del estado de Quintana Roo se extiende 700 km en el mar Caribe. Sus ecosistemas marinos son principalmente arrecifes coralinos que pertenecen al Sistema Arrecifal Mesoamericano (SAM). Sin embargo, los pastos marinos, manglares, praderas y arrecifes de coral son, en conjunto, los ecosistemas más importantes de la región. En las praderas de pastos de la región es muy abundante la hierba de tortuga (*Thalassia testudinum*) (componente principal de la dieta de la tortuga blanca), hierba de manatí (*Syringodium filiforme*) y el pasto de los bajos (*Halodule wrightii* Aschers) (Gutiérrez-Aguirre, De La Fuente-Betancourt y Cervantes-Martínez, 2000; Pozo, Canto y Calmé, 2011).

La zona de estudio incluyó tres localidades del estado de Quintana Roo, México. A saber, Bahía de Akumal, refugio para la protección de especies marinas, Punta Herrero localizado dentro de la Reserva de la Biósfera Sian Ka'an y el Parque Nacional de Arrecifes de Xcalak, que forman parte de la Reserva de la Biósfera Caribe Mexicano (Fig.5). El Refugio Marino Bahía de Akumal, que abarca desde Isla Contoy hasta Tulum, posee una superficie de 1653 hectáreas, y fue

declarada como Área de Refugio para la Protección de Especies Marinas en el 2016, con el propósito de proteger a especies como la tortuga blanca (*C. mydas*), la tortuga caguama (*C. caretta*) y la tortuga carey (*E. imbricata*), así como otras especies relevantes para la localidad (SEMARNAT, 2016b). En esta área se desarrolla una cobertura coralina extensa, con un relieve y pendientes suaves, y los jardines coralinos se encuentran principalmente sobre fondos duros (Pozo, Canto y Calmé, 2011). Akumal forma parte de los sitios turísticos más importantes para el estado de Quintana Roo, situándose cerca de los sitios con mayor afluencia turística como Cancún, Cozumel, Riviera Maya, Isla Mujeres y Chetumal (SEDETUR, 2020), donde se realizan actividades turísticas como nado con esnórquel y aletas (Herrera-Silveira *et al.*, 2010). Punta Herrero se encuentra dentro de la Reserva de la Biósfera Sian Ka'an, una región entre el litoral central del Estado, con arrecifes poco profundos y más desarrollados (SEMARNAT y CONANP, 2014). A lo largo de la línea costera de esta zona se puede encontrar un arrecife continuo con ciertas playas poco rocosas, canales y algunos sistemas de macizos (Pozo, Canto y Calmé, 2011). Punta Herrero cuenta con poco acceso terrestre, los vehículos que pueden ingresar son de alta potencia (SEMARNAT y CONANP, 2014). El Parque Nacional Arrecifes de Xcalak fue declarado el 27 de noviembre del 2000, abarcando una superficie de 17,949.456 hectáreas con 13,495 de zonas marinas. El parque posee arrecifes coralinos con una cobertura alta que se extienden por zona de macizos y canales (Pozo, Canto y Calmé, 2011). Este parque es parte del megaproyecto Costa Maya, que trata de incentivar el turismo en la zona sur de Quintana Roo, donde el turismo tenía acceso únicamente vía cruceros (FONATUR, 2005).



**Figura 5.** Área de estudio en el Estado de Quintana Roo, México. (Punta Herrero: longitud - 87.44936111 y latitud 19.46077778; Akumal: longitud -87.31361111 y latitud 20.39380556; y Xcalak: Longitud -87.82677778 y Latitud 18.306).

## 6.2 Captura de individuos y toma de muestras

Los individuos fueron capturados en el año 2019 de acuerdo con el protocolo del Programa de Conservación de Especies en Riesgo (PROCER) 2016 para cada sitio de muestreo, utilizando las licencias de colecta correspondientes (SGPA/DGVS/09454/14, SGPA/DGVS102149116). El método de captura depende de las condiciones de cada sitio, tales como profundidad, visibilidad y área de la bahía.

### 6.2.1 Refugio Marino Bahía de Akumal

En este sitio el muestreo se realizó desde un bote ubicado en la zona de pastizales, se utilizó la técnica de captura en apnea con equipo de esnórquel. La técnica de nado con esnórquel es de alta maniobrabilidad y con ella se logró la detección y captura manual de los animales que se

encuentran pastando. El nadador sujetó a los individuos por la parte craneal y caudal del caparazón y se buscó colocarla en posición vertical para subirla al bote, considerando que se mantuviera en la superficie para que pueda respirar (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017).

### **6.2.2 Punta Herrero y Parque Nacional de Arrecifes de Xcalak**

En estas localidades se utilizó la técnica de avistamiento, rodeo y persecución corta en bote, que consistió en identificar en la superficie a los ejemplares y seguirlos en la lancha hasta cansarlos para luego capturarlos manualmente. La captura manual se realizó con equipo de esnórquel y aletas, tomando al ejemplar por la parte craneal y caudal del caparazón, considerando que esté en una posición donde pueda respirar (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017).

### **6.2.3 Obtención de muestra sanguínea y datos morfológicos**

La toma de muestras de sangre se realizó inmediatamente después de subir los ejemplares al bote, en un tiempo no mayor a 5 minutos. La extracción de sangre se realizó de acuerdo a Owens y Ruiz (1980), haciendo una extracción directamente del seno venoso cervical de la tortuga utilizando una aguja de extracción, 21 G (39mm). La muestra se transfirió a tubos Vacutainer© con heparina de litio como anticoagulante. Los tubos fueron etiquetados con la información del individuo. Las muestras se almacenaron en hielo, durante el traslado, para luego ser procesadas. Posterior a la toma de la muestra sanguínea, se llevó a cabo el registro de datos siguiendo la técnica descrita por Bolten (2000), que incluye la medición del LCC, el ACC con cinta métrica flexible, identificación de rasgos sexuales externos, peso del ejemplar, lectura o aplicación de marca de acero monel (National Band and Tag Company, NBTC, Newport, Kentucky). Se consideró la talla de anidación promedio registrada en Quintana Roo (86 cm de LCC) como el criterio para definir el estado de reproducción (adulto o inmaduro) de cada individuo (Zurita, 1993; Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Los exámenes externos de salud se realizaron de acuerdo con el protocolo estandarizado para fibropapilomatosis. Los individuos recapturados se identificaron por una marca de metal previamente colocada como parte de las actividades de monitoreo del Grupo Tortuguero del Caribe, A. C. Las tortugas marinas que fueron capturadas por primera vez (sin marcas en sus aletas) fueron marcadas y consideradas

en la categoría de neófitos. Luego de la toma de datos, los individuos fueron liberados (Muñoz-Tenería *et al.*, 2017).

De cada una de las muestras se separaron 60  $\mu\text{L}$  de sangre en un criovial para cuantificar la concentración total de hemoglobina (Hb) en el laboratorio con el objetivo de estandarizar todos los resultados bioquímicos. Los tubos de sangre se centrifugaron a  $890 \times g$  por 15 min a  $4^\circ\text{C}$ , para separar el plasma y los glóbulos blancos de los eritrocitos. Una vez hecho esto, se separó el plasma el cual fue trasferido a crioviales debidamente etiquetados para la determinación de las enzimas esterasas en el laboratorio. Con el paquete celular restante, se realizó una lisis de las células rojas a través de choque osmótico y mecánico, siguiendo el método de Pippenger *et al.* (1998), con el objetivo de obtener el contenido intraeritrocitario para la determinación de todos los indicadores de estrés oxidativo. Brevemente, se lavaron los eritrocitos tres veces con solución salina fisiológica (NaCl 0.9%) y se centrifugaron a  $1500 \times g$  durante 10 min, desechando el sobrenadante. Finalmente, se agregó agua destilada en el último lavado para inducir un choque osmótico que produce la lisis celular. El material intracelular se colocó en tubos Eppendorf® de 1.5 mL, y fueron etiquetados con la clave de zona y el número del individuo muestreado. Inmediatamente, se congeló por inmersión en un tanque (cryoshipper) de nitrógeno líquido y todas las muestras fueron transportadas en congelación para su almacenamiento en un ultracongelador a  $-80^\circ\text{C}$  en el Laboratorio de Estrés Oxidativo del CIBNOR, hasta que fueron procesadas.

### **6.3 Procesamiento de muestras en el laboratorio**

De manera general, se utilizó 1 mL de material intraeritrocitario para la determinación analítica de la tasa de producción de  $\text{O}_2^{\bullet-}$ , actividad de las enzimas antioxidantes, y niveles de peroxidación de lípidos y de proteínas carboniladas. Las muestras fueron analizadas por triplicado y en todos los casos se cuantificó la concentración de hemoglobina (Hb) mediante un kit comercial (Cayman Chemical, Ann Arbor, Michigan) y un lector de microplaca (Multiskan FC, Thermo Scientific) a 570 nm. Dicha medición de hemoglobina se utilizó para estandarizar los resultados por concentración de proteína y facilitar así la comparación.

### 6.3.1 Tasa de producción del radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ )

La producción de  $O_2^{\bullet-}$  se analizó en base al método de Drossos et al. (1995), que consiste en la medición de la absorbancia durante la reducción de ferricitocromo C. Se utilizaron 10  $\mu$ L de material intracelular y se colocaron en 100  $\mu$ L de solución amortiguadora de Krebs. Se agregó citocromo C (15  $\mu$ M) a cada muestra y se incubó en un baño de agua a 37°C, agitando por 15 minutos. Luego, se agregó N-etilmaleimida (3 mM) para detener la reducción de citocromo C. Se centrifugó a 3000 rpm a 4°C por 10 minutos y el sobrenadante fue transferido a una celda para medir la absorbancia a 550 nm en un espectrofotómetro (Beckman Coulter Du 800 UV/Visible, Fullerton, CA). Para los blancos de cada muestra, se procedió a retirar el sobrenadante restante de los tubos y se agregó solución amortiguadora de Krebs, N-etilmaleimida y citocromo C. Se incubaron los tubos a 37°C y fueron centrifugados a 3000 rpm a 4°C por 10 minutos. La absorbancia del sobrenadante se midió a 550 nm. Los resultados fueron calculados en base al coeficiente de extinción  $E_{550}=21 \text{ nM cm}^{-1}$  y son expresados en las unidades de nmoles por minuto por miligramo de hemoglobina ( $\text{nmol min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ Hb}$ ).

### 6.3.2 Actividad enzimática

#### 6.3.2.1 Actividad de glutatión reductasa (GR) EC 1.8.1.7

La actividad catalítica de la GR se midió con base en la disminución de la absorbancia cuando se da la oxidación del NADPH (Goldberg y Spooner, 1983). Se mezcló 10  $\mu$ L de la muestra con una solución amortiguadora de fosfatos (500 mM), EDTA (50 mM), NADPH (2 mM, preparada en fresco), agua desionizada y GSSG (10 mM, preparada en fresco). Se realizó una lectura inicial a 340 nm y a cada minuto por 5 minutos utilizando un espectrofotómetro (Jenway 6505 UV/Vis); luego se calculó el cambio en la absorbancia por minuto. Durante este proceso, todas las soluciones y las muestras fueron mantenidas en hielo, a excepción de la solución amortiguadora de fosfatos. Los resultados se expresaron en unidades (U) de actividad enzimática por miligramo de hemoglobina ( $\text{U GR g}^{-1} \text{ Hb}$ ). Una U de GR se define como la cantidad de enzima que oxida de 1  $\mu$ mol de NADPH por minuto.

### **6.3.2.2 Actividad de catalasa (CAT) EC 1.11.1.6**

La actividad de la enzima CAT se examinó siguiendo la disminución de la concentración de  $\text{H}_2\text{O}_2$  a 240 nm (Aebi, 1984). Se mezcló, en una celda de cuarzo, 1.5 mL de la solución de trabajo (solución amortiguadora de fosfatos, 0.1 M),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (20 mM) y 10  $\mu\text{L}$  de la muestra. Los cambios en la absorbancia se registraron a 240 nm cada 15 segundos por 3 minutos en un espectrofotómetro (Jenway 6505 UV/Vis). Durante todo este proceso, las soluciones fueron mantenidas a 25°C y las muestras en hielo. Los resultados se expresaron en unidades de actividad enzimática por miligramo de hemoglobina (U CAT  $\text{g}^{-1}$  Hb). Una U de actividad de CAT se define como la cantidad de enzima que cataliza la reducción de un  $\mu\text{mol}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en 1 minuto de reacción.

### **6.3.2.3 Actividad de glutatión S-transferasa (GST) EC 1.11.1.9**

Para cuantificar la actividad de GST se siguió la aparición de tioéter glutatión dinitrobenceno que resulta de la reacción entre glutatión reducido (GSH) y 1-cloro-2,4-dinitrobenceno (CDNB) (Habig y Jakoby, 1981). Para ello, se mezcló la solución de trabajo (solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, GSH 10 mM y EDTA 60 nM), la solución de CDNB (5 nM) y 10  $\mu\text{L}$  de la muestra, en una celda. Luego, se registró la absorbancia a 340 nm cada minuto por 5 minutos, utilizando un espectrofotómetro (Jenway 6505 UV/Vis). Durante este proceso, todas las soluciones fueron mantenidas a 25°C y las muestras en hielo. Los resultados se expresaron en unidades de actividad enzimática por miligramo de hemoglobina (U GST  $\text{g}^{-1}$  Hb). Una U de actividad de GST se define como la cantidad de enzima que cataliza la conjugación de 1  $\mu\text{mol}$  de CDNB minuto a 25°C.

### **6.3.2.4 Actividad de glutatión peroxidasa (GPx) EC 1.11.1.9**

Dado que la enzima GPx se encarga de catalizar la reacción de  $\text{H}_2\text{O}_2$  con glutatión reducido (GSH), se utilizó esta reacción para cuantificar la actividad de la enzima. La actividad de GPx se cuantificó en base a la disminución de NADPH, al mantener los niveles de GSH constantes (Flohé y Günzler, 1984). Para ello, se mezcló la solución amortiguadora de fosfatos (500 mM), EDTA (50 mM), azida de sodio ( $\text{NaN}_3$ ) (20 mM), GR (15 U  $\text{mL}^{-1}$ ), NADPH (1.5 mM), y agua desionizada.



Luego, se realizó una lectura de absorbancia a 340 nm. Posteriormente, se agregó GSH (250 mM), una solución de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 mM) y 10 µL de la muestra. Se registró el cambio en la absorbancia a 340 nm cada minuto por 5 minutos, utilizando un espectrofotómetro (Jenway 6505 UV/Vis). Durante este proceso, todas las soluciones y las muestras fueron mantenidas en hielo, a excepción de la solución amortiguadora de fosfatos. Los resultados se expresaron en unidades de actividad enzimática por miligramo de hemoglobina (U GPx g<sup>-1</sup> Hb). Una U de GPx se define como la cantidad de enzima que cataliza la oxidación de 1 nmol de NADPH a NADP<sup>+</sup> por minuto a 25°C.

#### **6.3.2.5 Actividad de acetilcolinesterasa (AChE) EC 3.1.1.7**

La determinación de la actividad de AChE se realizó siguiendo el método colorimétrico de Ellman et al. (1961). La actividad de la enzima se cuantifica siguiendo el incremento de la producción de tiocolina cuando reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) (Ellman *et al.*, 1961). Para ello, se mezclaron 25 µL de plasma con DTNB 270 µM y se incubó por 2 min a 25°C. Luego se añadió 50 µL de acetilcolina (4.5 mM). Se llevó a una microplaca para registrar el cambio en la absorbancia a 405 nm en espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800 UV/Visible, Fullerton, CA), durante 5 minutos. Los resultados se expresaron en unidades de actividad enzimática por miligramo de hemoglobina (U mg<sup>-1</sup> Hb). Una U de AChE se define como la cantidad de enzima que oxida de 1 µmol de DNTB por minuto.

#### **6.3.2.6 Actividad de carboxilesterasas (CEs) EC 3.1.1.1**

La actividad de las carboxilesterasas se midió utilizando los sustratos p-nitrofenil butirato (pNPB) y p-nitrofenil acetato (pNPA) mediante un método colorimétrico; pNPB y pNPA al ser hidrolizados liberan un color que es detectado espectrofotométricamente a 405 nm. Se prepararon soluciones buffer de fosfatos 50 mM y solución stock de sustrato (pNPB o pNPA, 100 mM), con las cuales posteriormente se preparó la solución de reacción. Se mezclaron 25 µL de plasma y 200 µL de la solución de reacción (concentración final de sustrato 1 mM). Se registró el cambio en la absorbancia en espectrofotómetro a 405 nm durante 3 min. Los resultados se expresaron en nmol min<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>.

### 6.3.3 Peroxidación de lípidos

Se midió la concentración de especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) como indicador de peroxidación de lípidos, mediante la reacción de los hidroperóxidos y aldehídos lipídicos presentes en la muestra con ácido tiobarbitúrico (TBA) que forma un pigmento rosado, el cual puede observarse a 530-535 nm (Persky *et al.*, 2000). Se realizó una curva estándar con una solución de 1,1,3,3 tetraetoxipropano (TEP) en un rango de concentración de 0 a 20 nmoles mL<sup>-1</sup>. Las muestras y la curva estándar fueron incubadas en un baño de agua a 37°C, con agitación constante por 15 minutos. Se agregó una solución de ácido tricloroacético (TCA) para detener la reacción. Posteriormente, se agregó TBA al 1% y los tubos se incubaron a 90°C por 10 minutos en un baño de agua, con agitación constante. Luego, se colocaron en un baño de hielo por 5 minutos y se centrifugaron por 10 minutos (2124 x g) a 4°C. El sobrenadante se recuperó y se registró la absorbancia a 530 nm en un espectrofotómetro (Beckman Coulter DU 800 UV/Visible, Fullerton, CA). Los resultados se expresaron en las unidades de nanomoles por miligramo de hemoglobina (nmol mg<sup>-1</sup> Hb).

### 6.4 Clasificación de datos

Se estimó la captura por unidad de esfuerzo (CPUE) para cada sitio de estudio con el objetivo de establecer una relación entre el número de individuos capturados por horas de muestreo (Thompson, White y Gowan, 1998). Mediante histogramas de frecuencia se determinó la estructura poblacional de la tortuga blanca, agrupando la frecuencia de individuos en clases de tallas por zona de estudio (Labrada-Martagón *et al.*, 2017). Adicionalmente, se obtuvo la frecuencia de tortugas inmaduras y adultas, clasificando a las tortugas marinas de acuerdo a la talla promedio de anidación en Quintana Roo, en donde se consideró como juvenil inmaduro a las tortugas blancas con una talla < 86cm LCC y como adulta aquellas con talla ≥86 cm LCC, que corresponde a la talla de anidación de hembras reportada para esta localidad (Zurita, 2015).

#### 6.4.1 Estimación del índice de condición corporal (ICC)

Previo a estimar la condición corporal, se transformó la medida de LCC de todos los individuos capturados a LRC siguiendo la ecuación de la ecuación de Goshe et al. (2010):

$$LRC = 0.9426 \times (LCC) - 0.0515 \quad (1)$$

Se calculó el ICC de las tortugas de acuerdo a Fulton (Ricker, 1975), que es igual al peso entre el largo recto, y multiplicado por 10,000 (Bjorndal, Bolten y Chaloupka, 2000):

$$ICC = \left[ \frac{PESO(kg)}{LRC(cm)^3} \right] \times 10000 \quad (2)$$

Donde las unidades del peso están dadas en kilogramos y el largo en centímetros. Se siguió la clasificación del estado de salud a partir del ICC de acuerdo a Flint et al. (2009), en donde se considera como condición muy buena, a los individuos con un ICC > 1.2; buena condición, animales con un ICC entre 1.11 – 1.20; condición promedio, 1.0 – 1.10 de ICC; y condición pobre aquellos que presentan un ICC <1.0 (Bjorndal, Bolten y Chaloupka, 2000; Flint *et al.*, 2009).

#### 6.4.2 Análisis estadísticos

Se evaluó la normalidad de todas las variables de estudio mediante la prueba de Shapiro-Wilk (W) (Daniel y Cross, 2013). Todos los análisis estadísticos posteriores se realizaron de acuerdo con el cumplimiento de los supuestos estadísticos. Las variables que siguieron una distribución normal fueron el LCC ( $p = 0.09$ ), ACC ( $p = 0.44$ ) y peso ( $p = 0.07$ ) de las tortugas blancas. Previo a los análisis estadísticos, se evaluó la presencia de datos extremos por medio de la prueba de Grubbs por medio del paquete “Outliers” de R Project (R Team, 2022). Con base en los resultados de dicho análisis se detectó a un individuo de Akumal con valores extremos ( $p \leq 0.05$ ) en las variables  $O_2^*$ , TBARS, GR, GST y AChE. Debido a lo anterior, los datos de ese organismo se dejaron fuera de las comparaciones estadísticas y estadísticos multivariados. Cabe señalar que

el organismo fue reportado como varado en los meses posteriores a la captura del presente estudio (Biol. Gisela Maldonado, Miembros del Grupo Tortuguero del Caribe, A.C.).

Para evaluar diferencias en las variables de estudio entre zonas de estudio se aplicaron análisis de varianza ANOVA, como prueba paramétrica, o de Kruskal Wallis como prueba no paramétrica, según correspondía (Daniel y Cross, 2013). Cuando se encontraron diferencias significativas se realizaron pruebas de comparaciones múltiples *a posteriori* (Daniel y Cross, 2013). Los resultados se presentan como promedio  $\pm$  desviación estándar, a menos que se indique lo contrario.

Se realizaron análisis de correlación de Pearson o  $r$  de Spearman, según fuera el caso, para determinar el grado de asociación entre los biomarcadores medidos en sangre de tortuga blanca, tales como, actividad de la AChE, CEs y los indicadores de estrés oxidativo, con las variables morfológicas de los organismos LCC, LRC, peso e ICC.

Se utilizó un análisis de componentes principales (PCA, por sus siglas en inglés) para explorar la existencia de patrones o agrupamiento de individuos e identificar a las variables que aportan mayor variabilidad e información al conjunto de datos (Tabachnick y Fidell, 2013). En dicho análisis se incluyeron todas las variables de indicadores bioquímicos y la condición corporal. Se consideró como significancia una carga factorial (“factor loading”)  $>0.70$  (Palacio, Apodaca y Crisci, 2020). Se utilizó el método estándar sin rotación. Posteriormente, se usó un análisis discriminante (AD) como prueba de validación de los grupos creados *a priori*; en este caso, las zonas de captura (Akumal, Punta Herrero y Xcalak) que presentan condiciones del hábitat particulares (Miller y Miller, 2010). Se consideró significativo el análisis de acuerdo con el estadístico de Lambda de Wilks.

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando los programas Microsoft Excel, Past 4.03 (2020), R Project (2020) y Statistica 7. La significancia estadística para todos los análisis se consideró con un  $\alpha \leq 0.05$ .

## **7. RESULTADOS**

### **7.1 Estructura poblacional e índice de condición corporal**

Se capturaron un total de 34 tortugas blancas en las costas de Quintana Roo durante en el año 2019; de las cuales 7 individuos corresponden a Akumal, 14 individuos a Punta Herrero y 13 individuos a Xcalak. La captura por unidad de esfuerzo (CPUE) estimada para cada zona de estudio fue como sigue, Xcalak, 1.98; Punta Herrero, 3.25; y Akumal, 3.5.

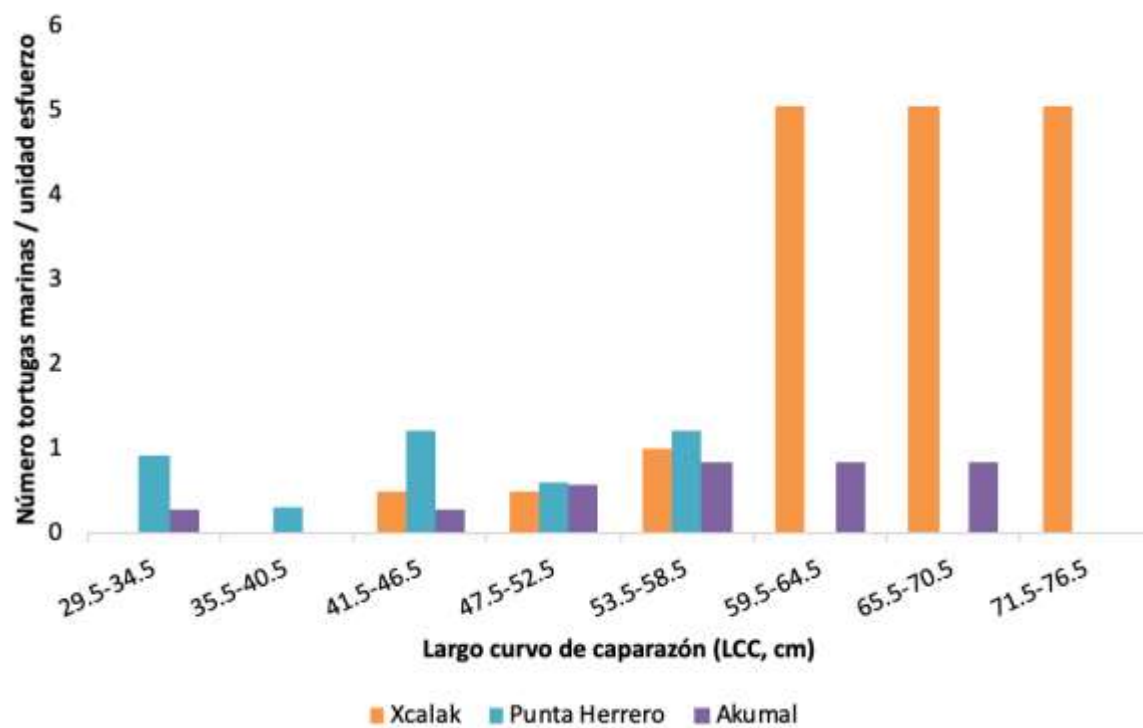
El rango de LCC de las tortugas capturadas en este estudio fue de 29.5 a 71.8 cm. Con base en la talla de referencia (juveniles < 86 cm LCC) y con base en las tallas registradas, todos los individuos muestreados en el presente estudio eran inmaduros. Los valores mínimos y máximos de variables morfológicas, por localidad, se muestran en la Tabla 1. En la figura 6 se presenta la frecuencia de organismos por rangos de tallas y en la figura 7 la comparación de la talla y peso de las tortugas marinas entre las tres localidades.

**Tabla 1.** Datos biométricos de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas durante el año 2019 en las localidades de estudio en las costas de Quintana Roo.

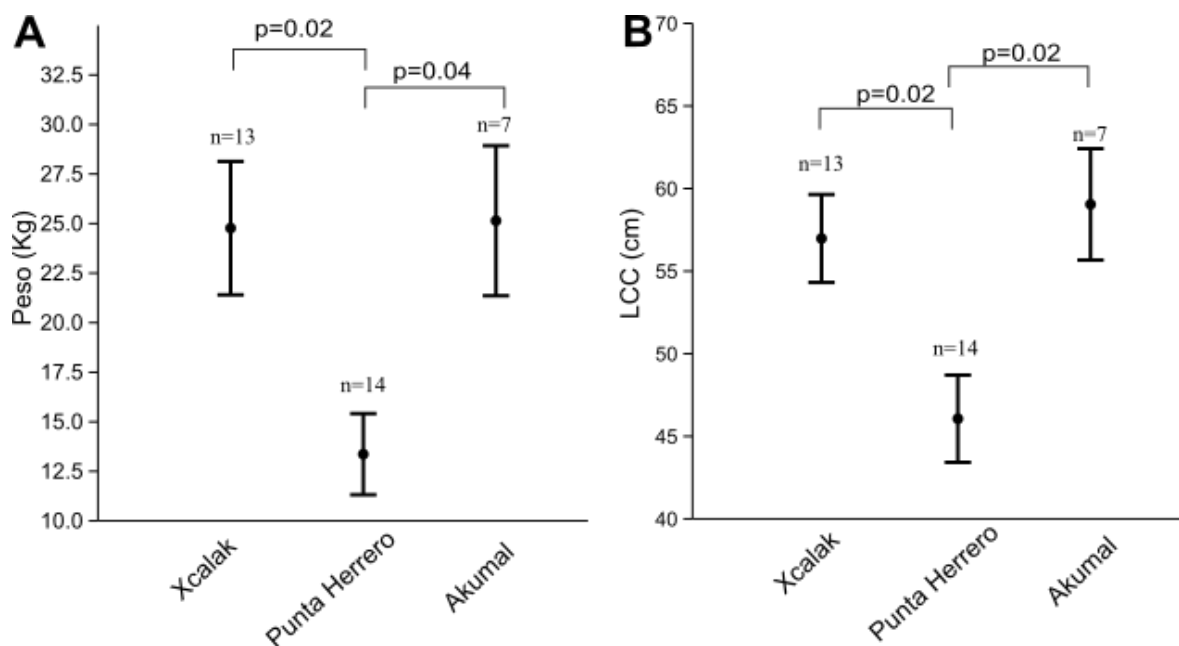
		<b>Akumal</b>	<b>Punta Herrero</b>	<b>Xcalak</b>
<b>n</b>		7	14	13
<b>LCC (cm)</b>	Media	59.0	46.1	57.0
	DS	8.9	9.9	9.6
	Rango (min – max)	47.2 – 71.8	29.5 – 57.9	33.5 – 66.2
	Mediana	58.8	47.1	58.0
	Percentil 25	49.4	37.1	51.3
	Percentil 75	66.6	54.8	65.1
<b>AAC (cm)</b>	Media	51.0	43.9	50.7
	DS	7.1	14.9	9.0
	Rango (min – max)	42.9 – 61.4	25.6 -73.9	29 – 62
	Mediana	48.8	41.2	50.7
	Percentil 25	43.1	33.0	44
	Percentil 75	56.6	48.5	58.2
<b>Peso (kg)</b>	Media	25.1	13.4	24.8
	DS	10.0	7.7	12.1
	Rango (min – max)	11.5 – 40	3.5 – 26	4 – 41
	Mediana	26.0	12.0	22.0
	Percentil 25	14.5	6.9	14.0
	Percentil 75	32.0	19.3	36.8
<b>ICC</b>	Media	1.45	1.46	1.40
	DS	0.20	0.13	0.10
<b>CPUE</b>		3.5	3.25	1.98

LCC = largo curvo del caparazón; ACC = ancho curvo del caparazón; DS = desviación estándar; ICC = índice de condición corporal; CPUE = captura por unidad de esfuerzo.

Se encontraron diferencias significativas en las variables peso ( $F_{(2,31)}=6.16$ ,  $p=0.01$ ) y LCC ( $F_{(2,31)}=5.43$ ,  $p=0.01$ ) entre los sitios de muestreo. Las tortugas muestreadas en Punta Herrero tuvieron menor peso que aquellas muestreadas en Akumal ( $p=0.04$ ) y en Xcalak ( $p=0.02$ ) (Fig. 7a). Asimismo, las tortugas muestreadas en Punta Herrero fueron más pequeñas en LCC que aquellas capturadas en Akumal ( $p=0.02$ ) y Xcalak ( $p=0.02$ ) (Fig. 7b).



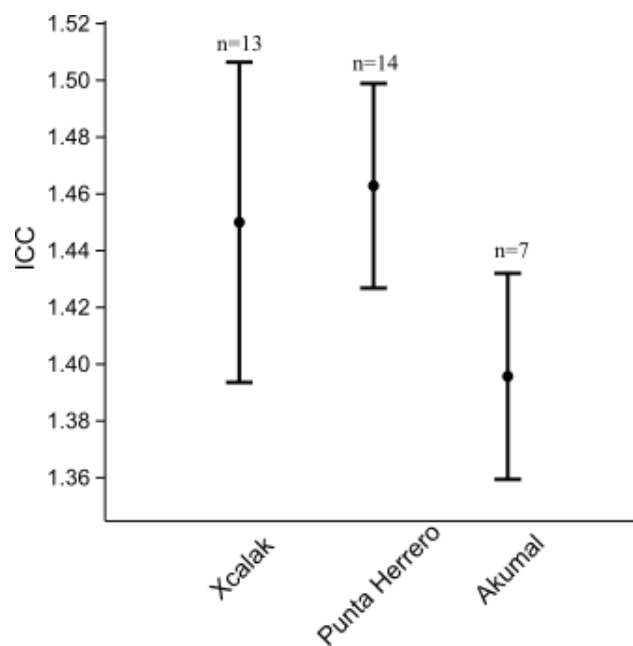
**Figura 6.** Frecuencia de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) agrupadas por intervalos de talla (LCC) capturadas en el año 2019 en las costas de Quintana Roo según localidades de estudio.



**Figura 7.** (A) Peso y (B) talla (largo curvo del caparazón, LCC) de las tortugas blancas blanca (*Chelonia mydas*) capturadas en la costa de Quintana Roo durante el 2019, agrupadas por localidad. Los datos se presentan como media (punto) y error estándar (barras). Se denotan diferencias significativas entre zonas (ANOVA, prueba de Tukey pareada,  $\alpha=0.05$ ).

No se encontraron diferencias significativas en el ICC de las tortugas blancas entre las tres localidades ( $F_{(2,31)}=0.428$ ,  $p > 0.05$ ) (Fig. 8). En la clasificación empleada y de acuerdo con el valor del ICC todas las tortugas blancas muestreadas presentaron una condición de salud muy buena (ICC entre 1.11 – 1.20), a excepción de un solo individuo capturado en Xcalak que se clasificó con salud pobre (ICC=0.9).





**Figura 8.** Índice de condición corporal (ICC) de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) de las costas de Quintana Roo (2019) agrupadas por localidades de estudio. Los datos se presentan como media (punto) y error estándar (barras).

## 7.2 Indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y de carboxilesterasas

Se analizaron 34 muestras de sangre para los indicadores de estrés oxidativo y 32 muestras de plasma para la actividad de acetilcolinesterasa y carboxilesterasas. El resumen de la actividad, reportada en media y desviación estándar, de acetilcolinesterasa, carboxilesterasas y enzimas antioxidantes, así como el nivel de los indicadores de daño oxidativo, cuantificados en muestras de sangre de la tortuga blanca para el año 2019 se muestran en la Tabla 2 y agrupadas por zonas en la Tabla 3.

**Tabla 2.** Indicadores de estrés oxidativo, acetilcolinesterasa y carboxilesterasas medidos en sangre de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en Quintana Roo en el año 2019.

Indicador	Media	Desviación estándar	Min-Max	n
$O_2^{\bullet-}$ (nmol min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> Hb)	0.08	0.04	0.00-0.21	34
TBARS (nmol mg <sup>-1</sup> Hb)	0.02	0.02	0.00-0.08	34
GR (U g <sup>-1</sup> Hb)	5345.24	6077.47	38.34-33269.58	34
CAT (U g <sup>-1</sup> Hb)	357.93	340.71	33.88-1410.35	34
GST (U g <sup>-1</sup> Hb)	5445.24	4011.53	474.35-185138.1	34
GPx (U g <sup>-1</sup> Hb)	1342.48	787.05	450.72-3127.65	34
AChE (U mg <sup>-1</sup> Hb) *	4.00	2.52	1.40-12.12	32
pNPB-CE (nmol min <sup>-1</sup> mL <sup>-1</sup> ) *	192.17	118.35	64.46-688.81	32
pNPA-CE (nmol min <sup>-1</sup> mL <sup>-1</sup> ) *	182.28	69.49	90.29-429.28	32

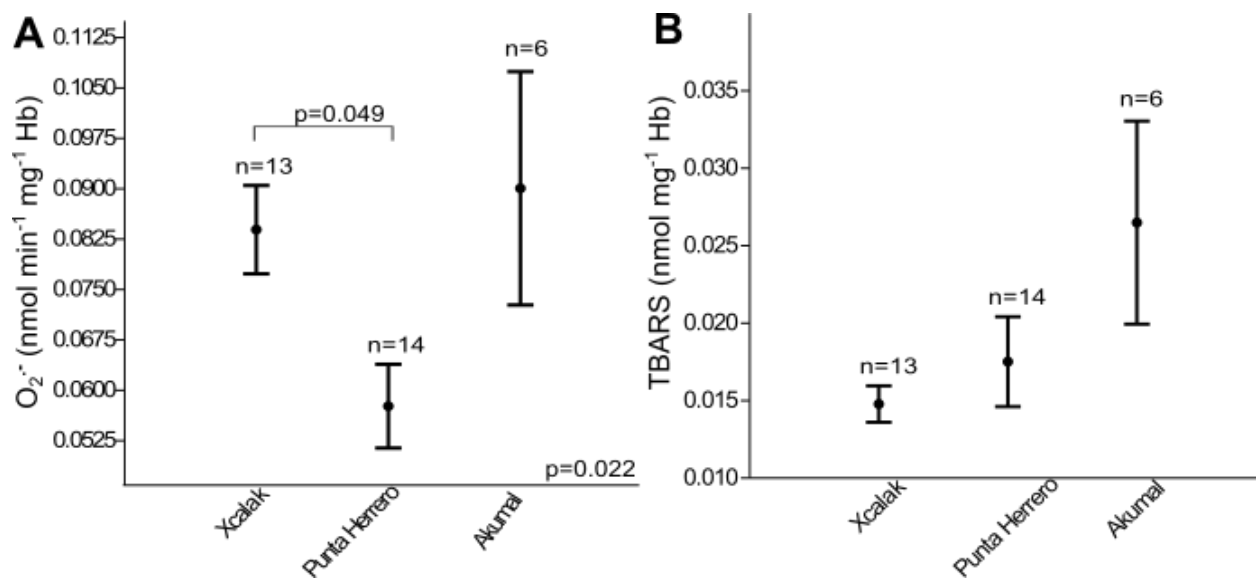
$O_2^{\bullet-}$ , tasa de producción de radical superóxido; TBARS, peroxidación de lípidos; GR, actividad de glutatión reductasa; CAT, actividad de catalasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; AChE, actividad de acetilcolinesterasa; pNPB-CE, actividad de carboxilesterasa p-nitrofenil butirato; pNPA-CE, actividad de carboxilesterasa p-nitrofenil acetato; Min-Max, valores mínimos y máximos; n, tamaño de la muestra. \*cuantificado en plasma

Los biomarcadores que mostraron diferencias significativas entre zonas de estudio fueron la producción de  $O_2^{\bullet-}$  (F=4.31, p=0.02), la actividad de GST (F=13.69, p<0.001) y la actividad de GPx (F=6.24, p=0.005) (Figs. 9a, 10c y 10d, respectivamente). La tasa de producción de  $O_2^{\bullet-}$ , la actividad de GPx y la actividad de GST fueron mayores en las tortugas muestreadas en Xcalak que en aquellas muestreadas en Punta Herrero (p=0.049, p=0.005, p<0.001, respectivamente). La actividad de GST fue mayor en las tortugas muestreadas en Akumal que en aquellas muestreadas en Punta Herrero (p<0.001). No se encontraron diferencias significativas entre las zonas de estudio en los niveles de TBARS, la actividad de AChE, CAT, GR y CEs (Figs. 9, 10 y 11).

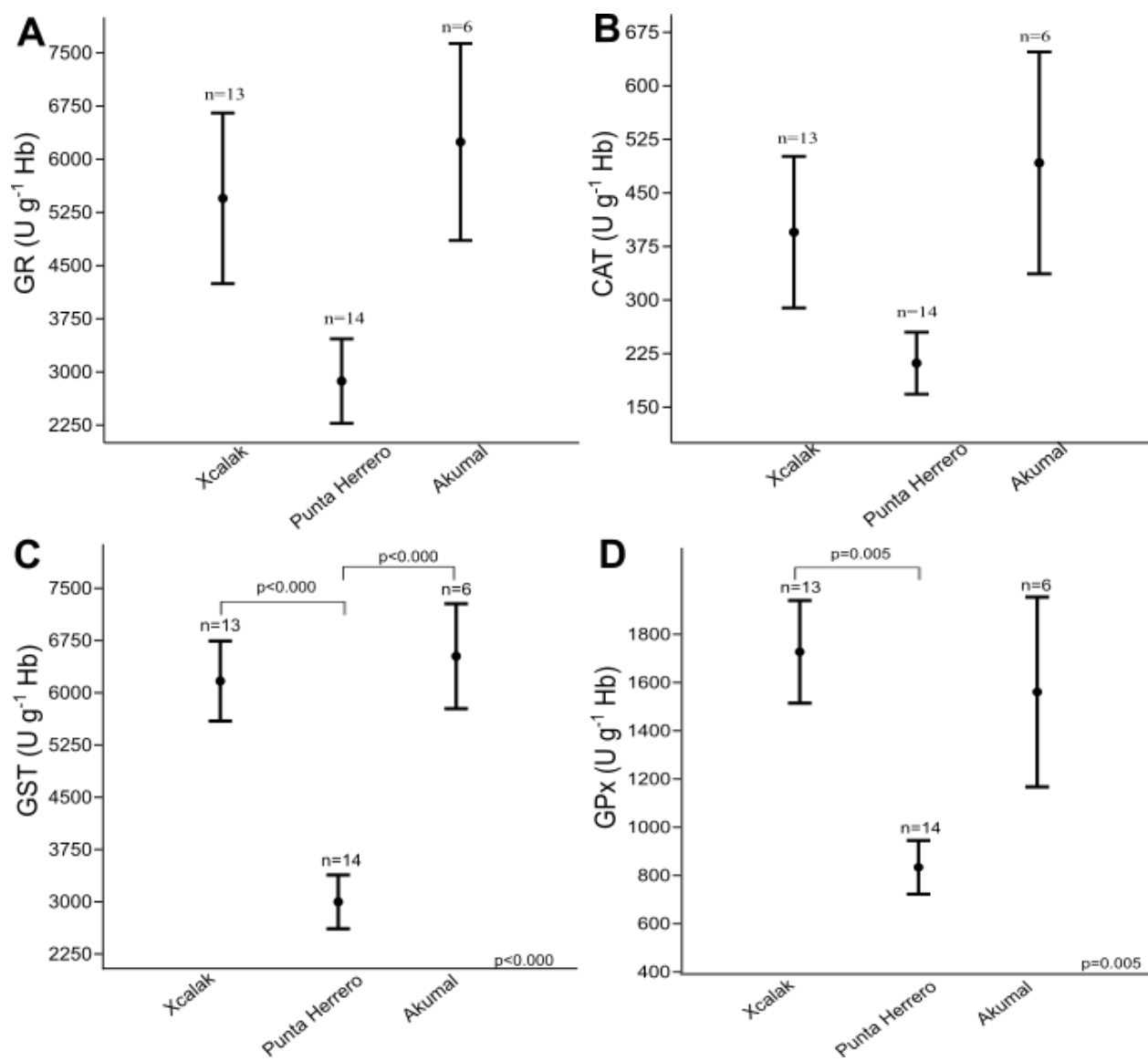
**Tabla 3.** Indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y carboxilesterasas de las tortugas blancas (*Chelonia mydas*) agrupadas por localidades de estudio en Quintana Roo para el año 2019.

	Xcalak	Punta Herrero	Akumal
<b>O<sub>2</sub><sup>·-</sup> (nmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.08 ± 0.02	0.06 ± 0.02	0.11 ± 0.06
*	(13)	(14)	(7)
<b>TBARS (nmol mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.03
	(13)	(14)	(7)
<b>GR (U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	5448.3 ± 4338.8	2870.2 ± 2229.2	10103.9 ± 10676.7
	(13)	(14)	(7)
<b>CAT (U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	395.07 ± 382.56	211.54 ± 162.44	581.77 ± 420.87
	(13)	(14)	(7)
<b>GST (U g<sup>-1</sup> Hb) *</b>	6168.5 ± 2072.3	2998.4 ± 1445.2	8995.7 ± 6751.6
	(13)	(14)	(7)
<b>GPx (U g<sup>-1</sup> Hb) *</b>	1727.4 ± 767.27	833.89 ± 415.83	1644.7 ± 907.60
	(13)	(14)	(7)
<b>AChE (U mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	3.83 ± 1.64	3.94 ± 2.70	4.41 ± 3.69
	(13)	(12)	(7)
<b>pNPB-CE (nmol min<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>)</b>	198.67 ± 154.92	206.13 ± 101.63	156.19 ± 58.63
	(13)	(12)	(7)
<b>pNPA-CE (nmol min<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>)</b>	181.11 ± 80.22	189.36 ± 68.69	172.30 ± 56.66
	(13)	(12)	(7)

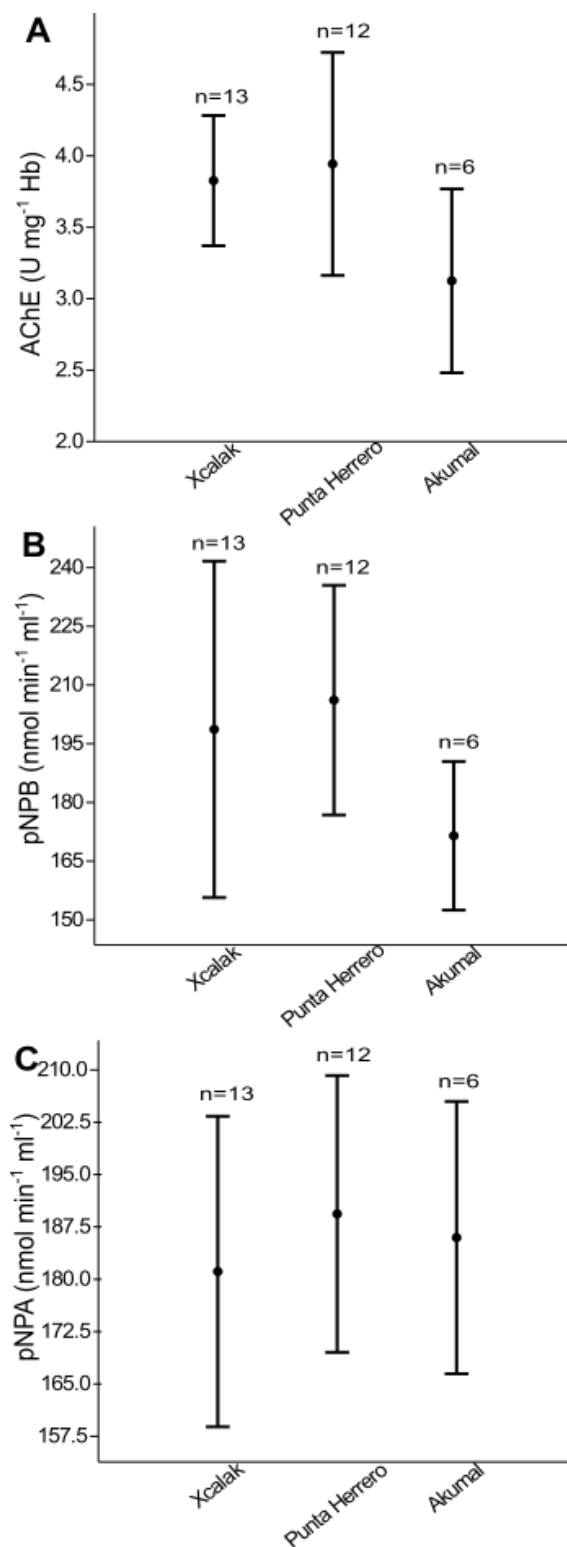
O<sub>2</sub><sup>·-</sup>, tasa de producción de radical superóxido; TBARS, peroxidación de lípidos; GR, actividad de glutatión reductasa; CAT, actividad de catalasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; AChE, actividad de acetilcolinesterasa; pNPB-CE, carboxilesterasa p-nitrofenil butirato; pNPA-CE, carboxilesterasa p-nitrofenil acetato; n, tamaño de la muestra. Los datos se presentan como media ± desviación estándar (n). \*Denota diferencias significativas entre localidades.



**Figura 9.** (A) Tasa de producción de radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ), (B) niveles de peroxidación de lípidos (TBARS) en sangre de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en el año 2019 en las costas de Quintana Roo por zonas de estudio. Los datos se presentan como media (punto) y error estándar (barras). Se denotan diferencias significativas entre zonas (ANOVA, prueba de Tukey pareada,  $\alpha=0.05$ ).



**Figura 10.** (A) Actividad de glutatión reductasa, (GR), (B) actividad de catalasa (CAT), (C) actividad de glutatión S-transferasa (GST), y (D) actividad de glutatión peroxidasa (GPx) en sangre de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en el año 2019 en las costas de Quintana Roo por zonas de estudio. Los datos se presentan como media (punto) y error estándar (barras). Se denotan diferencias significativas entre zonas (ANOVA, prueba de Tukey pareada,  $\alpha=0.05$ ).



**Figura 11.** (A) Actividad de acetilcolinesterasa (AChE), (B) actividad de carboxilesterasa con sustrato p-nitrofenil butirato (pNPB), y (C) actividad de carboxilesterasa con sustrato p-nitrofenil acetato (pNPA) en sangre de tortugas blancas (*Chelonia mydas*) capturadas en el año 2019 en las costas de Quintana Roo por zonas de estudio. Los datos se presentan como media (punto) y error (barras) estándar.

### 7.2.1 Análisis de correlación

Se hizo un análisis de correlación entre las variables morfológicas (LCC, ACC y peso), ICC, los indicadores de estrés oxidativo ( $O_2^{\cdot-}$ , TBARS, GR, CAT, GST, GPX), las actividades de acetilcolinesterasa y carboxilesterasas (pNPB, pNPA) (Tabla 4). Se encontraron correlaciones positivas significativas entre la actividad de GST y peso ( $r=0.39$ ,  $p<0.001$ ) y LCC ( $r=0.44$ ,  $p=0.01$ ); entre la actividad de GPx y LCC ( $r=0.56$ ,  $p<0.001$ ), ACC ( $r=0.46$ ,  $p=0.01$ ) y peso ( $r=0.58$ ,  $p<0.001$ ). Asimismo, se encontró una correlación negativa significativa entre la actividad de CAT y el ICC ( $r=-0.39$ ,  $p=0.03$ ), y la actividad de pNPB y ACC ( $r=-0.42$ ,  $p=0.02$ ). Se encontró una correlación positiva significativa entre la producción de  $O_2^{\cdot-}$  y los niveles de TBARS, la actividad de GR, CAT, GST, GPx y entre la actividad de CAT y los niveles de TBARS; entre la actividad de GPx y la actividad de GST; y entre la actividad de AChE, actividad de pNPB-CE y actividad de pNPA-CE.

**Tabla 4.** Matriz de coeficientes de correlación de Pearson (abajo) y significancia (arriba) para la talla y los biomarcadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y actividad de carboxilesterasas medidos en sangre de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) en Quintana Roo en el 2019.  $n = 31$ .

	LCC*	ACC*	Peso *	ICC	$O_2^{\cdot-}$	TBARS	GR	CAT	GST	GPx	AChE	pNPB	pNPA
LCC*		<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	0.27	0.69	0.42	0.66	0.31	<b>0.01</b>	<b>0.00</b>	0.28	0.08	0.33
ACC*	<b>0.93</b>		<b>0.00</b>	0.20	0.94	0.30	0.36	0.46	0.07	<b>0.01</b>	0.09	<b>0.02</b>	0.12
Peso*	<b>0.98</b>	<b>0.93</b>		0.08	0.93	0.50	0.46	0.54	<b>0.03</b>	<b>0.00</b>	0.17	0.07	0.26
ICC	0.21	0.24	0.32		0.25	0.73	0.19	<b>0.03</b>	0.62	0.21	0.63	0.76	0.42
$O_2^{\cdot-}$	0.07	-0.01	-0.02	-0.21		<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.00</b>	<b>0.05</b>	<b>0.00</b>	0.62	0.35	0.38
TBARS	-0.15	-0.19	-0.13	0.07	<b>0.53</b>		0.08	<b>0.04</b>	0.27	0.10	0.77	0.78	0.71
GR	-0.08	-0.17	-0.14	-0.24	<b>0.53</b>	0.32		<b>0.03</b>	0.42	0.85	0.97	0.47	0.47
CAT	0.19	0.14	0.12	<b>-0.39</b>	<b>0.57</b>	<b>0.37</b>	<b>0.40</b>		0.32	0.65	0.49	0.76	0.62
GST	<b>0.44</b>	0.33	<b>0.39</b>	-0.09	<b>0.35</b>	0.21	0.15	0.19		<b>0.00</b>	0.36	0.33	0.33
GPx	<b>0.56</b>	<b>0.46</b>	<b>0.58</b>	0.23	<b>0.53</b>	0.30	0.04	0.08	<b>0.49</b>		0.89	0.95	0.92
AChE	-0.20	-0.31	-0.26	-0.09	0.09	0.06	0.01	0.13	-0.17	-0.03		<b>0.00</b>	<b>0.00</b>
pNPB	-0.31	<b>-0.42</b>	-0.33	-0.06	-0.17	-0.05	-0.13	0.06	-0.18	-0.01	<b>0.61</b>		<b>0.00</b>
pNPA	-0.18	-0.28	-0.21	-0.15	-0.16	-0.07	-0.14	0.09	-0.18	-0.02	<b>0.57</b>	<b>0.94</b>	

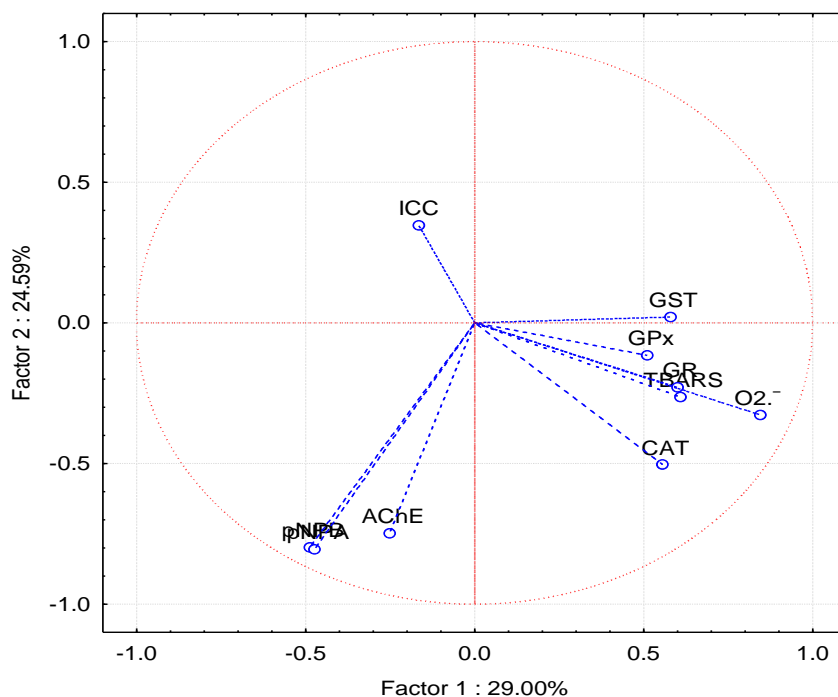
LCC, largo curvo de caparazón (cm); ACC, ancho curvo de caparazón (cm); ICC, índice de condición corporal;  $O_2^{\cdot-}$ , tasa de producción de radical superóxido ( $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{Hb}$ ); TBARS, peroxidación de lípidos ( $\text{nmol mg}^{-1} \text{Hb}$ ); GR, actividad de glutatión reductasa ( $\text{U g}^{-1} \text{Hb}$ ); CAT, actividad de catalasa ( $\text{U g}^{-1} \text{Hb}$ ); GST, actividad de glutatión S-transferasa ( $\text{U g}^{-1} \text{Hb}$ ); GPx, actividad de glutatión peroxidasa ( $\text{U g}^{-1} \text{Hb}$ ); AChE, actividad de acetilcolinesterasa ( $\text{U mg}^{-1} \text{Hb}$ ); pNPB, actividad de carboxilesterasa ( $\text{nmol min}^{-1} \text{mL}^{-1}$ ); pNPA, actividad de carboxilesterasa ( $\text{nmol min}^{-1} \text{mL}^{-1}$ ). \*correlación de Spearman. Se denotan en negrita las correlaciones significativas ( $p \leq 0.05$ ).

### 7.2.2 Análisis estadísticos multivariados

El ACP extrajo diez factores a partir del conjunto de variables de ICC, indicadores de estrés oxidativo, la actividad de acetilcolinesterasa y la actividad de carboxilesterasas. Identificando la estabilización de los eigenvalores (Tabla 5), se seleccionaron para su interpretación a el factor 1 (eigenvalor=2.9) que representó el 29% de la variación total de los datos y a el factor 2 (eigenvalor=2.46) con un 24.6%. Juntos los dos factores explicaron el 53.6% de la variación total de los datos. El tercer factor no fue considerado, ya que solamente aportó un 15% adicional, acumulando una variación total de los datos de 68.37%. Con relación al primer factor o componente del análisis, la producción de  $O_2^{\bullet-}$  estuvo correlacionad positivamente al factor 1, dado que su carga factorial fue de 0.85 (Tabla 6). En el factor 2, el siguiente factor que incluye más información, la actividad de AChE (carga factorial=0.75) y actividad de pNPB (carga factorial=0.80) y pNPA (carga factorial=0.80) estuvieron correlacionadas negativamente a este factor (Tabla 6). En la figura 12 se muestra la representación gráfica de los vectores del ACP donde la producción de  $O_2^{\bullet-}$  se correlacionó significativamente con el factor 1 mientras que la actividad de las enzimas AChE y CEs presentaron mayor contribución en el factor 2.

A nivel de individuos de estudio y de acuerdo con el ACP, no se observó un patrón diferencial entre los organismos de las diferentes zonas de estudio; los datos de las tortugas capturadas formaron un solo grupo que podría mostrar los niveles normales y/o basales de toda la región de estudio. Cuatro datos fueron afines a la variable de  $O_2^{\bullet-}$  (factor 1) y presentaron mayor producción de este radical; 2 datos pertenecientes a tortugas blancas capturadas en Xcalak, de las cuales una fue identificada con el ICC más bajo y presencia de fibropapilomatosis y la otra con buena condición, y 2 tortugas capturadas en Akumal con buena condición corporal, pero una con presencia de fibropapilomatosis. Asimismo, fueron 2 los individuos con valores altos y afines a las actividades de AChE y CEs, capturados en Punta Herrero y Xcalak con buena condición corporal, que presentaron mayor actividad enzimática en comparación con los demás individuos de estudio.





**Figura 12.** Representación gráfica del análisis de componentes principales con dos factores dominantes con los indicadores de estrés oxidativo, la actividad de acetilcolinesterasa (AChE, U  $\text{mg}^{-1}$  Hb), carboxilesterasas (pNPA, pNPB,  $\text{nmol min}^{-1} \text{mL}^{-1}$ ) e índice de condición corporal (ICC) medidos en sangre de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) en Quintana Roo en el año 2019. O<sub>2</sub>•<sup>-</sup>, tasa de producción de radical superóxido ( $\text{nmol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  Hb); TBARS, peroxidación de lípidos ( $\text{nmol mg}^{-1}$  Hb); GR, actividad de glutatión reductasa (U  $\text{g}^{-1}$  Hb); CAT, actividad de catalasa (U  $\text{g}^{-1}$  Hb); GST, actividad de glutatión S-transferasa (U  $\text{g}^{-1}$  Hb); GPx, actividad de glutatión peroxidasa (U  $\text{g}^{-1}$  Hb).

**Tabla 5.** Eigenvalores del análisis de componentes principales a partir de las variables de índice de condición corporal, indicadores de estrés oxidativo, la actividad de acetilcolinesterasa y la actividad de carboxilesterasas medidos en sangre de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) en Quintana Roo en el 2019.

	<b>Eigenvalores</b>	<b>% Total de varianza</b>	<b>Eigenvalor acumulado</b>	<b>% Acumulado</b>
<b>1</b>	2.8998	28.9976	2.8998	28.9976
<b>2</b>	2.4592	24.5919	5.3590	53.5896
<b>3</b>	1.4784	14.7838	6.8373	68.3734
<b>4</b>	0.9648	9.6482	7.8022	78.0216
<b>5</b>	0.6021	6.0211	8.4043	84.0427
<b>6</b>	0.5298	5.2979	8.9341	89.3406
<b>7</b>	0.4690	4.6903	9.4031	94.0309
<b>8</b>	0.4070	4.0700	9.8101	98.1009
<b>9</b>	0.1375	1.3751	9.9476	99.4760
<b>10</b>	0.0524	0.5240	10.0000	100.0000

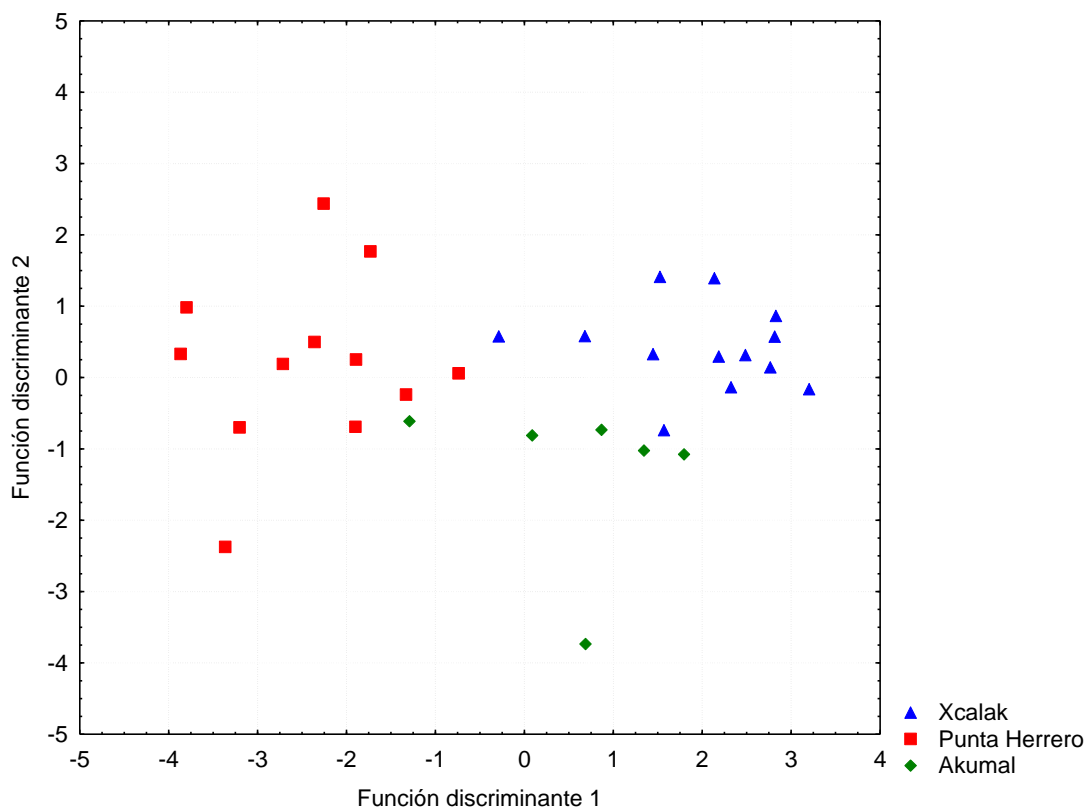
**Tabla 6.** Resumen de cargas factoriales para los indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa, carboxilesterasas e índice de condición corporal basado en el análisis de componentes principales para la tortuga blanca (*Chelonia mydas*) en Quintana Roo en el 2019.

	<b>Factor 1</b>	<b>Factor 2</b>
<b>Índice condición corporal (ICC)</b>	-0.1650	0.3471
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup> (nmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.8451	-0.3273
<b>TBARS (nmol mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.6081	-0.2638
<b>GR (U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.5996	-0.2283
<b>CAT (U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.5556	-0.5035
<b>GST (U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.5790	0.0212
<b>GPx (U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.5099	-0.1156
<b>AChE (U mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	-0.2510	-0.7474
<b>pNPB-CE (nmol min<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>)</b>	-0.4878	-0.7983
<b>pNPA-CE (nmol min<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>)</b>	-0.4735	-0.8041

O<sub>2</sub><sup>-</sup>, tasa de producción de radical superóxido; TBARS, peroxidación de lípidos; GR, actividad de glutatión reductasa; CAT, actividad de catalasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; AChE, actividad de acetilcolinesterasa; pNPB-CE, carboxilesterasa p-nitrofenil butirato; pNPA-CE, carboxilesterasa p-nitrofenil acetato.

### 7.2.2.1 Análisis discriminante

En el AD, cuatro variables explicaron la separación de las zonas de estudio (grupos) de manera significativa (Lambda de Wilks= 0.127,  $F_{(18,40)}=4.02$ ,  $p < 0.001$ ). En el análisis, cuatro de las 10 variables incluidas en el análisis aportaron información significativa al análisis para discriminar entre las zonas de estudio, estas fueron TBARS ( $p < 0.001$ ), GR ( $p = 0.03$ ), GST ( $p < 0.008$ ) y GPx ( $p < 0.001$ ) (Tabla 7). La función discriminante 1, que representó el 90% de la varianza, muestra la diferenciación entre las zonas de estudio Xcalak y Punta Herrero, mientras que la función discriminante 2 representó el 10% de la varianza (Fig. 13). Con base en las distancias cuadradas de Mahalanobis obtenidas para el análisis discriminante, se encontró una distancia significativa entre Xcalak y Punta Herrero ( $p < 0.001$ ) así como entre Punta Herrero y Akumal ( $p < 0.001$ ) (Tabla 8). No se encontró una discriminación significativa entre el grupo de tortugas marinas capturadas en Akumal y las de Xcalak ( $p = 0.17$ ) (Tabla 8). Se obtuvieron los coeficientes estandarizados para las dos funciones discriminantes formadas (Tabla 9), los cuales pueden utilizarse para predicción *a posteriori* de casos. Por lo que el AD fue útil para discriminar significativamente a las tortugas capturadas en las zonas de estudio Xcalak, Akumal y Punta Herrero; las variables que más contribuyeron a este análisis fueron los niveles de TBARS y la actividad de GR, GST y GPx.



**Figura 13.** Representación gráfica del análisis discriminante incluyendo todos los biomarcadores cuantificados en muestras de sangre de tortuga blanca (*Chelonia mydas*) y zonas de estudio en Quintana Roo. Los niveles de peroxidación de lípidos y la actividad de las enzimas antioxidantes glutatión reductasa, glutatión S-transferasa y glutatión peroxidasa, agrupados en la función discriminante 1, contribuyeron a explicar el 90% de la varianza.

**Tabla 7.** Resumen de las variables significativas ( $p < 0.05$ ) para el análisis de funciones discriminantes para la variable dependiente “zonas de estudio”. Wilks de Lambda=0.127 aprox.  $F_{(18,40)}=4.02$ ,  $p < 0.001$ .

Variable	Lambda de Wilks	Lambda parcial	F-remove (2,20)	Valor de p
$O_2^{\cdot-}$ (nmol min <sup>-1</sup> mg <sup>-1</sup> Hb)	0.1318	0.9601	0.4160	0.6653
TBARS (nmol mg <sup>-1</sup> Hb)	<b>0.2780</b>	<b>0.4550</b>	<b>11.9762</b>	<b>0.0004</b>
GR (U g <sup>-1</sup> Hb)	<b>0.1802</b>	<b>0.7022</b>	<b>4.2403</b>	<b>0.0292</b>
CAT (U g <sup>-1</sup> Hb)	0.1665	0.7599	3.1604	0.0642
GST (U g <sup>-1</sup> Hb)	<b>0.2045</b>	<b>0.6187</b>	<b>6.1636</b>	<b>0.0083</b>
GPx (U g <sup>-1</sup> Hb)	<b>0.2380</b>	<b>0.5315</b>	<b>8.8153</b>	<b>0.0018</b>
AChE (U mg <sup>-1</sup> Hb)	0.1297	0.9752	0.2552	0.7773
pNPB-CE (nmol min <sup>-1</sup> mL <sup>-1</sup> )	0.1439	0.8792	1.3743	0.2759
pNPA-CE (nmol min <sup>-1</sup> mL <sup>-1</sup> )	0.1511	0.8372	1.9442	0.1692

$O_2^{\cdot-}$ , tasa de producción de radical superóxido; TBARS, peroxidación de lípidos; GR, actividad de glutatión reductasa; CAT, actividad de catalasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; AChE, actividad de acetilcolinesterasa; pNPB-CE, carboxilesterasa p-nitrofenil butirato; pNPA-CE, carboxilesterasa p-nitrofenil acetato.

**Tabla 8.** Distancias cuadradas de Mahalanobis (debajo de la diagonal) y su significancia estadística (arriba de la diagonal) del análisis discriminante para las zonas de estudio en Quintana Roo en el 2019.

Zona	Xcalak	Punta Herrero	Akumal
Xcalak	-	p = 0.000	p = 0.174
Punta Herrero	19.14	-	p = 0.000
Akumal	4.99	11.24	-

**Tabla 9.** Coeficientes estandarizados de las funciones discriminantes formadas tras el análisis discriminante para las zonas de estudio en Quintana Roo en el 2019.

<b>Variable</b>	<b>Función discriminante 1</b>	<b>Función discriminante 2</b>
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup> (nmol min<sup>-1</sup> mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	-0.3934	0.0737
<b>TBARS (nmol mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	-1.2210	-0.8358
<b>GR (U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.8553	-0.0966
<b>CAT (U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.7937	0.0163
<b>GST ((U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.7440	-0.3177
<b>GPx ((U g<sup>-1</sup> Hb)</b>	1.2433	0.2210
<b>AChE (U mg<sup>-1</sup> Hb)</b>	0.1198	0.3252
<b>pNPB-CE (nmol min<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>)</b>	0.4724	1.8742
<b>pNPA-CE (nmol min<sup>-1</sup> mL<sup>-1</sup>)</b>	-0.5617	-2.1224
<b>Eigenvalor</b>	4.3428	0.4795
<b>Proporción acumulada</b>	0.9006	1.0000

O<sub>2</sub><sup>-</sup>, tasa de producción de radical superóxido; TBARS, peroxidación de lípidos; GR, actividad de glutatión reductasa; CAT, actividad de catalasa; GST, actividad de glutatión S-transferasa; GPx, actividad de glutatión peroxidasa; AChE, actividad de acetilcolinesterasa; pNPB-CE, carboxilesterasa con p-nitrofenil butirato; pNPA-CE, carboxilesterasa con p-nitrofenil acetato.

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Estructura poblacional e índice de condición corporal

En las tres localidades incluidas en el presente estudio, se capturaron únicamente juveniles inmaduros de *C. mydas*, con un rango de talla de 29.5 a 71.8 cm de LCC, por lo que no fue posible identificar el sexo. Las tallas reportadas para las tortugas muestreadas del presente estudio coinciden con las tallas descritas anteriormente en esta zona. Labrada-Martagón et al. (2017) reportaron para la bahía de Akumal, durante el periodo del 2004 al 2014, tortugas blancas juveniles en un rango de talla de 27.8 a 81 cm de LCC. En los años 2015 al 2018, Islas (2020) reporta individuos adultos en Punta Arenas con tallas entre 86.6 y 111 cm de LCC y rangos de talla para las tortugas marinas juveniles en Akumal (40.7 – 80 cm LCC), Punta Herrero (26.2 – 56.5 cm LCC) y Xcalak (27.3 – 71.5 cm LCC). En la costa de Quintana Roo se capturan mayoritariamente tortugas blancas inmaduras de talla menor a la talla promedio de anidación de Quintana Roo (86 cm LCC) (Zurita, 1993), lo que apoya la idea de que ésta es una zona de crecimiento y maduración de la especie (Labrada-Martagón et al., 2017).

Las tortugas blancas capturadas en Punta Herrero fueron significativamente más pequeñas en peso y LCC que las de Akumal y Xcalak. Punta Herrero es una región con más bahías cercanas, que proveen refugio para otras especies de tortugas, como *C. caretta* y *E. imbricata*, y megafauna marina, como tiburones y rayas (Cuevas y Marcos, 2014). Xcalak y Akumal, que también tienen bahías y son refugios de vida silvestre, poseen las condiciones ambientales que permiten la ocurrencia de tortugas blancas de tallas más grandes (SEMARNAT y CONANP, 2014). Algunos autores han observado, en otras localidades, que la talla de tortugas blancas puede estar relacionada a la preferencia del hábitat, incluso con tortugas que han nacido en otros lugares (Hayashi y Nishizawa, 2015). La selección de hábitat para las tortugas blancas, así como otras especies de tortugas, en la Península de Yucatán, puede estar relacionada a la disponibilidad de áreas que les provean refugio y alimento (Méndez *et al.*, 2013). La condición de salud de *C. mydas* en las costas de Quintana Roo, evaluada en el presente estudio a partir del ICC, se encontró como muy buena (ICC entre 1.11-1.20), a excepción de un individuo (ICC=0.9) que posteriormente se reportó como varado. El ICC es una medida que establece una relación entre el peso y la talla de un organismo y puede tomarse como indicador del estado de salud del

individuo (Bjorndal, Bolten y Chaloupka, 2000; Flint *et al.*, 2009). A pesar de que se encontraron diferencias significativas en el peso y LCC de las tortugas blancas entre las localidades, no se observaron diferencias significativas en el ICC, lo anterior sugiere que los individuos de las 3 zonas tienen, de manera general, una buena condición corporal.

## **8.2 Indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y de carboxilesterasas**

Los organismos poseen mecanismos naturales de defensa contra diversas formas de especies reactivas del oxígeno llamados antioxidantes; sin embargo, éstos pueden no ser suficientes cuando hay una alta exposición a especies reactivas (Halliwell y Gutteridge, 2015). Son escasos los estudios que utilizan biomarcadores ecotoxicológicos en tortugas marinas (Finlayson, Leusch y van de Merwe, 2016), como los indicadores de estrés oxidativo, actividad de acetilcolinesterasa y de carboxilesterasas, y menos aún en tortuga blanca. En el presente estudio se determinó la actividad de AChE y CEs y su relación con los indicadores de estrés oxidativo por vez primera, en eritrocitos de las tortugas blancas capturadas en el estado de Quintana Roo.

Al comparar los resultados del presente estudio con estudios previos, la producción de  $O_2^{\bullet-}$  en eritrocitos de la tortuga blanca para el estado de Quintana Roo fue mayor a lo reportado para las tortugas blancas del 2015 a 2018 en la misma zona (Islas, 2020). Factores ambientales como las arribazones masivas de Sargazo (Chávez *et al.*, 2020; Islas, 2020), la temporalidad de colecta, condiciones particulares de los individuos y procesamiento de las muestras, podrían ser algunas de las causas de las diferencias en los resultados de estos estudios. Sin embargo, en el presente estudio la peroxidación de lípidos, cuantificada como los niveles de TBARS, fue similar a los resultados reportados para tortuga blanca del 2015 al 2018 en Quintana Roo (Islas, 2020). De acuerdo con una mayor producción de  $O_2^{\bullet-}$ , la actividad de CAT del presente estudio fue mayor a lo observado para la tortugas blancas de Quintana Roo durante el periodo del 2015 al 2018 en la misma región, así como mayor a lo reportado en la tortuga verde de Punta Abreojos y Bahía Magdalena de la costa occidental de Baja California Sur (Labrada-Martagón *et al.*, 2011). La actividad de GST cuantificada en el presente estudio también fue mayor a lo reportado en muestras de tortugas blancas colectadas del 2015 al 2018 en Quintana Roo (Islas, 2020), así como en sangre de tortuga verde de Baja California Sur y de Hawaii (Valdivia *et al.*, 2007), en



lavado de eritrocitos en tortugas prietas de Punta Abreojos y Bahía Magdalena de la costa occidental de Baja California (Labrada-Martagón *et al.*, 2011). La actividad de GPx en el presente estudio fue mayor a lo observado por Islas (2020) en las tortugas blancas en Quintana Roo en el periodo de 2015 a 2018, y mayor a lo reportado para tortugas verdes en la costa occidental de Baja California Sur, en Punta Abreojos y Bahía Magdalena (Labrada-Martagón *et al.*, 2011). En relación a otras especies de tortugas marinas, la actividad de GR en el presente estudio fue mayor a lo reportado para la tortuga carey (*E. imbricata*) en Campeche durante la temporada de anidación de 2010 (Tremblay *et al.*, 2017) de 2014 y 2015 (Salvarani *et al.*, 2018). La actividad de CAT fue mayor a lo reportado en lavado de eritrocitos de *E. imbricata* en Campeche durante las temporadas de anidación de 2014 y 2015 (Salvarani *et al.*, 2018), pero menor que en Campeche en 2010 (Tremblay *et al.*, 2017). La actividad de GST fue similar a lo reportado en sangre para tortuga carey en Campeche en el 2010 (Tremblay *et al.*, 2017), y mayor a lo reportado en los años 2014 y 2015 en tortuga carey en Campeche (Salvarani *et al.*, 2018). En general, en el presente estudio se obtuvieron mayores niveles de los indicadores de estrés oxidativo que en otras localidades y especies, lo cual sugiere que podría ser resultado de una mayor exposición a una variedad de factores, como el hábitat, que inducen una mayor actividad de las enzimas antioxidantes en la tortuga blanca de Quintana Roo. Sin embargo, las diferencias observadas también podrían deberse a la variación en el tipo de muestra, métodos de colecta y procesamiento de datos. La actividad de AChE en plasma en el presente estudio fue mayor a lo reportado en lavado de eritrocitos para hembras de tortuga carey en Campeche en 2010 (Tremblay *et al.*, 2017), pero menores a los resultados en muestras de plasma de tortuga carey en Campeche durante la temporada de anidación del 2014-2015 y similares a lo detectado en muestras de lavado de eritrocitos en el mismo estudio (Salvarani *et al.*, 2018). Por lo anterior, se sugiere que los resultados de la actividad de AChE contribuyen como línea base al conocimiento de este biomarcador en la tortuga blanca de Quintana Roo. La actividad de carboxilesterasas con el sustrato pNPA fue mayor a lo obtenido para muestras de suero de la tortuga golfinia (*L. olivacea*) en la playa La Escobilla en el Pacífico mexicano (Cortés-Gómez *et al.*, 2018). No se encontraron estudios previos que hubieran utilizado el sustrato pNPB.

Con el objeto de analizar la relación entre la actividad de AChE, CEs, los indicadores de estrés oxidativo y las variables morfológicas cuantificados en tortuga blanca (*C. mydas*) en la costa de Quintana Roo, se realizó un análisis de correlación de Pearson. Se encontró correlación positiva significativa entre la actividad de GST con el peso y la talla (LCC) de los organismos. La GST cataliza la conjugación de algunos contaminantes con GSH favoreciendo así su transformación a compuestos menos tóxicos (Halliwell y Gutteridge, 2015). En la tortuga verde del Pacífico oriental se reportaron correlaciones positivas entre GST y varios plaguicidas organoclorados ( $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH,  $\Sigma$ HCHs, heptacloros,  $\Sigma$ Heptacloros y hexaclorobenzeno) (Labrada-Martagón *et al.*, 2011). La actividad de GPx también estuvo correlacionada positivamente con la talla (LCC, ACC) y peso de las tortugas blancas. La actividad de GPx, enzima que tiene como principal objetivo remover el  $H_2O_2$  al reducirlo a agua junto a la oxidación de GSH (Halliwell y Gutteridge, 2015), y ha sido correlacionada positivamente con los niveles del plaguicida organoclorado clordano en tortuga verde del Pacífico (Labrada-Martagón *et al.*, 2011). Considerando que las correlaciones no muestran causalidad, se podría hipotetizar que las tortugas blancas de tallas más grandes tengan mayor actividad de GST y GPx como respuesta fisiológica ante una mayor exposición a distintos contaminantes, como los plaguicidas, o bien una combinación de factores como la edad, estado de salud, calidad del hábitat, estado reproductivo, alimento, entre otros. Por ello, estudios adicionales con la tortuga blanca serán necesarios para esclarecer estos fenómenos.

En el presente estudio se encontró una correlación negativa entre el ACC y la actividad de carboxilesterasa con sustrato pNPB. Las carboxilesterasas, además de hidrolizar compuestos endógenos, intervienen en la detoxificación de plaguicidas y drogas, como se ha visto en la respuesta a la exposición de PAHs en mejillones (Solé *et al.*, 2020). También se han reportado correlaciones negativas de la actividad de carboxilesterasa con el sustrato pNPA con la talla (LCC, LRC y ACC) en la tortuga golfina del Pacífico mexicano, así como correlaciones negativas con los niveles de cortisol, niveles de metales como Cd y Pb, y elementos poco comunes como Ti y Al (Cortés-Gómez *et al.*, 2018). Por ello, los resultados observados en las tortugas blancas de este estudio que presentaron mayor ACC y menor actividad de la carboxilesterasa (pNPB) podrían deberse a que presentan una respuesta fisiológica a la exposición a diversos

xenobióticos y/o factores que pueden disminuir su actividad, como se ha sugerido previamente en tortuga golfina (Cortés-Gómez *et al.*, 2018).

En el presente estudio el ICC estuvo correlacionado negativamente con la actividad de CAT, enzima antioxidante que descompone el  $H_2O_2$  (Halliwell y Gutteridge, 2015), lo que indica que los individuos con menor ICC tuvieron mayor actividad de CAT. La actividad de CAT ha sido correlacionada anteriormente con la concentración del organoclorado HCHs en tortuga Carey (Tremblay *et al.*, 2017), lo que sugiere la sensibilidad de este indicador. En este estudio, los individuos con menor condición de salud podrían estar atravesando por procesos fisiológicos, como enfermedades, o respondiendo a factores externos, como las características del hábitat, que pudieron inducir mayores niveles en la actividad de la enzima CAT. Si bien las correlaciones muestran relaciones entre variables y no muestran causa o efecto, pueden servir de guía para explicar posibles fenómenos. Estudios previos han discutido la relación entre contaminantes, como plaguicidas, en las tortugas marinas (Camacho *et al.*, 2014; García-besné, Valdespino y Rendón-von Osten, 2014). En particular, se han encontrado mayores concentraciones de plaguicidas organoclorados en juveniles de tortuga verde en comparación con la tortuga Carey, sugiriendo que las tortugas verdes podrían estar expuestas a mayores niveles de contaminantes, los cuales pueden ser ingeridos en varios sitios de forrajeo (Camacho *et al.*, 2014); sin embargo, se desconoce el principal mecanismo de absorción de estos contaminantes. Dado que los indicadores de estrés oxidativo son biomarcadores sensibles a contaminantes químicos en tortugas marinas (Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Tremblay *et al.*, 2017), los datos del presente estudio reflejan las respuestas bioquímicas de los juveniles de tortuga blanca ante las condiciones de su hábitat. Las diferencias observadas entre los resultados del presente estudio y estudios previos, incluyendo aquellos en otras localidades, podrían deberse a diferentes fuentes de exposición que pueden inducir estrés oxidativo, factores como las características geológicas de cada hábitat y diversas formas de perturbación antropogénica que aumentan los niveles de contaminantes en el mar. En otras localidades, como Campeche, se cree que las respuestas fisiológicas de las tortugas verdes pueden verse influenciadas por la actividad humana (agricultura) y procesos de control biológico de vectores en los que se emplean una diversidad de plaguicidas organoclorados (Tremblay *et al.*, 2017). En el Pacífico Oriental una combinación entre condiciones particulares del hábitat y actividades de agricultura influyen las respuestas

antioxidantes de la especie que habita en las lagunas costeras (Labrada-Martagón *et al.*, 2011). En el estado de Quintana Roo, la principal actividad económica es el turismo, siendo ésta posiblemente la principal fuente de contaminación de origen antropogénico que pueda afectar los resultados observados en el presente estudio, como fue sugerido en un estudio previo (Islas, 2020). Con la presencia de contaminantes como los plaguicidas organoclorados en suelos de Quintana Roo (Andrade-Herrera *et al.*, 2019), el aumento de microplásticos en las playas (Alvarez-Zeferino *et al.*, 2020) y el empleo de aproximadamente 229.76 toneladas anuales de protector solar por los turistas y locales en el Caribe Mexicano (Casas-Beltrán *et al.*, 2021), cabe esperar que residuos de éstos contaminantes pudieran llegar al medio marino y, por lo tanto, influir en la respuesta fisiológica de las tortugas blancas.

Estudios previos han reportado variaciones en la actividad de los indicadores de estrés oxidativo en tortugas marinas dependiendo del tipo de tejido (Valdivia *et al.*, 2007), especie (Richardson, Gold-Bouchot y Schlenk, 2009), condiciones ambientales (Labrada-Martagón *et al.*, 2011), la ingesta de basura (Yoshida, 2012), el sexo de los individuos (Islas, 2020) y la presencia de contaminantes (Labrada-Martagón *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2016; Cortés-Gómez *et al.*, 2017; Tremblay *et al.*, 2017; Casini *et al.*, 2018). En el presente estudio se planteó la hipótesis de que la actividad de la AChE, CE y los indicadores de daño oxidativo son biomarcadores sensibles a los efectos de las condiciones ambientales en la tortuga blanca. De ser cierto, se espera, entonces, que los individuos provenientes de sitios con menor perturbación ambiental presentarían una mayor actividad de AChE y carboxilesterasas, y menores niveles de los indicadores de daño oxidativo en comparación con tortugas de sitios con mayor grado de perturbación ambiental en Quintana Roo. Akumal es la localidad que se encuentra más cercana a los destinos turísticos de mayor afluencia turística en el estado de Quintana Roo. Se reportó que en el año 2019 la afluencia turística en Quintana Roo alcanzó los 15 millones de visitantes, siendo Cancún, Cozumel, Riviera Maya, Isla Mujeres y Chetumal los lugares con mayores registros turísticos (SEDETUR, 2020). Al sur de Quintana Roo, Xcalak está integrado dentro del megaproyecto Costa Maya, el cual busca fomentar el turismo en localidades donde la fuente inicial de turismo era únicamente vía cruceros (FONATUR, 2005). Por lo tanto, las actividades turísticas en Xcalak y Akumal se encuentran en crecimiento, a diferencia de Punta Herrero. Lo anterior parece verse reflejado en los indicadores de estrés oxidativo sustentando la hipótesis

de trabajo. En el presente estudio se observó que las tortugas muestreadas en Punta Herrero presentaron los menores niveles de los indicadores de estrés oxidativo. Entre algunas de las características especiales de esta localidad se puede destacar que posee poco acceso por vía terrestre y sólo se puede ingresar con vehículos de mucha potencia (SEMARNAT y CONANP, 2014), por lo que se asume que el desarrollo urbano, las actividades humanas y la afluencia de turistas son menores que en Akumal y Xcalak. Actualmente, Akumal es una localidad importante para el turismo ya que sus arrecifes de coral le brindan servicios ecosistémicos; sin embargo, el producto de las actividades humanas ha llevado al blanqueamiento del coral, y otras enfermedades asociadas así como una disminución de cobertura coralina y biomasa de peces (SEMARNAT, 2016a; Randazzo-Eisemann *et al.*, 2021). El impacto negativo sobre los arrecifes de coral, que son parte del hábitat de forrajeo de la tortuga blanca en Akumal, puede llegar a ser un factor que altere la dinámica del ecosistema, la disponibilidad de alimento, disminución del hábitat y, con ello, inducir estrés oxidativo en las tortugas. En las localidades como Cancún y Playa del Carmen del Estado de Quintan Roo, con niveles altos de turismo, se ha visto un aumento de la concentración de hidrocarburos en cenotes durante la temporada alta de turismo en comparación con la temporada baja (Medina-Moreno *et al.*, 2014). En el presente estudio se encontró que las tortugas capturadas en las zonas con mayor desarrollo turístico, como Akumal y Xcalak, exhibieron una mayor producción de  $O_2^{\bullet-}$  y mayor actividad de las enzimas antioxidantes GPx y GST (Fig. 11), a diferencia de las tortugas capturadas en Punta Herrero, un sitio con menor afluencia humana. Sin embargo, se encontraron diferencias similares en la talla de las tortugas blancas entre localidades, siendo las de Punta Herrero significativamente menores (Fig. 8). Para descartar el efecto de la talla en esta localidad, se realizó un análisis adicional en el cual se incluyeron sólo tortugas de talla similar (46.5-62.3 cm LCC, n = 19); en este subgrupo se confirmaron las mismas diferencias significativas en la actividad de GST y de GPx entre las localidades del estudio. El  $O_2^{\bullet-}$  es un compuesto muy reactivo, puede reaccionar rápidamente con otras moléculas y tiene el potencial de acelerar la producción de radical  $\bullet OH$ , que es aún más reactivo y con mayor capacidad de causar daño a moléculas células y tejidos (Halliwell y Gutteridge, 2015). La mayor producción de  $O_2^{\bullet-}$  observada en tortugas blancas muestreadas en Xcalak y Akumal podría significar que las tortugas capturadas en estos sitios afrontan más factores que favorecen la formación de este

radical, algunos de los cuales pueden derivarse de la perturbación antropogénica de la zona, como se mencionó previamente, el flujo de contaminantes por aguas residuales, la alteración de los arrecifes de coral y la disponibilidad y calidad de su alimento (*T. testudinum*). La enzima GPx contribuye a remover el  $H_2O_2$ , principalmente en el citosol (Halliwell y Gutteridge, 2015). La enzima GST está involucrada en el metabolismo de xenobióticos, incluidos los fármacos y contaminantes ambientales (Halliwell y Gutteridge, 2015), y puede ser regulada post-transcripcionalmente mediante fosforilación (Okamura *et al.*, 2009). La actividad de GST se ha relacionado con la concentración de plaguicidas organoclorados en tortuga verde del Pacífico oriental en localidades como Punta Abrejos (Labrada-Martagón *et al.*, 2011) y en plasma de tortuga boba (*C. caretta*) se correlacionó positivamente con las concentraciones de contaminantes originados por actividades turísticas, como los bloqueadores solares (Cocci, Mosconi y Palermo, 2020). Por ello, cabe esperar que las tortugas blancas en localidades como Akumal y Xcalak, con mayor afluencia turística que Punta Herrero, pudieran estar más expuestas a este tipo de contaminantes. Se han reportado diferencias en la actividad de la enzima GST (frente a varios sustratos (CDNB y GSH)) en *C. mydas*, *L. olivacea*, *C. caretta* y *E. imbricata*, lo que llevó a los autores a proponer que puede haber diferenciación en la actividad de conjugación de GST entre especies de tortugas marinas y posiblemente diferencias en la capacidad de biotransformación de GST como una respuesta evolutiva de las especies (Richardson, Gold-Bouchot y Schlenk, 2009).

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en la actividad de AChE entre las zonas de estudio; aunque se observó una tendencia a menor actividad de esta enzima en Akumal en comparación con Xcalak y Punta Herrero. La AChE, una enzima involucrada en la neurotransmisión, puede ser inhibida por detergentes, fármacos (Nunes, Carvalho y Guilhermino, 2006), plaguicidas organofosforados y carbamatos (Weiss, 1958; Beam y Hankinson, 1964). Los resultados observados en el presente estudio se sugieren como niveles basales de actividad de AChE para la tortuga blanca en Quintana Roo.

El análisis de componentes principales mostró una separación entre los indicadores de estrés oxidativo y los biomarcadores de la AChE y CEs, siendo  $O_2^{\bullet-}$  el más destacado. La diferenciación del  $O_2^{\bullet-}$ , en este caso pudo ser resultado de las variaciones a nivel de individuo, por la presencia

de fibropapilomatosis y el método de captura (Islas, 2020). Los métodos de captura de estudio, de persecución corta en lancha o nado con esnórquel, podrían haber alterado la producción de  $O_2^{\bullet-}$  sobre estos individuos. El ACP no reflejó separación entre las zonas de colecta, sugiriendo que las tortugas blancas capturadas durante el 2019 presentan una tendencia similar como grupo. Al asignar las zonas de estudio como grupos *a priori*, mediante el análisis discriminante, se trató de determinar en qué grado los indicadores de estrés oxidativo y los biomarcadores de la AChE y CEs discriminan los grupos o las zonas de estudio. El AD permitió diferenciar significativamente las zonas de estudio basado en los niveles de TBARS, actividad de GR, de GST y de GPx, que maximizaron las diferencias entre los grupos. Asimismo, el AD encontró una distancia de Mahalanobis significativa entre Punta Herrero y las localidades de Xcalak ( $p < 0.000$ ) y Akumal ( $p < 0.000$ ), más no entre Xcalak y Akumal. Estos resultados que muestran diferencias entre Punta Herrero contra Xcalac y Akumal concuerdan con lo presentado previamente en el análisis de varianza con las variables de LCC, peso, actividad de GST, así como diferencias entre Punta Herrero y Xcalac en la producción de  $O_2^{\bullet-}$  y la actividad de GPx. Por lo anterior, los indicadores de estrés oxidativo parecen ser eficientes para discriminar entre las tortugas blancas capturadas en las distintas zonas de estudio. Mientras que los resultados de los biomarcadores de la AChE y CEs en el presente estudio no mostraron diferenciación entre zonas posiblemente porque la exposición de las tortugas blancas a los contaminantes sea similar en las zonas; sin embargo, al continuar el desarrollo turístico en algunas localidades se podría esperar que afectara la actividad de estas enzimas.

Otros factores ambientales que podrían afectar los biomarcadores cuantificados en las tortugas blancas en el presente estudio son los eventos masivos de arribazón de sargazo en las costas del Caribe Mexicano, incluyendo hábitats de forrajeo de la tortuga blanca en Quintana Roo (Islas, 2020). Durante el periodo del 2016 al 2020 la mayor prevalencia de sargazo se reportó en las costas que se ubican entre Playa del Carmen y Tulum (incluyendo Akumal), seguido por la zona entre Puerto Morelos, Cancún y Sian Ka'an (incluye Punta Herrero) (Chávez et al., 2020). Para el 2019, el año de muestreo del presente estudio, el pico más alto de arribazón de sargazo se registró entre los meses de febrero a julio (volumen promedio mensual de  $2800 \text{ m}^3 \text{ km}^{-1}$ ) (Chávez et al., 2020). El estudio de la dinámica temporal del sargazo pelágico en la zona sur del Caribe Mexicano, incluyendo Xcalak, reveló que durante el 2019 los picos más altos de

cobertura de sargazo y turbidez fueron durante agosto y septiembre, meses que coinciden con las fechas de colecta del presente estudio (Rodríguez-Muñoz *et al.*, 2021). Asimismo, se reporta una relación entre la turbidez y la cobertura de sargazo, y un aumento en la concentración de amonio, disminución del pH y oxígeno disuelto cerca de la costa, encontrándose en Xcalak los niveles más bajos de pH en comparación con Mahahual y Xahuayxol (Rodríguez-Muñoz *et al.*, 2021). Se ha estimado la mortalidad de 78 especies de fauna, siendo peces neríticos demersales y crustáceos los más afectados, en eventos masivos de sargazo en el Caribe Mexicano (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2019). La exposición a los factores que resultan de los arribazones masivos de sargazo, como las variaciones en los parámetros de calidad de agua y cobertura de sargazo, aumento en las concentraciones de amonio, disminución del pH y oxígeno disuelto, podrían llegar a inducir estrés oxidativo en la tortuga blanca, lo que podría ayudar a explicar porque en Akumal se observó mayor actividad de GST y una tendencia a mayores niveles en todos los demás indicadores de estrés oxidativo, ya que es la localidad más cercana a las zonas de mayor prevalencia de sargazo y al mismo tiempo la zona con mayor desarrollo turístico. La cobertura de sargazo también podría afectar el acceso y disponibilidad del alimento (*Talassia testudinum*) de la tortuga blanca; aunque, tanto en el Caribe Mexicano como en la península de Yucatán, son escasos los estudios en hábitats de forrajeo y la mayoría de los estudios y proyectos tortugeros se enfocan en playas de anidación (Cuevas *et al.*, 2008). Aún no se conocen efectos directos de las arribazones de sargazo sobre el número de nidos de la tortuga blanca y la tortuga carey en las playas de anidación en el Caribe Mexicano (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2021). Dado que los fenómenos de arribazón de sargazo están incrementando, es importante continuar los monitoreos utilizando una batería de biomarcadores que puedan brindar más información sobre los potenciales efectos a la salud de la tortuga blanca.

Con base en los resultados de este estudio, los juveniles de la tortuga blanca capturados durante el 2019 en las localidades de Akumal, Punta Herrero y Xcalak, con una condición corporal muy buena, pudieran estar mostrando niveles basales de los biomarcadores de la AChE y CEs; sin embargo, se requiere continuar con el monitoreo de estas variables para generar mejores conclusiones. El no haber presentado diferencias entre sitios para estas variables, puede significar que estos biomarcadores muestran niveles similares de exposición a otros tipos de contaminantes y que estos resultados podrían servir de referencia para futuros estudios.



Las diferencias en los indicadores de estrés oxidativo (la actividad de las enzimas GR, GST, GPx, los niveles de TBARS y la producción de  $O_2^{\bullet-}$ ) que sugieren una diferenciación entre las zonas de estudio en el Estado de Quintana Roo pueden también deberse a un conjunto de factores ambientales, como los arribazones de sargazo (Chávez *et al.*, 2020), la disminución de la calidad del agua (Null *et al.*, 2014; Hernández-Terrones *et al.*, 2015) y las actividades antropogénicas (Herrera-Silveira *et al.*, 2010) derivados del desarrollo turístico de la región. El turismo es una actividad económica y social importante para Quintana Roo, ya que en el 2018 este estado captó el 43.3% del total de divisas que ingresaron al país por concepto de turismo (SEDETUR, 2020). La contaminación antropogénica, por ejemplo, que fluye a través de la descarga de agua subterránea submarina (Null *et al.*, 2014) derivada del desarrollo en el Caribe Mexicano ha tenido un impacto sobre otros grupos taxonómicos, como los corales (Contreras-Silva *et al.*, 2020) y los pastos marinos (Herrera-Silveira *et al.*, 2010). Aunque se conoce muy poco sobre los efectos de las actividades turísticas en las tortugas blancas en las zonas de estudio, los resultados sugieren que las tortugas capturadas en las zonas con mayor desarrollo turístico estuvieron expuestas a factores que favorecieron una mayor actividad de enzimas antioxidantes (GST y GPx) y mayor daño oxidativo (producción de  $O_2^{\bullet-}$ ) por lo que atraviesan por un estado de estrés oxidativo que podría poner en riesgo su salud a largo plazo y hacerlas más susceptibles a enfermedades.

Con la finalidad de controlar las actividades turísticas y la contaminación antropogénica y su impacto sobre la salud de la población de tortuga blanca, se recomienda implementar monitoreos con una batería de biomarcadores, así como evaluar los efectos potenciales de eventos ambientales como los arribazones masivos de sargazo, regular las actividades turísticas, dar tratamiento a las aguas residuales y actualizar los reglamentos ambientales para lograr generar medidas de control para la conservación de esta y otras especies de la costa de Quintana Roo.

## 9. CONCLUSIONES

Todos los individuos de tortuga blanca (*C. mydas*) capturados en Akumal, Punta Herrero y Xcalak en 2019 fueron juveniles inmaduros con una condición corporal “muy buena”. Las tortugas de Punta Herrero fueron las más pequeñas en talla y peso, concordando con las tallas descritas en estudios previos de la misma zona (Islas, 2020). Lo anterior sugiere que factores como las características topográficas y biológicas de esta localidad reúnen las condiciones adecuadas de disponibilidad de alimento y protección para las tallas más pequeñas.

Las tortugas blancas capturadas en Akumal y Xcalak tuvieron significativamente mayor producción de radical  $O_2^{\bullet-}$  y mayor actividad de las enzimas de defensa antioxidante GST y GPx, en comparación con las de Punta Herrero, siendo las localidades que sufren un mayor impacto turístico y una disminución en la calidad del agua.

Los indicadores de estrés oxidativo, particularmente los niveles de TBARS y la actividad de las enzimas GR, GST y GPx, contribuyeron significativamente a discriminar las tortugas blancas por zona de captura. Los resultados de este estudio sugieren que los indicadores de estrés oxidativo son los más sensibles a la perturbación ambiental.

Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la actividad de AChE y de las carboxilesterasas (con los sustratos pNPB, pNPA) entre zonas, lo que sugiere que todos los juveniles de este estudio muestran niveles similares no relacionados a las diferencias en las condiciones del hábitat. Más estudios son necesarios para demostrar su utilidad como biomarcadores de salud para la especie y para validar el tipo de compuestos que influyen en su respuesta (además de los pesticidas organofosforados y algunos metales) en condiciones ambientales.

## 10. LITERATURA CITADA

- Ackerman, R. A. (1997) "The Nest Environment and the Embryonic Development of Sea Turtles", en Lutz, P. L. y Musick, J. A. (eds.) *Biology of Sea Turtles*, pp. 83–103.
- Aebi, H. (1984) "Catalase in vitro", en Packer, L. (ed.) *Methods in Enzymology. Oxygen Radicals in Biological*. Academic Press, pp. 121–126. doi: [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3).
- Aguirre, A. *et al.* (1994) "Organic Contaminants and Trace Metals in the Tissues of Green Turtles (*Chelonia mydas*) Afflicted with Fibropapillomas in the Hawaiian Islands", *Marine Pollution Bulletin*, 28(2), pp. 109–114.
- Alvarez-Zeferino, J. C. *et al.* (2020) "Dataset of quantification and classification of microplastics in Mexican sandy beaches", *Data in Brief*. Elsevier Inc., 33, p. 106473. doi: 10.1016/j.dib.2020.106473.
- Amiard-triquet, C., Amiard, J.-C. y Rainbow, P. S. (2013) *Ecological Biomarkers, Ecological Biomarkers*. doi: 10.1201/b13036.
- Andrade-Herrera, M. *et al.* (2019) "Presence of Pesticides and Toxicity Assessment of Agricultural Soils in the Quintana Roo Mayan Zone, Mexico Using Biomarkers in Earthworms (*Eisenia fetida*)", *Water, Air, and Soil Pollution. Water, Air, & Soil Pollution*, 230(3), pp. 1–13. doi: 10.1007/s11270-019-4105-1.
- Baker, D. *et al.* (2010) "Sea fan corals provide a stable isotope baseline for assessing sewage pollution in the Mexican Caribbean", *Limnol. Oceanogr.*, 55(5), pp. 2139–2149. doi: 10.4319/lo.2010.55.5.2139.
- Beam, J. E. y Hankinson, D. J. (1964) "Application of the Acetylcholinesterase Inhibition Method for Detecting Organophosphate Residues and Related Compounds in Milk", *Journal of Dairy Science*, 47(12), pp. 1297–1305. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(64)88908-6.
- Belcheva, N. N. *et al.* (2011) "Anthropogenic pollution stimulates oxidative stress in soft tissues of mussel *Crenomytilus grayanus* (Dunker1853)", *Ocean Science Journal*, 46(2), pp. 85–94. doi: 10.1007/s12601-011-0008-9.
- Bjorndal, K. A., Bolten, A. B. y Chaloupka, M. Y. (2000) "Green turtle somatic growth model: evidence for density dependence", *Ecological applications*, 10(1), pp. 269–282.
- Bolten, A. B. (2000) "Técnicas para la medición de tortugas marinas", en Eckert KL, Bjorndal KA, Abreu-Grobois FA, D. M. (ed.) *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Grupo Especialista en Tortugas Marinas, UICN/CSE, pp. 126–173. Disponible en: [http://cdam.minam.gob.pe/publielectro/investigacion\\_ambiental/investigaciontortugasmarinas.pdf](http://cdam.minam.gob.pe/publielectro/investigacion_ambiental/investigaciontortugasmarinas.pdf).
- Botello, A. V., Villanueva, S. F. y Gutiérrez, J. (2019) *Costas y Mares Mexicanos: contaminación, impactos, vulnerabilidad y cambio climático*, *Journal of Chemical Information and Modeling*. UNAM, UAC.
- Bryan, G. W. *et al.* (1979) "Bioaccumulation of marine pollutants", *Philosophical transactions of the Royal Society of London*, 286, pp. 483–505. doi: 10.1098/rstb.1979.0042.
- Camacho, M. *et al.* (2014) "Monitoring organic and inorganic pollutants in juvenile live sea turtles: Results from a study of *Chelonia mydas* and *Eretmochelys imbricata* in Cape Verde", *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V., 481, pp. 303–310. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.02.051.
- Camacho, M., Luzardo, O. P. y Orós, J. (2017) "Chemical Threats to Sea Turtles", en Larramendy,

- M. L. (ed.) *Ecotoxicology and Genotoxicology: Non-Traditional Aquatic Models*. The Royal Society of Chemistry, pp. 442–466.
- Cartagena, C. de (1983) “Convención para la Conservación y Desarrollo del Medio Marino de la Región del Gran Caribe”.
- Casas-Beltrán, D. A. *et al.* (2021) “Impact of Tourist Behavior on the Discharge of Sunscreen Contamination in Aquatic Parks , Sinkholes , and Beaches of the Mexican Caribbean”, *applied sciences*, 11(15), p. 6882.
- Casini, S. *et al.* (2018) “First ecotoxicological assessment of *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) in the Mediterranean Sea using an integrated nondestructive protocol”, *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V., 631–632, pp. 1221–1233. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.03.111.
- CDB (1992) “Convenio sobre la Diversidad Biológica”.
- Chávez, V. *et al.* (2020) “Massive influx of pelagic sargassum spp. On the coasts of the mexican caribbean 2014–2020: Challenges and opportunities”, *Water*, 12(10), pp. 1–24. doi: 10.3390/w12102908.
- Cocci, P., Mosconi, G. y Palermo, F. A. (2020) “Sunscreen active ingredients in loggerhead turtles (*Caretta caretta*) and their relation to molecular markers of inflammation, oxidative stress and hormonal activity in wild populations”, *Marine Pollution Bulletin*. Elsevier, 153(September 2019), p. 111012. doi: 10.1016/j.marpolbul.2020.111012.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (2016) “Estudio previo justificativo para la declaratoria de la Reserva de la Biosfera Caribe Mexicano, Quintana Roo”, p. 306. Disponible en: [http://www.conanp.gob.mx/acciones/pdf/EPJ\\_RB\\_CM\\_12abril2016\\_scc.pdf](http://www.conanp.gob.mx/acciones/pdf/EPJ_RB_CM_12abril2016_scc.pdf).
- Contreras-Silva, A. I. *et al.* (2020) “A meta-analysis to assess long-term spatiotemporal changes of benthic coral and macroalgae cover in the Mexican Caribbean”, *Scientific Reports*, 10(1), pp. 1–12. doi: 10.1038/s41598-020-65801-8.
- Cortés-Gómez, A. A. *et al.* (2017) “Molecular oxidative stress markers in olive ridley turtles (*Lepidochelys olivacea*) and their relation to metal concentrations in wild populations”, *Environmental Pollution*, 233(February 2018), pp. 156–167. doi: 10.1016/j.envpol.2017.10.046.
- Cortés-Gómez, A. A. *et al.* (2018) “p-Nitrophenyl Acetate Esterase Activity and Cortisol as Biomarkers of Metal Pollution in Blood of Olive Ridley Turtles (*Lepidochelys olivacea*)”, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer US, 75(1), pp. 25–36. doi: 10.1007/s00244-017-0464-z.
- Cruz-Palacios, V. y Tussenbroek, B. I. Van (2005) “Simulation of hurricane-like disturbances on a Caribbean seagrass bed”, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 324(2005), pp. 44–60. doi: 10.1016/j.jembe.2005.04.002.
- Cuevas, E. *et al.* (2008) “Post-nesting migratory movements of hawksbill turtles *Eretmochelys imbricata* in waters adjacent to the Yucatan Peninsula, Mexico”, *Endangered Species Research*, 10(1), pp. 123–133. doi: 10.3354/esr00128.
- Cuevas, E. y Marcos, S. (2014) *Monitoreo de megafauna en refugios pesqueros en la reserva de la biosfera de SIAN KA’AN*.
- Daniel, W. W. y Cross, C. L. (2013) *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. Tenth edit, John Wiley & sons. Tenth edit. Wiley.
- Díaz-Acosta, A. E. y Membrillo-Hernández, J. (2006) “Consecuencias fisiológicas de la oxidación

- de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos”, *Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 9(1), pp. 34–44.
- Dow, W. E. y Eckert, K. L. (2011) “Sea turtle nesting habitat in the wider caribbean region”, *Endangered Species Research*, 15(2), pp. 129–141. doi: 10.3354/esr00375.
- Drossos, G. *et al.* (1995) “Deferoxamine cardioplegia reduces superoxide radical production in human myocardium”, *The Annals of Thoracic Surgery*, 59(1), pp. 169–172. doi: 10.1016/0003-4975(94)00726-N.
- Durán, J. J. (1986) *Aspectos biológicos de la anidación y protección de la tortuga blanca, Chelonia mydas (Linn. 1758), en isla Contoy, Quintana Roo*. México: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Ellman, G. L. *et al.* (1961) “A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity”, *Biochemical Pharmacology*, 7, pp. 88–95. doi: 10.1016/0006-2952(61)90145-9.
- Finlayson, K. A., Leusch, F. D. L. y van de Merwe, J. P. (2016) “The current state and future directions of marine turtle toxicology research”, *Environment International*. Elsevier Ltd, 94(2016), pp. 113–123. doi: 10.1016/j.envint.2016.05.013.
- Finlayson, K. A., Leusch, F. D. L. y van de Merwe, J. P. (2019) “Primary green turtle (*Chelonia mydas*) skin fibroblasts as an in vitro model for assessing genotoxicity and oxidative stress”, *Aquatic Toxicology*. Elsevier, 207(2019), pp. 13–18. doi: 10.1016/j.aquatox.2018.11.022.
- Flint, M. *et al.* (2009) *A veterinarian’s guide for sea turtle post mortem examination and histological investigation*, *Environmental Protection*. The University of Queensland.
- Flohé, L. y Günzler, W. A. (1984) “Assays of glutathione peroxidase”, en Lester, P. (ed.) *Methods in Enzymology. Oxygen Radicals in Biological*, pp. 114–120.
- Flores, C. D. (2016) *Caracterización de nidos e influencia de las variables climáticas en los neonatos de las tortugas marinas Eretmochelys imbricata (Tesis de maestría)*. México: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). doi: 10.13140/RG.2.1.3844.3924.
- FONATUR (2005) *Manifestación de impacto ambiental en su modalidad regional, para el proyecto turístico Costa Maya, Quintana Roo*.
- Furuhagen, S. (2015) “Application and interpretation of biomarkers in ecotoxicology – from molecular to individual level responses”. Stockholm University.
- García-besné, G., Valdespino, C. y Rendón-von Osten, J. (2014) “Comparison of organochlorine pesticides and PCB residues among hawksbill (*Eretmochelys imbricata*) and green (*Chelonia mydas*) turtles in the Yucatan Peninsula and their maternal transfer”, *Marine Pollution Bulletin*, (2014).
- Goatley, C. H. R., Hoey, A. S. y Bellwood, D. R. (2012) “The role of turtles as coral reef macroherbivores”, *PLoS ONE*, 7(6). doi: 10.1371/journal.pone.0039979.
- Godheja, J. *et al.* (2016) “Xenobiotic Compounds Present in Soil and Water: A Review on Remediation Strategies”, *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*, 6(5), p. 392. doi: 10.4172/2161-0525.1000392.
- Goldberg, D. M. y Spooner, R. J. (1983) “Glutathione Reductase”, en Bergmeyer, H. U., Bergmeyer, J., y GraBl, M. (eds.) *Methods of Enzymatic Analysis*. 3rd ed. Weinheim: Verlag Chemie, pp. 258–265.
- Gómez-Oliván, L. M. (2019) *Pollution of Water Bodies in Latin America: Impact of Contaminants on Species of Ecological Interest*. Springer. doi: 10.1007/978-3-030-27296-8.
- González, D. (2015) *Determinación de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros*

- sanguíneos en tortugas Caguama (Caretta caretta (Linnaeus, 1758)) de Quintana Roo, México (Tesis de Maestría)*. México: El Colegio de la Frontera Sur.
- Goshe, L. R. *et al.* (2010) "Estimation of age at maturation and growth of Atlantic green turtles (*Chelonia mydas*) using skeletochronology", *Marine Biology*, 157, pp. 1725–1740. doi: 10.1007/s00227-010-1446-0.
- Gray, J. S. (2002) "Biomagnification in marine systems: The perspective of an ecologist", *Marine Pollution Bulletin*, 45(1–12), pp. 46–52. doi: 10.1016/S0025-326X(01)00323-X.
- Guillon, J.-M. *et al.* (2012) "A large phylogeny of turtles ( Testudines ) using molecular data", *Contributions to Zoology*, 81(3), pp. 147–158.
- Gutiérrez-Aguirre, M. A., De La Fuente-Betancourt, M. G. y Cervantes-Martínez, A. (2000) "Biomasa y densidad de dos especies de pastos marinos en el sur de Quintana Roo, México", *Revista de Biología Tropical*, 48(2–3), pp. 313–316.
- Habig, W. H. y Jakoby, W. B. (1981) "Glutathione S-transferases (Rat and Human)", en Jakoby, W. B. (ed.) *Methods in Enzymology*. Academic Press, pp. 218–231.
- Halliwell, B. y Gutteridge, J. M. C. (2015) *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fifth Edit, *Free Radicals in Biology and Medicine*. Fifth Edit. Oxford University Press.
- Hamann, M. *et al.* (2010) "Global research priorities for sea turtles: Informing management and conservation in the 21st century", *Endangered Species Research*, 11(3), pp. 245–269. doi: 10.3354/esr00279.
- Hayashi, R. y Nishizawa, H. (2015) "Body size distribution demonstrates flexible habitat shift of green turtle (*Chelonia mydas*)", *Global Ecology and Conservation*. Elsevier B.V., 3, pp. 115–120. doi: 10.1016/j.gecco.2014.11.008.
- Heppell, S., Crowder, L. y Snover, M. (2003) "Sea Turtle Population Ecology", en *The Biology of Sea Turtles, Vol. II*, pp. 275–306. doi: 10.1201/9781420040807.ch11.
- Hernández-Terrones, L. M. *et al.* (2015) "Water quality assessment in the Mexican Caribbean : Impacts on the coastal ecosystem", *Continental Shelf Research*. Elsevier, 102, pp. 62–72. doi: 10.1016/j.csr.2015.04.015.
- Herrera-Silveira, J. A. *et al.* (2010) "Evidence of negative impacts of ecological tourism on turtlegrass (*Thalassia testudinum*) beds in a marine protected area of the Mexican Caribbean", *Aquatic Ecology*, 44(1), pp. 23–31. doi: 10.1007/s10452-009-9260-9.
- Holland, H. T., Coppage, D. L. y Butler, P. A. (1967) "Use of Fish Brain Acetylcholinesterase to Monitor Pollution by Organophosphorus Pesticides", *Bulletin of environmental Contamination & Toxicology*, 2(3), pp. 156–162.
- Van Houtan, K. S. *et al.* (2014) "Eutrophication and the dietary promotion of sea turtle tumors", *PeerJ*, 2014(1). doi: 10.7717/peerj.602.
- Huggett, R. J. *et al.* (1989) *Biomarkers: biochemical, physiological, and histological markers of antropogenic stress*. CRC Press.
- Islas, N. L. (2020) *Indicadores de estrés oxidativo de la población de tortuga blanca (Chelonia mydas) que habita en el Caribe Mexicano (Tesis de Maestría)*. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C. (CIBNOR).
- Jones, K. *et al.* (2016) "A review of fibropapillomatosis in Green turtles (*Chelonia mydas*)", *The Veterinary Journal*. Elsevier Ltd, 212, pp. 48–57. doi: 10.1016/j.tvjl.2015.10.041.
- Keller, J. M. *et al.* (2012) "Perfluoroalkyl contaminants in plasma of five sea turtle species: comparisons in concentration and potential health risks", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(6), pp. 1223–1230.

- Keller, J. M. (2013) "Exposure to and effects of persistent organic pollutants", en *The Biology of Sea Turtles*, pp. 285–328. doi: 10.1201/b13895.
- Labrada-Martagón, V. et al. (2011) "Oxidative stress indicators and chemical contaminants in East Pacific green turtles (*Chelonia mydas*) inhabiting two foraging coastal lagoons in the Baja California peninsula", *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 154(2011), pp. 65–75. doi: 10.1016/j.cbpc.2011.02.006.
- Labrada-Martagón, V. et al. (2017) "Somatic growth rates of immature green turtles *Chelonia mydas* inhabiting the foraging ground Akumal Bay in the Mexican Caribbean Sea", *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. Elsevier B.V., 487, pp. 68–78. doi: 10.1016/j.jembe.2016.11.015.
- Labrada-Martagón, V. (2018) "Biomarcadores y salud ecológica", *Recursos Naturales y Sociedad*, 4(2), pp. 9–20. doi: 10.18846/renaysoc.2018.04.04.02.0001.
- Lazar, B. et al. (2011) "Accumulation of organochlorine contaminants in loggerhead sea turtles, *Caretta caretta*, from the eastern Adriatic Sea", *Chemosphere*, 82, pp. 121–129. doi: 10.1016/j.chemosphere.2010.09.015.
- León-Borges, J. A. y Lizardi-Jiménez, M. A. (2017) "Hydrocarbon pollution in underwater sinkholes of the Mexican Caribbean caused by tourism and asphalt: Historical data series and cluster analysis", *Tourism Management*, 63, pp. 179–186. doi: 10.1016/j.tourman.2017.06.018.
- Lushchak, V. I. (2012) "Environmentally induced oxidative stress in fish", en Abele, D., Vázquez-Medina, J. P., y Zenteno-Savín, T. (eds.) *Oxidative Stress in Aquatic*, pp. 295–307.
- Márquez-Millán, R. et al. (2004) "Marine turtles of the gulf of Mexico. abundance, distribution and protection", en Caso, M., Pisanty, I., y Ezcurra, E. (eds.) *Environmental analysis of the Gulf of Mexico*. Harte Research Institute for Gulf of Mexico Studies, pp. 89–107.
- Mata, M. (2012) *Evaluación de estrategias de manejo arrecifal en Akumal, Q. Roo: Disturbios antropogénicos y enfermedades coralinas (Tesis de Licenciatura)*. México: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- Medina-Moreno, S. A. et al. (2014) "Hydrocarbon pollution studies of underwater sinkholes along Quintana Roo as a function of tourism development in the Mexican Caribbean", *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 13(2), pp. 509–516.
- Méndez, D. et al. (2013) "Satellite tracking of green turtle females *Chelonia mydas* and the evaluation of their home ranges in the north coast of the Yucatán Peninsula, Mexico", *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 48(3), pp. 497–509. doi: 10.4067/s0718-19572013000300008.
- Meylan, A. B. y Meylan, P. A. (2000) "Introducción a la Evolución, Historias de Vida y Biología de las Tortugas Marinas", en Eckert, K. L. et al. (eds.) *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*. Grupo Especialista en Tortugas Marinas UICN/CSE, p. 260.
- Miller, James y Miller, Jane (2010) *Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry*. Sixth edit, *Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London*. Sixth edit. England: Pearson Education Limited. doi: 10.7861/clinmedicine.14-6-677.
- Muñoz-Tenería, F. A. et al. (2017) *Seguimiento de las acciones para la evaluación de la presencia de fibropapilomas en tortugas marinas de quintana roo*. PROCER/DRPYCM/346/2016, Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas.
- Murray, R. et al. (2003) *Harper's Illustrated Biochemistry*. 26a ed. Mc Graw Hill.

- Nalovic, M., Cuevas, E. y Godfrey, M. (2019) "North Atlantic & Wider Caribbean MTSG Regional Report", p. 222.
- Null, K. A. *et al.* (2014) "Composition and fluxes of submarine groundwater along the Caribbean coast of the Yucatan Peninsula", *Continental Shelf Research*. Elsevier, 77, pp. 38–50. doi: 10.1016/j.csr.2014.01.011.
- Nunes, B., Carvalho, F. y Guilhermino, L. (2006) "Effects of widely used pharmaceuticals and a detergent on oxidative stress biomarkers of the crustacean *Artemia parthenogenetica*", *Chemosphere*, 62(4), pp. 581–594. doi: 10.1016/j.chemosphere.2005.06.013.
- O'Connell, S. G. *et al.* (2010) "Temporal and Spatial Trends of Perfluorinated Compounds in Juvenile Loggerhead Sea Turtles ( *Caretta caretta* ) along the East Coast of the United States", *Environmental Science & Technology*, 44(13), pp. 5202–5209.
- Okamura, T. *et al.* (2009) "Tyrosine phosphorylation of the human glutathione S-transferase P1 by epidermal growth factor receptor", *Journal of Biological Chemistry*, 284(25), pp. 16979–16989. doi: 10.1074/jbc.M808153200.
- Oliver, A. *et al.* (2017) "Are anthropogenic factors affecting nesting habitat of sea turtles ? The case of Kanzul beach , Riviera Maya-Tulum ( Mexico )", *J Coast Conserv. Journal of Coastal Conservation*, 21, pp. 85–93. doi: 10.1007/s11852-016-0473-5.
- Van der Oost, R., Beyer, J. y Vermeulen, N. P. E. (2003) "Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), pp. 57–149. doi: 10.1016/S1382-6689(02)00126-6.
- Ortiz, A. karina *et al.* (2020) "Seascape metrics , spatio-temporal change , and intensity of use for the spatial conservation prioritization of a Caribbean marine protected area", *Ocean and Coastal Management journal*, 194(2020). doi: 10.1016/j.ocecoaman.2020.105265.
- Owens, D. W. y Ruiz, G. J. (1980) "New Methods of Obtaining Blood and Cerebrospinal Fluid from Marine Turtles", *Herpetologica*, 36(1), pp. 17–20.
- Palacio, F., Apodaca, M. y Crisci, J. (2020) *Análisis multivariado para datos biológicos: teoría y su aplicación utilizando el lenguaje R*. Buenos Aires: Fundación de Historia Natural Félix de Azara.
- Payne, J. F., Mathieu, A. y Fancey, L. L. (1996) "Acetylcholinesterase , an Old Biomarker with a New Future ? Field Trials in Association with Two Urban Rivers and a Paper Mill in Newfoundland", *Marine Pollution Bulletin*, 32(2), pp. 225–231.
- Perrault, J. R. *et al.* (2017) "Potential effects of brevetoxins and toxic elements on various health variables in Kemp ' s ridley ( *Lepidochelys kempii* ) and green ( *Chelonia mydas* ) sea turtles after a red tide bloom event", *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V., 605–606(2017), pp. 967–979. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.149.
- Persky, A. M. *et al.* (2000) "Protective effect of estrogens against oxidative damage to heart and skeletal muscle in vivo and in vitro.", *Proc Soc Exp Biol Med*, 1(223), pp. 59–66. doi: 1046/j.1525-1373.2000.22308.x.
- Picciotto, M. R., Higley, M. J. y Mineur, Y. S. (2012) "Acetylcholine as a neuromodulator", *Neuron*, 76(1), pp. 116–129. doi: 10.1016/j.neuron.2012.08.036.Acetylcholine.
- Pozo, C., Canto, N. A. y Calmé, S. (2011) *Riqueza biológica de Quintana Roo. Un análisis para su conservación. Tomo I, Riqueza biológica de Quintana Roo: un análisis para su conservación*. El Colegio de la Frontera Sur, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Quintana Roo, Programa de Pequeñas Donaciones.



- Pritchard, P. C. H. y Mortimer, J. A. (1999) "Taxonomía , Morfología Externa e Identificación de las Especies", en *Técnicas de Investigación y Manejo para la Conservación de las Tortugas Marinas*, pp. 23–42.
- R Team (2022) "R: A language and environment for statistical computing", *R Foundation for Statistical Computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Disponible en: <http://www.r-project.org>.
- Randazzo-Eisemann, Á. *et al.* (2021) "25 years of multiple stressors driving the coral-algae phase shift in Akumal, Mexico", *Ocean and Coastal Management*, 214(April). doi: 10.1016/j.ocecoaman.2021.105917.
- Reich, K. J., Bjorndal, K. A. y Bolten, A. B. (2007) "The ' lost years ' of green turtles : using stable isotopes to study cryptic lifestages", *Biology letters*, 3, pp. 712–714. doi: 10.1098/rsbl.2007.0394.
- Richardson, K. L., Gold-Bouchot, G. y Schlenk, D. (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*)", *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*. Elsevier Inc., 150, pp. 279–284. doi: 10.1016/j.cbpc.2009.05.005.
- Ricker, W. E. (1975) "Computation and interpretation of biological statistics of fish populations", *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 1, pp. 1–382.
- Rioja-Nieto, R. y Álvarez-Filip, L. (2018) "Coral reef systems of the Mexican Caribbean : Status , recent trends and conservation", *Marine Pollution Bulletin*. Elsevier, (July), pp. 0–1. doi: 10.1016/j.marpolbul.2018.07.005.
- Rivas-Hernández, G. *et al.* (2018) "Plasma Cholinesterase Activity in Female Green Turtles *Chelonia mydas* Nesting in Laguna de Terminos, Mexico Related to Organochlorine Pesticides in Their Eggs", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. Springer US, 100(1), pp. 101–105. doi: 10.1007/s00128-017-2250-z.
- Rodríguez-Martínez, R. E. *et al.* (2019) "Faunal mortality associated with massive beaching and decomposition of pelagic Sargassum", *Marine Pollution Bulletin*. Elsevier, 146(June), pp. 201–205. doi: 10.1016/j.marpolbul.2019.06.015.
- Rodríguez-Martínez, R. E. *et al.* (2021) "Sargassum landings have not compromised nesting of loggerhead and green sea turtles in the Mexican Caribbean", *Journal of Environmental Management*, 299(July). doi: 10.1016/j.jenvman.2021.113614.
- Rodríguez-Muñoz, R. *et al.* (2021) "Assessing temporal dynamics on pelagic Sargassum influx and its relationship with water quality parameters in the Mexican Caribbean", *Regional Studies in Marine Science*. Elsevier B.V., 48(September), p. 102005. doi: 10.1016/j.rsma.2021.102005.
- Rodríguez, C. L. (2018) *Caracterización de la frecuencia de anomalías nucleares en sangre periférica de la tortuga blanca (Chelonia mydas) de Quintana Roo (Tesis de Maestría)*. México: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Ruiz, M. (2008) *Biología de Chelonia mydas en Akumal, México (Tesis de Maestría)*, *Journal of Chemical Information and Modeling*. Valencia, España.
- Sachana, M. y Hargreaves, A. J. (2007) "Toxicological testing: in vivo and in vitro models", en GUPTA, R. C. (ed.) *Veterinary Toxicology*. Elsevier Inc., pp. 51–66.
- Salvarani, P. I. *et al.* (2018) "Oxidative stress biomarkers and organochlorine pesticides in nesting female hawksbill turtles *Eretmochelys imbricata* from Mexican coast (Punta Xen,

- Mexico)", *Environmental Science and Pollution Research*. Environmental Science and Pollution Research.
- Sánchez y Pinto, I. A. *et al.* (2015) "Evidencia de flujo preferencial al mar, del Cenote Caletita, en Cozumel, México", *Ingeniería*, 19(1), pp. 1–12.
- Sanjuan, X. S. (2020) *Evaluación de la respuesta clínica y genotóxica por la exposición a Plomo y compuestos orgánicos persistentes en organismos inmaduros de tortuga verde (Chelonia mydas) en Quintana Roo, México (Tesis de Maestría)*. México: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Scott, R. *et al.* (2014) "Nano-tags for neonates and oceanmediated swimming behaviours linked to rapid dispersal of hatchling sea turtles", *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1796), pp. 1–9. doi: 10.1098/rspb.2014.1209.
- Secretaria de Economía (2012) "Norma Mexicana NMX-AA-162-SCFI-2012", *Diario Oficial*, p. 140.
- SEDETUR (2020) *Indicadores Turísticos PRELIMINARES Enero-Diciembre 2019*. Quintana Roo, México.
- SEMARNAP-INE (2000) *La calidad del agua en los ecosistemas costeros de México*. México: Instituto Nacional de Ecología.
- SEMARNAT (2016a) *ACUERDO por el que se da a conocer el Programa de Protección del Área de Refugio para la Protección de Especies Marinas denominada Bahía de Akumal, creada por Acuerdo publicado el 7 de marzo de 2016*.
- SEMARNAT (2016b) *Acuerdo por el que se establece con el nombre de Bahía de Akumal el área de refugio para la protección de las especies que se indican, la porción marina que se señala en el Estado de Quintana Roo*.
- SEMARNAT (2018) *Programa de acción para la conservación de la especie tortuga verde/negra (Chelonia mydas)*.
- SEMARNAT, (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales) (2010) "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.", *Diario Oficial*, Segunda Se, p. 78.
- SEMARNAT y CONANP (2014) "Complejo Sian Ka'an: Reserva de la Biosfera Sian Ka'an, Área de protección de flora y fauna Uaymil y Reserva de la Biosfera Arrecifes de Sian Ka'an", p. 486.
- Seminoff, J. A. *et al.* (2007) "Tortugas marinas", en Daneman, G. D. y Ezcurra, E. (eds.) *Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad : línea base 2007*, pp. 457–494.
- Sies, H. (1997) "Oxidative stress: Oxidants and antioxidants", *Experimental Physiology*, 82, pp. 291–295. doi: 10.1113/expphysiol.1997.sp004024.
- Silva, C. C. da *et al.* (2016) "Metal contamination as a possible etiology of fibropapillomatosis in juvenile female green sea turtles *Chelonia mydas* from the southern Atlantic Ocean", *Aquatic Toxicology*. Elsevier B.V., 170(2016), pp. 42–51. doi: 10.1016/j.aquatox.2015.11.007.
- Solé, M. *et al.* (2010) "Effects on feeding rate and biomarker responses of marine mussels experimentally exposed to propranolol and acetaminophen", *Anal Bioanal Chem*, 396, pp. 649–656. doi: 10.1007/s00216-009-3182-1.
- Solé, M. *et al.* (2020) "Biomarker considerations in monitoring petrogenic pollution using the mussel *Mytilus galloprovincialis*", *Environmental Science and Pollution Research*.

- Environmental Science and Pollution Research, 27(25), pp. 31854–31862. doi: 10.1007/s11356-020-09427-3.
- Sparling, D. (2016) *Ecotoxicology Essentials. Biological Effects on Animals and Plants*. Elsevier.
- Tabachnick, B. y Fidell, L. (2013) *Using multivariate statistics*. Sixth. Pearson.
- Talavera, A. L. (2010) *Evaluación de metales pesados en hembras y crías de tortuga blanca Chelonia mydas (Reptilia, Cheloniidae) de la costas de Quintana Roo, México (Tesis de Maestría)*. El Colegio de la Frontera Sur.
- Thompson, W., White, G. y Gowan, C. (1998) *Monitoring vertebrate populations*. Elsevier.
- Tõugu, V. (2001) "Acetylcholinesterase: Mechanism of Catalysis and Inhibition", *Current Medicinal Chemistry -Central Nervous Systems Agents*, 1(2), pp. 155–170. doi: 10.2174/1568015013358536.
- Tremblay, N. et al. (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), pp. 173–183. doi: 10.1007/s10646-016-1752-5.
- Tussenbroek, B. I. Van (1995) "Thalassia testudinum leaf dynamics in a Mexican Caribbean coral reef lagoon", *Marine Biology*, (122), pp. 33–40.
- Valdivia, P. A. et al. (2007) "Basic oxidative stress metabolites in eastern Pacific green turtles (Chelonia mydas agassizii)", *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 146(1–2), pp. 111–117. doi: 10.1016/j.cbpc.2006.06.008.
- Weil, E., Cróquer, A. y Urreiztieta, I. (2009) "Yellow band disease compromises the reproductive output of the Caribbean reef-building coral Montastraea faveolata (Anthozoa, Scleractinia)", *Diseases of Aquatic Organisms*, 87, pp. 45–55. doi: 10.3354/dao02103.
- Weiss, C. M. (1958) "The Determination of Cholinesterase in the Brain Tissue of Three Species of Fresh Water Fish and Its Inactivation in Vivo", *Ecology*, 39(2), pp. 194–199.
- Yoshida, E. (2012) *Avaliação da influência da ingestão de lixo plástico nos indicadores de estresse oxidativo no sangue de tartarugas verdes (Chelonia mydas)*. Universidad Federal de Santa Catarina.
- Van der Zee, J. P. et al. (2019) "Population recovery changes population composition at a major southern Caribbean juvenile developmental habitat for the green turtle, Chelonia mydas", *Scientific Reports*, 9(1), pp. 1–11. doi: 10.1038/s41598-019-50753-5.
- Zurita, J. (1993) "Tortugas marinas del Caribe", en CONABIO/CIQRO (ed.) *Biodiversidad marina y costera de México*. México, p. 865.
- Zurita, J. (2015) *Biología y Conservación de las Tortugas Marinas en Quintana Roo (Tesis de doctorado)*. México: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).